



UNIVERSIDAD DE ALMERIA
Facultad de ciencias experimentales

**INTEGRACIÓN DE PROCESOS
FOTOQUÍMICOS SOLARES CON OTRAS
TÉCNICAS AVANZADAS DE ANÁLISIS
PARA EL TRATAMIENTO Y
REVALORIZACIÓN DE AGUAS
RESIDUALES COMPLEJAS**

Ana Ruiz Delgado
Tesis Doctoral
Almería - Septiembre 2019





UNIVERSIDAD DE ALMERIA

Facultad de Ciencias Experimentales

“Doctorado en Química Avanzada”

**INTEGRACIÓN DE PROCESOS FOTOQUÍMICOS SOLARES
CON OTRAS TÉCNICAS AVANZADAS DE ANÁLISIS PARA
EL TRATAMIENTO Y REVALORIZACIÓN DE AGUAS
RESIDUALES COMPLEJAS**

**“INTEGRATION OF SOLAR PHOTOCHEMICAL
PROCESSES WITH OTHER ADVANCED TECHNIQUES OF
ANALYSIS FOR THE TREATMENT AND
REVALORIZATION OF COMPLEX WASTEWATER”**

Memoria presentada para aspirar al grado de Doctor:
ANA RUIZ DELGADO

Fdo. Ana Ruiz Delgado
Almería a 3 de septiembre de 2019
DIRECTORES DE TESIS:

Dra. Dña. Isabel Oller Alberola
Investigador Contratado OPI
CIEMAT
Ministerio de Ciencia, Innovación y
Universidades

Dra. Dña Ana Agüera López
Catedrática del Departamento de Química y
Física
Universidad de Almería



Por mi madre,

a mi "rey"

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS

El llevar a cabo una Tesis Doctoral ha supuesto para mí un reto a nivel profesional y más aún, personal (sobre todo si tenemos en cuenta los acontecimientos vividos durante este último año). Por tanto, esta Tesis Doctoral no sólo forma parte de mí sino también de todas las personas que en algún momento de su desarrollo han participado ya sea tanto en lo personal como en lo práctico. Por ello, me gustaría aprovechar esta ocasión para darles las gracias a todas y cada una de ellas (espero que no se me olvide nadie).

La primera persona a la que le tengo que dar las gracias es a Dr. José Antonio Sánchez Pérez, ya que fue el que me informó de la existencia de la beca para realizar dicho doctorado, abriendo así una puerta a todo lo que he aprendido y vivido durante estos años.

Seguidamente, quiero dar mi más sincero agradecimiento a mi co-directora de Tesis, Dra. Ana Agüera López, por confiar en mí desde el principio, al elegirme como beneficiaria de la beca, por todo lo que me ha enseñado y por toda la ayuda recibida durante este tiempo.

A mi directora de Tesis, y por qué no, amiga, confidente y jefa, Dra. Isabel Oller Alberola, sin ella no hubiera sido posible nada. Desde la realización de la experimentación hasta la escritura de esta tesis. Gracias por todo lo que me has enseñado, por todo lo que me has ayudado, por todo lo que me has aconsejado, por tus grandes ideas, por tus sonrisas, por tu siempre buen humor, por transmitir esas ganas de seguir adelante siempre, por ayudarme en los malos momentos y por un sin fin de cosas que te hace ser una gran persona. MUCHAS GRACIAS.

Gracias al Dr. Sixto Malato Rodríguez por transmitirme sus conocimientos, por confiar en mí, por estar siempre dispuesto a ayudarme en cualquier momento y aunque no forme parte de la dirección de la tesis, gran parte de esta Tesis es gracias a él y al gran trabajo que realiza día a día.

Al Dr. Nacho Maldonado y Dr. Leónidas Pérez por haberme tratado tan bien y haber estado dispuestos a ayudarme a lo largo de esta etapa. A la Dra. Patricia Plaza Bolaños, por la ayuda recibida desde CIESOL para la realización de parte de esta Tesis y estar siempre disponible. Y, por último, pero no menos importante, a la Dra. Inmaculada Polo, por su gran ayuda, sus enseñanzas, el ánimo recibido durante esta última etapa de escritura y por esos buenos ratitos compartidos en la ventana del laboratorio.

A la Plataforma Solar de Almería (PSA)-CIEMAT por poner a mi disposición todo lo necesario para llevar a cabo un trabajo de calidad y a todos los trabajadores que de algún modo me han ayudado (Pepelu, Pepe, Andrés, Rafa, Carmela, Irene, Inés, etc.).

Al “Laboratory of Separation and Reaction Engineering- Laboratory of Catalysis and Materials (LSRE-LCM)” de la Universidad de Ingeniería de Oporto (Portugal), a toda su gente (Mariana, Marta, Gorito, Rita, Nuno, etc.) y a Dr. Adrián M.T. Silva, que tan bien me han tratado y me han ayudado en una de las etapas más bonitas de mi vida. A mis “Maduritos Sandungueros” (Natalia, Rosi, Alma, Víctor, Luis, Jorge, Ana, Gonzalo y demás), ¡qué hubiera sido de mí allí sin vosotros! Os llevo en el corazón SIEMPRE.

A los pies y manos del laboratorio, Eli, Isa Fernández y Agustín y a la última incorporación, Panchi. Sin vuestra ayuda es imposible que el barco salga a flote. Muchísimas gracias por vuestra simpatía, por estar siempre disponibles, por esas migas ricas, por esas charlas a las 8 y media de la mañana, en general, por todos esos buenos momentos vividos juntos.

Gracias también a Dra. María Castro por su amistad y ayuda en los primeros momentos de esta Tesis. A Dra. Alba, por su amistad y porque siempre ha estado dispuesta a ayudarme. A mis niñas: Dra. Laura, Irene y Samira por todas las risas, viajes y buenos ratos compartidos y la ayuda que muchas veces he necesitado. A mi Meli, muchas gracias por estar siempre ahí, por ayudarme en diversos experimentos, por compartir tanto conmigo, por darme ánimo y preocuparte por mí y como no, por “molestarme” en el despacho con tus cantes :). A las nuevas incorporaciones: Ilaria, Dennis, Azahara y Dra. Gracia. A todas las personas que han pasado por la PSA, y que han sido muchas, durante este periodo, porque de cada uno he aprendido algo tanto personal como profesional (Chus, Leonor, Lis, Iván, Cristina, Rita, Valeria, Mercedes, Marcelo, Giusy, Lis, Ángela, Teresa, Arianna, etc.). Ha sido un lujo estar ahí con todos vosotros.

Gracias a mis niñas del Ciesol: Marina, Sandra, Dra. Paula y Ana Lorenzo. Muchas gracias por el apoyo recibido en esta última etapa de escritura. Gracias por la ayuda recibida, por aguantarme todos los días, por calmarme en los momentos de agobio y por hacerme sentir una más. A Octavio, por tu ayuda desinteresada. A mi Dra. Sara, por enseñarme tantas cosas y porque siempre ha estado ahí cuando la he necesitado y espero tenerte mucho tiempo.

A mi Dra. Irene, mi compañera de viaje, mi amiga del alma como ella bien me escribió en su Tesis. Tanto tengo que agradecerle que me faltarían hojas. Gracias por creer en mí, por valorarme, por tu apoyo incondicional, por tus “nos tomamos un café” y nos despejamos, por tus risas, por tus tonterías, por tu ayuda en todo lo que he necesitado, por levantarme en los momentos malos (que no han sido pocos), por hacer ver que SÍ SE PUEDE y ahí estamos, consiguiendo las dos NUESTRA meta. TE QUIERO MUCHO.

A mis amigos, por estar siempre ahí. A mi familia y familia política, gracias por todo. A mi padre, gracias por tu espíritu luchador, tu dedicación y tu superación. En especial, gracias a mi MADRE, mujer luchadora donde las haya, espero que se me haya pegado algo. Todo esto es por ti, para que te sientas orgullosa de mí. Eres mi motor y mi gran ejemplo a seguir. Gracias por apoyarme siempre, por demostrarme que soy capaz y hacer que no me rindiera nunca, aun en los malos momentos. Gracias por transmitirme tus ganas de seguir adelante y gracias por ser mi madre. Te quiero.

Y como no, gracias a mi “rey”, mi hermano. Todo lo que hago, lo hago por tí. Eres y siempre serás el amor de mi vida.

A Jonathan, mi futuro marido (¡que poquito nos queda!) y mi VIDA. Gracias por estar siempre a mi lado, tanto en los buenos como en los malos momentos, gracias por apoyarme, por tus cuidados, por tu dedicación, por darme fuerzas y ánimo, por ser como eres. No he podido elegir mejor persona que tú para disfrutar de este viaje que es la vida. UP.

Por último, me gustaría dedicar esta Tesis a los que ya no están. Gracias por mandarme fuerzas desde donde quiera que estéis.

El trabajo de investigación recogido en esta Tesis Doctoral ha sido desarrollado fundamentalmente en la Unidad de Tratamientos Solares de Agua (TSA, <http://www.psa.es/webesp/areas/tsa/>) de la Plataforma Solar de Almería (PSA), perteneciente al Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT) del Ministerio de Economía, Industria y Competitividad, y en los laboratorios del grupo de investigación de Análisis ambiental y tratamiento de aguas (FQM374) del Centro de Investigación de la Energía Solar (CIESOL, centro mixto CIEMAT-Universidad de Almería, <http://www.ciesol.es/>). Cabe añadir que una pequeña parte de la experimentación reflejada en esta memoria se ha realizado en el Laboratorio de Ingeniería de separación y reacción – Laboratorio de catálisis y materiales (LSRE-LCM) del departamento de Ingeniería Química de la Facultad de Ingeniería de la universidad de Oporto (Portugal) (<https://lsre-lcm.fe.up.pt/>).

El trabajo presentado en esta Tesis Doctoral se ha realizado gracias a la financiación obtenida en forma de ayuda Pre-doctoral de Formación de Personal Investigador en el marco del proyecto: “Caracterización y tratamiento de aguas residuales de distinto origen (lixiviados de vertedero y efluentes de la industria del corcho” (ref. P12-RNM-1739), proyecto del programa de Incentivos a Proyectos de Investigación de Excelencia, Convocatoria 2012 de la Junta de Andalucía. Dentro de este proyecto, Dña. Ana Ruiz Delgado ha disfrutado de la ayuda Pre-doctoral durante el período 2016-2019 concedida por dicha institución.

Los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral y presentados en esta memoria han sido publicados o están en proceso de publicación en revistas internacionales científicas con índice de impacto y que se citan a continuación:

A. Ruíz-Delgado, M.A. Roccamante, I. Oller, A. Agüera, S. Malato. (2019). Natural chelating agents from olive mill wastewater to enable photo-Fenton-like reactions at natural pH. *Catalysis Today*, 328, 281–285.

A. Ruíz-Delgado, M. A. Roccamante, S. Malato, A. Agüera, I. Oller. (2019). Olive mill wastewater reuse: natural chelating agents to enable solar photo-Fenton-like reactions for treating priority substances in wáter. *Environmental Science and Pollution Research*. *Enviado*

A. Ruíz-Delgado, P. Plaza-Bolaños, I. Oller, S. Malato, A. Agüera. (2019). Advanced evaluation of landfill leachate treatments by low and highresolution mass spectrometry focusing on microcontaminant removal. *Journal of Hazardous Materials*. *Enviado*

A. Ruíz-Delgado, A.M.T. Silva, I. Oller, A. Agüera, S. Malato. (2019). Membrane distillation for wastewater ammonium recovery: evaluation of operational parameters. *Chemical Engineering Journal*. *En preparación*

A. Ruíz-Delgado, L. Ponce Robles, I. Salmerón, I. Oller, M.I. Polo-López, M.I., S. Malato, A. Agüera. Tracking population microbial in complex wastewater treatment by application of novel biological analysis technique. *Environmental Science and Pollution Research*. *En preparación*

Fruto de distintas colaboraciones relacionadas con el tema de la presente Tesis Doctoral se han publicado los siguientes trabajos:

Melina Roccamante, Irene Salmerón, **Ana Ruiz**, Isabel Oller, Sixto Malato. (2019). New approaches to solar Advanced Oxidation Processes for elimination of priority substances based on electrooxidation and ozonation at pilot plant scale. *Catalysis Today*. *In press*.

S. Miralles-Cuevas, I. Oller, **A. Ruíz-Delgado**, A. Cabrera-Reina, L. Cornejo-Ponce, S. Malato. (2019). EDDS as complexing agent for enhancing solar advanced oxidation processes in natural water: Effect of iron species and different oxidants. *Journal of Hazardous Materials*, 372, 129-136.

Juan Matos, Sara Miralles-Cuevas, **Ana Ruíz-Delgado**, Isabel Oller, Sixto Malato. (2017). Development of TiO₂-C photocatalysts for solar treatment of polluted water. *Carbon*, 122, 361-373.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	1
SUMMARY	9
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	17
I. INTRODUCCIÓN	26
I.1. El problema de la escasez y la contaminación del agua.....	26
I.2. Gestión de vertido de aguas residuales industriales.....	27
I.3. Normativa para la reutilización de aguas residuales industriales en Europa y España.....	29
I.4. Estado del arte en el tratamiento y regeneración de aguas residuales industriales	33
I.4.1. Sistemas biológicos aplicados al tratamiento de aguas residuales industriales	37
I.4.2. Aplicación de procesos avanzados de oxidación para el tratamiento de aguas residuales industriales	42
I.4.2.1. Ozonización	47
I.4.2.2. Fotocatálisis solar homogénea: foto-Fenton solar.....	49
I.5. Combinación de procesos avanzados de oxidación y biológicos para el tratamiento de aguas residuales industriales	51
I.6. Lixiviados de vertedero como ejemplo modelo de agua residual industrial.....	54
I.6.1. Origen, características y problemática ambiental de los lixiviados de vertedero	55
I.6.2. Tratamientos convencionales de lixiviados de vertedero.....	60
I.6.3. Tratamientos avanzados de lixiviados de vertedero.....	72
I.6.4. Valorización de lixiviados de vertedero tras su tratamiento	78
I.7. Aprovechamiento y aplicación de residuos procedentes del procesado de aceituna en procesos avanzados de oxidación.....	81
I.7.1. Residuo líquido de la obtención del aceite de oliva: alpechín	87
I.7.2. Sustancias tipo húmicas (STH).....	89
I.7.3. Aprovechamiento de aguas residuales industriales para la eliminación de microcontaminantes orgánicos	92
I.7.3.1. Efectos adversos sobre la salud humana y el medio ambiente de la presencia de microcontaminantes	92
I.7.3.2. Estrategias para la eliminación de microcontaminantes	96
II. OBJETIVOS Y PLAN EXPERIMENTAL	103
II.1. Objetivos generales.....	103
II.2. Objetivos específicos.....	104
II.3. Plan experimental	105
III. MATERIALES Y MÉTODOS	110
III.1. Materiales	110
III.1.1. Reactivos	110

III.1.2. Aguas residuales.....	115
III.1.3. Sustancias húmicas.....	118
III.1.4. Microcontaminantes orgánicos seleccionados	119
III.2. Técnicas analíticas convencionales	120
III.2.1. Cromatografía iónica (CI)	120
III.2.2. Análisis del Carbono Orgánico Disuelto (COD) y Nitrógeno Total (NT)	123
III.2.3. Medida de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)	125
III.2.4. Determinación de hierro mediante espectrofotometría (ISO 6332)	127
III.2.5. Determinación de peróxido de hidrógeno	129
III.2.6. Medida de turbidez.....	130
III.2.7. Medida de pH.....	131
III.2.8. Medida de conductividad	132
III.2.9. Método de Folin-Ciocalteu para la determinación del contenido fenólico total ...	133
III.2.10. Medida de sólidos totales en suspensión (STS) y sólidos volátiles (SV).....	134
III.2.11. Seguimiento de los contaminantes modelo mediante UHPLC-UV/DAD.....	136
III.3. Técnicas analíticas avanzadas	140
III.3.1. Pretratamiento de las muestras	140
III.3.2. Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas.....	142
III.3.2.1. Analizador de masas híbrido cuadrupolo-trampa de iones lineal (QqLIT)	142
III.3.2.2. Analizador de masas híbrido cuadrupolo-tiempo de vuelo (QqTOF)	144
III.3.3. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas	147
III.4. Bioensayos mediante técnicas de respirometría.....	149
III.4.1. Bioensayos de toxicidad aguda	151
III.4.2. Análisis de la biodegradabilidad	153
III.5. Técnicas de cuantificación microbiana	154
III.5.1. Recuento en placa del cultivo microbiano	154
III.6. Técnicas de biología molecular. Análisis genético	157
III.6.1. Extracción y cuantificación de ADN.....	157
III.6.2. Cuantificación de ADN mediante reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real (qPCR).....	160
III.6.3. Técnicas de secuenciación masiva: metagenómica.....	165
III.7. Pretratamiento fisicoquímico	168
III.7.1. Selección de coagulantes y floculantes	170
III.7.2. Sistema “jar-test” para ensayos de coagulación/floculación a escala de laboratorio	172
III.7.3. Ensayos de coagulación/floculación/filtración a escala planta piloto	174
III.8. Plantas piloto y a escala de laboratorio para la descontaminación de aguas mediante procesos avanzados de oxidación.....	175

III.8.1. Simulador solar	175
III.8.2. Planta piloto de ozonización	177
III.8.3. Planta piloto solar tipo CPC (Captador Parabólico Compuesto) para aplicaciones de foto-Fenton	179
III.9. Medida de la radiación ultravioleta	183
III.10. Reactor biológico aerobio de lecho fluidizado (RLF) a escala planta piloto	185
III.11. Destilación por membranas de contacto directo (DCMD)	189
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	196
IV.1. Reutilización de aguas residuales industriales. Tratamiento y valorización de lixiviados de vertedero	196
IV.1.1. Optimización de la etapa de pre-tratamiento físico-químico de lixiviados de vertedero	197
IV.1.2. Aplicación de procesos avanzados de oxidación para el tratamiento de lixiviados de vertedero	202
IV.1.2.1. Ozonización a escala planta piloto	202
IV.1.2.2. Foto-Fenton solar a escala planta piloto	204
IV.1.2.3. Comparación y selección del mejor proceso avanzado de oxidación	205
IV.1.3. Tratamiento biológico en reactor aerobio de lecho fluidizado para la depuración de lixiviados de vertedero. Análisis de la población microbiana	206
IV.1.3.1. Puesta en marcha y fase de adaptación del reactor de lecho fluidizado	206
IV.1.3.2. Operación en modo discontinuo del RLF para el tratamiento de lixiviados de vertedero pre-tratados	210
IV.1.3.3. Operación en modo continuo del RLF para el tratamiento de lixiviados de vertedero pre-tratados	213
IV.1.3.4. Determinación de la concentración total de bacterias en el RLF	216
IV.1.3.5. Análisis de la concentración de ADN en el RLF	217
IV.1.3.6. Aplicación de técnicas de qPCR para la cuantificación de bacterias totales ADNr 16S y bacterias amino-oxidantes (AOB)	218
IV.1.3.7. Identificación de bacterias mediante la aplicación de técnicas de secuenciación masiva	219
IV.1.4. Aplicación de técnicas analíticas avanzadas para la identificación y seguimiento de microcontaminantes a lo largo de la línea de tratamiento de lixiviados de vertedero	227
IV.1.4.1. Análisis dirigido de microcontaminantes mediante LC-QqLIT-MS/MS	228
IV.1.4.2. Análisis de cribado de compuestos sospechosos mediante LC-QTOF-MS	232
IV.1.4.3. Análisis de microcontaminantes sospechosos mediante GC-Q-MS	235
IV.1.5. Aplicación de sistemas de destilación por membranas para la recuperación de nutrientes	240
IV.1.5.1. Optimización de los parámetros de operación de la DCMD	242
IV.1.5.2. Influencia de la presencia de nitrato en la recuperación de amonio	250
IV.2.5.3. Aplicación de las condiciones de operación óptimas del sistema DCMD en aguas reales	251

IV.1.6. Conclusiones	252
IV.2. Valorización de residuos en el proceso de foto-Fenton solar para la eliminación de microcontaminantes	254
IV.2.1. Aprovechamiento del residuo líquido obtenido en el procesado de aceite de oliva: alpechín	254
IV.2.1.1. Estabilidad del hierro a diferentes dosis de alpechín	255
IV.2.1.2. Influencia del alpechín en el proceso de foto-Fenton solar.....	257
IV.2.1.3. Comparación de alpechín con EDDS en el proceso de foto-Fenton solar	267
IV.2.2. Aprovechamiento de las sustancias tipo húmicas en el proceso de foto-Fenton solar para la eliminación de microcontaminantes	268
IV.2.2.1. Foto-Fenton solar a escala de laboratorio: simulador solar.....	269
IV.2.2.2. Foto-Fenton solar a escala planta piloto en foto-reactor tipo CPC	274
IV.2.3. Comparación de los residuos valorizados como agentes complejantes del hierro para la degradación de MC mediante foto-Fenton solar a pH neutro.....	277
IV.2.4. Conclusiones	278
V. CONCLUSIONES/CONCLUSIONS.....	283
BIBLIOGRAFÍA.....	290
ÍNDICE DE FIGURAS.....	324
ÍNDICE DE TABLAS.....	330

RESUMEN/SUMMARY

RESUMEN

El aumento constante de la industrialización, la urbanización y el exponencial crecimiento de la población están conduciendo a un alarmante incremento de la escasez hídrica en todo el planeta. A ello se une la problemática sobre riesgos ambientales y salubres asociados a la mala calidad del agua disponible en algunas zonas del mundo. Esto hace que el tratamiento y reutilización de las aguas residuales urbanas sea una cuestión de gran importancia como potencial fuente alternativa de agua para determinadas aplicaciones y sectores económicos. Además, el tratamiento de aguas residuales industriales y urbanas es una exigencia para garantizar la calidad de las aguas naturales. Las estaciones depuradoras convencionales, basadas en tratamientos biológicos, presentan baja efectividad frente a la eliminación de contaminantes de preocupación emergente, vertidos de agua industrial o efluentes de origen bio-recalcitrante (o altamente tóxico), como pueden ser los lixiviados de vertedero. Por lo tanto, es necesario el desarrollo de nuevas estrategias de gestión y tratamiento de estas aguas que incluyan: i) una caracterización de las mismas, mediante técnicas analíticas avanzadas (cromatografía líquida y gaseosa acoplada a espectrometría de masas, para la identificación de contaminantes orgánicos desconocidos), análisis microbiológicos, análisis toxicológicos (a corto y largo plazo) y de biodegradabilidad, así como ii) la integración/combinación de varios procesos físicos y de oxidación química altamente eficientes, que permitan reducir costes y mejorar la calidad del vertido. En este sentido, el elevado potencial de los Procesos Avanzados de

Oxidación (PAO) para la descontaminación de aguas conteniendo este tipo de sustancias es ampliamente reconocido. De esta forma, con los PAO se persigue aumentar la biodegradabilidad de estas aguas residuales lo suficiente como para implementar un sistema biológico posterior, diseñado específicamente para el tratamiento de un agua con características particulares y que siempre irá asociado a un objetivo general de reducción de costes de operación.

El objetivo principal de esta Tesis Doctoral es el tratamiento de aguas residuales industriales y/o no biodegradables para su regeneración, reutilización y revalorización mediante recuperación de nutrientes, estudiando nuevas estrategias y haciendo uso de la energía solar. Para ello se propone una línea de tratamiento basada en la combinación, a escala planta piloto, de un pre-tratamiento físico-químico (coagulación/floculación), PAO (ozonización y foto-Fenton solar) y sistemas biológicos (bio-reactor de lecho fluidizado) con una etapa final de afino basada en sistemas de membranas (destilación por membranas), para la depuración y posible reutilización de lixiviados de vertedero (como ejemplo de agua residual compleja y/o industrial). La evaluación de las tecnologías estudiadas se ha llevado a cabo mediante la aplicación de técnicas analíticas, tanto convencionales (turbidez, pH, conductividad, COD, DQO, nitrógeno total, aniones, cationes, ácidos carboxílicos, aminas, etc.) como avanzadas (cromatografía líquida y de gases acoplada a espectrometría de masas), técnicas microbiológicas (recuento en placa de microorganismos, extracción de ADN, qPCR o técnicas metagenómicas) y estudios de toxicidad y biodegradabilidad mediante respirometría.

En primer lugar, se llevó a cabo la optimización de un pre-tratamiento basado en técnicas físico-químicas de coagulación/floculación (C/F) a escala de laboratorio, mediante el uso de diferentes floculantes y coagulantes comerciales y dos coagulantes comúnmente conocidos y usados para el pre-tratamiento de aguas residuales industriales: FeCl_3 anhidro y $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Se encontró que el sistema más eficaz para la reducción de un mayor porcentaje de turbidez, color, COD y DQO era la adición de 0,5 g/L de FeCl_3 tras reducir el pH del agua residual a 5 (3 min a 100 rpm, 30 min a 30 rpm y 30 min de sedimentación). Posteriormente, se procedió a replicar esta etapa a escala planta piloto con objeto de obtener mayor volumen de agua pre-tratada para continuar experimentalmente con el resto de fases sugeridas para la línea de tratamiento a escala planta piloto. El carácter no biodegradable y la toxicidad media (a corto plazo) de los lixiviados de vertedero se mantuvo tras esta primera etapa de C/F, haciendo necesaria la evaluación del efecto de la

aplicación de PAO sobre la mejora de estos parámetros, previa a su posible combinación con un tratamiento biológico.

Se evaluaron dos PAO: ozonización y foto-Fenton solar. La eficiencia de la ozonización se estudió mediante ensayos a pH alcalino, para evaluar el efecto de la presencia de radicales hidroxilo que dan lugar a un proceso de oxidación indirecta que se suma a la directa mediante ozono, con dos producciones de ozono diferentes: 20% y 50% (1,4 g O₃/h y 3,6 g O₃/h, respectivamente). En todos los casos, el proceso de foto-Fenton solar ofreció mejores resultados respecto a la mejora de biodegradabilidad y reducción de toxicidad, en comparación con los experimentos de ozonización. Se obtuvo una eliminación de COD del 43% y se alcanzó una biodegradabilidad (medida mediante respirometría) de 0,62 con el proceso de foto-Fenton solar después de 7 h de tiempo de iluminación, una energía UV acumulada de 52 kJ/L y un consumo total de 0,5 g/L de H₂O₂; frente a una eliminación de COD de 7-6% y una biodegradabilidad de 0,0046-0,19 obtenido tras la ozonización al 20% y 50% de producción de O₃, respectivamente. En consecuencia, se seleccionó el proceso de foto-Fenton solar como el más interesante para su combinación con un tratamiento biológico posterior.

Para el tratamiento biológico, se empleó un reactor biológico aerobio de lecho fluidizado. Dicho bio-reactor fue colonizado por fangos activos procedentes de una estación depuradora de aguas residuales (EDAR) de la provincia de Almería, fijados sobre soportes de polipropileno. Este tipo de biorreactor ofrece claras ventajas respecto a los convencionales, entre las que se encuentra la mayor durabilidad y resistencia frente a cambios bruscos en las características de las aguas residuales de entrada. El sistema biológico fue operado en modo discontinuo y continuo tras una primera fase de adaptación de la biomasa a los lixiviados de vertedero parcialmente tratados mediante diversas diluciones con el agua residual de alimentación a la EDAR. La operación en modo discontinuo del bio-reactor ofreció una capacidad máxima de tratamiento de 1,35 mg de COD/L·h (6 días de tiempo de residencia) con una mezcla de alimentación de 10 L de lixiviados pre-tratados mediante foto-Fenton solar (tras C/F) (700 mg/L de COD) y 28 L de agua de entrada al tratamiento secundario de la EDAR (COD inicial de la mezcla de 270 mg/L), obteniéndose una eliminación del 80% del DOC inicial. Con respecto a la nitrificación, se logró alcanzar una capacidad máxima de 2,65 mg N-NH₄⁺/L·h. Durante el modo de operación en continuo, se alcanzó una capacidad máxima de tratamiento de 0,71 mg de COD/L·h y una capacidad máxima de nitrificación de 1,40 mg N-NH₄⁺/L·h,

con un flujo de 9,6 mL/min alimentando con una mezcla de 4 L de lixiviado pre-tratado (COD de 700 mg/L, aproximadamente) y 34 L de agua de entrada al tratamiento secundario de la EDAR (COD inicial de la mezcla de 170 mg/L). Al igual que en el modo de operación en discontinuo, la carga orgánica se eliminó hasta una concentración residual de alrededor de 70 mg/L (degradación del 60% de COD), encontrándose, como dato a destacar, una acumulación importante de amonio en el efluente del sistema, procedente de la oxidación de los compuestos orgánicos nitrogenados (200 mg N-NH₄⁺/L). Dicha concentración residual obligaría a la combinación con otro sistema biológico complementario que se centrara en la eliminación específica de nitrógeno. Sin embargo, el trabajo desarrollado en esta Tesis Doctoral se enfocó en intentar aprovechar este efluente del sistema biológico rico en amonio para el riego de cultivos, previo paso por una etapa de recuperación de nitrógeno en forma amoniacal.

Este estudio se llevó a cabo mediante la aplicación de un sistema terciario basado en destilación por membranas. Este trabajo se realizó durante una estancia de tres meses en el “Laboratory of Separation and Reaction Engineering – Laboratory of Catalysis and Materials (LSRE-LCM)” de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Oporto (Portugal), bajo la supervisión del Doctor Adrián Manuel Tavares Da Silva. En primer lugar, se llevó a cabo la optimización de un sistema de destilación por membranas de contacto directo (DCMD) con una membrana comercial de PTFE (polietileno de alta densidad) a escala de laboratorio, para la recuperación de amonio de un efluente de EDAR simulado (de acuerdo con Zhang y col., 2007) mediante un diseño experimental factorial general completo de dos niveles desarrollado en el programa Minitab[®] 18. Se estudiaron los efectos de la concentración de amonio (entre 100 y 400 mg N-NH₄⁺/L), del pH (entre 7 y 12) y la temperatura (entre 40 y 80°C) del caudal de alimentación y de la concentración de la solución receptora de H₂SO₄ (entre 0,01 y 0,5 mol/L de acuerdo con bibliografía y cálculos estequiométricos), empleando en todo caso un caudal fijo de 300 mL/min de ambas corrientes y una temperatura de 20°C del lado del permeado. La destilación por membranas se basa en una separación térmica en la que, tras la evaporación, las moléculas de vapor pasan a través de una membrana hidrófoba microporosa. A ambos lados de la membrana se crea un gradiente de presión que es la fuerza impulsora para que el vapor fluya a través de la membrana y condense al otro lado. Existen varias configuraciones conocidas para la destilación por membranas. Una de ellas es la destilación por membrana de contacto directo (*Direct Contact Membrane Distillation*, DCMD), donde se produce

el contacto directo entre la superficie del lado del permeado de la membrana y la solución acuosa. El componente permeado se condensa directamente en el líquido refrigerante que fluye a través del módulo en el lado del permeado. Esta tecnología tiene un gran potencial para la reutilización de aguas residuales y recuperación de sustancias de valor añadido contenidas en las mismas, como por ejemplo, la recuperación de amonio, uno de los objetivos de esta Tesis Doctoral. Para este fin se requiere una solución receptora de ácido sulfúrico concentrado en el lado de permeado, para favorecer la captación del amoníaco mediante la formación de sulfato de amonio como producto final de recuperación. Las condiciones óptimas de operación encontradas para maximizar la recuperación de amonio en el sistema DCMD fueron pH 12, 80°C de temperatura en el lado de la alimentación, y una concentración de 0,01 M y 0,5 M de H₂SO₄ para las concentraciones de 100 mg N-NH₄⁺/L y 400 mg N-NH₄⁺/L en la alimentación, respectivamente. Además, se comprobó que los nitratos, presentes en elevada concentración a la salida de un sistema biológico cuando la nitrificación funciona correctamente, no tenían influencia significativa en la eficiencia de recuperación de amonio a través del sistema de destilación por membranas. Por último, se aplicaron dichas condiciones óptimas de operación a la recuperación del amonio acumulado en el efluente tratado de los lixiviados de vertedero obtenido tras la línea de tratamiento propuesta, lográndose un factor de recuperación del 53,3%.

Este estudio se complementó con la aplicación de técnicas microbiológicas avanzadas para la evaluación de la nueva población bacteriana originada en el sistema biológico tras la adaptación del fango de EDAR a los lixiviados de vertedero parcialmente tratados, destacándose el aumento de la población de bacterias aminooxidantes (análisis de qPCR) y un crecimiento del 21 al 51% de proteobacterias (técnicas metagenómicas), filo entre las que se incluyen patógenos como la *E. Coli*, *Salmonela* o *Helicobacter*. Finalmente, se aplicaron técnicas cromatográficas avanzadas acopladas a espectrometría de masas para la identificación y seguimiento de compuestos orgánicos presentes en las aguas tratadas. Con ello se pretendía mejorar el conocimiento actual sobre la composición de los lixiviados de vertedero con un análisis de gran alcance, así como evaluar la efectividad o rendimiento de la línea de tratamiento propuesta con respecto a la eliminación de estos contaminantes, inicialmente desconocidos, que se encontraban en las muestras de lixiviados tratados. Para ello, se emplearon estrategias de análisis dirigido (*target analysis*), mediante LC-QqLIT-MS/MS, y de barrido de compuestos sospechosos (*suspect screening*), mediante LC-QTOF-MS y GC-Q-MS, que se aplicaron, tanto a los

lixiviados brutos, como a los efluentes obtenidos después de cada etapa a lo largo de la línea de tratamiento propuesta. Todos los contaminantes detectados se cuantificaron en concentraciones de $\mu\text{g/L}$, destacando ketoprofeno, nicotina, gabapentín, trigonelina, mecrocop o diclofenaco, entre otros (concentraciones entre 319 y 17 $\mu\text{g/L}$). Se confirmó una clara reducción del contenido de microcontaminantes (MC) cuantificados del 94% respecto de la carga inicial. Además, se reveló la presencia de tres MC que no habían sido reportados previamente para este tipo de aguas residuales: el di-n-nonil ftalato, el *o*-fenilfenol y la tonalida.

Otro objetivo parcial de esta Tesis Doctoral fue el aprovechamiento de aguas residuales industriales para diversas aplicaciones, entre las que resulta especialmente interesante la utilización de determinadas sustancias contenidas en algunas aguas residuales como aditivos para mejorar la eficiencia de los PAO. Entre estas sustancias se encuentran los compuestos fenólicos, que pueden actuar como agentes complejantes del hierro, manteniendo este reactivo en disolución a valores de pH cercanos a la neutralidad, y favoreciendo así la aplicación de procesos como el de foto-Fenton para la eliminación de MC presentes en aguas menos complejas al pH natural de las mismas (normalmente por encima de 6). Los MC son sustancias que, aunque se encuentran en concentraciones muy bajas ($\mu\text{g/L}$ - ng/L), han sido reconocidos como potencialmente peligrosas para la salud humana y el medio ambiente. Los PAO, y más concretamente el proceso de foto-Fenton solar, han sido ampliamente estudiados como técnicas viables para la completa eliminación de MC en diferentes tipos de aguas. Además, el empleo de energía solar ofrece una visión sostenible desde el punto de vista energético, encuadrándose esta tecnología dentro de la química verde. En esta Tesis Doctoral se han abordado diferentes estrategias de operación del proceso de foto-Fenton solar a pH neutro como tratamiento terciario para la eliminación de dichos MC. Para este estudio se han seleccionado cuatro MC (a una concentración de 200 $\mu\text{g/L}$ cada uno): clorfenvinfos, diclofenaco, pentaclorofenol y terbutrina. Todos ellos están recogidos en las Directivas Europeas 2013/39/CE y 2008/105/CE como sustancias peligrosas prioritarias y están presentes en diferentes tipos de aguas residuales. Como alternativa al empleo de agentes complejantes comerciales como el EDDS, se han evaluado otras alternativas naturales que permitan formar complejos estables con el hierro durante el proceso de foto-Fenton solar, como el empleo de alpechín (agua residual industrial con elevado contenido en polifenoles) o sustancias tipo húmicas (STH, extraídas del alperujo, residuo procedente de la aceituna

molturada), con la consiguiente valorización, en este caso, de un tipo específico de residuo y de aguas residuales complejas.

La eliminación mediante foto-Fenton solar de los MC seleccionados en agua desmineralizada (a pH cercano a la neutralidad), añadiendo EDDS en una relación molar 1:2 de Fe^{3+} :EDDS y partiendo de una concentración de Fe^{3+} de 5,5 mg/L a escala planta piloto en un foto-reactor tipo CPC, dio lugar a un porcentaje de degradación mayor del 80% respecto a la suma de MC (800 $\mu\text{g/L}$ en total), tras 10 minutos de tiempo de iluminación, 1,68 kJ/L de energía UV acumulada y con un consumo de H_2O_2 de 41,2 mg/L. Además, se estudió el uso de alpechín (OMW, siglas en inglés) para llevar a cabo la complejación del Fe^{3+} y promover el proceso de foto-Fenton solar a pH cercano a la neutralidad para la degradación de los MC. Para ello, primero se estudió la estabilidad del hierro (5,5 mg/L Fe^{3+}) teniendo en cuenta el contenido polifenólico del alpechín tras diferentes diluciones. El objetivo principal fue encontrar la mejor relación Fe^{3+} :polifenoles para la lograr mantener el hierro en disolución, probando diluciones del alpechín superiores e inferiores a 1:200, correspondiente a una relación molar Fe^{3+} :polifenoles de 1:2, y coincidente con la mejor relación Fe^{3+} :EDDS encontrada por otros autores y usada en esta Tesis Doctoral. Los resultados indicaron que el hierro formaba un complejo estable con los componentes del alpechín, pero con características coloidales, pudiendo estar activo en todo el rango de pH y favoreciendo el proceso de foto-Fenton solar. Se eligió una proporción de 1:1200 (24 mg/L de COD aportados por la dilución de alpechín) debido, principalmente, a que diluciones menores aportaban gran cantidad extra de COD, presentando mejoras poco significativas en la complejación del hierro requerido para llevar a cabo el proceso de oxidación de forma efectiva.

Una vez escogida la mejor dilución del alpechín, se evaluó la eliminación de los MC contenidos en diferentes matrices de agua (agua desmineralizada, agua natural, agua natural simulada, agua natural simulada sin carbonatos y aguas simulada de salida del tratamiento secundario de una EDAR) y a diferentes concentraciones de los mismos (200 y 40 $\mu\text{g/L}$ de cada uno de ellos) mediante foto-Fenton solar a pH neutro en un foto-reactor tipo CPC. La eficiencia de los polifenoles presentes en el alpechín como agente complejante del hierro a pH neutro quedó demostrada, aunque la experimentación desarrollada mostró que el proceso de oxidación estuvo activo solo durante los primeros 20 minutos de tratamiento, lo que se traduce en una baja estabilidad del complejo Fe^{3+} :polifenoles a largo plazo. La reducción del pH a 4 (ligeramente superior al óptimo

para el proceso de foto-Fenton) dio lugar a un significativo incremento en la velocidad de degradación de los MC, debido a la mejora en la estabilidad del complejo formado con los polifenoles, tal y como cabía esperar.

Como alternativa al alpechín, se evaluó el empleo de residuos sólidos procedentes también de la industria olivarera. Es el caso de las STH extraídas del alperujo, que fueron facilitadas por la Universidad Politécnica de Valencia (Campus de Alcoy) y empleadas como agentes complejantes del hierro en el proceso de foto-Fenton solar. Para determinar la eficacia de estas sustancias, en primer lugar, se optimizaron los parámetros operacionales a escala de laboratorio: la concentración de peróxido de hidrógeno (10 y 20 mg/L), el pH (5 y 7) y la concentración de STH (10, 20 y 50 mg/L) con 5,5 mg/L de Fe^{3+} en agua natural y 200 $\mu\text{g/L}$ de cada MC. Las condiciones de operación seleccionadas como más favorables fueron 10 mg/L de STH, 10 mg/L de H_2O_2 y pH neutro, con las que se logró un 66% de degradación de la suma de MC. Seguidamente, se evaluaron las mejores condiciones de operación anteriormente descritas a escala planta piloto en un foto-reactor tipo CPC en diferentes matrices de agua (agua natural y agua simulada de salida del tratamiento secundario de una EDAR) y 200 $\mu\text{g/L}$ de cada MC obteniéndose una degradación del 80% de la suma de MC tras 240 minutos de tratamiento y 50 kJ UV/L.

En general, el trabajo desarrollado en esta Tesis Doctoral pone de manifiesto el problema existente con las aguas residuales industriales complejas y su posterior tratamiento, reutilización y/o revalorización, proponiéndose una línea de tratamiento para lixiviados de vertedero, a modo de ejemplo. La combinación de procesos físico-químicos, PAO, tratamientos biológicos y una etapa de refinado mediante destilación por membranas permite mejorar la calidad de estos efluentes a la vez que hace posible la recuperación del amonio residual después del tratamiento biológico para fines de irrigación y reduce la carga total de microcontaminantes. Asimismo, este trabajo abre las puertas a nuevas alternativas para la aplicación del proceso de foto-Fenton solar a pH neutro como tratamiento terciario para la eliminación de MC en efluentes de EDAR, valorizando residuos industriales complejos como el alpechín y el alpeorujo, utilizados como agentes complejantes del hierro (III).

SUMMARY

The steady increase in industrialization, urbanization and exponential population growth are leading to an alarming increase in water scarcity throughout the planet. This is coupled with the problem of environmental and health risks associated with poor water quality available in some areas of the world. This makes the treatment and reuse of urban wastewater a major issue as a potential alternative source of water for certain applications and economic sectors. In addition, the treatment of industrial and urban wastewater is a requirement to guarantee the quality of natural water. Conventional wastewater treatment plants, based on biological treatments, have low effectiveness against the elimination of contaminants of emerging concern, industrial wastewater discharges or effluents of bio-recalcitrant origin (or highly toxic), such as landfill leachate. Therefore, it is necessary to develop new strategies for the management and treatment of these wastewaters that include: (i) a characterization of them, using advanced analytical techniques (liquid and gas chromatography coupled with spectrometry for the identification of unknown organic pollutants), microbiological analyses, toxicological analyses (short and long term) and biodegradability analyses, as well as (ii) integration/combination of multiple highly efficient physical and chemical oxidation processes, which allow to reduce costs and improve the quality of the discharge. In this sense, the high potential of Advanced Oxidation Processes (AOPs) for decontamination of water containing this type of

substance is widely recognized. In this way, AOPs aim to increase the biodegradability of this wastewater enough to implement a subsequent biological system, designed specifically for the treatment of water with particular characteristics and that will always go associated with an overall target of reducing operating costs.

The main aim of this PhD Thesis is the treatment of industrial and/or non-biodegradable wastewater for regeneration, reuse and revaluation through nutrients recovery, by studying new strategies and making use of solar energy. To that effect, a treatment line is proposed based on the combination, at pilot plant scale, of a pre-treatment physico-chemical (coagulation/flocculation), AOP (ozonation and solar photo-Fenton) and biological systems (fluidized bed bio-reactor) with a final polishing stage based on membrane systems (membrane distillation), for the purification and possible reuse of landfill leachate (as an example of complex and/or industrial wastewater). The evaluation of the technologies studied has been carried out through the application of analytical techniques, both conventional (turbidity, pH, conductivity, COD, DOC, total nitrogen, anions, cations, carboxylic acids, amines, etc.) and advanced (liquid and gas chromatography coupled to mass spectrometry), microbiological techniques (microorganism plate count, DNA extraction, qPCR or metagenomic techniques) and toxicity and biodegradability studies through respirometry.

Firstly, the optimization of a pre-treatment based on physico-chemical coagulation/flocculation (C/F) techniques at laboratory scale was carried out, using different commercial flocculants and coagulants and two commonly known coagulants used for industrial wastewater pre-treatment: FeCl_3 anhydrous and $\text{Ca}(\text{OH})_2$. It was found out that the most effective system for reducing a higher percentage of turbidity, colour, COD and DOC was the addition of 0,5 g/L of FeCl_3 after reducing the pH of the wastewater to 5 (3 minutes at 100 rpm, 30 minutes at 30 rpm and 30 minutes of sedimentation). Subsequently, this stage was replicated on a pilot plant scale in order to obtain a higher volume of pre-treated wastewater to continue experimentally with the other suggested stages in the treatment line at pilot plant scale. The non-biodegradable character and the medium toxicity (short-term) of landfill leachates was maintained after this first stage of C/F, making it necessary to assess the effect of the application of an AOP on the improvement of these parameters, prior to the possible combination with a biological treatment.

Two AOPs evaluated were: ozonation and solar photo-Fenton. Ozonation efficiency at alkaline pH was studied, to evaluate the effect of the presence of hydroxyl radicals resulting in an indirect oxidation process, which is added to the direct oxidation through ozone, with two different ozone productions: 20% and 50% (1.4 g O₃/h and 3.6 g O₃/h, respectively). In all cases, the solar photo-Fenton process offered better results in improving biodegradability and reducing toxicity, compared to the ozonation experiments. 43% DOC elimination was obtained and a biodegradability (measured by respirometry) of 0.62 was achieved with the solar photo-Fenton process after 7 h irradiation time, accumulated UV energy of 52 kJ/L and a total consumption of 0.5 g/L of H₂O₂; compared to a DOC removal of 7-6% and a biodegradability of 0.0046-0.19 obtained after ozonation at 20% and 50% of production of O₃, respectively. As a result, the solar photo-Fenton process was selected as the most interesting for its combination with subsequent biological treatment.

For the biological treatment, a fluidized bed aerobic biological reactor was used. This bio-reactor was colonized by active sludge from a municipal wastewater treatment plant (MWWTP) of Almería (Spain), fixed on polypropylene supports. This type of bioreactor offers clear advantages over conventional, including the durability and resistance to sudden changes in inlet wastewater characteristics. The biological system was operated in discontinuous and continuous mode after a first phase of adapting biomass to partially treated landfill leachates by several dilutions with influent wastewater from the MWWTP. The bio-reactor discontinuous operation offered maximum treatment capacity of 1.35 mg DOC/L·h (6 days of residence time) with a feed mixture of 10 L of pre-treated landfill leachate using solar photo-Fenton (after C/F, 700 mg/L DOC) and 28 L of inlet wastewater to the secondary treatment of MWWTP (initial DOC of the mixture of 270 mg/L), achieving an 80% elimination of the initial DOC. With regard to nitrification, a maximum capacity of 2.65 mg N-NH₄⁺/L·h was achieved. During the continuous operation mode, it was achieved a maximum treatment capacity of 0.71 mg DOC/L·h and a maximum nitrification capacity of 1.40 mg N-NH₄⁺/L·h, with 9.6 mL/min as flow feeding with a mixture of 4 L pre-treated landfill leachate (700 mg/L DOC, approx.) and 34 L of inlet wastewater to the secondary treatment of the WWTP (initial DOC of the mixture of 170 mg/L). As in discontinuous operation mode, the organic charge was removed until a residual concentration of about 70 mg/L (60% DOC degradation), finding out, as a highlight, a significant ammonium accumulation in the effluent, originating from

the nitrogenous organic compounds oxidation (200 mg N-NH₄⁺/L). Such a residual concentration would require the combination with another complementary biological system that would focused on the specific elimination of nitrogen. However, the work developed in this PhD Thesis focused on trying to take advantage of this effluent of the biological system rich in ammonium for crop irrigation, having gone by through a nitrogen recovery stage in ammoniacal form.

This study was carried out by applying a tertiary system based on membrane distillation during a three-month stay in the "Laboratory of Separation and Reaction Engineering – Laboratory of Catalysis and Materials (LSRE-LCM)" from the Faculty of Engineering of the University of Porto (Portugal), under Dr. Adrián Manuel Tavares Da Silva supervision. First, optimization of a direct contact membrane distillation system (DCMD) was carried out with a commercial PTFE membrane (high-density polyethylene) at laboratory scale, for the recovery of ammonium from simulated WWTP secondary effluent (according to Zhang et al., 2007) through a comprehensive two-tiered general factorial experimental design developed in Minitab[®] 18 program. The effects of ammonium concentration (between 100 and 400 mg N-NH₄⁺/L), of the pH (between 7 and 12) and the temperature (between 40 and 80°C) of the feed flow and of the concentration of the receiving solution of H₂SO₄ (between 0.01 and 0.5 mol/L according to bibliography and stoichiometric calculations) were studied, employing in each case a fixed flow of 300 mL/min of both currents and a temperature of 20 °C on the permeate side. Membrane distillation is based on a thermal separation where, after the evaporation, steam molecules go by through a hydrophobic microporous membrane. In both sides of the membrane a pressure gradient that is the driving force for steam to flow through the membrane and condense on the other side is created. There are several configurations for membrane distillation. One of them is direct contact membrane distillation, where direct contact occurs between the surface of the membrane permeate side and the aqueous solution. The permeated component condenses directly into the coolant that flows through the module on the permeate side. This technology has great potential for wastewater reuse and the recovery of added value substances contained in it, for example, ammonium recovery, one of the objectives of this PhD Thesis. For that purpose, it is required a receiving solution of concentrated sulfuric acid on the permeate side, to favour the ammonia uptake through the formation of ammonium sulfate as a final recovery product. Optimal operating conditions found to maximize ammonium recovery in DCMD system

were pH 12, 80 °C of temperature on the feeding side, and a concentration of 0.01 M and 0.5 M H₂SO₄ to the concentrations of 100 mg N-NH₄⁺/L and 400 mg N-NH₄⁺/L in the feeding, respectively. In addition, it was checked that the nitrates concentration, which are present at high concentration at the effluent of a biological system when nitrification works properly, did not have any significant influence in the ammonium recovery efficiency through the membrane distillation system. Finally, these optimal operating conditions were applied to the accumulated ammonium recovered from the treated effluent, obtained after the landfill leachates proposed treatment line, achieving a recovery percentage of 53.3%.

This study was complemented by advanced microbiological techniques application for the evaluation of the new bacterial population originating in the biological system, after the adaptation of the sludge from the MWWTP to the partially treated landfill leachates, highlighting the increase in the population of amino oxidizing bacteria (qPCR analysis) and a growth of 21 to 51% of proteobacteria (metagenomic techniques), which include pathogens such as *E. coli*, *Salmonella* or *Helicobacter*. Finally, advanced chromatographic techniques coupled to mass spectrometry were applied for the identification and monitoring of organic compounds present in the treated wastewaters. This was intended to improve current knowledge on the landfill leachates composition with a high-scope analysis, as well as to assess the effectiveness or performance of the proposed treatment line concerning the elimination of the initially unknown contaminants, which were found in the treated landfill leachate samples. To do this, *target analysis* strategies were used, using LC-QqLIT-MS/MS, and scanning of suspect *screening*, using LC-QTOF-MS and GC-Q-MS, which were applied to both raw landfill leachates and to landfill leachates effluents obtained after each stage along the proposed treatment line. All of the contaminants detected were quantified in concentrations of µg/L, highlighting ketoprofen, nicotine, gabapentin, trigonelin, meclofenac or diclofenac, among others (concentrations between 319 and 17 µg/L). A clear reduction in the content of quantized micropollutants (MCs) from 94% with respect to the initial charge was observed. In addition, it was revealed that three MCs had not previously been reported for this type of wastewater: the di-n-nonyl phthalate, o-phenylphenol and tonalide.

Another partial objective of this PhD Thesis was the reuse for industrial wastewater for several applications, among which it is particularly interesting the valorization of certain residues contained in some complex wastewater, such as additives to improve the

efficiency of AOPs. These substances include phenolic compounds, which can act as complexing agents of iron, keeping this reagent in solution at circumneutral pH, and thus favoring the application of processes such as photo-Fenton at natural pH for the elimination of MCs present in less complex wastewaters (usually above 6). MCs are substances that, although found in very low concentrations ($\mu\text{g/L}$ - ng/L), have been recognized as potentially dangerous to human health and the environment. The AOPs, and more specifically the solar photo-Fenton process, has been extensively studied as a viable technique for the complete elimination of MCs in different types of water. In addition, the use of solar energy offers a sustainable view from the energetic point of view, framing this technology within green chemistry. In this PhD Thesis, we have dealt with different process operating strategies of photo-Fenton solar at neutral pH, as tertiary treatment for eliminating MCs. For this study, four MCs (at a concentration of 200 g/L each) were selected: chlorfenvinphos, diclofenac, pentachlorophenol and terbutrine. All of them are contained in the European Directives 2013/39/EC and 2008/105/EC as priority hazardous substances and are present in different types of wastewater. As an alternative to the use of complexing commercial agents such as EDDS, other natural alternatives have been evaluated to form stable complexes with iron during the solar photo-Fenton process, such as the use of olive mill wastewater (alpechín, industrial residual wastewater with high polyphenol content) or humic-like substances (STH, extracted from the alperujo, residue coming from molturate olives), with the consequent revalorization, in this case, of a specific type of waste and complex wastewater.

The selected MCs removal through solar photo-Fenton in demineralized water (at circumneutral pH), adding EDDS in a 1:2 molar ratio of Fe^{3+} :EDDS and starting from a Fe^{3+} concentration of 5.5 mg/L at pilot plant scale in a CPC photo reactor were carried out. More than 80% degradation with respect to the sum of MC (800 $\mu\text{g/L}$ in total), after 10 minutes of irradiation time, 1.68 kJ/L of accumulated UV energy and a H_2O_2 consumption of 41.2 mg/L, was obtained. In addition, the use of alpechín (OMW) was studied to carry out the Fe^{3+} complexion and promote the process of photo-Fenton solar at neutral pH for the degradation of MCs. To this end, the stability of iron (5.5 mg/L Fe^{3+}) was first studied taking into account the polyphenolic content of the alpechín after different dilutions. The main goal was to find the best Fe^{3+} : polyphenols rate to keep the iron in dissolution, testing several dilutions of the alpechín above and below 1:200, corresponding to a 1:2 molar rate of Fe^{3+} :polyphenols, and coincident with the best Fe^{3+} :

EDDS relation found by other authors and used in this PhD Thesis. The results indicated that the iron formed a stable complex with components of alpechín, but with colloidal characteristics, being able to be active across the full pH range and favouring the photo-Fenton solar process. A 1:1200 dilution (24 mg/L DOC) was selected due to, mainly, the fact that minor dilutions contributed a large extra amount of DOC, presenting little significant improvements in the iron complexation required to carry out the oxidation process effectively.

Once the best dilution of alpechín was chosen, the removal of MCs contained in different water matrices (demineralized water, natural water, simulated natural water, simulated natural water without carbonates and simulated secondary effluent of MWWTP) and at different concentrations of them (200 and 40 µg/L of each them) through solar photo-Fenton process at neutral pH in a CPC photo-reactor was evaluated. The high efficiency of polyphenols present in alpechín as a complexing agent of iron at neutral pH was demonstrated, although the developed experimentation showed that the oxidation process was active only for the first 20 minutes of treatment, which translates into a low stability of the Fe³⁺:polyphenols complex in the long term. The reduction in pH to 4 (slightly higher than optimal for the photo-Fenton process) resulted in a significant increase in the rate of degradation of MCs, due to improved complex stability formed with polyphenols, as it would be expected.

As an alternative to the alpechín, the use of solid waste from the olive industry was assessed. This is the case of the STHs extracted from alperujo, which were provided by the Polytechnic University of Valencia (Alcoy Campus) and used as complexing iron agents in solar photo-Fenton process. In order to determine the efficacy of these substances, first, operational parameters were optimized at lab-scale. The concentration of hydrogen peroxide (10 and 20 mg/L), pH (5 and 7) and STH concentration (10, 20 and 50 mg/L) with 5.5 mg/L of Fe³⁺ in natural water and 200 µg/L of each MC, were tested. The operating conditions selected as more favorable were 10 mg/L of STH, 10 mg/L of H₂O₂ and neutral pH, with which a 66% of degradation of the sum of MCs was achieved. Next, the best operating conditions described above were evaluated at pilot plant scale in a CPC photo-reactor in different water matrices (natural water and simulated secondary effluent of MWWTP) and 200 µg/L of each MC resulting in an 80% degradation of the MCs sum after 240 minutes of treatment and 50 kJ UV/L.

In general, the work developed in this PhD Thesis highlights the existing problem with complex industrial wastewater and its subsequent treatment, reuse and/or revalorization, a treatment line for landfill leachates is proposed, by way of example. The combination of physico-chemical processes, AOPs, biological treatments and a refining stage by membrane distillation allows improving the quality of these effluents while improving the recovery of residual ammonium after biological treatment for irrigation purposes and reduces the total load of MCs. In the same way, this work opens the doors to new alternatives for the application of solar photo-Fenton process at neutral pH as tertiary treatment for the elimination of MCs in MWWTP effluents, valuing complex industrial waste like alpechín and alpeorujo, used as complexing iron agents (III).

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

A	Adenina
A/O	Biorreactor Anóxico/aeróbico
ACN	ACetoNitrilo
AD	Agua Desmineralizada
ADN	Ácido DesoxirriboNucléico
ADNr	ADN ribosómico
AF	Ácidos Fúlvicos
AFBR	Reactor de lecho fluidizado anaerobio, Anaerobic Fluidized-Bed Reactor
AGS	Lodos granulados aerobios, Aerobic granular sludge
AH	Ácidos húmicos
AMO	Amonio MonoOxigenasa
AN	Agua Natural
ANS	Agua Natural Simulada
AOB	Ammonium Oxidacing Bacteria
APCI	Ionización química a presión atmosférica, Atmospheric Pressure Chemical Ionization
API	Ionización a presión atmosférica, Atmospheric Pressure Ionization
ARB	Anoxic aged Refuse-based Bioreactor
ARI	Agua/s Residual/es Industrial/es
ARN	Ácido RiboNucléico
ARNr	ARN ribosómico
ASBO	Aerobic activated Sludge Biological pre-Oxidation
ASS	Agua Simulada de Salida del Secundario de una EDAR

C	Citosina
C/F	Coagulación/Floculación
CA	Carbón activo
CAS	Reactor de fangos activos convencional, Conventional Activated Sludge
CE	Comisión Europea
CEC	Contaminantes de preocupación emergente, Contaminants of Emerging Concern
CI	Cromatografía iónica, Ionic Chromatography
CIT	Carbono Inorgánico Total
COD	Carbono Orgánico Disuelto
COT	Carbono Orgánico Total
COV	Compuestos Orgánicos Volátiles
CPC	Captador Parabólico Compuesto
CT	Carbono Total
CT	Umbral de ciclo, Cycle Threshold
CVP	Clorfenvinfos, ChlorfenVinPhos
DAD	Diode Array Detector
DBO ₅	Demanda Biológica de Oxígeno
DCF	Diclofenaco, DiCloFenac
DCMD	Destilación por membranas de contacto directo, Direct Contact Membrane Distillation
DEET	N, N-Dietil-meta-toluamida, N,N-Diethyl-3-methylbenzamid
DHS	Down-flow Hanging Sponge
DI	Inyección directa, Direct Injection
DMA	Directiva Marco del Agua

DQO	Demanda Química de Oxígeno
DQO _b	Fracción biodegradable de la DQO
DUASB	UASB desnitrificante, Denitrificant UASB
E1	Estrona
E2	17 β -estradiol
EC	Métodos electroquímicos, ElectroChemical
EDAR	Estación/es Depuradora/s de Aguas Residuales
EDDS	ácido etilendiamina-N, N'-disuccínico, Ethylenediamine-N,N'-disuccinic acid
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético, Ethylenediaminetetraacetic acid
EE2	17 α ethinylestradiol
EGSB	Expanded Granular Sludge Bed
EI	Impacto electrónico, Electron Ionization
EPA	United States Environmental Protection Agency
ESI	ElectroSpray Ionization
FA	Formaldehído
FF	Foto-Fenton
FO	Ósmosis reversa
G	Guanina
GAC	Carbón activo granulado, Granular Activated Carbon
GC	Cromatografía de gases, Gas Chromatography
HAO	HidroxilAmina Oxidoreductasa
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución, High Perfomance Liquid Chromatography

HRMS	Espectrometría de masas de alta resolución, High-Resolution Mass Spectrometry
IBR	Reactor de biomasa inmovilizada, Immobilized Biomass Reactor
IC	Ionización química, Chemical Ionization
LC	Cromatografía de líquidos, Liquid Chromatography
LLE	Extracción en fase líquida, Liquid-Liquid Extraction
LOD	Límite de detección, Limit Of Detection
LOQ	Límite de cuantificación, Limit Of Quantification
LRMS	Espectrometría de masas de baja resolución, Low Resolution Mass Spectrometry
MAP	Estruvita, fosfato de amonio y magnesio, Magnesium Ammonium Phosphate
MBBR	Reactor de biopelícula de lecho móvil, Moving Bed Biofilm Reactor
MBR	Biorreactor de membrana, Membrane Bioreactor
MC	MicroContaminantes orgánicos
MD	Destilación por membranas, Membrane Distillation
MeOH	Metanol
MF	MicroFiltración
MS	Espectrometría de masas, Mass Spectrometry
MS/MS	Espectrometría de masas en tándem, Tandem mass spectrometry
MWWTP	Municipal WasteWater Treatment Plant
NDIR	Detector infrarrojo no dispersivo, Non Dispersive Infrared Detector
NF	NanoFiltración
NGS	Secuenciación de segunda generación, Next-Gen Sequencing
NTA	Ácido nitrilotriacético, nitrilotriacetic acid

NTU	Unidades nefelométricas de turbidez, Nephelometric Turbidity Unit
OD	Oxígeno Disuelto
OMW	Alpechín, Olive Mill Wastewater
OUR	Tasa de respiración
PAB	Passive Aerated immobilized biomass Reactor
PAC	Carbón activo en polvo, Powder Activated Carbon
PAH	Hidrocarburos aromáticos policíclicos, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons
PAO	Procesos Avanzados de Oxidación
PCP	Pentaclorofenol, PentaChloroPhenol
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa, Polymerase Chain Reaction
PF	Polifenoles
PFOA	Ácido perfluorooctanoico, PerFluoroOctanoic Acid
PIMA	Aireación fotoquímica mediada por hierro,
PS	Sustancias prioritarias, Priority Substances
PSA	Plataforma Solar de Almería
PTFE	PoliTetraFluoroEtileno, Polytetrafluoroethylene
qPCR	Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real, real time Polymerase Chain Reaction
QqLiT-MS/MS	Trampa de iones lineal MS/MS, Quadrupole Linear Ion Trap MS/MS
QqQ-MS/MS	Triple cuadrupolo MS/MS, Triple quadrupole MS/MS
QTOF	Cuadrupolo acoplado a TOF, Quadrupole Time Of Flight
QTRAP	Cuadrupolo trampa de iones, Quadrupole ion trap
QUV	Energía UV acumulada

RLF	Reactor de Lecho Fijo, Reactor de lecho fluidizado
RO	Ósmosis inversa, Reverse Ósmosis
rpm	Revoluciones Por Minuto
RSU	Residuos Sólidos Urbanos
S1	Soportes del RLF, altura superior columna
S2	Soportes del RLF, altura media columna
S3	Soportes del RLf, altura inferior columnma
SAARB	Semi-Aerobic Aged Refuse Biofilter
SAR	Reactor de aireación sumergido, Submerged Aeration Reactor
SBGR	Sequencing Batch Biofilter Granular Reactor
SBBR	Reactor secuencial por lotes de biopelícula, Sequencing Batch Biofilm Reactor
SBR	Reactor secuencial por lotes, reactor discontinuo secuencial, Sequencing Batch Reactor
SCBR	Suspended-Carrier Biofilm Reactor
SPE	Extracción en fase sólida, Solid Phase Extraction
SPME	Microextracción en fase sólida, Solid Phase Micro Extraction
SRM	Selected Reaction Monitoring
SS	Sólidos en Suspensión
SST	Sólidos en Suspensión Totales
ST	Sólidos Totales
STH	Sustancias Tipo Húmicas
STR	Reactor de tanque agitado, Stirred-Tank Reactor
STS	Sólidos Totales en Suspensión
SV	Sólivos Volátiles

SVS	Sólidos Volátiles en Suspensión
SVT	Sólidos Volátiles Totales
T	Timina
TBT	Terbutrina, TerBuTryn
TDS	Sólidos Disueltos Totales
TIC	Cromatograma de iones totales, Total Ion Chromatogram
TKN	Nitrógeno Kjehldal, Total Kjehldal Nitrogen
TOF	Espectrometría tiempo de vuelo, Time Of Flight
TPH	Total Petroleum Hydrocarbon
TR	Tiempo de Retención
TRH	Tiempo de Retención Hidráulico
UASB	Reactor anaerobio de flujo ascendente, Upflow Anaerobic Sludge Blanket
UE	Unión Europea
UF	UltraFiltración
UFC	Unidad Formadora de Colonias
UHPLC	Cromatografía líquida de ultra alta resolución, Ultra High Perfomance Liquid Chromatography
US	UltraSonidos
UV	UltraVioleta
UV/Vis	UV/Visible
WWTP	WasteWater Treatment Plant
XOC	Compuestos Orgánicos Xenobióticos,

INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

I.1. El problema de la escasez y la contaminación del agua

El desarrollo de la vida y la mayoría de las actividades humanas (urbanas, industriales, agrícolas, ganaderas, ambientales, recreativas y de producción energética) necesitan de un recurso fundamental como es el agua. Aunque el 70% de la superficie del planeta está cubierta de agua, la mayor parte de ella es salada (mares y océanos) o se encuentra en glaciares y/o en lugares de difícil acceso. En conclusión, la disponibilidad de recurso hídrico de calidad es limitada, menor al 1% del total, y se encuentra principalmente en aguas superficiales (ríos, lagos, lagunas) y subterráneas (humedad del suelo y acuíferos). Pese a tratarse de un recurso renovable, la sobreexplotación y la contaminación que provocan diversas actividades humanas hacen que los recursos hídricos estén en riesgo.

Más concretamente, el agotamiento de las aguas subterráneas, la reducción del caudal en los ríos y el deterioro de la calidad del agua, indican que los niveles actuales de uso del agua superan los límites sostenibles en muchas partes del mundo (Moretti y col., 2019). En la actualidad, alrededor de 700 millones de personas en 43 países sufren escasez de agua. Las Naciones Unidas esperan que para 2025, en el escenario de cambio climático en el que nos encontramos, casi 1.800 millones de personas vivan en áreas de alto estrés hídrico (UNDESA, 2015). El aumento de la población y el cambio climático son en gran medida responsables de este problema (Gosling y Arnell, 2016). Varios estudios han

explorado cómo estos dos factores podrían afectar a la escasez global de agua en el futuro mediante el uso de proyecciones de población y cambios simulados en el clima a partir de modelos climáticos globales y con modelos de recursos hídricos (Arnell y col., 2011; Gosling y col., 2010; Hayashi y col., 2010).

Uno de los sectores que más contribuye a este estrés hídrico es el sector agrícola, debido a que es el principal consumidor de agua dulce del mundo. Alrededor del 70% del agua dulce mundial se utiliza para cultivar alimentos, en comparación con el 20% que se usa en la industria y el 10% destinado a uso doméstico (Pfister y Bayer, 2014).

Aunque casi todas las actividades humanas pueden afectar adversamente a la calidad del agua, las descargas procedentes de las actividades agrícolas, así como las plantas de tratamiento de aguas residuales industriales y municipales, pueden considerarse como las principales fuentes de contaminación química en los ecosistemas acuáticos (Schwarzenbach y col., 2010).

En conclusión, las claves para una gestión sostenible del agua incluyen la reducción del consumo desmedido y la conservación de la calidad de las fuentes naturales mediante el tratamiento de las aguas contaminadas y la reutilización de las mismas. Teniendo en cuenta la contaminación del agua y el nivel de estrés hídrico, tanto las autoridades ambientales como la comunidad científica deben trabajar juntos para encontrar una solución a ello mediante un continuo desarrollo tecnológico. En la actualidad, se comienza a considerar como alternativa el tratamiento de aguas residuales para su reutilización en agricultura o para ciertos usos industriales con los beneficios sociales, ambientales y económicos que esto conlleva.

I.2. Gestión de vertido de aguas residuales industriales

Las aguas residuales industriales son aquellas que resultan de cualquier actividad industrial que use agua en su proceso de producción, transformación o manipulación. Suelen contener sólidos en suspensión, materia orgánica, patógenos, nutrientes, metales pesados y sólidos inorgánicos disueltos, además de sustancias tóxicas y/o materia orgánica refractaria, la cual aparece en ocasiones en concentraciones altas incluso lejos de sus focos de emisión (Meyer y col., 2007). Estos efluentes ocasionan numerosos problemas y un alto impacto ambiental al aportar una gran variedad de sustancias tóxicas.

El principal problema de estos vertidos es la dificultad de depuración, puesto que contienen contaminantes recalcitrantes, en ocasiones, con elevado potencial de bioacumulación que resultan muy agresivos para el medio ambiente. Por tanto, es necesario el desarrollo de leyes que impidan, frenen o regulen estos vertidos y así evitar o minimizar los efectos adversos que suponen sobre el medio ambiente.

Los vertidos industriales son muy diversos. Cada industria produce distintos tipos de contaminantes, por lo que es necesaria la aplicación de tratamientos a medida y específicos para cada actividad. Para el tratamiento apropiado de las aguas residuales industriales es necesario caracterizar exhaustivamente estos efluentes, definir y controlar los puntos de vertido y elegir los métodos de depuración más adecuados en cada caso. La Figura I.1 muestra las posibles fases de tratamiento de un agua residual industrial:

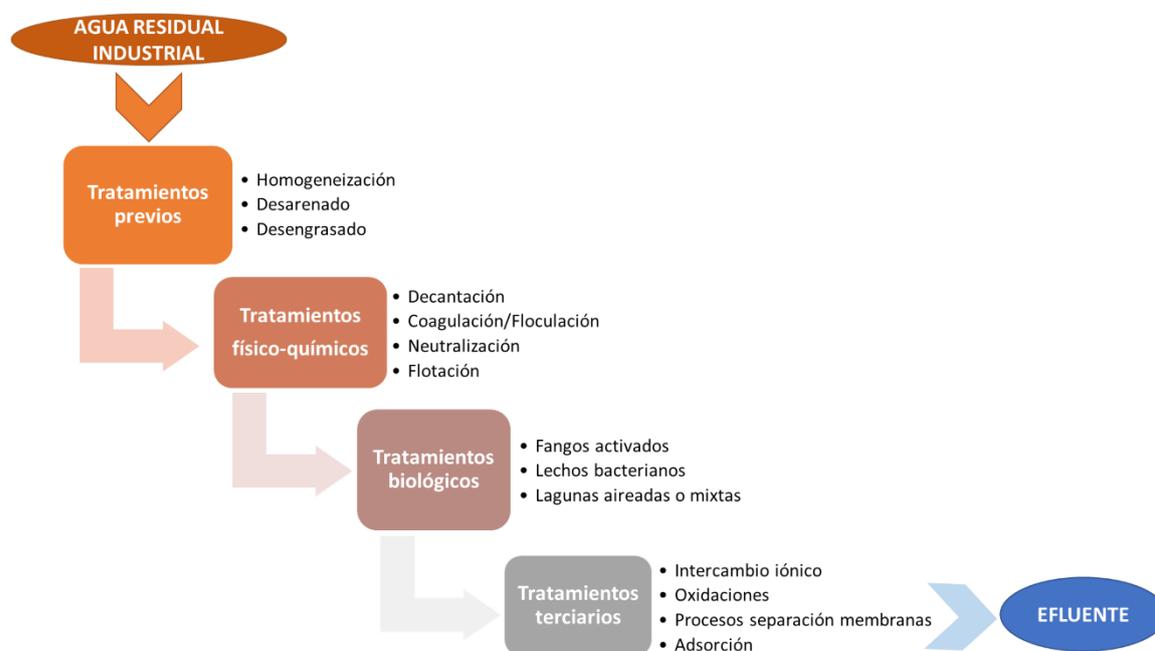


Figura I.1. Esquema del tratamiento de aguas residuales industriales.

Tanto con los tratamientos previos como con los tratamientos físico-químicos, se persigue la eliminación de los residuos sólidos de mayor tamaño, eliminando una fracción de los sólidos en suspensión y de la materia orgánica del agua residual. El tratamiento biológico está principalmente encaminado a la eliminación de los compuestos orgánicos biodegradables. Y, por último, los tratamientos terciarios son tratamientos adicionales enfocados a la eliminación de contaminantes orgánicos no biodegradables por los

procesos biológicos secundarios, de organismos patógenos (incluyendo la desinfección) y de nutrientes, como nitrógeno y fósforo.

Existe una regulación específica para los vertidos de aguas residuales industriales, según se realicen al Dominio Público Hidráulico o al Sistema Integral de Saneamiento (red de alcantarillado). Estos vertidos están sometidos a diferentes impuestos, dependiendo de dónde se descargue el efluente. Por ejemplo, el impuesto de control de residuos regula las descargas en el Dominio Público Hidráulico en todo el país, mientras que el impuesto sanitario regula las descargas en el sistema de red de alcantarillado local (Román Sánchez y col., 2014). La cantidad recaudada se utiliza para financiar los costes de tratamiento de las aguas residuales urbanas, necesarios para llevar a cabo los servicios generales.

La Directiva de Control y Prevención Integrada de la Contaminación (96/61/CE) es la que regula los efluentes industriales, definiendo las obligaciones a cumplir por las actividades industriales, recogiendo un conjunto de normas para su autorización y fijando requisitos principalmente en cuanto a la minimización de emisiones a la atmósfera, agua, suelo y sus residuos. Esta Directiva fue sustituida por la Directiva 2008/1/CE y posteriormente por la Directiva 2010/75/UE. Ésta, en España, se articula en el Real Decreto Legislativo 1/2016 15, el cual integra las sucesivas modificaciones introducidas en la primera ley nacional relativa, la Ley 16/2002, en la que se regula todo lo relacionado en materia ambiental para este tipo de instalaciones y actividades.

I.3. Normativa para la reutilización de aguas residuales industriales en Europa y España

Las normas que regulan la depuración de las aguas residuales industriales normalmente se basan en la eliminación de materia orgánica, sólidos en suspensión y patógenos. Cuando el objetivo final es la reutilización de dicha agua, las normativas son más severas, debido a que además se requiere la eliminación de compuestos refractarios, metales pesados e incluso sólidos inorgánicos disueltos. Todas estas normas van dirigidas a minimizar los riesgos medioambientales, asegurando un uso sostenible del agua.

La Unión Europea realizó, a partir de los años 70, una expansión y reestructuración de su política en materia de aguas mediante la aplicación de diferentes directivas encaminadas a proporcionar niveles de calidad mínimos para diversos tipos de aguas, como las de baño

(Directiva 76/160/CEE, Directiva 2006/7/CE) o las destinadas a consumo humano (Directiva 80/778/CE). En los años 90, se estableció la Directiva de Aguas Residuales (Directiva 91/271/CEE, que fue modificada por la Directiva 98/15/CE) con el objetivo de resolver los problemas de contaminación debidos a las aguas residuales urbanas, del sector agrícola y de las grandes instalaciones industriales.

Actualmente, el principal instrumento político para la gestión del agua es la Directiva Marco del Agua (DMA) (Directiva 2000/60/EC). Fue establecida por la Comisión Europea (CE) en el año 2000 para garantizar que los ecosistemas tengan suficiente agua, tanto en términos de cantidad como de calidad. La DMA fue ampliada y modificada por la Directiva 2006/11/CE. Implementó una nueva política para la prevención y control de la contaminación de aguas de transición, aguas subterráneas, aguas costeras y aguas superficiales continentales. Las estrategias de la DMA contra la contaminación del agua se basan en medidas para reducir progresivamente la emisión y descarga de sustancias químicas, conocidas como sustancias prioritarias (PS), que representan un riesgo para el medio ambiente. Así, la primera lista de estas sustancias elaborada en la Decisión 2455/2001/CE (Anexo X de la DMA) consistió en un total de 33 PS, 13 de las cuales se consideran sustancias prioritarias peligrosas. Según la DMA, estas sustancias son "sustancias o grupo de sustancias que son tóxicas, persistentes y susceptibles de bioacumulación" y, por lo tanto, están sujetas a que su emisión y descarga cesen en un máximo de 20 años. Esta primera lista fue modificada por el Anexo II de la Directiva de Normas de Calidad Ambiental (Directiva 2008/105/EC), donde se establecieron los límites de concentración de las 33 sustancias prioritarias en las aguas superficiales tales como terbutrina, clorfenvinfos, las dioxinas o los hidrocarburos aromáticos policíclicos, entre otros.

Según el artículo 16 de la DMA, la lista de sustancias prioritarias debe revisarse periódicamente para identificar nuevas sustancias que presenten un riesgo significativo. En este sentido, la Directiva 2013/39/UE amplió la lista de PS de 33 a 45. En ella se recomendó la inclusión de diclofenaco (farmacéutico), 17 β -estradiol (E2) (hormona natural) y 17- α ethinylestradiol (EE2) (hormona sintética). En 2015, se publica la primera lista de observación de sustancias para el seguimiento a nivel de la Unión (Artículo 8b de la Directiva 2008/105/CE), en la Decisión (UE) 2015/495. En ella se incluyen, junto con E2, EE2 y diclofenaco, un aditivo alimentario antioxidante (2,6-di-*terc*-butil-4-metilfeno), un filtro UV (4-metoxicinamato de 2-etilhexilo), tres antibióticos macrólidos

(azitromicina, claritromicina y eritromicina) y varios pesticidas (neonicotinoides, entre otros), que se determinaron como potencialmente peligrosos.

Esta lista de vigilancia se actualizó recientemente en la Decisión 2018/840, incluyendo sustancias como hormonas, pesticidas y antibióticos, entre otros, para los cuales ya se han informado riesgos ambientales relevantes. Estas sustancias son 15: 17-alfa-etinilestradiol (EE2), 17-beta-estradiol (E2), estrona (E1) (hormonas), eritromicina, claritromicina, azitromicina, amoxicilina, ciprofloxacina (antibióticos), metiocarb, imidacloprid, tiacloprid, tiametoxam, clotianidina, acetamiprid y metaflumizona (pesticidas).

Por otro lado, la UE ha adoptado algunos planes clave, informes y planes de acción para promover la reutilización del agua tratada. La reutilización del agua se identificó como una opción alternativa de suministro ya en 2012 en la Comunicación de la Comisión "A Blueprint to Safeguard Europe's water Resources" (Comunicación COM (2012) 673). Esta iniciativa tuvo como objetivo contribuir a algunos objetivos clave establecidos en el Séptimo Programa de Acción de la UE para el Medio Ambiente hasta 2020. Más adelante, en la Comunicación COM (2015) 120, la comisión se encargó de desarrollar acciones no regulatorias para fomentar la reutilización del agua de forma segura y rentable. Más recientemente, en 2017, el Centro Común de Investigación de la Comisión Europea (Alcalde-Sanz y Gawlik, 2017) publicó un informe sobre los "Requisitos mínimos de calidad para la reutilización del agua en el riego agrícola y la recarga de acuíferos". Este documento tuvo como objetivo establecer la base de la futura política de reutilización de la UE basada en un marco de gestión de riesgos, que se recomienda para hacer frente a los riesgos de sanidad y ambientales y garantizar el uso seguro del agua tratada, aunque sólo se definen los requisitos microbiológicos mínimos. En 2018, la Comisión Europea lanza la primera propuesta de regulación sobre los requisitos mínimos para la reutilización del agua, que incluye recomendaciones basadas en un marco de gestión de riesgos para la salud y el medio ambiente para la futura legislación de reutilización del agua (Propuesta 2018/0169/COD). Nuevamente, solo se han considerado los parámetros microbiológicos y físico-químicos y no se contempla ninguna propuesta de regulación de microcontaminantes (MC) orgánicos. Hasta la fecha, Suiza es el único país de Europa que regula la eliminación de microcontaminantes. La nueva ley suiza de protección del agua aprobada en 2014 y que entró en vigor en enero de 2016, requiere la actualización de las estaciones depuradoras dentro de los próximos veinte años, para lograr una eliminación del 80% de los MC con respecto a las aguas residuales brutas. Sin embargo, todavía se

está discutiendo un reglamento compartido para todos los países europeos en términos de control de MC en los efluentes de depuradoras para la reutilización agrícola, siendo uno de los principales temas debatidos entre científicos, responsables políticos y partes interesadas. De hecho, los requisitos mínimos para la reutilización del agua han sido propuestos recientemente por el Parlamento Europeo (European Parliament legislative resolution of 12 February 2019; P8_TA-PROV (2019) 0071).

A nivel estatal, en 1985, se aprobó el reglamento de la Administración Pública del agua y de la planificación hidrológica (Ley 29/1985) en relación con el control de la contaminación del agua. A partir de 1985, las leyes y reales decretos publicados han sido muy diversos. La transposición de la Directiva 2000/60/CE en España se realizó mediante la Ley 62/2003, de medidas fiscales, administrativas y de orden social que incluye, en su artículo 129, la modificación del texto refundido de la Ley de Aguas, aprobado por el Real Decreto Legislativo 1/2001 y considerado el marco fundamental de la ley española de tratamiento de aguas, por la que se incorpora al derecho español la Directiva 2000/60/CE, estableciendo un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas. La compleja estructura administrativa de la organización y los diferentes niveles de responsabilidad con respecto al agua en el gobierno español, explican el retraso en la implementación de la DMA. Aunque el gobierno central tiene la responsabilidad exclusiva de diseñar la política de aguas española, se realiza en coordinación con los gobiernos regionales (González Gómez y col., 2012). A partir del 2000/60/CE, se han desarrollado diferentes complementos legislativos como el Real Decreto 907/2007 por el que se aprobó el Reglamento de Planificación Hidrológica y la Ley 26/2007 de Responsabilidad Medioambiental. Tanto la última modificación de la DMA en la Directiva 2013/39/UE como la Decisión 2015/495 de la UE, se han incorporado recientemente a la política española de aguas a través del Real Decreto 817/2015 estableciendo los criterios para monitorear y evaluar el estado de las aguas superficiales y los estándares de calidad ambiental.

En lo que respecta a la protección del medio ambiente frente a los efectos adversos de las descargas de aguas residuales, la Directiva 271/1991 de aguas residuales urbanas se incorporó a la Ley española mediante el "Real Decreto 11/1995, de 28 de diciembre, sobre el tratamiento de aguas residuales". Con ello, la recolección, el tratamiento y la descarga de agua urbana, así como el tratamiento y la descarga de ciertos sectores industriales, están regulados para garantizar que todas las aguas residuales urbanas se recolecten y

traten adecuadamente. Según esta Real Decreto, las "aguas residuales urbanas" se definen como aguas residuales domésticas o la mezcla de aguas residuales domésticas con aguas residuales industriales y/o aguas pluviales de escorrentía, mientras que las "aguas residuales industriales" hacen referencia a cualquier agua residual que se descarga de los locales utilizados para el transporte de cualquier comercio o industria. Los requisitos para las descargas de plantas de tratamiento de aguas residuales urbanas o industriales también se establecen de acuerdo con la sensibilidad del cuerpo de agua receptor que se ve afectado adversamente.

El Real Decreto 1620/2007 establece el régimen jurídico para la reutilización de aguas depuradas en España. La reutilización del agua para ciertos fines, como el consumo humano, la industria alimentaria y los hospitales, está prohibida en nuestro país. Como tal, el agua recuperada se utiliza principalmente para fines agrícolas y ambientales (riego de cultivos, limpieza de calles, riego de campos de golf y recarga de acuíferos). Además, al igual que en el caso de la Propuesta Europea sobre requisitos mínimos para la reutilización del agua en cuanto al monitoreo de microcontaminantes en aguas recuperadas, éstos no están regulados en el RD 1620/2007. Por lo tanto, no se establece una relación precisa entre los niveles de microcontaminantes en el agua recuperada y los posibles niveles aceptables en ambientes acuáticos.

A pesar de que hay un número creciente de iniciativas para la reutilización del agua en España, actualmente solo se reutiliza entre el 5 y el 12% de los efluentes. España tiene un enorme potencial para la reutilización de sus aguas residuales, pero se requiere un gran esfuerzo en la aplicación de tratamientos adecuados para lograr los parámetros de calidad del RD 1620/2007, considerándose, por tanto, la reutilización de las aguas tratadas un suministro de agua alternativo especialmente beneficioso para reducir los problemas de escasez de agua.

I.4. Estado del arte en el tratamiento y regeneración de aguas residuales industriales

Las principales fuentes de aguas residuales industriales (ARI) incluyen las industrias de procesamiento de alimentos, papel, textil, química, farmacéutica, petrolera, entre otras. Las características de las ARI varían no solo con la industria que las genera, sino también dentro de la misma industria. Estas características también son mucho más diversas que

las aguas residuales domésticas, que por lo general son cualitativamente y cuantitativamente similares en su composición. Aunque las características de las ARI dependen en gran medida del tipo de aguas residuales y procesos industriales, estas ARI generalmente tienen una alta resistencia orgánica y una naturaleza fisicoquímica extrema (por ejemplo, pH, temperatura, salinidad) y contienen sustancias sintéticas y naturales que pueden ser tóxicas o inhibir los procesos de tratamiento biológico. Las aguas residuales municipales se caracterizan por su baja carga orgánica (250–800 mg DQO/L), mientras que las industriales a menudo generan aguas residuales con elevada carga orgánica (> 1000 mg DQO/L). Las aguas residuales de extrema carga orgánica presentan concentraciones de DQO que incluso pueden exceder los 200 g/L, y se suelen generar en las almazaras y en las industrias de producción de textiles y bebidas (Muralikrishna y Manickam, 2017). Además, la mayoría de las aguas residuales industriales tienen un pH no neutro, y algunas aguas residuales industriales (por ejemplo, de refinación de petróleo, procesamiento textil, procesamiento de cuero y conservación de alimentos) tienen altas concentraciones de sal. En general, el pH y la salinidad extremos pueden dar lugar a dificultades en el tratamiento biológico de las corrientes de desechos industriales debido a la inhibición de muchos microorganismos y la deflocación de los fangos. Además, las aguas residuales industriales pueden contener una gran variedad de compuestos potencialmente inhibidores o tóxicos (compuestos aromáticos, fenoles, clorados o fluorados), compuestos orgánicos volátiles (COV), metales pesados, surfactantes y biocidas. Por tanto, estas ARI deben tratarse adecuadamente con el objetivo de la eliminación de la carga contaminante de los efluentes de descarga y de su potencial recuperación y/o valorización.

En muchos casos, los compuestos tóxicos presentes en las ARI pueden ser inertes a la biodegradación y pueden requerir tratamiento físicoquímico adicional, ya sea como tratamiento previo o posterior, dependiendo de sus efectos en el proceso biológico. Por tanto, el tratamiento de las ARI es un problema complejo debido a la gran variedad de compuestos y concentraciones que puede contener, por lo que debe de tenerse en cuenta lo siguiente:

1. Optimizar el proceso mediante el diseño de instalaciones que permitan el correcto tratamiento
2. Llevar a cabo la evaluación, lo más completa posible, de la eficacia del proceso seleccionado.

Con respecto al primer punto, la Ingeniería Química es la base de la optimización del proceso, ya que ayuda al diseño de instalaciones que permiten un tratamiento adecuado teniendo en cuenta la minimización de los costes. Y centrándonos en el segundo punto, tanto la Química Analítica, la Toxicología como la Microbiología son las ciencias que permiten tal evaluación, tanto de la efectividad del proceso de degradación como la determinación de sustancias generadas en el proceso, para así asegurar la inocuidad del vertido final.

La Tabla I.1 muestra ejemplos de distintas aguas residuales industriales y sus formas más comunes de tratamiento, las cuales son muy diversas y están centradas en cada tipo de agua y sus características específicas.

Tabla I.1. Principales características y métodos de eliminación de algunos residuos industriales.

Agua residual industrial	Características principales	Principales métodos de tratamiento y eliminación
Textil	Altamente alcalino, coloreado, DQO, temperatura, sólidos suspendidos	Neutralización, precipitación química, tratamiento biológico, aireación y/o filtración por goteo
Cuero	Sólidos totales altos, dureza, sulfuros de sal, cromo, pH, cal precipitada y DBO ₅	Equalización, sedimentación y tratamiento biológico
Lavandería	Turbidez alta, alcalinidad y sólidos orgánicos	Cribado, precipitación química, flotación y adsorción
Productos enlatados	Alto contenido en sólidos en suspensión, productos coloidales y materia orgánica disuelta	Cribado, laguna, absorción o riego por aspersión
Leche	Alto contenido en materia orgánica disuelta, principalmente proteínas, grasas y lactosa	Acidificación, tratamiento biológico por flotación, filtración por goteo aeróbico, lodos activados
Productos farmacéuticos	Alto contenido en materia orgánica en suspensión y disuelta	Lodos activados
Caña de azúcar	pH variable, debe ser materia orgánica con un DBO ₅ relativamente alto de naturaleza carbonosa	Neutralización, tratamiento químico, oxidación aeróbica
Aceite de palma	Alta DBO ₅ , DQO, sólidos y grasas totales y bajo pH	Neutralización, coagulación, flotación, filtración
Pulpa y papel	pH alto o bajo, color, alto contenido en sólidos suspendidos, coloidales y disueltos	Lagunaje, tratamiento biológico, aireación, recuperación de subproductos mediante flotación

Agua residual industrial	Características principales	Principales métodos de tratamiento y eliminación
Petroquímica	Alta DQO, TDS, metales, DQO/DBO ₅	Recuperación y reutilización, equalización y neutralización, coagulación química, sedimentación o flotación, oxidación biológica
Pinturas y tintas	Contienen sólidos orgánicos de tintes, resinas, aceites, solventes, etc	Estanques, coagulación con cal
Plaguicidas	Alto contenido en materia orgánica, tóxicos para bacterias y peces, ácido	Adsorción de carbón activado, cloración alcalina

Esta tabla pone de manifiesto la diversidad de las ARI, así como las diferentes alternativas de tratamiento específico aplicadas. Es por tanto necesario centrarse en la optimización de dichos tratamientos para cada tipo de ARI teniendo en cuenta la reducción de costes además de la valorización del efluente obtenido. A modo de ejemplo, Oller y col., (2011) proponen el esquema recogido en la Figura I.2 como estrategia para el estudio del tratamiento más adecuado para cada ARI con el uso de Procesos Avanzados de Oxidación (PAO), de gran interés en la actualidad y bajo estudio en esta Tesis Doctoral.

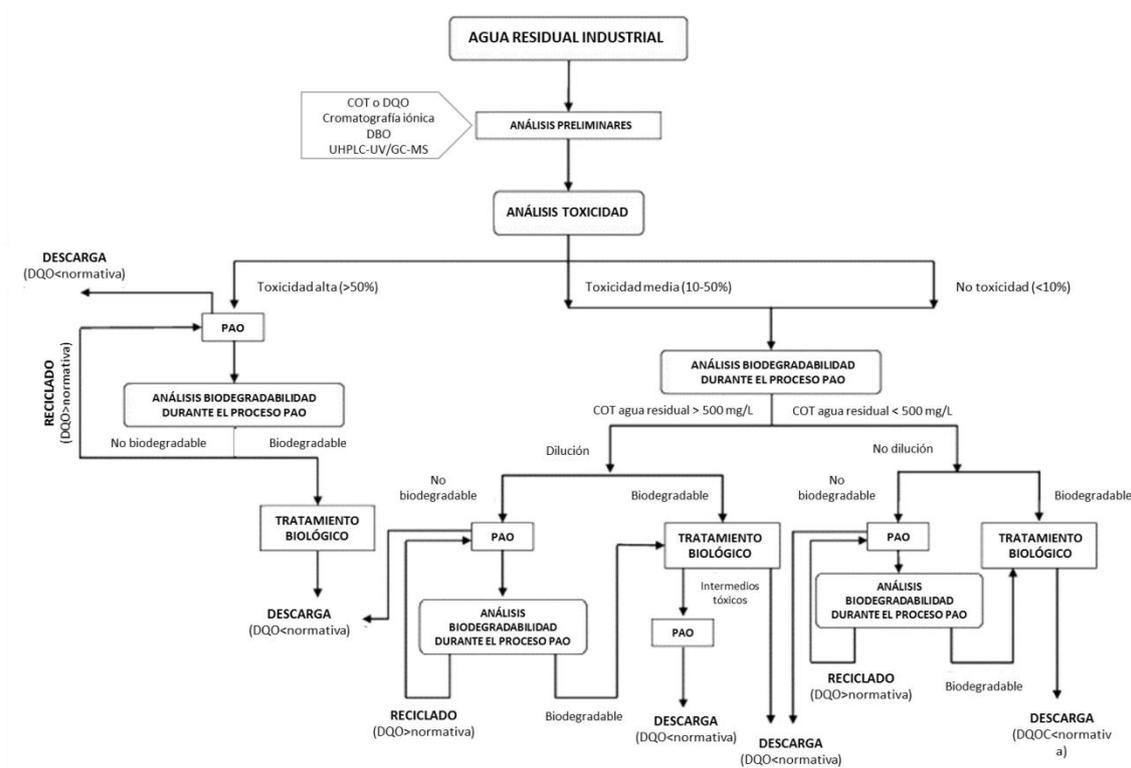


Figura I.2. Estrategia para la selección de la mejor opción de tratamiento para aguas residuales industriales. Fuente: modificada de Oller y col., 2011.

Esta Figura I.2 muestra las diferentes situaciones que pueden aparecer según las características especiales de las aguas residuales industriales, además de los análisis químicos y biológicos necesarios que deben realizarse en una determinada línea de tratamiento de estas aguas. Tales análisis generalmente son la concentración de carbono orgánico disuelto (COD) la demanda química de oxígeno (DQO) y, de forma más específica, según los PAO seleccionados, la concentración de catalizador, peróxido de hidrógeno o concentración de ozono, intensidad de radiación, pH y temperatura. En todo caso, la cuestión clave es diseñar el proceso para el mejor desempeño económico y sostenible en general.

El tratamiento de las ARI implica una gran diversidad de diseños de reactores y procesos que se explicarán en los apartados siguientes. Esta Tesis Doctoral implica procesos biológicos y PAO, específicamente foto-Fenton solar y Ozono, para el tratamiento de lixiviados de vertedero no urbano, aguas residuales procedentes de los vertederos.

I.4.1. Sistemas biológicos aplicados al tratamiento de aguas residuales industriales

El tratamiento biológico se utiliza principalmente para eliminar las sustancias orgánicas biodegradables (coloidales o disueltas) de las aguas residuales industriales. Los microorganismos (destacando las bacterias) asimilan la materia orgánica y nutrientes (nitrógeno y fósforo) disueltos en el agua residual para su propio crecimiento y con el uso de oxígeno disuelto en el agua, en el caso de los sistemas aerobios. El oxígeno no es imprescindible, debido a que los microorganismos también pueden degradar la materia orgánica en condiciones anaerobias. Todos los procesos biológicos utilizados para el tratamiento de aguas residuales se derivan de procesos que ocurren en la naturaleza. Básicamente, la materia a degradar se convierte en gases, que pueden escapar a la atmósfera, y en tejido celular biológico, que se puede eliminar mediante sedimentación. Los procesos aerobios convierten la materia orgánica en dióxido de carbono, agua y nitrógeno disuelto, mientras que los procesos anaerobios generan metano, el cual se puede transformar en energía.

Una de las ventajas de estos tratamientos es que, a pesar de sufrir variaciones de la carga orgánica, estos siguen siendo robustos. Además, el procesamiento de los lodos residuales es rápido y en el caso de procesos aerobios, se crean pocos olores. Por otro lado, sus

desventajas son: el consumo de energía requerida para la aireación, cuando son procesos aerobios y de mezcla, la lentitud en comparación con los procesos químicos y la susceptibilidad a sufrir “shock” tóxicos. Su sencillez y bajo coste económico de operación hacen de estos tratamientos, una de las tecnologías más habituales, tanto para aguas residuales urbanas como ARI.

Los principales procesos biológicos utilizados para el tratamiento de aguas residuales pueden clasificarse desde diferentes puntos de vista. En cuanto a la configuración del proceso, es decir, la forma en que el agua a tratar y la biomasa entran en contacto, nos podemos encontrar que la biomasa se mantenga en suspensión en el reactor, que forme una capa sobre un soporte o una combinación de ambas.

Si se tiene en cuenta el régimen de operación, este puede ser en modo discontinuo (batch, en inglés) o en continuo. Y, por último, en cuanto a las condiciones de reducción-oxidación (redox) y teniendo en cuenta el aceptor final de electrones en los procesos de oxidación de la materia orgánica, se establecen tres tipos de tratamientos:

- **Procesos anaerobios:** determinados por la ausencia completa de O_2 y siendo el aceptor final de electrones la propia materia orgánica llevando a la formación de biogás el cual puede ser revalorizado para la producción de energía eléctrica y así, autoabastecer a la propia instalación. Se produce poca cantidad de lodos. El tratamiento aneróbico más conocido es la digestión anaeróbica, que se utiliza para tratar efluentes de la fabricación de bebidas y alimentos, así como efluentes químicos y desechos agrícolas.
- **Procesos aerobios:** definidos por la presencia de oxígeno disuelto, el cual es el aceptor final de electrones. El elevado crecimiento de las bacterias en este tipo de procesos hace que se obtenga una alta generación de fangos, además de rendimientos energéticos elevados. Estos procesos incluyen tratamientos como el proceso de lodos activados, filtros por goteo, tratamientos basados en lagunas y digestión aeróbica. El tratamiento de fangos activados es el ejemplo más tradicional de este tipo de procesos, el cual es ampliamente utilizado para el tratamiento secundario de aguas residuales domésticas e industriales con alto contenido orgánico y biodegradables, tales como las aguas residuales generadas en las plantas de celulosa y papel o industrias relacionadas con los alimentos, como el procesamiento de carne. Poseen una serie de ventajas con respecto a los

procesos anaerobios, tales como: proporcionan un mayor rendimiento, minimizan la producción de olores, reducen los coliformes y organismos patógenos, reducen la tasa de respiración de los lodos y producen un sobrenadante clarificado.

- **Procesos anóxicos:** caracterizados por la presencia de compuestos diferentes al oxígeno y a la materia orgánica, capaces de suministrar O_2 al sistema. El aceptor final de electrones pueden ser sulfatos, hidrógeno, nitrato, etc.

Cada uno de estos procesos redox fomenta comunidades de microorganismos diferentes que pueden variar con el tiempo, dependiendo de las condiciones del sistema, y que influyen a distintos factores del tratamiento. El correcto funcionamiento de estos procesos se puede ver alterado gravemente debido a la modificación de alguna variable que influya en estas poblaciones de microorganismos. Por ello, tanto la estabilidad y eficacia del proceso como el diseño del reactor se pueden ver favorecidos mediante el estudio y control de los microorganismos que benefician el tratamiento de cada ARI y la selección de la línea de tratamiento adecuada, favoreciendo así, la formación o eliminación de diferentes especies en la estructura del fango activo. La identificación de los diferentes microorganismos implicados a lo largo del tratamiento biológico y sus posibles cambios y efectos en el proceso, se puede llevar a cabo mediante el empleo de diferentes técnicas, como la microscopía óptica, el recuento en placa o tecnologías más avanzadas como la reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real (qPCR, siglas en inglés) o la metagenómica.

Así, para la selección del proceso biológico más conveniente, dentro de la gran variedad de formas de operar que existen, es imperativo tener en cuenta las características del efluente, el tipo de proceso industrial que lo genera y el grado de depuración requerido. Todo esto se puede ver reflejado brevemente en la Tabla I.2.

Tabla I.2. Tratamientos biológicos aplicados a la depuración de diferentes ARI.

Referencia	Origen	Tratamiento	Observaciones
Liu y col., 2013	Agua residual de la producción de aceite	UASB + Filtros aireados inmovilizados biológicos	Eliminación del 74%, 94% y 98% de DQO, amoníaco y sólidos suspendidos, respectivamente
Bai y col., 2013	Agua residual industrial sintética	Reactor de lecho de lodo granular expandido anaeróbico/anóxico (EGSB) + reactor secuencial por lotes aeróbico (SBR)	Eliminación del 74,4–83,7% de amonio, 72,7–83,1% de nitrógeno total y 88,3–98,9% de DQO
Lim y col., 2014	Agua residual de la producción de aceite	SBR	Eliminación del 90% de la DQO
González-González y col., 2015	Agua residual de la producción de aceite	Digestión aerobia + digestión anaerobia	Eliminación del 78% de los polifenoles totales y 65% de DQO
Sirianuntapiboon y Chairattawan, 2016	Agua residual de la industria textil (pH 9,9; DQO 532 mg/L)	SBR / SBR + GAC	Eliminación de color, DQO, DBO ₅ y nitrógeno total (TN) con TRH de 5 días fueron 68,3, 88, 90 y 55,9%, respectivamente. Con la adición, sólo se vio aumento en la eliminación de color prácticamente
Cruz-Salomón y col., 2017b	Agua residual de la industria quesera, de la industria del azúcar y del procesamiento del café (DQO 46-91 g/L)	3 EGSB	Eliminación de DQO del 91% para el agua residual de queso, 74% para la industria azucarera y 96% para las aguas residuales del procesamiento del café
España-Gamboa y col., 2017	Agua residual de la industria del azúcar (pH 4,4; DQO 110 g/L)	Biorreactor de lecho fluidizado + UASB	RLF obtuvo una eliminación de compuestos fenólicos del 67% y DQO del 38%. Con la combinación, se obtiene mejor calidad de efluente
Cruz-Salomón y col., 2017a	Agua residual de la destilación de etanol (pH 3,9; DQO 120 g/L)	UASB	Eliminación de DQO del 92%
Niwa y col., 2017	Agua residual industrial (pH 6,7-7,1; DQO 644-2380 mg/L)	UASB-MBR	Se logró la calidad del agua objetivo
Cruz-Salomón y col., 2018	Agua residual del procesamiento del café (pH 4; DQO 46 g/L)	EGSB	Eliminación de DQO del 94% para un tiempo de retención hidráulico (TRH) de 3 días y 98% para 9 días
Vashi y col., 2018	Agua residual de la industria papelera	SBR-AGS (lodos granulares aeróbicos)	La eliminación de DQO fue del 90% y la eliminación de tanino / lignina fue del 97%
Arous y col., 2018	Agua residual de la producción de aceite (pH 5,3; DQO 75,1 g/L)	SBR	Eliminación de DQO del 60%
Ajao y col., 2019	Agua residual de refinería petroquímica	Reactor de lecho fluidizado	Reducción de DBO ₅ , DQO, sólidos totales disueltos, fenol y TPH del 95,6%, 98,0%, 66,3% y 100% respectivamente

Referencia	Origen	Tratamiento	Observaciones
Stes y col., 2019	Agua residual de la industria cervecera (pH 5,5-4,9; DQO 2,4-4,5 g/L)	SBR	Importancia de La velocidad de alimentación
Cai y col., 2019	Agua residual de la industria papelera (DQO 92,2-183,2 mg/L)	Reactor de biopelícula de secuenciación por lotes (SBBR)/reactor de tanque agitado (STR)/ 2 reactores de aireación sumergidos (SAR)	La DQO se incrementó con el tratamiento con SAR2 y la eficiencia de eliminación de DQO para SBBR, SAR1 y STR fue de 39,7%, 15,7% y 30,9%, respectivamente

En la actualidad, la comunidad científica sigue estudiando y desarrollando nuevas configuraciones de reactores biológicos para el tratamiento de las ARI, con características diferentes o complementarias a los tratamientos biológicos convencionales de fangos activos (CAS, siglas en inglés) o biomasa en suspensión, con el objetivo de obtener un efluente con mayor calidad que se ajuste a las normativas cada vez más restrictivas. Un ejemplo son los sistemas de tratamiento biológicos de lecho fijo (RLF, siglas en inglés) o de biopelícula, en los cuales se lleva a cabo el crecimiento de la comunidad bacteriana en la superficie de un soporte que normalmente es de plástico. Este tipo de crecimiento hace que las capas más internas de la biopelícula entren en anoxia, se desprenda una parte de esta y sirva automáticamente de alimento para los fangos activos adheridos a los soportes, los cuales pueden recircularse al reactor o depositarse en el fondo. Estos tipos de reactores biológicos poseen una serie de ventajas frente a los procesos CAS:

- Tamaños de planta más pequeños, debido al uso de soportes de elevada superficie específica.
- Resistencia a los cambios en la composición de la corriente de alimentación, de gran importancia en las ARI por su elevada complejidad.
- La superficie del reactor además de la eficacia del proceso se puede ver modificada en función del porcentaje de soporte plástico empleado.
- La decantación posterior al tratamiento, o proceso de separación final, no es necesario porque los lodos activados se adsorben en los soportes, por lo que no se requiere una gestión de los lodos residuales.
- Largos tiempos de retención de lodo y mayores edades de lodo. Desaparecen problemas como el esponjamiento o bulking, relacionados con la sedimentabilidad del fango.

- La operación, control, mantenimiento y limpieza son más sencillas, sin problemas de atascamiento.
- Generación de una biopelícula con una elevada actividad y un alto peso específico de biomasa.
- Tasas de nitrificación y desnitrificación mayores debido al proceso anóxico.

Además, la eficacia de este tipo de tratamiento se puede mejorar cambiando las características de los soportes o aumentando la calidad de la biopelícula (Prieto-Rodríguez y col., 2017). Por todo ello, se hace atractivo el uso de este tipo de reactores de lecho fijo como tratamiento biológico para la depuración de aguas residuales industriales.

Sin embargo, los procesos biológicos convencionales no siempre proporcionan resultados satisfactorios para el tratamiento de ARI, ya que muchas de las sustancias orgánicas producidas por la industria química son tóxicas o resistentes al tratamiento biológico (metales pesados, patógenos, contaminantes emergentes, etc.), aunque si son capaces de eliminar DBO y sólidos totales en suspensión en aproximadamente un 85%. Por lo tanto, la única opción viable para tales aguas residuales biológicamente persistentes es el uso de tecnologías avanzadas basadas en la oxidación química, como los Procesos Avanzados de Oxidación (PAO), reconocidos como tratamientos altamente eficientes para aguas residuales recalcitrantes, los cuales se explicarán detalladamente en el siguiente apartado.

I.4.2. Aplicación de procesos avanzados de oxidación para el tratamiento de aguas residuales industriales

Debido a que las aguas residuales industriales son aguas complejas con una elevada carga orgánica y una alta toxicidad y/o baja biodegradabilidad que afectan a los tratamientos convencionales, es necesario para una depuración eficaz, la combinación de los tratamientos convencionales con el uso de tratamientos terciarios como los PAO. Los PAO pueden aplicarse antes del tratamiento secundario para aumentar la biodegradabilidad del efluente y poder así acoplarse a un tratamiento biológico convencional, con la siguiente reducción de costes.

Los PAO producen radicales hiroxilo ($\cdot\text{OH}$), los cuales pueden ser generados por diferentes procesos y pueden degradar casi cualquier molécula orgánica, debido a su alto potencial de oxidación ($E_0=2,8$), propiedades no selectivas y a su alta reactividad,

produciendo ácidos orgánicos de cadena corta, iones inorgánicos y CO_2 como productos finales (Malato y col., 2009). El radical hidroxilo es el segundo oxidante más fuerte (Tabla I.3). Se produce con la ayuda de uno o más oxidantes primarios (por ejemplo, ozono, peróxido de hidrógeno, oxígeno) y/o fuentes de energía (por ejemplo, luz ultravioleta) o catalizadores (por ejemplo, dióxido de titanio).

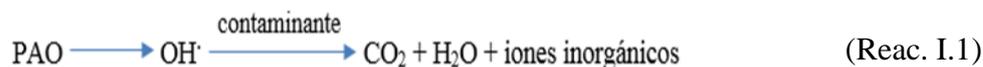


Tabla I.3. Potenciales redox de algunos agentes oxidantes.

Especie	E^0 (V, 25°C)
Flúor	3,03
Radical hidroxilo	2,80
Oxígeno atómico	2,42
Ozono	2,07
Peróxido de hidrógeno	1,78
Radical perhidroxilo	1,70
Permanganato	1,68
Dióxido de cloro	1,57
Ácido hipocloroso	1,49
Cloro	1,36
Bromo	1,09
Yodo	0,54

Los PAO han demostrado ampliamente su eficiencia en la mineralización de contaminantes recalcitrantes (Bernabeu y col., 2011). En general, cuando se aplican en condiciones debidamente optimizadas, los PAO pueden reducir la concentración de contaminantes de varios cientos de mg/L a menos de 5 $\mu\text{g/L}$ y, por tanto, reducir significativamente la DQO y el COT, hecho que le otorgó la denominación de "procesos de tratamiento de agua del siglo XXI" (Munter, 2001). Por tanto, el propósito principal de los PAO (Huang y col., 1993) es mejorar la eficiencia de la oxidación química al aumentar la generación de estos radicales hidroxilo.

Generalmente, en los PAO se diferencian 2 etapas, la formación de los radicales hidroxilo y la reacción de estos con las moléculas contaminantes para su descomposición hasta la

mineralización definitiva. Así, los PAO pueden usarse para tratar aguas residuales con el fin de:

- 1) Mejorar la calidad del efluente secundario, mediante la eliminación de los microcontaminantes restantes y la toxicidad relacionada, para que sea reutilizable.
- 2) Desinfectar los efluentes para eliminar patógenos.
- 3) Aumentar la biodegradabilidad de las aguas residuales industriales antes del proceso biológico convencional.

Los PAO pueden clasificarse según la Figura I.3. Los más comunes utilizan combinaciones de ozono (O_3), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radiación ultravioleta (UV) y catalizadores.

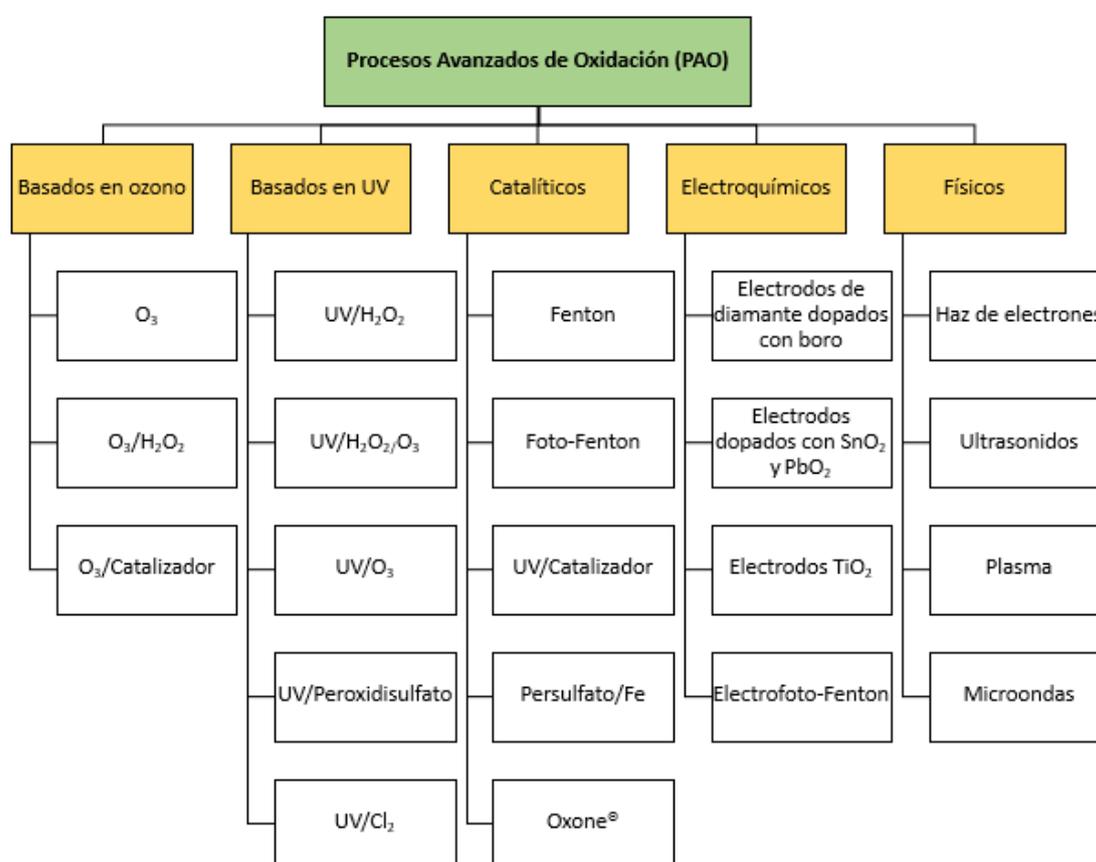


Figura I.3. Clasificación de los procesos avanzados de oxidación. Fuente: modificada de Miklos y col., 2018.

Pese a su probada eficiencia, los PAO aún no están comercializados a gran escala debido a los costes relativamente altos asociados a su operación, su alto consumo energético y el

uso de reactivos de alto coste (H_2O_2 , O_3 , etc). Sin embargo, su alta capacidad oxidativa y su contrastada eficiencia hacen que estos procesos se hayan convertido en una alternativa factible a los tratamientos convencionales no eficaces frente a contaminantes recalcitrantes.

El creciente interés en la reutilización de agua y la reciente aparición de regulaciones más estrictas con respecto a la contaminación de la misma están acelerando el interés en la implementación de los PAO a gran escala. En la actualidad, existen aproximadamente 500 pequeñas instalaciones de PAO comercializadas en todo el mundo, principalmente en Europa y Estados Unidos.

La Tabla I.4 muestra una breve revisión bibliográfica de trabajos de investigación realizados en los últimos años para el tratamiento de ARI mediante la aplicación de PAO.

Tabla I.4. Tratamientos de aguas residuales industriales mediante PAO.

Referencia	Origen	Tratamiento	Observaciones
Baycan Parilti y col., 2011	Aguas residuales de una planta de celulosa en Turquía (pH 7,12–8,50; DQO 608–1500 mg/L; TOC 206,2–303,2 mg/L)	$TiO_2/Fe(III)/UV$ solar	Eliminación del 78% de color y 64% de TOC con 188 mg/L de TiO_2 y 0,5 mM de Fe (III)
Lucas y col., 2012	Aguas residuales de una planta de celulosa en Portugal (pH 7,9; DOC 348 mg/L; DQO 899 mg/L)	Foto-Fenton solar	90% de mineralización de DOC con 5 mg/L de Fe, 31 kJ/L de UV y 50mM de H_2O_2
Monteagudo y col., 2012	Aguas residuales de la producción de vino de Castilla-La Mancha (España) (pH 12,4; TOC 2674 mg/L)	Coagulación/floculación o precipitación + foto-Fenton solar con ferrioxalatos	Eliminación del 61% de TOC con H_2O_2 260 mg/L, $H_2C_2O_4$ 80 mg/L y pH 3,5
Orescanin y col., 2013	Aguas residuales de la producción de vino en Zagreb, Croacia (pH 3,74; DQO 10240 mg/L)	Métodos electroquímicos (EC) y ultrasonidos (US) combinados con PAO ($O_3 + UV + H_2O_2$)	Reducción del 77% de DQO y más del 99% en color, turbidez, sólidos en suspensión y fosfatos
Domínguez y col., 2014	Aguas residuales de la producción de vino en Badajoz, España (pH 3,8; DQO 35 g/L; TOC 11,3 g/L)	Procesos de oxidación húmeda	Eliminación del 80% de DQO y TOC con 4 h de reacción, 5 g/L de grafito, pH 3,8 y 125°C

Referencia	Origen	Tratamiento	Observaciones
Iboukhoulef y col., 2014	Aguas residuales de la producción de aceite en Argelia (pH 4,7; DQO 74 g/L)	$\text{Cu}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ (Fenton)	Degradación fenoles del 43% a 30°C y 62% a 50°C después de 65 minutos de tratamiento, usando 12 M de oxidante y 0,5 g / L de catalizador
Michael y col., 2014	Aguas residuales de la producción de aceite en Larnaca, Chipre (pH 5,7; DQO 13,5 g/L)	Coagulación/floculación + foto-Fenton solar	Eliminación del 87% de DQO y completa eliminación de polifenoles totales con coagulación-floculación usando $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (6,67 g/L) y Flocan23 (0,287 g/L) y foto-Fenton solar con 0,08 g/L de Fe^{2+} y 1g/L de H_2O_2
Durán y col., 2015	Aguas residuales de las industrias de bebidas (pH 5,35, DQO 6,5 g/L, DBO_5 4,4 g/L, TOC 199 g/L)	Foto-Fenton solar con el uso de complejos de ferrioxalato	Eliminación del 96,6% de TOC en 125 min con $\text{H}_2\text{O}_2 = 460$ mL/h, $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4=2100$ mL/h, $[\text{Fe}] = 150$ mg/L, pH = 2,79 y energía solar = 35,8 Wh
Velegraki y Mantzavinos, 2015	Aguas residuales de la producción de vino en Grecia (pH 5,5–6,5; DQO 1200 mg/L; DOC 435 mg/L)	Foto-Fenton solar	Eliminación de DQO del 80% después de 240 min (2 g/L consumo de H_2O_2 ; 25 mg L de Fe^{2+}) y después de 340 min (1,27 g/L H_2O_2 de consumo; 5 mg/L Fe^{2+})
Yazdanbakhsh y col., 2015	Aguas residuales de la producción de aceite en Irán (pH 5,02; DQO 55,8 g/L; DBO_5 825 g/L)	Coagulación con FeCl_3 , acidificación y Fenton	Eliminación del 91,2% de DQO y 91,3% de fenoles con la coagulación. Eliminación del 94% de DQO y 98% de fenol con la acidificación y Fenton. La relación BOD_5/DQO aumentó de 0,14 a 0,83
Davarnejad y col., 2016	Aguas residuales de industria láctea (pH 6,3; DQO 2,5 g/L)	Electro-fenton con electrodo de hierro	Eliminación del 93% de DQO en 90 min, densidad de corriente de 56 mA/cm ² , pH 7,52 y proporción molar de $\text{H}_2\text{O}_2 / \text{Fe}^{2+}$ de 3,965
Rodríguez-Chueca y col., 2016	Aguas residuales de fruta liofilizada (pH 6,95; DQO 35,4 g/L; DBO 6,6 g/L)	Foto-Fenton con UV-A LED seguido de coagulación / floculación	Eliminación del 80% de DQO, del 99% de turbidez y del 95% del total de sólidos en suspensión

Referencia	Origen	Tratamiento	Observaciones
Amaral-Silva y col., 2016	Aguas residuales de la producción de zumo (pH 6,7; DQO 680 mg/L)	Fenton	Eliminación del 70% de la DQO (correspondiente a un valor final por debajo de los límites de descarga, 150 mg O ₂ /L)
Chen y col., 2017	Compuesto ácido láctico de la industria láctea	Oxidación electroquímica con catalizador a base de iridio	Oxidación completa del ácido láctico
García y Hodaifa, 2017	Aguas residuales de la producción de aceite en Sevilla, España (pH 5,98; DQO 7,06 g/L; DBO 0,68 g/L)	Foto-Fenton con FeCl ₃ como catalizador	90% de eliminación (TOC y turbidez) con pH 3 y 3,0 g/L de catalizador

Los PAO que se han estudiado en esta Tesis son el proceso de foto-Fenton solar y ozonización, los cuales se van a describir a continuación.

1.4.2.1. Ozonización

El tratamiento con ozono (O₃) puede considerarse un PAO cuando se lleva a cabo en medio alcalino, ya que éste se descompone generando radicales, entre los que se encuentran los radicales hidroxilo. Al aumentar el pH, también lo hace la velocidad de descomposición del ozono y, por tanto, también la velocidad de generación de los radicales hidroxilo, capaces de participar en numerosas reacciones químicas con sustancias inorgánicas y orgánicas presentes en el agua a tratar.

El ozono posee un fuerte poder oxidante ($E^0 = 2,07$ V, ver Tabla I.3) y, debido a su inestabilidad en medio acuoso, debe generarse in situ con el paso de O₂ a través de un campo eléctrico de alto voltaje. Presenta una elevada capacidad de eliminación de olores, color y desinfección. Además, es un electrófilo muy selectivo que reacciona preferentemente con grupos funcionales de alta densidad electrónica, como dobles enlaces, sistemas aromáticos, aminas, sulfuros, etc. (Hollender y col., 2009).

La aplicación de ozono involucra generalmente dos mecanismos de reacción, la reacción directa por ozono (reacción entre la molécula orgánica y el ozono disuelto) y la reacción indirecta a través de la generación de radicales hidroxilo. Las reacciones que se llevan a

cabo cuando se aplica medio alcalino en la degradación de la materia orgánica se muestran a continuación (Beltrán, 2003).

Iniciación



Propagación



Terminación



Las reacciones I.13 y I.14 no son reacciones de terminación verdaderas ya que el radical iónico superóxido, $O_2^{\bullet -}$, propagaría la cadena radical. Los productos de reacción O_2 , CO_2 y $O_2^{\bullet -}$ se propusieron provisionalmente de acuerdo con Beltrán (2003), pero no se confirmaron.



A pesar de que la ozonización tiene una larga tradición y es la técnica más aplicada en desinfección de aguas residuales y agua potable, se observa un interés creciente en la

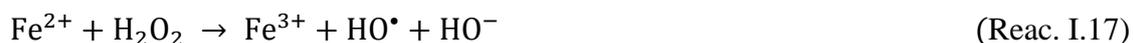
comunidad científica para su aplicación en eliminación de microcontaminantes o sustancias refractarias de las ARI, por lo que es de interés profundizar en su estudio.

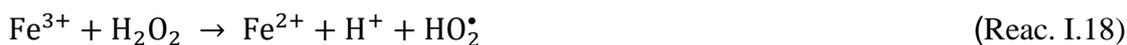
La ozonización sigue siendo, sin embargo, un proceso en el que el equipo y los costes de operación son altos, debido principalmente a la generación eléctrica del O₃, y con riesgos significativos asociados a su alta reactividad y toxicidad. En consecuencia, cualquier cantidad de ozono gaseoso producida en exceso debe ser capturada y destruida, lo que genera costes adicionales. Además, es conocida la formación de subproductos tóxicos disueltos que pueden elevar la toxicidad del efluente. La formación de productos de transformación y los subproductos de oxidación/desinfección (derivados de la matriz de agua residual) son un tema importante a tener en cuenta en la aplicación de la ozonización, ya que las dosis aplicadas no llegan a alcanzar la mineralización (Rizzo y col., 2019). Esta toxicidad puede reducirse nuevamente mediante una etapa de tratamiento posterior (Hübner y col., 2015; Knopp y col., 2016; Lee y von Gunten, 2016).

1.4.2.2. Fotocatálisis solar homogénea: foto-Fenton solar

Entre todos los PAO, los procesos de Fenton y foto-Fenton son los más aplicados para el tratamiento de aguas residuales industriales (Suty y col., 2004), debido a su alta eficacia en la degradación de contaminantes y materia biorecalcitrante (Pignatello y col., 2006). Presentan un gran potencial para ser comercializados y aplicados a gran escala (Gupta y col., 2012). El proceso foto-Fenton tiene lugar a longitudes de onda inferiores a 580 nm, por lo que puede utilizar energía solar como fuente de radiación renovable (Gogate y Pandit, 2004). El uso de radiación solar UV hace que el proceso sea de mayor interés ya que puede resultar más económico, al reducir el consumo de energía eléctrica, y ambientalmente sostenible (Malato y col., 2009).

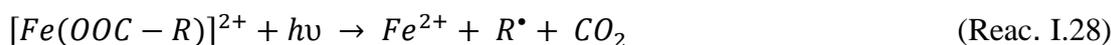
La reacción de Fenton fue descrita por primera vez en 1894 por Henry John Horstman Fenton, el cual detectó que el H₂O₂ podía ser activado por sales de Fe²⁺ para oxidar el ácido tartárico (Fenton, 1894). La reacción que tiene lugar entre el hierro ferroso (catalizador) y el H₂O₂ (oxidante) en solución acuosa, y que conduce a la formación de radicales HO• responsables de la oxidación de las moléculas orgánicas, se conoce como reacción de Fenton (Ecuación I.17). A continuación, se describen brevemente la secuencia de reacciones que se dan (Malato y col., 2009):





En presencia de radiación UV, el hierro (III) se fotorreduce a hierro (II) (Reac. I.26) y se oxida de nuevo con H_2O_2 , en un ciclo redox (foto-Fenton). Este proceso se puede realizar bajo radiación solar UV o mediante lámparas artificiales UV-A ($\lambda > 300$ nm) (Clarizia y col., 2017), siendo activo hasta casi el visible ($\lambda < 560$ nm), dependiendo de los complejos de hierro formados con agua y otros ligandos de hierro disueltos en agua. La presencia de luz acelera claramente las reacciones Fenton debido a la regeneración catalítica de los iones ferrosos y a que ciertos complejos que intervienen en las reacciones de Fenton (ferri-hidroxi o ferri-carboxílicos) absorben luz, obteniéndose una mayor generación de radicales hidroxilo y con ello una mayor eficiencia de reacción (Pignatello y col., 1992). La foto-reducción del ion férrico es una reacción de transferencia de carga ligando-metal (Pignatello y col., 2006).

El ligando puede ser cualquier base de Lewis capaz de formar un complejo con Fe^{3+} , como los complejos de carboxilato, OH^- , H_2O , HO_2^- , Cl^- , R-OH , R-NH_2 , etc. (Pignatello y col., 2006).



La formación de complejos férricos depende fundamentalmente de la composición del efluente a tratar (ligandos presentes) (Soriano y col., 2019), así como del pH. El pH óptimo para llevar a cabo el proceso foto-Fenton es 2,8 (Pignatello y col., 1992), evitando

así la precipitación de hidróxido férrico y siendo la especie de hierro predominante el $[\text{Fe}(\text{OH})]^{2+}$, la cual presenta una elevada fotoactividad.

A pesar de la alta eficiencia del proceso a pH ácido, la necesidad de un tratamiento previo de acidificación del efluente, así como la neutralización antes de la descarga o reutilización, aumenta la salinidad del efluente, el impacto ambiental y los costes de tratamiento (Gallego-Schmid y col., 2019). Para abordar estos inconvenientes, la investigación para el tratamiento de aguas residuales urbanas principalmente, se centra actualmente en el estudio del proceso a pH neutro con el uso de policarboxilatos y aminocarboxilatos como oxalato, citrato, EDTA, NTA y EDDS, que forman complejos estables con hierro, además de otras alternativas que permite llevar a cabo el proceso foto-Fenton a pH neutro con la consiguiente reducción en el coste que esto conlleva y que se abordará profundamente en el apartado I.7.

I.5. Combinación de procesos avanzados de oxidación y biológicos para el tratamiento de aguas residuales industriales

En las últimas décadas, se han venido empleado diferentes procesos de tratamiento físico, químico y biológico para tratar diversas aguas residuales municipales e industriales, efluentes biológicos, de la industria alimentaria (Paraskeva y Diamadopoulos, 2006), farmacéuticos (Esplugas y col., 2007), de la industria papelera (Moo-Young, 2007), industria textil (Aye y col., 2003; Aye y col., 2004), y lixiviados de vertedero (Renou y col., 2008). Las características de las ARI, como ya se ha comentado, varían no solo con la industria que las genera, sino también dentro de la propia industria. Por tanto, el tratamiento de ARI es un problema complejo debido a la gran variedad de compuestos y concentraciones que pueden contener.

Las tecnologías biológicas son una de las técnicas más importantes para el tratamiento de aguas residuales desde una perspectiva económica y ambiental. Por este motivo, son las tecnologías más ampliamente empleadas para el tratamiento de aguas residuales siempre que la toxicidad y la biodegradabilidad del agua a tratar lo permitan. Para aguas residuales industriales tóxicas o que presenten una muy baja biodegradabilidad, la aplicación de un tratamiento biológico convencional no se recomienda sin un pre-tratamiento oxidativo. Teniendo en cuenta la elevada capacidad de los PAO para oxidar compuestos tóxicos y

recalcitrantes, una opción adecuada para el tratamiento de estas aguas es la combinación de un tratamiento previo con PAO combinado con un tratamiento biológico que permita una reducción final de los costes de operación (Oller y col., 2011).

Por ello, en los últimos años, la investigación en combinación de PAO/sistemas biológicos para el tratamiento de ciertas aguas residuales industriales complejas e imposibles de tratar mediante procesos físico-químicos/biológicos convencionales ha aumentado considerablemente (Mantzavinos y Psillakis, 2004).

El porcentaje de mineralización debe ser mínimo durante la etapa de tratamiento previo para evitar gastos innecesarios de químicos y energía, lo que reduce el costo operativo. Esto es importante porque la electricidad representa aproximadamente el 60% del coste operativo total de los reactores fotocatalíticos (Zielińska y col., 2019). Sin embargo, si el tiempo de tratamiento previo es demasiado corto, los intermedios de reacción generados podrían ser estructuralmente muy similares a los componentes no biodegradables y/o tóxicos originales. La clave es minimizar el tiempo de residencia y el consumo de reactivos en la etapa PAO mediante la aplicación de una estrategia optimizada de acoplamiento con un sistema biológico. El interés en este tema ha crecido debido a la posibilidad real de reutilizar las aguas residuales industriales como un recurso de agua segura en condiciones sanitarias adecuadas (por ejemplo, según lo estipulado por la legislación española sobre la reutilización del agua tratada, Real Decreto 1620/2007).

Hay muchos ejemplos en la literatura sobre el tratamiento de diferentes tipos de ARI mediante la combinación de PAO y sistemas biológicos convencionales o avanzados (ver Tabla I.5):

Tabla I.5. Tratamientos de aguas residuales industriales mediante la combinación de PAO y tratamiento biológico.

Referencia	Origen	PAO	Tratamiento biológico	Observaciones
Krzeminska y Neczai, 2013	Agua residual de la industria láctea (pH 6,7; 2500 mg O ₂ /L)	O ₃	SBR	Eliminación del 92% de DQO
Lucas y col., 2013	Agua residual de la industria láctea (pH 4,8; 92,5 g/L)	Fenton	Aerobio	Eliminación global del 80,7% de DQO y 93,7% de polifenoles totales con una relación H ₂ O ₂ /DQO de 0,20, pH 3.5 y una relación molar H ₂ O ₂ /Fe ²⁺ de 15

Referencia	Origen	PAO	Tratamiento biológico	Observaciones
Wu y col., 2014	Agua residual de la industria petroquímica	O ₃	Filtro biológico aireado	Eliminación del 37% de COT durante 4 minutos y con 10 mg/L de O ₃ . Eliminación del 63% del COT con el tratamiento biológico
Nogueira y col., 2015	Agua residual de la producción de aceite (pH 4,5; DQO 16,5 g/L)	Oxidación fotocatalítica (utilizando TiO ₂ y Fe ₂ O ₃ como catalizadores nanomateriales)	Degradación biológica por hongos	El sistema nano-TiO ₂ /H ₂ O ₂ /UV redujo el 43%, 14%, 38% y 31% en el color, contenido de compuestos aromáticos, DQO y compuestos fenólicos totales, respectivamente sin reducción de toxicidad. El tratamiento combinado aumentó la reducción en DQO y compuestos fenólicos totales a la vez que se redujo la toxicidad
Amaral-Silva y col., 2015a	Aguas residuales de la industria del automóvil (pH 7,8; DQO 10500 mg/L)	O ₃	2 SBR	Degradación del 98,2% de la DQO con un valor final de 220 mg O ₂ /L
Diya'uddeen y col., 2015	Aguas residuales de refinería (pH 9,4; DQO 1259 mg/L)	Fenton	SBR	Eliminación del 76,5% de DQO, 45% de COT, 96% de fenol y aumento de la biodegradabilidad de 0,14 a 0,37 con [H ₂ O ₂]: [COD] 0 de 6, [H ₂ O ₂]: [Fe ⁰] de 10 y pH = 3
Amor y col., 2015	Agua residual de la producción de aceite (pH 4,8; DQO 92,5 g O ₂ /L)	Fenton	Anaerobio	Eliminación del 17,6% de DQO con el PAO. El proceso combinado presentó una degradación del 88% de DQO
Roshini y col., 2017	Agua residual de la industria textil (pH 6,52; DQO 1444 mg/L; COT 480 mg/L)	Electro-Fenton		Eliminación del 86,43% de DQO, 85,88% de color y 55,9% de COT
Silva y col., 2017	Aguas residuales de pirólisis (DQO 152533,3 mg/L)	Oxidación electroquímica		Disminución de la DQO asociada a un aumento en el crecimiento bacteriano, lo que confirma la relevancia del proceso combinado
Bampalioutas y col., 2018	Agua residual de la producción de aceite	Fenton	Digestión anaeróbica	Eliminación del contenido en polifenoles del 88,8% y 35,5% de COT con aumento de la biodegradabilidad. Condiciones: 5 mg/L de H ₂ O ₂ y FeSO ₄ ·7H ₂ O.

La combinación de un PAO seguido de un tratamiento biológico implica un punto de acoplamiento óptimo que debe estudiarse de forma particular para cada tipo de ARI. Esta tarea debe ser considerada como crítica, ya que los costes pueden aumentar innecesariamente si se aplican intensidades de pretratamiento más altas que las necesarias.

Para garantizar el punto de combinación correcto, es necesario estudiar tanto la toxicidad y biodegradabilidad de las aguas residuales como la evolución de ambas con el tiempo de tratamiento para decidir el punto óptimo para descargar el efluente fototratado al proceso biológico, ya que un cambio significativo en la toxicidad generalmente está relacionado con un cambio sustancial en la biodegradabilidad. Con este propósito, existen varias pruebas y análisis secuenciales, como la demanda biológica de oxígeno (DBO), la prueba de Zahn-Wellens o la respirometría con lodo activado. Esta última tecnología es la aplicada en el trabajo experimental presentado en esta Tesis Doctoral, la cual se ha convertido recientemente en un excelente parámetro de control y diagnóstico en depuradoras municipales, ya que representa una medida directa de la correcta actividad de los microorganismos presentes en el lodo.

I.6. Lixiviados de vertedero como ejemplo modelo de agua residual industrial

Las aguas residuales industriales son una de las fuentes de contaminación más importantes para el medio ambiente y más particularmente para el medio acuático.

Existen muchos tipos de ARI que se clasifican en función de la actividad industrial. En consecuencia, las técnicas a aplicar para el tratamiento de las ARI deben ser diseñadas específicamente para el tipo particular de efluente producido.

Uno de los objetivos de esta Tesis Doctoral es el tratamiento, reúso y revalorización de ARI complejas tomando como modelo de este tipo de agua, los lixiviados de vertedero. Los lixiviados de vertedero, generados por la descomposición de desechos orgánicos y la filtración de las precipitaciones (con la consiguiente contaminación de las aguas que esto supone) a través de éstos, son hoy en día uno de los principales problemas relacionados con la operación de los vertederos. La calidad del agua se ve afectada cuando los lixiviados se mueven a través de la escorrentía de aguas pluviales, la evapotranspiración o la infiltración en aguas subterráneas y superficiales.

I.6.1. Origen, características y problemática ambiental de los lixiviados de vertedero

El aumento de la población, el desarrollo de diversos sectores económicos, el consumo industrial y de materiales en todo el mundo, se han traducido en un aumento asociado de la cantidad de residuos sólidos industriales y municipales (Bashir y col., 2009; Renou y col., 2008). Comúnmente, los residuos sólidos municipales se refieren a los residuos recolectados y tratados por los municipios, que incluyen residuos de hogares, comercios, edificios de oficinas, instituciones y pequeñas empresas, jardines, barrido de calles y residuos de limpieza industrial. El tratamiento adecuado de los desechos sólidos industriales y municipales requiere considerar la protección ambiental (Hur y col., 2000). Las alternativas de gestión que se presentan hoy en día para estos residuos son los vertederos. Cada año, se producen en el planeta 1300 millones de toneladas de residuos sólidos municipales (RSU), con un valor de 2200 millones proyectado para 2025 (Shah y col., 2017). Según Kamaruddin y col., (2017), el escenario global actual indica que el 94.5% de los RSU se dirige a vertederos.

Los lixiviados son definidos como el líquido que se genera al filtrarse el agua de lluvia o el agua subterránea a través de los residuos sólidos, disolviendo y arrastrando a su paso diversos elementos contaminantes. Si el vertedero se ha construido con el revestimiento adecuado, la parte principal del lixiviado procede de las precipitaciones y será, por tanto, estacional. Tanto los vertederos como los lixiviados crean un importante problema ambiental ya que éstos contienen una gran cantidad de contaminantes desconocidos en gran medida. Los lixiviados de vertedero pueden clasificarse como aguas residuales recalcitrantes, ya que las sustancias orgánicas que contienen representan un riesgo potencial para la salud humana (Abdul y col., 2009). Además, poseen una gran complejidad ya que contienen una gran variedad de compuestos orgánicos, inorgánicos y metales pesados (Wang y col., 2010).

Los lixiviados de vertedero pueden provocar la contaminación no sólo de aguas subterráneas, sino también de aguas superficiales e incluso, en algunos casos, han descargado directamente a acuíferos. Esto provoca una disminución en la concentración de oxígeno disponible para los organismos, dando lugar a casos de eutrofización debido al alto contenido en nitrógeno y fósforo (Mwiganga y col., 2005).

Los contaminantes que pueden estar contenidos en los lixiviados de vertederos se dividen en cuatro grupos:

- Materia orgánica disuelta, cuantificada como demanda química de oxígeno (COD) o carbono orgánico total (TOC), ácidos grasos volátiles (que se acumulan durante la fase ácida de la estabilización de desechos (Christensen y Kjeldsen, 1968) y compuestos más refractarios, tales como ácido fúlvico y sustancias húmicas.
- Macrocomponentes inorgánicos: calcio (Ca^{2+}), magnesio (Mg^{2+}), sodio (Na^+), potasio (K^+), amonio (NH_4^+), hierro (Fe^{2+}), manganeso (Mn^{2+}), cloruro (Cl^-), sulfato (SO_4^{2-}) y carbonato de hidrógeno (HCO_3^-).
- Metales pesados: cadmio (Cd^{2+}), cromo (Cr^{3+}), cobre (Cu^{2+}), plomo (Pb^{2+}), níquel (Ni^{2+}) y zinc (Zn^{2+}).
- Compuestos orgánicos xenobióticos (XOC), que se originan a partir de compuestos químicos domésticos o industriales y que están presentes en concentraciones relativamente bajas (generalmente menos de 1 mg/L en término de compuesto individual). Estos compuestos incluyen, entre otros, una variedad de hidrocarburos aromáticos, fenoles, alifáticos clorados, pesticidas y plastificantes.

Otros compuestos que se pueden encontrar en lixiviados de vertedero son, por ejemplo, borato, sulfuro, arsenato, selenato, bario, litio, mercurio y cobalto. Sin embargo, en general, estos compuestos se encuentran en concentraciones tan bajas que pasan a un segundo plano en importancia relativa.

La Tabla I.6 muestra ejemplos de diferentes compuestos orgánicos que se pueden encontrar en el lixiviado de vertedero y su rango de concentración (Kjeldsen y col., 2002).

Tabla I.6. Compuestos orgánicos encontrados en lixiviados de vertedero.

TIPO DE COMPUESTO	COMPUESTO	RANGO, $\mu\text{g/L}$
Hidrocarburos aromáticos	Benceno	0,2-1.630
	Tolueno	1-12.300
	Xileno	0,8-3.500
Hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH)	Naftaleno	0,1-260
Fenoles	Fenol	0,6-1.200
	Cresoles	1-2.100
Ftalatos	Dietil ftalato	0,1-660

Los lixiviados de vertedero pueden ser tóxicos, ácidos y ricos en grupos orgánicos, en demanda química de oxígeno (DQO), en demanda biológica de oxígeno (DBO) y en amonio. Poseen un color oscuro y un intenso mal olor. Como ya se ha comentado, su composición tiene una gran variabilidad fisicoquímica y biológica, dependiendo de factores como el tipo de residuos, el clima, la hidrología y las características físicas del vertedero. La composición del lixiviado y las concentraciones de cada contaminante no sólo depende de la fase en la que se encuentre el vertedero (o edad) o del tipo de residuos que se eliminan en él (EPA Suecia, 2008), sino también de la ubicación geográfica, el pH, el contenido en humedad y las condiciones de operación del vertedero. La Tabla I.7 muestra los rangos para diferentes parámetros de composición de los lixiviados de vertedero.

Tabla I.7. Composición media de lixiviados de vertedero (Kjeldsen y col., 2002).

PARÁMETRO	RANGO
pH	4,5-9
Conductividad, $\mu\text{S}/\text{cm}$	2.500-35.000
Sólidos totales, mg/L	2.000-60.000
Carbono orgánico total (TOC), mg/L	30-29.000
Demanda biológica de O_2 (DBO_5), mg/L	20-57.000
Demanda química de oxígeno (COD), mg/L	140-152.000
DBO_5/COD	0,02-0,80
Nitrógeno orgánico, mg/L	14-2.500
Fósforo total, mg/L	0,1-23
Cl^- , mg/L	150-4.500
SO_4^{2-} , mg/L	8-7.750
HCO_3^- , mg/L	610-7.320
Na^+ , mg/L	70-7.700
K^+ , mg/L	50-3.700
$\text{NH}_4^+\text{-N}$, mg/L	50-2.200
Ca^{2+} , mg/L	10-7.200
Mg^{2+} , mg/L	30-15.000
Fe total, mg/L	3-5.500
Cd^{2+} , mg/L	0,0001-0,4
Cr^{3+} , mg/L	0,02-1,5
Cu^{2+} , mg/L	0,005-10
Ni^{2+} , mg/L	0,015-13
Zn^{2+} , mg/L	0,03-1.000

En general, los lixiviados producidos en vertederos más jóvenes se caracterizan por la presencia de cantidades sustanciales de ácidos volátiles, como resultado de la fase ácida de la fermentación resultando en pHs de neutros a ácidos. En los vertederos maduros, la gran parte de los compuestos orgánicos son fracciones húmicas y de tipo fúlvico siendo alcalinos, con $\text{pH} > 8$. También es digno de mención que la proporción de la demanda biológica de oxígeno (DBO) respecto a la demanda química de oxígeno (DQO) disminuye al aumentar la edad del vertedero, debido a la liberación y degradación de biopolímeros (Chian y De Walle, 1976), que se traduce en una menor biocompatibilidad del lixiviado. Más concretamente, el lixiviado de vertedero joven (< 5 años) se caracteriza generalmente por altas concentraciones de DBO (4.000–15.000 mg O_2/L y DQO (25.000–60.000 mg O_2/L), concentración moderadamente alta de $\text{NH}_4\text{-N}$ (500–2.000 mg/L) y alta relación DBO_5/DQO (0,15–0,25) (Morais y Zamora, 2005). Un lixiviado intermedio (de 5 a 10 años) se caracteriza por la presencia de cargas sustanciales de DQO recalcitrante, ácidos grasos volátiles y $\text{pH} > 7$ (Foo y Hameed, 2009; Suna Erses y col., 2005). Por último, un lixiviado maduro o estabilizado (> 10 años) se caracteriza por contener sustancias de elevado peso molecular (compuestos que no son fácilmente biodegradables), alta concentración de $\text{NH}_4\text{-N}$ (3.000–5.000 mg/L), concentración moderadamente alta de DQO (5.000–20.000 mg/L) y una relación BOD_5/COD inferior a 0,1 (Foo y col., 2009) (no biodegradable). Generalmente, las concentraciones de los compuestos que forman parte del lixiviado son significativamente más altas en la fase ácida que en la fase metanogénica (fase final de la descomposición de la materia orgánica). En conclusión, la concentración de los constituyentes del lixiviado va reduciéndose a medida que aumenta la edad del vertedero debido a los procesos de estabilización de los residuos que tienen lugar dentro del mismo. Los máximos valores de carga contaminante se alcanzan durante los primeros años de operación del vertedero (2-3 años) y después, decrecen durante los siguientes años. También pueden aparecer lixiviados de vertederos jóvenes con una concentración orgánica baja, debido a la práctica que se está llevando a cabo recientemente de recirculación de los lixiviados, la cual mejora la calidad del lixiviado, especialmente en términos de DQO (Chan y col., 2002).

Aunque la composición química de los lixiviados de vertederos ha sido ampliamente estudiada, la mayoría de las investigaciones hasta la fecha se han centrado en los componentes inorgánicos y, en menor medida, en algunos productos químicos orgánicos xenobióticos. Pero también, los lixiviados pueden contener mezclas complejas de

productos farmacéuticos, productos de higiene personal y otros contaminantes de interés emergente (Masoner y col., 2014; Eggen y col., 2010). Por ello, más recientemente, los estudios que se están llevando a cabo son los que conciernen a la determinación de la composición exacta de los lixiviados, con el objetivo de diseñar sistemas de tratamiento global que reduzcan su efecto tóxico y biorecalcitrante. Este es uno de los objetivos de esta Tesis Doctoral. A este respecto cabe destacar la enorme complejidad en la aplicación de técnicas analíticas avanzadas para lograr este fin.

A modo de ejemplo, Clarke y col., (2015) detectaron carbamazepina, DEET, PFOA y primidona en todas las muestras de lixiviados analizadas y gemfibrozil en muestras de cuatro de los cinco vertederos que estudiaron. Los contaminantes que reportaron mayor concentración fueron DEET (6.900 a 14.3000 ng/L) y sucralosa (<10 a 621.000 ng/L). También, Masoner y col., (2015) encontraron 101 (53%) de 190 contaminantes de preocupación emergente (CEC) analizados en los lixiviados analizados. Hasta muy recientemente, el contenido en contaminantes de preocupación emergente presente en los lixiviados no había sido considerado ni analizado. La composición y complejidad de la matriz requiere de la aplicación de técnicas de análisis altamente sensibles y selectivas, generalmente basadas en cromatografía de líquidos o gases acopladas a espectrometría de masas, y de estrategias de análisis no dirigido (non target) que permita la identificación de compuestos desconocidos, lo que requiere el empleo de analizadores de alta resolución.

Teniendo en cuenta la composición de lixiviados de vertedero explicada anteriormente, éstos suelen contener sustancias cancerígenas, persistentes y bioacumulativas en todos los eslabones de la cadena trófica. Los metales pesados como el zinc, el cobre, el níquel, el mercurio, el cadmio, el plomo y el cromo son altamente solubles en ambientes acuáticos y pueden ser absorbidos por organismos vivos. Si se liberan en una concentración notable en la cadena alimentaria, pueden generar patologías de salud graves causadas por sus propiedades de bioacumulación y bioamplificación. El plomo ocasiona lesiones cerebrales en los niños e hipertensión arterial en adultos. El mercurio produce lesiones renales y neurológicas. El cadmio produce lesiones renales y hepáticas.

I.6.2. Tratamientos convencionales de lixiviados de vertedero

Debido a su elevado carácter contaminante, los lixiviados de vertedero deben recolectarse, almacenándose en balsas diseñadas específicamente, para luego ser debidamente tratados para evitar su potencial impacto ambiental y cumplir con los estándares para su descarga en el alcantarillado o su eliminación directa en el agua superficial (Wiszniewski y col., 2006). Como resultado de la diversidad en las características de los lixiviados, el diseño de los sistemas para su tratamiento es complicado y no se han unificado hasta el momento. Además, una planta de tratamiento de lixiviados es costosa y es importante considerar tanto la eficiencia como el coste del tratamiento. El tipo de tratamiento depende de las características del vertedero, de la calidad del lixiviado, el requisito de descarga final y los aspectos económicos.

Los tratamientos convencionales para los lixiviados de vertedero se pueden clasificar en tres grupos principales: (a) transferencia de lixiviados: reciclaje y tratamiento combinado con aguas residuales domésticas, (b) biodegradación: procesos aeróbios y anaeróbios y (c) métodos químicos y físicos: oxidación química, adsorción, coagulación / floculación, sedimentación/flotación, etc.

Una solución muy extendida ha sido tratar el lixiviado junto con las aguas residuales municipales en una planta municipal de tratamiento mediante sucesivas diluciones. Este tratamiento es menos costoso y requiere menos mantenimiento, en comparación con un tratamiento local (Ahn y col., 2002), aunque esta opción es viable sólo en el caso de que la estación depuradora de aguas residuales se encuentre cerca del vertedero. En caso contrario, esta opción puede ser no factible a consecuencia de los costes de transporte del lixiviado que conlleva y a la peligrosidad del mismo. La principal ventaja de esta opción sería el ahorro en costes de construcción, mantenimiento y explotación que se consigue al no construir una planta de tratamiento propia. Los principales inconvenientes serían los posibles efectos adversos en el tratamiento biológico de la depuradora municipal debido a la presencia de metales pesados, toxinas, elevado contenido en nitrógeno amoniacal, alta concentración de compuestos orgánicos refractarios y cargas orgánicas extremadamente elevadas. Estos compuestos pueden tener un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de los organismos microbianos y, por lo tanto, reducir la eficiencia general de la depuradora. Además, se requieren altas diluciones del lixiviado, lo que obliga a una capacidad de almacenamiento de lixiviados elevada. También se produce un aumento en la producción de fango y aumenta el deterioro de los equipos debido a los ácidos grasos

volátiles de los lixiviados, que pueden provocar corrosión. Por último, el deterioro de la calidad del agua tratada y del fango, dificulta la reutilización tanto del agua residual tratada como del fango, debido a la presencia de metales pesados y orgánicos traza. Los componentes del lixiviado pueden eventualmente acumularse y terminar en el lodo de la EDAR (Wiszniowski y col., 2006) o pasar sin tratamiento a través de la planta depuradora y afectar al receptor. Entre los pocos estudios publicados, los autores han intentado optimizar la relación volumétrica de lixiviados en las aguas residuales. Diamadopoulou y col., (1997) utilizaron una proporción de aguas residuales a lixiviados de 9/1 y obtuvieron un 95% y 50% de eliminación de DBO y nitrógeno, respectivamente. Además, la calidad del efluente se puede mejorar con la adición de carbón activo en polvo (PAC), particularmente si la entrada de lixiviado supera el 10%. Otros investigadores estudiaron el tratamiento conjunto de lixiviados y aguas residuales (Booth y col., 1996, Çeçen y Çakiroğlu, 2001) mostrando resultados similares.

Otro de los sistemas de gestión de lixiviados más simples consiste en el uso de estanques de evaporación, los cuales están provistos de una cubierta durante la temporada de invierno para excluir la lluvia y donde el agua contenida en el lixiviado acumulado se elimina por evaporación durante los cálidos meses de verano al descubrir estas instalaciones, quedando un lodo que se dispone de nuevo en el vertedero. Una de las ventajas a mencionar es la simplicidad tecnológica de los equipos y el bajo coste de éstos. Además, la principal ventaja de esta tecnología es la solución no sólo del problema que genera los lixiviados sino también la remediación de las emisiones de gases que se pueden aprovechar para la conversión en energía eléctrica. Aunque también puede aparecer formación de espumas debido a la turbulencia, incrustamiento de precipitados en el sistema y arrastre de compuestos orgánicos volátiles y amoníaco en el vapor de agua. En general, se propone realizar ajustes de pH para evitar tal arrastre.

Por último, el reciclaje o recirculación de los lixiviados sobre el vaso de vertido del vertedero es un método efectivo para la gestión de los lixiviados, siendo una forma viable para el tratamiento in situ que reduce el costo de un tratamiento externo adicional logrando que los ácidos grasos presentes en el lixiviado se conviertan en metano. Con la recirculación de lixiviados, se puede utilizar el vertedero en sí como filtro anaeróbico relativamente controlado para tratar los lixiviados, proporcionar una estabilización acelerada de los desechos y reducir el volumen de lixiviados. Al maximizar las pérdidas por evaporación durante la recirculación (Šan y col., 2001), se reduce el tiempo requerido

para la estabilización de varias décadas a 2-3 años (Reinhart y Yousfi, 1996). Cuando el lixiviado se recircula, los componentes se atenúan por la actividad biológica y otras reacciones químicas y físicas que ocurren dentro del vertedero. La recirculación consigue también un aumento de agua, una distribución de nutrientes uniforme, un efecto tampón sobre el pH, una dilución de los compuestos inhibidores, se reciclan los microorganismos metanógenos (productores de gas natural, metano) y vuelve al vertedero material orgánico susceptible de ser transformado en gas, por lo que se produce un aumento de la producción de biogás y un aumento en la velocidad de fermentación. Según Reinhart y col., (1996), los vertederos con recirculación obtienen una producción de gas 12 veces mayor que los que trabajan sin recirculación. Pero también nos podemos encontrar que las altas tasas de recirculación afecten adversamente a la degradación anaerobia de los desechos sólidos. Por ejemplo, Ledakowicz y Kaczorek (2004), observaron que la recirculación puede conducir a la inhibición de la metanogénesis, ya que puede causar altas concentraciones de ácidos orgánicos ($\text{pH} < 5$) que son tóxicos para los microorganismos metanogénicos. Además, si el volumen de lixiviado recirculado es muy alto, se puede agotar la capacidad de amortiguamiento y pueden surgir problemas de saturación, acumulación de agua y condiciones ácidas, por lo que se debe introducir de nuevo el lixiviado de manera lenta. Aunque al recircular los lixiviados se logra un aumento en la humedad de los residuos generando un aumento de la tasa de producción de gas metano, esto implica que el vertedero debe estar equipado con un sistema de recuperación de gas (Tchobanoglous y col., 1993), para así evitar la liberación incontrolada de gas metano, con el consiguiente aumento en el coste asociado a infraestructura. En conclusión, esta opción es una alternativa de tratamiento, no una solución en sí, debido a que los compuestos tóxicos se van concentrando en cada ciclo de reciclaje con el consiguiente problema medioambiental que esto supone.

Cuando no se puede emplear el reciclaje, recirculación o evaporación de los lixiviados o no se pueden mezclar con las aguas residuales domésticas (grupo a), se lleva a cabo el verdadero tratamiento o depuración de éstos (grupos b y c anteriormente expuestos).

Los métodos de tratamiento biológico aprovechan microorganismos capaces de convertir los compuestos no deseados en gases y biomasa reduciéndose así el material orgánico y el nitrógeno del lixiviado (Renou y col., 2008) a la vez que también se puede eliminar parte de los contaminantes. Este tratamiento puede ser tanto aerobio como anaerobio. Estos tratamientos son más recomendables para lixiviados jóvenes, que poseen índices de

biodegradabilidad (DBO_5/DQO) superiores a 0,4 y altas concentraciones de materia orgánica y no son eficientes para lixiviados viejos, donde los índices de biodegradabilidad son inferiores a 0,02 debido al gran contenido en ácidos húmicos y fúlvicos, difícilmente biodegradables. El rendimiento general de estos tratamientos puede verse afectado por la presencia de altos contenidos en amoníaco, minerales disueltos, metales tóxicos, etc., creando problemas de toxicidad para los microorganismos. Las variaciones de caudal y carga orgánica afectan mucho a estos sistemas desequilibrando el proceso.

Hasta el momento, los tratamientos biológicos siguen siendo uno de los medios aceptables para tratar el lixiviado porque ofrecen bajos costes de operación, mantenimiento y de capital de inversión. Dichos costes en los procesos aerobios son significativamente superiores a los de los procesos anaerobios cuando los lixiviados son jóvenes, por lo que se logran mejores relaciones beneficio/coste cuando se usan para tratar lixiviados con concentraciones medias o bajas de DBO. Por esta razón, los procesos aerobios se usan preferencialmente como postratamiento a los sistemas anaerobios, o para lixiviados viejos con bajos niveles de DBO. Los procesos anaerobios son más simples y producen menos lodos que los aerobios. Los problemas que pueden aparecer en los procesos aerobios son la generación de espumas, precipitación de hierro y, si el lixiviado contiene elevada concentración de compuestos orgánicos volátiles (COV), el aire del proceso debe ser tratado para eliminar estos COV que han sido arrastrados, por lo que aumentan los costes, se requiere mantenimiento de equipos y mayor capacidad técnica. Además, se incrementan los costes energéticos debido a la alta cantidad de oxígeno que se demanda. Los cambios ambientales (pH, temperatura, etc.) afectan mucho más a los procesos anaerobios y, además, el amonio no se elimina por estos procesos, por lo que los efluentes resultantes presentan altas concentraciones del mismo (Alvarez-Vazquez y col., 2004). También, su aplicación limitada se debe principalmente a la baja tasa de crecimiento de microorganismos aneróbios y a la cinética baja de reacción y bajo crecimiento o retención de biomasa (Ma y col., 2013), en comparación con los sistemas aerobios.

Estos procesos también se pueden dividir en:

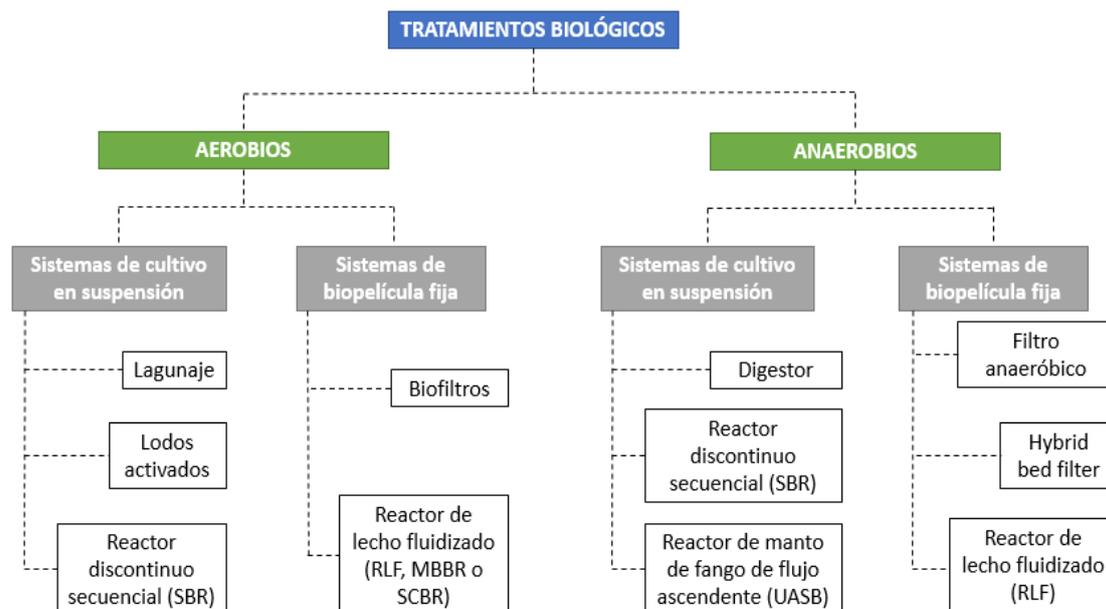


Figura I.4. Tipos de tratamientos biológicos aplicados tradicionalmente a lixiviados de vertedero. Fuente: modificada de Renou y col., 2008.

Haciendo referencia a la Figura I.4, dentro de los sistemas de cultivo en suspensión aerobios, las lagunas aireadas en general han sido consideradas como un método eficaz y de bajo coste para la eliminación de patógenos y materia orgánica e inorgánica. Sus bajos costes de operación y mantenimiento los han convertido en una opción muy popular para el tratamiento de lixiviados. Silva y col., (2017a), lograron una eliminación casi completa del amoníaco del lixiviado (62-99%), con la eliminación simultánea de la alcalinidad (70-100%) además de la fracción de carbono orgánico biodegradable. Aleya y col., (2019) estudiaron el sistema de tratamiento de lagunas para lixiviados de un vertedero de Francia en fase metanogénica, obteniendo que las concentraciones de flujo de salida en sólidos totales en suspensión, en DBO y en elementos de metales traza cumplieron en gran medida con los estándares de flujo de salida requeridos y fueron un promedio de 5, 8 y 6 veces más bajas que las observadas en el flujo de entrada, respectivamente. Sin embargo, como cada vez se imponen requisitos más estrictos, las lagunas pueden no ser una opción de tratamiento completamente satisfactoria para determinados lixiviados a pesar de sus costes más bajos.

En lo que respecta al reactor secuencial por lotes (SBR, siglas en inglés), es ideal para los procesos de nitrificación-desnitrificación, ya que proporciona un régimen de operación

compatible con la oxidación y la nitrificación (Renou y col., 2008). Por ejemplo, Remmas y col., (2018) hicieron uso de un reactor SBR a gran escala para el estudio de la nitrificación y desnitrificación de lixiviados de mediana edad. Tanto el carbono orgánico biodegradable como el amoníaco fueron altamente oxidados (DBO_5 y total eficiencia de eliminación de nitrógeno Kjeldahl (TKN) por encima del 90%), mientras que la eficiencia de eliminación de la DQO fue ligeramente superior al 40% con eficiencias de eliminación de TN por encima del 70%. También, Yong y col., (2018) usaron un reactor SBR seguido de coagulación para tratar lixiviados, logrando una eficacia de eliminación del 85%, 94%, 92% y 86% para DQO, NH_3-N , SST y color, respectivamente.

Los lixiviados de vertederos maduros, como ya se ha comentado, contienen altas concentraciones de amonio y DQO no biodegradable, por lo que son difíciles de tratar de forma efectiva por un método biológico convencional. En cultivos suspendidos aerobios, la eliminación de amonio se produce lentamente debido al lento crecimiento de las bacterias nitrificantes, por lo que resulta más interesante el uso de reactores de biopelículas (aerobios). Además, se sabe que los cultivos de lecho fijos (reactores de biopelícula) son menos sensibles a los cambios a las condiciones ambientales, los productos metabólicos y a las sustancias tóxicas.

Para ello, los filtros por goteo (trickling filters) han sido ampliamente investigados para la reducción de nitrógeno en lixiviados de vertedero (Renou y col., 2008). Matthews y col., (2009) demostraron que esta técnica era capaz de tratar una gran variedad de lixiviados de vertedero con un rendimiento consistente, aunque inferior a los de otros sistemas de tratamiento.

Por otra parte, el reactor de biopelícula de lecho móvil (MBBR, siglas en inglés) (o reactor de lecho fluidizado, RLF) se basa en el uso de soportes poliméricos porosos suspendidos, que se mantienen en movimiento continuo en el tanque de aireación, mientras que la biomasa activa crece como un biofilm en la superficie e intersticios de los mismos. Las principales ventajas de estos sistemas, en comparación con los procesos de crecimiento suspendido convencionales, son: mayores concentraciones de biomasa, no hay largos períodos de sedimentación de lodos y menor sensibilidad a compuestos tóxicos. Por ejemplo, Kulikowska y col., (2009), usaron dos reactores MBBR para la eliminación de amonio de lixiviados de vertedero. Demostraron que para una carga de amonio de $0,14 \text{ g de } N-NH_4/m^3 \cdot d$ se obtuvo la nitrificación completa ($> 99\%$) obteniéndose, predominantemente, nitrato. Las concentraciones de nitrito y amonio fueron inferiores a 1 mg/dm^3 y con el aumento de la carga de amonio a $0,27 \text{ g de } N-NH_4/m^3 \cdot d$ y $0,36 \text{ g de}$

$\text{N-NH}_4/\text{m}^3 \cdot \text{d}$, causó una disminución en la eficiencia de nitrificación hasta el 86% y 59%, respectivamente. También, Xiong y col., (2018), examinaron la eficiencia de nitrificación de un reactor MBBR, observando elevada tolerancia a grandes fluctuaciones en las concentraciones de amonio en los lixiviados de alimentación, manteniendo una eficiencia de nitrificación superior al 60%.

En cuanto a los sistemas anaerobios, existen varios estudios, entre ellos, Kheradmand y col., (2010) evaluaron la viabilidad del tratamiento de lixiviados de un vertedero de edad media (5-10 años) mediante un digestor anaeróbico combinado y un sistema de lodos activados obteniendo una eliminación de la DQO del 73% para el primer digestor y del 19% para el segundo. Además, se logró también la eliminación de Fe, Cu, Mn y Ni en el rango de 88,8-99,9%, aunque el Zn se eliminó al 50%. Sin embargo, no se produjo reducción en el amoníaco y la producción de metano en el primer y segundo digestor fue sólo del 63% y 60%, respectivamente.

Por otro lado, se ha venido observado un buen rendimiento en el tratamiento de lixiviados de vertedero en sistemas SBR anaerobios (Tomaszewski y col., 2018; Miao y col., 2015; Wang y col., 2014; Miao y col., 2014). Tomaszewski y col., (2018), estudiaron la influencia de altas tasas de carga de nitrógeno en la operación de un SBR a escala de laboratorio para aguas residuales sintéticas y para lixiviados de vertedero, concluyendo que éstos no influyeron en la capacidad de eliminación de nitrógeno del proceso, determinando una actividad máxima de 0,594 g N/g SVS·d (sólidos volátiles en suspensión) durante el tratamiento de estos lixiviados.

Dentro de estos sistemas de cultivo en suspensión, el reactor anaerobio de flujo ascendente (UASB, siglas en inglés), es un tratamiento moderno que presenta altas eficiencias para tiempos cortos de retención hidráulica. Los reactores UASB, cuando se someten a valores altos de tasa volumétrica de carga orgánica, han mostrado rendimientos más altos en comparación con otros tipos de reactores anaeróbicos (Renou y col., 2008). Sivathass y col., (2017), usaron un UASB para el tratamiento de lixiviados de vertedero maduros que contienen metales pesados (As, Fe, Ni y Cd) y formaldehído (FA), obteniendo una eliminación de DQO de hasta 79% con un tiempo de retención hidráulica de 4 días. Sin embargo, cuando la tasa de carga orgánica aumentó de 0,4 a 2,5 kg de DQO/ $\text{m}^3 \cdot \text{d}$, la eficiencia de eliminación de DQO disminuyó al 9%, lo que sugiere que la acumulación de metales pesados puede haber inhibido la actividad de los microorganismos metanogénicos. La eliminación de Cd, Ni y Fe fue casi constante independientemente de la tasa de carga orgánica, 36%, 32% y 29%, respectivamente. As

y FA mostraron un grado de eliminación a baja tasa de carga orgánica del 40% y 17% respectivamente, pero a alta tasa, ambos disminuyeron dramáticamente (3,8% y 7,8%, respectivamente). Huang y col. (2009), utilizaron un sistema combinado UASB y biorreactor anóxico/aeróbico (A/O) para tratar un lixiviado de vertedero maduro con una alta concentración de amoníaco y una baja proporción de DQO/TN. Después de 160 días de operación estable, los resultados indicaron que la carga orgánica fue eliminada principalmente por la UASB, mientras que el amoníaco se eliminó mediante la nitrificación acontecida en el biorreactor anóxico/aeróbico. Y, Wu y col., (2016), desarrollaron un sistema combinado UASB, un reactor A/O y un UASB desnitrificante (DUASB) siendo las respectivas eficiencias de eliminación de DQO del 76,8, 2,8 y 16,3%, respectivamente.

De acuerdo con los sistemas de biopelícula fija, los filtros anaeróbios son sistemas de alta velocidad que reúnen las ventajas de otros sistemas aneróbios y minimizan las desventajas. En los filtros anaeróbios de flujo ascendente, la biomasa se retiene en el material soporte. Dacanal y col., (2010) evaluaron el rendimiento de la asociación de un filtro anaeróbico con una membrana de microfiltración para el tratamiento de lixiviados de vertedero con DQO de 10000 mg O₂/L aproximadamente. Los resultados obtenidos mostraron que es posible tratar estas aguas residuales utilizando esta configuración con un tiempo de retención hidráulica de 2,04 días. Las eficiencias de eliminación de DQO fueron del 90% para la microfiltración y del 22% para el filtro anaeróbico con una velocidad de flujo ascendente de 0,05 m/h en este último. Y Wang y col., (2012) propusieron el uso de este tipo de filtros en un tratamiento avanzado de lixiviados de vertedero maduros que incluye dos etapas de Fenton-bio-filtro anaerobio – bio-filtro aireado mostrando excelentes resultados de tratamiento en DQO, TN y eliminación del color corroborando la alta resistencia de los filtros biológicos frente a variaciones importantes en las características del influente.

Los *hybrid bed filter* consisten en una capa de lodo de flujo ascendente en la parte inferior y un filtro anaeróbico en la parte externa. Este dispositivo actúa como un separador de gas-sólido y mejora la retención del sólido sin canalizaciones. El rendimiento mejorado de dicho proceso resulta de la maximización de la concentración de biomasa en el reactor. Timur y col., (2000), demostraron que el tratamiento anaeróbico es una opción eficaz y viable para los lixiviados de vertederos municipales jóvenes. La tasa de carga volumétrica se incrementó de 0,8 a 16,6 g de DQO/L·d al disminuir el TRH (de 5 a 1 d) o al aumentar la concentración de DQO del influente (de 515 a 10260 mg/L). Los resultados indicaron

que esta tasa no podría aumentar más de 7,0 g de DQO/L·d para eliminaciones de DQO de más del 60%, con un contenido de metano del biogás oscilando entre 48 y 75%. Un inconveniente del reactor híbrido, así como del filtro anaeróbico, es el coste adicional de los medios de soporte (Timur y col., 1997).

Por último, el reactor de lecho fluidizado anaeróbico (AFBR, siglas en inglés) representa una opción atractiva para el tratamiento de lixiviados, principalmente debido a la asequibilidad de su coste operacional. Gulsen y Turan (2004a), hicieron uso del AFBR para el tratamiento de lixiviados de vertedero jóvenes en un reactor a escala piloto, mostrando un excelente rendimiento y alcanzando una eliminación de DQO del 90% después de 80 días. Además, también han investigado el tratamiento de estos lixiviados mediante AFBR combinado con oxidación por Fenton. Dicho reactor anaeróbico alcanzó una eficiencia de eliminación de DQO del 80 al 90% y un rendimiento de producción de biogás de 0,5 L de biogás/g de DQO. Más recientemente, Prasetyo y col, (2017), estudiaron el tiempo de retención hidráulica óptimo en un AFBR de dos etapas para el tratamiento de lixiviados de vertedero. Eligieron un AFBR por su mayor eficiencia de eliminación orgánica con un tiempo de residencia hidráulico más corto y su mejor eficiencia energética en comparación con otros reactores anaeróbicos.

La mejora de la eficacia de cualquier tratamiento biológico para lixiviados de vertedero refractarios, debe pasar por llevar a cabo un pre-tratamiento que elimine la parte bio-refractaria. Este tema se explica con más detalle en el apartado I.6.3.

Por otra parte, dentro de los tratamientos convencionales para los lixiviados de vertedero, nos encontramos con los procesos físico-químicos, que incluyen la reducción de sólidos en suspensión, partículas coloidales, materia flotante, color y, en ocasiones, compuestos tóxicos. Los métodos físico-químicos se utilizan junto con los métodos biológicos, principalmente para mejorar la eficiencia del tratamiento (Trebouet y col., 2001). Normalmente, estos procesos se consideran adecuados como pretratamiento para lixiviados con una baja relación de DBO₅/DQO.

En general, los tratamientos físico-químicos para el tratamiento de lixiviados poseen una puesta en marcha rápida, el equipamiento y los materiales son simples, son de fácil operación y automatización y poseen menos sensibilidad a los cambios de temperatura, aunque algunos de ellos sí que presentan altos costes de operación (Kurniawan y col., 2006). Los procesos físico-químicos más comúnmente utilizados son la precipitación química, adsorción, arrastre por aire (air stripping), separación por membranas y

coagulación-floculación (Tatsi y col., 2003; Zamora y col., 2000; Amokrane y col., 1997; Assou y col., 2014; He y col., 2006; Verma y Naresh Kumar, 2016). El intercambio iónico, la electrólisis y la electrodiálisis son otras técnicas aplicadas, pero con menos frecuencia.

La precipitación química es una solución adecuada para la eliminación de metales pesados y compuestos inorgánicos, además de para eliminar la alta concentración de nitrógeno amónico presente en los lixiviados, que pueden afectar significativamente al proceso biológico posterior. (Li y col., 1999). En estos procesos, los iones metálicos disueltos son convertidos en una fase sólida insoluble mediante una reacción química con un agente precipitante como la cal, por lo que los precipitados formados se pueden separar por sedimentación o filtración. Una de las desventajas de este método es el incremento en el contenido de sólidos disueltos del agua residual a tratar. La cal o hidróxido de calcio es el precipitante más efectivo en la eliminación de metales pesados de los lixiviados, consiguiéndose una eliminación entre el 46-97% dependiendo del metal que se trate (Çeçen y col., 2000). En cambio, para la eliminación de amoníaco se usa frecuentemente fosfato de magnesio y amonio (MAP o estruvita, $MgNH_4PO_4$). Li y col., (1999) lo usaron para tratar lixiviado con una concentración inicial de $N-NH_4^+$ de 5618 mg/L. Redujeron la concentración de amonio a 112 mg/L (eliminación del 98%) en 15 minutos, con un pH entre 8,5 y 9,0 y una relación de estruvita $Mg:NH_4^+:PO_4^{3-} = 1:1:1$ (relación estequiométrica). Esta técnica no es efectiva cuando la concentración de iones metálicos es baja, además, no es económica y puede producir una gran cantidad de lodo a tratar con gran dificultad (Fu y col., 2011). Por último, es necesario usar este proceso en combinación con otro sistema porque los rendimientos, en cuanto a eliminación de DQO, no son muy elevados.

La adsorción es un fenómeno de superficie por el cual los contaminantes presentes en el lixiviado se adhieren a la superficie del adsorbente y, por lo tanto, se eliminan del líquido. El material de adsorción más empleado es el carbón activo tanto granular como en polvo gracias a su elevada superficie específica (GAC o PAC) (Renou y col., 2008). El tratamiento de adsorción con AC es el preferido para tratar lixiviados viejos y se usa a menudo junto con procesos biológicos (Çeçen y col., 2004, Çeçen y Çakıroğlu, 2001, Çeçen y col., 2003, Renou y col., 2008). Otros materiales como zeolitas, vermiculita, ilita, caolinita, etc., han sido también probados como adsorbentes, dando resultados de tratamiento cercanos a los obtenidos con el CA. Rodríguez y col., (2004) estudiaron la eficacia de PAC y diferentes resinas, obteniendo las capacidades de adsorción más altas

con una disminución de la DQO del 85% al utilizar PAC. Heavey (2003) utilizaron una turba pretratada como adsorbente, logrando casi el 100% de eliminación de DBO y amoníaco y el 69% de eliminación de DQO. Kalmykova y col., (2013), estudiaron la eliminación de contaminantes orgánicos de los lixiviados, comparando entre filtros de CA y filtros con musgo obteniendo el tratamiento más eficiente al usar los dos materiales en serie. La regeneración frecuente del adsorbente, debida a que el material se va saturando, y el alto coste del GAC limitan su aplicación para el tratamiento de lixiviados (Kurniawan y col., 2006). Además, normalmente se requiere un pre o post-tratamiento del lixiviado, ya que el sistema por sí solo no es capaz de eliminar todos los contaminantes presentes en el lixiviado.

El lavado con aire o air stripping es el método físico-químico más común para eliminar el amoníaco (Yuan y col., 2016), de elevada concentración en los lixiviados, permitiendo también eliminar compuestos orgánicos volátiles. El proceso se aplica para el tratamiento de lixiviados viejos, alcanzando altas eficiencias al aumentar los tiempos de retención y las temperaturas. Para que este método sea eficiente, se deben usar valores altos de pH (para aumentar la proporción de amoníaco volátil) y la fase gas contaminada debe tratarse con ácido sulfúrico o HCl, absorbiendo el amoníaco extraído del lixiviado y evitando así la emisión de NH_3 a la atmósfera, que causa graves problemas de contaminación. Marttinen y col., (2002) reportaron un 89% de reducción de amoníaco a $\text{pH} = 11$ y 20°C con un tiempo de retención de 24h, mientras que el 85% (Ozturk y col., 2003) y el 99,5% (Silva y col., 2004) de eliminación de amonio se puede alcanzar con 17h y 120h de tratamiento, respectivamente. La eliminación de DQO es menor al 47%. Con este proceso se elimina amoníaco, pero no es efectivo para eliminar la toxicidad del lixiviado, ya que puede llegar incluso a aumentarla (Marttinen y col., 2002). Los principales coagulantes utilizados son AlSO_4 , CaCO_3 , FeCl_3 y FeClSO_4 (Amokrane y col., 1997). La selección del coagulante apropiado y su dosis óptima, el pH de trabajo y la determinación de las mejores condiciones experimentales son necesarios para la optimización de esta metodología y debe hacerse para cada lixiviado en particular, debido a su naturaleza cambiante. Según Amokrane y col., (1997), el pH óptimo para la coagulación floculación con FeCl_3 fue de 5 y para el sulfato de aluminio fue de 5,5. Renou y col., (2008) mostraron que las sales de hierro son más eficientes para tratar los lixiviados que las sales de aluminio, obteniendo una reducción de DQO de hasta el 50%, siendo, según Assou y col., (2014), el FeCl_3 el coagulante más adecuado. He y col., (2006) obtuvieron una eliminación de DQO del lixiviado del 58% usando polisulfato férrico y del 23%

empleando policloruro de aluminio. Según Verma y col., (2016), este proceso permite lograr una eliminación eficiente de la turbidez, sólidos en suspensión y color, logrando un 79% de DQO, un 93% de turbidez y un 90% de eliminación de sólidos en suspensión con el uso de FeCl_3 como coagulante. También, la combinación de coagulantes o la adición de floculantes junto con coagulantes puede mejorar el rendimiento del proceso. Los sistemas de membranas se vienen utilizando también recientemente para el tratamiento de lixiviados de vertedero: microfiltración (MF), ultrafiltración (UF), nanofiltración (NF) y ósmosis inversa (RO, siglas en inglés) (Renou y col., 2008). La MF sola no es suficiente para el tratamiento de lixiviados, pero sí que se utiliza como etapa previa a otras etapas de filtración para evitar el ensuciamiento de las membranas. El uso principal de la UF es la eliminación de sólidos (Ehrig y Robinson, 2010). La NF y RO se consideran los tratamientos más eficientes en lo que respecta a la eliminación de DQO, SS, y sustancias orgánicas del lixiviado y pueden aplicarse a todos los tipos de lixiviados: viejos, medios y jóvenes (Insel y col., 2013). La RO es la solución más adecuada para el tratamiento de lixiviados, en lo que respecta a la eliminación de contaminantes (Gao y col., 2014). Se han reportado eliminaciones del 98% y 99% con respecto a DQO y concentraciones de metales, respectivamente (Ushikoshi y col., 2002). Sin embargo, la RO presenta un elevado consumo energético y requiere frecuentes etapas de limpieza, debido al fenómeno de ensuciamiento de las membranas, al igual que sucede en los otros tipos de membrana. Otro de los problemas que surgen de la utilización de este tipo de tecnología de membrana, es el manejo y tratamiento del concentrado que contiene todos los componentes que se eliminan (se retienen en la membrana), para el cual se sugieren procesos de oxidación avanzada como post-tratamiento.

El intercambio iónico no es una tecnología que se use de forma común en el tratamiento de los lixiviados (Bashir y col., 2010, Janin y col., 2009) ya que no es económicamente atractivo debido a su elevado coste de operación y a que antes de este proceso, se requiere un sistema de pre-tratamiento adecuado para la eliminación de sólidos en suspensión. Además, este método es indicado solo para la eliminación de metales y amoníaco (Gao y col., 2014). Los procesos de electrodiálisis y electrolisis también se han ensayado para el tratamiento de lixiviados de vertedero, aunque con menos frecuencia (Kurniawan y col., 2006). La electrolisis puede ser apropiada debido a la alta conductividad y a la elevada concentración de cloruro que presentan los lixiviados, pudiéndose formar cloro/hipoclorito y conllevar un proceso de oxidación indirecto. La electrodiálisis requiere de un pre-tratamiento para eliminar la materia particulada, hierro y/o manganeso

que obstaculizan el proceso. Se puede llegar a obtener el 73% de eliminación de DQO y el 49% de nitrógeno amoniacal (Moraes y Bertazzoli, 2005) pero, debido al elevado consumo energético, la aplicación de este tipo de tecnología a lixiviados está menos extendida (Kruniawan y col., 2006).

En conclusión, el tratamiento de los lixiviados es muy complicado y costoso. Por tanto, la selección del método de tratamiento adecuado es muy importante para poder reducir costes de operación teniendo en cuenta los aspectos ambientales y de salud pública. Los procesos convencionales de tratamiento son los que se vienen llevando a cabo desde hace años, pero algunas veces no se consigue alcanzar los requerimientos legales impuestos, debido a las características variables de los lixiviados (Renou y col., 2008). Además, para cumplir con los estrictos estándares de calidad para la descarga directa de lixiviados en las aguas superficiales, se requiere el desarrollo de métodos integrados de tratamiento, es decir, una combinación de algunas de las tecnologías anteriormente expuestas.

I.6.3. Tratamientos avanzados de lixiviados de vertedero

En muchas ocasiones, las tecnologías convencionales anteriormente descritas no presentan la eficiencia requerida para cumplir con los límites legales de descarga. Se requieren, por tanto, nuevas técnicas de tratamiento alternativas, simples y competitivas, que hagan frente a este tipo de aguas residuales tan complejas y recalcitrantes como los lixiviados de vertedero. Entre los objetivos de esta Tesis Doctoral se encuentra la aplicación de estos nuevos procesos, de forma aislada o como tratamientos previos o posteriores a los métodos convencionales, para la depuración de lixiviados de vertedero.

La oxidación química es un método ampliamente estudiado para el tratamiento de efluentes que contienen compuestos refractarios como los lixiviados de vertedero, teniendo como objetivo la mineralización de los contaminantes en dióxido de carbono, agua e inorgánicos o, al menos, su transformación en productos biocompatibles (Andreozzi y col., 1999). Los principales oxidantes utilizados para el tratamiento de lixiviados son el cloro, el ozono, el permanganato de potasio y el hidrocloreuro de calcio (Amokrane y col., 1997). Son muchos los estudios que, desde hace varios años, se publican respecto a la aplicación de procesos avanzados de oxidación (PAO) para el tratamiento de diferentes tipos de lixiviados de vertedero, con objeto de eliminar los compuestos tóxicos y persistentes, no tratables mediante tecnologías convencionales (Oller y col., 2011, Guo y col., 2010, Atmaca 2009, Tizaoui y col., 2007).

Entre las tecnologías de oxidación avanzada estudiadas se incluyen (Wiszniewski y col., 2006) métodos no fotoquímicos que generan radicales hidroxilo sin aplicar energía luminosa: Ozonización (O_3) a pH elevado ($>8,5$), Ozono + peróxido de hidrógeno (O_3/H_2O_2), Ozono + catalizador (O_3 /catalizador), Proceso Fenton (H_2O_2/Fe^{2+}), y métodos fotoquímicos: O_3/UV , H_2O_2/UV , $O_3/H_2O_2/UV$, Foto-Fenton y fotocatalisis (UV/TiO_2).

Los rendimientos de eliminación, las dosis y los tiempos de tratamiento dependen del tipo de proceso y características del lixiviado. Por ejemplo, con este tipo de tecnologías se logran reducciones del color del 70-99% (Wang y col., 2002; Silva y col., 2004). Numerosos estudios han demostrado que la eliminación de la DQO por ozonización es de alrededor del 50% al 70% (Haapea y col., 2002; Steensen 1997; Kim y col 1997) y muchos de estos estudios han aplicado dicho proceso como un tratamiento terciario antes de descargar el efluente tratado al alcantarillado o a las aguas superficiales. Por otro lado, se ha reportado que la eficacia del tratamiento con lixiviados estabilizados ha sido moderada en cuanto que se ha conseguido solo una eliminación del 30% de DQO después de una hora de tratamiento con ozono, según Rivas y col., (2003). La ozonización por sí sola no resulta muy eficaz, debido a que los lixiviados son efluentes complejos, por lo que se requieren dosis elevadas de ozono y largos tiempos de tratamiento. La mejora sobre la eficiencia en la eliminación de DQO pasa por combinar sistemas de oxidación (O_3/H_2O_2) o agregar irradiación al sistema (H_2O_2/UV). El uso de O_3/H_2O_2 ha conseguido eficiencias de eliminación de materia orgánica en torno al 90% (Bigot y col., 1994; Schulte y col., 1995), mientras que con una combinación de persulfato y peróxido de hidrógeno, en condiciones operativas óptimas, se han reportado eliminaciones del 81% en DQO y del 83% en NH_4-N (Hilles y col., 2016). Además, también se pueden mejorar los resultados aplicando coagulación-floculación a dicha tecnología (Silva y col., 2004). De Moraes y Zamora (2005), demostraron que con los procesos UV/H_2O_2 y foto-Fenton, el contenido total de carbono orgánico se elimina de manera eficiente en menos de 60 minutos de tratamiento, con una eliminación del 97% y 89% y del 56% y 58% de DQO, respectivamente, hecho que confirma la gran capacidad de degradación de ambos procesos fotoquímicos. En el trabajo de Qureshi y col., (2002), la relación DBO_5/COD se incrementó significativamente de 0,1 a 0,45 con la aplicación de UV/H_2O_2 .

Lopez y col., (2004) encontraron una eliminación de DQO del 60% mediante Fenton para lixiviados maduros. Además, teniendo en cuenta la biodegradabilidad y trabajos que aplican Fenton, se han obtenido relaciones DBO/DQO cercanas a 0,5 después de la

oxidación (López y col., 2004; Kim y col., 2001). También se encuentran mejoras en cuanto a la velocidad de eliminación de contaminantes orgánicos y grado de mineralización usando Fe(II)/H₂O₂ en conjunto con radiación UV y luz visible (Kim y col., 1997), habiéndose logrado una degradación máxima de hasta el 80% para lixiviado pretratado biológicamente.

Algunos artículos abordan la aplicación de fotocátalisis heterogénea para el tratamiento de lixiviados (Wang y col., 2002; Cho y col., 2002; Wiszniowski y col., 2004), pero este tipo de procesos es muy poco frecuente (por su baja eficiencia) en el caso de aguas complejas. Finalmente, las tecnologías de radiación de haz de electrones para el tratamiento de lixiviados se han aplicado para tratar o degradar principalmente las sustancias húmicas (Bae y col., 1999).

Otro punto a tener en cuenta es el control de contaminantes orgánicos para cumplir con los requisitos de descarga. Se ha logrado la degradación total de fenoles e hidrocarburos, se ha conseguido una degradación del 23-96% en bifenilos y 74% de degradación para dioxinas y furanos (Wenzel y col., 1999) con la aplicación de UV/O₃ y según Bauer y col., (1998) se puede conseguir la degradación total de los ésteres del ácido ftálico.

Estos PAO se han propuesto en los últimos años como una alternativa eficaz para la mineralización de compuestos orgánicos recalcitrantes en lixiviados, pero se debe tener en cuenta que utilizan reactivos costosos, además de que a menudo se requieren altas dosis debido a la complejidad del lixiviado. Por tanto, su aplicación no debería reemplazar, siempre que sea posible, los tratamientos más económicos como la degradación biológica (Andreozzi y col., 1999). Algunos de los problemas específicos que se pueden encontrar durante la operación de este tipo de tratamientos se reflejan en la Tabla I.8.

Tabla I.8. Principales problemas encontrados en el tratamiento de lixiviados de vertedero mediante PAO. (Wiszniowski y col., 2006)

PROCESOS	PROBLEMAS ENCONTRADOS
O ₃ y O ₃ /H ₂ O ₂	El lixiviado debe estar nitrificado para evitar el consumo de oxidante en la oxidación del amoníaco
	En algunos casos se pueden obtener mejores resultados a un pH elevado (pH > 8)
	La adición de H ₂ O ₂ en combinación con ozono debe optimizarse para ver cuándo es más eficaz, si al mismo tiempo o tras la oxidación de compuestos altamente reactivos con O ₃

PROCESOS	PROBLEMAS ENCONTRADOS
O ₃ /UV y O ₃ /UV/H ₂ O ₂	Alto consumo energético de las lámparas UV
	Cuando la concentración de carbonatos es alta se forma una capa de oxalatos poco solubles en las lámparas UV y en las tuberías
	Transmisión de luz UV pobre en el lixiviado
	Se requiere una concentración de iones carbonato < 1000 mg/L
	pH < 8
UV/H ₂ O ₂	Alto consumo energético de las lámparas UV
	Transmisión deficiente de la luz UV en el lixiviado, se requiere un pH ácido (2-3)
Reactivo Fenton	Producción de lodos
	Alta concentración de cloruros o sulfatos remanentes
	Se necesita un pH bajo (alrededor de 3)

En resumen, se puede decir que la aplicación de los PAO a un lixiviado de vertedero persigue dos objetivos principales:

1. Reducción de la DQO, que alcanzará el nivel permitido de descarga, y/o
2. Mejora de la biodegradabilidad del efluente tratado haciéndolo compatible con un tratamiento biológico posterior. Por ejemplo, la relación DBO₅/DQO se elevó de 0,05 a 0,3 según Bila y col., (2005), o de 0,06 a 0,5 aplicando varios procesos de oxidación basados en ozono (O₃, O₃/H₂O₂ y O₃/UV), según Wu y col., (2004). También, con la aplicación de Fe²⁺/H₂O₂/UV aumentó de 0,13 a 0,37, con H₂O₂/UV aumentó a 0,42 (De Morais y col., 2005) y mediante Fenton se consiguió aumentar de 0,2 a 0,5 según Lopez y col., (2004).

Las Tablas I.9 y I.10 muestran algunos ejemplos de PAO aplicados al tratamiento de lixiviados de vertedero antes y después del proceso biológico.

Tabla I.9. Bibliografía donde se utiliza PAO antes del tratamiento biológico para el tratamiento de lixiviados de vertedero.

Referencia	Edad	Lixiviado	Tratamiento primario	Tratamiento secundario
Vilar V.J.P. y col., 2011	Viejo	Laguna de ecuilización con oxígeno puro, reactor de lodos con zona anóxica y aeróbica, clarificador secundario	Foto-Fenton solar	IBR

Referencia	Edad	Lixiviado	Tratamiento primario	Tratamiento secundario
Poblete y col., 2012	Viejo	Ajuste pH=3, coagulación/floculación (FeCl ₃), filtración	Fotocatálisis solar (mineral sólido WTiO ₂)	Biológico
Vedrenne y col., 2012	Viejo	Coagulación/floculación (FeCl ₃)	Foto-Fenton solar	Biológico
Meeroff y col., 2012	-	Filtración	Aireación fotoquímica mediada por hierro (PIMA)/fotocatálisis con TiO ₂	Biológico
Müller y col., 2015	Intermedia	-	Fotoelectrooxidación	Biológico
De Torres-Socías y col., 2015	-	Coagulación	Foto-Fenton solar	Biológico
Ismail y Tawfik, 2015	-	-	Fenton	UASB UASB/DHS DHS
Amaral-Silva y col., 2016	-	Ósmosis inversa	O ₃ O ₃ + H ₂ O ₂	Biológico
Nivya y Minimol, 2016	-	-	Fotoelectro-Fenton	MBR
Ismail y Tawfik, 2016	-	-	Fenton	PAB
Klauck y col., 2017	-	-	O ₃ pH alcalino O ₃ pH alcalino + oxidación Electroquímica Oxidación fotoelectroquímica	Biológico
Baiju y col., 2018	-	-	Electro-Fenton	Biológico
Colombo y col., 2019	-	-	Foto-Fenton	Lodos activados

Tabla I.10. Bibliografía donde se utiliza PAO después del proceso biológico para el tratamiento de lixiviados de vertedero.

Referencia	Edad	Lixiviado	Tratamiento primario	Tratamiento secundario	Tratamiento terciario
Cassano y col., 2011	Intermedia	Bruto	SBBGR	Con o sin O ₃	Seguido o no de Foto-Fenton solar
Wang Y. y col., 2012	Viejo	Concentrado	UASB +MBR	Nanofiltración/ Ósmosis inversa	Electro-Fenton
Klauson y col., 2014	Intermedio	Bruto	Biológico	Fenton O ₃ Oxidación fotocatalítica acuosa	Biológico
Moreira y col., 2015	-	Bruto	Lodos activados + coagulación	Electro-Fenton Fotoelectro-Fenton Solar Fotoelectro-Fenton Fenton Foto-Fenton Solar foto-Fenton	Biológico
Klein y col., 2016	Viejo	Bruto	SBR	Fenton	SBR
Hassan y col., 2017	-	Bruto	ARB	UV/TiO ₂ UV/S ₂ O ₈ ²⁻	-
Hu y col., 2017	-	Bruto	Oxidación biológica granular aeróbica	Fenton	Lodos activados (anóxico/aeróbico)
Silva y col., 2017a	-	-	ASBO	Coagulación/ Sedimentación	Foto-Fenton
Silva y col., 2017b	-	-	Lodos activados	Foto-Fenton	-
Gomes y col., 2018	-	-	SBR	Coagulación/ Sedimentación Foto-Fenton	SBR
Xu y col., 2018	Viejo	Diluido	SAARB	O ₃ O ₃ + H ₂ O ₂ O ₃ + H ₂ O ₂ + Fe ²⁺ H ₂ O ₂ + Fe ²⁺	-
Chen y col., 2019	Viejo Jóven	Bruto	SAARB	O ₃	-

Entre todos los PAO expuestos anteriormente, el proceso foto-Fenton es considerado como uno de los PAO más prometedores para la eliminación de compuestos orgánicos recalcitrantes presentes en los lixiviados, debido a que es un proceso tecnológicamente simple, se lleva a cabo a presión y temperatura ambiente, no hay limitación de transferencia de masa (naturaleza homogénea), tanto el hierro como el peróxido de hidrógeno no son tóxicos, y se puede reducir el coste del tratamiento si se emplea la radiación solar, por lo que sería más asequible para su uso comercial (Malato Rodríguez y col., 2013).

En esta Tesis Doctoral se estudia la aplicación del proceso foto-Fenton solar y ozonización para el tratamiento de lixiviados de vertedero, evaluando la reducción de la toxicidad y el aumento de la biodegradabilidad, con objeto de combinar con un sistema biológico aerobio basado en lecho fluidizado.

I.6.4. Valorización de lixiviados de vertedero tras su tratamiento

A pesar de las diversas iniciativas de la Unión Europea (UE) para adoptar una economía circular hacia un programa de cero desperdicios, todavía no es posible tener una sociedad 'libre de vertederos', asociada principalmente con la necesidad de la eliminación de desechos industriales (Butt y col.,2014). En los países de la UE, el problema del tratamiento de lixiviados aún persiste y no se ha encontrado una solución universal rentable capaz de aumentar la protección de los recursos ambientales (Parlamento Europeo, 2013). A diferencia de los informes científicos, que tratan sobre el tratamiento de lixiviados mediante procesos biológicos, combinación de tecnologías físico-químicas y biológicas, evaporación, ósmosis inversa, etc., pocos trabajos se encuentran en la literatura que aborden la revalorización de estos.

Algunos de estos trabajos tratan sobre la revalorización de los lixiviados en cuanto a la obtención de biogás (fuente de energía renovable) a partir de su tratamiento, pudiendo resolver así, tanto el problema de la contaminación ambiental como la escasez de energía. Begum y col., (2018) evaluaron el impacto del pH y la carga orgánica inicial de lixiviados de vertedero para la generación de productos de valor agregado, como ácidos grasos volátiles y biogás, durante digestión anaerobia en una y dos etapas. Białowiec y col., (2017), estudiaron la influencia de la recirculación de lixiviados en la cantidad y calidad del biogás generado, ya que la recirculación intensifica tal producción. Obtuvieron el

doble de producción de biogás (de aproximadamente 100 a 200 m³/h) y un aumento en el contenido de metano del 60 al 65% cuando se aplicaron 2 mm/d de velocidad de carga hidráulica en la recirculación. Oz y Yarimtepe (2014), investigaron la integración del proceso de ultrasonidos de baja frecuencia como pretratamiento antes de procesos anaeróbios para aumentar la tasa de hidrólisis de los lixiviados y mejorar la etapa biológica en términos de cantidad de biogás y rendimiento de metano. Obtuvieron un 40% más de biogás con mayor contenido en metano cuando el reactor anaeróbico por lotes fue alimentado con lixiviado pretratado con ultrasonidos en comparación con la alimentación bruta de lixiviado.

El uso de lixiviados de vertedero como fertilizante sería otra forma de revalorizar estas aguas residuales industriales, como el Dr. Romero Batallán plasma en su tesis titulada “Aprovechamiento integral de lixiviados” de la Universidad de Salamanca. Este concluye que el efluente obtenido de la planta de tratamiento anaerobio propuesta puede utilizarse como fertilizante y que es posible llevar a cabo un aprovechamiento integral de los lixiviados, dando soporte científico a la patente de invención nº 200402938 “Método y reactor para tratamiento fermentativo de lixiviados procedentes de vertederos y plantas de tratamiento de residuos sólidos urbanos y utilización del líquido resultante como abono para plantas” y también a la patente nº 200900699 “Procedimiento para operación de una instalación de biometanización de residuos sólidos orgánicos, e instalación para llevarlo a cabo”. Resalta el uso de los lixiviados para obtener gas combustible, generar energía a través del metano y que el producto o efluente final obtenido tiene un mayor poder germinativo que los abonos líquidos comerciales y con un contenido en nutrientes también mayor. Además, estos lixiviados, al contener una elevada concentración de nitrógeno amónico, podrían usarse para producir fertilizante nitrogenado de gran interés actualmente debido a su naturaleza sostenible. Sin embargo, son pocos los estudios publicados y con el uso de diferentes tecnologías (Li y Zhao, 2003; Siciliano 2015; Couto y col., 2016; Li y col., 2017).

Los lixiviados también pueden contener altas cantidades de compuestos de azufre, como sulfuros, sulfitos y sulfatos. Barbosa Segundo y col., (2019), se centraron en la aplicación de un tratamiento en 2 etapas a un lixiviado rico en azufre con el objetivo de eliminar estos compuestos, obteniendo un efluente que cumplía con los requisitos legales portugueses y un precipitado de barita monofásico con valor comercial y destinado para varias aplicaciones. Para ello, utilizaron oxidación catalítica de los iones sulfuro y sulfito

a pH natural, utilizando H_2O_2 como agente oxidante con formación de sulfato y precipitación química de este como barita.

Otra forma de revalorizar los lixiviados de vertedero es a partir de su contenido en ácidos húmicos, fúlvico y los hidrofílicos (Zhao y col., 2013), cuya concentración aumenta con el tiempo debido a la humificación. Estos ácidos húmicos (AH) tienen varias aplicaciones en la agricultura como fertilizante orgánico altamente eficiente o componente de fertilizantes. También puede emplearse para eliminar fósforo, nitrógeno, metales pesados y clorados formando complejos estables seguidos de precipitación. Además, puede mejorar la capacidad de agregación de los suelos y ser puede utilizar como estabilizador de los mismos. Por tanto, los ácidos húmicos pueden ser un recurso potencialmente valioso y su recuperación a partir de lixiviados puede hacer que el tratamiento de éstos sea más sostenible. Iskander y col., (2019), proponen el uso de ósmosis reversa (FO, siglas en inglés) para concentrar un lixiviado real, con la consiguiente recuperación de ácidos húmicos. Debido al requerimiento de bajo pH (pH 2) para la recuperación de éstos, el lixiviado después de dicha operación mantiene un pH bajo que puede ser utilizado para una posterior oxidación por Fenton. De esta manera, con la recuperación de AH se disminuye la concentración de orgánico y, por consiguiente, se mejora la posterior etapa de oxidación, gracias a la reducción de dosis de reactivos, menor producción de lodos y reuducción en sus costes de operación, además de la obtención de un producto de valor añadido. La recuperación de HA disminuyó la generación de lodos en un 30% y la demanda de reactivos para la oxidación de Fenton disminuyó en un 25,2% para H_2SO_4 , 34,6% para NaOH y 35% para $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y H_2O_2 . Santos y col., (2018), extrajeron los AH de lixiviados mediante un tratamiento ácido-base y compararon la mineralización de los lixiviados con AH comerciales mediante foto-Fenton solar y complejos de ferrioxalato. Lograron un aumento de 2,1 veces en la velocidad de reacción utilizando AH extraídos del lixiviado de vertedero en comparación con el AH comercial.

Otra alternativa para la revalorización de los lixiviados sería el cultivo de microalgas en aguas residuales combinadas con lixiviados, ofreciendo una opción viable para la biorremediación debido a su capacidad para eliminar nutrientes, principalmente nitrógeno amoniacal, y otros contaminantes como fósforo, metales y compuestos orgánicos contenidos en los lixiviados (Kumari y col., 2016). Además, la presencia de otros microorganismos en las aguas residuales, como las bacterias, también desempeña un papel importante en la promoción de la eliminación de nutrientes y el crecimiento de

microalgas formándose, por tanto, consorcios de microalgas y bacterias (Gonçalves y col., 2017).

Varias publicaciones se han centrado en el tratamiento de lixiviados con microalgas (Cheah y col., 2016; Kumari y col., 2016; Paskuliakova y col., 2016; Pereira y col., 2016). Además, el crecimiento de microalgas en aguas residuales reduce los costes de producción de biocombustibles. Por último, Hernández-García y col., (2019), integraron este tratamiento, aguas residuales-lixiviados, con la producción de biomasa de microalgas, considerando no solo su valorización en términos de contenido de lípidos y carbohidratos, sino también el efecto de la limitación de nutrientes en la formación de biomasa. Se lograron eliminaciones del 82% de NH_4^+ y 43% de ortofosfato, observando que las microalgas acumulan altos contenidos de lípidos (20%) y carbohidratos (41%) en condiciones limitantes de nutrientes. La concentración de ácidos grasos poliinsaturados también aumentó. También, Chang y col., (2019), se centraron en la producción de lípidos de microalgas y recuperación de nutrientes de lixiviados de vertedero utilizando un fotobiorreactor de membrana modificado. En conclusión, la utilización de microalgas es una alternativa para la biorremediación de dichos desechos y resulta en la producción de biomasa, materia de interesante valor añadido.

Por último, grandes volúmenes de lixiviados de vertederos con características bastante complejas se dejan sin tratar, a pesar de que existe un enorme potencial para la recuperación de productos de valor agregado. Por ello, deben desarrollarse, optimizarse e implementarse tecnologías de remediación sostenibles que permitan la reducción de los costes operativos del tratamiento además de la revalorización de los mismos.

I.7. Aprovechamiento y aplicación de residuos procedentes del procesado de aceituna en procesos avanzados de oxidación

La necesidad de operar en un rango estrecho de pH en el proceso de foto-Fenton, siendo el pH óptimo de 2,8 (Pignatello y col., 1992), es una de sus principales desventajas. En consecuencia, es necesario llevar a cabo un control estricto del pH para evitar la precipitación de oxihidróxidos de hierro, maximizar la concentración de las especies activas del hierro (II y III, FeOH^+ y $\text{Fe}(\text{OH})^{2+}$) y asegurar que ejercen su papel catalítico. Hay que tener en cuenta que a valores de pH entre 2 y 3 se asegura la máxima reactividad

del sistema en cuanto al hierro se refiere donde el porcentaje de la especie fotoactiva FeOH^+ es mayoritario. Por encima de un pH 3, la reactividad del sistema comienza a disminuir debido a la disminución de la concentración de FeOH^+ y $\text{Fe}(\text{OH})^{2+}$ y ya por encima de 4, el hierro disuelto comienza a precipitar en forma de hidróxido férrico (Clarizia y col., 2017).

A pesar de la alta eficiencia del proceso de foto-Fenton a pH ácido, éste conlleva una serie de desventajas económicas y medioambientales: aumento de la salinidad del efluente, impacto ambiental y elevados costes de tratamiento procedentes de la adición de reactivos como ácidos (para obtener un pH ácido) y bases (aumento de pH para vertido) (De Luca y col., 2014). Además, la acidificación puede conducir a la descarga de algunos gases a la atmósfera en presencia de sulfuros o cianuros (Lipczynska-Kochany y Kochany, 2008). Todo esto lleva consigo un creciente interés por parte de la comunidad científica, en la búsqueda de nuevas alternativas que permitan llevar a cabo el proceso oxidativo de foto-Fenton en condiciones de pH neutro o cercanas a la neutralidad. Una posibilidad sería la utilización de catalizadores de hierro que permitan desarrollar un sistema de foto-Fenton heterogéneo. Esta estrategia presenta la necesidad de evaluar la separación del catalizador y además suele ir acompañada de velocidades de reacción más bajas que el foto-Fenton en modo homogéneo, debido a las limitaciones de transferencia de masa y a la disminución en la penetración de la luz por la presencia de sólidos. Otra posibilidad es el mantenimiento en disolución de las especies fotoactivas del hierro a valores de pH neutros o cercanos a la neutralidad. Para tal caso se puede aprovechar la matriz del efluente, el cual puede contener sustancias que complejen el hierro manteniéndolo en disolución, otros metales en disolución o hierro a bajas concentraciones que permitan conducir el proceso foto-Fenton a pH por encima de 3. Por ejemplo, Papoutsakis y col., (2016), estudiaron el uso del agua residual de la industria del cocido del corcho, que contiene una elevada concentración de compuestos polifenólicos capaces de formar complejos con hierro e incluso de contribuir a la reducción del hierro (III) para la degradación de contaminantes como imidacloprid, fenol y metomilo a pH casi neutro. Por otro lado, también Gutiérrez-Zapata y col., (2016), muestran por primera vez que el uso del proceso de foto-Fenton a pH neutro y hierro naturalmente presente parece ser un proceso prometedor para eliminar pesticidas en agua subterránea.

Es posible, por tanto, llevar a cabo el proceso de foto-Fenton solar a pH próximo a la neutralidad gracias a la adición de agentes complejantes de hierro, previniendo así la

precipitación del mismo en forma de hidróxido férrico y manteniéndolo en disolución. Hay que tener en cuenta que esta adición debe limitarse a la mínima cantidad que asegure la mayor eficacia en el proceso de degradación, debido a que su adición lleva implícito un aumento en el TOC y, por tanto, un aumento en los costes de operación asociados. Dichos complejantes son en general moléculas y macromoléculas con grupos carboxílicos y/o amino que absorben luz en el rango UV-visible y que sufren degradación fotolítica. Algunos ejemplos son:

- **Oxalato**: ha sido estudiado para el tratamiento de aguas residuales, por ejemplo, de la industria textil (Manenti y col., 2015). También para la eliminación de CEC presentes en aguas residuales de EDAR (Klarmerth y col., 2011).
- **Ácido etilendiaminotetracético (EDTA)**: comúnmente empleado. Se ha usado en la eliminación de compuestos como sulfametoxazol (De Luca y col., 2014) o bisfenol A (Huang y col., 2012).
- **Ácido etilendiamino-N, N'-disucínico (EDDS)**: empleado en la degradación de microcontaminantes (Klarmerth y col., 2012, Klarmerth y col., 2013, Miralles-Cuevas y col., 2014, De la Obra y col., 2017).
- **Ácido nitrilotriacético (NTA)**: empleado, por ejemplo, para la degradación de sulfametoxazol (De Luca y col., 2014) o ácido ciclohexanoico (Zhang y col., 2017).
- **Citrato**: empleado como complejante de hierro para la degradación de contaminantes como herbicidas (Katsumata y col., 2006; Silva y col., 2007) o fármacos (Miralles-Cuevas y col., 2014).
- **Ácidos húmicos**: su eficacia ha sido demostrada en la eliminación de CEC (Klarmerth y col., 2013; Fukushima y col., 2001).
- **Sustancias tipo húmicas (STH)**: macromoléculas que se pueden extraer de diferentes fuentes y poseen características similares a los ácidos húmicos. Su eficacia ha sido demostrada para la eliminación de CEC (Gomis y col., 2015a; Ballesteros y col., 2017). Gomis y col., demostraron que no se obtenía pérdida importante de eficiencia al llevar a cabo el proceso de foto-Fenton a pH cercano a 5 con 10-20 mg/L de STH y 5 mg/L de Fe (III). También se ha usado para regeneración de efluentes de la industria textil (Negueroles y col., 2016).

Sin embargo, la toxicidad o la baja biodegradabilidad del EDTA, el pH de aplicación reducido del ácido cítrico u oxálico y/o el elevado coste del EDDS reducen el interés de los investigadores para su estudio y aplicación.

En consecuencia, se está dando impulso a la investigación sobre la extracción de sustancias tipo húmicas a partir de residuos urbanos, con el consiguiente valor añadido. Se abre, además, la posibilidad de extraer estas sustancias de tipo húmico a partir de otro tipo de residuos orgánicos, como por ejemplo los derivados de la producción del aceite de oliva. Esto se tratará más en profundidad en el apartado I.7.2. Además, este tipo de componentes fenólicos/polifenólicos también pueden estar presentes en diferentes aguas residuales industriales originadas del procesamiento de productos naturales, como ya se ha mencionado anteriormente: la industria de producción de corcho, almazaras, bodegas, industria de fabricación de té, pulpa, industria del papel, etc. (Papoutsakis y col., 2016). Por ello, también se están llevando a cabo investigaciones utilizando directamente aguas residuales industriales que contienen compuestos complejantes del hierro, con el mismo propósito de poder llevar a cabo el proceso de foto-Fenton a pH neutro y además aprovechar y revalorizar dicho efluente. En el caso particular de esta Tesis Doctoral, se estudiará el aprovechamiento del residuo líquido de la obtención de aceite de oliva, el alpechín, rico en contenido polifenólico y capaz de complejar el hierro (ver apartado I.7.1).

En los países del Mediterráneo, el aceite de oliva ha sido parte de la dieta diaria durante muchas generaciones. Hoy en día, el uso del aceite de oliva es común en todo el mundo debido a sus propiedades saludables y nutricionales. Los mercados más grandes se encuentran dentro de la UE y en terceros países como Estados Unidos, Brasil, Japón, Australia, Rusia y China.

Aunque actualmente el cultivo del olivo se ha extendido por todo el mundo, la zona del mediterráneo es la que concentra los principales productores de aceite de oliva. España, Portugal, Grecia, Italia, Túnez, Turquía y Marruecos producen aproximadamente el 90% del aceite de oliva que se produce actualmente en el mundo. Concretamente, España representa el 44% de la producción (Figura I.5), casi duplicando la producción conjunta de Grecia e Italia. Dentro de España, la comunidad autónoma que concentra una mayor extensión de olivares es Andalucía. Sus olivares ocupan el 40% de Andalucía, los cuales producen el 80% del aceite español.

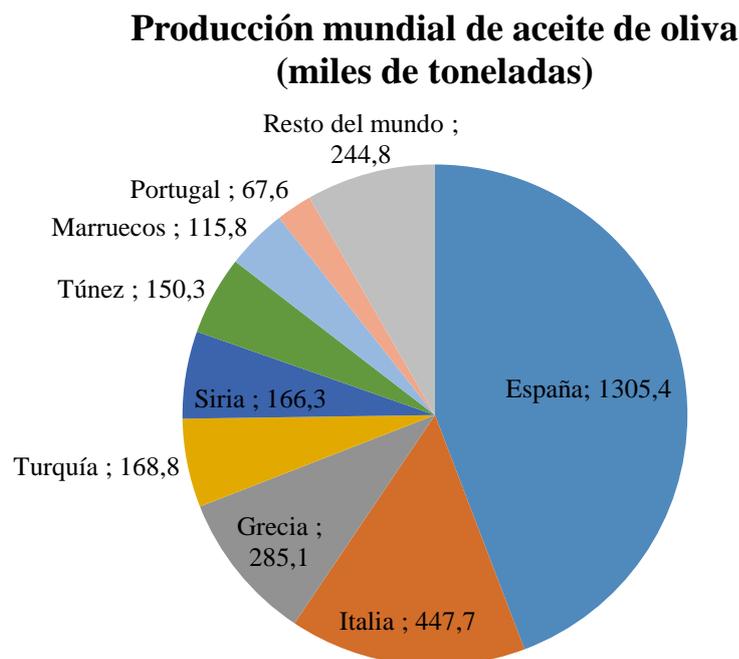


Figura I.5. Producción mundial de aceite de oliva 2015/2016. Fuente: modificada de Consejo oleícola Internacional.

Este aceite de oliva es producido con diferentes tipos de procesos de extracción (Figura I.6). Existen tres sistemas de extracción. El sistema tradicional o discontinuo (por presión), el sistema de centrifugación o continuo en tres fases, y el más recientemente introducido, sistema de dos fases. Etapas comunes en los tres sistemas son el lavado de las aceitunas y la molienda, con el objetivo de romper las células de la pulpa y dejar salir el aceite. Seguidamente, la pasta obtenida se agita lentamente (batido) para aumentar el tamaño de las gotas de aceite y romper las emulsiones aceite/agua para facilitar su posterior separación.

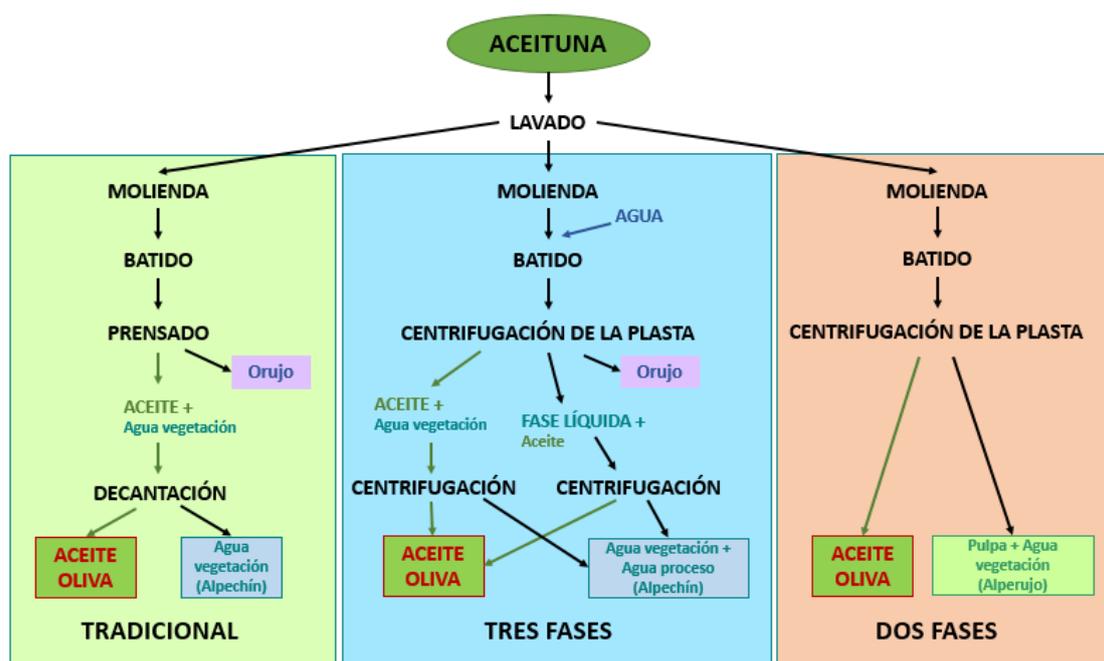


Figura I.6. Esquema de los diferentes procesos de obtención del aceite de oliva. Fuente: modificada de www.ruedaoliva.com/web/es/6/proceso-elaboracion.html.

El sistema de extracción por presión es el más antiguo. Después del batido, se utiliza un proceso de filtrado favorecido por presión para separar la parte líquida de la pasta (mezcla del aceite con el agua de vegetación, alpechín) del orujo o parte sólida. Seguidamente, el aceite de oliva se separa del agua por decantación. Este sistema emplea bastante mano de obra, y la maquinaria, que suele ser antigua, necesita un gran mantenimiento y se genera gran cantidad de alpechín, por lo que se encuentra en desuso en la actualidad.

A principios de los años 70, el sistema de prensado clásico por presión se sustituyó por un sistema de centrifugas en tres fases. La masa de aceituna se introduce en el decantador centrífugo horizontal junto con agua del exterior para fluidificar la pasta y hacerla girar a gran velocidad. Así, se consigue la separación por diferencia de densidad de tres fases:

- Fase líquida oleosa o aceite.
- Fase líquida acuosa o alpechín, resultante del agua añadida para la centrifugación, lavado de la aceituna y la propia del fruto.
- Fase sólida u orujo, compuesto por la pulpa, el hueso y la piel de la aceituna.

Las dos fases líquidas son sometidas a centrifugación de nuevo, con el fin de recuperar la parte de aceite que acompaña a la fase acuosa y eliminar la humedad que contiene la fase oleosa. Al igual que en el sistema anterior, se generan grandes cantidades de aguas residuales, alpechín, con un gran poder contaminante y difícil de eliminar. Se tiene que añadir casi un litro de agua por cada kg de aceituna, los vertidos se triplican en comparación con el sistema de extracción por presión, por lo que se produce un problema ecológico importante.

A consecuencia de los problemas generados por el sistema anterior, a principios de los 90 se introdujo un nuevo sistema de extracción de aceite de oliva mediante centrífugas de dos fases, reduciendo en un 75% la producción de residuos. En este sistema no se añade agua del exterior, por lo que conlleva una gran ventaja y es que no hay prácticamente generación de alpechines. La pasta procedente del batido se centrifuga sin adición de agua del exterior por lo que se obtienen dos fases: el aceite de oliva y el residuo denominado alpeorajo, correspondiente a la pulpa y al agua de vegetación. El aceite obtenido se centrifuga de nuevo para eliminar por completo su humedad. La mayor diferencia entre los sistemas trifásicos y bifásicos es el volumen de agua consumida y agua residual generada, que en los bifásico es mucho menor. Se reduce de 1-1,6 m³ de agua residual o alpechín a 0,2 m³.

Como parte de los objetivos específicos de esta Tesis Doctoral se encuentra la investigación sobre el uso de alpechín como fuente de polifenoles, para la complejación de hierro y mantener éste en disolución a valores de pH neutros o cercanos a la neutralidad.

I.7.1. Residuo líquido de la obtención del aceite de oliva: alpechín

Los residuos líquidos que se generan en la industria oleícola reciben el nombre de alpechines. Aunque este alpechín o agua de vegetación del fruto no constituye en sí un agua residual (esto es, un agua contaminada con residuos) sino un líquido orgánico procedente de una materia viva como es la pulpa de la aceituna, su posterior unión con las diferentes corrientes de agua utilizadas en el proceso de fabricación (lavado, molienda, limpieza...) hacen que el conjunto constituya las aguas residuales de estas industrias oleícolas (Alba, 1995).

La cantidad total de aguas residuales generadas por la producción de aceite de oliva en los países olivícolas del Mediterráneo está en el rango de unos pocos Hm^3 por año (Roig y col., 2006; Paraskeva y col., 2006). Por tanto, esta área se ve especialmente afectada por estas aguas residuales, que han sido, a lo largo de muchos años, un contaminante importante y un residuo problemático, ya que es biorecalcitrante y fitotóxico (Pulido 2016). El volumen de alpechín que se produce es de 0,5-1,5 L/Kg de aceituna molturada.

Se trata de un agua ligeramente ácida (pH 4 y 5), de color negro rojizo, de olor fétido, viscosa y turbia (Tabla I.11). Estas aguas residuales son extremadamente contaminantes debido a una concentración muy alta de DQO, de hasta 200 g/L. Su composición varía con el tipo de aceituna, tipo de cultivo, condiciones climáticas, condiciones de recolección, pero, sobre todo, depende del proceso utilizado para la obtención del aceite. Está compuesto por entre un 83-94% de agua, 4-16% de materia orgánica (polisacáridos, proteínas, ácidos orgánicos, polifenoles) y 0,4-2,5% de sales (carbonatos, fosfatos, potasio, sodio) (Ramos-Cormenzana, 1986). La presencia de compuestos fenólicos, de los que se han identificado más de 50, confieren al alpechín tres de sus propiedades más importantes: el efecto bactericida, el efecto fitotóxico y el color. El alpechín tiene un alto poder contaminante debido a que contiene una gran cantidad de compuestos orgánicos, muchos de los cuales son tóxicos y difíciles de degradar completamente en sistemas microbiológicos, y a sus altos contenidos de sólidos disueltos y en suspensión, que superan los límites permitidos por la Ley de Aguas para vertidos a ríos, lagos, terrenos, balsas, subsuelo, etc. Especialmente, el alpechín se caracteriza por la presencia de más de 30 tipos diferentes de biofenoles y compuestos relacionados que son fitotóxicos con fuertes efectos antibacterianos (Dhaouadi y Marrot, 2008). Es un agua residual estacional debido a que la campaña se desarrolla generalmente de noviembre a marzo.

Tabla I.11. Principales características fisicoquímicas del alpechín (Amor y col., 2019).

Parámetro	Rango de valores
pH	4,5-5,7
DQO, g O_2 /L	16,5-190,0
DBO ₅ , g O_2 /L	41,3-68,7
COT, g O_2 /L	53,3-74,9
Conductividad, mS/cm	5-41
Fenoles totales, g/L	12,6-21,7
Sólidos en suspensión totales, g/L	1,25-8,74
NT, g/L	0,06-1,15

El alpechín, como residuo agroindustrial, puede representar un valioso recurso de sustancias potencialmente útiles, tales como etanol, ácidos orgánicos, enzimas, etc. Por otro lado, y como ya se ha mencionado anteriormente, las sustancias húmicas y más concretamente las quinonas, pueden facilitar la reducción de Fe (III) a Fe (II). Sin embargo, estas sustancias solo están presentes en aguas naturales en el rango de unos mg/L y, por lo tanto, no sería posible utilizarlas en el tratamiento de grandes cantidades de aguas residuales y tampoco es viable su extracción por su elevado coste. Por ello, parece más conveniente el uso de otras fuentes de compuestos fenólicos/polifenólicos, como por ejemplo el alpechín, que posee una concentración que varía entre 5-15 g/L (Bertin y col., 2011). Estos pueden ser fenoles simples y flavonoides, o polifenoles resultantes de la polimerización de los fenoles simples, procedentes de los glucósidos fenólicos de la pulpa y de la semilla de la aceituna. Aunque los compuestos polifenólicos se han asociado principalmente con la actividad antioxidante, varios informes también han descrito el comportamiento prooxidante. Esto parece surgir de su capacidad para unirse y reducir Fe^{3+} a Fe^{2+} , lo que le permite participar en las reacciones de tipo Fenton. Por lo tanto, el reúso del alpechín muy diluido como un aditivo para el tratamiento de otras aguas residuales complejas con objeto de mantener el hierro en disolución bajo condiciones de pH neutro o cercano a la neutralidad durante el proceso de foto-Fenton, sería una opción interesante que se debe explorar. Esto también conduciría a una alternativa al uso de ligandos comerciales formadores de complejos de hierro (EDDS, ácido oxálico, etc.), con la consiguiente reducción de los costes de operación y la consiguiente valorización de un residuo como es el alpechín.

I.7.2. Sustancias tipo húmicas (STH)

El alpeorujo es otro de los residuos que se obtienen en la producción de aceite de oliva. Al igual que el alpechín, las características o composición del alpeorujo varían en función de la variedad de la aceituna, características del suelo, etc. (Karapmar y Worgan, 1983). La producción de alpeorujo se estima entre 3.500.000 y 4.000.000 de toneladas por año (Benítez y col., 2000).

Este residuo está constituido por la piel, la pulpa y el hueso de la aceituna, además del agua de vegetación. Se caracteriza por poseer una elevada humedad (60%), pH ligeramente ácido (cerca de 5), contenido de materia orgánica elevado

(aproximadamente 90%), contenido graso (10%), contenido en fósforo, potasio, micronutrientes y metales pesados relativamente bajos, además de un notable contenido en nitrógeno total y carbono orgánico total. Los mayores constituyentes de esta materia orgánica son lignina, hemicelulosa y celulosa. Debido al elevado grado de humedad y a que es un residuo poco poroso, plástico y con tendencia a compactarse, el alpeorujo presenta graves dificultades para su almacenamiento, transporte, secado por evaporación y extracción. Debido al carácter polar del aceite, el 98% de los compuestos fenólicos quedan en residuos acuosos formando parte del alpeorujo (Obied y col., 2005), lo que hace que éste posea efectos fitotóxicos y no pueda aplicarse directamente al suelo (Martín y col., 2002). Por tanto, este residuo podrá actuar también como agente quelante de metales (Ryan y Robards, 1998).

En consecuencia, son muchos los estudios que se han venido llevando a cabo encaminados al aprovechamiento del alpeorujo. En primer lugar, y mediante centrifugación de este residuo, es posible generar un aceite homologado como de primera extracción. Sin embargo, es necesario aplicarle un procesado y un estricto refinado para su consumo, con el consiguiente incremento en los costes de producción.

Resulta evidente, pues, la necesidad de encontrar otros usos y aprovechamientos alternativos para este residuo. Por ejemplo:

- Aprovechamiento energético: el orujillo y el hueso de la aceituna se puede usar como combustible para la generación de energía térmica, la generación de energía eléctrica, quemando el residuo y conduciendo el vapor generado a la turbina para transformarlo en electricidad, y la producción de metano, mediante la digestión anaerobia del residuo. Esto es debido al elevado poder calorífico que presenta: 400 kcal/kg (Caputo y col., 2003).
- Aprovechamiento en la preparación de alimento para animales.
- Remediación de la erosión, mediante aplicación directa al suelo y como sustrato para la producción de hongos comestibles.
- Abono orgánico, debido a su alto contenido en materia orgánica y presencia de micronutrientes (Sainz y col., 2000; Caravaca y col., 2006).
- Productos de valor añadido para la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria, tales como hidroxitirosol, tirosol, oleuropeína (antioxidantes), pectina (gelificante, estabilizante y emulsionante) (Cardoso y col., 2003), etc.

- Adsorbente de metales pesados, con el objetivo de depurar efluentes contaminados (Pagnanelli y col., 2002).

Los tratamientos que se han ido desarrollando para el aprovechamiento del alpeorujo son pre-tratamientos físicos, químicos y biológicos. Dentro de los físicos se pueden encontrar los mecánicos de molienda y de extrusión y la irradiación con luz ultravioleta o con microondas. Dentro de los pre-tratamientos químicos, hay que destacar los que emplean amoníaco, hidróxido sódico u ozono para eliminar lignina y/o hemicelulosas, o los tratamientos con ácido sulfúrico, ácido clorhídrico, ácido fosfórico o incluso peróxido de hidrógeno para solubilizar la celulosa. Y, por último, con respecto a los pre-tratamientos biológicos, determinados microorganismos actúan sobre los componentes del alpeorujo llegando a metabolizar compuestos recalcitrantes de forma que el sustrato resultante pueda emplearse para diversos fines.

Por otro lado, resulta de gran interés cómo la valorización de estos residuos sólidos procedentes de la producción del aceite de oliva se está considerando como una posible fuente de sustancias similares a las húmicas (sustancias tipo húmicas, STH) que, como se ha descrito en el apartado I.7, son sustancias auxiliares complejantes del hierro que favorecen que el proceso de foto-Fenton solar se pueda llevar a cabo a pH cerca de la neutralidad.

Estas STH son macromoléculas que comparten características importantes con las sustancias húmicas, de gran peso molecular y con una resistencia significativa a la degradación microbiológica o química (Engebretson y Wandruszka, 1994). Las unidades fundamentales de estas sustancias son compuestos aromáticos de carácter fenólico, los cuales constan de un 50% de carbono, 35-45% de oxígeno, 5% de hidrógeno y 3% de nitrógeno y azufre (MacCarthy, 2001).

Estas sustancias pueden clasificarse dependiendo de su solubilidad en ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF) y huminas. Los primeros son de color marrón, solubles en medio alcalino y precipitan en medio ácido. Los ácidos fúlvicos son de color marrón amarillento, de menor peso molecular y solubles en todo el rango de pH. Y los últimos, son de color negro e insolubles en todo el rango de pH. Estas sustancias húmicas se forman gracias a la reacción de los compuestos nitrogenados con las quinonas que provienen de la oxidación de los polifenoles sintetizados a partir de la celulosa y ligninas por microorganismos (Stevenson, 1994).

Las posibles aplicaciones de estas STH son muy diversas: agricultura, industria, biomedicina y medioambiente. Por ejemplo, se han utilizado como fertilizante (Fascella y col., 2015; Sortino y col., 2013), en la preparación del cuero, para la producción de tintes en carpintería, para la producción de plásticos, en la industria papelera, para colorear tejidos (Savarino y col., 2009), en biomedicina por el carácter medicinal de los compuestos que las forman (Peña-Mendez y col., 2005) y en medioambiente para la eliminación de contaminantes de las aguas, por su capacidad de complejar el hierro en el proceso de foto-Fenton a pH neutro.

Además del potencial quelante de estas STH, varios estudios han demostrado que son fotoquímicamente activas, lo cual resulta especialmente interesante para determinadas aplicaciones (Tipping, 2005; Montoneri y col., 2013).

I.7.3. Aprovechamiento de aguas residuales industriales para la eliminación de microcontaminantes orgánicos

Otro de los objetivos específicos de esta Tesis Doctoral, es el uso del alpechín y de las STH, como agentes complejantes del hierro durante el proceso de foto-Fenton solar a pH cercano a la neutralidad con objeto de lograr la degradación o eliminación de los MC seleccionados y presentes en efluentes de salida de EDAR.

I.7.3.1. Efectos adversos sobre la salud humana y el medio ambiente de la presencia de microcontaminantes

Debido a la evolución del estilo de vida y al creciente desarrollo, cada vez se generan más residuos que contienen sustancias potencialmente peligrosas para el medio ambiente, teniendo un efecto devastador sobre, por ejemplo, la calidad del agua.

Los MC orgánicos se encuentran presentes en las aguas en concentraciones de $\mu\text{g/L}$ o menores. Durante los últimos 30 años, la química analítica y ambiental ha avanzado de tal manera que se ha comenzado a prestar mucha atención a estos compuestos, cuyo efecto sobre el medio ambiente y la salud humana aún no se conoce y para los cuales aún no existe legislación ni regulación a nivel europeo. Suiza, es el único país que regula la eliminación de estos MC de las aguas residuales urbanas hasta la fecha (Salimi y col., 2017).

Compuestos como detergentes, productos farmacéuticos y sus metabolitos, productos para el cuidado personal, retardantes de llama, antisépticos, fragancias, aditivos industriales, esteroides y hormonas se consideran CEC. La principal característica de estos contaminantes es que no tienen que ser persistentes en el ambiente para causar efectos negativos en las formas de vida, ya que su posible alta degradación y/o eliminación se compensan con la liberación constante en el ambiente y su acumulación (Lapworth y col., 2012).

Tal y como se ha comentado anteriormente, para la mayoría de MC no hay datos disponibles sobre el impacto ecológico, la evaluación de riesgos y el comportamiento ecotoxicológico. Los riesgos potenciales para la salud humana y el medio ambiente en general aún no se conocen totalmente, pero ya se han demostrado claramente algunos efectos perjudiciales (Sodré y col., 2010; Maruya y col., 2014). Así, pueden afectar a los patrones de crecimiento y reproducción de peces y anfibios, dañar los sistemas nerviosos de los organismos acuáticos e inhibir la fotosíntesis de la flora acuática. También están reportados efectos sobre los mamíferos marinos y aves (Hario y col., 2004; Sørmo y col., 2005). Pueden ocasionar alteración sexual en los peces de agua dulce que se localicen cerca de la descarga de la EDAR (Jobling y col., 2006) y también alteración endocrina (Fossi y col., 2002). Además, el efecto sinérgico potenciador que se puede dar por la presencia de varios MC debe de tenerse también en cuenta.

Tabla I.12. Principales categorías y fuentes de microcontaminantes (Luo y col., 2014).

Categoría	Subclase	Ejemplos	Fuentes principales
Productos farmacéuticos	Antibióticos, anticonvulsivos, antidepresivos, agentes de contraste de rayos X	Trimetoprim, Sulfametoxazol, Carbamazepina, Diazepan, Iopamidol	Aguas residuales domésticas (excreción), efluentes hospitalarios, escorrentías de desechos animales y acuicultura
Productos de higiene personal	Fragancias, cosméticos, filtros solares, desinfectantes	Nitro almizcle, Benzofenona, Triclosan	Aguas residuales domésticas
Esteroides	Estrógenos	Estrona, Estradiol, Estriol	Aguas residuales domésticas, escorrentía de desechos animales y acuicultura

Categoría	Subclase	Ejemplos	Fuentes principales
Surfactantes	Detergentes, tensioactivos no iónicos	Alquilfenoles	Aguas residuales domésticas (baño, lavadora, lavavajillas), Aguas residuales industriales (descargas de limpieza industrial)
Productos químicos industriales	Plastificantes, retardantes de llama	Bisfenol A, Difenil éteres polibromados	Aguas residuales domésticas
Plaguicidas	Insecticidas, herbicidas, fungicidas	Metolacoloro, alacloro, Simazina, Atrazina, Isoproturon	Aguas residuales domésticas (de los jardines), escorrentía agrícola

La Tabla I.12 muestra los MC más relevantes que se encuentran en el medio ambiente en bajas concentraciones. Como se observa en dicha Tabla, los MC entran al medio ambiente a través de diferentes rutas. Las dos principales son las aguas residuales urbanas no tratadas y los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales municipales, ya que la mayoría de estas no están diseñadas para eliminarlos. La concentración habitual de estos MC en los efluentes de una EDAR está en el rango de 50-150 µg/L (Pal y col., 2010; Luo y col., 2014; Bui y col., 2016). Otra importante fuente de contaminación es el sector agropecuario, con el uso de medicamentos veterinarios y pesticidas. Estas sustancias se liberan directamente a las aguas superficiales, e incluso pueden filtrarse a través del suelo para contaminar las aguas subterráneas. Otra forma de dispersión de estos MC es a través de la utilización de lodos procedentes de EDAR en campos, como mejoradores de suelo, y la subsecuente lixiviación de estos a las aguas superficiales y subterráneas, así como la penetración de los lixiviados de vertederos en el acuífero.

Esta preocupación por la presencia y efecto de los MC en el medio ambiente está en el punto de mira de la comunidad científica. Así, paralelamente al desarrollo de nuevas y eficientes tecnologías de tratamiento para mejorar la calidad de los efluentes de aguas residuales urbanas e industriales, también se han desarrollado técnicas analíticas mejoradas capaces de garantizar el logro de los niveles de calidad requeridos. Las mejoras en los métodos analíticos se han centrado en resolver las principales limitaciones asociadas con este tipo de análisis, que requiere: i) una alta sensibilidad para detectar MC, presentes a bajas concentraciones, ii) una alta selectividad, que minimiza las interferencias de matrices complejas y iii) un gran alcance para determinar el mayor

número de compuestos en un solo análisis. Hoy en día, la espectrometría de masas (MS) de baja y alta resolución es la única técnica capaz de superar parcialmente estas limitaciones, proporcionando al mismo tiempo una alta capacidad de identificación y cuantificación para analitos objetivo (*target analysis*) y potencial para detectar contaminantes no objetivo (*suspect screening*) o desconocidos, como los productos de transformación (*non-target analysis*) (Bletsou y col., 2015). Su acoplamiento con técnicas cromatográficas, cromatografía de gases (GC-MS) y cromatografía líquida (LC-MS), es sin duda la mejor opción y los desarrollos en estrategias y herramientas analíticas han contribuido a expandir el número de MC que se pueden determinar actualmente. A pesar del alto potencial de ambas técnicas, la LC-MS con ionización por electrospray (ESI) es la más utilizada, debido a su campo de aplicación más amplio, que incluye compuestos de polaridad media/alta. Por lo tanto, la mayoría de los métodos multirresiduos se basan en LC-MS, mientras que GC-MS se centra en compuestos menos polares y altamente volátiles.

Antes de la determinación instrumental, los métodos analíticos generalmente incluyen pasos de preconcentración, con el objetivo de proporcionar extractos enriquecidos y más limpios. La selección de un procedimiento de extracción adecuado depende del objetivo del análisis (análisis multi- o de un solo residuo) y las propiedades físico-químicas de los analitos objetivo (compuestos iónicos polares, no polares). Un análisis exhaustivo de los MC en aguas residuales es un desafío debido a la gran cantidad de contaminantes potenciales y la gran diversidad en estructuras y propiedades y, desafortunadamente, no existen métodos multirresiduos capaces de extraerlos de manera eficiente. El enfoque más utilizado es la extracción líquido-líquido (LLE, siglas en inglés) o la extracción en fase sólida (SPE, siglas en inglés), debido a su capacidad de extraer compuestos en una amplia gama de polaridades cuando se utilizan sorbentes poliméricos, como Oasis HLB (equilibrio hidrofílico-lipofílico) o Strata-X (Agüera y Lambropoulou, 2015).

El análisis dirigido de MC se realiza principalmente mediante el empleo de técnicas de espectrometría de masas avanzadas, como la espectrometría de masas en tándem (MS/MS), que permiten mejorar la identificación, confirmación y cuantificación de estos compuestos. Para ello se emplean analizadores del tipo triple cuadrupolo (QqQ-MS/MS) o cuadrupolo-trampa de iones lineal (QqLIT-MS/MS) que operan en el modo MRM (*Multiple reaction Monitoring*) (Hermes y col., 2018). Sin embargo, pese a las excelentes prestaciones desde el punto de vista cuantitativo, estas técnicas presentan como principal

limitación su capacidad limitada de análisis, restringida a un número determinado de compuestos previamente conocidos y de los que es necesario disponer de patrones analíticos. Sin embargo, las necesidades actuales en el análisis de MC en aguas residuales van más allá del análisis objetivo, que a menudo es insuficiente para evaluar la calidad del agua. Una alternativa analítica que se está implementando con creciente interés para superar estas limitaciones es el uso de la espectrometría de masas de alta resolución (HRMS). Los instrumentos HRMS modernos utilizados en el análisis ambiental incluyen principalmente analizadores de masa de tiempo de vuelo (TOF) u Orbitrap. Estos equipos permiten el análisis simultáneo de un número ilimitado de compuestos, incluso si los patrones analíticos no están disponibles en el laboratorio, ampliando así las capacidades del análisis a compuestos no esperados (*suspect screening*) o desconocidos (*non-target analysis*) (Nürenberg y col., 2015). Estos equipos se han aplicado menos al análisis ambiental, sin embargo, la preocupación por la determinación de compuestos desconocidos en muestras complejas, así como la determinación de metabolitos y productos de transformación que se generan en los tratamientos de aguas, han promovido un crecimiento exponencial de la aplicación de esta tecnología analítica en estos campos de investigación (Schymanski y col., 2014).

En conclusión, la amplia y frecuente aparición de contaminantes emergentes en el medio ambiente y la ineficiencia de las estaciones depuradoras convencionales para su eliminación, hacen que exista una necesidad persistente de investigación científica en este campo para que así, la Comisión Europea pueda regular los límites de vertido y sean apoyados por las autoridades nacionales de los países.

1.7.3.2. Estrategias para la eliminación de microcontaminantes

Como ya se ha comentado anteriormente, la mayoría de las estaciones depuradoras en operación hoy en día no han sido diseñadas con el propósito de eliminar MC. Si bien algunas EDAR de última generación pueden eliminarlos parcialmente, la mayoría de los MC se descargan sin tratar al medio ambiente. Esto presenta un desafío que requiere modificaciones en las infraestructuras actuales. Por lo tanto, la identificación y desarrollo de combinaciones de tecnologías novedosas y económicamente viables que permitan la eliminación de este tipo de contaminantes se ha convertido en un foco importante de investigación desde el punto de vista ambiental.

Los tratamientos que se puede llevar a cabo para la eliminación de este tipo de contaminantes pueden dividirse en tecnologías de cambio de fase (adsorción con carbón activo, tecnologías de membrana etc), tratamiento biológico y procesos avanzados de oxidación (ozonización, fotocatalisis heterogénea y homogénea etc) y técnicas más recientes como la oxidación electroquímica, oxidación por vía húmeda catalítica, etc. (Rodríguez-Narvaez y col., 2017; Rizzo y col., 2019).

Entre las tecnologías de membrana, las más comúnmente implementadas a gran escala son los llamados procesos impulsados por presión, que engloban la nanofiltración (NF) (Acero y col., 2010) y la ósmosis inversa (RO, siglas en inglés). Además de los compuestos orgánicos disueltos, se eliminan los sólidos disueltos totales (TDS) y los iones inorgánicos, con un mayor porcentaje de rechazo en el caso de la RO. Los procesos de NF y RO también eliminan físicamente muchos microorganismos patógenos que proporcionan una barrera de desinfección, lo que los hace especialmente atractivos para los procesos de recuperación de aguas. Además, la aplicación previa de la filtración por membrana aumenta sinérgicamente la eficiencia y la eficacia de los procesos de desinfección y oxidación química posteriores (por ejemplo, ozono, cloro, y su combinación con carbón activo).

La formación de productos de transformación (derivados de MC) y los subproductos de oxidación (derivados de la matriz de aguas residuales) son un tema importante a tener en cuenta en la aplicación de la ozonización, ya que las dosis suministradas no producen mineralización, por lo que se requiere un tratamiento posterior con filtros de arena o carbón activo con el consiguiente aumento de coste que esto supone. Además, la adsorción de los MC en CA está limitada por el contenido de materia orgánica presente en las aguas residuales urbanas, ya que compite por los sitios activos del carbón activo (Snyder y col., 2007). Estos procesos son más eficientes en aguas con bajas concentraciones de contenido orgánico (bajo DOC) (Pramanik y col., 2015).

Sin embargo, se observa que la combinación entre membranas de ósmosis inversa y carbón activado no han logrado eliminar el contenido de MC de determinadas aguas residuales urbanas (Casas y Bester, 2015; Yang y col., 2016 a, b). Como alternativa, en los últimos años se ha llevado a cabo una intensa investigación en la aplicación de diferentes procesos avanzados de oxidación (PAO) (basados o no en el empleo de energía solar) para la eliminación de MC contenidos en efluentes de EDAR (Rizzo y col., 2019;

Salimi y col., 2017; Miklos y col., 2018; Ribeiro y col., 2019; Bernabeu y col., 2011; Prieto-Rodríguez y col., 2013; Loaiza-Ambuludi y col., 2014; Miranda-García y col., 2010). La Tabla I.13 muestra estudios de investigación en los que se hace uso de PAO para la eliminación de MC en efluentes secundarios.

Tabla I.13. PAO utilizados en la eliminación de microcontaminantes.

Referencia	Proceso	Microcontaminante
Rahmani y col., 2014	H ₂ O ₂ /UV	Tinidazol
Sun y col., 2014	UV	Antibióticos veterinarios
Mendes Saggiaro y col., 2014	Fotocatálisis	Bisfenol A
Sarkar y col., 2014	O ₃ , UV, UV/H ₂ O ₂ , UV/O ₃ , O ₃ /H ₂ O ₂ , O ₃ /UV/H ₂ O ₂	Estrona
Giannakis y col., 2015	UV, UV/H ₂ O ₂ , Fenton, foto-Fenton solar	Carbamacepina, diclofenaco, metropolol, claritromicín, benzotriazol y mecoprop
Carra y col., 2015	UV/Fe ²⁺ /H ₂ O ₂	Acetamiprid y tiabendazol
Carbajo y col., 2015	O ₃	Ofloxacino
Moreira y col., 2015	O ₃ fotocatalítico	Diclofenaco y amoxicilina
Cédât y col., 2016	UV, UV/H ₂ O ₂	Estrógenos
He y col., 2016	Fotocatálisis	Diclofenaco, carbamacepina, ibuprofeno y propranolol
Tokumura y col., 2016	Fotocatálisis, foto-Fenton, O ₃ /H ₂ O ₂	Carbamacepina y diclofenaco
Feng y col., 2016	O ₃	Flumequina
Arzate y col., 2017	Foto-Fenton solar (Raceway)	Sulfametaxazol, carbamacepina y eritromicina
De la Obra y col., 2017	Foto-Fenton solar (Raceway)	Carbamacepina, Flumequina, ibuprofeno, ofloxacino y sulfametaxazol
Castro y col., 2017	UV	O-fenilfenol, triclosan, bisfenol A y parabenos
Gomes y col., 2017	O ₃ , O ₃ /H ₂ O ₂	Sulfametaxazol y diclofenaco
Nadais y col., 2018	Bio-electro-Fenton	Ketoprofeno, diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno
Díez y col., 2018	Fenton, foto-Fenton, UV, UV/H ₂ O ₂	Prednisolona
Sornalingam y col., 2018	Fotocatálisis	Estrona
Plantard y col., 2018	Fotocatálisis	Acetaminofen, carbamacepina, atenolol y diatrizoato
Javadi y col., 2018	Ozonización catalítica	Benzotriazol
Soriano-Molina y col., 2019	Foto-Fenton solar (Raceway)	Dipirona, O-desmetiltramadol, O-desmetilvenlafaxina, gabapentina y otros
Roccamante y col., 2019	Foto-Fenton solar, fotoelectro-Fenton solar, O ₃ /Fe ²⁺ /H ₂ O ₂ , O ₃ /Fe ³⁺ /H ₂ O ₂ , Fe ³⁺ /O ₃ /H ₂ O ₂ /UV	Clorfenvinfos, diclofenaco, terbutrina y pentaclorofenol

Los procesos electroquímicos, de ultrasonidos y microondas no se consideran actualmente energéticamente eficientes para la eliminación de estos MC. Además, los principales inconvenientes de los procesos basados en ozono y UV para la eliminación de MC son los costes operativos relacionados con los equipos y el consumo de energía (Salimi et al., 2017). En este sentido, el proceo foto-Fenton y UV/catalizador, por ejemplo, UV/TiO₂, podrían ser competitivos, ya que pueden ser alimentados como ya se ha venido comentando, por la luz solar reduciéndose, por tanto, los costes de operación.

OBJETIVOS Y PLAN EXPERIMENTAL

II. OBJETIVOS Y PLAN EXPERIMENTAL

II.1. Objetivos generales

El trabajo de investigación que se recoge en esta Memoria ha sido desarrollado en el marco de dos proyectos de investigación titulados: “Caracterización y tratamiento de aguas residuales de distinto origen (Lixiviados de vertedero y efluentes de la industria del corcho)” (ref. RNM-1739, del programa de Incentivos a Proyectos de Investigación de Excelencia, Convocatoria 2012, Junta de Andalucía) y “Tecnologías eficientes para la eliminación de contaminantes de preocupación emergente, contenidos en Directiva 2013/39/CE o riesgo significativo según Directiva 2008/105/CE (TRICERATOPS)” (referencia CTQ2015-69832-C4-1-R).

El objetivo general de esta Tesis Doctoral es el tratamiento de aguas residuales industriales y/o no biodegradables para su regeneración, reutilización y revalorización mediante recuperación de nutrientes para riego de cultivos, estudiando nuevas estrategias y haciendo uso de la energía solar. Además, se abordará la valorización de residuos procedentes de la industrial agro-alimentaria en su eficiencia para promover tecnologías avanzadas de oxidación para la eliminación de MC recogidos en las Directivas Europeas 2013/39/CE y 2008/105/CE como sustancias peligrosas prioritarias y presentes en diferentes tipos de aguas residuales.

II.2. Objetivos específicos

Para lograr los objetivos generales definidos en esta Tesis Doctoral, se han abordado dos objetivos específicos bien diferenciados:

1. Propuesta y desarrollo de una estrategia de tratamiento para aguas residuales industriales y valorización de las mismas.

Para la consecución del presente objetivo se han seleccionado lixiviados de vertedero como caso de estudio, con la intención final de lograr su reutilización en riego de cultivos. Los objetivos específicos definidos dentro de esta línea son los siguientes:

- Caracterización físico-química, toxicológica y analítica de los lixiviados de vertedero.
- Optimización de un pre-tratamiento físico-químico basado en técnicas de coagulación/floculación (C/F) para la reducción de color, turbidez y parte de la materia orgánica presente en los lixiviados de vertedero.
- Análisis comparativo de diversos PAO (foto-Fenton solar y ozonización), tras la etapa de pre-tratamiento físico-químico, con el objetivo de disminuir la toxicidad y mejorar la biodegradabilidad de los lixiviados de vertedero parcialmente oxidados.
- Evaluación de la efectividad de un sistema biológico aerobio específicamente adaptado a los lixiviados de vertedero parcialmente tratados (C/F combinado con PAO). Determinación de la máxima capacidad de tratamiento (eliminación de carbono orgánico y nitrógeno) en modo de operación discontinuo y continuo.
- Identificación de nuevas poblaciones bacterianas generadas en el sistema biológico aerobio tras la adaptación del fango activo a los lixiviados de vertedero parcialmente tratados.
- Valorización de los lixiviados de vertedero mediante la recuperación de amonio residual procedente de los procesos de nitrificación tras el tratamiento biológico aerobio.

- Identificación de microcontaminantes orgánicos presentes en los lixiviados de vertedero y estudio de su eliminación a lo largo de las diferentes etapas del tratamiento propuesto.

2. Valorización de aguas residuales complejas para su uso en la eliminación de microcontaminantes orgánicos mediante foto-Fenton solar a escala planta piloto:

Los objetivos específicos que han marcado el trabajo experimental desarrollado dentro de esta línea han sido:

- Evaluación de nuevas alternativas para la aplicación del proceso de foto-Fenton solar a pH neutro para la eliminación de MC en aguas residuales. Valorización del alpechín como agente complejante del hierro (III) y análisis de los parámetros de operación del proceso foto-Fenton.
- Comparación de la eficiencia en la eliminación de MC mediante foto-Fenton solar a pH neutro con EDDS o alpechín como agentes complejantes del hierro (III).
- Evaluación de nuevas alternativas para la aplicación del proceso de foto-Fenton solar a pH neutro para la eliminación de MC. Valorización de residuos procedentes de la extracción de sustancias tipo húmicas (STH) del alperujo como agente complejante del hierro (III) y análisis de los parámetros de operación del proceso foto-Fenton solar a pH neutro.
- Comparación de la eficiencia en la eliminación de MC mediante foto-Fenton solar a pH neutro con alpechín o STH como agentes complejantes del hierro (III).

II.3. Plan experimental

El plan experimental desarrollado en esta Tesis Doctoral para lograr la consecución de los objetivos específicos anteriormente expuestos se detalla a continuación:

1. Propuesta y desarrollo de una estrategia de tratamiento para aguas residuales industriales y valorización de las mismas:

- Caracterización físico-química y análisis de toxicidad aguda y biodegradabilidad de los lixiviados de vertedero. Propuesta de la línea de tratamiento a seguir en función de la caracterización realizada.
- Optimización del pre-tratamiento físico-químico mediante C/F a escala de laboratorio, para la reducción de color, turbidez y parte de la materia orgánica de los lixiviados de vertedero. Se probarán varios coagulantes y floculantes disponibles en el mercado a diferentes concentraciones y aplicando cambios de pH.
- Análisis comparativo de diferentes PAO (foto-Fenton solar y $O_3/^{\bullet}OH$) a escala planta piloto para el tratamiento y mejora de la biodegradabilidad de los lixiviados de vertedero tras la etapa de C/F. Análisis de toxicidad y biodegradabilidad evaluando el efecto inhibitorio de las muestras parcialmente oxidadas sobre fangos activos procedentes de una EDAR.
- Puesta en marcha y análisis de viabilidad de un reactor biológico aerobio de lecho fluidizado (RLF), operado en modo discontinuo y continuo, para el tratamiento de lixiviados de vertedero parcialmente tratados mediante C/F y foto-Fenton solar. Inoculación del reactor con fangos activos procedentes de una EDAR y adaptación del sistema a las aguas pre-tratadas. Seguimiento de las etapas de nitrificación y conversión de los compuestos nitrogenados en amonio.
- Aplicación de técnicas microbiológicas convencionales (como el recuento en placa) y avanzadas basadas en extracción de ADN, qPCR y secuenciación masiva para la identificación de las nuevas poblaciones microbianas generadas tras la adaptación de los fangos activos a los lixiviados de vertedero parcialmente tratados.
- Recuperación de nutrientes presentes en las aguas residuales complejas para su uso en riego de cultivos. Estudio de la recuperación del amonio residual obtenido

tras el tratamiento biológico de lixiviados de vertedero pre-tratados mediante C/F y foto-Fenton solar, mediante un sistema de destilación por membranas. Se determinarán los parámetros óptimos de operación para maximizar el porcentaje de recuperación.

- Aplicación de métodos analíticos avanzados, basados en técnicas cromatográficas acopladas a espectrometría de masas (LC-MS, GC-MS), para la identificación y seguimiento de microcontaminantes orgánicos a lo largo de las diferentes etapas de la línea de tratamiento propuesta para los lixiviados de vertedero bajo estudio. Selección de protocolos de extracción y estrategias de análisis de amplio espectro.

2. Valorización de aguas residuales complejas para su uso en la eliminación de microcontaminantes orgánicos mediante foto-Fenton solar a escala planta piloto:

- Estudio del proceso foto-Fenton solar bajo condiciones de operación óptimas (según bibliografía: 5,5 mg/L de hierro (III) y 50 mg/L de H₂O₂) a escala de laboratorio y planta piloto para la eliminación de MC seleccionados (clorfenvinfos, diclofenaco, pentaclorofenol y terbutrina, a 200 µg/L cada uno) en agua desmineralizada y natural y con el uso de EDDS como complejante de hierro (III) (en la relación 1:2) para llevar a cabo el proceso a pH cercano a la neutralidad.
- Caracterización físico-química de alpechín seleccionado como agua residual rica en polifenoles para su uso como agente complejante del hierro (III) en el proceso de foto-Fenton solar en condiciones de pH cercanas a la neutralidad.
- Estudio de la disponibilidad y estabilidad del hierro (III) para diferentes dosis de alpechín a diferentes valores de pH (3-9). Selección de la dosis de alpechín más conveniente para que la concentración disponible de polifenoles asociada permita mantener el hierro (III) en disolución el mayor tiempo posible durante el proceso de foto-Fenton solar.
- Eliminación de MC (200 µg/L y 40 µg/L cada uno) en agua desmineralizada, natural, natural simulada con y sin carbonatos, y simulada de salida de EDAR,

mediante foto-Fenton solar en presencia de la dosis de alpechín seleccionada a pH próximo a la neutralidad y a escala planta piloto.

- Evaluación de las mejores condiciones de pH, concentración de STH y H_2O_2 para mantener el hierro (III) en disolución durante el proceso de foto-Fenton solar a pH próximo a la neutralidad y a escala de laboratorio para la eliminación de los MC bajo estudio. Los ensayos se llevarán a cabo con agua natural enriquecida con 200 $\mu\text{g/L}$ de cada MC seleccionado.
- Comparación entre el uso de STH como agente complejante del hierro (III) y la adición de pequeñas dosis de alpechín (con alto contenido en polifenoles), para la eliminación de los MC seleccionados mediante foto-Fenton solar a pH cercano a la neutralidad en agua natural y a escala planta piloto.

MATERIALES Y MÉTODOS

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III.1. Materiales

III.1.1. Reactivos

Los reactivos utilizados durante la experimentación recogida en esta Tesis Doctoral se muestran en la Tabla III.1. Todos los utilizados para el desarrollo de las técnicas analíticas cromatográficas son de alta pureza. El agua desionizada empleada para la preparación de estándares analíticos y otras disoluciones procede de un equipo Millipore Milli-Q® disponible en el laboratorio de Tecnologías del Agua de la Unidad de Tratamientos Solares de Agua en la Plataforma Solar de Almería (PSA).

Tabla III.1. Reactivos utilizados durante la realización de la tesis, fórmula, uso y proveedor.

Reactivo	Fórmula molecular	Uso	Proveedor
Acetato amónico	$C_2H_7NO_2$	Reactivo para la determinación de hierro. Preparación de la solución buffer ISO 6332	Riedel-de-Haën
Acetato de etilo	$C_4H_8O_2$	Extracción líquido-líquido	Panreac
Acetato sódico	$C_2H_3NaO_2$	Referencia en ensayos de toxicidad	J. T. Baker

Reactivo	Fórmula molecular	Uso	Proveedor
Acetonitrilo (ACN)	CH ₃ CN	Preparación de muestras, fase móvil, limpieza de equipos, etc.	Sigma-Aldrich
Ácido acético	CH ₃ COOH	Reactivo para la medida del hierro. Preparación de la solución buffer ISO 6332	J. T. Baker
Ácido arábigo	--	Reactivo procedente de la receta de agua simulada	Sigma-Aldrich
Ácido etilendiamino disuccínico (EDDS)	C ₁₀ H ₁₃ N ₂ Na ₃ O ₈	Agente complejante del hierro	Sigma-Aldrich
Ácido fórmico	HCOOH	Reactivo usado para acidificar la fase móvil en LC	Merck
Ácido húmico	--	Reactivo procedente de la receta de agua simulada	Sigma-Aldrich
Ácido niflúmico	C ₁₃ H ₉ F ₃ N ₂ O ₂	Patrón analítico para confirmación de sospechoso en LC-ESI-QTOF-MS	Sigma-Aldrich
Ácido sulfúrico	H ₂ SO ₄	Ajuste de pH	J. T. Baker
Ácido tánico	C ₇₆ H ₅₂ O ₄₆	Reactivo procedente de la receta de agua simulada	Panreac
Anhídrido naftálico	C ₁₂ H ₆ O ₃	Patrón analítico para confirmación de sospechoso en GC-Q-MS	Sigma-Aldrich
Bicarbonato de sodio	NaHCO ₃	Reactivo procedente de la receta de agua simulada y para promover el crecimiento de bacterias autótrofas para la eliminación de amonio en el reactor biológico	Panreac
Bisfenol A	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	Patrón analítico para confirmación de sospechoso en GC-Q-MS	Aldrich
Butil benzil ftalato	C ₁₉ H ₂₀ O ₄	Patrón analítico (MIX) para confirmación de sospechoso en GC-Q-MS	DR Ehrenstorfer
Carbonato sódico anhidro	Na ₂ CO ₃	Cuantificación de polifenoles totales	Fluka

Reactivo	Fórmula molecular	Uso	Proveedor
Clorfenvinfos	$C_{12}H_{14}Cl_3O_4P$	Contaminante modelo, preparación de estándar, patrón analítico para confirmación de sospechoso en LC-ESI-QTOF-MS	Sigma-Aldrich
Cloruro de amonio	NH_4Cl	Optimización de la destilación por membranas para la recuperación de amonio	Panreac
Cloruro de hierro anhidro	$FeCl_3$	Coagulación/floculación	Panreac
Cloruro de potasio	KCl	Reactivo procedente de la receta del agua simulada	J.T. Baker
Cloruro de sodio	$NaCl$	Extracción líquido-líquido	Merck
Criseno	$C_{18}H_{12}$	Patrón analítico (MIX) para confirmación de sospechoso en GC-Q-MS	Supelco
DEET (N,N-dimetil-m-toluamida)	$C_{12}H_{17}NO$	Patrón analítico para confirmación de sospechoso en GC-Q-MS	Sigma
Diclofenaco	$C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$	Contaminante modelo y preparación de estándar	Sigma
2,4-diclorofenol	$C_6H_4Cl_2O$	Patrón analítico para confirmación de sospechoso en GC-Q-MS	Sigma
Diclorometano	CH_2Cl_2	Disolvente para extracción líquido-líquido	Panreac
Difenilamina	$C_{12}H_{11}N$	Patrón analítico para confirmación de sospechoso en GC-Q-MS	Sigma-Aldrich
Diisobutilftalato	$C_{16}H_{22}O_4$	Patrón analítico para confirmación de sospechoso en GC-Q-MS	Sigma-Aldrich
Di n-butilftalato	$C_{16}H_{22}O_4$	Patrón analítico (MIX) para confirmación de sospechoso en GC-Q-MS	DR Ehrenstorfer
Di n-nonilftalato	$C_{26}H_{42}O_4$	Patrón analítico (MIX) para confirmación de sospechoso en GC-Q-MS	DR Ehrenstorfer
Extracto de carne	--	Reactivo procedente de la receta de agua simulada	Biolife
ECOTAN BIO	--	Coagulante comercial	Grupo Servyeco
Fenantreno	$C_{14}H_{10}$	Patrón analítico (MIX) para confirmación de sospechoso en GC-Q-MS	Supelco
1,10 Fenantrolina cloruro monohidrato	--	Reactivo para la medida del hierro	Merck

Reactivo	Fórmula molecular	Uso	Proveedor
o-Fenilfenol	C ₁₂ H ₁₀ O	Patrón analítico para confirmación de sospechoso en GC-Q-MS	Sigma-Aldrich
Fluoreno	C ₁₃ H ₁₀	Patrón analítico (MIX) para confirmación de sospechoso en GC-Q-MS	Supelco
Folin-Ciocalteu	--	Reactivo para la medida de polifenoles totales	Merck
Fosfato de potasio	K ₂ HPO ₄	Reactivo procedente de la receta de agua simulada	Riedel-de-Haën
Goma arábiga	--	Reactivo procedente de la receta de agua simulada	Panreac
Hexaclorobenceno	C ₆ Cl ₆	Patrón analítico para confirmación de sospechoso en GC-Q-MS	Sigma-Aldrich
Hidrogeno ftalato de potasio	C ₈ H ₅ KO ₄	Reactivo para la calibración del COD	Fluka
Hidróxido de calcio	Ca(OH) ₂	Coagulación/floculación	Panreac
Hidróxido de sodio	NaOH	Ajuste de pH	J. T. Baker
Hexano	C ₆ H ₁₄	Disolvente para extracción líquido-líquido	Panreac
Laurilsulfato de sodio	C ₁₂ H ₂₅ NaO ₄ S	Reactivo procedente de la receta de agua simulada	Sigma-Aldrich
Lignosulfonato sódico	--	Reactivo procedente de la receta de agua simulada	Sigma-Aldrich
Metanol (MeOH)	CH ₃ OH	Preparación de patrones	J. T. Baker
Naftaleno	C ₁₀ H ₈	Patrón analítico (MIX) para confirmación de sospechoso en GC-Q-MS	Supelco
N-Aliltiourea	CH ₂ =CHCH ₂ NHCSNH ₂	Inhibidor nitrificación en ensayo de biodegradabilidad	Aldrich
Nitrato de potasio	KNO ₃	Estudio de la influencia de un componente representativo de aguas residuales en la recuperación de amonio por destilación por membranas	Aldrich
Nitrógeno técnico industrial	N ₂	Evaporación de muestras y eliminación de ozono	Carburos metálicos
Octaazufre	S ₈	Patrón analítico para confirmación de sospechoso en GC-Q-MS	Sigma
Pentaclorofenol	C ₆ HCl ₅ O	Contaminante modelo y preparación de estándar	Sigma
Peptona	--	Reactivo procedente de la receta de agua simulada	Panreac
Peróxido de hidrógeno	H ₂ O ₂	Agente oxidante utilizado en Fenton y foto-Fenton.	Sigma-Aldrich

Reactivo	Fórmula molecular	Uso	Proveedor
Pirimetamil	$C_{12}H_{13}N_3$	Patrón analítico para confirmación de sospechoso en GC-Q-MS	Sigma
QUIFLOC 225-K	--	Coagulante comercial	MP Medioambiente S.L.
QUIFLOC NT-520	--	Coagulante comercial	MP Medioambiente S.L.
QUIFLOC AC/9800	--	Floculante comercial	MP Medioambiente S.L.
QUIFLOC 2030/W	--	Floculante comercial	MP Medioambiente S.L.
QUIFLOC AC-6010	--	Floculante comercial	MP Medioambiente S.L.
Solución de titanio (IV) oxisulfato	$TiOSO_4$	Reactivo para la medida del H_2O_2	Fluka
Sulfato de amonio	$(NH_4)_2SO_4$	Reactivo procedente de la receta de agua simulada	Panreac
Sulfato de calcio dihidratado	$CaSO_4 \cdot 2H_2O$	Reactivo procedente de la receta de agua simulada	Panreac
Sulfato de hierro III monohidratado	$Fe_2(SO_4)_3 \cdot H_2O$	Reactivo empleado en reacciones de foto-Fenton	Panreac
Sulfato de magnesio	$MgSO_4$	Extracción líquido-líquido y reactivo para preparación de agua simulada	Panreac
Sulfato de sodio	Na_2SO_4	Extracción líquido-líquido y reactivo para preparación de agua simulada	Panreac
Terbutrina	$C_{10}H_{19}N_5S$	Contaminante modelo y preparación de estándar	Sigma-Aldrich
Tonalida	$C_{18}H_{26}O$	Patrón analítico para confirmación de sospechoso en GC-Q-MS	Sigma
Tramadol	$C_{16}H_{25}NO_2$	Patrón analítico para confirmación de sospechoso en LC-ESI-QTOF-MS	Sigma-Aldrich
Trifenilfosfato	$C_{18}H_{15}O_4P$	Patrón analítico para confirmación de sospechoso en GC-Q-MS	Supelco
Valsartan	$C_{24}H_{29}N_5O_3$	Patrón analítico para confirmación de sospechoso en LC-ESI-QTOF-MS	Sigma-Aldrich

III.1.2. Aguas residuales

La experimentación de esta Tesis Doctoral se ha llevado a cabo con diferentes aguas residuales industriales y municipales reales y/o simuladas.

Por un lado, el agua desmineralizada empleada en diversas medidas analíticas y ensayos de eliminación de microcontaminantes (MC) se obtuvo del sistema de desmineralización de la PSA: conductividad inferior a 10 $\mu\text{S}/\text{cm}$, $\text{Cl}^- = 0,7\text{-}0,8 \text{ mg/L}$, $\text{NO}_3^- = 0,5 \text{ mg/L}$ y cantidad de carbono orgánico inferior a 0,5 mg/L.

Con objeto de ir complicando la matriz acuosa de cara a la evaluación de la eficiencia en la eliminación de los MC, se utilizó *Agua natural de la PSA* procedente de mezclar 50% de agua del grifo de la PSA (especialmente dura y con contenido elevado de sulfatos y cloruros, alrededor de 200 mg/L y 300 mg/L, respectivamente) y 50% de agua desmineralizada. Sus características se presentan en la siguiente Tabla:

Tabla III.2. Caracterización del agua natural de la PSA.

Parámetros	Valores
pH	7,7
Conductividad, mS/cm	1,1
DOC, mg C/L	1,4
Ca^{2+} , mg/L	29,7
Mg^{2+} , mg/L	28,8
K^+ , mg/L	3,6
Na^+ , mg/L	235,1
NO_3^- , mg/L	3,8
SO_4^{2-} , mg/L	99,6
Cl^- , mg/L	149,4

Aguas Simuladas

- *Agua natural simulada:* Este tipo de agua se preparó fresca para cada tanda de ensayos según la receta publicada en *American Standard Methods* (1998): 96 mg/L de NaHCO_3 , 60 mg/L de $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 60 mg/L de MgSO_4 y 4 mg/L de KCl . Para aquellos casos en los que se decidió eliminar el contenido de carbonatos y bicarbonatos, por su capacidad de reaccionar y atrapar a los radicales hidroxilo y, por tanto, de reducir la eficiencia en la eliminación de contaminantes mediante la aplicación de PAO, se añadieron 81 mg/L de Na_2SO_4 en lugar de NaHCO_3 a la receta.

- *Agua simulada de salida del tratamiento secundario de una EDAR*: Se siguió la receta de Zhang y col. (2007), cuyos componentes se muestran en la siguiente Tabla (aportando 10 mg/L de COD):

Tabla III. 3. Composición del agua simulada de salida del tratamiento secundario de una EDAR.

Componentes	Concentración (mg/L)
Compuestos orgánicos	
Extracto de carne	1,8
Peptona	2,7
Ácido húmico	4,2
Ácido tánico	4,2
Lignosulfonato sódico	2,4
Laurilsulfato de sodio	0,9
Goma arábiga	4,7
Ácido arábigo	5,0
Sales	
NaHCO ₃	96,0
CaSO ₄ ·2H ₂ O	60,0
MgSO ₄	60,0
KCl	4,0
(NH ₄) ₂ SO ₄	23,6
K ₂ HPO ₄	7,0

Todas las aguas simuladas se prepararon el día previo a los experimentos y se dejaron mezclar durante la noche para asegurar la solubilidad completa de todas las especies.

Aguas residuales reales

Los lixiviados de vertedero estudiados se recogieron de un vertedero municipal del municipio de Vila Real, al norte de Portugal, el cual recibe 75,000 toneladas de desechos domésticos por año, aproximadamente, y lleva en funcionamiento desde el año 2000. La caracterización de estos lixiviados se muestra en la Tabla III.4. Como se puede observar, se trata de un lixiviado de vertedero antiguo que presenta una alta toxicidad y una carga orgánica no muy elevada pero no biodegradable y, por tanto, recalcitrante a un tratamiento biológico convencional.

Tabla III.4. Caracterización de los lixiviados de vertedero.

PARÁMETROS	VALORES
pH	8,5
Turbidez, NTU	96
Conductividad, mS/cm	31,4
COD, mg C/L	1860
DQO, mg O ₂ /L	9387
NT, mg N/L	4854
Hierro total, mg Fe/L	7,2
Cl ⁻ , mg/L	2603
NO ₂ ⁻ , mg/L	44,8
NO ₃ ⁻ , mg/L	83,8
PO ₄ ³⁻ , mg/L	116,5
SO ₄ ²⁻ , mg/L	210,8
Na ⁺ , mg/L	1921
NH ₄ ⁺ , mg/L	3048
K ⁺ , mg/L	1833
Mg ²⁺ , mg/L	47,3
Ca ²⁺ , mg/L	33,0
Glicolato, mg/L	95,5
Acetato, mg/L	48,5
Formiato, mg/L	138,5
Toxicidad aguda, %	85
Biodegradabilidad*	0,06

*Biodegradabilidad (medida por respirometría) = (DQO_b/DQO)

Para llevar a cabo el tratamiento biológico de estos lixiviados, se utilizó agua residual de entrada al tratamiento secundario de la EDAR de “El Toyo” en Almería (España). Dicha agua presenta la siguiente caracterización: pH, 7,45, valores de COD, DQO y TN medios de 106,0 mg C/L, 513,5 mg O₂/L y 124,1 mg N/L, respectivamente. Las concentraciones medias de los cationes y aniones fueron: 109,9 mg N-NH₄⁺/L, 203,1 mg Na⁺/L, 35,3 mg K⁺/L, 42,2 mg Mg²⁺/L, 73,5 mg Ca²⁺/L, 373,0 mg Cl⁻/L, 2,3 mg NO₂⁻/L, 2,7 mg Br⁻/L, 3,4 mg NO₃⁻/L, 73,4 mg PO₄³⁻/L y, por último, 64,6 mg SO₄³⁻/L.

Se recogieron aguas residuales de salida del tratamiento secundario de una EDAR de Maia (Oporto, Portugal), para evaluar el porcentaje de recuperación de amonio de un agua de salida de un biológico bajo condiciones de operación óptimas. Las principales características de esta agua se presentan en la Tabla III.5.

Tabla III.5. Caracterización del agua de salida de la EDAR de Maia (Oporto, Portugal).

PARÁMETROS	VALORES
pH	7,2
Conductividad, mS/cm	0,7
COD, mg C/L	34,4
Na ⁺ , mg/L	39,2
K ⁺ , mg/L	8,1
NH ₄ ⁺ , mg/L	21,7
Mg ²⁺ , mg/L	7,7
Ca ²⁺ , mg/L	19,4

Para la evaluación del aprovechamiento y aplicación de residuos procedentes del procesado de aceituna en procesos de foto-Fenton solar, se empleó alpechín recogido directamente de una planta de procesado de aceitunas ubicada en Tabernas (Almería, España). La Tabla III.6 presenta las principales características de los dos lotes de alpechín que se han usado en esta Tesis Doctoral.

Tabla III.6. Caracterización de los dos lotes de alpechín utilizados.

PARÁMETROS	1	2
pH	4,4	4,5
Conductividad, mS/cm	20,1	27,1
COD, g C/L	28,7	45,7
DQO, g O ₂ /L	93,3	136,9
Polifenoles, g/L	6,3	9,5

III.1.3. Sustancias húmicas

Sustancias húmicas aisladas y cedidas por el grupo de la Prof. Ana M. Amat de la Universidad Politécnica de Valencia, Campus de Alcoy, fueron utilizadas en el proceso de foto-Fenton solar a pH neutro y comparadas con el empleo de alpechín como agente complejante del hierro. La obtención de las sustancias húmicas se llevó a cabo a partir de alperujo procedente de la extracción del aceite de oliva en dos fases de una almazara del municipio de Millena (Alicante, España), como residuo de partida. En primer lugar, se llevó a cabo una digestión básica. Para ello, a 125 g (peso seco) del material de partida se le añadieron 0,5 L de una disolución de KOH de concentración variable según el pH deseado (entre 7 y 13). La mezcla se calentó a 65 °C, manteniéndose en agitación (aproximadamente 400 rpm) durante diferentes tiempos (4 y 24 horas). Transcurrido este tiempo se paró la agitación y el calentamiento y se dejó la mezcla en reposo durante toda

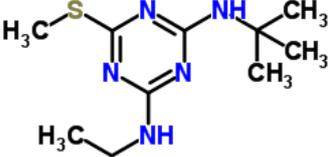
la noche. La mezcla procedente de la digestión se sometió a un primer filtrado de gruesos con la finalidad de eliminar la fracción insoluble que aún permanecía en la mezcla. A continuación, los 5 L de solución se sometieron a ultrafiltración a través de tres membranas cerámicas con tamaños de poro de 300 kg/mol, 150 kg/mol y 50 kg/mol. Por último, la materia húmeda procedente de la ultrafiltración (retentato) se secó en una estufa a 65°C durante 48 horas. En las sustancias obtenidas se observó cierto contenido inorgánico, probablemente debido a la presencia de sales procedentes del KOH. Por ello, se decidió someterlas a un proceso de diálisis empleando membranas de celulosa de 12000 Da de tamaño de poro (Sigma-Aldrich). La solución en el interior de la membrana se secó en estufa a 65°C hasta eliminar todo el contenido acuoso. Se obtuvieron, aproximadamente, 0,8 g de sustancia tras la diálisis.

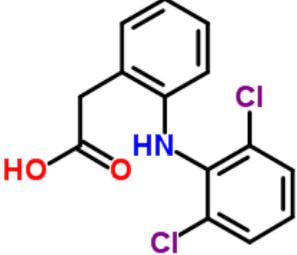
III.1.4. Microcontaminantes orgánicos seleccionados

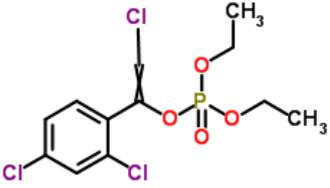
Se seleccionaron cuatro MC modelo (Tabla III.7) listados en las Directivas 2013/39/CE y 2008/105/CE. Estos MC son de especial relevancia y han sido identificados por dicha normativa como especialmente preocupantes o bien como responsables de riesgos específicos y cuantificados en el medio acuático. Se seleccionaron teniendo en cuenta su diferente estructura y aplicación, su solubilidad en agua y su estabilidad en el medio ambiente. El seguimiento de la degradación de estos compuestos se llevó a cabo mediante cromatografía de líquidos de ultra-alta resolución con detector UV de matriz de diodos (UHPLC-UV/DAD). La degradación de estos MC mediante foto-Fenton solar se estudió a dos niveles de concentración, 200 µg/L (800 µg/L como suma de todos) y 40 µg/L (160 µg/L como suma).

Tabla III.7. Principales características de los MC orgánicos seleccionados.

Pentaclorofenol (PCP)		
Nombre sistemático (IUPAC)	2,3,4,5,6 – pentaclorofenol	
Nº CAS	87-86-5	
Fórmula	C ₆ Cl ₅ OH / C ₆ HCl ₅ O	
Peso molecular, g/mol	266,34	
Solubilidad (20°C), mg/L	10	
Tipo	Plaguicida	
Máxima absorción, nm	220	

Terbutrina (TBT)		
Nombre sistemático (IUPAC)	N2-tert-butil-N4-etil-6-(metilsulfanil)-1,3,5-triazina-2,4-diamina	
Nº CAS	886-50-0	
Fórmula	C ₁₀ H ₁₉ N ₅ S	
Peso molecular, g/mol	241,36	
Solubilidad (20°C), mg/L	25	
Tipo	Herbicida/triazina	
Máxima absorción, nm	230	

Diclofenaco (DCF)		
Nombre sistemático (IUPAC)	2-[2-(2,6-dicloroanilino)fenil]ácido acético	
Nº CAS	15307-79-6	
Fórmula	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	
Peso molecular, g/mol	296,15	
Solubilidad (25°C), mg/L	2,37	
Tipo	Antiinflamatorio	
Máxima absorción, nm	285	

Clorfenvinfos (CVP)		
Nombre sistemático (IUPAC)	(EZ)-2-cloro-1-(2,4-diclorofenil)vinil dietil fosfato	
Nº CAS	470-90-6	
Fórmula	C ₁₂ H ₁₄ Cl ₃ O ₄ P	
Peso molecular, g/mol	359,56	
Solubilidad (20°C), mg/L	124	
Tipo	Insecticida/acaricida	
Máxima absorción, nm	240	

Fuente: Pesticide Properties DataBase (PPDB). The PubChem Project.

III.2. Técnicas analíticas convencionales

III.2.1. Cromatografía iónica (CI)

Fundamento teórico y descripción del equipo

La cromatografía iónica o cromatografía de intercambio iónico es una modalidad de cromatografía líquida que permite la separación de iones y moléculas polares basada en sus propiedades de carga eléctrica. Se puede aplicar al estudio de proteínas grandes, nucleótidos o aminoácidos pequeños, pero en general, puede ser usada para la determinación de casi cualquier tipo de molécula cargada. Se compone de dos fases, la fase estacionaria o intercambiador iónico y la fase móvil o disolvente. Como fase estacionaria se emplea una resina de intercambio iónico, de elevada masa molecular y

esencialmente insoluble. El fundamento de la separación está basado en el equilibrio de intercambio iónico entre los iones de una disolución y los iones del mismo signo que se encuentran en la superficie de la resina. Las columnas cromatográficas poseen grupos de anclaje cargados como sitios activos que retienen en mayor o menor grado a los analitos en función de sus interacciones iónicas (polaridades). Dependiendo de la naturaleza del ion retenido, las resinas de intercambio catiónico presentan grupos de ácido sulfónico (H^+SO_3^- , ácido fuerte) o grupos de ácido carboxílico (H^+COO^- , ácido débil). Las resinas de intercambio aniónico contienen grupos amino terciarios ($\text{N}(\text{CH}_3)^3+\text{OH}^-$, muy básicos) o grupos amino primarios (NH_3^+OH^- , bases débiles). Por otro lado, las fases móviles empleadas suelen ser soluciones acuosas con cierta cantidad de algún disolvente orgánico miscible (como el metanol). Los iones del analito compiten con los iones de la fase móvil por lo puntos activos del relleno del intercambiador iónico (resina). Las fases móviles más utilizadas para la medida de aniones normalmente contienen bicarbonato/carbonato, hidróxido o una mezcla de ácido bórico y tetraborato, mientras que las fases móviles utilizadas para la medida de cationes contienen normalmente ácido sulfúrico, ácido metanosulfónico o ácido clorhídrico. En este trabajo, se utilizó como fase móvil bicarbonato sódico (0,53 g/L) para la medida de aniones y ácidos carboxílicos y una mezcla de acetona (9%), piridina (0,75%) y ácido nítrico 2M (0,085%) disueltos en agua Milli-Q para la determinación de cationes y aminas. Para la regeneración de la columna de aniones se utilizó una disolución de ácido sulfúrico (1%) en agua Milli-Q.

En CI se pueden emplear una amplia gama de detectores donde se registra la señal obtenida respecto al tiempo. El resultado es un cromatograma donde la posición de los máximos indica el ion presente (análisis cualitativo) y el área corresponde a la concentración de cada ion en la disolución (análisis cuantitativo). El detector puede ser de UV, amperométrico, etc., y, en ciertos casos, de fluorescencia, pero sin duda, el detector de conductividad eléctrica es el más popular debido a su selectividad, amplio margen de aplicabilidad, bajo coste y simplicidad de operación. Éste registra cualquier aumento en la conductividad eléctrica de la fase móvil cuando el analito atraviesa el detector una vez separado en la columna de intercambio iónico. Otra ventaja de estos detectores es que son universales para especies cargadas, respondiendo de una forma predecible a los cambios de concentración, por lo que poseen una elevada sensibilidad. Sin embargo, existe una limitación procedente de la alta concentración de electrolito requerida para eluir la mayoría de los iones o analitos en un tiempo razonable. Por esta

razón la conductividad de la fase móvil puede enmascarar a los analitos reduciendo así la sensibilidad del detector. Este problema se resolvió en 1975 mediante el uso de una supresora de membrana en la que el eluyente y la disolución supresora fluyen en direcciones opuestas a ambos lados de unas membranas permeables de intercambio iónico, convirtiendo el eluyente en una forma no iónica, de tal forma que los analitos pueden detectarse por su conductividad con mayor sensibilidad.

La detección y cuantificación de aniones, cationes, aminas y ácidos carboxílicos en esta Tesis Doctoral, se llevó a cabo en un cromatógrafo iónico Metrohm IC850 provisto de un muestreador automático Metrohm 858 (6.2041.440) (Figura III.1). El tiempo total de análisis fue de 47 minutos. La cuantificación de los analitos se realizó mediante calibración interna. Para ello se prepararon rectas de calibrado en un rango de concentración de 0.1-20 mg/L, para aniones, cationes y aminas, y de 0,1-5 mg/L, para ácidos carboxílicos.



Figura III.1. Cromatógrafo iónico Metrohm IC850 y Metrohm 858 utilizados en este trabajo.

Procedimiento

El buen funcionamiento y calibración del equipo se comprobó diariamente mediante el análisis de disoluciones patrón de cada uno de los iones estudiados. Las muestras se filtraron a través de un filtro de Nylon con un tamaño de poro de 0,22 μm

(MilliporeMillex® GN) antes del análisis. Las muestras se diluyeron, cuando fue necesario, considerando los valores de calibración interna del equipo y el elevado contenido en ciertas sales. La Tabla III.8 muestra las condiciones operativas del sistema.

Tabla III.8. Condiciones de operación y fase móvil para la medida de aniones, cationes, aminas y ácidos carboxílicos.

Iones	<p>Cationes (Na⁺, NH₄⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺)</p> <p>Aminas (Metilamina, etilamina, dimetilamina + propilamina, trimetilamina)</p>	<p>Aniones (F⁻, Cl⁻, NO₂⁻, Br⁻, NO₃⁻, PO₄³⁻, SO₄²⁻)</p> <p>Ácidos carboxílicos (Glicolato, acetato, propionato, formiato, piruvato, dicloroacético, maleato, oxalato)</p>
Columna	METROSEP C4-250/4.0 (250 x 4.0 mm) y 5µm	METROSEP A Trap 1-100/4.0 (100 x 4 mm) y 570 µm
Caudal, ml/min	0,9	0,7
Temperatura, °C	Temperatura no controlada	45
Eluyentes	Solución compuesta por: 90 mL acetona 850 µL ácido nítrico 2M 7,5 mL/L ácido piridina-2.6 dicarboxílico	Solución Na ₂ CO ₃ 5mM
Supresión química	-	H ₂ SO ₄ 26,7 ml/L C ₂ H ₂ O ₄ · 2 H ₂ O 12,6 g/L

III.2.2. Análisis del Carbono Orgánico Disuelto (COD) y Nitrógeno Total (NT)

Fundamento teórico y descripción del equipo

La eficiencia de los tratamientos estudiados se evaluó, entre otros parámetros, mediante la medida del Carbono Orgánico Disuelto (COD). Este parámetro se determina mediante la diferencia entre el Carbono Total (CT) y el Carbono Inorgánico Total (CIT). Para ello se empleó un analizador de Carbono Orgánico Total (Shimadzu, modelo TOC-VCSN) provisto de un muestreador automático ASI-V acompañado de un detector infrarrojo no dispersivo (NDIR) (Figura III.2). Además, el equipo está provisto de un módulo de Nitrógeno Total (Shimadzu TNM-1) para la determinación de nitrógeno total (NT) presente en las aguas residuales de forma simultánea con la medida del COD.

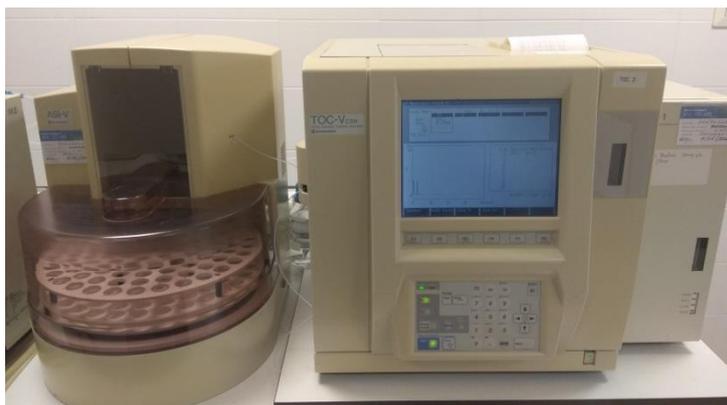


Figura III.2. Fotografía del analizador de carbono orgánico total Shimadzu TOC-VCSN con el sistema analizador de nitrógeno total TNM-1.

El análisis de CT se llevó a cabo en un tubo relleno de un catalizador de platino soportado sobre bolas de alúmina, donde se realiza la combustión de las muestras a una temperatura de 720°C. La oxidación del CT presente en la muestra genera una cantidad equivalente de CO₂, que es arrastrado por aire de alta pureza (flujo de 150 mL/min), enfriado y secado mediante un deshumidificador. Finalmente, es analizado en el NDIR. La cantidad de carbono presente en la muestra es proporcional al área del pico registrada.

La medida de CIT se lleva a cabo en la jeringuilla de inyección. Se burbujea aire en presencia de ácido clorhídrico (25% p/V) y se produce la descomposición de los carbonatos y bicarbonatos (CIT) presentes en la muestra, generando CO₂, que es procesado en el NDIR de la misma forma que el CT. La relación lineal existente entre el área calculada por el procesador de datos y la concentración correspondiente de CT y CIT permite una cuantificación basada en rectas de calibración internas. Estas rectas se elaboran utilizando disoluciones estándar preparadas en agua desmineralizada (sistema Milli-Q), de hidrógeno ftalato de potasio para el CT (conteniendo unas gotas de ácido sulfúrico para evitar contaminación atmosférica de CO₂) y una disolución de carbonatos en la que la mitad de los carbonos proceden de carbonato sódico y la otra mitad de bicarbonato sódico para el CIT. Los rangos correspondientes a las rectas de calibración realizadas para el CT y el CIT son los siguientes: 1-10, 10-50, 50-250, 250-1000 y 1000-2500 mg/L, y 0,5-5, 5-20, 20-80, 80-200 y 200-500 mg/L, respectivamente.

La medición del NT se realizó mediante quimioluminiscencia de nitrógeno total al reaccionar con ozono (O₃). Las muestras conteniendo nitrógeno se queman produciendo

monóxido de nitrógeno y dióxido de nitrógeno. Las especies de nitrógeno reaccionan con ozono para formar un estado excitado de dióxido de nitrógeno. Al regresar a un estado relajado, la energía se emite en forma de luz, y de este modo, el NT se mide usando un detector de quimioluminiscencia. Para la determinación de NT se emplearon dos rectas de calibrado preparadas a partir de una disolución de nitrato potásico, en los rangos de 1 a 10 mg/L y de 10 a 100 mg/L.

Para todas las rectas de calibración, los coeficientes de regresión lineal obtenidos son próximos a 1 y la desviación estándar del equipo es del 2%.

Procedimiento

El tratamiento previo de la muestra para la medida de COT y NT es muy sencillo, consistiendo en la retirada de los sólidos en suspensión presentes en la muestra. En este sentido, a esta medida ya no se le denomina COT sino COD (Carbono Orgánico Disuelto). El análisis consiste en la filtración de unos 15-20 mL de muestra a través de un filtro de Nylon con un tamaño de poro de 0,22 μm (MilliporeMillex® GN). A continuación, las muestras se introducen en un vial específico compatible con el muestreador y se produce la inyección automática de la muestra, realizándose la medida de COD por diferencia entre el CT y el CIT, tal y como se detalla arriba. Cada medida estuvo basada en dos inyecciones con una variación máxima del 2% entre ellas, de lo contrario se realiza una tercera inyección. Esto lo realiza automáticamente el sistema en atención a los límites de variación que se le programen. Teniendo en cuenta los valores de calibración interna del equipo, las muestras fueron diluidas cuando fue necesario.

Periódicamente se realizaron medidas de disoluciones patrón para la comprobación del correcto funcionamiento y calibración del equipo.

III.2.3. Medida de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)

Fundamento teórico y descripción del equipo

Las medidas de DQO se realizaron para la caracterización de las aguas residuales y la evaluación de los tratamientos realizados. La DQO determina la cantidad de oxígeno necesario para oxidar la materia orgánica en una muestra de agua residual bajo condiciones específicas de agente oxidante, temperatura y tiempo. Para ello, las sustancias oxidables presentes en la muestra se oxidan con una solución caliente de

dicromato potásico y sulfato de plata como catalizador. Después de dos horas de digestión a 148°C, se determina fotométricamente la concentración de los iones Cr^{3+} (de color verde) generados a partir del dicromato consumido (color amarillo-naranja). La norma que regula el protocolo de esta metodología es la ISO 15705, y es análogo a EPA 410.4.

Para esta determinación, existen kits comerciales asociados a sistemas de digestión que permiten una rápida detección y cuantificación de los valores de DQO en muestras reales. En este trabajo se utilizaron tres kits comerciales (Spectroquant®, Merck) que difieren en el rango de medida: 4-40 mg O_2/L (ref. 1.114560.0001), 25-1500 mg O_2/L (ref. 1.14541.0001) y 500-10000 mg O_2/L (ref. 1.14555.0001). Para la digestión se utilizó un Termorreactor TR 300 de Merck y para la cuantificación se utilizó un espectrofotómetro Spectroquant® NOVA 30 de Merck (Figura III.3).



Figura III.3. Termorreactor TR 300 de Merck y espectrofotómetro NOVA 30 de Merck para la medida de la DQO.

Procedimiento

En primer lugar, se homogeniza la muestra y, en los casos que corresponda, se filtra (filtros de jeringa Nylon MilliporeMillex® de 0,22 μm) y se diluye, si es preciso, para que el valor esperado se encuentre comprendido entre los límites de cuantificación de cada kit. A continuación, se toma el tubo de reacción que contiene dicromato potásico y sulfato de plata y se agita por balanceo hasta que los sólidos depositados en el fondo (sulfato de plata) se disuelven completamente. Seguidamente, se añaden 3 mL (rango bajo de medida) o 1 mL (rango alto de medida) de muestra, dependiendo del kit utilizado, se agita vigorosamente y se introduce en el termorreactor a 148°C durante 2 horas.

Finalizada la digestión, se saca la cubeta caliente y se coloca en un soporte estable para su enfriado. Pasados 10 min, se agita la cubeta por balanceo y se deja enfriar a temperatura ambiente (30 min). Por último, se mide la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 445 nm.

El buen funcionamiento y la calidad de las medidas de DQO se evaluó mediante el uso de una recta de calibrado para cada uno de los kits de medida. Para ello, se prepararon disoluciones de concentración conocida de hidrógeno ftalato potásico, que se corresponde con una DQO teórica conocida (todas las medidas se hicieron por triplicado). Las rectas de calibrado obtenidas a partir de dichos datos son las siguientes (Ecuaciones III.1, III.2 y III.3):

Rango 4-40 mg O₂/L

$$\text{DQO (mg/L)} = -45,15 \times \text{Absorbancia} + 47,249 \quad (\text{Ec. III.1})$$

$$R^2 = 0,9909$$

Rango 25-1500 mg O₂/L

$$\text{DQO (mg/L)} = 1674,6 \times \text{Absorbancia} - 39,024 \quad (\text{Ec. III.2})$$

$$R^2 = 0,9989$$

Rango 500-10000 mg O₂/L

$$\text{DQO (mg/L)} = 4498,5 \times \text{Absorbancia} - 157,98 \quad (\text{Ec. III.3})$$

$$R^2 = 0,999$$

III.2.4. Determinación de hierro mediante espectrofotometría (ISO 6332)

Fundamento teórico y descripción del equipo

La determinación de hierro en disolución es imprescindible para asegurar el correcto funcionamiento del tratamiento mediante foto-Fenton. Tal determinación está basada en la formación de un complejo quelato de Fe²⁺ con fenantrolina (1,10-fenantrolina) siguiendo el método espectrofotométrico reflejado en la norma ISO 6332:1988. El complejo formado adquiere un color naranja-rojizo y presenta un máximo de absorbancia a 510 nm. La formación del complejo se da en un intervalo de pH comprendido entre 2 y 9. Aunque el rango de pH es amplio, para asegurar la formación del complejo Fe²⁺-

fenantrolina es necesario mantener un pH entre 3 y 3,5, con lo que la medida se lleva a cabo en una solución tampón (ácido acético/acetato). La absorbancia del complejo Fe^{2+} -fenantrolina es proporcional a la concentración de ion ferroso.

Durante los experimentos de foto-Fenton solar, debido a la presencia del agente oxidante H_2O_2 , la mayor parte del hierro disuelto se encuentra como ion férrico. Una estrategia para medir el hierro total es agregar un agente reductor, como el ácido ascórbico, para reducir el hierro férrico a hierro ferroso. La medida del hierro antes y después de añadir el agente reductor permite determinar la concentración de hierro ferroso y férrico.

Existen publicados diferentes procedimientos que se aplican para la eliminación de interferencias de este método (APHA, 1998), tales como presencia de otros agentes oxidantes (como el peróxido de hidrógeno) que oxidan al ion ferroso a férrico y no forma complejo con la fenantrolina, metales pesados que forman complejos con la fenantrolina (como Zn^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} o Cr^{3+}) o que precipitan con ella (como Ag^{2+} , Bi^{3+} , Cd^{2+} , MoO_4^{2-}). No obstante, en este trabajo de investigación, la principal interferencia observada en la medida espectrofotométrica fue debida al color de las muestras.

Procedimiento

Para la medida de hierro total en disolución se tomaron 4 mL de muestra previamente filtrada por un filtro de Nylon de 0,22 μm de tamaño de poro y se añadieron: 1 mL de una disolución de 1g/L de 1,10-fenantrolina, 1 mL de una disolución tampón (250 g/L de acetato amónico y 700 ml/L de ácido acético en agua destilada) y una espátula de ácido ascórbico, para favorecer que el ion férrico se reduzca a ion ferroso y forme el complejo Fe^{2+} -fenantrolina. La absorbancia de la disolución se midió en un espectrofotómetro (T60U, PG Instruments Ltd.) a 510 nm y empleando una cubeta de un 1 cm de paso de luz (Figura III.4). Para las muestras no coloreadas, el ajuste del cero del equipo se realizó con agua desmineralizada, mientras que si las muestras presentaban color, la medida del cero se realizó utilizando la misma muestra, pero reemplazando la fenantrolina por agua desmineralizada, compensando así las interferencias de color.



Figura III.4. Espectrofotómetro T60U, PG Instruments Ltd.

La concentración de hierro total en disolución se calculó a partir de los datos de absorbancia obtenidos en el espectrofotómetro mediante una recta de calibrado externa (Ec. III.4). El rango de concentraciones de dicha recta fue de 0,25 a 10 mg/L de hierro. Si la concentración esperada era superior a 10 mg/L se efectuó la correspondiente dilución de la muestra.

$$Fe_{\text{Total}} \text{ (mg/L)} = (7,7447 \times \text{Absorbancia} - 0,0781) \cdot \text{factor de dilución} \quad (\text{Ec. III.4})$$

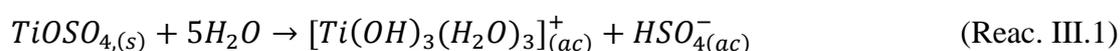
$$R^2 = 0,9999$$

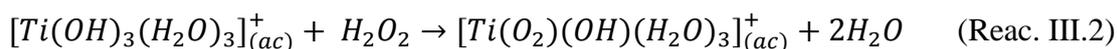
III.2.5. Determinación de peróxido de hidrógeno

Fundamento teórico y descripción del equipo

El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) es un reactivo consumido en el tratamiento mediante foto-Fenton, por lo que su determinación a lo largo del proceso es fundamental para la evaluación de la eficiencia de la oxidación química.

En este trabajo se ha empleado un método espectrofotométrico basado en la utilización de oxisulfato de titanio (IV), de acuerdo con la norma DIN38402H15. El método está basado en la reacción entre el H_2O_2 y el $TiOSO_4$ (reacciones III.1 y III.2) y la consiguiente formación de un complejo estable de color amarillo. Este complejo se mide espectrofotométricamente, teniendo una absorción máxima a 410 nm (Muñoz y col., 1990).





Procedimiento

El procedimiento consiste en tomar 5 mL de muestra filtrada (filtro de jeringa Nylon MilliporeMillex® de 0,22µm) y añadir 0,5 mL de solución de oxisulfato de titanio (IV). Esta solución se utiliza tal cual se recibe de Riedel de Haën, Alemania (pureza: 1,9-2,1%). La reacción es inmediata y el complejo que se forma es de color amarillo, siendo estable hasta un máximo de 10 horas. La absorbancia se mide a 410 nm en un espectrofotómetro (T60U, PG Instruments Ltd) (Figura III.4). La concentración de H₂O₂ en las muestras se calculó mediante una recta de calibrado obtenida a partir de los datos de absorbancia medidos mediante diferentes disoluciones patrón de concentración conocida. El rango de concentración de la recta fue de 0,5 a 60 mg/L de H₂O₂ (Ec. III. 5). Si la concentración esperada era superior a 60 mg/L se efectuaba la correspondiente dilución de la muestra.

$$H_2O_2 \text{ (mg/L)} = (43,367 \times \text{Absorbancia} + 0,16) \cdot \text{factor de dilución} \quad (\text{Ec. III.5})$$

$$R^2 = 0,9998$$

III.2.6. Medida de turbidez

Fundamento teórico y descripción del equipo

La turbidez es una medida del grado en el cual el agua pierde su transparencia debido a la presencia de partículas en suspensión. Se mide en Unidades Nefelométricas de Turbidez (*Nephelometric Turbidity Units*; NTU).

La mayoría de los turbidímetros aplican la detección nefelométrica a 90°, una técnica considerada extremadamente sensible a partículas dispersas, de una amplia diversidad de tamaños de partícula. En concreto, los turbidímetros nefelométricos miden la intensidad de luz dispersada a 90° cuando un rayo de luz pasa a través de una muestra acuosa. Existen algunas interferencias a considerar en las mediciones de turbidez, como la presencia de residuos flotantes o sedimentos, la coloración de las muestras y las burbujas de aire.

El equipo utilizado, Turbidímetro Hach modelo 2100N (Figura III.5), cumple con el método 180.1 de la EPA. Dispone de una lámpara LED como fuente emisora de luz a 525 nm y dos sensores dispuestos con ángulos a 90° y 180° para la luz dispersa y luz

transmitida. La medida de la turbidez se calcula teniendo en cuenta las dos señales que llegan al detector, mediante un cálculo algorítmico.



Figura III.5. Turbidímetro Hach modelo 2100N.

Procedimiento

La evaluación y optimización de los procesos de coagulación/floculación (C/F) llevados a cabo en este trabajo se estudió en parte midiendo la eficiencia en la eliminación de la turbidez de las muestras.

Para tal medida, la muestra es introducida en un vial compatible con el turbidímetro, recogiendo los valores de NTU correspondientes inmediatamente después de la introducción del vial en el equipo, para así evitar la sedimentación de partículas en suspensión.

Previo a las medidas, la calibración del equipo se realizó utilizando un Kit de calibración (StablCal™), que contiene estándares de formazina (0,1, 20, 200, 1000 y 4000 NTU). Estos estándares se mantienen estables durante un año. La calibración se realizó al menos cada tres meses o en función del uso.

III.2.7. Medida de pH

Las medidas se realizaron utilizando un pH-metro modelo GLP 22 de Crison con un electrodo 50 10 T (Hach®) integrado y un pH-metro portátil LAQUAact D-72 (Horiba Scientific) con un electrodo 9615S (Horiba Scientific) integrado (Figura III.6). Para la calibración semanal del pH-metro se utilizaron disoluciones tamponadas de pH 9,21, 7 y 4,01 (Crison). Las medidas de pH se realizaron de forma directa hasta conseguir la estabilización de las mismas.

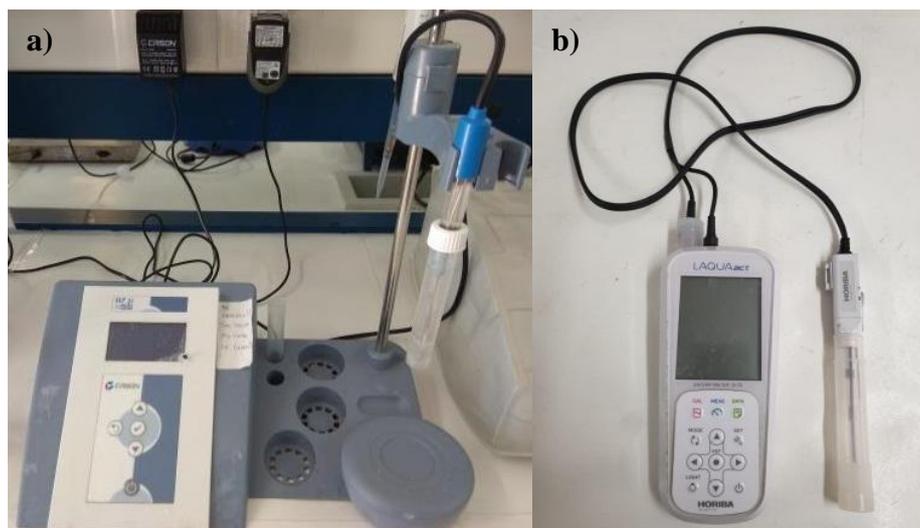


Figura III.6. a) pH-metro GLP 22 de Crison y b) pH- metro portátil LAQUAact D-72 de Horiba.

III.2.8. Medida de conductividad

Las medidas se realizaron utilizando un conductímetro modelo GLP 31 de Crison (Figura III.7) con un electrodo 52 92 (Crison) integrado con un sensor C.A.T. de temperatura Pt 1000 55 31 (Crison). Para la calibración semanal del conductímetro se utilizaron disoluciones de 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y 12,88 mS/cm de conductividad (Crison). Las medidas de conductividad se realizaron de forma directa hasta conseguir la estabilización de las mismas.



Figura III.7. Conductímetro GLP 31 de Crison.

III.2.9. Método de Folin-Ciocalteu para la determinación del contenido fenólico total

Fundamento teórico y descripción del equipo

El ensayo Folin-Ciocalteu se utiliza como medida del contenido en compuestos fenólicos totales. Se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico (formado por las dos sales en el medio ácido), de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que medimos para evaluar el contenido en polifenoles (Figura III.8). La oxidación de los polifenoles presentes en la muestra causa la aparición de una coloración azulada que presenta un máximo de absorción a 765 nm, y que se cuantifica por espectrofotometría en base a una recta patrón de ácido gálico, tánico o cafeico.

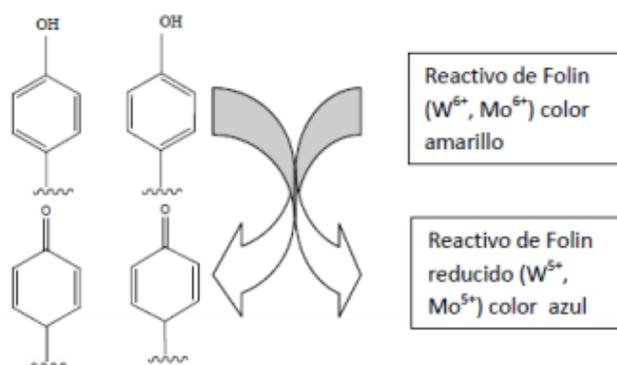


Figura III.8. Mecanismo de acción del reactivo de Folin-Ciocalteu

Procedimiento

La medida de polifenoles totales se realizó para llevar a cabo la caracterización de las aguas residuales estudiadas en esta Tesis Doctoral.

Para la obtención de un pH básico durante el proceso de medida de polifenoles totales, se utilizó una disolución de carbonato sódico, que se preparó disolviendo 200 g de carbonato sódico anhidro en 1 L de agua en ebullición. La disolución se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró antes de su uso.

El procedimiento de medida del contenido polifenólico total de las muestras consiste en verter 1 mL de muestra (diluida o no dependiendo del contenido esperado y del rango de la recta de calibración) en un matraz de 100 mL. A continuación, se adicionan 60 mL de agua desmineralizada y se agita la solución. Se añaden 5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu, se agita de nuevo la solución y se deja en reposo durante 2-3 min. Por último, se añaden 15 mL de la disolución de carbonato sódico preparada previamente, se completa el volumen del matraz con agua desmineralizada y se deja en reposo durante 2 horas a 20 °C. El contenido de polifenoles totales se determina por interpolación de las absorbancias obtenidas en una curva de calibrado utilizando un material de referencia y medidas en un espectrofotómetro (T60U, PG Instruments Ltd) (Figura III.4). El aumento del color azul es directamente proporcional a la concentración de polifenoles presentes en la muestra.

En este trabajo se utilizó el ácido gálico (patrón recomendado) como material de referencia para la preparación de la recta de calibrado (Ec. III.6). Para ello, en matraces de 100 mL se vertieron 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 10 mL de una disolución patrón de ácido gálico de 5 g/L en agua desmineralizada. La concentración de fenoles en estos matraces, expresada como equivalentes de ácido gálico, fue de 0, 50, 100, 150, 200, 250 y 500 mg/L. A continuación, se realizó el procedimiento de medida de polifenoles descrito anteriormente. Para comprobar la fiabilidad del método, se utilizó un estándar de referencia de concentración conocida (fenol), dando un porcentaje de error en la medida de menos del 7 %.

$$\text{Absorbancia} = (0,1241 \times \text{Concentración (mg/L)} + 0,01) \cdot \text{factor de dilución} \quad (\text{Ec. III.6})$$

$$R^2 = 0,9997$$

III.2.10. Medida de sólidos totales en suspensión (STS) y sólidos volátiles (SV)

Fundamento teórico y descripción del equipo

“Sólidos totales” (ST) es el término usado para describir la materia residual que permanece en un recipiente después de la evaporación de la muestra en un horno a una temperatura determinada. Los sólidos totales engloban a los sólidos totales en suspensión (STS), que es la porción de sólidos totales retenidos en un filtro de tamaño de poro específico, y los sólidos volátiles (SV), que son los sólidos que se volatilizan después de

un proceso de calcinación a una temperatura de $500 \pm 50^{\circ}\text{C}$. La concentración de sólidos volátiles se suele considerar como una medida aproximada del contenido de materia orgánica en la muestra (Metcalf y Eddy, 2003).

Procedimiento

En primer lugar, se lavan los filtros de microfibra de vidrio (150 mm, Grado GF / A-1,6 μm , Whatman®) con agua desmineralizada y se secan en una estufa Digitronic (J.P. Selecta S.A.) (Figura III.9) a una temperatura de 106°C durante una hora, hasta que el peso sea constante. Una vez secos se almacenan en un desecador y se pesan justo antes de ser utilizados, para evitar interferencias de humedad. Se filtran 15 mL de muestra de fango homogeneizada mediante un sistema de vacío con un matraz kitasatos y la muestra retenida sobre el filtro se seca en la estufa a la misma temperatura que los filtros, pero durante 2 horas. A continuación, el filtro se deja enfriar en un desecador y se pesa. Este proceso de secado, enfriado y pesado se repitió hasta que el peso obtenido era constante o se obtenía una variación inferior al 4%. El aumento en el peso del filtro con respecto a su peso una vez secado, representa los sólidos totales en suspensión. La ecuación III.7 permite realizar el cálculo de dichos STS a partir del peso del filtro vacío y con el residuo:

$$\text{Sólidos suspendidos totales} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{(A-B) \cdot 1000}{15 \text{ mL}} \quad (\text{Ec. III.7})$$

A = peso del filtro + residuo seco (mg)

B = peso del filtro seco (mg)

Para la medida de SV, el filtro procedente de la medida anterior se introduce en una mufla Optic Ivymen System SNOL 8,2/1100-1LZ (Figura III.9) a 550°C durante 30 minutos, se deja enfriar nuevamente en el desecador y se registra el peso hasta llevarlo a peso constante. El cálculo de SV se realiza mediante la ecuación III.8.

$$\text{Sólidos suspendidos volátiles} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{(A-C) \cdot 1000}{15 \text{ mL}} \quad (\text{Ec. III.8})$$

C: Peso del filtro + el residuo calcinado (mg)



Figura III.9. Estufa (izquierda) y mufla (derecha) de la marca SELECTA usadas en esta Tesis Doctoral.

III.2.11. Seguimiento de los contaminantes modelo mediante UHPLC-UV/DAD

Fundamento teórico y descripción del equipo

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es una técnica analítica que permite separar, identificar y cuantificar los componentes de una mezcla compleja. La separación se basa en la diferente distribución de los componentes de la muestra entre dos fases inmiscibles, una móvil y una estacionaria, retenida dentro de una columna. La distribución del soluto o analito entre las dos fases depende la hidrofobicidad del analito y la composición de la fase móvil y estacionaria. En cromatografía de fase reversa, la fase estacionaria es apolar, mientras que la fase móvil es moderadamente polar. La fase móvil está compuesta por una mezcla de agua ultra pura y uno o varios disolventes orgánicos, generalmente MeOH o ACN, que fluye a través de una columna que contiene la fase estacionaria. En su mayoría, se emplean columnas con fases estacionarias ligadas químicamente, constituidas generalmente por un soporte de sílice tratada con Me_2SiCl al que se unen grupos alquilo de cadena lateral, como $\text{C}_{18}\text{H}_{37}$ (C18) o C_8H_{17} (C8). La cromatografía de fase reversa se basa en los principios de fuerzas e interacciones hidrofóbicas de unión entre el analito que es portado por la fase móvil y el ligando hidrófobo inmovilizado de la fase estacionaria. Las moléculas menos polares presentan tiempos de retención más largos, mientras que las moléculas polares eluyen más rápidamente. Mediante un cambio en la fase móvil (mayor porcentaje acuoso u orgánico), la afinidad del analito por la fase estacionaria cambia, y así su tiempo de retención (t_R),

modificándose la separación a lo largo del cromatograma. Dependiendo de la dificultad del problema, puede emplearse una elución isocrática, en la que la proporción de fase móvil no cambia durante el análisis, o en gradiente, en la que dicha proporción cambia a lo largo del análisis. Esta última se utiliza en casos más complejos, cuando varios contaminantes deben de ser analizados simultáneamente. Después de atravesar la columna cromatográfica, los analitos son registrados mediante el empleo de un detector, o dispositivo que permite medir una propiedad física del eluyente que está relacionada con la composición de este. Los detectores de ultravioleta/visible (UV/Vis) son los más frecuentemente empleados. Su funcionamiento se basa en la absorción de radiación que experimentan los componentes de una muestra cuando atraviesan la célula de flujo, y que se traduce en una disminución de la intensidad del haz luminoso que se hace pasar a través de la misma. En los detectores UV/Vis, la línea de base representa la máxima transmisión de luz. La señal obtenida se digitaliza y registra con el software. Existe una relación lineal entre el área/altura de pico registrada y la concentración del analito, que se obtiene mediante la calibración con soluciones patrón a partir del estándar puro de cada analito.

El equipo empleado en este trabajo para el seguimiento de la concentración de los MC estudiados a lo largo de los procesos de oxidación evaluados fue un sistema UHPLC-UV/DAD (Series 1200, Agilent Technologies, Palo Alto, CA) (Figura III.10). La UHPLC (siglas en inglés de *Ultra High Performance Liquid Chromatography*) es una modalidad de HPLC basada en el empleo de columnas con tamaño de partícula muy pequeño ($< 2.5 \mu\text{m}$), que permite alcanzar mayores velocidades de flujo sin pérdida de eficiencia. Se consiguen así análisis más rápidos, a la vez que se obtiene mejora en la resolución y sensibilidad. Así, se empleó una columna analítica ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4,6 x 50 mm, $1,8 \mu\text{m}$). Para la detección de los MC, se seleccionó la longitud de onda correspondiente al máximo de absorción en cada caso (Tabla III.9). Es importante tener en cuenta las posibles interferencias por la absorción de otras sustancias presentes en el agua, por eso, siempre que fue posible, se evitaron longitudes de onda cercanas a los 200 nm, ya que es muy alta la probabilidad de que existan compuestos que absorban a esas longitudes de onda. El control y adquisición de datos se llevó a cabo mediante el software Agilent Chemstation[®]. La respuesta obtenida en el equipo permitió la inyección directa de las muestras, sin necesidad de llevar a cabo un proceso previo de extracción.

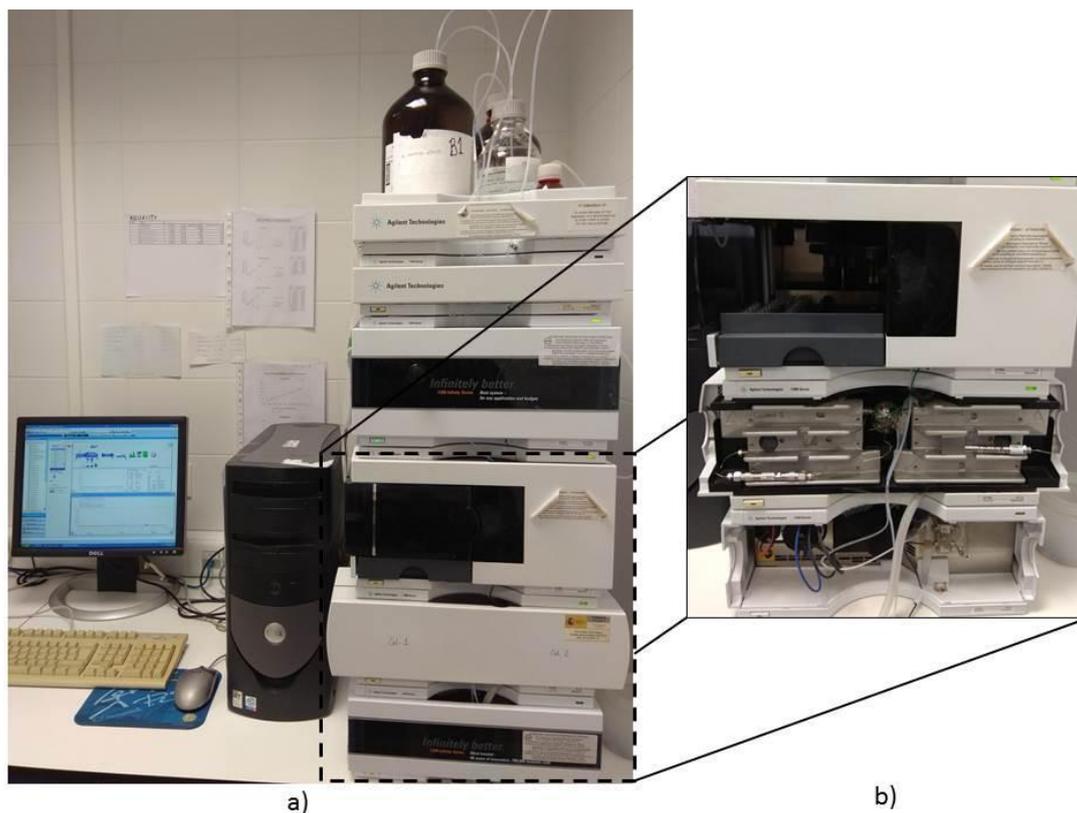


Figura III.10. UHPLC Agilent serie 1200 a) Detalle de los módulos b) automuestreador, columna, y detector UV-DAD (de arriba abajo).

Procedimiento

Tras la toma de muestra, 9 mL de la misma se filtraron a través de un filtro de PTFE (0,22 μm ; Millipore Millex®GN). Seguidamente, se hacía pasar por el mismo filtro 1 mL de acetonitrilo (ACN). La adición del disolvente orgánico tiene como objetivo detener las reacciones de oxidación, lo que se conoce como “quenching”, y obtener la proporción ACN:H₂O (1:9) necesaria para el posterior análisis cromatográfico.

Las fases móviles empleadas en la separación cromatográfica fueron ACN y agua ultrapura acidificada con 25 mM de ácido fórmico. Se seleccionó un gradiente lineal progresivo del 10% al 100% de ACN en 14 minutos, con un tiempo de equilibrado de 3 minutos. El flujo se fijó en 1 mL/min y el volumen de inyección en 100 μL . La Tabla III.9 muestra los parámetros de operación del UHPLC-UV/DAD para la correcta detección de cada MC seleccionado en esta Tesis Doctoral.

Tabla III.9. Tiempo de retención, longitud de medida y límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ), obtenidos en el análisis por UHPLC-UV/DAD para los MC seleccionados.

Microcontaminante	t_R , min	λ , nm	LOD, $\mu\text{g/L}$	LOQ, $\mu\text{g/L}$
Clorfenvinfos	10,43	240	0,3	3,2
Diclofenaco	9,68	285	0,3	3,4
Pentaclorofenol	10,85	220	0,1	4,4
Terbutrina	7,81	230	0,1	3,8

Para la cuantificación de los MC se prepararon rectas de calibrado a partir de disoluciones patrón a 7 niveles de concentración: 5, 10, 25, 50, 100, 150 y 200 $\mu\text{g/L}$ (Figura III.11). Los patrones se prepararon en ACN:H₂O (10:90) a partir de una solución concentrada de los MC de 2,5 g/L en MeOH. Las rectas de calibrado se rehicieron cada tres meses. Las curvas de calibración presentaron coeficientes de regresión muy buenos ($R^2 > 0,999$) en todos los casos.

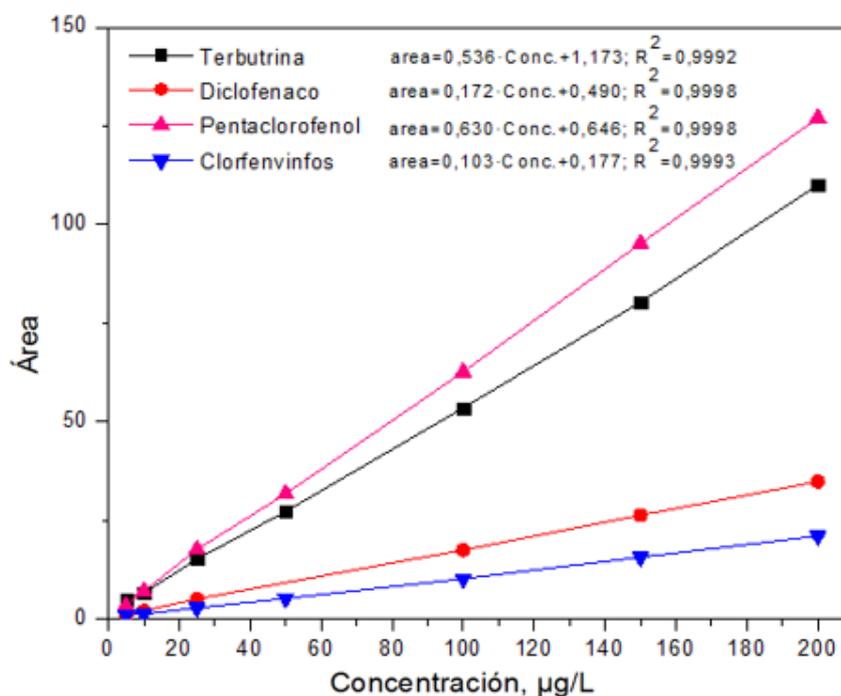


Figura III.11 Rectas de calibrado de los cuatro MC seleccionados como modelo.

Diariamente se verificó el correcto funcionamiento del equipo inyectando una disolución patrón con la concentración de contaminante inicial empleada en los experimentos.

III.3. Técnicas analíticas avanzadas

III.3.1. Pretratamiento de las muestras

El análisis de una muestra engloba desde la etapa preanalítica donde se incluye el muestreo, la preparación de la muestra y la separación de los analitos, hasta la etapa analítica, donde se realiza la medición y transducción de la señal y la etapa post-analítica donde se realiza la adquisición de señales y el procesado de los resultados. La mayoría de las muestras a tratar o están demasiado diluidas o son incompatibles con el sistema cromatográfico, lo que impide su introducción directa. Por lo tanto, la preparación de la muestra antes de la cromatografía suele ser una etapa crítica del análisis, además de la que más tiempo requiere. El objetivo de esta etapa es la extracción de los compuestos de interés, la eliminación de los componentes de la muestra que puedan causar interferencia en el sistema de análisis y el enriquecimiento selectivo de analitos (preconcentración). Para la extracción en muestras acuosas, existen diversos métodos, como la extracción líquido-líquido (*liquid-liquid extraction*, LLE), extracción en fase sólida (*solid phase extraction*, SPE), microextracción en fase sólida (*solid phase micro-extraction*, SPME), etc.

En nuestro caso, se ha aplicado una extracción líquido-líquido convencional para el estudio por cromatografía de gases (GC) de las muestras de lixiviados de vertedero obtenidas durante la línea de tratamiento propuesta. La extracción líquido-líquido se basa en la distinta distribución de los componentes de la muestra entre dos disolventes inmiscibles, donde matriz y analito tienen diferente solubilidad en cada uno de ellos. Es una metodología muy versátil debido al amplio rango de disolventes distintos y mezclas de ellos que se pueden emplear y, además, no requiere el uso de instrumentación compleja ni de consumibles costosos, por lo que es un método muy simple.

Procedimiento

El material utilizado en la extracción de las muestras se lavó previamente con acetona y se secó en estufa a 60°C. Seguidamente, 500 mL de muestra se introdujeron en un embudo de decantación de 1L y se extrajeron mediante agitación (5 minutos) con 3 porciones de 50 mL de n-hexano. Cuando fue necesario, se adicionaron de 1 a 5 g de NaCl para mejorar la separación de las fases. Una vez decantada la mezcla de extracción se recogieron las fracciones orgánicas y se combinaron. A fin de cubrir un mayor rango de polaridad y extraer tantos MC orgánicos como sea posible, las muestras se extrajeron nuevamente

con 3 porciones de 50 mL de diclorometano. El mismo procedimiento se aplicó, invirtiendo el orden de los disolventes (Figura III.12).



Figura III.12. Esquema de extracción seguido en el análisis sospechoso por GC-Q-MS.

Las fracciones de diclorometano y n-hexano recogidas se filtraron a través de Na_2SO_4 o MgSO_4 anhidro, respectivamente. Luego, los extractos recolectados se evaporaron en un evaporador rotatorio B-485 (Büchi, Flawil, Suiza) (Figura III.13) hasta un pequeño volumen ($< 1\text{ mL}$), seguido de una corriente suave de nitrógeno. Finalmente, el residuo obtenido se redisolvió con 1 mL de acetato de etilo. Las muestras obtenidas se analizaron por GC-Q-MS.

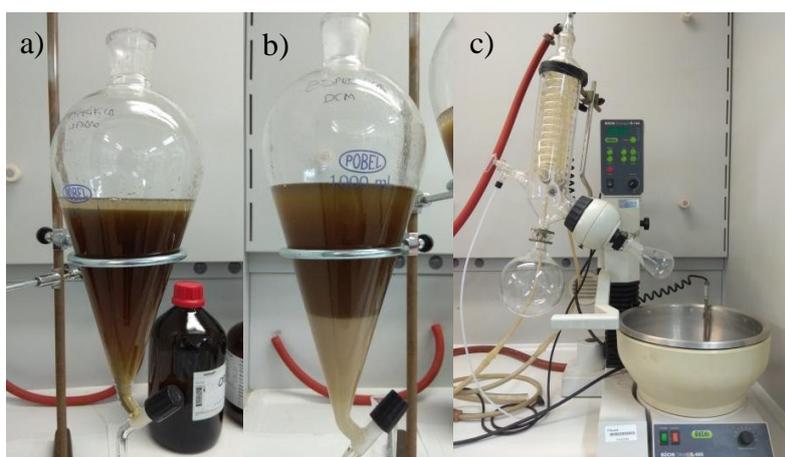


Figura III.13. a) Extracción líquido-líquido con n-hexano y b) extracción líquido-líquido con diclorometano del lixiviado pretratado mediante coagulación/floculación. c) Rotavapor usado en este trabajo.

III.3.2. Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas

La cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas (LC-MS) es una poderosa técnica analítica que combina el poder de separación de la LC con la gran selectividad, sensibilidad y versatilidad de la espectrometría de masas, lo que la convierte en una excelente técnica analítica para la determinación cualitativa y cuantitativa de compuestos traza en muestras complejas. La expansión de la técnica ha estado ligada al desarrollo de las interfases de acoplamiento entre el LC y el MS, y en concreto a la introducción de las fuentes de ionización a presión atmosférica, API (siglas en inglés, *Atmospheric Pressure Ionization*). Dentro de técnicas de API se diferencian dos modalidades básicas de interfase: APCI (*Atmospheric Pressure Chemical Ionization*) y ESI (*Electrospray ionization*). En ESI, los iones preformados en fase líquida son a continuación desolvatados y evaporados. En cambio, en APCI la ionización se produce en fase gas debido a reacciones ion-molécula entre el plasma generado a partir de la fase móvil y los analitos.

Además de los desarrollos en los sistemas de ionización, la posibilidad de emplear configuraciones híbridas mediante acoplamiento de varios analizadores en línea, ha permitido mejorar las capacidades, tanto cualitativas como cuantitativas, de esta técnica. A continuación, se describen los sistemas empleados en esta Tesis Doctoral para la caracterización analítica de los lixiviados de vertedero en las diferentes etapas de la línea de tratamiento aplicada.

III.3.2.1. Analizador de masas híbrido cuadrupolo-trampa de iones lineal (QqLIT)

Fundamento teórico

Los analizadores híbridos QqLIT combinan la especificidad y capacidad para el análisis cuantitativo del triple cuadrupolo (QqQ) con la sensibilidad en “*full scan*” de la trampa de iones. Mantienen la misma configuración que un QqQ, en el que el tercer cuadrupolo se ha sustituido por una trampa lineal. Una vez generados los iones en la fuente de ionización, éstos son guiados y enfocados hacia el primer cuadrupolo (Q1), en el que tiene lugar la selección de los iones precursores de relación masa/carga seleccionada. Estos iones, son fragmentados en el segundo cuadrupolo (Q2) o celda de colisión, mediante colisión inducida con un gas neutro (N₂). Los iones fragmento son entonces enviados

hasta el tercer cuadrupolo, que opera como una trampa de iones lineal (LIT) mediante la aplicación de voltajes que permiten a confinación de los iones generados Q2, y en el que se produce el posterior análisis de las masas de los iones fragmento producidos. Al igual que en los QqQ convencionales, los QqLIT también permiten diferentes modos de operación. En el presente trabajo se utilizó el modo de adquisición SRM (siglas en inglés, *Selected Reaction Monitoring*), que consiste en fragmentar en Q2 el ion precursor seleccionado en Q1 y aislar en LIT un ion producto seleccionado. Este modo de trabajo es altamente selectivo, minimizando al máximo la presencia de interferencias de matriz, y proporciona excelentes prestaciones para el análisis cuantitativo en cuanto a sensibilidad, linealidad y precisión.

Procedimiento y descripción del equipo

En este trabajo se realizó el análisis dirigido (*target análisis*) de MC orgánicos seleccionados en muestras tomadas al final de cada etapa de la línea de tratamiento propuesta para los lixiviados de vertedero. Para ello, se utilizó un HPLC series 1200 (Agilent Technologies, Wilmington, DE, USA) (Figura III.14), equipado con una columna analítica Zorbax Eclipse XDB C18 (50 mm x 4,6 mm, 1,8 μm ; Agilent Technologies, Foster City, CA, EEUU). La fase móvil seleccionada estuvo compuesta por agua Milli-Q acidificada con un 0,1% de ácido fórmico (eluyente A) y ACN (eluyente B). Se emplearon dos gradientes de elución, el primero de ellos para la identificación de productos farmacéuticos y sus metabolitos y el segundo, para plaguicidas. En el Método 1, se partió de un 10% B que se mantuvo constante durante 1 minuto; durante 4 minutos se alcanzó el 50% B; desde el minuto 5 al 10 el gradiente alcanzó el 99% B para mantenerse durante 4 minutos y regresar finalmente a las condiciones iniciales (10% B) en el minuto 14,1 hasta el minuto 18 de análisis. En el Método 2, el eluyente B se mantuvo constante al 10% B durante 0,5 minutos; desde el minuto 0,5 al 6, el gradiente aumentó hasta el 100% B y se mantuvo constante durante 3 minutos, volviendo al 10% B en el minuto 9,1 donde se mantiene constante hasta el minuto 12. El caudal se mantuvo constante a 0,4 mL/min en el método 1 y 0,5 mL/min en el método 2. El volumen de inyección fue de 10 μL .

El sistema cromatográfico se acopló a un espectrómetro de masas cuadrupolo-trampa de iones lineal 5500 Q-TRAP® (AB Sciex, Foster City, CA) mediante una interfase de electrospray (ESI) (Turbolon™ Spray) operada en modo de ionización positiva y

negativa. Los análisis se realizaron en el modo SRM, empleando el algoritmo Schedule MRM™ para la adquisición de datos. Estos datos fueron analizados mediante el software Analyst 1.5.1 y reprocesados utilizando MultiQuant 3.0.1 (Applied Biosystems, Concord, Ontario, Canadá).



Figura III.14. Fotografía del sistema 5500 Q-TRAP® LC-MS-MS.

Para el análisis de las muestras se utilizó un método basado en la técnica de inyección directa (DI, siglas en inglés), que había sido previamente validado por el grupo de investigación (Campos-Mañas y col., 2017). Este método permitió el seguimiento de 115 MC orgánicos, que incluían productos farmacéuticos de diferentes clases terapéuticas y pesticidas a nivel de ng/L. Se seleccionaron dos transiciones SRM para cada analito. Las transiciones seleccionadas, así como las condiciones de operación del espectrómetro de masas (DP, siglas en inglés), potencial de entrada (EP, siglas en inglés), energía de colisión (CE, siglas en inglés) y el potencial de salida de la celda de colisión (CXP, siglas en inglés) están recogidas en Campos-Mañas y col., 2017. Las muestras se filtraron (0,22 μm , PTFE, Millipore, Cork, Irlanda) y se inyectaron directamente en el sistema LC. Se utilizó ^{13}C -cafeína como estándar de inyección. Se aplicó una dilución apropiada (1:10 o 1:100) cuando se observó la saturación de la señal.

III.3.2.2. Analizador de masas híbrido cuadrupolo-tiempo de vuelo (QqTOF)

Fundamento teórico

Este equipo presenta una configuración similar al anteriormente descrito, si bien la LIT se ha sustituido por un analizador de tiempo de vuelo (TOF, del inglés *Time of Flight*). Se trata de un analizador de masas de alta resolución cuyo funcionamiento se basa en el hecho de que los iones acelerados por un campo eléctrico adquieren diferentes velocidades según su relación m/z , por tanto, tardan distinto tiempo en recorrer una determinada distancia (tubo de vuelo). Las velocidades dentro del tubo varían de forma inversamente proporcional a sus masas, así, los iones de masas más pequeñas llegan antes que los más pesados. Una vez producida la ionización de la muestra en la fuente iónica, se evita que los iones salgan de la misma dispersos en el tiempo, reteniéndolos mediante un potencial de retardo de igual signo al de la carga de los iones. Posteriormente se aplica un voltaje de extracción, consiguiendo que todos los iones salgan de la fuente simultáneamente. Así, estos analizadores operan en modo discontinuo, ya que es necesario esperar a que los iones lleguen al detector antes de volver a lanzar otro pulso de iones.

Los analizadores TOF proporcionan una elevada resolución de masa (>10.000 FWHM). Asimismo, la exactitud en la medida de las masas proporcionada por un TOF-MS, inferior a 5 ppm, permite la verificación de la composición elemental de un compuesto y es de gran ayuda en la elucidación de compuestos desconocidos. Estos sistemas alcanzan altos niveles de selectividad y sensibilidad operando en modo full-scan. Ello posibilita el análisis simultáneo de un número ilimitado de compuestos sin necesidad de optimización previa, expandiendo las capacidades del análisis a compuestos “sospechosos” (*suspect analysis*), es decir, compuestos conocidos que pueden encontrarse en las muestras pero que no están incluidos en los métodos de análisis dirigido y para los cuales no se dispone de estándares en el laboratorio, o a compuestos completamente desconocidos (*non-target analysis*), como productos de transformación. El análisis de “sospechosos” se ha convertido en una estrategia analítica cada vez más popular y se basa en el empleo de listas de candidatos (“sospechosos”) que contienen la fórmula y la masa exacta de los iones moleculares ($[M+H]^+$ para ESI+, $[M-H]^-$ para ESI-) o de sus aductos ($[M+Na]^+$, $[M+NH_4]^+$). Una vez realizado el análisis, las masas incluidas en las listas son investigadas en los cromatogramas de las muestras. Los positivos encontrados deben cumplir una serie de requisitos para su identificación (Martínez-Piernas y col., 2018) y son solo confirmados tras la adquisición y análisis del correspondiente patrón analítico.

Esta estrategia, se ha empleado en este trabajo para la identificación de MC no incluidos en las muestras de lixiviados de vertedero.

Procedimiento y descripción del equipo

Se empleó un sistema LC-ESI-QTOF-MS consistente en un HPLC, Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies, EEUU), acoplado a un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo, Triple TOF 5600+ System (AB Sciex, Concord, ON, Canadá (Figura III.15), equipado con una fuente ESI. Las muestras de lixiviados, previamente filtradas (0,22 μm , PTFE), se analizaron mediante DI utilizando una estrategia desarrollada previamente (Martínez-Piernas y col., 2018). Para la identificación de contaminantes potencialmente presentes en las muestras, se usó una lista de más de 1300 MC orgánicos, cuya presencia en aguas residuales había sido reportada.



Figura III.15. Sistema LC-ESI-QTOF-MS empleado en el análisis de MC “sospechosos”.

La separación cromatográfica se llevó a cabo en una columna analítica Poroshell 120 EC-C18 (2.7 μm , 4.6 x 50 mm). Las fases móviles fueron agua Milli-Q con ácido fórmico al 0.1% (A) y ACN (B). El gradiente de fase móvil varió del 10% B (1 minuto) al 100% B en 10 minutos, y se mantuvo constante durante 4 minutos antes de volver a las condiciones iniciales. El tiempo de equilibrado fue de 8 minutos. El volumen de inyección se fijó en 20 μL y el caudal de fase móvil fue de 0.5 mL/min. Para el procesado de datos

se utilizaron tres softwares AB SCIEX (PeakView TM 2.2, MasterView 1.1 y Analyst TF 1.5).

III.3.3. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

Fundamento teórico

La cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS) es una técnica analítica aplicada a la separación, identificación y cuantificación de mezclas de sustancias volátiles y semivolátiles. Presenta múltiples ventajas, como su elevada sensibilidad y eficiencia de separación y la posibilidad de utilizar bibliotecas comerciales de espectros, para la identificación/confirmación de analitos. Para que un compuesto sea analizado por GC/MS debe ser suficientemente volátil y térmicamente estable. La técnica también está indicada para compuestos de polaridad media o baja, ya que compuestos de elevada polaridad son escasamente retenidos por las fases estacionarias más comunes. Las muestras generalmente se analizan como soluciones orgánicas, por lo que, en muestras acuosas, los compuestos de interés deben transferirse a un disolvente orgánico previo a su análisis. Seguidamente, la muestra se vaporiza en un inyector y es transferida con ayuda del gas portador (Ar, He, N) a la columna analítica, en donde se produce la separación de los analitos y otros componentes de la muestra en virtud de su interacción relativa con la fase estacionaria. Una vez que los componentes salen de la columna, son introducidos en el espectrómetro de masas a través de la fuente de ionización, en donde son ionizados y, en su caso, fragmentados. Existen dos técnicas de ionización: impacto electrónico (EI, siglas en inglés) e ionización química (IC). La ionización por EI es la más utilizada y se basa en la interacción de las moléculas de la muestra con un haz de electrones generado en la fuente, que produce la pérdida de un electrón, dando lugar a un ion molecular protonado $[M]^+$ y a una serie de iones fragmento que constituyen el espectro de masas característico de la molécula. Por convenio, se ha adoptado el valor de 70 eV como energía electrónica estándar, que proporciona espectros de masas ricos en fragmentación y reproducibles, lo que permite comparar los espectros obtenidos en diferentes laboratorios y en bases de datos de espectros comerciales (Wiley275, NIST).

El siguiente componente es el analizador de masas, donde los iones se separan en función de sus diferentes relaciones masa/carga (m/z). En este trabajo se empleó un analizador tipo cuadrupolo que consiste básicamente en cuatro barras cilíndricas colocadas

paralelamente en formación radial. Una combinación apropiada de corriente eléctrica y campo eléctrico de radiofrecuencia aplicada a las cuatro barras induce un movimiento oscilatorio en el flujo de iones introducido en el sistema. Las trayectorias oscilatorias de los mismos son dependientes de sus masas y así, los iones con una particular relación m/z se van moviendo consecutivamente por el cuadrupolo hacia el detector cuya salida se amplifica para aumentar la señal.

El análisis mediante GC-Q-MS se aplicó en este trabajo para la identificación de MC volátiles en muestras recogidas en cada etapa de la línea de tratamiento propuesta para lixiviados de vertedero.

Procedimiento y descripción del equipo

Una vez realizadas las extracciones líquido-líquido mencionadas en el apartado III.3.1., se obtuvieron cuatro extractos diferentes con un factor de concentración de 500 para cada muestra. Las muestras se sometieron a análisis en un sistema GC-Q-MS en el que se investigó la presencia de 926 posibles MC, incluidos pesticidas, disruptores endocrinos, productos de transformación, compuestos de almizcle y contaminantes orgánicos persistentes, entre otros (Wylie, P.L.). El sistema analítico empleado consistió en un cromatógrafo de gases 7890B conectado a un analizador de cuadrupolo 5977A (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EE. UU) (Figura III.16). Se inyectaron 5 μL de muestra en modo sin división de flujo (*splitless*) y con eliminación de disolvente. La temperatura inicial del inyector se fijó en 70 °C durante la inyección (0,25 minutos) y luego se aumentó a una velocidad de 900 °C/min hasta 280 °C (10 minutos). Después de la eliminación del disolvente, se aplicó un flujo de purga de 60 mL/min durante 2 minutos. La separación se llevó a cabo en una columna capilar HP-5MS UI (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm). La temperatura de la columna se estableció inicialmente a 70 °C, durante 2 minutos. Luego se aumentó a 25 °C/min hasta 150 °C, a 3°C/min hasta 200 °C, a 8 °C/min hasta 280 °C (10 minutos) y a 30 °C/min hasta 310 °C (3 minutos) y, por último, disminuyó a 300 °C a 5 °C/min, manteniéndose durante 10 minutos.

El espectrómetro de masas se operó en EI a 70 eV y en modo *Full Scan* (rango m/z : 40-500, tiempo de ciclo: 317 ms; factor de ganancia: 5). Se usó un retraso de disolvente de 3,4 minutos. Las temperaturas de la línea de transferencia, el cuadrupolo y la fuente de ionización se fijaron en 280, 150, y 230 °C, respectivamente. El tiempo total de ejecución fue de 45,8 minutos. El control del sistema y la adquisición de los datos se realizó

mediante el software Mass Hunter GC/MS. Para el procesado de los datos (identificación y cuantificación), se utilizaron una biblioteca comercial (Agilent Technologies), la biblioteca NIST 2.2 (Ed. 2014) y el software Mass Hunter. Los tiempos de retención fueron bloqueados utilizando metil clorpirifos como referencia. Para ello, se aplicó una presión constante y se verificó antes de ejecutar cada secuencia (normalmente alrededor de 19 psi). Esto se hizo porque la biblioteca comercial utilizada para la identificación de los compuestos contenía información relativa al tiempo de retención de los mismos, que podían reproducirse mediante esta estrategia si se emplea la misma columna. Los espectros obtenidos y deconvolucionados eran comparados con la biblioteca de espectros.



Figura III.16. Fotografía del cromatógrafo 7890B conectado al analizador de cuadrupolo 5977A (GC-Q-MS) (Agilent Technologies).

III.4. Bioensayos mediante técnicas de respirometría

El tratamiento de las aguas residuales domésticas e industriales es crucial para la protección de las aguas receptoras. Las aguas residuales industriales son, en muchos casos, tratadas en estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) basadas en sistemas biológicos de depuración. Los contaminantes contenidos en las aguas residuales industriales pueden ejercer un efecto inhibitorio sobre el funcionamiento de los reactores biológicos mostrando una baja biodegradabilidad. Uno de los principales inconvenientes a la hora de tomar decisiones cuando surgen problemas en las estaciones depuradoras es

la dinámica lenta del proceso de fangos activos, es decir, los efectos sobre el proceso a tratar después de tomar una medida no se observarán claramente hasta que no pasan unos días. El vertido de efluentes, en concreto los industriales, puede ocasionar graves problemas en los ecosistemas acuáticos. Para ver el efecto que tiene sobre la biomasa el agua residual a tratar se necesita información directa sobre el comportamiento de la biomasa y no es posible evaluarlo con medidas físicas o químicas. La técnica de respirometría permite valorar, controlar y proteger el proceso de fangos activos al aportar información relacionada con el estado o actividad de la biomasa (formada por diferentes poblaciones microbianas).

La respirometría se basa en la medida de la velocidad del consumo de oxígeno de las bacterias cuando degradan un sustrato orgánico, nitrógeno amoniacal o bien a ellas mismas (respiración endógena). La tasa de respiración (OUR) consiste en la cantidad de oxígeno consumido por las bacterias vivas que se encuentran formando parte de un sistema biológico de fangos activos por unidad de tiempo. El consumo de oxígeno puede verse rápidamente afectado en presencia de ciertos inhibidores o contaminantes con la consiguiente inhibición de la actividad del lodo activado. Esto se debe principalmente a que ciertos compuestos afectan a los procesos de respiración bacteriana, generando, en ocasiones, la muerte de la célula.

Además, con esta técnica, aparte de conocer la salud y capacidad de depuración real del proceso basado en fangos activos y el carácter tóxico del agua residual, también permite:

- Determinar las necesidades reales de oxígeno para la depuración de un agua residual específica con una biomasa determinada optimizando la aireación y fomentando el ahorro energético de la planta.
- Caracterizar la biodegradabilidad del agua a tratar mediante el fraccionamiento de la DQO asociada.
- Determinar el carácter biodegradable del agua a tratar.
- Determinar las tasas de nitrificación y desnitrificación reales del sistema biológico.
- Detectar si la relación de nutrientes en el agua reduce la actividad biológica.

Por lo tanto, la respirometría nos aporta información directa de la biomasa, toxicidad y biodegradabilidad entre otros, permitiendo la anticipación a la mayoría de problemas que pueden afectar al proceso de fangos activos y siendo una técnica sencilla y práctica.

En esta Tesis Doctoral se han utilizado técnicas respirométricas para la caracterización de las aguas residuales estudiadas, diferenciando la fracción biodegradable de la no biodegradable, para medir la toxicidad aguda, ver los efectos reales que podría provocar el vertido de lixiviados de vertedero sin tratar o parcialmente oxidados, así como para la determinación de la toxicidad y biodegradabilidad a lo largo de los procesos avanzados de oxidación aplicados.

III.4.1. Bioensayos de toxicidad aguda

Fundamento teórico y descripción del equipo

Los ensayos de toxicidad aguda (efectos inmediatos y a corto plazo) miden el efecto tóxico que un agua residual puede ejercer sobre el fango activo procedente de una EDAR.

En este trabajo los ensayos de respirometría se llevaron a cabo en un respirómetro BMT-Advance (Surcis S.L), (Figura III.17). Este sistema está compuesto por un reactor de 1 L de capacidad, que se subdivide en dos espacios separados por una pequeña membrana que proporciona un espacio en fase anóxica y otro en fase de aireación, existiendo un sistema de recirculación entre ambos espacios mediante una bomba peristáltica. El sistema además está equipado con una sonda de temperatura, un sistema de control de pH y un difusor cerámico para proporcionar la aireación necesaria en el sistema. El sistema de medida de la actividad del fango en función de la tasa de respiración es controlado mediante una sonda de oxígeno (Protos 3400, Knick Elektronische Messgeräte GmbH & Co. KG).

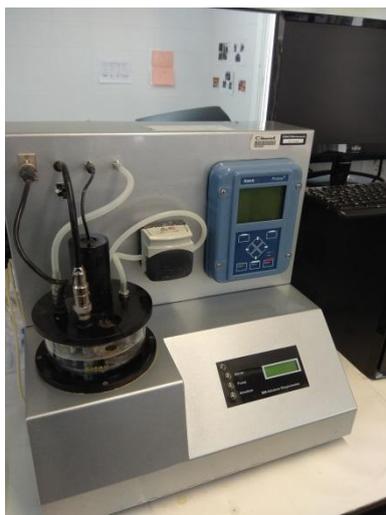


Figura III.17. Respirómetro BMT-Advance (Surcis S.L.).

El respirómetro dispone de una herramienta informática para el registro de datos y cálculo de los parámetros correspondientes a cada ensayo. Una de las ventajas más importantes de este sistema es la facilidad de configurar los ensayos mediante el cambio de condiciones (temperatura, pH, oxígeno disuelto) para que sean lo más parecidas posibles a las de un proceso real.

Procedimiento

Para tales ensayos se recogen fangos activos del tratamiento biológico secundario de una EDAR. Estos fangos se mantienen en aireación y sin aporte de alimento durante un día para eliminar los posibles restos de sustrato orgánico que pudieran tener y pasarlos a una fase de respiración endógena. En todo momento se mantiene un aporte continuo de oxígeno, de forma que los fangos se encuentren en condiciones saturadas del mismo. La temperatura del sistema se fija en 20 °C y el fango se mantiene en aireación y agitación hasta alcanzar un valor de oxígeno disuelto constante y en saturación. Trabajando en modo dinámico, es decir, manteniendo la aireación y recirculación activas durante todo el ensayo y, siguiendo la ecuación III.9, se evaluó la toxicidad comparando la tasa máxima de respiración de una referencia o control (OUR_{max-ref}) con la obtenida mediante el contacto del agua residual con el fango activo (OUR_{max-muestra}).

$$\% \text{ Inhibición} = \left[\frac{\text{respuesta del control} - \text{respuesta de la muestra}}{\text{respuesta del control}} \right] \cdot 100 \quad (\text{Ec. III.9})$$

El ensayo consistió en la adición de 1 L de fango activo procedente de una EDAR convencional (sin adaptación previa a los efluentes que iban a recibir) al reactor biológico del sistema respirométrico. A continuación, el fango se mantuvo en continua aireación hasta alcanzar el estado de saturación en oxígeno disuelto. Previamente, se calcularon también los valores de STS y SVT del fango activo, ya que se necesita la concentración de biomasa del fango activo para las medidas.

La preparación de la referencia consistió en la adición de 30 mL de agua destilada, conteniendo 0,5 g de acetato sódico (sustancia altamente biodegradable) por cada gramo de sólidos volátiles, a un litro de fango activo. La preparación de la muestra consistió en la adición de 30 mL de agua residual (muestra) a un pH 6,5-7,5 a 1L de fango activo con condiciones idénticas a las de la referencia.

En todos los casos, los tiempos de respuesta fueron inferiores a 30 minutos debido a que el interés fue medir la toxicidad aguda sobre fangos activos de EDAR. Es importante que éstos no pierdan actividad durante el análisis de las diferentes muestras, para lo que se repitieron varios ensayos de referencia (que dieron la misma respuesta), asegurando así que cualquier efecto de inhibición era debido a la toxicidad de las muestras estudiadas y no a un mal estado de los fangos activos.

III.4.2. Análisis de la biodegradabilidad

Fundamento teórico

Las aguas residuales contienen una serie de sustancias que pueden ser utilizadas como alimento para los microorganismos presentes, siendo eliminadas de esta forma de las aguas residuales, denominándose, por esta razón, biodegradables.

La respirometría es una técnica eficaz a la hora de caracterizar un agua residual, ya que la carga orgánica de un agua residual es proporcional tanto a la tasa de respiración como a la DQO_b (fracción biodegradable de la DQO). Cuanto mayor sea la DQO_b mayor será la tasa de respiración máxima. Además, para una misma carga orgánica, el aumento progresivo de la tasa de respiración es indicativo de un aumento de la actividad del fango activo. La relación de la DQO_b con la DQO total (Ecuación III.10) nos indica el carácter biodegradable de una muestra a tratar.

$$\text{Biodegradabilidad} = \frac{DQO_{total}}{DQO_b} \quad (\text{Ec. III.10})$$

La respirometría es una técnica complementaria a las medidas de DBO₅ o DQO. En este caso, se analiza el comportamiento del fango cuando una muestra pasa a mezclarse con el mismo. Por tanto, la demanda de oxígeno se mide a partir del comportamiento del fango y no por una medida química en la muestra.

Procedimiento

Como ya se ha descrito en el apartado 4.1., para los ensayos de biodegradabilidad en respirometría se ha utilizado un respirómetro BM- Advance (Surcis S.L) (Figura III.17) trabajando en modo dinámico. Al igual que para el ensayo de toxicidad, se recogen fangos activos del tratamiento biológico secundario de una EDAR, se mantienen en aireación y sin aporte de alimento durante un día para pasarlos a una fase de respiración endógena, manteniendo un aporte continuo de oxígeno para llegar a condiciones de saturación. El procedimiento para llevar a cabo tal ensayo consta de la adición de 900 mL de fango activo procedente de una EDAR convencional (sin adaptación previa a los efluentes que iban a recibir) al reactor biológico del sistema respirométrico. A continuación, el fango se mantuvo en continua aireación hasta su saturación en oxígeno disuelto. Finalmente, se introdujeron 100 mL de muestra (pH 6,5-7,5) en el reactor y comenzó el análisis. Para la determinación de la DQO_b fue necesaria, además, la adición previa al sistema de un inhibidor de la nitrificación (Allil Tiourea) en la proporción de 2-3 mg por cada gramo de SSV, dejándolo actuar durante media hora.

Según las instrucciones del sistema comercial utilizado, una muestra es considerada altamente biodegradable cuando la relación DQO/DQO_b es mayor de 0,8; biodegradable si el valor está comprendido entre 0,7 y 0,8; lentamente biodegradable cuando la ratio es de 0,3-0,7; ligeramente biodegradable cuando la proporción está entre 0,1-0,3 y no biodegradable cuando es menor de 0,1.

III.5. Técnicas de cuantificación microbiana

III.5.1. Recuento en placa del cultivo microbiano

Fundamento teórico

La técnica de recuento en placa es una de las más empleadas para la cuantificación de poblaciones microbianas debido al fácil manejo y la fiabilidad de resultados. Actualmente este método se utiliza de forma rutinaria en diferentes industrias como la alimentaria o en la hospitalaria para el control de procesos patológicos infecciosos. Se basa en la premisa de que cada célula microbiana crece y se divide de forma aislada para generar una sola colonia. Esta premisa no siempre se cumple en el caso de bacterias, ya que pueden crecer formando cadenas o grupos. Por tanto, una colonia no se forma a partir de una sola bacteria, sino de segmentos cortos de una cadena o de un agregado bacteriano. Se asume que el recuento final de colonias depende de la interacción de los microorganismos presentes en la muestra a analizar y las colonias obtenidas mediante esta técnica pueden surgir de pares, cadenas, clústeres o células individuales, estando todo incluido en el término Unidades Formadoras de Colonias (UFC).

Esta técnica se basa en la adición de un volumen conocido a una placa Petri conteniendo un medio de cultivo adecuado para el tipo de microorganismo que se desea contabilizar. El crecimiento de un número limitado de colonias en cada placa nos da información acerca de la población que contiene la muestra. El recuento del número de colonias se expresa en UFC por mililitro o CFU (siglas en inglés), y el cálculo se efectúa mediante la siguiente ecuación:

$$N^{\circ} \text{ de colonias} \times \frac{\text{dilución utilizada}}{\text{volumen de muestreo (mL)}} = \text{UFC/mL} \quad (\text{Ec. III.11})$$

El número apropiado de colonias que pueden ser contadas en una sola placa normalmente debe de oscilar entre 15 y 300 UFC. Cuando la concentración microbiana es superior a esa cifra, la muestra debe de ser diluida mediante un proceso de dilución seriada, es decir, disoluciones sucesivas de la muestra manteniendo constante el volumen y permitiendo la reducción progresiva de la concentración.

En este trabajo experimental se ha utilizado el recuento en placa heterotrófico, anteriormente conocido como recuento en placa estándar (Apha Method 9215: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater). Esta técnica permite estimar el número de bacterias heterótrofas vivas en agua y determinar posibles cambios en la estructura de la población microbiana producidos durante los diferentes tratamientos biológicos. El medio de cultivo utilizado para el recuento en placa de dichos fangos fue TGYE (Tryptone Glucose Yeast Extract Agar). La triptona y el extracto de levadura

suministran las fuentes de nitrógeno y vitaminas que se requieren para el crecimiento de una gran variedad de microorganismos y la glucosa actúa como fuente de energía. La transparencia del medio y el buen tamaño de las colonias al crecer facilitan el recuento bacteriano.

El recuento en placa se ha utilizado en esta Tesis Doctoral para evaluar el correcto funcionamiento o adaptación del proceso biológico a los lixiviados de vertedero previamente coagulados/floculados y tratados mediante foto-Fenton solar.

Procedimiento y descripción del equipo

En primer lugar, se prepara el medio de cultivo TGYE, el cual consta de 5 g/L de Triptona, 2,5 g/L de extracto de levadura, 1 g/L de glucosa y 15 g/L de Agar a pH 7 ± 2 . Se esteriliza en autoclave durante 15 minutos a 121°C . Esta disolución se deja enfriar hasta una temperatura de $45\text{-}50^{\circ}\text{C}$ y se vierte el contenido en placas Petri esterilizadas hasta su completa solidificación. Posteriormente, el medio de cultivo en placa se almacena a $5\text{-}8^{\circ}\text{C}$ hasta su uso, que no excede de un mes desde la fecha de preparación del medio de cultivo. Para facilitar el recuento posterior de colonias, se realizan diluciones seriadas de las muestras obtenidas con PBS (desde 10^{-1} hasta 10^{-6}). Seguidamente, se adiciona 500 μL de muestra o de muestra diluida sobre la superficie de una placa conteniendo el medio de cultivo sólido y se extendió suavemente empleando un asa de siembra esterilizada y desechable con una forma típica de "L". Todo esto se realiza en cabina de flujo laminar (Figura III.18) para asegurar condiciones de esterilidad y así evitar contaminaciones. El recuento de colonias se realizó tras 7 días de incubación a una temperatura de 25°C en una incubadora modelo BD 53 de la marca Binder GmbH (véase Figura III.18), de acuerdo con el método 9215, dando lugar a los recuentos más altos de esta técnica (Apha, 1995). Transcurrido este periodo de incubación se seleccionaron las diluciones más apropiadas para el recuento de colonias y se procedió a cuantificar el número que aparecieron en cada dilución.



Figura III.18. Cabina de flujo laminar modelo Telstar BIO II A/P e incubadora SINDER.

III.6. Técnicas de biología molecular. Análisis genético

III.6.1. Extracción y cuantificación de ADN

Fundamento teórico

El ácido desoxirribonucleico (ADN) es un ácido nucleico que contiene las instrucciones genéticas usadas en el desarrollo y funcionamiento de todos los organismos vivos y algunos virus. Se compone de dos cadenas, cada una formada por nucleótidos. Cada nucleótido, a su vez, está compuesto por un azúcar (desoxirribosa), un grupo fosfato y una base nitrogenada. Las bases nitrogenadas son cuatro: adenina (A), timina (T), citosina (C), y guanina (G). En la doble cadena, una A se enfrenta a una T y una C se enfrenta a una G por lo que se dice que son complementarias. Por tanto, el ADN está constituido por dos cadenas de nucleótidos unidas entre sí formando una doble hélice. La unión de los nucleótidos ocurre entre el grupo fosfato y el azúcar, mediante enlaces fosfodiéster, dando lugar al esqueleto de la molécula. Las bases de cadenas opuestas se unen mediante puentes de hidrógeno y mantienen estable la estructura helicoidal.

La aplicación de técnicas de biología molecular se inicia con la extracción de ADN en una forma relativamente purificada. El aislamiento del ADN es un proceso de purificación del ADN de la muestra mediante una combinación de métodos físicos y químicos. El

primer aislamiento de ADN se realizó en 1869 por Friedrich Miescher (Dahm, 2008). Con la extracción del ADN se consigue separar el ADN de las proteínas, las membranas y otros materiales moleculares celulares contenidos en la célula de la cual se extrae. La extracción de ADN generalmente consta de tres pasos:

1. Lisis o ruptura de las células, permitiendo que los ácidos nucleicos se liberen.
2. Separación del ADN de otros componentes celulares que pueden interferir.
3. Aislamiento del ADN.

El proceso de extracción de ADN requiere un manejo cuidadoso del material biológico para evitar la contaminación de la muestra y el cruce.

A partir de los años 90 se introdujeron en el mercado kits de extracción para el método químico. Existen muchos kits diferentes ya que la extracción de ADN depende del tipo de muestra a analizar, por lo que seleccionar el kit correcto ahorrará tiempo en dicha extracción.

Para futuros trabajos con el ADN extraído, es importante conocer la concentración y la calidad del ADN. Existen varias técnicas de cuantificación de ADN como fluorimetría, electroforesis capilar utilizando gel de agarosa, hibridación con sonda o espectrofotometría. Estas técnicas permiten determinar el rendimiento de la extracción y la optimización del proceso. La espectrofotometría es una técnica sencilla basada en la medida de la cantidad de luz ultravioleta que absorben las bases nitrogenadas ($\lambda=254$ nm) del ADN.

Este procedimiento experimental se ha utilizado para la extracción y cuantificación del ADN de las muestras obtenidas del reactor biológico en fase de adaptación a lixiviados de vertedero pretratados, para su posterior análisis genético.

Procedimiento

Ya que no existe un kit específico para la extracción de ADN en fango, se utilizó un kit comercial FastDNA™ SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals) y el preparador de muestras FastPrep® (MP Biomedicals) (Figura III.19). Este kit es específico para suelos, pero se utilizó para la extracción de fangos por similitud entre matrices. Se ha demostrado en literatura su adecuación para este tipo de muestras (Harms y col., 2003). Con el preparado de muestras se favorece la lisis y homogeneización de las muestras de ADN mediante el impacto multidireccional con partículas esféricas de cerámica de un tamaño de ¼ de

pulgada, favoreciendo, por tanto, el rendimiento de la extracción de ADN en este tipo de muestras heterogéneas.



Figura III.19. a) Kit comercial utilizado para la extracción de ADN (FastDNA™ SPIN Kit for Soil) b) FastPrep® utilizado para favorecer la extracción del ADN.

Previamente a la utilización de este kit específico, se produce una etapa de preparación de la muestra. Para llevar a cabo la extracción de ADN del fango formando parte de la bio-película sobre los soportes de plástico contenidos en el reactor biológico, 50 soportes fueron sonicados con agua Milli-Q durante 30 minutos y posteriormente se centrifugó durante 5 minutos a 2000 rpm. Se realizó la extracción de ADN a 50 mL de sobrenadante. Tanto para el caso del sobrenadante como para la extracción de ADN de las muestras líquidas del tratamiento biológico, se tomó 1 mL de muestra y se centrifugó a 12000 r.p.m durante 2 minutos. A continuación, se eliminó el sobrenadante, dejando 250 μ L, que son los que se utilizaron en la extracción.

La extracción de ADN se llevó a cabo siguiendo rigurosamente las instrucciones y el material contenido en el kit de extracción. Cada muestra se analizó por duplicado. A 250 μ L de muestra se le añadieron 978 μ L del buffer fosfato de sodio y 122 μ L de MT-Buffer dentro de los tubos para la lisis. Se introdujeron durante 40 s a 6 m/s en el preparador de muestras Fastprep®. Seguidamente, se centrifugó a 14000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante obtenido se traspasó a un tubo nuevo y se le añadió 250 μ L de PPS, se agitó con la mano y después se centrifugó durante 5 minutos a 14000 rpm. De nuevo, se pasó el sobrenadante a un tubo de 15 mL, se le añadió 1 mL de Binding Matrix y se agitó con la mano durante 2 minutos. Se dejó reposar durante 3 minutos, se eliminó el sobrenadante, y lo que quedó se re-suspendió y se puso en un tubo de Spin. Se centrifugó durante 1

minuto a 14000 rpm. Se eliminó el líquido obtenido y se volvió a centrifugar en las mismas condiciones. Se eliminó el líquido y se añadió 500 μL de SEWS-M concentrado, se re-suspendió y se volvió a centrifugar en las mismas condiciones. Se eliminó el líquido y se centrifugó durante 2 minutos a 14000 rpm. Se dejó secar el filtro durante 5 minutos a temperatura ambiente, al cual se le añadió 75 μL de DES para re-suspender. Por último, se incubó durante 5 minutos a 55 $^{\circ}\text{C}$ y se centrifugó a 14000 rpm durante 1 minuto. Finalmente, se obtuvieron de cada muestra extraída, 75 μL conteniendo el ADN.

La concentración de ADN extraído se determinó utilizando un espectrofotómetro NanoDrop™ Lite (ThermoFisher Scientific) (Figura III.20) en el cual se mide la concentración de ácidos nucleicos a 260 nm depositando 1 μL de muestra sobre el pedestal del equipo. El equipo proporciona directamente la concentración de interés en $\text{ng}/\mu\text{L}$. Las medidas se realizaron por duplicado. El ADN obtenido mediante este procedimiento se conservó a -4 $^{\circ}\text{C}$ para su posterior utilización en otras técnicas, como PCR, secuenciación masiva y cualquier otra aplicación deseada.



Figura III.20. NanoDrop™ Lite para la determinación de la cantidad de ADN extraído.

III.6.2. Cuantificación de ADN mediante reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real (qPCR)

Fundamento teórico

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una de las tecnologías más poderosas en biología molecular. Es una técnica que consiste en la amplificación in vitro de un fragmento de ADN específico generándose miles o millones de copias de tal fragmento en un proceso llamado amplificación. Es una técnica muy potente, fácil de utilizar, extremadamente sensible y altamente eficiente que fue inventada por Kary Mullis en

1983. Esta técnica se basa en ciclos térmicos donde los reactivos se exponen a ciclos repetitivos de calentamiento y enfriamiento para permitir diferentes reacciones dependientes de la temperatura, específicamente la fusión del ADN y la replicación del ADN impulsada por enzimas. Los equipos en los que se realiza la reacción de PCR se conocen con el nombre de termocicladores. La PCR emplea dos reactivos principales: cebadores o primers (que son fragmentos cortos de ADN de una sola hebra conocidos como oligonucleótidos, que son una secuencia complementaria de la región del ADN objetivo) y una ADN polimerasa. En el primer paso de la PCR, las dos cadenas de la doble hélice del ADN se separan físicamente a una temperatura alta en un proceso llamado fusión del ADN. Seguidamente, la temperatura se reduce y los cebadores se unen a las secuencias complementarias del ADN. Las dos cadenas de ADN se convierten en plantillas para que la ADN polimerasa ensamble enzimáticamente una nueva cadena de ADN a partir de nucleótidos libres, los componentes básicos del ADN. A medida que avanza la PCR, el ADN generado se utiliza como molde para la replicación, poniendo en marcha una reacción en cadena en la que el molde de ADN original se amplifica exponencialmente. Se duplica el número de moléculas con cada ciclo de amplificación, realizándose, en la práctica, de 30 a 40 ciclos y con una duración de 2 a 4 horas. La técnica original de PCR utilizaba una ADN polimerasa que se desnaturalizaba debido a las altas temperaturas necesarias para desnaturalizar las copias de doble cadena de ADN, por lo que tenía que ser sustituida tras cada ciclo, lo que era un proceso tedioso y costoso. Este problema se solucionó utilizando una ADN polimerasa estable al calor, como la ADN polimerasa Taq, la cual fue aislada de la bacteria termófila *Thermus aquaticus*.

Los métodos basados en PCR pueden verse comprometidos debido al agotamiento de los reactivos, la competencia de los amplicones con los cebadores y la pérdida de la actividad de la polimerasa a medida que aumenta el número de ciclos de amplificación. Además, la detección y la cuantificación de la secuencia amplificada se realizan al final de la reacción después del último ciclo de la PCR, e involucran el análisis posterior a la PCR, como la electroforesis en gel y el análisis de imágenes. Para superar dicha deficiencia, se desarrolló una nueva técnica conocida como PCR en tiempo real (qPCR, quantitative Polymerase Chain Reaction). Aquí, el producto de la PCR se mide en cada ciclo a través de tintes fluorescentes que producen una señal fluorescente creciente en proporción directa al número de moléculas de producto de PCR (amplicones) generadas sin el procesamiento de muestras posterior a la PCR. Si una secuencia particular es abundante

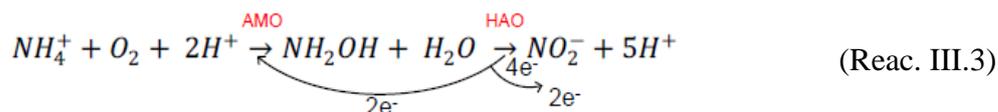
en la muestra, la amplificación se observa en ciclos anteriores. Si la secuencia es escasa, se observa amplificación en ciclos posteriores.

Se pueden usar varias sondas fluorescentes diferentes en la PCR a tiempo real, aunque la más utilizada es TaqMan. Es un oligonucleótido lineal complementario a una secuencia de ácido nucleico diana, con un fluoróforo unido al extremo 5' y un desactivador (quencher) de fluorescencia en el extremo 3'. La gran ventaja de esta sonda es que aumenta significativamente la especificidad de la detección. Cada sonda TaqMan está diseñada de manera que hibride con una región específica de ADN que va a ser amplificada por un par de oligonucleótidos específicos. A medida que la Taq polimerasa sintetiza la cadena en sentido 3'-5', la actividad exonucleasa 5'-3' de esta misma enzima degrada la sonda TaqMan ya hibridada al ADN. La degradación de la sonda separa el fluoróforo, rompiendo así la proximidad entre éste y el quencher, permitiendo así la emisión de fluorescencia. La fluorescencia detectada es directamente proporcional a la cantidad de fluoróforo liberado y, por lo tanto, a la cantidad de ADN de interés presente en el producto de PCR.

Con todo esto, las ventajas de la PCR en tiempo real incluyen:

- Capacidad para controlar el progreso de la reacción de PCR a medida que se produce.
- Capacidad para medir con precisión la cantidad de amplicón en cada ciclo, lo que permite una cuantificación muy precisa de la cantidad de material de partida.
- Mayor rango dinámico de detección.
- La amplificación y detección se producen en un solo tubo, con lo que se eliminan las manipulaciones posteriores a la PCR y se evitan contaminaciones.

Se ha aplicado ampliamente en investigación médica y en investigación ambiental su aplicación ha sido más lenta, aunque en auge. En los últimos años, esta técnica ha tenido un desarrollo exponencial en análisis de comunidades bacterianas específicas en sistemas de depuración biológicos. La abundancia de estas comunidades es crítica en el diseño y operación de los sistemas de tratamiento de aguas, en especial en comunidades bacterianas que forman parte del proceso de nitrificación. Un ejemplo son las AOB (Ammonium Oxidizing Bacteria), que contienen sistemas enzimáticos del tipo AMO (Ammonio monooxigenasa) y HAO (Hidroxilamina oxidoreductasa) capaces de oxidar el amonio para convertirlo en nitrito según la reacción:



Esta técnica se ha utilizado en esta Tesis Doctoral para la amplificación y cuantificación de dos tipos de genes: ADN 16S bacteriano y AOB 16S ARNr en muestras de fango y líquidas procedentes de diferentes etapas del tratamiento biológico en continuo de lixiviados de vertedero pretratados.

Procedimiento y descripción del equipo

Las muestras de ADN extraídas mediante el procedimiento descrito en el apartado III.6.1 se analizaron por qPCR mediante un equipo 7500/7500 Fast Real-time PCR System (Applied Biosystem) (Figura III.21). Utiliza una placa de 96 pocillos y una plataforma de cinco colores basados en fluorescencia para proporcionar la detección cuantitativa de secuencias de ácidos nucleicos diana (objetivos) usando análisis en tiempo real. Este equipo recopila datos de fluorescencia en los diferentes ciclos de la PCR en tiempo real y está acoplado a un software 7500 para el procesado de datos. Éste utiliza una región de interés y calibraciones internas para determinar la ubicación y la intensidad de la fluorescencia de cada lectura. El procedimiento sigue los siguientes pasos:

- Excitación: El instrumento ilumina todos los pocillos de la placa de reacción dentro del instrumento, excitando los fluoróforos en cada reacción.
- Emisión: El instrumento recoge la fluorescencia residual emitida desde los pocillos de la placa de reacción. La imagen resultante recopilada por el dispositivo consiste en un haz de luz que corresponde al rango de longitudes de onda de emisión.
- Recolección: El instrumento realiza una representación digital del residuo de fluorescencia recogido durante el intervalo de tiempo analizado, y almacena la imagen para el análisis.



Figura III.21. Equipo 7500/7500 Fast Real-time PCR System (Applied Biosystem).

Los dos tipos de genes que se han analizado y comparado en este trabajo han sido los genes ADNr 16S bacteriano y AOB 16S ARNr para cada una de las muestras de ADN anteriormente descritas. Se analizó cada muestra, diluida 1:10 para evitar la saturación del equipo, por duplicado. Para verificar la ausencia de contaminación en los resultados obtenidos, se incluyó el correspondiente control negativo, el cual consta de los mismos componentes que la reacción de PCR seleccionada, pero sin ADN muestra. Los componentes y requisitos para llevar a cabo la amplificación de cada uno de los genes seleccionados se obtuvieron de la literatura (Harms y col., 2003). Para la detección del ADNr 16S bacteriano (número total de bacterias) se utilizaron 25 μL de volumen total conteniendo 12,5 μL de Platinum® Quantitative PCR SuperMix-UDG (Invitrogen, Carlsbad, California, Estados Unidos) con MgCl_2 5 mM (2,5 μL) como tampón, 15 pmol primers 1055f (5'-ATGGCTGTCGTCAGCT-3') y 1392r (5'-ACGGGCGGTGTGTAC-3') (0,4 μL de cada uno), 6,25 pmol TaqMan sonda 16STaq1115 (5'-(6-FAM)-CAACGAGCGCAACCC-(TAMRA)-3'), 8,14 μL de agua y 1 μL de muestra de ADN diluida 1:10. Por otro lado, para la determinación del AOB 16S ARNr (bacterias amino-oxidantes), se utilizaron alícuotas de 1 μL de ADN diluido 1:10 con 12,5 μL de Universal PCR Master Mix (PE Applied Biosystems), 7,5 pmol de una proporción 2:1 de los primers CTO 189fA/B (5'-GGAGRAAAGCAGGGGATCG-3', 0,05 μL) y CTO 189fC (5'-GGAGGAAAGTAGGGGATCG-3', 0,025 μL), 7,5 pmol de RT1r (5'-CGTCCTCTCAGACCTACTG-3', 0,075 μL), 0,03 μL de TaqMan sonda TMP1 (5'-

(6-FAM)-CAACTAGCTAATCAGRCATCRGCCGCTC-(TAMRA)-3', 3,15 pmol) y 11,32 μ L de agua.

La Tabla III.10 proporciona los programas de qPCR establecidos para la amplificación del ADNr 16S bacterianos y del gen AOB 16S ARNr.

Tabla III.10. Programa de qPCR para amplificación de ADNr 16S bacteriano y gen AOB 16S ARNr (Harms y col., 2003).

	ADNr 16S	AOB
Estabilización y desnaturalización	3 minutos a 50°C 10 minutos a 95°C	2 minutos a 50°C 10 minutos a 95°C
Ciclos	45 ciclos: 95°C durante 30 segundos y 72°C durante 20 segundos	40 ciclos: 95°C durante 30 segundos y 60°C durante 60 segundos

La cuantificación relativa de las muestras de ADN de fangos se estimó utilizando una curva estándar de amplificación de ADN de concentración conocida reportada en trabajos previos de nuestro grupo de investigación (Polo-López y col., 2017). Para ello, se realizaron diluciones seriadas y se aplicó el mismo procedimiento de amplificación de ADN. Los valores de fluorescencia obtenidos tanto en la curva estándar como la cuantificación de resultados se expresaron como logaritmo.

III.6.3. Técnicas de secuenciación masiva: metagenómica

Fundamento teórico

La Metagenómica ha surgido como una herramienta con gran potencial para afrontar los retos en el entendimiento de complejas comunidades microbianas y víricas. Es un campo nuevo en el que se persigue obtener secuencias del genoma o ADN de los diferentes microorganismos que componen una comunidad, extrayendo y analizando su ADN de forma global para así poder entender cuál es el papel que desempeñan en el medio donde se encuentran. La posibilidad de secuenciar directamente los genomas microbianos sin necesidad de cultivarlos abre nuevas posibilidades por su alto rendimiento y bajo coste.

Permite acceder al genoma sin ver a los microorganismos ni cultivarlos. Además, se cree que, con los métodos tradicionales, basados en el aislamiento y cultivo previo de los microorganismos, se “pierde” hasta un 99% de diversidad bacteriana de una muestra. Por tanto, consiste en obtener las secuencias de ADN y ARN de las muestras objeto de estudio y compararlas con todas las secuencias conocidas, permitiendo buscar homología entre ambas.

En la actualidad, la metagenómica puede entenderse desde dos perspectivas diferentes: desde el punto de vista filogenético o taxonómico (basado en el estudio del ADN 5S y del ARNr 16S) y desde el punto de vista funcional (basado en la secuenciación de todo el genoma). Esta tecnología ha tenido un gran desarrollo gracias al uso de nuevos sistemas de análisis y el desarrollo de herramientas bioinformáticas que facilitan el procesado de datos, ofreciendo respuestas más rápidas, económicas y de mayor precisión sobre la información genética contenida en muestras ambientales.

En este desarrollo tecnológico, un gran avance ha sido el establecimiento de las técnicas de secuenciación masiva, (NGS por sus siglas en inglés “Next Generation Sequencing”), permitiendo multiplicar por varios millones el número de bases nitrogenadas obtenidas mediante otras metodologías anteriores (Sanger). Estas NGS se pueden dividir en plataformas con tecnologías de secuenciación de lectura corta o tecnologías de segunda generación (AB Solid, Illumina, 454 Roche y Oxford Nanopore). En este trabajo, se utilizó la plataforma “Illumina” para los estudios de secuenciación masiva.

Esta metodología se caracteriza por el uso de nucleótidos marcados con fluoróforos que bloquean de forma reversible la elongación de la cadena. En esta plataforma las reacciones de PCR se llevan a cabo uniendo fragmentos de ADN a cebadores inmovilizados sobre una superficie sólida. Los nucleótidos que se agregan mediante la polimerización del ADN en la reacción se modifican químicamente quedando etiquetados de manera fluorescente. Por tanto, al incorporarse a la amplificación del ADN emiten una señal que se mide mediante fluorescencia de reflexión interna total (TIRF, siglas en inglés). Tras la detección de la incorporación del fluoróforo, y la eliminación del mismo, es posible continuar con un nuevo ciclo de adición de un nuevo nucleótido. Es lo que se conoce como secuenciación por síntesis.

En general, el desarrollo exponencial en los últimos años de las técnicas NGS reside en su alto rendimiento, permitiendo acceder al genoma de numerosos microorganismos

eliminando la necesidad de realizar cultivos específicos y laboriosos. El conocimiento del metagenoma de un ambiente en particular permite conocer aspectos de la vida microbiana que se esté generando en un sistema concreto, incluyendo la variabilidad de la población microbiana o interacciones ecológicas de cada sistema particular.

Esta técnica se ha utilizado para la identificación y/o clasificación de las especies microbianas presentes en muestras de fangos adsorbidos a soportes, los cuales se encuentran en un reactor biológico de lecho fijo trabajando con lixiviados de vertedero pretratado en continuo y muestras líquidas del mismo, para determinar o describir los posibles cambios que dicha población sufre a lo largo del tratamiento.

Procedimiento y descripción del equipo

Mediante esta técnica se abordó la identificación de especies a través de la secuenciación de la región 16S a partir del ADN extraído, en fases previas del proceso, (apartado III.6.1.) de muestras de fangos procedente del tratamiento biológico en continuo de los lixiviados de vertedero pretratados.

Las muestras de ADN obtenidas en este trabajo experimental fueron enviadas para su análisis por secuenciación masiva a STAB VIDA (laboratorio de análisis genético, en Portugal), donde se utilizó un analizador MiseQ Illumina de Applied Biosystems (Figura III.22) para su análisis metagenómico.



Figura III.22. Analizador genético MiseQ Illumina.

El procedimiento llevado a cabo por el laboratorio STAB VIDA se describe brevemente a continuación:

- Control de calidad de las muestras de ADN enviadas. El objetivo de este análisis previo es garantizar la integridad y cantidad del ADN para obtener una óptima amplificación. Este control consiste en una electroforesis en gel de Agarosa (al 1%) de las muestras de ADN, utilizando un campo magnético de 120V y una duración de 20 minutos. Tras ello, se realiza una cuantificación del ADN presente en la muestra mediante fluorimetría. La concentración necesaria para una óptima amplificación del ADN en cada muestra debe de ser igual o superior a 50 ng/μL.
- A continuación, se lleva a cabo una amplificación de las regiones variables del gen 16S, V3 y V4, en función de cuya secuencia se clasifican las especies presentes en la muestra. Este paso del procedimiento se realiza mediante el uso de kits comerciales y reacción PCR en termociclador, para este caso en particular, el 16S Metagenomic Sequencing Library preparation.
- La amplificación de estas regiones se secuencia utilizando otro kit comercial, MiSeq Kit v2 empleando la plataforma Illumina MiSeq platform (Figura III.22).
- Por último, los resultados generados durante la secuenciación se analizan utilizando el software Illumina 16S Metagenomics workflow versión 1.0.1, lo que proporciona información sobre la clasificación taxonómica de las muestras analizadas mediante comparación con huellas genéticas conocidas, publicadas y almacenadas en bases de datos específicas y contempladas en el software empleado en este procedimiento analítico.

III.7. Pretratamiento fisicoquímico

Las aguas residuales industriales presentan color y turbidez debido a que contienen material suspendido, sólidos que pueden sedimentar en reposo, o sólidos dispersados que no sedimentan con facilidad. Una parte considerable de estos sólidos que no sedimentan pueden ser coloides. Las especies coloidales halladas en aguas superficiales y residuales incluyen arcillas, sílice, hierro, metales pesados, color o sólidos orgánicos. Son partículas muy pequeñas y con una carga eléctrica superficial que les hace repelerse continuamente, impidiendo su aglomeración y formación de una partícula más pesada para poder así sedimentar. Por ello, una parte importante del tratamiento de aguas residuales está relacionada con la eliminación de este tipo de partículas. Los tratamientos fisicoquímicos basados en procesos de coagulación/floculación (C/F) permiten la disminución o

eliminación de color y turbidez en aguas residuales, así como una pequeña fracción de CT, debido a la desestabilización de los coloides y su posterior sedimentación.

El proceso consiste en la alteración del estado físico de determinadas partículas coloidales, convirtiéndolas en partículas susceptibles de un proceso de separación por sedimentación o filtración. Esto se logra con la adición de agentes químicos y aplicando energía de mezclado en unas determinadas condiciones. Mediante la coagulación o la adición de coagulantes, se consigue la desestabilización de los coloides producida por la eliminación de las dobles capas eléctricas que los rodean y la formación de núcleos microscópicos. Y mediante la floculación o adición de floculantes, se produce la aglomeración de las partículas desestabilizadas primero en microflóculos y luego en aglomerados voluminosos llamados flóculos capaces de sedimentar.

En general, el proceso de C/F consta de 3 etapas:

1. Mezcla rápida: Permite la interacción del agua residual con el coagulante o floculante mediante una agitación física rápida, promoviendo el choque de partículas y favoreciendo la desestabilización de partículas coloidales.
2. Mezcla lenta: Consiste en un proceso de agitación física de la masa coagulada a una velocidad baja, favoreciendo la agrupación de partículas y la formación de aglomerados capaces de sedimentar con facilidad.
3. Sedimentación: Consiste en dejar la mezcla en reposo durante un tiempo determinado para la sedimentación de aglomerados, favoreciendo la clarificación del agua residual para su posterior decantación o filtrado.

El resultado es la reducción de color, turbidez y generalmente de COD del agua residual tratada.

Es necesaria la correcta optimización de los parámetros que intervienen en el proceso de C/F para cada tipo de agua residual. Dentro de las variables fundamentales que afectan a este proceso se encuentran el tipo de coagulante o floculante, la dosis de estos, el pH del medio y los tiempos y velocidad de agitación de la mezcla resultante. Uno de los factores más importantes es la dosis de coagulante o floculante. Si se añade demasiado, las partículas se cargan con el signo contrario y pueden volver a dispersarse con el consiguiente aumento de la turbidez.

Generalmente, los tratamientos fisicoquímicos se utilizan como una etapa de depuración complementaria a otros tratamientos, siendo capaces de aumentar la eficiencia de posteriores procesos de oxidación química (Wang y col., 2011; Papaphilippou y col., 2013).

En este trabajo, el pretratamiento fisicoquímico mediante C/F es la primera etapa de la línea de tratamiento propuesta para los lixiviados de vertedero estudiados, y es la etapa previa al proceso avanzado de oxidación química. Para ello, en primer lugar, se optimizó a escala de laboratorio en un sistema “Jar-test” mediante coagulantes y floculantes comerciales. Y de ahí, se pasó al uso de una planta piloto para tal propósito con las condiciones óptimas obtenidas. Los parámetros para evaluar la eficacia de dicho proceso fueron los porcentajes de eliminación de turbidez y COD utilizando la Ecuación III.12:

$$\% \text{ Eliminación} = \frac{\text{COD o turbidez inicial} - \text{COD o turbidez final}}{\text{COD o turbidez inicial}} \times 100 \quad (\text{Ec. III.12})$$

III.7.1. Selección de coagulantes y floculantes

En este trabajo, además de dos coagulantes comúnmente utilizados para el tratamiento de C/F en aguas residuales, como FeCl_3 anhidro y Ca(OH)_2 , se seleccionaron tres coagulantes comerciales (QUIFLOC 225-K, ECOTAN BIO, QUIFLOC NT-520) y tres floculantes comerciales (QUIFLOC AC/9800, QUIFLOC 2030/W y QUIFLOC AC-6010). La Tabla III.11 presenta algunas características de los coagulantes y floculantes comerciales seleccionados.

COAGULANTES

QUIFLOC 225-K: Se trata de una sustancia de aspecto líquido transparente incoloro, efectiva en un amplio rango de pH. Es un producto muy utilizado en depuración de aguas y deshidratación de fangos, siendo capaz de sustituir total o parcialmente a los coagulantes inorgánicos. Su uso está recomendado en la decantación secundaria de fangos biológicos procedentes de digestiones, tanto aerobias como anaerobias, favoreciendo su rápida sedimentación y respetando la flora bacteriana presente en el sistema. Además, es eficaz en la precipitación de tensioactivos aniónicos.

ECOTAN BIO: Es un coagulante natural de carácter catiónico que se extrae de la corteza de la Acacia Negra (*Acacia mearnsii*). Presenta una fuerte acción coagulante que actúa

en sistemas de partículas coloidales en aguas residuales neutralizando las cargas y aglutinando (coagulando) las partículas en suspensión. Debido a su carácter natural y a que no presenta metales en su estructura, no consume alcalinidad del medio, ya que no sufre hidrólisis en solución y su eficacia como coagulante es óptima. Tampoco altera el pH del sistema ni aporta productos tóxicos, favoreciendo los procesos biológicos y posterior reutilización del fango.

QUIFLOC NT-520: Es un coagulante natural de bajo peso molecular y color marrón oscuro que actúa sustituyendo, total o parcialmente, a los coagulantes inorgánicos. Se puede utilizar como “emulsión breaker” y como agente quelatante de metales en disolución. Es muy efectivo en la industria papelera, metalúrgica, curtidos e industria química, aunque se puede utilizar también en plantas convencionales de tratamiento de aguas. En cuanto a los fangos, se utiliza para espesar lodos primarios y para incrementar la carga de sólidos en procesos de desbaste mecánico.

FLOCULANTES

QUIFLOC AC/9800-P: Es un floculante catiónico de alto peso molecular y efectivo en un amplio rango de pH. Por su estructura altamente reticulada este producto está especialmente indicado para su aplicación en centrífugas de alta velocidad ya que combina la formación de un flóculo grande y resistente con un excelente desbaste. Puede actuar sólo o en combinación con otros productos muy utilizados en tratamientos de aguas como sulfato de alúmina, policloruro de aluminio, cloruro férrico o poliamina. Si se combina con un floculante aniónico se obtiene una floculación más completa y resistente (tratamiento dual). Su alto contenido en centros activos lo hace especialmente interesante para aquellas aplicaciones donde el consumo de floculante es elevado.

QUIFLOC 2030/W: Es un floculante catiónico de alto peso molecular y eficaz en un amplio rango de pH (6-14), que puede actuar sólo o en combinación con otros productos habituales en tratamientos de aguas (sulfato de alúmina, policloruro de aluminio, cloruro férrico o poliamina). Tiene un aspecto de líquido opaco blanco lechoso. Se utiliza con éxito en numerosas industrias como por ejemplo la industria química, textil, curtidos, alimentaria, pinturas, petróleo, lavado de envases, mataderos, metalúrgica y galvánica. Esta sustancia es especialmente útil en tratamientos de efluentes donde la separación debe realizarse por flotación.

QUIFLOC AC-6010: Es un líquido blanquecino opaco de carácter catiónico y peso molecular muy alto. Resulta útil en un amplio abanico de aplicaciones proporcionando buenos resultados en procesos de deshidratación de fangos, especialmente en centrífugas. Es efectivo en un amplio rango de pH y al igual que el QUIFLOC 2030/W puede actuar sólo o en combinación con otros productos habituales en los tratamientos de aguas (sulfato de alúmina, policloruro de aluminio, cloruro férrico o poliamina). Su alto contenido en centros activos lo hace especialmente interesante para aquellas aplicaciones donde el consumo de floculante es elevado.

Tabla III.11. Características fisicoquímicas de los coagulantes y floculantes comerciales seleccionados.

Nombre	Descripción	pH	Rango efectivo de pH	Densidad (g/cm ³)	Viscosidad (cp)
COAGULANTES					
QUIFLOC 225-K	Homopolímero de cloruro de dialildimetilamonio en solución acuosa	4-7	Rango amplio	1,05	500-2000
ECOTAN BIO	Coagulante de base natural vegetal derivado de la Acacia	4.5-9	-	-	-
QUIFLOC NT-520	Polímero catiónico en solución acuosa	2-3	-	1,02-1,10	-
FLOCULANTES					
QUIFLOC AC/9800P	Copolímero catiónico de acrilamida en emulsión base hidrocarburos	-	Rango amplio	1,05	<3000
QUIFLOC 2030/W	Copolímero aniónico de acrilamida en dispersión acuosa	3-5	6-14	1,20	<3000
QUIFLOC AC-6010	Copolímero catiónico de acrilamida en emulsión base hidrocarburos	-	Rango amplio	1,03-1,05	300-1500

III.7.2. Sistema “jar-test” para ensayos de coagulación/floculación a escala de laboratorio

Fundamento teórico y descripción del equipo

Para la optimización o diseño de la etapa de C/F, inicialmente es necesario llevar a cabo el estudio del comportamiento de un coagulante o floculante en un agua residual a escala de laboratorio mediante el ensayo “jar-test”. Con este ensayo se pretende reducir el contenido en sólidos disueltos, sólidos en suspensión, materias coloidales y otras materias sedimentables, con la consiguiente reducción de color, turbidez y dureza del agua bruta investigada. La finalidad de estos ensayos de C/F, está encaminada a determinar el tipo de coagulante óptimo, su dosis óptima, pH óptimo de tratamiento y el tiempo de retención y velocidad de agitación óptimos para una buena mezcla (coagulación) y un buen contacto entre las partículas (floculación). Son usuales y orientativas velocidades de mezcla rápida de 100-150 rpm y tiempos de 30 s a 2 minutos. En cuanto a velocidades de mezcla lenta oscilan entre 20 y 40 rpm y tiempos de 5 a 10 minutos, así como tiempos de sedimentación final de 5 a 20 minutos. En cualquier caso, un sistema “jar-test” permite varias las condiciones operativas para adaptarlas al agua residual que se vaya a tratar.

El “jar-test” se compone de una plataforma, la cual dispone de una serie de paletas agitadas mecánicamente adheridas. Estas se introducen en una serie de vasos de precipitado de 1 a 1,5 L de capacidad. Las paletas deben tener la misma forma geométrica y tamaño y deben tener regulación de la velocidad de giro, la cual debe oscilar entre 20 y 150 rpm, operando todos a la misma velocidad y simultáneamente. Para que se perciba más nítidamente la dinámica de la formación, evolución y sedimentación de los flóculos generados en el ensayo, la base del floculador debe hallarse bien iluminada.

En nuestro caso, los ensayos de C/F se realizaron en un sistema “jar-test” Modelo JT60E (OVAN) disponible en el laboratorio de la PSA (Figura III.23). Se trata de un equipo digital con 6 posiciones diseñado para vasos de ensayo de 1 litro de capacidad.



Figura III.23. Sistema “jar-test” JTS60E (OVAN).

En esta Tesis Doctoral, se ha utilizado el ensayo “jar-test” para la optimización de la primera etapa de pretratamiento fisicoquímico mediante C/F, en la línea de tratamiento para lixiviados de vertedero.

Procedimiento

En este trabajo, los tiempos de contacto y la velocidad de agitación se fijaron en los siguientes valores, siguiendo un estudio realizado previamente en el grupo de investigación (Ponce-Robles y col., 2016): 3 minutos de mezcla rápida a 100 r.p.m., 30 minutos de mezcla lenta a 30 r.p.m. y 30 minutos de sedimentación. Los pH estudiados son pH 5 y el natural del agua residual.

El procedimiento consistió en colocar cada uno de los vasos de ensayo conteniendo el agua residual con el pH correspondiente debajo de cada una de las paletas de agitación del sistema “jar-test”. A continuación, se añadieron diferentes dosis de los coagulantes y floculantes seleccionados para el estudio.

Después de un periodo de agitación rápida (3 minutos) y lenta (30 minutos), las paletas agitadoras se levantaron y se esperó un tiempo de 30 minutos para la sedimentación de los flóculos. Finalmente se determinaron los porcentajes de eliminación de turbidez y COD del sobrenadante obtenido.

III.7.3. Ensayos de coagulación/floculación/filtración a escala planta piloto

Fundamento teórico y descripción del equipo

Las condiciones óptimas obtenidas para el proceso de C/F mediante el ensayo “jar-test” se escalaron a un sistema piloto. Para ello, se utilizó una planta piloto de coagulación/floculación/filtración disponible en la PSA (Figura III.24).

La planta consiste en un mezclador cónico de 200 L de capacidad acoplado a un sistema de filtración. El mezclador dispone de un sistema de control de velocidad, permitiendo la reproducibilidad de los tiempos de contacto con las dosis adecuadas de C/F y favoreciendo la sedimentación de los flóculos. Por otro lado, el sistema de filtración está compuesto por dos tanques de almacenamiento de 500L de capacidad conectados a dos bombas que operan en modo manual o automático, un filtro sílex modelo SETA 16x44 (PEVASA) de 75 μ m y dos microfiltros de cartucho AMETEK de 25 μ m y 5 μ m, respectivamente. Este sistema permite trabajar a un caudal de agua máximo de 1 m³/hora.

El filtro sílex dispone de un dispositivo de operación y lavado automáticos, así como un regulador de caudal y manómetros para la lectura de la presión.



Figura III.24. Fotografía del sistema de coagulación/floculación/filtración diseñado e instalado por S.E.T.A.

Procedimiento

Tras la recepción del lixiviado de vertedero, éste se introdujo en un tanque cónico de 200 L de capacidad y se procedió a realizar el tratamiento de C/F según las condiciones óptimas de operación obtenidas a escala de laboratorio en el sistema “jar-test”. A continuación, se fijaron las condiciones de mezcla requeridas (3 minutos de agitación rápida, 30 minutos de agitación lenta y 30 minutos de sedimentación). Transcurrido el tiempo de sedimentación, el sobrenadante se introdujo en el sistema de filtración. El proceso de filtrado consistió en el paso del agua residual por tres filtros consecutivos (un filtro de arena o filtro sílex, un microfiltro de 25 μm y un microfiltro de 5 μm).

III.8. Plantas piloto y a escala de laboratorio para la descontaminación de aguas mediante procesos avanzados de oxidación

III.8.1. Simulador solar

Fundamento teórico y descripción del equipo

El simulador solar ATLAS SUNTEST XLS+ (Atlas) (Figura III.25), se ha empleado en esta Tesis Doctoral para llevar a cabo los experimentos de optimización del proceso de foto-Fenton solar para la degradación de MC orgánicos mediante el uso de sustancias húmicas. Este simulador se encuentra equipado con una lámpara de arco de xenón NXE 1700 (Atlas) de 422 mm de largo y 12 mm de diámetro y un filtro especial de vidrio (Daylight) que corta la radiación UV en 290 nm, simulando la radiación solar de un día normal soleado. El equipo también consta de un sistema de refrigeración para poder controlar la temperatura dentro de la cámara de reacción (a 35°C en los experimentos desarrollados en este trabajo).



Figura III.25. Simulador solar ATLAS XLS+.

Para la realización de estos experimentos, se utilizó un vaso de precipitado de vidrio DURAN® (Schott), el cual se colocó encima de un agitador y se mantuvo en agitación continua. Este vaso de precipitado tiene una altura de 19 cm y un diámetro de 9 cm.

Procedimiento

Todos los experimentos llevados a cabo en el simulador solar se realizaron con 1 L de agua residual. A continuación, se añadió la concentración de sustancias tipo húmicas correspondiente a cada uno de los ensayos. Se evaluaron diferentes condiciones de operación debido a estudios previos realizados (García-Ballesteros y col., 2018; Caram y col., 2018; García-Ballesteros y col., 2017) por el grupo de la Prof. Ana M. Amat de la Universidad Politécnica de Valencia (Campus de Alcoy), ya que estas STH fueron aisladas mediante hidrólisis, ultrafiltración y secado (apartado III.1.3) y cedidas por dicho grupo. Tras 5 minutos de agitación se adicionaron 200 µg/L de cada MC orgánico descrito

en el apartado III.1.4 en oscuridad. Tras otros 5 minutos de agitación, la mezcla fue considerada homogénea (tras comprobar la concentración inicial requerida de cada MC mediante cromatografía líquida). Seguidamente se añadieron 5,5 mg/L de Fe (III) habiendo ajustado previamente el pH en caso necesario. El simulador solar era programado a una radiación constante de 30 W/m^2 y temperatura constante de 35°C . Finalmente, después de otros 5 minutos, se añadió la concentración de H_2O_2 requerida para cada ensayo y se encendió la lámpara, dando comienzo el experimento. Para todos los ensayos, se tomaron muestras cada 5 minutos durante la primera media hora, después cada 15 minutos hasta llegar a una hora de experimento y luego cada 30 minutos hasta llegar a las dos horas de experimento. Durante estos ensayos, se midieron las variables de pH (apartado III.2.7), COD (apartado III.2.2), concentración de hierro total (cuando fue necesario, apartado III.2.4), concentración de H_2O_2 (cuando fue necesario, apartado III.2.5) y la concentración de MC orgánicos (apartado III.2.11).

III.8.2. Planta piloto de ozonización

Fundamento teórico y descripción del equipo

Para realizar los experimentos de ozonización, se usó una planta piloto ANSEROS (Anseros Klaus Nonnenmacher GmbH, Alemania), modificada por INVESQUIA IQD, S.L, diseñada para trabajar en modo discontinuo e instalada en la PSA (Figura III.26).



Figura III.26. Planta piloto de ozonización ubicada en la PSA.

El ozono se produce a partir de aire ambiental mediante un generador de oxígeno (ANSEROS SEP 100). El oxígeno es separado de otros componentes del aire mediante tamices moleculares y entra al generador de ozono (ANSEROS COM-ADO2), en el cual, al aplicar un elevado voltaje (genera un voltaje de 20 kV mediante una frecuencia de 600 Hz) se genera ozono. El enfriamiento del sistema se lleva a cabo por ventiladores mediante un caudal de aire controlado. La entrada de aire al generador de ozono se regula mediante un caudalímetro y el generador de ozono se conecta o desconecta con un interruptor mientras que el porcentaje de generación se regula a partir de un variador.

Se utilizaron dos analizadores UV no dispersivos (Ozomat GM-6000-OEM) capaces de medir altas concentraciones de ozono en fase gaseosa (rango de medida 0,0001-199,9 g O₃/Nm³) para medir la concentración de ozono a la entrada y a la salida del sistema. La producción de ozono está conectada a una columna de reacción con un volumen total de 20 L, permitiendo trabajar con un volumen mínimo de 8 L. En la parte inferior de esta, se encuentra un difusor de entrada de O₃ y un deshumidificador de gas en el punto de muestreo. Las conexiones y válvulas del sistema están fabricadas en polipropileno para el flujo de agua y en PTFE para el circuito de ozono. Para evitar la liberación de ozono a la atmósfera, el sistema además está acoplado a un destructor térmico (300°C) y catalítico de ozono. El equipo dispone de un detector de ozono ambiental (ANSEROS, SEN 6060-S) conectado a una alarma para la vigilancia continua de concentraciones de gas en el ambiente peligrosas para el operador.

El sistema cuenta adicionalmente con una sonda redox, una sonda para la medida de ozono en fase líquida y un sistema regulador de pH compuesto por un sensor y dos bombas capaces de introducir ácido o base dependiendo del control de pH que se desee ejercer en el sistema.

Se midió el gas ozono en la entrada del sistema ($C_{O_3, en}, \frac{g}{Nm^3}$) y a la salida ($C_{O_3, sn}, g/Nm^3$). Teniendo en cuenta el flujo de aire de entrada de 0,1 Nm³/h ($Q_a, Nm^3/h$), el volumen de reacción (V_r), el tiempo de muestreo (t_n) y la concentración de ozono consumido en la muestra anterior ($O_{3cons, n-1}$), el consumo de ozono de cada muestra ($O_{3cons, n}, g/L$) se calculó con la siguiente ecuación:

$$O_{3\ cons, n} \left(\frac{g}{L} \right) = O_{3\ cons, n-1} + \frac{Q_a \cdot (C_{O_3, en} - C_{O_3, sn}) \cdot (t_n - t_{n-1})}{V_r} \quad (\text{Ec. III.13})$$

Procedimiento

Los experimentos de ozonización llevados a cabo en esta Tesis Doctoral se realizaron para estudiar el tratamiento de lixiviados de vertedero después de la etapa de pretratamiento mediante C/F descrita en el apartado III.7.3.

En primer lugar, hay que asegurarse que el sistema está completamente seco, para ello se debe hacer circular una corriente de aire a 100 L/hora durante un período mínimo de 1 hora. Transcurrido este tiempo, se procede al encendido del destructor de ozono. A continuación, se llena la columna con 10 L de lixiviados de vertedero pretratados a pH 12 (ajustado previamente con NaOH) y se enciende la recirculación. Finalmente, se ponen en marcha los analizadores de ozono y finalmente el generador. Dependiendo del experimento que se lleve a cabo, el generador de ozono se ajustó al 20% o 50% de potencia con una producción constante de 1,4 g O₃/h y 3,6 g O₃/h respectivamente. Las muestras se tomaron cada 30 minutos durante los primeros 150 minutos y después cada hora. Inmediatamente, después de tomar la muestra, se burbujea un pequeño flujo de gas inerte (N₂) dentro de la misma muestra para eliminar el ozono residual y detener la reacción, y así proceder a la realización de las correspondientes medidas analíticas.

III.8.3. Planta piloto solar tipo CPC (Captador Parabólico Compuesto) para aplicaciones de foto-Fenton

Los experimentos de fotocatalisis solar mediante foto-Fenton se han llevado a cabo utilizando dos prototipos de Captador Parabólico Compuesto (CPC) (Prototipos denominados CADOX y SOLEX) ubicados en la Plataforma Solar de Almería (latitud 37°N, longitud 2.4 W).

PROTOTIPO CADOX

Descripción de la planta

Este reactor a escala planta piloto ha sido especialmente diseñado para aplicaciones de tratamiento de aguas mediante foto-Fenton solar (Figura III.27). El circuito hidráulico está formado por un tanque de recirculación esférico de vidrio borosilicato, una bomba centrífuga, un módulo de captador tipo CPC con una superficie total irradiada de 4.16 m², tubos de vidrio borosilicato, tuberías opacas de conexión de polietileno de alta densidad y válvulas de polipropileno inerte de 3/4" de diámetro interno. En la tubería de conexión del tanque con el captador se insertaron tres sensores en línea (pH, potencial redox y oxígeno

disuelto), un sistema de calefacción formado por cuatro grupos de resistencias y un sistema de refrigeración externo. El sistema global está conectado a un ordenador que adquiere los datos en línea generados por los sensores y transmite las decisiones de control al cuadro de mando.

La planta piloto tiene un volumen total de 82 L y opera en modo discontinuo. El módulo de captador CPC está montado sobre una estructura metálica inclinada 37° (latitud de la PSA) y orientados hacia el sur. Cada tubo de vidrio borosilicato tiene de 1,5 m de longitud, 46,4 mm de diámetro interno y 50 mm de diámetro externo. El sistema completo, por tanto, consta de 20 tubos conectados en serie mediante conexiones de polipropileno (protegidas de la radiación UV con láminas de aluminio). El sistema CPC presenta un factor de concentración de 1. El reflector utilizado es de aluminio anodizado.



Figura III.27. Fotografía del captador CPC CADOX utilizado para reacciones de foto-Fenton solar.

El fluido de trabajo, en este caso aguas residuales industriales, circula en el sistema a través de los tubos y finaliza en un tanque de recirculación que tiene una capacidad máxima de 20 L. El sistema posee una bomba centrífuga que es la encargada de impulsar el fluido a través del sistema a un caudal que puede ser regulado mediante un caudalímetro insertado en la tubería. En este trabajo, todos los experimentos se llevaron a cabo

utilizando un caudal constante de 25 L/min, proporcionando un flujo turbulento dentro del circuito.

Procedimiento

La planta piloto CADOX fue utilizada en esta Tesis Doctoral para llevar a cabo los experimentos de foto-Fenton solar para el tratamiento de lixiviados de vertedero pretratados mediante C/F como se describe en el apartado III.7.3.

Para ello, los lixiviados, tras el pretratamiento, se introdujeron en el fotorreactor CPC y se homogeneizaron en oscuridad. En el caso que fue necesario, se ajustó previamente el pH a 2,8 con la adición de ácido sulfúrico. Se tomó una muestra para analizar los parámetros de partida (COD, DQO, turbidez, etc.) y a continuación se adicionaron dosis adecuadas de H₂O₂. Se destapó el sistema y comenzó el proceso de foto-Fenton solar. Se tomaron diversas muestras a medida que el peróxido añadido iba consumiéndose. Así, las muestras tomadas no tenían, en ningún caso, una cantidad de peróxido de hidrógeno residual que pudiera interferir negativamente en las medidas analíticas y biológicas posteriores. En este trabajo, la adición de hierro no fue necesaria en ningún caso, debido a que las muestras contenían una cantidad residual de Fe (III) disuelto de 30 mg/L, aproximadamente, debido a la etapa previa de C/F.

PROTOTIPO SOLEX

Descripción de la planta

Este fotorreactor está formado por dos módulos de captadores tipo CPC cuyo reflector está fabricado con aluminio anodizado. Cada uno de los módulos está montado sobre un marco de aluminio y consta de 12 tubos, con una longitud total de cada tubo de 1502 mm, diámetro exterior de 32 mm y espesor de pared de 1,4 mm. La estructura global se encuentra inclinada con un ángulo igual a la latitud local del emplazamiento (37°). Los dos módulos están conectados en serie y el fluido de trabajo circula directamente de uno a otro hasta un tanque de recirculación esférico de vidrio borosilicatado de 10 L de capacidad (véase Figura III.28), además el tanque dispone de una tapa de cristal que permite introducir algunos elementos durante un ensayo tales como reactivos, gas (aire, oxígeno, gas inerte, etc.), electrodos de pH o de oxígeno disuelto. Esta planta piloto tiene un volumen total de 40 L siendo el área total irradiada de 3,08 m² y el volumen total irradiado de 22 L. Una bomba centrífuga (PAN WORLD, Modelo: NH-100 PX, 100 W)

devuelve el fluido a los captadores a un caudal constante de 20 L/min, siguiendo un modo de operación discontinuo. Por otro lado, en la tubería de entrada al tanque de recirculación se encuentra insertado un termopar en línea (PT-100, Philips, Digital-280), que indica la temperatura en cada instante en el interior del fotorreactor.

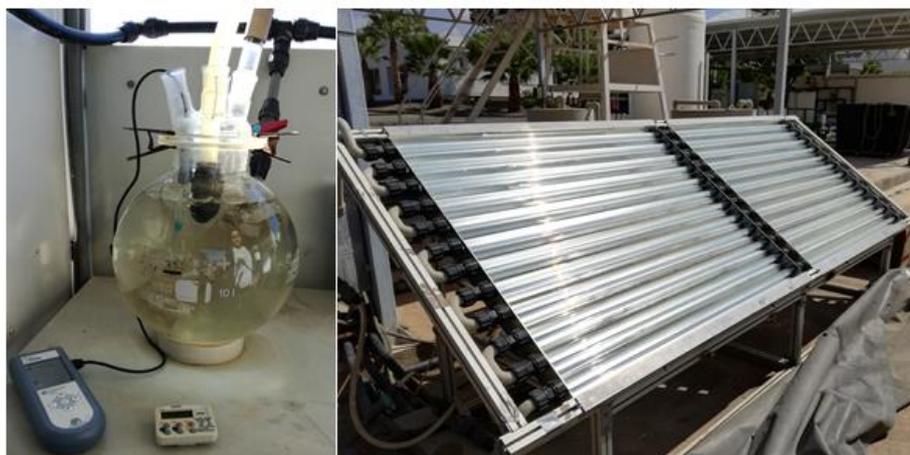


Figura III.28. Fotorreactor CPC SOLEX instalado en la PSA.

Procedimiento

Este reactor ha sido utilizado en esta Tesis Doctoral para llevar a cabo los experimentos de foto-Fenton solar con objeto de eliminar los MC contenidos en aguas de salida de EDAR mediante el uso de alpechín y de sustancias húmicas como agentes complejantes del hierro. Para ello, 39 L de las diferentes aguas a tratar se introdujeron en este fotorreactor y se homogeneizaron en oscuridad con la dosis de alpechín seleccionada o con la concentración de sustancias húmicas escogida. Es necesario señalar que la composición de alpechín cambia continuamente ya que depende de la calidad de la aceituna y de las condiciones operativas del molino. Por lo tanto, el contenido de polifenoles fue el parámetro clave para seleccionar las dosis de alpechín. Una vez pasados 5 minutos en recirculación, se adicionaron 200 $\mu\text{g/L}$ de cada MC descrito en el apartado III.1.4. Tras otros 5 minutos de recirculación, se añadieron 5,5 mg/L de Fe (III) y en el caso que fuera necesario, se ajustó el pH con la adición de H_2SO_4 . Finalmente, después de otros 5 minutos de recirculación, se añadió la concentración de peróxido de hidrógeno deseada para cada ensayo y se destapó el reactor CPC, de forma que en ese momento comenzaba el experimento. Se tomaron muestras cada 5 minutos la primera media hora, luego cada 15 minutos hasta la primera hora y luego cada 30 minutos hasta las 4 horas de

experimentación. Durante estos ensayos, se midieron las variables de pH (apartado III.2.7), COD (apartado III.2.2), concentración de hierro (cuando fue necesario, apartado III.2.4), concentración de H₂O₂ (cuando fue necesario, apartado III.2.5) y la concentración de MC orgánicos (apartado III.2.11).

III.9. Medida de la radiación ultravioleta

Fundamento teórico y descripción del equipo

La radiación solar global recibida en la superficie terrestre se puede dividir en la suma de dos componentes, directa y difusa. La radiación directa es la que no sufre interacciones al atravesar la masa atmosférica. La radiación difusa es la que llega al nivel del suelo con una dirección distinta a la de la directa, debido a los procesos de absorción y dispersión de luz que tienen lugar a su paso por la atmósfera.

De toda la radiación que incide sobre la superficie terrestre, la densidad superficial de energía radiante está formada por un 7,8% de ultravioleta, un 47,3% de visible y un 44,9% de infrarroja. Por lo tanto, la energía procedente del espectro solar empleada en los procesos fotocatalíticos solares es muy pequeña comparada con la total.

Dependiendo del emplazamiento, la radiación UV sufre variaciones en su intensidad por posibles alteraciones de los agentes atmosféricos que la atenúan, así como por las condiciones meteorológicas siempre cambiantes. Sin embargo, el estudio de todos los parámetros de transmisividad de los distintos fenómenos atenuadores de la radiación apunta que la presencia de nubes es el factor predominante en la región UV (Blanco, 2002). Las nubes producen, por tanto, una gran disminución de la cantidad de fotones UV que alcanzan la superficie terrestre, aunque su distribución espectral no se ve alterada, siempre que no se presenten efectos de contaminación local.

El estudio del rendimiento de los procesos de fotocatalisis solar se puede realizar mediante el análisis de la degradación del compuesto que se desea eliminar del agua en función del tiempo transcurrido y la radiación incidente sobre el reactor. El tiempo experimental no es una buena variable para el cálculo de la eficiencia y velocidades cinéticas de los procesos fotocatalíticos, ya que no tiene en cuenta que las condiciones de radiación incidente varían completamente de un día para otro y que todos los elementos del reactor no se encuentran expuestos a la misma cantidad de radiación. Sin embargo,

existe la posibilidad de tener en cuenta la radiación total (directa y difusa) que incide sobre el reactor desde cualquier dirección a lo largo de cada experimento. Se trata de una aproximación que integra la densidad de energía radiante del espectro solar útil para la fotocatalisis solar (Malato y col., 2000).

El equipo utilizado en este trabajo para la medida de la radiación UV global es el radiómetro KIPP&ZONEN, modelo CUV4 (Figura III.29), con una sensibilidad de $335 \mu\text{V}/\text{W}\cdot\text{m}^2$ que se encuentra montado en una plataforma inclinada el mismo ángulo que los captadores tipo CPC (37°). Este radiómetro proporciona datos en términos de radiación incidente, W_{UV}/m^2 , para longitudes de onda inferiores a 400 nm. Esta medida de energía media incidente por unidad de superficie es una aproximación válida cuando los tiempos empleados en los experimentos son suficientemente largos en comparación con los que se producen en las fluctuaciones de radiación. Los datos recogidos se almacenan de forma automática en una base de datos.



Figura III.29. Radiómetro de UV KIPP&ZONEN, modelo CUV4.

Procedimiento

La radiación solar incidente sobre el fotorreactor se incluye en los cálculos cinéticos de los experimentos de degradación mediante una aproximación matemática que permite comparar y combinar experimentos llevados a cabo en diferentes días con diferentes condiciones meteorológicas (presencia de nubes).

Para ello, se usa una relación entre el tiempo experimental (t), el volumen de la planta (V_T), la superficie de los captadores iluminada (A_i) y la densidad de la radiación

($U_{VG}=W_{UV}/m^2$) medida por el radiómetro. Como los datos de radiación son recogidos continuamente, se puede calcular el promedio de la radiación incidente sobre la superficie del colector ($\underline{UV}_{G,n}$) para cada período de tiempo (Δt), y además calcular la energía acumulada en ese período. Consecuentemente, la cantidad de energía recogida por los captadores (por unidad de volumen) desde el comienzo del experimento hasta que cada muestra es tomada puede ser expresada mediante la siguiente ecuación (Ecuación III.14):

$$Q_{UV,n+1} = Q_{UV} + \Delta t_n \cdot \underline{UV}_{G,n+1} \cdot \frac{A_i}{V_T}; \quad \Delta t_n = t_{n+1} - t_n \quad (\text{Ec. III.14})$$

Donde t_n es el tiempo experimental de cada muestra y $Q_{UV,n+1}$ es la energía acumulada (por unidad de volumen, kJ/L) en el reactor para cada muestra tomada durante el experimento.

III.10. Reactor biológico aerobio de lecho fluidizado (RLF) a escala planta piloto

Descripción del biorreactor

Los biorreactores de lecho fluidizado (RLF) o de biopelícula permiten el crecimiento de una capa bacteriana en la superficie de un soporte (normalmente material plástico de elevada superficie específica). Al hacerlo así, la capa microbiana transforma la carga orgánica biodegradable de las aguas residuales en biomasa y subproductos. En este tipo de reactores biológicos, el crecimiento de la biopelícula en el soporte hace que las capas más internas entren en anoxia haciendo que se desprenda parte de la misma de forma automática. A su vez, esta biomasa desprendida, sirve como alimento a los fangos activos adheridos a los soportes, y se recirculan al reactor o se depositan en su fondo.

La experimentación desarrollada en esta Tesis Doctoral, correspondiente al tratamiento biológico aerobio de los lixiviados de vertedero parcialmente oxidados, en modo discontinuo y continuo, se ha llevado a cabo en un sistema biológico de lecho fluidizado a escala de planta piloto instalado en la PSA. Este sistema (Figura III.30) está compuesto por un tanque de acondicionamiento de 200 L de volumen total fabricado en polipropileno y de fondo cónico, un tanque de recirculación de 20 L de volumen total fabricado en polipropileno y de fondo cónico y un reactor de lecho fluidizado formado por tres módulos en serie de 20 L de volumen cada uno, fabricados en metacrilato transparente.

Por último, se dispone de un tanque final de decantación de 40 L de volumen total fabricado en polipropileno y de fondo cónico.

El biorreactor puede operar en modo discontinuo o continuo. La operación en continuo se lleva a cabo mediante una bomba peristáltica WATSON-MARLOW que alimenta agua residual al RLF. El caudal de salida de lixiviados ya tratados se produce por rebose de la columna que contiene los soportes en el momento en el que se alcanza el estado estacionario. La calibración de dicha bomba se muestra en la Figura III.31.

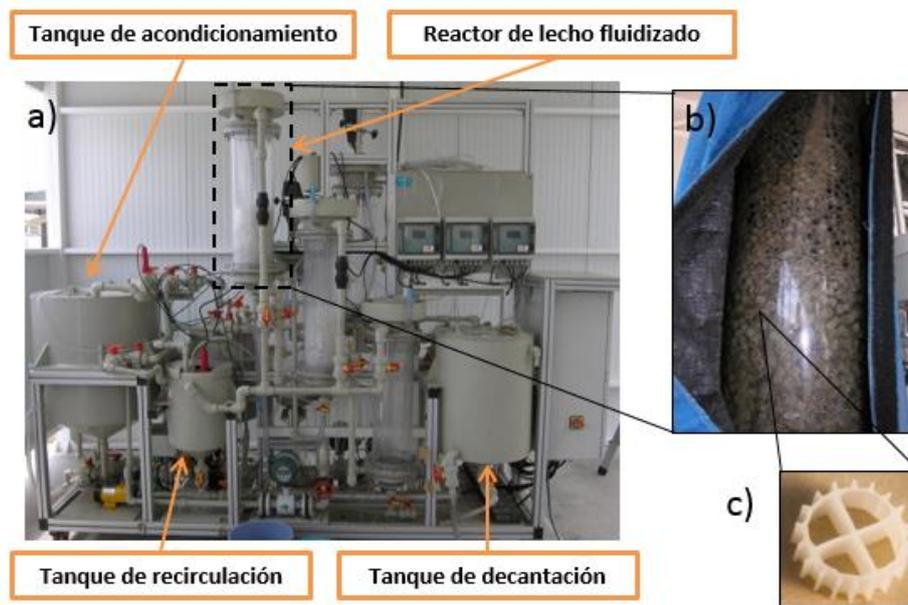


Figura III.30. a) Sistema biológico en RLF instalado en la PSA. b) Fotografía de la biomasa fijada en los soportes K1. c) Fotografía de un soporte K1.

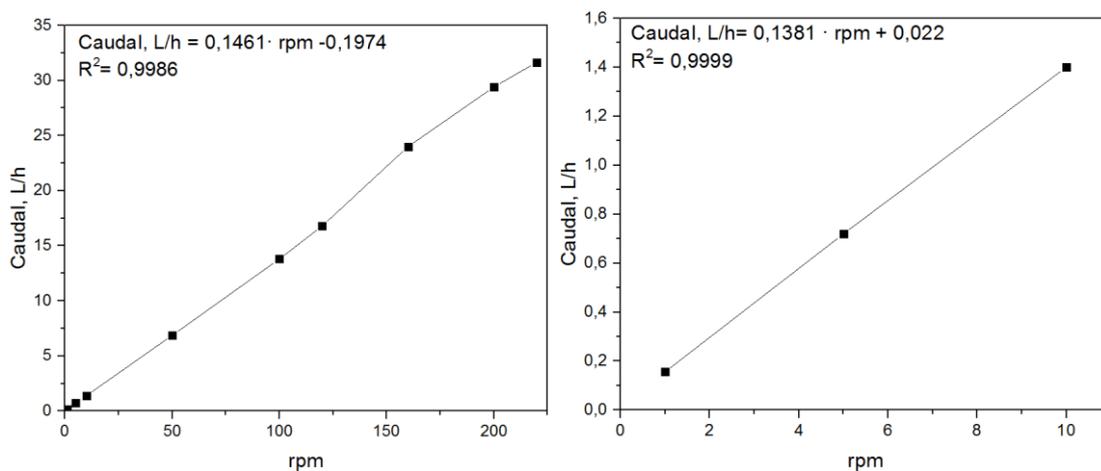


Figura III.31. Calibración del caudal que proporciona la bomba peristáltica en función de las revoluciones por minuto aplicadas.

Las medidas y control del pH y el OD (oxígeno disuelto) se llevan a cabo en el tanque de recirculación, mediante la inserción de dos sondas CRISON (pH 5331 y OD 6050). El oxígeno disuelto, el pH y la temperatura se midieron y registraron automáticamente. El suministro de aire al biorreactor se llevó a cabo mediante un mini compresor PICOLINO VTE (GIÑO-ROTAMIK, caudal de 3,5 a 12 m³/h) a través de varios difusores de porcelana en el fondo del RLF. Durante todos los ensayos, se ha demostrado que el oxígeno disuelto se encuentra en valores siempre superiores a 2 mg/L.

Procedimiento

La puesta en marcha del RLF utilizado en esta Tesis Doctoral sigue una serie de etapas encaminadas a garantizar la óptima actividad de la biomasa fijada sobre los soportes.

En primer lugar, el RLF se rellenó en un 90% de su volumen con soportes K1 (Figura III.30) (AnoxKaldnes) (Diámetro: 9,1 mm; Área superficial para el crecimiento de biopelícula: aprox. 500 m²/m³; Densidad 0,95 kg/dm³). A continuación, el reactor fue inoculado con fangos activos procedentes del tratamiento secundario de la EDAR de “El Toyo” (Almería). Después, el RLF se rellenó con las aguas residuales procedentes de la corriente de entrada a la EDAR tras el tratamiento primario. De esta forma, se hace posible asegurar unas condiciones óptimas para el crecimiento y fijado de la biomasa sobre los soportes K1. La recirculación se mantuvo durante unos 2 días, y no se añadió al sistema ninguna fuente adicional de carbono, únicamente se aseguró un pH entre 6,5 y 7,5 en todo momento, así como una correcta aireación, que mantuviera la concentración de oxígeno disuelto siempre por encima de 2 mg/L. De esta manera, y mediante la medida de los STS, se considera la completa adsorción de la biomasa sobre los soportes K1 cuando dicho valor se encuentra por debajo del límite de detección.

Una vez formada la biopelícula, se sustituyó el volumen del tanque de recirculación, sin vaciar el volumen del RLF, por una cantidad de agua de entrada al tratamiento secundario de la EDAR equivalente a la DQO (o COD) del licor mezcla con el que se inoculó el reactor inicialmente, de esta forma se favorece el crecimiento de la biomasa fijada en los soportes. En caso de que fuera necesario, se puede realizar una segunda inoculación del RLF con fangos activos de la EDAR. Con esto se conseguiría una mayor concentración específica de biomasa, y un lecho fijo muy poblado en corto espacio de tiempo.

Una vez alcanzada la completa fijación de la biomasa en los soportes y, en consecuencia, que el agua de recirculación tomara valores de turbidez inferiores a 10, se vació todo el sistema (tanque de recirculación y RLF) muy despacio para que no se produjeran desprendimientos de la biomasa fijada en los soportes y se rellenó con agua de entrada al tratamiento secundario de la EDAR (modo de operación en discontinuo). Se tomaron varias muestras cada día para monitorizar el estado del reactor mediante la medida del COD, la DQO, pH, concentración de cationes y aniones, etc. Cuando la medida de COD llegó a alcanzar un mínimo de unos 14 mg/L se fue repitiendo el proceso de vaciado y llenado del sistema.

Operación en modo discontinuo

Después de la puesta a punto del RLF se llevó a cabo la alimentación del mismo con lotes de 38 L de agua a tratar. En primer lugar, se ajustó el pH del lixiviado de vertedero pretratado mediante C/F y foto-Fenton solar a 7 y se introdujo en el biorreactor manteniendo un flujo de recirculación constante (150 L/h) hasta lograr su completa depuración y, por tanto, un valor de COD mínimo y estable en torno a 70 mg/L. La primera fase del tratamiento consistió en la adaptación de los fangos de EDAR al lixiviado de vertedero parcialmente oxidado, para ello, se mezclaron pequeños y crecientes volúmenes del mismo con el agua residual de entrada al secundario de la misma EDAR. La operación en discontinuo del RLF se mantuvo hasta alcanzar el estado estacionario, y por tanto una cantidad máxima de lixiviado de vertedero pretratado que podía ser depurado a la vez que los procesos de nitrificación (eliminación de amonio) y quizás denitrificación (dependiendo de las partes anóxicas que se pudieran crear a lo largo del lecho fluidizado) se daban de forma correcta. De esta forma se obtuvo la capacidad máxima de tratamiento del lixiviado de vertedero pretratado para un tiempo de residencia determinado.

Operación en modo continuo

La operación del RLF en modo continuo se llevó a cabo una vez alcanzado el estado estacionario en el sistema operado en modo discontinuo y manteniendo el caudal de alimentación siempre igual al caudal de salida usando una bomba peristáltica de doble cabezal (descrita anteriormente). Esta bomba toma agua del tanque de alimentación y la

vierte en el tanque de recirculación, a la vez que toma agua tratada de la salida del lecho fijo y la vierte en el tanque de agua tratada.

El bombeo de la mezcla de agua de entrada de la EDAR y lixiviado de vertedero pretratado para operar de forma continua y teniendo en cuenta la capacidad máxima de tratamiento encontrada durante la fase de operación en discontinuo, se realizó desde el tanque de alimentación. En estas primeras etapas se seleccionó un caudal bajo y conservativo para evitar una sobrecarga en el sistema biológico. El tanque de alimentación se fue rellenando de forma regular con nueva mezcla de lixiviado de vertedero y agua residual de entrada al secundario de la EDAR.

El caudal de alimentación y de salida en continuo era incrementado una vez sustituido al menos dos veces el volumen total del sistema, siempre y cuando los parámetros a controlar: COD, NT, iones y pH, permanecían estables, logrando mantener e incrementar la capacidad de tratamiento del sistema (eliminación de COD y de NT, respectivamente). Se fue variando el caudal de alimentación en continuo hasta lograr determinar la máxima capacidad de tratamiento del sistema biológico operando en modo continuo.

III.11. Destilación por membranas de contacto directo (DCMD)

Una de las características de muchos lixiviados de vertedero, principalmente de los que proceden de vertedero de elevada edad, es la descompensación que presentan entre el COD y el contenido en nitrógeno, de forma que, tras un tratamiento biológico, el contenido en amonio del efluente tratado puede llegar a ser muy elevado. En estos casos, resulta interesante plantear la recuperación de este nutriente, con objeto de reutilizar el agua tratada para riego de cultivos, en lugar de combinar con sistemas biológicos anaerobios para terminar de eliminar todo el nitrógeno.

Con objeto de llevar a cabo la recuperación del amonio generado al final de la línea de tratamiento propuesta para la regeneración de lixiviados de vertedero, se propone el uso de la destilación por membranas (MD, siglas en inglés), la cual está en pleno estudio para la recuperación de nutrientes. Su empleo se debe a i) su bajo consumo de energía, ii) al rechazo teórico del 100% de los iones inorgánicos, macromoléculas y otros compuestos no volátiles, iii) a las temperaturas de operación relativamente bajas, iv) a las presiones

operativas más bajas que en los procesos convencionales de separación por membrana impulsada por presión, v) a la buena calidad del permeado, que es prácticamente independiente de la concentración de la alimentación, y vi) a las menores exigencias en cuanto a las propiedades mecánicas de la membrana (Khayet, 2011). La MD es una tecnología de separación térmica basada en la evaporación a través de una membrana hidrófoba microporosa, sólo las moléculas de vapor pueden pasar a través de ella. La alimentación a tratar está en contacto directo con una de las superficies de la membrana, la cual no penetra debido a su hidrofobicidad. Por tanto, se crea un gradiente de presión de vapor a ambos lados de la membrana, siendo este gradiente la fuerza impulsora para que el vapor fluya a través de los poros de la membrana y sea recogido o condensando por diferentes métodos (Wang y col., 2015). Este gradiente de presión es debido normalmente a una diferencia de temperatura.

Dependiendo de estos métodos, hay varias configuraciones conocidas de MD en las cuales la alimentación (solución caliente) está en contacto directo con la superficie del lado caliente de la membrana y, por lo tanto, la evaporación se lleva a cabo en este lado de la membrana. Estas son (se nombran en inglés debido a que raramente se citan en español): a) *Air Gap Membrane Distillation* (AGMD), en la que se interpone un espacio de aire estancado entre la membrana y una superficie de condensación (generalmente un polímero de alta densidad o una lámina metálica); b) *Permeate Gap Membrane Distillation* (PGMD), la cual es una modificación de la configuración anterior en la que el canal está lleno de permeado, debido a que la salida de éste se localiza en la parte superior del módulo; c) *Sweeping Gas Membrane Distillation* (SGMD), en la que se utiliza un gas inerte frío de extracción como transportador de las moléculas de vapor de la superficie de la membrana en el lado del permeado; d) *Vacuum Membrane Distillation* (VMD), en la que una bomba crea un vacío en el lado del permeado de la membrana y la condensación del vapor generado puede ocurrir o no fuera del módulo; y, por último, e) *Direct Contact Membrane Distillation* (DCMD). En esta última configuración, existe contacto directo entre la superficie del lado del permeado de la membrana y la solución acuosa, a temperatura menor que la solución del lado de la evaporación. Esta diferencia de temperatura provoca la diferencia de presión de vapor que hace que las moléculas volátiles evaporadas en la interfase líquido/vapor sean transportadas a través de los poros de la membrana y condensen en la interfase líquido frío/vapor del lado del permeado. El componente permeado se condensa directamente en el líquido refrigerante que fluye a

través del módulo en el lado del permeado. Esta configuración reporta mayor selectividad, la resistencia a la transferencia es baja, por lo que se produce un flujo alto de permeado, y es la más popular en investigación a escala de laboratorio. Además, esta tecnología tiene un gran potencial para el reciclaje y la reutilización de aguas residuales con niveles relativamente bajos de compuestos orgánicos volátiles y amoníaco.

Por todo ello, y para el estudio de la recuperación del amonio generado anteriormente expuesto, se llevó a cabo la optimización de la DCMD mediante un diseño experimental factorial general completo de dos niveles (Minitab® 18), en las instalaciones del Laboratorio de Ingeniería de Separación y Reacción - Laboratorio de Catálisis y Materiales (LSRE-LCM) de la Facultad de Ingeniería en la Universidad de Oporto (Portugal), durante la estancia de investigación realizada en esta Tesis Doctoral. Las condiciones de operación se optimizaron estudiando los efectos de la concentración de amonio en la alimentación, el pH y temperatura de la misma, así como la concentración de la solución receptora de ácido sulfúrico, en el factor de recuperación de amonio en la corriente de permeado. La solución de sulfúrico concentrado receptora en el lado de permeado favorece la formación de sulfato de amonio (en la fase líquida) como producto final de la recuperación de amoníaco (que atraviesa la membrana en fase gaseosa).

Además, las condiciones de operación óptimas obtenidas para la aplicación de la DCMD se usaron para estudiar la influencia de la concentración de nitratos (componente representativo de las aguas residuales) en la recuperación de amonio. Por último, se determinó el factor de recuperación de amonio al tratar el efluente real de una planta de tratamiento de aguas residuales municipal ubicada en Oporto (Portugal) y al que se le añadió una cantidad similar de amonio a la que experimentalmente se observó que se acumuló en el efluente del RLF tras el tratamiento del lixiviado de vertedero.

Fundamento teórico y descripción del sistema a escala de laboratorio

La recuperación de amonio se investigó mediante el uso de la destilación por membranas de contacto directo (DCMD) en un sistema a escala de laboratorio descrito en Silva y col., 2018 (Figura III.32).



Figura III.32. Sistema de destilación por membranas de contacto directo (DCMD) disponible en el laboratorio LSRE-LCM de Oporto, Portugal.

El módulo de membrana se muestra en la Figura III.33. La dirección de las corrientes de entrada que ingresan al módulo LH-Cell fue paralela a la membrana y se operó en flujo cruzado. El área efectiva de la membrana es de 24 cm^2 . El aumento de peso del lado del permeado se midió con una balanza digital (WLC2/A2, Radwag) y la pérdida de volumen del lado de alimentación con una probeta de 1 L. La conductividad iónica se monitorizó en las dos corrientes utilizando medidores de conductividad en línea (VWR mod. 310). Las temperaturas en la entrada de alimentación y la salida de alimentación se controlaron con termopares.

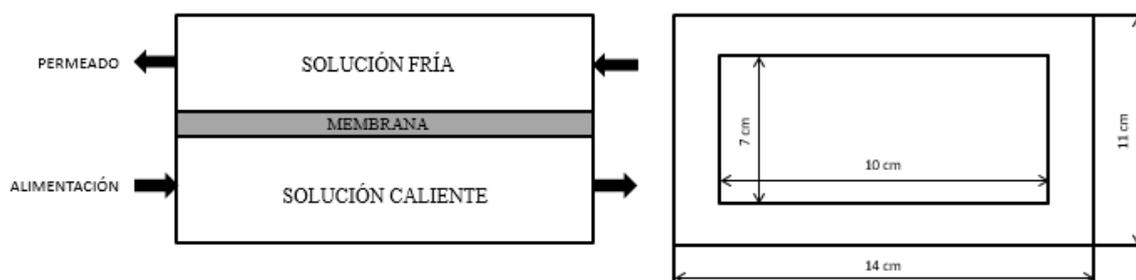


Figura III.33. Módulo de membrana, LH-Cell.

Los experimentos se realizaron utilizando una membrana de PTFE hidrofóbica microporosa comercial de Millipore (FGLP Fluoropore®) con 0,22 µm de tamaño de poro.

Procedimiento

Los parámetros optimizados mediante el diseño experimental propuesto fueron: i) la temperatura, que se mantuvo a 20°C en el lado del permeado y se estudió a 40 y 80°C en el lado de la alimentación concentrado; ii) el pH entre 7 y 12 de la alimentación y iii) la concentración de amonio en la alimentación, a 100 mg/L y 400 mg/L, teniendo en cuenta que los lixiviados de vertedero a la salida del tratamiento biológico en el RLF presentaban una concentración de amonio aproximada de 200 mg/L. Finalmente, en el lado del permeado, se utilizó una solución de ácido sulfúrico a temperatura ambiente, variando su concentración de 0,01 mol/L a 0,5 mol/L. El NH₃ (gas) que se obtiene de la evaporación del amonio, se difunde a través de la membrana hidrófoba y reacciona con la solución receptora para producir sulfato de amonio.

Los experimentos se realizaron con 1 L de agua simulada de salida del tratamiento secundario de EDAR, enriquecida con amonio en forma de NH₄Cl. La solución de alimentación con amonio (concentrado) y el permeado se bombearon a 300 mL/min. Dependiendo del experimento, el pH de la solución de alimentación se ajustó inicialmente agregando H₂SO₄ o NaOH. Cuando el pH fue 12, fue necesario dejar la agitación al menos 8 horas para la conversión completa de amonio en amoníaco y comenzar siempre desde aproximadamente la misma concentración de amonio. Antes del comienzo de cada experimento, se agregaron 300 mL de solución de H₂SO₄ al recipiente de recepción de permeado. Las muestras de permeado se recogieron cada 10 minutos durante 2 horas. La determinación de la concentración de amonio y demás iones se llevó a cabo mediante cromatografía iónica (apartado III.2.1) utilizando filtros de membrana de 0,45 µm impulsados por jeringa (PTFE) para la eliminación de partículas. Al final de cada estudio, se midió el volumen final de permeado y concentrado.

El coeficiente de rechazo de soluto (R) se determinó mediante la ecuación III.15:

$$R (\%) = 1 - \frac{C_p}{C_f} \cdot 100 \quad (\text{Ec. III.15})$$

Donde C_p y C_f son las concentraciones del ion objetivo en las soluciones de permeado y alimentación, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1. Reutilización de aguas residuales industriales. Tratamiento y valorización de lixiviados de vertedero

El objetivo general de esta Tesis Doctoral es el tratamiento de aguas residuales industriales y/o no biodegradables para su regeneración, reutilización y valorización mediante recuperación de nutrientes. Para ello, se contempla como objetivo específico la propuesta y desarrollo de una estrategia de tratamiento para lixiviados de vertedero, tomados como ejemplo de aguas residuales industriales y complejas. En este sentido se propone una línea de tratamiento en varias etapas que combina: i) una fase de pre-tratamiento físico-químico mediante coagulación/floculación para reducir, no solo los sólidos en suspensión, sino también el color, la turbidez y una pequeña parte de la materia orgánica; ii) una etapa de oxidación química mediante PAO (ozonización o foto-Fenton solar) con el objetivo principal de reducir la toxicidad y mejorar la biodegradabilidad del lixiviado pre-tratado; iii) un sistema biológico de depuración en condiciones aerobias mediante un reactor de lecho fluidizado basado en biomasa inmovilizada, y por último, iv) una etapa de destilación por membranas para la recuperación del amonio generado durante la oxidación biológica para su posterior uso como nutriente en el riego de cultivos.

IV.1.1. Optimización de la etapa de pre-tratamiento físico-químico de lixiviados de vertedero

El objetivo del tratamiento físico-químico previo, como ya se comentó en el apartado I.6.2, es reducir los sólidos en suspensión, el color y la turbidez, todo ello acompañado normalmente de una pequeña reducción en la concentración de materia orgánica, para así favorecer la eficiencia del tratamiento de oxidación fotoquímica posterior. En este caso, el tratamiento físico-químico llevado a cabo fue un proceso de C/F, el cual, en primer lugar, se optimizó en un sistema a escala de laboratorio denominado “jar-test” (descrito en el apartado III.7.2), para posteriormente llevarlo a escala planta piloto (descrita en el apartado III.7.3).

La optimización de esta etapa se llevó a cabo con un lote de lixiviados de vertedero (Tabla III.4) que presentaba una turbidez de 420 NTU, y para ello se seleccionaron diversos floculantes y coagulantes comerciales (ver Tabla III.11), así como dos coagulantes comúnmente conocidos y usados para el pre-tratamiento de aguas residuales industriales, FeCl_3 anhidro y $\text{Ca}(\text{OH})_2$, a pH 5 (Amor y col., 2015b) y pH natural. El efecto de la reducción del pH a 5 se estudió por estar previamente reportada en publicaciones que estudiaron otro tipo de aguas residuales industriales y, además, por ser un pH más cercano al óptimo para el siguiente tratamiento de oxidación química. Las concentraciones de coagulantes/floculantes ensayadas fueron 0,5 g/L y 1 g/L (Ponce-Robles y col., 2016).

Por un lado, se probaron a escala de laboratorio los tres floculantes comerciales: QUIFLOC AC/9800P, QUIFLOC AC-6010 y QUIFLOC 2030/W, de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el apartado III.7.2, agregando las diferentes dosis que se han mencionado anteriormente. En este caso, el pH del lixiviado de vertedero bruto se ajustó a 5, sin observarse cambios significativos respecto a la formación de precipitados y reducción de turbidez. Sin embargo, tras la adición de 1 g/L de cada uno de estos floculantes, se logró una reducción de turbidez del 25%, siendo ésta del 50% al añadir 0,5 g/L. Respecto al COD y la DQO, ambos aumentaron alrededor del 10% y el 15%, respectivamente.

Posteriormente, se testaron tres coagulantes comerciales (ECOTAN BIO, QUIFLOC NT-520 y QUIFLOC 225-K), FeCl_3 y $\text{Ca}(\text{OH})_2$ a pH natural y pH 5 a las mismas concentraciones de 0,5 y 1 g/L (Figura IV.1 a y b). A pH natural (Figura IV.1a), solo se logró una eliminación del 25% de DQO con 0,5 g/L de $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Con 1 g/l de $\text{Ca}(\text{OH})_2$,

la eliminación de la DQO fue insignificante y para el resto de coagulantes, se observó, incluso, un aumento de este parámetro. Especialmente, con 1 g/L de QUIFLOC NT-520, la DQO aumentó de 9446 mg/L a 26081 mg/L, lo que demuestra una importante disolución de la materia orgánica que pudiera encontrarse particulada. Con respecto al COD, se observó un aumento de éste para todas las concentraciones y coagulantes ensayados, excepto con 1 g/L de FeCl_3 y $\text{Ca}(\text{OH})_2$, aunque dicha reducción de COD fue insignificante. Por otro lado, se mostraron disminuciones en el rango del 31 al 36% en la turbidez para $\text{Ca}(\text{OH})_2$ a 0,5 g/L y ECOTAN BIO y QUIFLOC NT-520 en ambas concentraciones ensayadas. No llegó a observarse ninguna mejora en la reducción de turbidez para el resto de concentraciones y coagulantes probados, en alguno de ellos incluso aumentó. La mayor disminución de turbidez, que fue del 45%, se logró cuando se adicionó FeCl_3 tanto a 0,5 como a 1 g/L (ver Figura IV.1a).

Para el caso en el que el pH se ajustó a 5 (Figura IV.1b), cabe destacar que los coagulantes comerciales no tuvieron efecto sobre el COD. Sin embargo, se apreció una mejora en el porcentaje de eliminación de COD (20-26%), cuando se evaluaron 0,5 y 1 g/L de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, encontrándose la mayor eliminación de COD (40%) cuando se ensayaron ambas concentraciones de FeCl_3 . Con respecto a la DQO, el $\text{Ca}(\text{OH})_2$, a 0,5 g/L, y los coagulantes comerciales, a ambas concentraciones, revelaron una capacidad de eliminación de DQO insignificante. La adición de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y FeCl_3 a 1 g/L produjo un aumento en la DQO, siendo bastante significativa con este último. Sin embargo, 0,5 g/L de FeCl_3 permitió alcanzar la eliminación de DQO más alta, que fue del 33%. A partir de los datos de la Figura IV.1b, el mejor resultado en la disminución de la turbidez (80%) se observó también con 0,5 g/L de FeCl_3 . La disminución de la turbidez fue alrededor del 15-25% para ECOTAN BIO y QUIFLOC NT-520 en ambas concentraciones y para 0,5 g/L de $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Finalmente, se obtuvo un gran aumento de la turbidez cuando se utilizaron 1 g/L de FeCl_3 y $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y ambas concentraciones de QUIFLOC 225-K.

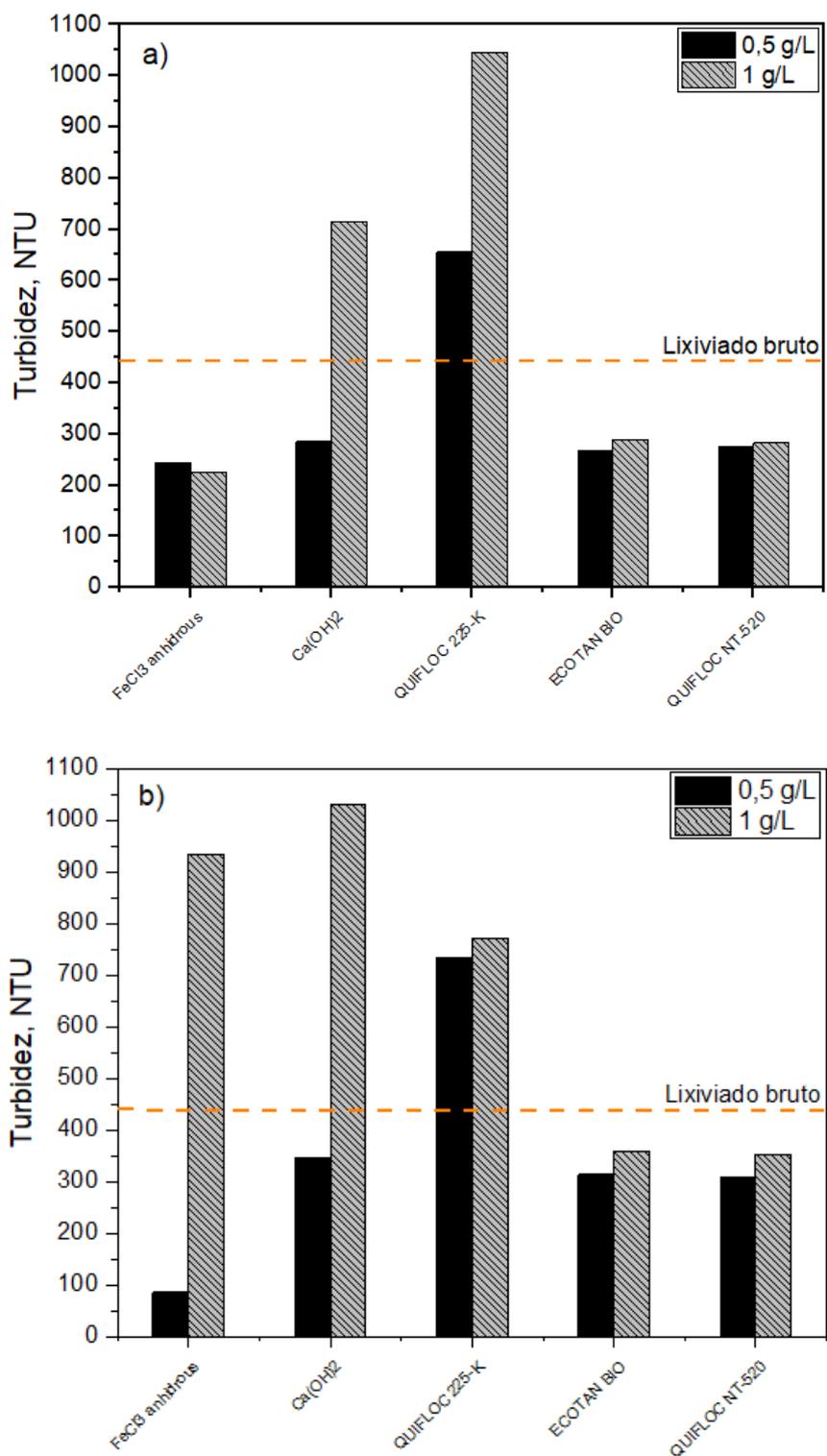


Figura IV.1. Turbidez de los lixiviados de vertedero tras la etapa de C/F con el uso de diferentes coagulantes comerciales, FeCl₃ y Ca(OH)₂ a 0,5 g/L y 1 g/L: a) pH natural de las aguas residuales; b) pH 5.

A continuación, se llevó a cabo la combinación entre los coagulantes testeados y los floculantes comerciales disponibles, a pH 5 y con 1 g/L de cada uno de ellos, con el objetivo de mejorar la eficiencia del pre-tratamiento respecto a los diferentes parámetros (Figura IV.2). No se obtuvo ninguna mejora en términos de reducción de DQO, COD y turbidez al combinar ECOTAN BIO, QUIFLOC NT-520, QUIFLOC 225-K y $\text{Ca}(\text{OH})_2$ con ninguno de los floculantes comerciales. Es más, se produjo un aumento considerable de la turbidez al combinar $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y QUIFLOC 225-K con los 3 floculantes. Solo FeCl_3 con los 3 floculantes comerciales mostró resultados eficientes. Se obtuvo una disminución importante en la turbidez (65-96%), una eliminación de COD en el rango de 33-36% y una eliminación de DQO del 40%, aproximadamente. Sin embargo, se concluyó que el uso de floculantes no mejoraba de forma significativa los resultados previamente obtenidos con 0,5 g/L de FeCl_3 , el cual, por sí sólo, obtuvo prácticamente los mismos resultados que con 1 g/L de FeCl_3 combinado con 1 g/L de cada floculante.

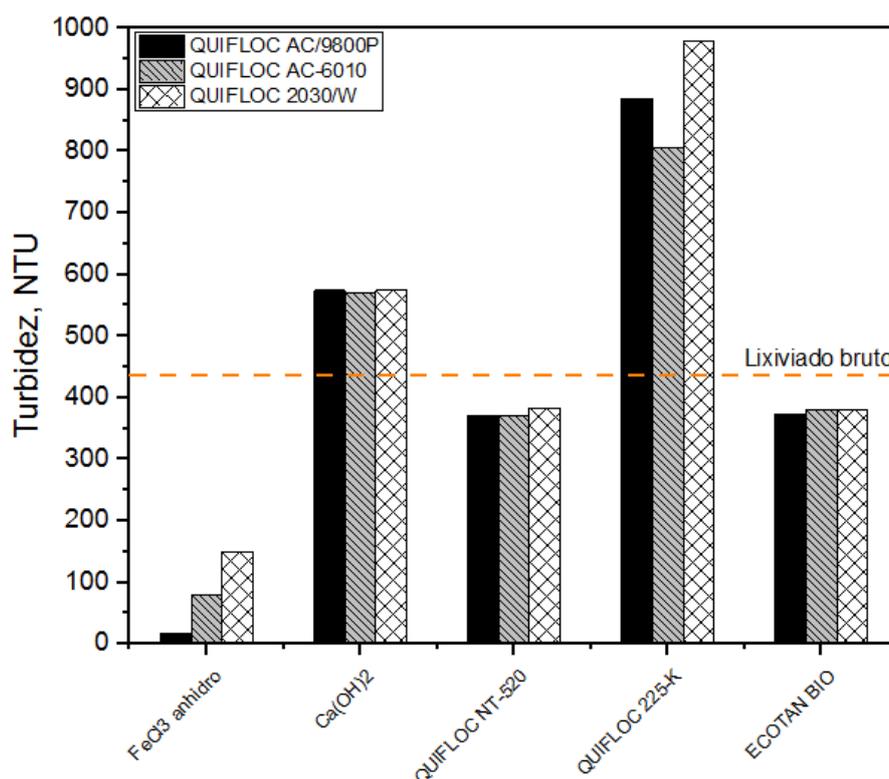


Figura IV.2. Turbidez de los lixiviados de vertedero tras la combinación de 1 g/L de coagulante con 1 g/L de floculante a pH 5.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos a escala de laboratorio, se seleccionó el uso de 0,5 g/L de FeCl_3 anhidro a pH 5 como mejor agente coagulante debido al compromiso entre la utilización de la menor cantidad de reactivos posible y la eficiencia en la eliminación de DQO y COD y disminución de turbidez y color, favoreciendo así, a su vez, la penetración de la radiación solar en una siguiente etapa de oxidación avanzada basada en foto-Fenton solar. Por otro lado, otra de las ventajas en el uso de FeCl_3 , es la permanencia de una concentración residual de Fe (III) en disolución, evitando la necesidad de agregar este reactivo para la etapa posterior de foto-Fenton. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la eficiencia del tratamiento mediante ozonización podría verse afectada por la presencia de dicha concentración elevada de Fe (III) residual, debido a la posible formación de complejos hierro-orgánicos muy estables que no podrían ser oxidados mediante ozono (Karlsson y Persson, 2012; De Torres-Socias y col., 2013).

Finalmente, y previamente a la aplicación de los PAO estudiados en esta Tesis Doctoral (foto-Fenton solar y ozonización), se escalaron las mejores condiciones de operación obtenidas en el laboratorio para el pre-tratamiento de los lixiviados, a escala planta piloto (descrita en el apartado III.7.3) para obtener el volumen requerido de lixiviados de vertedero pre-tratados y poder llevar a cabo el estudio de los PAO a escala planta piloto.

Mediante la C/F a escala planta piloto, a pH 5 y con 0,5 g/L de FeCl_3 anhidro, se obtuvo una eliminación de COD del 30% y de la DQO del 25%, además de que la turbidez disminuyó un 45%. El ajuste de pH a 5 provocó una pequeña eliminación inicial de los sólidos en suspensión. Así mismo, se obtuvo una concentración residual de Fe (III) de aproximadamente 30 mg/L que permaneció en disolución, siendo suficiente para llevar a cabo la siguiente etapa de oxidación fotocatalítica.

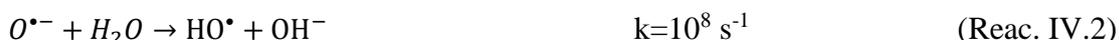
Por último, se llevó a cabo el análisis de la toxicidad y biodegradabilidad tras esta primera etapa de pre-tratamiento mediante respirometría, sin encontrarse cambios significativos: 80% de inhibición para la medida de toxicidad aguda y una biodegradabilidad de 0,027 (considerada como no biodegradable según el fabricante del respirómetro).

IV.1.2. Aplicación de procesos avanzados de oxidación para el tratamiento de lixiviados de vertedero

Una vez comprobada la no biodegradabilidad del lixiviado de vertedero, incluso tras su pre-tratamiento mediante F/C, se procedió a estudiar la etapa de oxidación química mediante dos PAO, con el objetivo principal de reducir la toxicidad y mejorar la biodegradabilidad de los lixiviados lo suficiente como para completar el tratamiento de los mismos en un sistema biológico aerobio.

IV.1.2.1. Ozonización a escala planta piloto

Tal y como se comentó en el apartado I.4.2, la ozonización a un pH superior a 9, promueve la generación de radicales hidroxilo, prevaleciendo la vía indirecta de oxidación por encima de la oxidación directa con ozono (Reac. IV.1-3), lo que puede mejorar la eficiencia en la mineralización de este tipo de aguas residuales industriales (Beltrán, 2003).



Tras la etapa de pre-tratamiento con C/F, se estudió la oxidación mediante ozonización de los lixiviados de vertedero bajo dos condiciones de operación diferentes: a) un 20% de producción de ozono, lo que corresponde a una concentración de entrada de 1,4 g O₃/h, y b) un 50% de producción de ozono que corresponde a 3,6 g O₃/h, utilizando un flujo de gas de 0,1 Nm³/h y pH 12 en ambos casos. La Figura IV.3 muestra la evolución del COD y del consumo de ozono (calculado en función de los valores de ozono de entrada y salida a la columna en fase gaseosa, apartado III.8.2) en función del tiempo de tratamiento para las dos condiciones experimentales estudiadas.

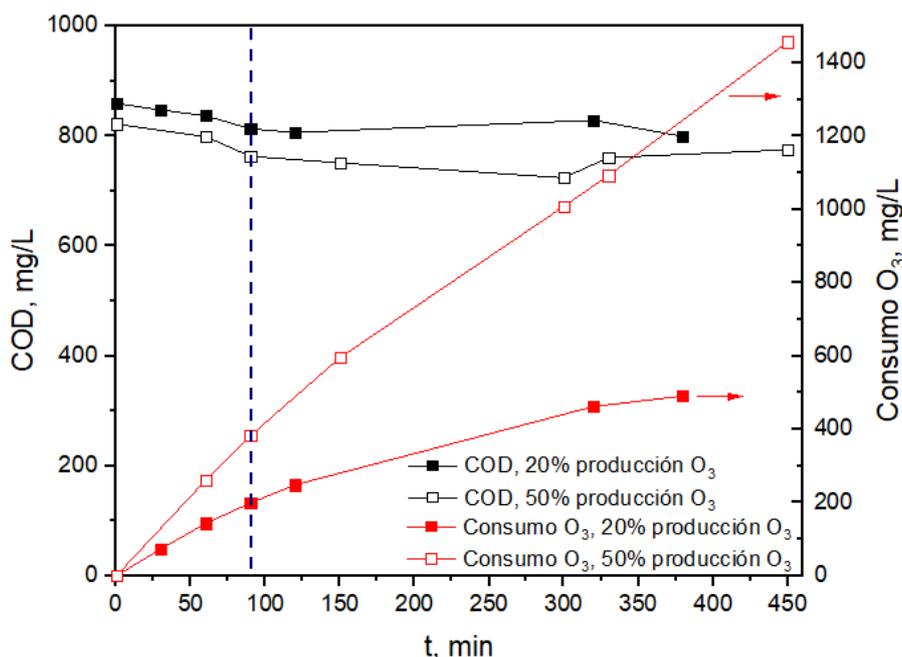


Figura IV.3. Evolución del COD y consumo de O₃ frente al tiempo de tratamiento durante el proceso de ozonización bajo diferentes condiciones de operación.

Sólo en el experimento realizado con una producción de ozono del 20%, se detectó que el ozono en fase gaseosa a la salida del sistema (1,4 g/h) llegó a ser prácticamente igual al ozono generado (1,3 g/h) después de 6 horas y media de tratamiento. Por ello, se decidió parar el tratamiento, ya que el sistema alcanzó el estado de saturación de forma que, al detenerse (o ralentizarse) el consumo de ozono y, por tanto, la oxidación de los lixiviados, también se reduce la transferencia de ozono de la fase gaseosa a la fase líquida, considerándose entonces el proceso como finalizado.

Como puede verse en la Figura IV.3, la evolución del COD es la misma en ambos experimentos, alcanzándose el mismo porcentaje de mineralización del 7%, aunque el consumo de ozono se triplicó cuando se aplicó una generación de ozono del 50%. El consumo de O₃ para una producción del 20% fue de 490 mg/L, mientras que para una producción de O₃ del 50% el consumo fue del 1456,5 mg/L. Esto fue debido a la reacción de los propios radicales hidroxilo con el ozono (Reac. IV.3), que llevó a un mayor consumo de este reactivo a partir del minuto 90 de tratamiento, momento en el que la mineralización del carbono orgánico se detuvo. En este punto, se evaluaron la toxicidad aguda y la biodegradabilidad mediante respirometría, obteniéndose, para el 20% de producción de ozono, un 43% de inhibición y una biodegradabilidad de 0,0096 (no

biodegradable). Para el caso del 50% de producción de O₃, se determinó un % de inhibición del 13% y una biodegradabilidad de 0,15 (ligeramente biodegradable). Por otro lado, el pH se mantuvo prácticamente constante, en torno a 12 en ambos experimentos.

Es importante mencionar que, para el experimento con 20% de producción de ozono, los ácidos carboxílicos acetato y formiato, presentes al inicio, aumentan su concentración hasta 160,0 mg/L y 399,3 mg/L, respectivamente. Así mismo, en el experimento con 50% de producción de ozono, los ácidos carboxílicos presentes al inicio del experimento (glicolato, acetato, propionato y formiato) aumentan de concentración, alcanzando 6,9 mg/L de glicolato, 363,5 mg/L de acetato, 35,9 mg/L de propionato y 31,2 mg/L de formiato. De igual modo, aparecen también 12,2 mg/L de maleato y 20,9 mg/L de oxalato.

Para ambos ensayos realizados, al final del tratamiento, se encontró que la toxicidad de los lixiviados se redujo por debajo del 20% de inhibición. Sin embargo, y en lo que respecta a la biodegradabilidad, en el ensayo con un 20% de producción de ozono ésta aumenta muy poco al final del tratamiento (0,0046, no biodegradable). Sin embargo, cuando se utiliza una producción de O₃ del 50%, la biodegradabilidad aumenta y se alcanza un valor de 0,19 que se define (según el fabricante del respirómetro) como algo inferior a ligeramente biodegradable.

Estos resultados muestran claramente la necesidad de una producción y consumo elevado de ozono para lograr una leve mejora en el carácter biodegradable de los lixiviados pre-tratados mediante C/F.

IV.1.2.2. Foto-Fenton solar a escala planta piloto

Los lixiviados de vertedero procedentes del pre-tratamiento mediante C/F se sometieron también a un ensayo de oxidación química mediante foto-Fenton solar en un foto-reactor tipo CPC (CADOX, apartado III.8.3). El pH se ajustó a 2,8, pH óptimo para dicho tratamiento, asegurándose, de este modo, la completa disolución de los 30 mg/L de hierro (III) residual procedente de la etapa de C/F. Se agregó una dosis inicial de 200 mg/L de H₂O₂ y se descubrió el reactor para iniciar el proceso de fotocátalisis. Se llevaron a cabo adiciones de 200 mg/L de H₂O₂ a medida que éste se iba consumiendo a lo largo del experimento. El proceso de oxidación mediante foto-Fenton solar se extendió hasta lograr una reducción de COD del 43% (COD final de 750 mg/L) después de 6,7 h de tiempo de

iluminación, una energía UV acumulada de 52 kJ/L y un consumo total de 0,5 g/L de H₂O₂. En ese momento del tratamiento, la biodegradabilidad se mejoró lo suficiente (0,62) como para poder completar el tratamiento en un sistema biológico aerobio.

Además, mediante este PAO, se produjo una eliminación de los ácidos carboxílicos presentes al inicio (58,3 mg/L de glicolato y 153,8 mg/L de formiato), llegando a un porcentaje de eliminación del 84% para glicolato y del 46% para formiato.

Finalmente, se midió la toxicidad aguda y la biodegradabilidad mediante respirometría. Los resultados indicaron que la toxicidad bajó al 29% de porcentaje de inhibición y, con respecto a los valores de biodegradabilidad, ésta mejoró sustancialmente durante el tratamiento, ya que su valor aumentó a 0,62. De esta forma, en este punto del tratamiento mediante foto-Fenton solar, los lixiviados de vertedero parcialmente oxidados pueden considerarse biocompatibles con un tratamiento biológico aerobio. Siendo ésta la siguiente etapa a estudiar en la línea de tratamiento propuesta.

IV.1.2.3. Comparación y selección del mejor proceso avanzado de oxidación

Comparando los resultados obtenidos tras la aplicación de ozonización a pH alcalino para favorecer la ruta indirecta de degradación mediante radicales hidroxilo, y foto-Fenton solar a pH 2,8 (Tabla IV.1), se puede observar como el tratamiento de ozonización reveló una menor eficiencia, en términos de eliminación del COD y aumento de biodegradabilidad, en comparación con el proceso de foto-Fenton solar.

Tabla IV.1. Comparación de los procesos de foto-Fenton solar y ozonización a pH 12 para el tratamiento de lixiviados de vertedero tras la etapa de C/F.

	Foto-Fenton solar (pH 2,8)	Ozonización 20% producción O₃ (pH 12)	Ozonización 50% producción O₃ (pH 12)
Eliminación COD (%)	43	7	6
Consumo O₃ (g/L)*	-	0,5	1,5
Consumo H₂O₂ (g/L)*	0,5	-	-
Biodegradabilidad*	0,62	0,0046	0,19
Toxicidad aguda, % inhibición*	29	19	16

*Referido al tiempo final de cada experimento

Aunque se obtienen efluentes no tóxicos tanto para el proceso de foto-Fenton solar como en la ozonización, se observa una clara mejoría de la biocompatibilidad del efluente tras el tratamiento mediante foto-Fenton solar. En este caso, se alcanza una biodegradabilidad de 0,62, definida por el fabricante del respirómetro como biodegradable, frente a la escasa mejora lograda tras la ozonización (con 50% de producción de O₃) de 0,19, (en la parte baja del rango de ligeramente biodegradable: 0,1-0,3).

Considerando, por tanto, la llamativa mejora de la biodegradabilidad, además de la ventaja de disponer del hierro (III) requerido tras la etapa de C/F, se seleccionó el proceso de foto-Fenton solar como la mejor opción de tratamiento avanzado de oxidación para este caso.

IV.1.3. Tratamiento biológico en reactor aerobio de lecho fluidizado para la depuración de lixiviados de vertedero. Análisis de la población microbiana.

Tras el pre-tratamiento de los lixiviados de vertedero mediante C/F y la selección del proceso de foto-Fenton solar como mejor PAO para lograr reducir la toxicidad y mejorar la biodegradabilidad de dichas aguas residuales, se procedió a la combinación con un tratamiento biológico avanzado basado en un reactor aerobio de lecho fluidizado (RLF) (apartado I.4.1). Además, se aplicaron técnicas microbiológicas convencionales y avanzadas con el objetivo de determinar la modificación de la población bacteriana que se dio a lo largo de la adaptación y tratamiento biológico de este tipo de ARI complejas.

Tal y como se describe en la sección de Materiales y Métodos (apartado III.10), en primer lugar, se puso en marcha el sistema biológico con la inoculación de fangos activos procedentes de una EDAR municipal de la provincia de Almería (España). Seguidamente, se abordó la fase de adaptación de los fangos a los lixiviados parcialmente tratados mediante C/F y foto-Fenton solar, para finalmente operar el sistema biológico en modos discontinuo y continuo.

IV.1.3.1. Puesta en marcha y fase de adaptación del reactor de lecho fluidizado

Siguiendo la metodología descrita en el apartado III.10, se llevó a cabo la puesta en marcha del RLF a escala planta piloto (Figura III.30). Para ello, el reactor se inoculó con 30L de licor mezcla procedentes del tratamiento secundario de la EDAR de “El Toyo”

(Almería) manteniendo aireación continua (concentración de oxígeno disuelto siempre por encima de 4 mg/L) y sin añadir ningún tipo de sustrato orgánico. Se mantuvo la recirculación de dichos fangos hasta que la biomasa quedó inmovilizada completamente sobre los soportes que conforman el lecho fluidizado del biorreactor. Seguidamente, se vació el tanque de alimentación (quedando aproximadamente 8 L en la columna rellena de soportes) y se alimentó con agua de entrada al tratamiento secundario de la misma EDAR para favorecer el crecimiento de la biomasa fijada en los soportes y obtener biopelículas adheridas a los soportes altamente resistentes. Este proceso se llevó a cabo varias veces de forma que el COD de alimentación descendía de unos 100 mg/L a 14 mg/L con cada lote y de manera estable.

Una vez fijada la biomasa a los soportes, se llevó a cabo la fase de adaptación de la misma a los lixiviados de vertedero parcialmente tratados mediante C/F y foto-Fenton solar. Con este propósito y con objeto de ir logrando una adaptación progresiva, evitando cualquier efecto tóxico o inhibitorio, se fueron realizando diluciones sucesivas de los lixiviados pre-tratados con agua real de entrada al tratamiento secundario de la EDAR (apartado III.1.2), aumentando progresivamente la cantidad de dichos lixiviados (Figura IV.4). Se realizaron 11 adiciones con diferente COD inicial, llegándose a una alimentación media de aproximadamente 300 mg/L de COD. El OD a lo largo del tratamiento se mantuvo siempre por encima de 2 mg/L. La Figura IV.4 muestra la evolución de COD y DQO después de cada lote de alimentación durante los 70 días que duró la fase de adaptación del RLF. La eliminación del COD en todos los lotes fue aproximadamente del 80% para tiempos de residencia de entre 5 a 7 días.

En la Figura IV.4 se muestra una subida brusca de DQO entre los lotes 6 y 7 donde se produjo una desestabilización del sistema provocada por un aporte demasiado elevado de COD por parte de los lixiviados en los lotes 4, 5 y 6 (300,0 mg/L y 449,1 mg/L). Por tanto, se decidió reducir el DOC aportado por los lixiviados a partir del lote 7 (185,0 mg/L), lográndose recuperar el RLF al final del lote 11.

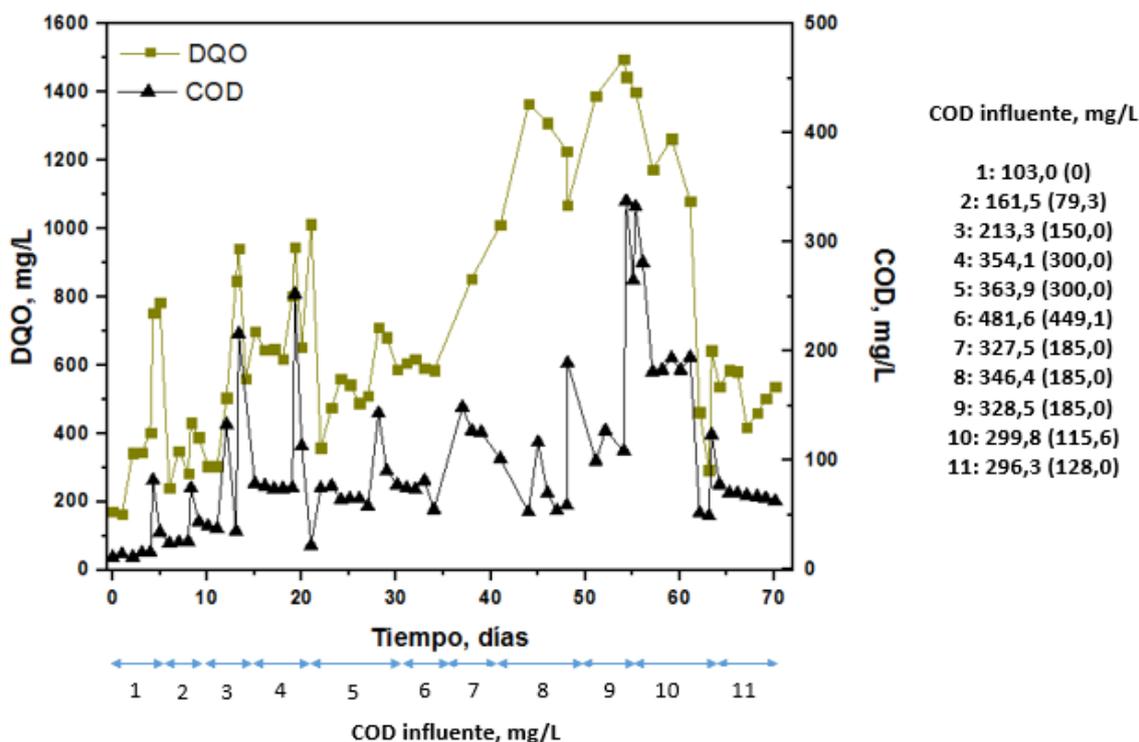


Figura IV.4. Evolución del COD y la DQO durante la fase de adaptación del RLF a los lixiviados de vertedero parcialmente tratados. Entre paréntesis se muestra el COD aportado por los lixiviados en cada alimentación.

Durante esta fase también se llevó a cabo el estudio de la evolución del NT, así como de los procesos de nitrificación y desnitrificación. La nitrificación es la oxidación biológica de amonio con oxígeno con la consiguiente formación de nitrito y la oxidación de este obteniendo nitrato. Es llevada a cabo por microorganismos mayoritariamente autótrofos. Las bacterias del género *Nitrosomonas* y *Nitrosococcus* (entre otras, bacterias amino-oxidantes, AOB) oxidan el amonio a nitrito en una primera fase y las bacterias del género *Nitrospira* y *Nitrobacter* (bacterias nitrito-oxidantes, NOB) oxidan el nitrito a nitrato en una segunda etapa. Estas son bacterias quimioautótrofas, es decir, usan el CO₂ o el bicarbonato (HCO₃⁻) como fuente de carbono para crecer, reduciendo el CO₂ a través de la oxidación del nitrógeno. Por otro lado, la desnitrificación es un proceso en el que el nitrato es el último aceptor de electrones, en lugar del oxígeno, en condiciones anaerobias produciendo finalmente nitrógeno molecular (N₂, gas). Los microorganismos que la realizan son principalmente bacterias heterótrofas, *Alcaligenes*, *Paracoccus*, *Pseudomonas*, *Thiobacillus*, *Rhizobium* y *Thiosphaera* entre otros, aunque en una EDAR aparece principalmente el género *Pseudomonas*.

La Figura IV.5 muestra la evolución de la concentración de NT, de amonio, nitrato y nitrito durante la etapa de adaptación del RLF.

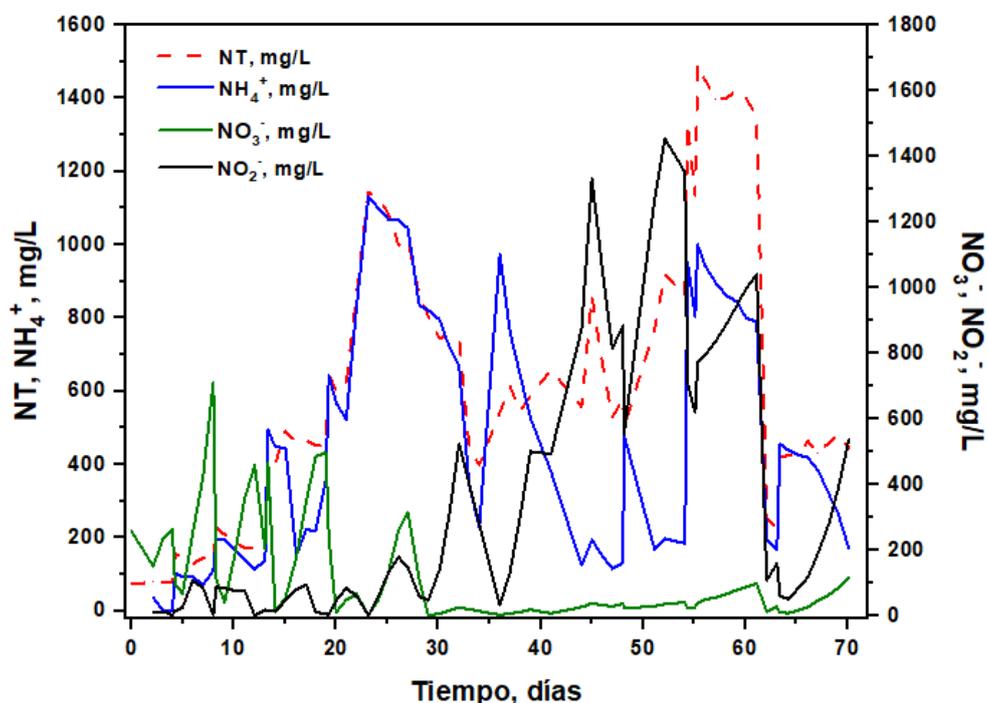


Figura IV.5. Evolución del NT de los lixiviados de vertedero pre-tratados y de las especies N-NH₄⁺, N-NO₃⁻ y N-NO₂⁻ a lo largo de la fase de adaptación del RLF.

Durante los primeros 30 días de adaptación del reactor, se puede observar como la concentración de amonio disminuye y aumenta la de nitrato (producto final de la nitrificación), a la vez que se oxida el COD (Figura IV.5). Esto indica que el proceso de nitrificación se llevó a cabo de forma correcta. Después de estos 30 días, la concentración de amonio disminuye con cada lote de alimentación, aumenta la de nitrito, pero la de nitrato no lo hace, lo que indica que no se está llevando a cabo de forma completa el proceso de nitrificación, por lo que se detectó una acumulación de estas especies nitrogenadas debido, principalmente, a la elevada concentración de NT encontrada en los lixiviados (descompensada en relación al COD). La mayoría del nitrógeno presente en los lixiviados se encuentra formando parte de los compuestos orgánicos, de forma que el sistema biológico del RLF logra sólo oxidar dichos compuestos hacia amonio, dando lugar a una acumulación de esta especie. En consecuencia, sería necesario aumentar los tiempos de residencia para favorecer los procesos de nitrificación o incluso combinar con otro sistema biológico que se encargara de la eliminación de nitrógeno per sé. En el caso

de este trabajo, se decidió ayudar al sistema biológico del RLF mediante la adición de bicarbonato de sodio, para favorecer la proliferación de bacterias autótrofas que pudieran llevar a cabo el proceso de nitrificación sin necesidad de un aporte extra de carbono orgánico.

IV.1.3.2. Operación en modo discontinuo del RLF para el tratamiento de lixiviados de vertedero pre-tratados

Una vez finalizada la etapa de adaptación del RLF al ARI objeto de estudio, se procedió al tratamiento de dichas aguas en modo discontinuo con la finalidad de encontrar la capacidad máxima de tratamiento y el tiempo de residencia, para abordar la operación en continuo del reactor biológico. Para ello, el RLF se alimentó con diferentes lotes de lixiviados de vertedero pre-tratados mediante C/F y foto-Fenton solar diluidos con agua real de entrada al tratamiento secundario de la EDAR, variando el COD inicial y buscando maximizar el tratamiento del mayor volumen posible de lixiviados manteniendo la estabilidad del sistema biológico. El oxígeno disuelto (OD) se mantuvo siempre por encima de 2 mg/L a lo largo de toda la operación del RLF. El pH promedio a lo largo del tratamiento biológico fue de 7,5.

La Figura IV.6 muestra como el COD inicial fue variable en todos los lotes, siendo el lote 6 el que presentó mayor carga orgánica y, por tanto, un tiempo de residencia ligeramente mayor al resto para obtener un efluente similar, ya que después de 11 días se obtuvo un efluente con aproximadamente 120 mg/L de DOC, es decir, una eliminación del 70%. A partir del lote 9 se disminuyó el COD inicial procedente del lixiviado de vertedero pre-tratado, para ver si se podía reducir el tiempo de residencia, pero se mantuvo tanto antes del lote 9 como después, por encima de 7 días. Respecto a la evolución de la DQO a lo largo de la operación en modo discontinuo del RLF, el porcentaje promedio de eliminación fue del 65%.

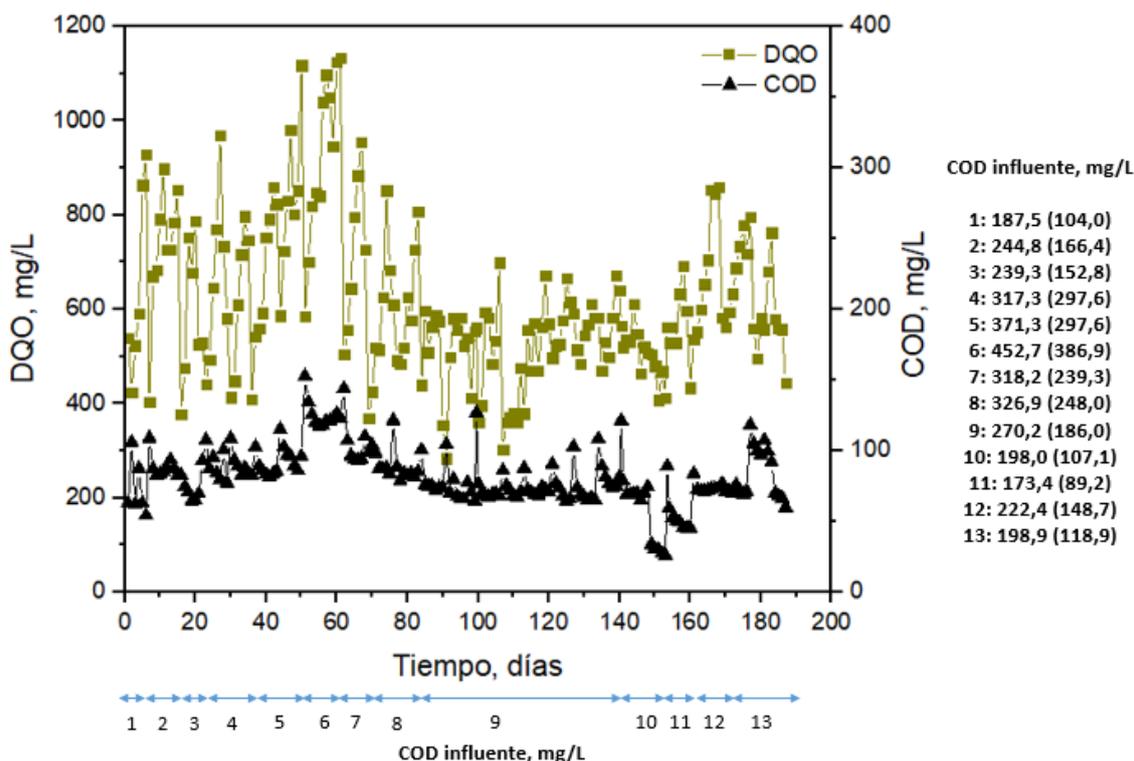


Figura IV.6. Evolución del COD y la DQO durante el tratamiento de los lixiviados de vertedero pre-tratados en el RLF en modo de operación discontinuo. Entre paréntesis se muestra el COD aportado por los lixiviados en cada alimentación.

La operación en discontinuo del RLF se mantuvo hasta observar un comportamiento estable en la capacidad de depuración del sistema biológico. Se determinó la capacidad máxima de tratamiento del RLF y el tiempo de residencia al alcanzar un valor mínimo de COD estable a la salida tras varios lotes de alimentación. En este caso, se obtuvo un COD residual de aproximadamente 70 mg/L con una mezcla de alimentación de 10 L de lixiviados pre-tratados (750 mg/L de COD) y 28 L de agua de entrada al tratamiento secundario de la EDAR, es decir, las características del lote 9. Dicho lote se mantuvo durante 54 días con 9 alimentaciones de COD inicial de 270,2 mg/L, observándose un comportamiento estable del biorreactor. El tiempo de residencia fue de 6 días con una capacidad máxima de tratamiento de 1,35 mg de COD/L·h y 7,33 mg DQO/L·h. Se pudo observar una reducción del 60% del COD inicial en el primer día, eliminando la fracción orgánica rápidamente biodegradable del efluente mientras que, en los siguientes días, esta eliminación se ralentizó y se comenzó la metabolización de la materia orgánica disuelta y particulada lentamente biodegradable, obteniéndose una eliminación del 80% del COD

inicial. La evolución del NT y de las especies nitrogenadas inorgánicas a lo largo de esos 54 días en los que se mantuvo el lote 9, se muestra en la Figura IV.7.

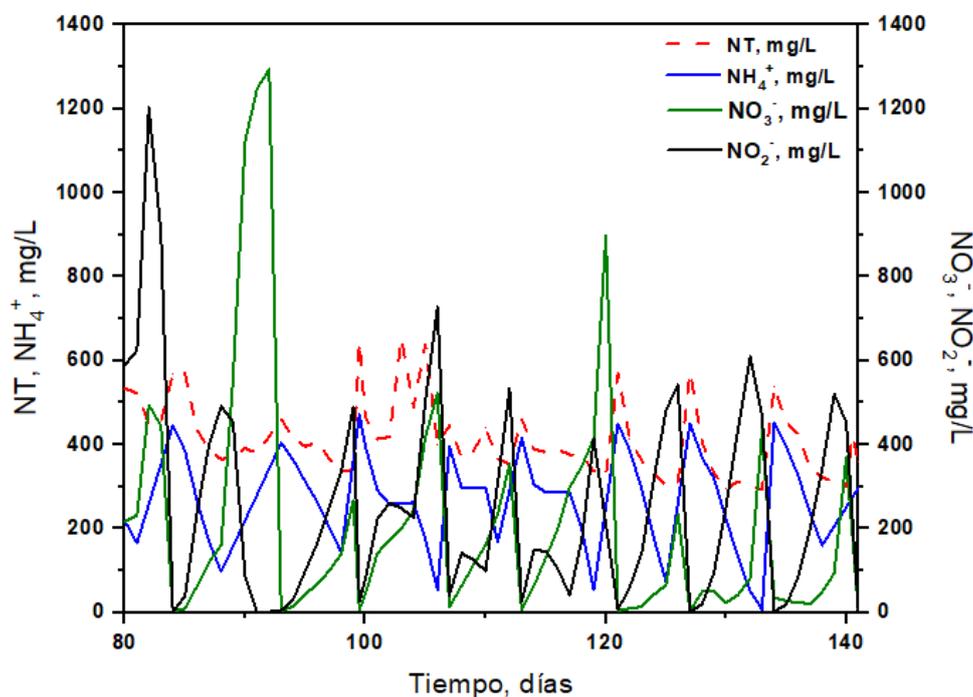


Figura IV.7. Evolución del NT y de N-NH_4^+ , N-NO_3^- y N-NO_2^- durante el tratamiento de los lixiviados de vertedero pre-tratados en RLF operado en modo discontinuo y para la capacidad máxima de tratamiento encontrada (lote 9).

Se puede observar cómo los procesos de nitrificación ocurrieron tras la eliminación del COD. Por tanto, en cada alimentación del lote 9 se ve como disminuye la concentración de amonio y aumentan las concentraciones de nitrito y nitrato. Aunque esto indica que el proceso de nitrificación estaba ocurriendo de manera correcta, aún era incompleto, debido a la elevada descompensación que existía entre el NT y el carbono orgánico en la alimentación al RLF. En consecuencia, la mayor parte del nitrógeno que se encontraba formando parte de moléculas orgánicas fue metabolizado por las bacterias a amonio, sin tiempo suficiente para completar la nitrificación y, por tanto, mostrando una acumulación de amonio a la que se hizo frente en esta Tesis Doctoral mediante la adición de bicarbonato de sodio con la alimentación, para promover la acción de bacterias autótrofas. Por otro lado, es importante mencionar que, debido a las características estructurales de este reactor, se observaron caminos preferenciales del oxígeno a lo largo de la columna, lo que dio lugar a zonas de la misma que se encontraban bajo condiciones anóxicas,

favoreciendo la desnitrificación. Por tanto, en este sistema biológico se pudieron llevar a cabo ambos procesos de nitrificación-desnitrificación al mismo tiempo, lo que se traduce en una mayor eficiencia en la eliminación del nitrógeno. Se logró alcanzar una capacidad máxima de 2,65 mg N-NH₄⁺/L·h y de 1,48 mg NT/L.

IV.1.3.3. Operación en modo continuo del RLF para el tratamiento de lixiviados de vertedero pre-tratados

La capacidad máxima de tratamiento encontrada en el modo de operación en discontinuo del RLF, se usó como punto de partida para arrancar el modo de operación en continuo y poder llegar al estado estacionario en este sistema. Para ello, se alimentó con diferentes lotes de lixiviados tratados mediante foto-Fenton solar que dieron lugar a efluentes con las siguientes características medias: una conductividad de 22,6 mS/cm, 9498,7 mg O₂/L, 711,0 mg C/L, 1942,5 mg NT/L, 56,8 mg N-NO₂⁻/L, 140,5 mg N-NO₃⁻/L, 2392,2 mg N-NH₄⁺/L, un consumo medio de H₂O₂ de 0,5 g/L y una biodegradabilidad de 0,61 variando el caudal de alimentación al RLF en continuo desde 2,7 mL/min hasta 14,2 mL/min. Éste se incrementaba una vez que se sustituía al menos 3 veces el volumen total del sistema, con objeto de asegurar haber alcanzado el estado estacionario. Se empezó con un flujo de operación de 2,7 mL/min y con una carga orgánica de 203,4 mg COD/L (118,4 mg COD/L procedente del lixiviado de vertedero y 85,0 mg COD/L del agua de entrada al secundario de la EDAR). Estos parámetros se corresponden con un valor conservativo respecto a la máxima capacidad de tratamiento encontrada en el modo de operación en discontinuo.

La Figura IV.8 muestra la evolución del COD y el NT en la corriente de salida. El primer caudal de alimentación de 2,7 mL/min, se mantuvo durante 40 días de operación con objeto de ajustar los parámetros del propio reactor para poder alcanzar el estado estacionario y que el caudal de salida, tras el rebose de la columna de lecho fluidizado, fuera estable. En esta figura se observa claramente cómo, a pesar de que todos los lixiviados pre-tratados mediante foto-Fenton solar mostraron elevada biodegradabilidad, la gran variabilidad en sus características, principalmente procedente del NT, provocaron que los valores de COD en el caudal de salida se encontraran en un rango mínimo algo más amplio que el que se suele encontrar en el tratamiento de otro tipo de aguas residuales menos complejas. De hecho, los lixiviados de vertedero parcialmente tratados siempre

requirieron mezclarse con agua de entrada al secundario de la EDAR para lograr una buena eficiencia de eliminación de COD en el RLF. En este sentido, se observa cómo inicialmente para 2,7 mL/min, el COD en el caudal de salida estuvo incrementándose en todo momento (a pesar de corresponder a un valor inferior a la capacidad máxima encontrada en el modo de operación del RLF en discontinuo), lo que obligó a reducir el COD del caudal de alimentación, y, en consecuencia, reducir el aporte de COD por parte del lixiviado pre-tratado. En ese momento se logró reducir de nuevo el COD de salida a un valor de 56 mg/L y, por tanto, se procedió a incrementar el caudal de alimentación a 6,1 mL/min y de ahí hasta 9,6 mL/min. Aquí, los valores de COD a la salida se mantuvieron en un rango entre 40 y 781 mg/L. Sin embargo, el siguiente lote de lixiviados pre-tratados que se empleó en la alimentación del RLF (número 3) mostró una mayor eficiencia en la eliminación del COD, llegando a valores mínimos en la corriente de salida de 11 mg/L. No obstante, en este caso, el caudal tan elevado provocó un incremento del COD y una acumulación de NT a la salida para un mismo lote de alimentación, con lo que se decidió reducir de nuevo el caudal a 9,6 mL/min. En este punto, y aprovechando que los valores de salida de COD estaban por debajo de los valores que se habían venido obteniendo anteriormente, se incrementó la fracción de COD procedente del lixiviado pre-tratado en el caudal de alimentación. De esta manera, se recuperó el COD a la salida a valores en torno a 70 mg/L (alrededor del 60% de eliminación del COD).

Debido a los errores intrínsecos en la medida de DQO mediante kits en aguas reales complejas, se decidió medir este parámetro sólo puntualmente, por lo que no se tiene su evolución de manera continua en esta etapa de operación del RLF.

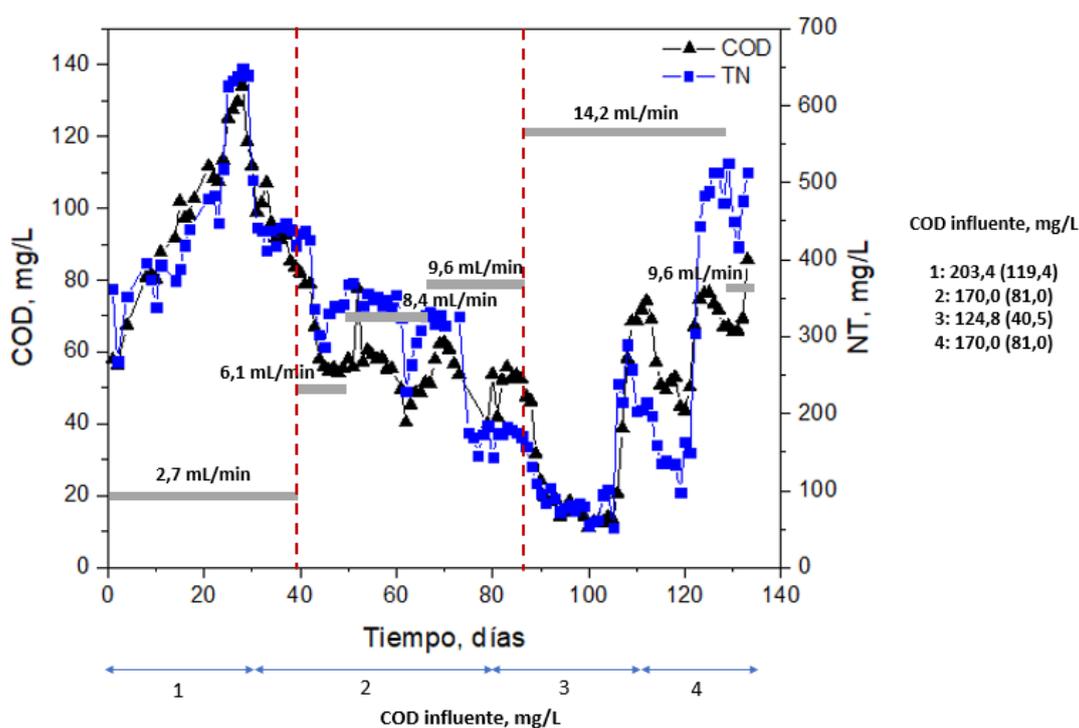


Figura IV.8. Seguimiento del COD y el NT en la corriente de salida del RLF operado en modo continuo. Entre paréntesis se muestra el COD aportado por los lixiviados en cada alimentación.

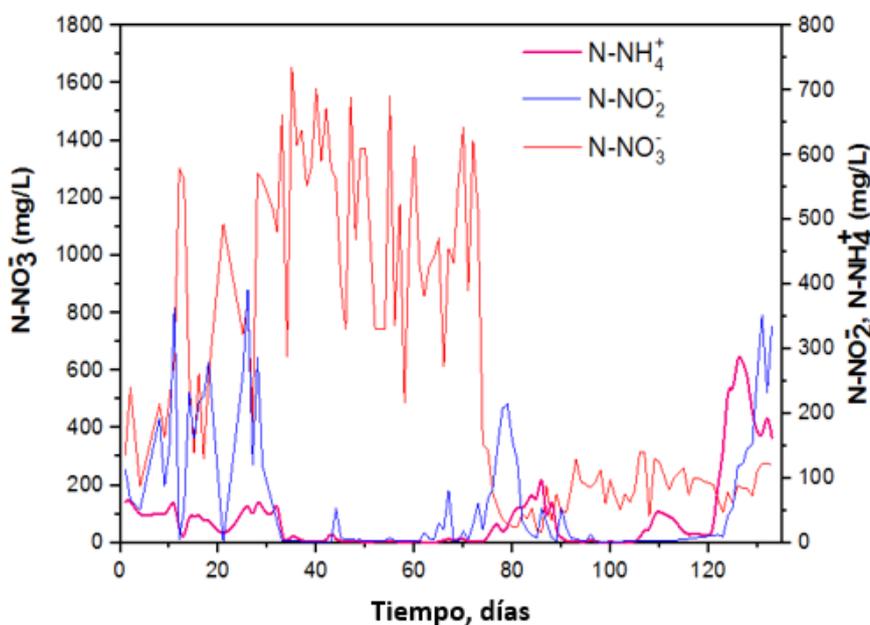


Figura IV.9. Variación de $N-NH_4^+$, $N-NO_2^-$ y $N-NO_3^-$ en el efluente del RLF durante la operación en modo continuo.

En lo que respecta a la eliminación de nitrógeno y los procesos de nitrificación-desnitrificación, también en el modo de operación en continuo se añadió bicarbonato

sódico (150 g) a la alimentación del RLF, con objeto de favorecer la acción de las bacterias autótrofas (y eliminar mayor cantidad de amonio). Tal y como se observa en la Figura IV.9, el proceso de nitrificación ocurrió de forma satisfactoria en un cierto porcentaje, pero finalmente se observa una concentración residual de amonio en el caudal de salida lo que indicaría la necesidad de combinar con otro tipo de reactor biológico centrado exclusivamente en la eliminación de amonio y de NT. Además, el nitrato en los primeros momentos del tratamiento en continuo es muy elevado, es decir, el proceso de desnitrificación aún no se estaba llevando a cabo, lo que cambió en la etapa final del tratamiento en la que la concentración de nitrito incrementó claramente.

Finalmente, durante el modo de operación en continuo se alcanzó una capacidad máxima de tratamiento de 0,71 mg de COD/L·h y una capacidad máxima de eliminación de amonio de 1,40 mg N-NH₄⁺/L·h, con un flujo de alimentación de 9,6 mL/min (COD inicial de la mezcla de 170 mg/L) con un tiempo de residencia hidráulico de 2,7 días. De estos resultados se puede concluir que se dispone de un sistema biológico de lecho fluidizado que opera en continuo y que permite completar la eliminación de la carga orgánica procedente de lixiviados de vertedero parcialmente tratados. Sin embargo, este sistema no es capaz de lograr la completa eliminación del NT obteniéndose un efluente con una concentración de nitrógeno en forma de amonio que pudiera ser interesante recuperar para otro tipo de aplicaciones como nutriente de valor añadido.

IV.1.3.4. Determinación de la concentración total de bacterias en el RLF

Se llevó a cabo la evaluación de bacterias heterótrofas totales (expresadas en unidades formadoras de colonias por mL, UFC/mL) mediante la técnica de recuento en placa descrita en el apartado III.5.1. El objetivo de este estudio ha sido cuantificar la reducción de la presencia de bacterias en el sobrenadante desde la inoculación del biorreactor con licor mezcla procedente del tratamiento secundario de la EDAR de Almería, hasta la finalización de la etapa de acondicionamiento, en la que se considera completamente formadas las biopelículas en los soportes del RLF. Dicho punto coincide con valores de STS por debajo del límite de detección.

Inicialmente, durante la inoculación y puesta en marcha del RLF, la concentración de bacterias se fue reduciendo desde 10¹⁰ UFC/mL (valor correspondiente al licor mezcla que se tomó de la EDAR de Almería), hasta 10⁵ UFC/mL tras la fase de adaptación a los

lixiviados pre-tratados. La reducción en la cantidad de este tipo de bacterias en el sobrenadante del reactor fue muy significativa debido a que la mayoría de las bacterias se encuentran formando parte de las biopelículas en los soportes que conforman el RLF. La concentración total de bacterias heterotróficas osciló entre 10^7 y 10^5 UFC/mL en las etapas de operación del RLF en modo discontinuo y continuo en las que el sistema ya estaba completamente adaptado a los lixiviados pre-tratados. Las variaciones en la concentración de bacterias heterótroficas que se observaron tras la etapa de adaptación y, principalmente durante la operación del RLF en modo discontinuo, ocurrieron principalmente justo tras las nuevas alimentaciones del sistema con lixiviados pre-tratados. Esto muestra claramente que el sistema biológico estaba pasando por una fase de adaptación de la biomasa al nuevo efluente, de forma que pequeñas variaciones en las características y concentración de carbono orgánico de la alimentación provocaban pequeñas liberaciones de bacterias adheridas a los soportes hacia el sobrenadante. Además, hay que tener también presente el factor de crecimiento de las bacterias que quedan en el sobrenadante tras las alimentaciones del sistema. Es importante mencionar que la técnica de conteo en placa permitió también constatar la desaparición de flóculos para dar paso a bacterias filamentosas en suspensión.

IV.1.3.5. Análisis de la concentración de ADN en el RLF

La concentración total de ADN ($\text{ng}/\mu\text{L}$) de una serie de muestras recogidas durante las distintas etapas del tratamiento biológico de lixiviados de vertedero pre-tratados en el RLF, se llevó a cabo siguiendo el procedimiento descrito en el apartado III.6.1. Se tomaron muestras tanto del sobrenadante como de los soportes de la columna del reactor biológico a distintas alturas del mismo.

Desde el primer momento de la inoculación del biorreactor se observó una reducción importante en la concentración de ADN, desde $81 \text{ ng}/\mu\text{L}$ (medido en el licor mezcla tomado de la EDAR de Almería) hasta $15 \text{ ng}/\mu\text{L}$ en el sobrenadante (tras los tres primeros días de puesta en marcha). Esto demuestra la elevada capacidad de adherencia de las bacterias sobre los soportes del RLF de forma muy rápida. Durante la fase de adaptación, la concentración de ADN del sobrenadante se redujo hasta valores de $5 \text{ ng}/\mu\text{L}$, observándose también ligeros incrementos de hasta $10 \text{ ng}/\mu\text{L}$ a lo largo, principalmente, de la operación en modo discontinuo del RLF, justo tras las nuevas alimentaciones del

sistema. Este hecho replica lo discutido en el apartado anterior respecto a la concentración de bacterias heterótrofas.

Como ya se ha comentado, la concentración inicial de ADN del fango activo fue de 81 ng/ μ L. La concentración media de ADN extraída de los soportes contenidos en el RLF a tres alturas diferentes aumentó hasta 104,5 ng/ μ L durante el tratamiento en discontinuo manteniéndose prácticamente constante hasta el final del tratamiento en continuo (108,8 ng/ μ L). Estos resultados constataron la correcta homogeneización del RLF y la adaptación de dicho bio-reactor a los lixiviados de vertedero pre-tratados.

IV.1.3.6. Aplicación de técnicas de qPCR para la cuantificación de bacterias totales ADNr 16S y bacterias amino-oxidantes (AOB)

La identificación de las nuevas especies microbianas que hayan podido generarse en el RLF tras la adaptación de los fangos activos procedentes de la EDAR a los lixiviados de vertedero pre-tratados, proporciona una información muy valiosa sobre la caracterización del sistema biológico capaz de tratar este tipo de ARI complejas de forma eficiente, y, por tanto, podría utilizarse para el diseño de nuevos sistemas biológicos avanzados específicos. Con este objetivo, se aplicaron técnicas de qPCR (procedimiento descrito en el apartado III.6.2) para la cuantificación del número total de bacterias de ADNr 16S (generales) y de bacterias más específicas como las bacterias amino-oxidantes (AOB), responsables de eliminar el amonio en el proceso de nitrificación, durante las diferentes etapas del tratamiento biológico en RLF. Los resultados para el umbral de ciclo (Ct, cycle threshold) obtenidos de la qPCR se correlacionaron con la concentración de bacterias en términos de unidades formadoras de colonias (UFC/mL).

Dichos resultados muestran que el perfil para ambas (16 S rDNA y AOB) fue similar en todas las fases del tratamiento biológico, siendo la concentración de bacterias generales superior a la concentración de bacterias AOB. Por otro lado, la población de bacterias generales y AOB aumentó ligeramente después de cada alimentación con lixiviados de vertedero pre-tratado.

Durante las fases de adaptación y de operación en modo discontinuo del RLF, se observó una diferencia de entre 2 y 3 órdenes de magnitud entre bacterias totales y AOB, siendo las concentraciones medias en torno a $1 \cdot 10^4$ y 10 UFC/mL, respectivamente. Sin embargo, durante el modo de operación en continuo, la concentración media de ambos

tipos de bacterias fue menor a la obtenida en las anteriores etapas del tratamiento biológico. Además, la diferencia entre ambos tipos de bacterias disminuyó en torno a 1 y 1,5 órdenes de magnitud, con una concentración media de bacterias 16S de 100 UFC/ml y de bacterias AOB de 1 UFC/mL. Estos resultados ponen de manifiesto que el sistema biológico mantuvo su estado de adaptación y crecimiento de biomasa sobre los soportes hasta alcanzar el estado estacionario propiamente dicho al iniciar el modo de operación en continuo.

Además, se tomaron muestras de soportes con biomasa adherida a diferentes alturas de la columna del RLF con objeto de evaluar la evolución de la concentración de bacterias generales y AOB en las biopelículas. Se observó que la concentración de ambas bacterias no varió con la altura de recogida de muestra, siendo ésta claramente superior en el sobrenadante. Además, al inicio del tratamiento biológico, la concentración de bacterias AOB era mayor que la concentración de bacterias generales. Sin embargo, esto pasó a ser al contrario en los modos de operación en discontinuo y continuo, mostrando, de forma indirecta, una bajada en la eficiencia de nitrificación del RLF. La concentración de ambos tipos de bacterias fue mayor en los modos de operación discontinuo y continuo: $1 \cdot 10^5$ UFC/mL para AOB y $1 \cdot 10^6$ UFC/mL para generales, frente a $1 \cdot 10^4$ UFC/ml para AOB y $1 \cdot 10^2$ UFC/mL para generales, al inicio del tratamiento. Esto indica claramente un crecimiento positivo de la biomasa sobre los soportes de la columna y, por tanto, un funcionamiento correcto del RLF.

IV.1.3.7. Identificación de bacterias mediante la aplicación de técnicas de secuenciación masiva

Una vez llevada a cabo la amplificación por qPCR, se abordó la posibilidad de identificar, de forma más precisa, las especies microbianas que específicamente se habían desarrollado en el RLF mediante la técnica de secuenciación masiva. Para ello, una serie de muestras tomadas durante el modo de operación en continuo del RLF, tanto del sobrenadante como de la biopelícula absorbida en los soportes, se secuenciaron (ver apartado III.6.3) con el objetivo de encontrar la variación filogenética. Los resultados obtenidos se clasificaron en reino, filo, clase, orden, familia, género y especie. El reino predominante fueron las bacterias en prácticamente todas las muestras estudiadas. La Tabla IV.2, recoge la variación filogenética global encontrada en dichas muestras.

Tabla IV.2. Variación filogenética global encontrada para las muestras del tratamiento biológico en RLF operado en continuo.

FILO	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE	
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	<i>Paracoccus</i>	<i>Paracoccus marcusii</i>	
		Caulobacterales	Caulobacteraceae	<i>Brevundimonas</i>	<i>Brevundimonas diminuta</i>	
		Rhizobiales	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	<i>Rhodospirillum</i>	<i>Rhodospirillum rubrum</i>
		Rhodospirillales	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	<i>Sphingopyxis</i>	
					<i>Delftia</i>	<i>Delftia tsuruhatensis</i> <i>Delftia lacustris</i>
	Betaproteobacteria	Burkholderiales		Comamonadaceae	<i>Curvibacter</i>	<i>Curvibacter gracilis</i> <i>Curvibacter lanceolatus</i>
					<i>Hylemonella</i>	
					<i>Xenophilus</i>	
					<i>Alicyclophilius</i>	<i>Alicyclophilius denitrificans</i>
					<i>Leptothrix</i>	<i>Leptothrix discophora</i>
	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales		Xanthomonadaceae	<i>Comamonas</i>	<i>Comamonas compositi</i>
					<i>Variovorax</i>	<i>Variovorax paradoxus</i>
					<i>Thermomonas</i>	<i>Thermomonas fusca</i>
					<i>Thiocapsa</i>	
					<i>Thiothrix</i>	<i>Thiothrix nivea</i>
Deltaproteobacteria	Desulfobiontales		Desulfobalobacteraceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas azotoformans</i>	
				<i>Enhydrobacter</i>		
				<i>Acinetobacter</i>	<i>Acinetobacter johnsonii</i> <i>Acinetobacter lwoffii</i>	
				<i>Desulfonauticus</i>	<i>Desulfonauticus autotrophicus</i>	

FILO	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE					
Proteobacteria	Epsilonproteobacteria	Campylobacterales	Campylobacteraceae	Arcobacter	<i>Arcobacter skirrowii</i>					
					<i>Arcobacter cryaerophilus</i>					
					<i>Arcobacter defluvi</i>					
Firmicutes	Bacili	Lactobacillales	Lactobacillaceae	Lactobacillus	<i>Lactobacillus taiwanensis</i>					
		Bacillales	Staphylococcaceae	Staphylococcus	<i>Staphylococcus aureus</i>					
	Clostridia	Clostridiales	Lachnospiraceae	Blautia						
			Clostridiaceae							
	Bacteroidetes	Mollicutes	Acholeplasmatales	Acholeplasmataceae	Acholeplasma	<i>Acholeplasma</i>				
Prevotellaceae				Paraprevotella	<i>Paraprevotella clara</i>					
Bacteroidia		Bacteroidales	Bacteroidaceae	Bacteroides	<i>Bacteroides graminisohvens</i>					
		Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae					
Flavobacteriia			Chitinophagia	Chitinophagales	Chitinophagaceae	<i>Flavisobacter ginsengisoli</i>				
					Segetibacter	<i>Segetibacter koreensis</i>				
		Segetibacter			<i>Segetibacter aerophilus</i>					
Actinobacteria		Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Arenibacter	<i>Mycobacterium pimipadi</i>				
				Mycobacteriaceae	Mycobacterium	<i>Propionibacterium microaerophilum</i>				
		Actinobacteria	Actinomycetales	Propionibacteriales	Propionibacteriaceae	Propionibacterium	<i>Propionibacterium avidum</i>			
	<i>Propionibacterium acnes</i>									
	<i>Micrococcus yunnanensis</i>									
	Micrococcales					Micrococaceae	Micrococcus			
	Bifidobacteriales					Microbacteriaceae	Microbacterium			
						Bifidobacteriaceae	Bifidobacterium	<i>Bifidobacterium bombi</i>		
	Planctomycetia					Oscillatoriorhycidae	Oscillatoriales	Microcoleaceae	Arthrospira	<i>Arthrospira fusiformis</i>
									Isosphaera	<i>Isosphaera pallida</i>
Planctomycetes	Planctomycetia	Planctomycetales	Isosphaeraceae	Singulisphaera						

FILO	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE
Chlamydiae	Chlamydia	Chlamydiales	Parachlamydiaceae	<i>Candidatus Protochlamydia</i>	<i>Candidatus protochlamydia amoebophila</i>
Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Pedosphaeraceae	<i>Pedosphaera</i>	
Thermotogae	Thermotogae	Thermotogales	Thermotogaceae		
Thermi	Deinococci	Deinococales	Fervidobacteriaceae	<i>Fervidobacterium</i>	<i>Fervidobacterium pennivorans</i>
Gemmatimonadetes	Gemmatimonadetes	Gemmatimonadales	Deinococcaceae	<i>Deinococcus</i>	
Chloroflexi			Gemmatimonadaceae	<i>Gemmatimonas</i>	<i>Gemmatimonas aurantiaca</i>

La evaluación de los resultados obtenidos a partir de la secuenciación masiva se centró en el estudio de las variaciones en cuanto a filo, clase y orden de las muestras estudiadas (Figuras IV.10 y IV.11).

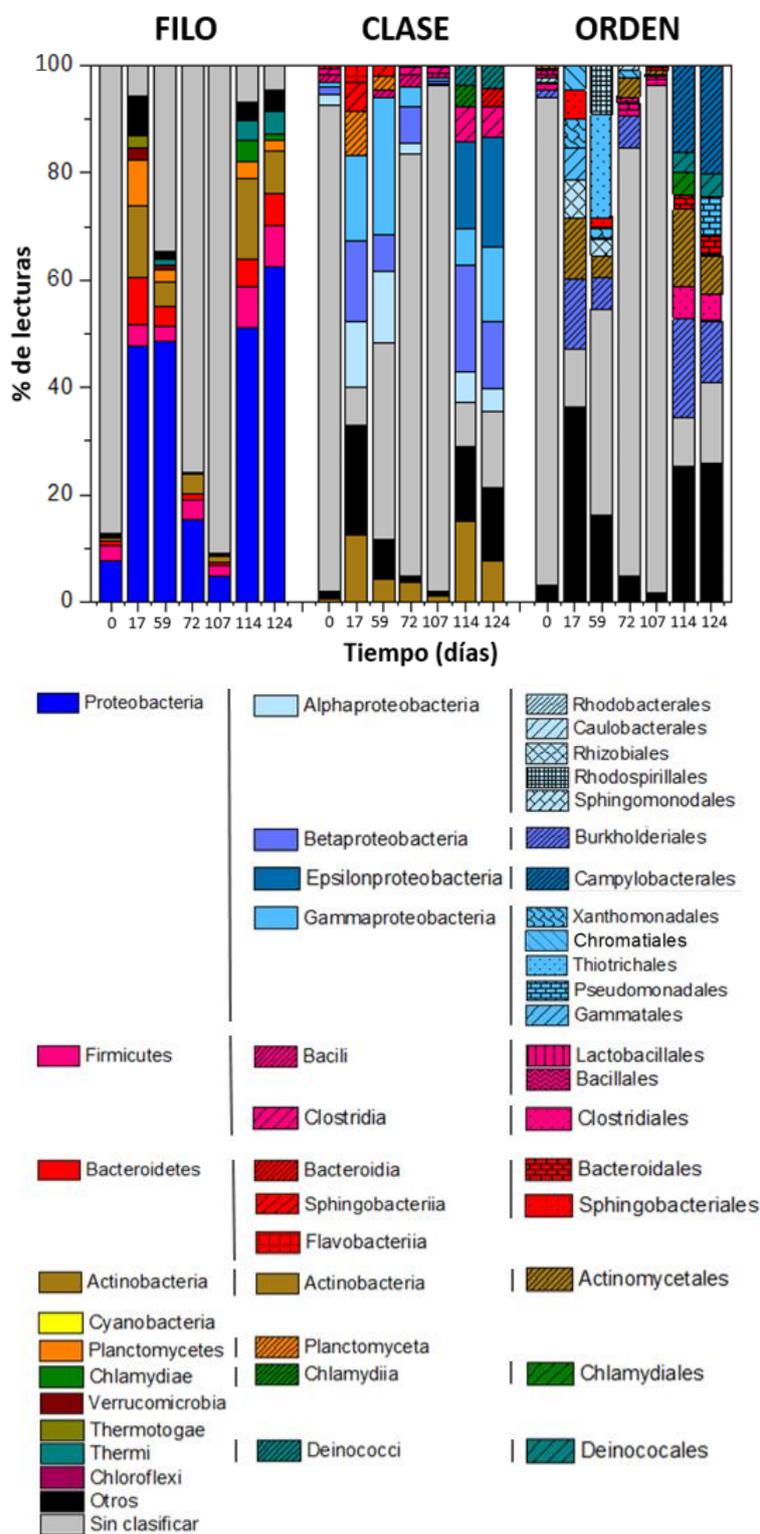


Figura IV.10. Abundancia relativa en cuanto a filo, clase y orden encontrada en las muestras de sobrenadante del RLF.

En cuanto a la Figura IV.10, se observaron fluctuaciones en la abundancia relativa de las especies identificadas, lo que es normal teniendo en cuenta que se está evaluando el sobrenadante del RLF, en el que se produce un ciclo continuado de crecimiento y aparición de nuevas bacterias, y de adsorción de las mismas sobre las biopelículas en los soportes. El filo predominante fue *Proteobacteria*, el cual incluye muchas de las bacterias responsables de la fijación del nitrógeno, encontrándose un aumento drástico de dicho filo, de 7,76% al inicio del modo de operación en continuo, a 62,5% al final. El segundo filo más importante fue *Actinobacteria*, el cual juega un importante rol en la descomposición de la materia orgánica y está involucrado en problemas de “bulking” y “foaming” en fangos activos (Seviour y col., 2008), mostrándose también fluctuaciones en su abundancia relativa, con un aumento del 7,28% entre el inicio y final del modo de operación en continuo. Sin embargo, el filo *Bacteroidetes* mostró cambios, disminuyendo su valor de un 8,83% a un 0,69% en la primera etapa de dicho modo de operación y aumentando de nuevo hasta 6,21% al final. Este tipo de bacteria, al igual que *Chloroflexi*, se encuentra comúnmente en EDAR urbanas e industriales en diferentes procesos (nitrificación/desnitrificación y recuperación de fósforo) (Kragelund y col., 2008). La presencia de este tipo de bacterias contribuye al incremento del índice filamentoso, aumentando la posibilidad de problemas de “bulking”. El filo *Firmicutes*, se encontró en todas las muestras permaneciendo prácticamente constante hasta las dos últimas muestras (114 y 124 días de tratamiento), donde se apreció un aumento de su abundancia del 4,6%. *Chlamydiae*, una bacteria que actúa como parásito en el interior de las células animales y está rodeado por doble membrana citoplásmática (Seviour y col., 2018), apareció después de 114 días de tratamiento con porcentajes pequeños, sufriendo una disminución del 2,85%. El filo *Planctomycetes*, bacterias anaerobias oxidantes de amoníaco, aunque no se apreció en las muestras intermedias, sufrió una disminución del 8,59% a 1,91%. *Thermotogae*, implicado en la reducción de azufre, sólo se apreció a los 17 días de tratamiento para luego desaparecer. El filo *Thermi*, apareció al final del tratamiento con una abundancia relativa media del 4%. *Verrucomicrobia* sólo aparece en tiempos intermedios de la etapa, disminuyendo su valor (2,31%) hasta desaparecer al final del tratamiento. Por último, otros fillos como *Chloroflexi*, asociado con hábitats extremos, tales como ambientes marinos o hipersalinos (Nübel y cols., 2001) y *Cyanobacteria*, estuvieron presentes en porcentajes muy pequeños (< 0,22%). No obstante, es importante mencionar que diversos autores han determinado que la naturaleza y función de especies

minoritarias pueden desempeñar un papel importante en la estabilización del sistema (Dias y Bhat, 1965).

La clasificación de la variación filogenética por clases estuvo dominada por *Proteobacterias* de las subclases alfa, beta, gamma o épsilon, siendo las clases gamma, algunas de las cuales oxidan metano, y épsilon, las cuales reducen azufre, las subdivisiones más abundantes, aunque la subclase gamma sólo aparece al fin del tratamiento con un elevado porcentaje (16,29 y 20,32%).

La clasificación por orden mostró una variabilidad en el sistema. *Burkholderiales* (que intervienen en los ciclos del Carbono y del Nitrógeno) y *Actinomycetales* estuvieron presentes en todas las muestras con valores menores a 18,52%. *Clostridiales* sufrió un aumento del 4% al final del tratamiento. *Thiotrichales* sólo apareció después de 59 días de tratamiento con un elevado porcentaje de abundancia (19,37%) al igual que *Rhodospirillales* (8,98%). *Campylobacterales* sólo se apreció después de 114 días de tratamiento con elevado porcentaje, mostrando un aumento de 16,29% a 20,32% al final del tratamiento.

La Figura IV.11 muestra la abundancia relativa en cuanto a filo, clase y orden de las muestras recogidas de biopelícula adsorbida en los soportes del RLF al final del modo de operación en continuo a diferentes alturas de la columna (S1, parte superior; S2, parte intermedia y S3, parte inferior). Al igual que ocurrió con los resultados de qPCR, no se encontró influencia alguna de la altura en la abundancia. Las bacterias fueron el reino predominante siendo superior al 97,44% en todas las muestras analizadas. El filo *Proteobacteria* fue el más abundante con una abundancia media del 45,8% seguido del filo *Bacteroidetes* (abundancia media 18,4%). *Actinobacteria* fue el tercer filo más importante con un valor medio de 7,81%. *Firmicutes*, *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia* y *Thermotogae* mostraron valores medios menores (2,61-4,60%). Los filios *Cyanobacteria*, *Chlamydiae*, *Thermi* y *Chloroflexi* que aparecieron en las muestras de sobrenadante (Figura IV.10) no aparecen en las procedentes de la biopelícula probablemente debido a que sus características morfológicas y/o metabólicas les confieran una baja capacidad de adsorción.

En cuanto a la variación filogenética por clases, al igual que en el sobrenadante, *Proteobacterias* de las subclases alfa (10,55%), beta (16,02%) y gamma (15,56%) fueron

las más significativas seguidas del filo *Bacteroidetes* con las subclases *Sphingobacteriia* (11,98%) y *Flavobacteriia* (6,19%).

La clasificación por orden mostró valores por debajo de 6,89% para *Rhizobiales*, *Xanthomonadales*, *Chromatiales* (*Proteobacteria*), *Flavobacteriales* (*Bacteroidetes*) y *Actinomycetales* (*Actinobacteria*). Sólo se encontraron valores de abundancia relativa del 12% aproximadamente para *Burkholderiales* (*Proteobacteria*) y *Sphingobacteriales* (*Bacteroidetes*).

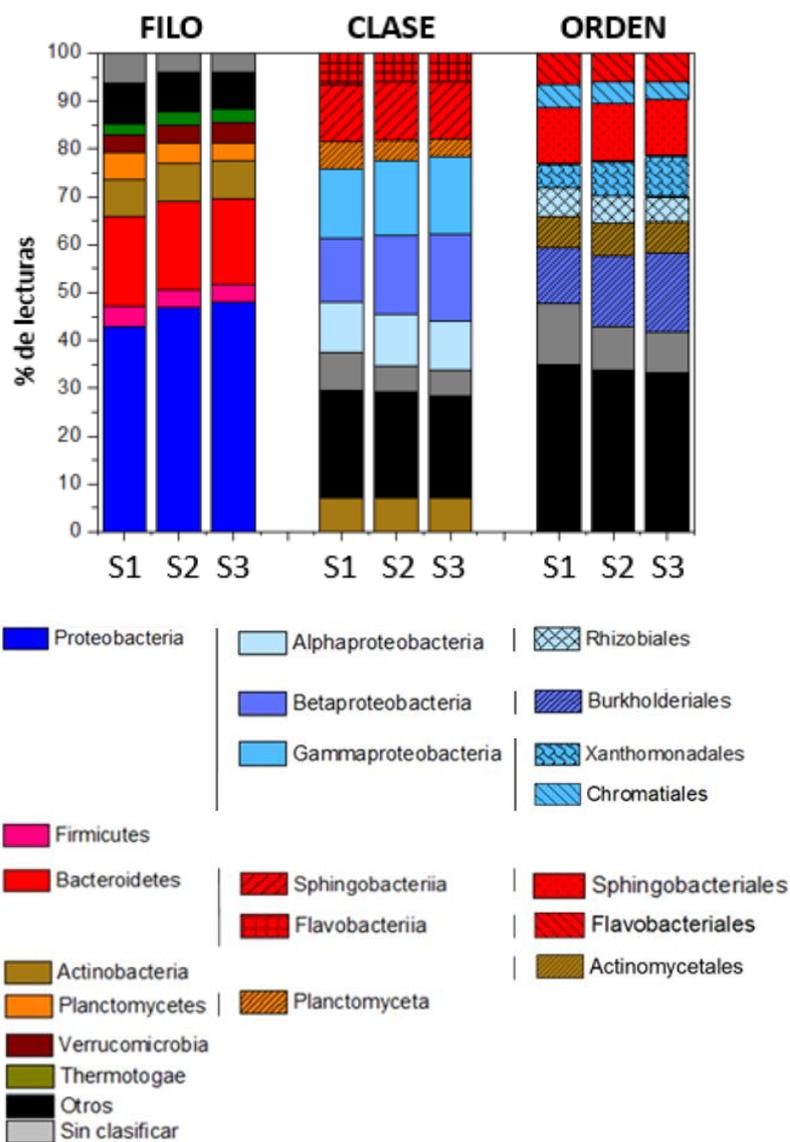


Figura IV.11. Abundancia relativa en cuanto a filo, clase y orden encontrada en las muestras de biopelícula procedente de los soportes del RLF.

Tanto para las muestras de sobrenadante (ver Figura IV.10), como para las muestras de biopelícula adsorbida en los soportes del RLF (ver Figura IV.11), el número de bacterias sin clasificar encontradas en la variación filogenética global sugirió la presencia de muchas especies nuevas capaces de habitar en comunidades complejas y de abordar el tratamiento eficiente de ARI.

IV.1.4. Aplicación de técnicas analíticas avanzadas para la identificación y seguimiento de microcontaminantes a lo largo de la línea de tratamiento de lixiviados de vertedero

Como ya se ha comentado en apartados anteriores, los lixiviados de vertedero son aguas residuales complejas, y en ocasiones peligrosas, que contienen altos niveles de compuestos tóxicos y/o biorecalcitrantes, entre los que se incluyen MC orgánicos, considerados potencialmente peligrosos por su acumulación en el medio ambiente.

La identificación de MC en lixiviados de vertederos se ha venido investigando, por algunos autores, mediante la aplicación de diferentes estrategias. Como norma general, se han empleado técnicas de análisis dirigido, enfocadas a la determinación de un grupo específico de compuestos (Fuertes y col., 2017; Kapelewska y col., 2016; Peeters y col., 2015). Otros estudios aumentaron el alcance a varias familias con un número variable de compuestos monitorizados (Clarke y col., 2015; Masoner y col., 2014). Sin embargo, el empleo de estrategias de análisis dirigido no es suficiente para una completa caracterización de estas aguas, ya que se limita a la determinación de compuestos disponibles en el laboratorio, para los que se dispone de patrones analíticos y métodos validados. De esta forma, siempre se pierde información que solo se puede recuperar con el uso de estrategias de cribado de compuestos sospechosos (*suspect screening* en inglés), de uso cada vez más extendido. Algunos estudios han aplicado técnicas cromatográficas acopladas a espectrometría de masas de baja resolución (LRMS) en el modo de exploración completa (*Full Scan*) para llevar a cabo tal análisis (Eggen y col., 2010). Otros autores realizaron la caracterización de lixiviados de vertederos utilizando una estrategia de cribado por GC acoplada a MS de alta resolución (GC-HRMS), centrándose en los MC susceptibles de análisis por esta técnica cromatográfica (Jernberg y col., 2013). Sin embargo, la sensibilidad de los instrumentos de alta resolución que operan en *full scan* no se puede comparar con la de los equipos empleados en el análisis dirigido (triple

cuadrupolo o trampa iónica cuadrupolo-lineal, QqLIT), por lo que, la aplicación combinada de ambas estrategias de análisis, empleando LC y GC combinadas con MS de alta y baja resolución, parece ser una estrategia adecuada para identificar y monitorizar un mayor número de MC en todo tipo de lixiviados de vertederos.

De acuerdo con esto, además de evaluar la efectividad de la línea de tratamiento propuesta mediante parámetros clásicos (ver apartados anteriores), también se llevó a cabo un estudio detallado mediante técnicas analíticas avanzadas para la determinación de MC. Las muestras tomadas a lo largo de las diferentes etapas de la línea de tratamiento (C/F, foto-Fenton solar y RLF), se sometieron, junto con los lixiviados brutos, a un análisis dirigido mediante LC-QqLIT-MS/MS, a un análisis de compuestos sospechosos por LC-QTOF-MS y a un análisis de compuestos sospechosos por GC-Q-MS (ver descripción y procedimiento en apartados III.3.2.1., III.3.2.2. y III.3.3). De esta manera, se evaluó y determinó el rendimiento de toda la línea de tratamiento propuesta con respecto a la eliminación de MC.

IV.1.4.1. Análisis dirigido de microcontaminantes mediante LC-QqLIT-MS/MS

Los lixiviados brutos y los efluentes de cada una de las etapas de la línea de tratamiento propuesta se analizaron utilizando el procedimiento descrito en el apartado III.3.2.1. El método propuesto permitía monitorear 115 MC. Se aplicó una técnica de inyección directa (ID) de las muestras, que minimiza las posibles pérdidas asociadas a la etapa de extracción. Esta técnica es adecuada cuando se usan sistemas de MS sensibles, como el analizador QqLIT, habiendo sido incluso necesario en algunos casos incluir una etapa de dilución.

Los resultados obtenidos se resumen en la Figura IV.12. Se detectaron diferentes tipos de MC (hasta 43 compuestos, 37% de los MC monitoreados) (Tabla IV.3) a concentraciones en el rango de ng/L a µg/L. Se observó una disminución significativa en la carga de MC durante las etapas de tratamiento, con una eliminación total del 94% respecto de la carga total inicial en el lixiviado bruto, de 624,3 µg/L.

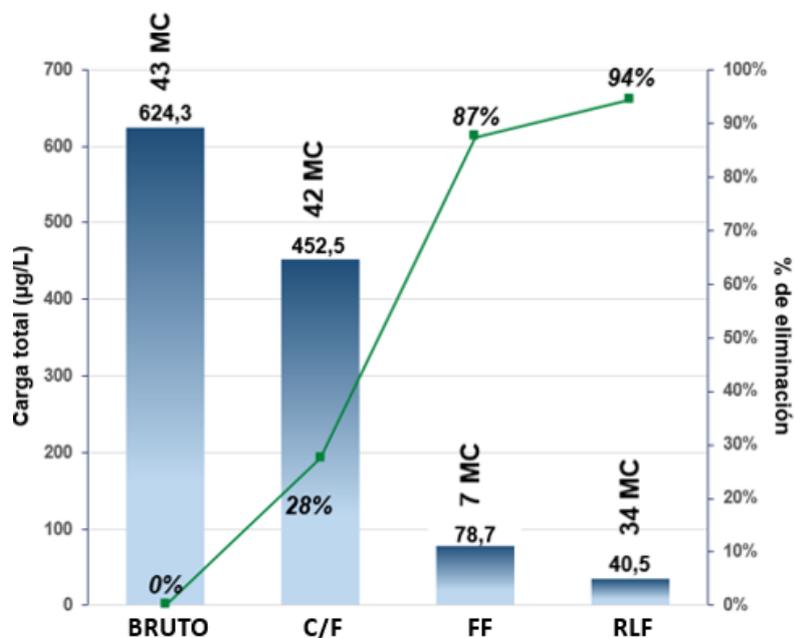


Figura IV.12. Resumen de los resultados obtenidos en el análisis dirigido de MC por LC-QqLIT-MS/MS: carga total de MC (µg/L), porcentaje de eliminación y número de MC detectados.

Tabla IV.3. Lista de los MC identificados y cuantificados por LC-QqLIT-MS/MS.

Clase	Compuesto	Lix. Bruto (ng/L)	Tras C/F (ng/L)	Tras FF solar (ng/L)	Tras biotratamiento en RLF (ng/L)
<i>Fármacos</i>	4-AAA ^a	2732	2074	-	1654
	4-DAA ^b	1186	1241	-	-
	Acetaminofen	3479	3538	-	-
	Acetanilida	1732	1612	-	-
	Ácido Clorofibrico ^c	3421	3907	-	4
	Ácido Diatrizoico	6464	7587	-	627
	Ácido Fenofibrico	3334	1879	11	632
	Ácido Mefanámico	473	38	-	-
	Antipirina	1563	1671	-	3548
	Atenolol	1360	1274	-	-
	Benzafibrato ^c	9376	7196	-	68
	Cafeina	867	654	-	1061
	Carbamazepina	2816	1991	-	146
	Cotina	63193	83563	-	-
	Diclofenaco	25115	10981	-	282
Diazepam	-	14	-	14	

Clase	Compuesto	Lix. Bruto (ng/L)	Tras C/F (ng/L)	Tras FF solar (ng/L)	Tras biotratamiento en RLF (ng/L)
<i>Fármacos</i>	Furosemida ^c	9881	4114	-	242
	Gabapentina	319489	194148	4892	15167
	Gemfibrozil ^c	8650	2352	-	1934
	Ketoprofeno	29516	22088	-	225
	Lansoprazol	144	-	-	9
	Lidocaina	12096	12632	-	253
	Mepivacaina	126	144	-	16
	Nicotina	27938	36841	8483	4408
	Paraxantina	1278	1212	-	859
	Pentoxifilina	3183	2800	-	239
	Primidona	402	283	-	135
	Propifenazona	6557	5738	-	-
Trigonelina	37265	16346	63777	1173	
<i>Pesticidas</i>	Acetamiprid	223	246	-	15
	Carbendacima	583	417	-	16
	Diuron	2338	1306	-	64
	Mecropop ^c	16770	15438	-	5
	Metalaxil	464	194	-	4
	Pirimicarb	631	198	-	-
	Propamocarb	2143	1786	-	65
	Primetanil	1217	1003	1579	93
	Terbutrina	400	176	4	49
Tiabendazol	2363	604	2	44	
<i>Antibióticos</i>	Claritromicina	365	319	-	14
	Lincomicina	1678	406	-	7
	Sulfadiacina	4221	1925	-	-
	Sulfametacina	1979	518	-	-
	Levofloxacino	5280	-	-	1371
CARGA TOTAL		624290	452453	78748	34441

^a4-AAA: 4-acetamidoantipirina; ^b4-DAA: 4-dimetilaminoantipirina; ^cCompuesto detectado con polaridad negativa.

De los 43 MC identificados en el lixiviado de vertedero bruto, 8 de ellos representan el 85% de la carga total: cotinina (metabolito de la nicotina), diclofenaco (agente antiinflamatorio no esteroideo), gabapentina (medicamento antiepiléptico, tratamiento del dolor neuropático), ketoprofeno (antiinflamatorio no esteroideo), lidocaína (anestésico local, agente antiarritmia), mecoprop (herbicida), nicotina (alcaloide tóxico del tabaco) y trigonelina (metabolito de la niacina o vitamina B3, biomarcador para el consumo de café, propiedades antidiabéticas, también se encuentran en las legumbres y en los productos de soja). Algunos de estos compuestos (cotinina, lidocaína y nicotina) ya habían sido reportados a niveles de concentración altos (> 50 µg/L) y con alta frecuencia de detección en lixiviados de EE. UU. (Masoner y col., 2014). Estos 8 MC

también representaron el 87% de la carga total del lixiviado pre-tratado mediante C/F. Después de la etapa de foto-Fenton solar (87% de eliminación), tres de estos ocho compuestos representaron el 98% del total (gabapentina, nicotina y trigonelina). Por último, después del tratamiento biológico en RLF (94 % de eliminación), la gabapentina, la nicotina y la trigonelina representaron el 60% de la carga, pero se obtuvo una eliminación sustancial de los mismos en el tratamiento. La concentración de gabapentina, nicotina y trigonelina fue de 319,5, 27,9 y 37,2 $\mu\text{g/L}$, respectivamente, en el lixiviado bruto y 15,1, 4,4 y 1,1 $\mu\text{g/L}$, después del tratamiento biológico.

Es importante clarificar que el efluente del proceso de foto-Fenton solar se transfirió a un RLF, y se mezcló, tanto en la operación en modo discontinuo como en continuo, con el caudal de entrada de una EDAR municipal para una adecuada adaptación de la biomasa. La mezcla con este influente provocó un pequeño incremento de las concentraciones de algunos MC en la salida del RLF (por ejemplo, gabapentina, Tabla IV.3). De hecho, de los 34 MC detectados después de la etapa de biotratamiento (ver Tabla IV.3), 27 provinieron del influente de la EDAR mezclado con el efluente del proceso de foto-Fenton solar (que contenía solo 7 MC), aunque estaban presentes a niveles de concentración muy bajos. Por otro lado, a lo largo del tratamiento en RLF y con una entrada continuada de algunos de los MC esto puede dar lugar a la liberación de algunos de ellos de la biopelícula, incluso una vez alcanzado el estado estacionario.

En resumen, el contenido de MC en lixiviados de vertedero sin procesar se eliminó claramente después de la línea de tratamiento propuesta, con una concentración global final de 40,5 $\mu\text{g/L}$, similar a la que se puede medir en un efluente biológico urbano típico (tratamiento primario + secundario) (Soriano-Molina y col., 2019). A pesar de que solo se han publicado unos pocos trabajos sobre este tema, la línea de tratamiento propuesta logró una mejor efectividad, en términos de degradación de los MC, que los resultados informados por otros autores, como por ejemplo, por Rocha y col. (2013). En este estudio, se confirmó la presencia de 40 MC (considerando los analitos compatibles con GC y LC) en lixiviados sometidos a un proceso de foto-Fenton, con una eliminación completa de solo 24 de ellos.

IV.1.4.2. Análisis de cribado de compuestos sospechosos mediante LC-QTOF-MS

Para aumentar el alcance del estudio de identificación de MC, se aplicó la estrategia de análisis de compuestos sospechosos descrita anteriormente (apartado III.3.2.2). Se creó para ello una lista de más de 1300 productos químicos a partir de la lista de sospechosos recogida en la web de la red NORMAN (NORMAN, 2018) y de información recogida en literatura. La identificación positiva de los compuestos en las muestras se basó en el cumplimiento de los criterios de identificación propuestos por Martínez-Piernas y col. (2018), que incluyen un error de masa inferior a 5 ppm para el ion precursor ($[M+H]^+$), una diferencia en la relación isotópica por debajo del 10%, una concordancia con los espectros de MS/MS superior al 80%, cuando el espectro se comparó con al menos una de las tres bibliotecas espectrales utilizadas (Sciex MS/MS Spectral Library, ChemSpider y MassBank) y la presencia de dos fragmentos de MS/MS característicos con un error inferior a 5 ppm. Una vez realizada la identificación tentativa de los compuestos, la confirmación definitiva de los mismos se realizó mediante la adquisición y análisis de los estándares analíticos correspondientes. Los compuestos confirmados se recogen en la Tabla IV.4: clorfenvinfos (pesticida), ácido niflúmico (analgésico y antiinflamatorio farmacéutico), tramadol (analgésico opioide) y valsartán (tratamiento de la hipertensión). Solo se encontraron en el efluente de la etapa de C/F y en el efluente de tratamiento biológico (debido probablemente, en este caso, a la mezcla con el influente de EDAR comentada anteriormente). Si bien estos compuestos eran de esperar que estuvieran presentes también en el lixiviado bruto, probablemente no se detectaron debido al intenso efecto matriz. No se encontraron compuestos sospechosos en el efluente del proceso foto-Fenton solar, evidenciando la efectividad de estos PAO para la eliminación de compuestos recalcitrantes.

Tabla IV.4. Resumen de los resultados obtenidos en el análisis de sospechosos por LC-QTOF-MS.

Etapas de la línea de tratamiento	Compuesto	Fórmula [M]	TR ^a (min)	[M+H] ⁺ (m/z)	Error de masa (ppm)	DRP ^b (%)	Concordancia MS/MS biblioteca (%)	>2 IP ^c (<5 ppm)	Confirmado con estándares
Efluente de la C/F	Clorfenvinfos	C ₁₂ H ₁₄ Cl ₃ O ₄ P	10.37	358,9768	-2,6	1,7	Sciex (97) Massbank(99)	Sí	Sí
	Ácido niflumico	C ₁₃ H ₆ F ₃ N ₂ O ₂	9.77	283,0688	-0,8	3,1	Sciex (93) Massbank(89)	Sí	Sí
	Tramadol	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	5.94	264,1958	-1,1	2,7	Sciex (90) Massbank(99)	Sí	Sí
	Valsartan	C ₂₄ H ₂₉ N ₅ O ₃	8.95	436,2343	-0,2	0,6	Sciex (91) Massbank(99)	Sí	Sí
	Tramadol	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	5.93	264,1958	-0,1	0,6	Sciex (99) Massbank(99)	No	Sí
	Valsartan	C ₂₄ H ₂₉ N ₅ O ₃	8.95	436,2343	0,7	3,0	Massbank(73) Chempider (90)	Sí	Sí
Efluente del RLF									

La variación de los niveles de concentración de los compuestos confirmados después de cada etapa de la línea de tratamiento se muestra en la Tabla IV.5.

Tabla IV.5. Evolución de los compuestos confirmados (área) en el análisis de sospechosos por LC-QTOF-MS.

Compuesto	Reportado anteriormente en lixiviados	Área				Eliminación (%)
		Bruto	Tras C/F	Tras FF solar	Tras RLF	
Clorfenvinfos	NO	N.D. ^a	86810	N.D.	N.D.	>99
Ácido niflúmico	NO	N.D.	152100	N.D.	N.D.	>99
Tramadol	SÍ	N.D.	176490	N.D.	71300	60
Valsartan	SÍ	N.D.	233030	N.D.	183000	21

^aN.D.: no detectado.

La eliminación fue superior al 99% para clorfenvinfos y ácido niflúmico, mientras que se obtuvieron porcentajes de eliminación inferiores para tramadol (60%) y valsartán (21%). Los cromatogramas de iones totales (TIC, siglas en inglés) obtenidos en *full scan* (Figura IV.13) por LC-QTOF-MS para cada etapa de la línea de tratamiento propuesta, reflejan una disminución general del número de picos detectados por el sistema debido a la eliminación del contenido orgánico, que incluye a los MC.

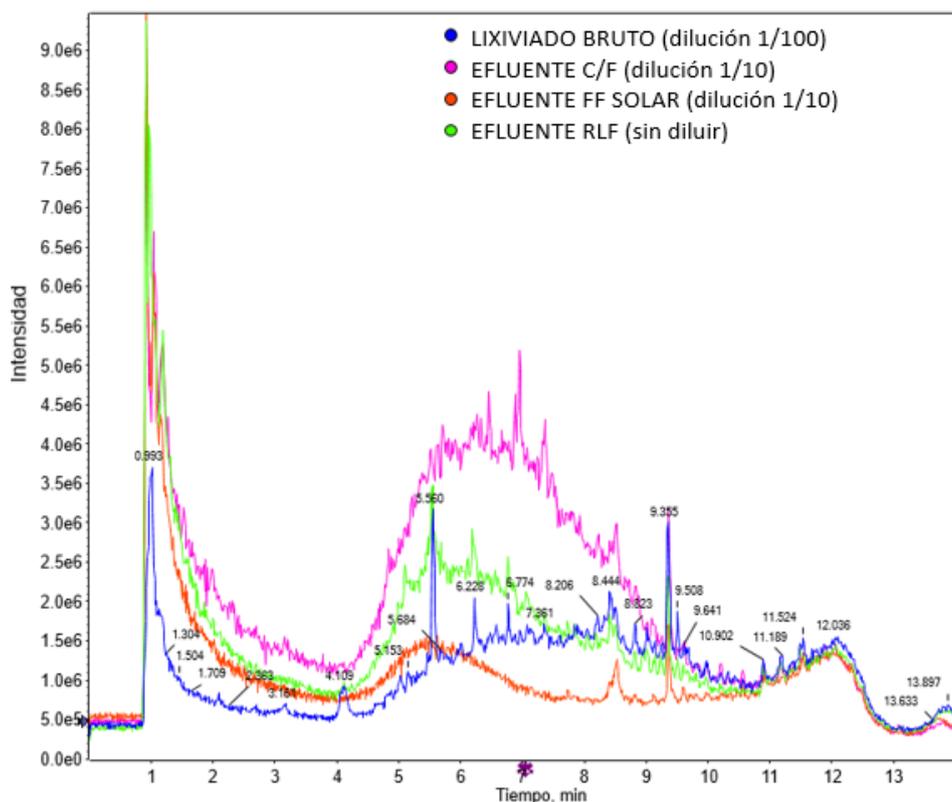


Figura IV.13. Comparación de los TIC obtenidos por LC-QTOF-MS del lixiviado bruto y del lixiviado después de cada etapa de la línea de tratamiento propuesta.

IV.1.4.3. Análisis de microcontaminantes sospechosos mediante GC-Q-MS

Con el fin de ampliar la capacidad de identificación de compuestos sospechosos a aquellos que por sus propiedades físico-químicas no son susceptibles de análisis en LC o cuya respuesta es limitada por esta técnica, se aplicó la estrategia de identificación, basada en el empleo de un sistema GC-Q-MS, descrita anteriormente en el apartado III.3.3. Debido a la limitada sensibilidad del analizador de cuadrupolo sencillo, operado en el modo *full scan*, y a la necesidad de realizar un cambio de disolvente, necesario para el análisis por GC, se procedió a aplicar una etapa de pre-concentración. Por ello, se llevó a cabo una extracción líquido-líquido de cada uno de los efluentes de cada etapa de la línea de tratamiento (descrita anteriormente en el apartado III.3.1). La extracción líquido-líquido es una metodología comúnmente utilizada en diferentes métodos de la EPA para la determinación de MC, como bifenilos policlorados, pesticidas clorados o dioxinas, y por lo general, se considera una técnica de extracción de referencia que proporciona una alta preconcentración de la muestra.

Para cubrir una amplia gama de polaridades, se aplicó la combinación de dos disolventes de extracción diferentes, diclorometano y n-hexano. Además, se utilizó una extracción secuencial para aumentar la capacidad de extracción y reducir el efecto de la matriz. También se extrajo un blanco de reactivo (análisis realizado con reactivos y disolventes, sin muestra, que se sustituye por agua MilliQ®) para evaluar los niveles de fondo de ciertas sustancias que pueden estar presentes en las muestras de lixiviados por efecto de una posible contaminación de las muestras durante la extracción y el análisis, como los ftalatos.

La identificación tentativa de los compuestos se realizó en base a los siguientes criterios: (i) el compuesto se buscó en una ventana de tiempo de retención de $\pm 0,350$ minutos, excepto en el caso de ciertos compuestos que generalmente muestran un ancho de pico alto o grupos de compuestos como triadimenol (± 0.700 minutos); (ii) se aplicó una tolerancia del 40% a las respuestas relativas de los iones de confirmación o cualificadores; (iii) se requirió una concordancia mínima del 60% con la biblioteca de espectros para considerar el compuesto como un posible candidato. También se tuvo en cuenta que el mismo compuesto sospechoso estuviera presente en los diferentes extractos de la misma muestra, así como la forma del pico, que puede ser muy característica para ciertos compuestos (por ejemplo, naftaleno).

La aplicación de la estrategia descrita permitió identificar tentativamente 19 compuestos (Tabla IV.6), que incluían plastificantes, plaguicidas, PAH y compuestos de almizcle, entre otros. Los estándares comerciales de los 19 candidatos seleccionados se adquirieron e inyectaron en el sistema GC-MS. 12 de los 19 candidatos fueron finalmente confirmados y determinados en las muestras con concentraciones en el rango de $0,02 \mu\text{g/L}$ (fenantreno) a $4,9 \mu\text{g/L}$ (diisobutil ftalato), como se muestra en la Figura IV.14. Algunos compuestos mostraron concentraciones más altas tras la C/F que en el lixiviado bruto, probablemente debido a un efecto matriz más alto en este último, que induce un efecto de supresión de la señal. En cualquier caso, se pudo confirmar una disminución de la concentración de los MC al final de la línea de tratamiento. Como se esperaba, los ftalatos mostraron concentraciones muy altas, debido a su uso prolongado como plastificantes. Tres de los compuestos determinados no habían sido reportados previamente en bibliografía: di-n-nonil ftalato (plastificante), o-fenilfenol (pesticida) y tonalida (fragancia).

Tabla IV.6. Resumen de los resultados obtenidos en el análisis de compuestos sospechosos mediante GC-Q-MS.

Compuesto	Etapas de la línea de tratamiento	Tipo de compuesto	Fórmula [M]	TR ^a (min)	Coincidencia biblioteca MS (%)	Confirmado con estándar
Bisfenol A	C/F ^b	Plastificante	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	23,92	89	NO
Butil-bencil ftalato	C/F	Plastificante (Lista de prioritarios EPA)	C ₁₉ H ₂₀ O ₄	27,15	88	Sí
Criseno	C/F	PAH (COP ^c , Lista de prioritarios EPA)	C ₁₈ H ₁₂	28,44	<50	NO
2,4-Diclorofenol	C/F	Intermedio (Lista de prioritarios EPA)	C ₆ H ₄ Cl ₂ O	5,23	80	Sí
DEET ^d	Bruto, C/F, FF, IBR	Repelente de insectos	C ₁₂ H ₁₇ NO	9,82	97	Sí
Diisobutil ftalato	C/F	Plastificante	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	15,95	91	Sí
Di- <i>n</i> -butil ftalato	C/F	Plastificante (Lista de prioritarios EPA)	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	18,43	90	Sí
Di- <i>n</i> -nonil ftalato	Brto, C/F, FF, IBR	Plastificante	C ₂₆ H ₄₂ O ₄	33,92	83	Sí
Difenilamina	C/F	Plaguicida	C ₁₂ H ₁₁ N	10,51	90	Sí
Fluoreno	C/F	PAH (COP, Lista de prioritarios EPA)	C ₁₃ H ₁₀	9,93	79	NO
Hexaclorobenceno	C/F	Plaguicida	C ₆ Cl ₆	12,38	<50	NO
Naftaleno	C/F	PAH (COP, Lista de prioritarios EPA, lista de prioritarios UE)	C ₁₀ H ₈	5,39	65	Sí
Anhídrido naftálico	C/F	Plaguicida	C ₁₂ H ₆ O ₃	20,13	73	NO
Fenantreno	Bruto, C/F	PAH (COP, Lista de prioritarios EPA)	C ₁₄ H ₁₀	13,82	82	Sí
<i>o</i> -Fenilfenol	C/F	Plaguicida	C ₁₂ H ₁₀ O	8,80	87	Sí
Pirimetanil	C/F	Plaguicida	C ₁₂ H ₁₃ N ₃	14,14	72	NO
Octaazufre (S8)	C/F	Plaguicida	-	20,05	55	NO
Tonalida	Bruto, C/F, FF, IBR	Compuesto de almizcle	C ₁₈ H ₂₆ O	10,96	80	Sí
Trifenil fosfato	C/F	Retardante de llama, plastificante	C ₁₈ H ₁₅ O ₄ P	27,71	83	Sí

^aTR: tiempo de retención; ^bC/F: efluente coagulación-floculación; ^cCOP: contaminante orgánico persistente; ^dDEET: *N,N*-Dimetil-*m*-toluamida.

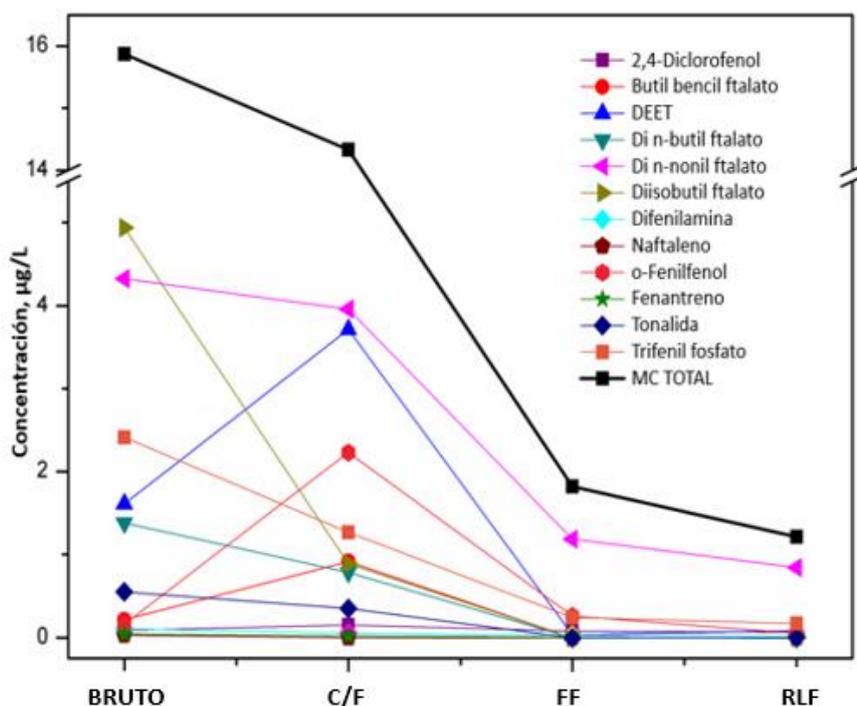


Figura IV.14. Evolución de las concentraciones de los MC confirmados por el análisis de sospechosos mediante GC-Q-MS.

Se detectaron cuatro ftalatos en el lixiviado bruto, con concentraciones que fueron desde 0,2 µg/L (butil bencil ftalato) hasta 4,9 µg/L (diisobutil ftalato). Estas concentraciones son comparables con los resultados reportados por Castillo y Barceló (2001) (di-n-butil ftalato, <1 µg/L) y Marttinen y col. (2003) (butil bencil ftalato <1 µg/L y di-n-butil ftalato, <20 µg/L). Sin embargo, Rocha y col. (2013) reportaron niveles considerablemente más altos (<500 µg/L) para butil bencil ftalato y di-n-butil ftalato. En el caso de los PAH, el naftaleno y el fenantreno se confirmaron a niveles inferiores a 0,05 µg/L. Se han reportado concentraciones similares para estos dos PAH en estudios previos (Marttinen y col., 2003). Masoner y col. (2014), estudiaron lixiviados con composiciones de residuos, edades y características geográficas/climáticas muy diferentes, y determinaron concentraciones más altas para ambos PAH, con valores medios de 5 µg/L para naftaleno y 1 µg/L para fenantreno. El DEET (N, N-dimethyl-m-toluamide) es un compuesto relevante, frecuentemente reportado en lixiviados en niveles altos, con un valor medio de 70 µg/L (Masoner y col., 2014). Sin embargo, la concentración encontrada para este compuesto en los lixiviados brutos estudiados en este trabajo fue baja (1,61 µg/L). En el caso del trifenil fosfato, la concentración reportada por Masoner y col. (2014) es bastante

similar ($2 \mu\text{g/L}$). Tonalida se ha señalado como uno de los compuestos de almizcle más abundantes en el medio ambiente, pero no se había detectado en trabajos previamente publicados sobre lixiviados de vertedero.

Con respecto a la efectividad de la línea de tratamiento propuesta para eliminar los compuestos confirmados, se muestra un resumen de los resultados en las Figuras IV.14 y IV.15. Los TIC obtenidos en *full scan* para el efluente de la etapa de C/F y del proceso foto-Fenton solar (Figura IV.15) indican una reducción clara del área de los picos. Esto se puede interpretar como una reducción general de los componentes de los diferentes efluentes, incluyendo los MC y otros compuestos desconocidos que podrían estar presentes. Más concretamente, para los compuestos sospechosos confirmados con estándares (Figura IV.14), se observó una reducción de la concentración total de MC después del proceso foto-Fenton solar del 89% y una eliminación del 92% considerando la línea de tratamiento completa.

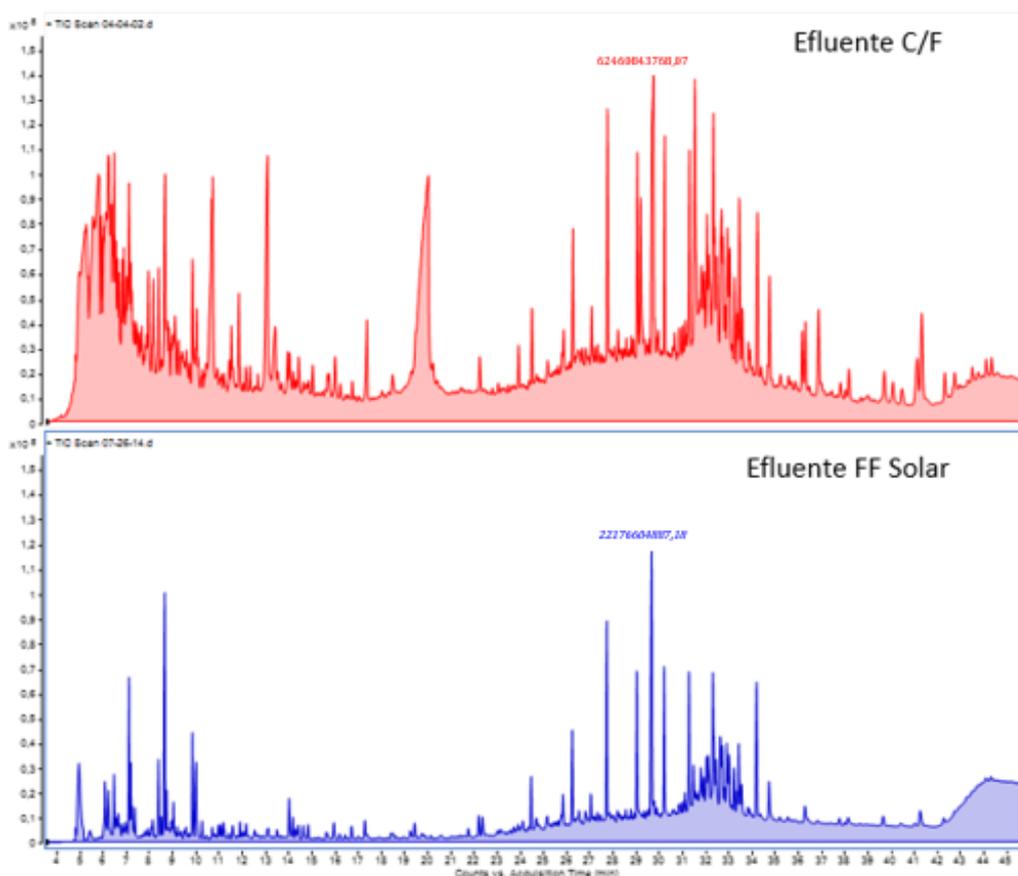


Figura IV.15. Comparación de los cromatogramas de iones totales (TIC), obtenidos en modo *full scan* por GC-Q-MS, del efluente después de la C/F y del efluente después de la etapa de foto-Fenton solar (también se muestra el área total).

La Tabla IV.7 muestra las concentraciones de los MC sospechosos confirmados con estándares encontrados en cada etapa de la línea de tratamiento. Se aprecia como el proceso foto-Fenton solar es efectivo para la degradación de estos compuestos recalcitrantes eliminando los MC casi por completo y haciendo el efluente compatible con el tratamiento biológico posterior. Aunque la concentración de di-n-nonil ftalato en este efluente fue algo alta en comparación con los otros compuestos (1,18 µg/L), se obtuvo una eliminación del 81% al final de la línea de tratamiento.

Tabla IV.7. Resumen de las concentraciones de MC (µg/L) encontradas mediante el análisis de sospechosos por GC-Q-MS.

Compuesto	Lixiviados Brutos	Efluente C/F	Efluente FF solar	Efluente RLF	% de eliminación
2,4-Diclorofenol	0,09	0,15	0,08	0,06	28
Butil-bencil ftalato	0,21	0,92	0	0	>99
DEET	1,61	3,71	0,03	0,08	95
Di-n-butil ftalato	1,38	0,78	0	0	>99
Di-n-nonil ftalato	4,33	3,96	1,18	0,84	81
Diisobutil ftalato	4,94	0,89	0	0	>99
Difenilamina	0,11	0,06	0,03	0,01	89
Naftaleno	0,03	0	0	0	>99
o-Fenilfenol	0,16	2,23	0,26	0,05	69
Fenantreno	0,04	0,02	0	0	>99
Tonalida	0,55	0,35	0	0	>99
Trifenil fosfato	2,41	1,27	0,24	0,17	93
CARGA TOTAL	15,87	14,33	1,82	1,22	
% DE ELIMINACIÓN TOTAL		10%	89%	92%	

IV.1.5. Aplicación de sistemas de destilación por membranas para la recuperación de nutrientes

Uno de los nutrientes especialmente interesantes para las actividades agrícolas y de producción de alimentos es el nitrógeno, incluso más cuando está en forma de amonio, debido a sus propiedades para ser mejor adsorbido por los cultivos. Una gran acumulación de este compuesto se puede encontrar en diferentes plantas de tratamiento de aguas residuales cuando la relación entre la carga de carbono orgánico y de nitrógeno está desequilibrada. Por lo tanto, en lugar de invertir en la adición de otras fuentes de carbono biodegradable o la implementación de ciclos de oxígeno anóxico/aeróbico para propósitos

de eliminación de nutrientes (o sistemas específicos de anamox), se propone la recuperación directa de esta especie cuando el proceso de nitrificación no se haya dado de forma completa. Es importante destacar que el amonio también está comúnmente presente en varias aguas residuales industriales (electrónica, petroquímica, farmacéutica, producción de fertilizantes, industrias de fabricación de acero, etc.), aguas residuales agrícolas y lixiviados de vertedero. Su eliminación representa un cuello de botella en la estrategia de tratamiento de dichas aguas residuales complejas y resulta esencial cuando se considera la posible reutilización de este tipo de aguas (como por ejemplo en el riego de cultivos), con el objetivo principal de reducir la huella hídrica de dichas actividades industriales. En consecuencia, el esfuerzo tecnológico debe centrarse en la recuperación de dicha especie de nitrógeno en lugar de gastar mucho esfuerzo en su transformación a nitrato y finalmente a nitrógeno (N_2 , normalmente mediante procesos de desnitrificación en sistemas biológicos avanzados). Por tanto, se puede decir que en la actualidad existe la necesidad de encontrar una técnica de separación alternativa para una recuperación sostenible y eficiente de amoníaco para reutilizarlo en la preparación de fertilizantes específicos. Teniendo en cuenta la reducción del impacto negativo del uso de la fertilización con base química, la producción de fertilizantes a base de amoníaco a partir de aguas residuales complejas tiene un mercado prometedor y un claro valor agregado. Recientemente se ha propuesto que la recuperación de nutrientes disponibles de las aguas residuales (como el amoníaco y el fósforo) se convierta en una estrategia para producir fertilizantes verdes.

En este sentido, y como parte de uno de los objetivos específicos de esta Tesis Doctoral, se ha llevado a cabo la optimización de un sistema de destilación por membranas de contacto directo (DCMD, siglas en inglés) (descrito detalladamente en el apartado III.11) a escala de laboratorio para la recuperación de amonio de un efluente simulado de EDAR (ASS, ver apartado III.1.2). Las condiciones de operación se optimizaron estudiando los efectos de la concentración de amonio, pH y temperatura del canal de alimentación y la concentración de la solución receptora de H_2SO_4 (para la recuperación de amoníaco en forma de amonio) en la corriente de permeado del sistema bajo el uso de una membrana de PTFE. Así, se obtuvo sulfato de amonio como producto final. Además, se aplicaron las condiciones de operación óptimas para estudiar la influencia de la concentración de nitratos (componente representativo de las aguas residuales) en la recuperación de amonio, así como para determinar el porcentaje de recuperación de amonio al introducir

en el sistema MD aguas residuales reales tomadas de una EDAR ubicada en Oporto (caracterización en el apartado III.1.2). Finalmente, dichas condiciones óptimas se aplicaron para la recuperación del amonio acumulado en el efluente del RLF tras el tratamiento de los lixiviados de vertedero objeto de estudio en esta Tesis Doctoral.

IV.1.5.1. Optimización de los parámetros de operación de la DCMD.

En primer lugar, se llevaron a cabo una serie de experimentos preliminares para el estudio de la influencia del caudal de alimentación en el factor de recuperación de amonio. Para ello, se realizaron experimentos a pH 8 y pH 12 con un caudal de alimentación 300 mL/min y 500 mL/min, siendo este igual al del permeado bajo unas condiciones concretas: 100 mg/L de NH_4^+ en la alimentación, 80°C de temperatura de alimentación, 20°C de temperatura del permeado y una concentración de ácido sulfúrico receptor de 0,01M. Estos resultados se muestran en la Figura IV.16.

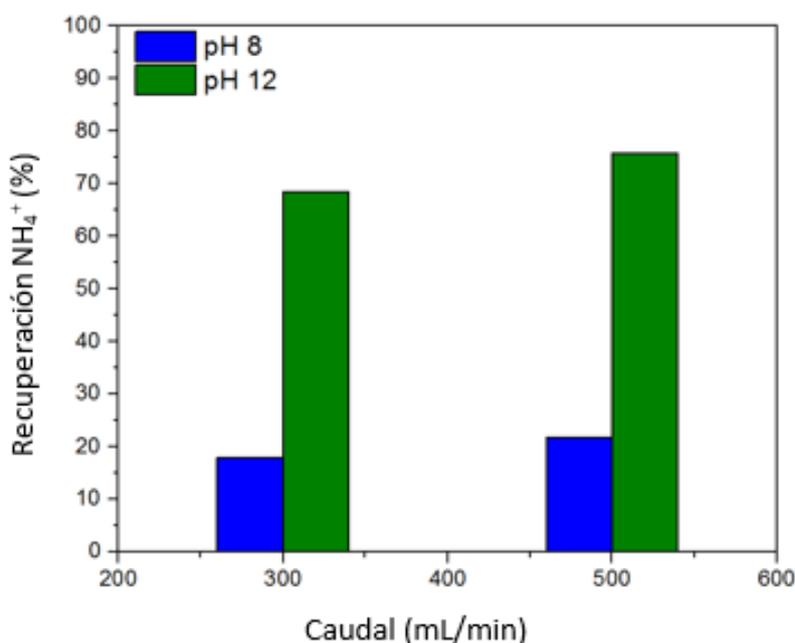


Figura IV.16. Variación del porcentaje de recuperación de amonio frente al caudal de alimentación a pH 8 y 12.

Se puede observar que, para un pH dado, el aumento del caudal no influye prácticamente en la recuperación de amonio en el permeado. Por ejemplo, para un pH de 8 se obtuvo una recuperación de amonio del 17,8% para un caudal de 300 mL/min y una recuperación

del 21,8% para un caudal de 500 mL/min. Para un pH 12 ocurrió prácticamente igual, hubo muy poca diferencia en la recuperación de amonio obtenida al variar el caudal, aunque queda claro que el pH sí que influye de forma significativa en el porcentaje de recuperación de este nutriente. En ambos casos, la difusión de amoníaco de la alimentación a la superficie de la membrana y las condiciones de mezcla son muy similares, lo que da como resultado prácticamente la misma transferencia de masa de amoníaco y vapor de agua. Además, se debe considerar un compromiso entre la recuperación de amonio y el gasto energético referido al caudal. Debido a esto, se seleccionó y fijó un caudal de 300 mL/min, tanto en el permeado como en la alimentación, para llevar a cabo el diseño experimental. Es importante mencionar que, tanto el caudal como la temperatura de la celda en el lado del permeado no son factores del diseño experimental, por lo que se fijaron en 300 mL/min y 20°C, respectivamente.

La optimización del sistema DCMD se llevó a cabo mediante un diseño experimental factorial general completo de dos niveles en el programa Minitab® 18 (procedimiento descrito en el apartado III.11) dando lugar a la matriz de experimentos que se muestra en la Tabla IV.8. Los factores que se estudiaron fueron: concentraciones de amonio (100-400 mg/L) y ácido sulfúrico (0,01-0,5 mol/L), pH (7 y 12) y temperatura de la celda de alimentación (40-80 °C).

Tabla IV.8. Matriz de experimentos del diseño experimental factorial general completo de dos niveles. Porcentajes de recuperación de amonio obtenidos para cada experimento.

Experimento	pH	NH ₄ ⁺ , mg/L	H ₂ SO ₄ , mol/L	T celda alimentación, °C	Recuperación NH ₄ ⁺ , %
1	7	100	0,01	40	2,0
2				80	9,6
3			0,5	40	1,0
4				80	12,8
5		400	0,01	40	0,7
6				80	2,3
7			0,5	40	0,5
8				80	3,1
9	12	100	0,01	40	44,9
10				80	68,5
11			0,5	40	42,8
12				80	62,2
13		400	0,01	40	29,3
14				80	46,3
15			0,5	40	40,1
16				80	68,4

La Figura IV.17, muestra los gráficos de efectos principales de cada variable estudiada en el diseño experimental con respecto al factor respuesta, es decir, el porcentaje de recuperación de amonio. Tal y como se puede observar en dichos gráficos, y como cabía esperar, el efecto más significativo lo muestra el pH, ya que mayores valores de este parámetro en la alimentación dan lugar a mayores porcentajes de recuperación de amonio en el permeado. Sin embargo, el efecto del resto de variables se mostró más suave. Para el caso de la temperatura de la celda de alimentación y la concentración de H_2SO_4 , también se observaron incrementos del porcentaje de recuperación de amonio al aumentar dichos parámetros, aunque de una forma menos acentuada que el pH. Por el contrario, la gráfica de efectos muestra una ligera reducción en la recuperación de este nutriente con el aumento de la concentración de amonio en el caudal de alimentación.

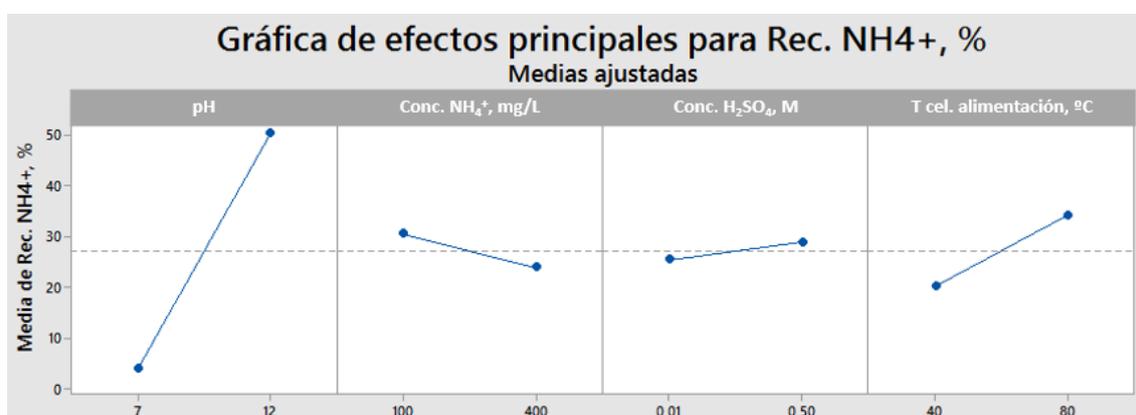


Figura IV. 17. Efectos principales de cada variable sobre la recuperación de amonio en el permeado.

La Figura IV.18 muestra la gráfica de Pareto de efectos estandarizados, la cual informa de la influencia de los parámetros experimentales o qué interacciones entre ellos son más significativas con un intervalo de confianza del 95%, considerando el efecto significativo cuando éste sobrepasa la línea de referencia. Dicha gráfica confirma que los efectos más significativos son el pH de la alimentación y su temperatura, además de la interacción entre estas dos variables, verificando los resultados obtenidos en la Figura IV.17.

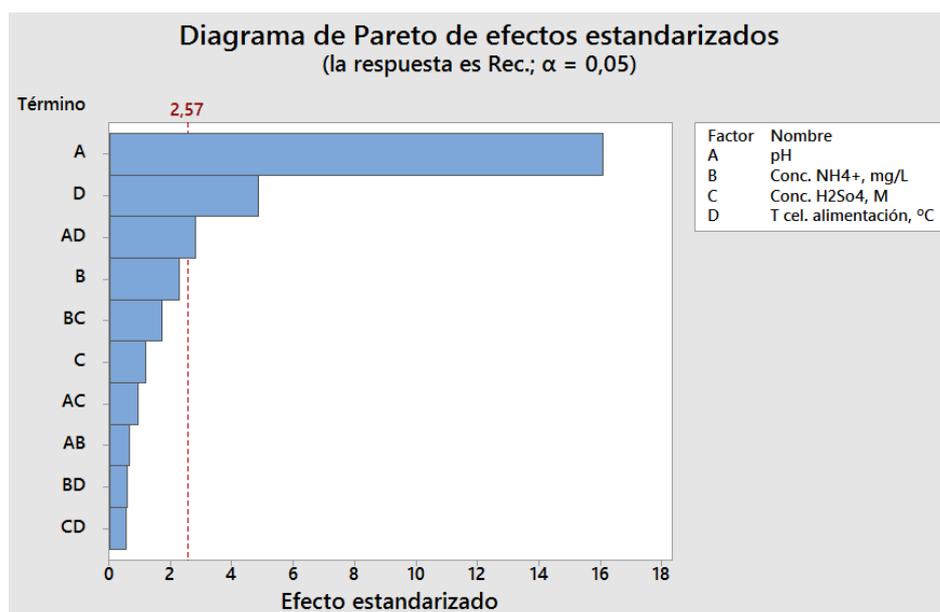


Figura IV.18. Diagrama de Pareto del diseño experimental factorial general completo de dos niveles en Minitab® 18.

La influencia tan significativa del pH en todos los experimentos se observa en los resultados de recuperación de amonio que se recogen en la Tabla IV.8, de forma que un incremento del pH de 7 a 12 lleva a un aumento máximo en la recuperación de amonio del 12,8 % al 68,5%, para la máxima temperatura de la celda de alimentación (80 °C) (Figura IV.19).

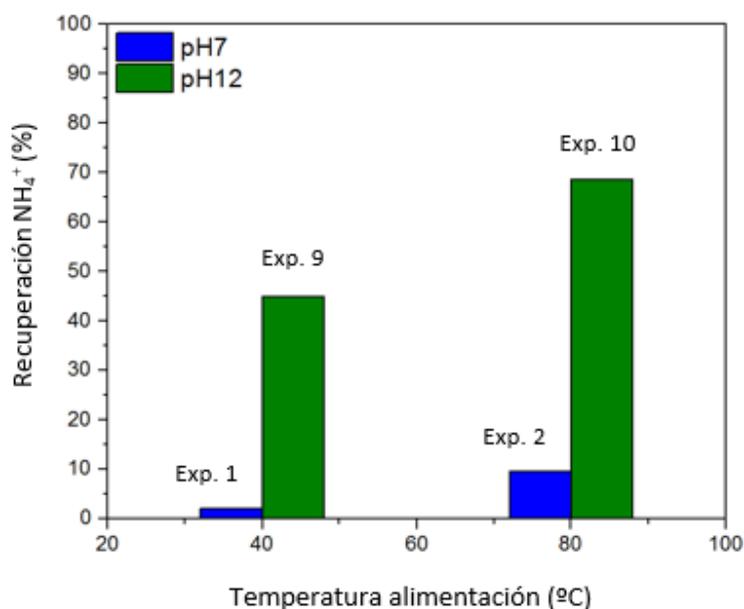


Figura IV.19. Porcentaje de recuperación de amonio frente a la temperatura de alimentación a pH 7 y 12 (experimentos 1, 9, 2 y 10 de la Tabla IV.8).

El efecto del pH se explica a partir del equilibrio de disociación del amonio (Reac. IV.4), el cual se desplaza claramente hacia la producción de amoníaco (volátil), a un pH más elevado.



Por tanto, a un pH de 12, el aumento en el porcentaje de recuperación de amonio se debe al enriquecimiento de la solución de alimentación en amoníaco, de manera que una mayor cantidad de este componente atraviesa la membrana junto con el vapor de agua, pasando al lado del permeado, y recogándose en la disolución de ácido sulfúrico en forma de sulfato de amonio.

Por otro lado, y con respecto a la temperatura de alimentación, se estudiaron 40°C y 80°C, manteniendo la temperatura del lado del permeado en 20°C (efecto del aumento de ΔP de 6 a 49 kPa). Dicho aumento de temperatura también llevó a un incremento claro en el porcentaje de recuperación de amonio, tal y como se observa en la Figura IV.19, siendo este efecto aún más destacado cuando el pH aumentó a 12 (del 42,9% al 68,5%). Tal y como se esperaba, el incremento en las diferencias de temperatura entre la solución de alimentación y el permeado mejoró la transferencia de masa (Shim y col., 2015) y con esto se favoreció la difusión a través de la membrana. La presión de vapor de la solución de alimentación, la presión de vapor transmembrana y la fuerza motriz aumentaron. Además, debido a la naturaleza endotérmica de la disociación de los iones de amonio, se favoreció la presencia de amoníaco volátil (Salavera y col., 2005). Además, la solubilidad del amoníaco disminuye al aumentar la temperatura, lo que resulta en una mayor presión de vapor total (Xie y col., 2009).

La Figura IV.20, muestra la superficie de respuesta del efecto de la temperatura y el pH de la alimentación frente al factor respuesta manteniendo la concentración de amonio a 200 mg/L y 0,01 M de H₂SO₄.

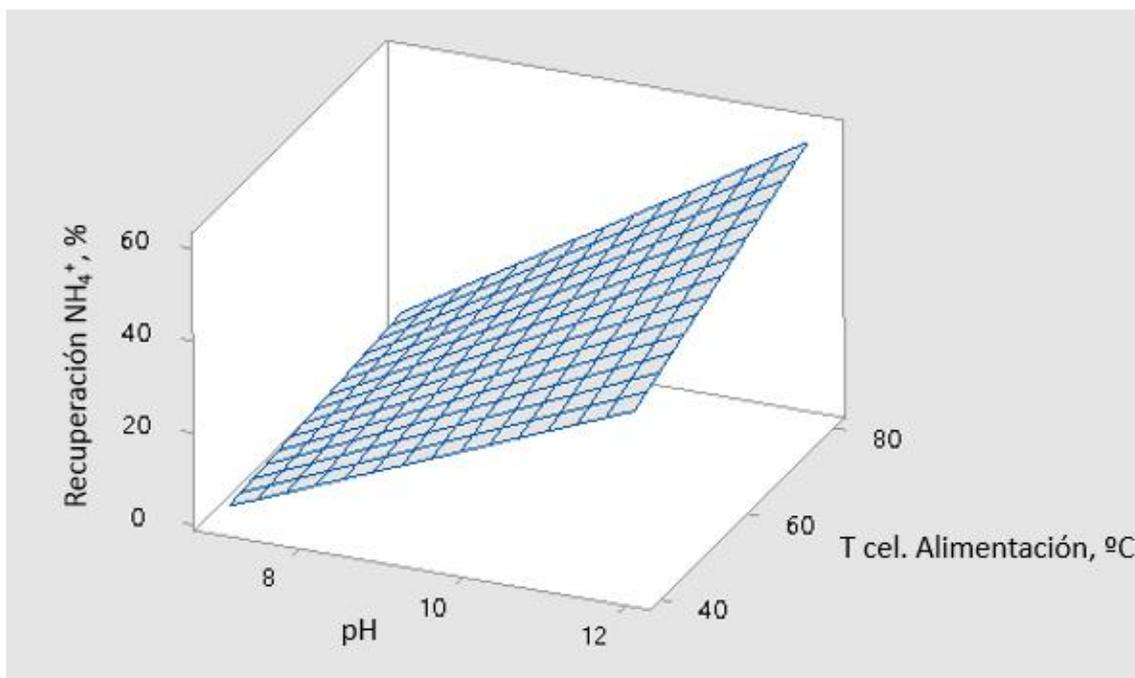


Figura IV.20. Superficie de respuesta en ASS para la recuperación de amonio a 200 mg/L de NH_4^+ en la alimentación y 0,01 M de solución receptora de H_2SO_4 (20°C de temperatura de permeado y 300 mL/min como caudal de permeado y alimentación).

Tal y como se ha venido comentando, la superficie de respuesta muestra claramente cómo los mayores porcentajes de recuperación de amonio se consiguieron cuanto mayor fueron el pH y la temperatura del caudal de alimentación.

Si se representa la superficie de respuesta (Figura IV.21) en la que se muestra el efecto de las concentraciones de amonio en la alimentación y de ácido sulfúrico en el permeado, sobre el porcentaje de recuperación de amonio, se observa que a medida que aumentaba dicha concentración de amonio, era necesario aumentar la concentración de ácido sulfúrico como solución de extracción, para obtener la mayor recuperación de amonio en el permeado.

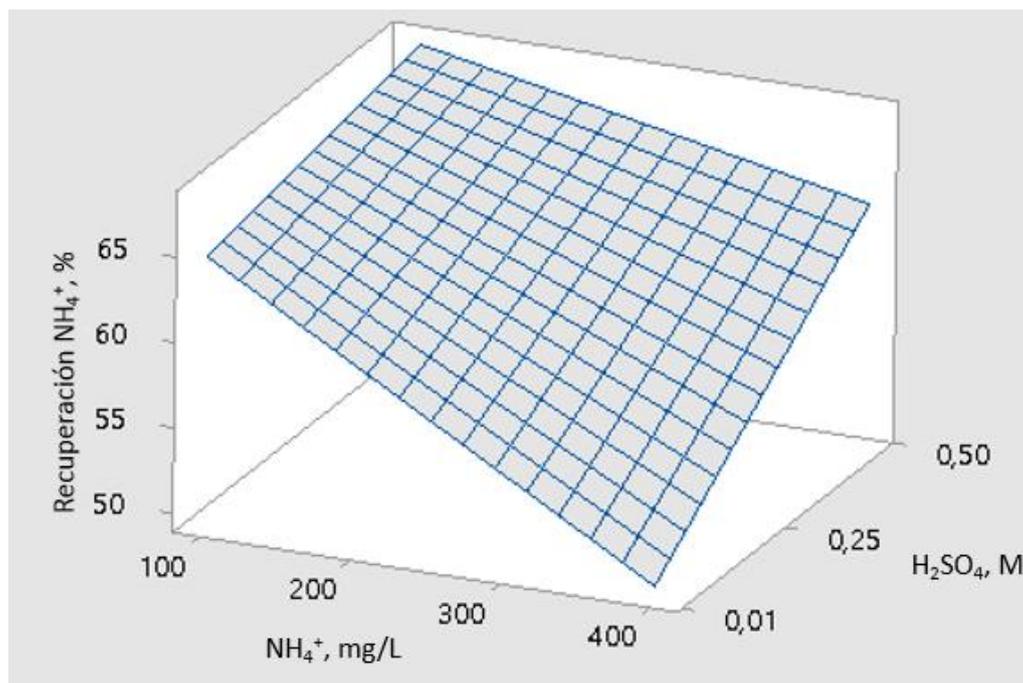


Figura IV.21. Superficie de respuesta en ASS para la recuperación de amonio a pH de la alimentación de 12 y 80°C como temperatura de alimentación (20°C de temperatura de permeado y 300 mL/min como caudal de permeado y alimentación).

Según esta superficie de respuesta, se obtendría una máxima recuperación de amonio (66%) con el uso de una concentración de 0,5 M de H_2SO_4 para los 200 mg/L de amonio en la solución de alimentación y las condiciones de pH y temperatura óptimas de 12 y 80°C, respectivamente. Y una recuperación de amonio de 60% usando una concentración de sulfúrico de 0,01M bajo las mismas condiciones de pH y temperatura. Se observa pues, como la diferencia en la recuperación de amonio es mínima, aunque sí que existe una gran diferencia en la concentración de sulfúrico.

La concentración de amonio en la alimentación mostró una influencia muy significativa para ambos pH de trabajo (7 y 12), un aumento de la misma disminuyó la recuperación de amonio en el permeado, siendo el descenso más notable cuando se trabaja a pH 12. Por ejemplo, comparando los experimentos 10 y 14, donde el pH fue de 12, la concentración de ácido sulfúrico fue de 0,01 M y la temperatura de alimentación fue de 80 °C y solo la concentración de amonio de alimentación cambió de 100 a 400 mg/L, la recuperación de amonio en el permeado disminuyó aproximadamente en un 22%. Esto se debió al hecho de incrementar mucho la concentración de amonio en la alimentación

manteniendo la concentración de la solución receptora de ácido sulfúrico en el permeado, no pudiéndose recoger todo el amoníaco, parte de este se perdió y el factor de recuperación disminuyó.

Con referencia al pH 7, la recuperación de amonio es prácticamente independiente de la concentración de ácido sulfúrico que se utilizó. La poca recuperación lograda aumentó muy poco usando 0,5 M en lugar de 0,01 M de H₂SO₄, debido a que el equilibrio a dicho pH se desplaza muy poco hacia la formación de amoníaco. Si el pH estudiado es 12, 0,01M de ácido sulfúrico conduce a una mayor recuperación de amonio cuando se trabaja con 100 mg/L de solución de alimentación de amonio. La recuperación de amonio en el permeado disminuyó un 2% cuando se usó ácido sulfúrico 0,5 M (a una temperatura de alimentación de 40 °C) y un 6,3% cuando la temperatura de alimentación fue de 80 °C. Si el caudal de alimentación tiene 400 mg/L de amonio, el aumento en la recuperación al usar 0,5 M en lugar de 0,01M de H₂SO₄ fue más relevante. La recuperación aumentó de 29,3% a 40,1% cuando la temperatura de alimentación fue de 40 °C y de 46,3% a 68,5% cuando la temperatura fue de 80 °C. Cabe señalar, que el rechazo en el sistema DCMD de los iones presentes en la alimentación (calcio, magnesio, sodio y potasio) fue prácticamente del 100% en todos los casos.

Como uno de los resultados del diseño experimental, el programa usado facilita una ecuación modelo que sigue un ajuste matemático de los resultados. En este caso esta ecuación es la Ec. IV.1, que ajusta los resultados con una bondad de R² de 0,984, lo que quiere decir que el modelo matemático puede explicar un 98,4% de la variabilidad del factor respuesta (recuperación de amonio):

$$\begin{aligned} \% \text{ Rec.} = & -30,1 + 4,49 \text{ pH} + 0,0015 [\text{NH}_4^+] - 40,6 [\text{H}_2\text{SO}_4] - 0,391 \text{ T cel.alimentación} \\ & - 0,00257 \text{ pH} * [\text{NH}_4^+] + 2,23 \text{ pH} * [\text{H}_2\text{SO}_4] + 0,0809 \text{ pH} * \text{T cel.alimentación} \\ & + 0,0675 [\text{NH}_4^+] * [\text{H}_2\text{SO}_4] - 0,000273 [\text{NH}_4^+] * \text{T cel.alimentación} \\ & + 0,158 [\text{H}_2\text{SO}_4] * \text{T cel.alimentación} \end{aligned} \quad (\text{Ec. IV.1})$$

Finalmente, y optimizando el sistema DCMD para lograr una maximización en el factor respuesta, el diseño experimental devolvió unas condiciones de operación óptimas (a un caudal fijo de alimentación y permeado de 300 mL/min y 20°C en el lado del permeado) de pH 12 con una temperatura de alimentación de 80°C, 0,5 M como solución de ácido sulfúrico y 100 mg/L de amonio en la alimentación (recuperación máxima de amonio del 66%). Sin embargo, y tal y como se observa en la Tabla IV.8., puesto que sólo se obtuvo

un 6% más de recuperación de amonio con 0,5 M de ácido sulfúrico en lugar de 0,01 M, se decidió trabajar con 0,01 M de H₂SO₄ como solución receptora en los siguientes experimentos llevados a cabo con agua real, con objeto de ahorrar en el consumo de este reactivo.

IV.1.5.2. Influencia de la presencia de nitrato en la recuperación de amonio.

Teniendo en cuenta que en esta Tesis Doctoral se plantea la recuperación de amonio directamente del efluente de un sistema biológico aerobio, es importante mencionar que la concentración de nitrato pudiera ser también muy elevada si el proceso de nitrificación estuviera funcionando de manera correcta. Por tanto, resulta interesante comprobar la posible influencia que este anión pudiera tener en la recuperación de amonio en el sistema DCMD optimizado. Este estudio se ha llevado a cabo a cuatro concentraciones diferentes de nitrato: 100, 250, 450 y 600 mg/L añadido a la alimentación del DCMD como KNO₃. Las pruebas DCMD se realizaron con las condiciones de operación óptimas descritas anteriormente. El contenido en amonio de la solución de alimentación fue de 200 mg/L de amonio (concentración aproximada de amonio de los lixiviados a la salida del RLF), y se utilizó una disolución de ácido sulfúrico de 0,01M para la recogida del permeado, como ya se ha comentado anteriormente.

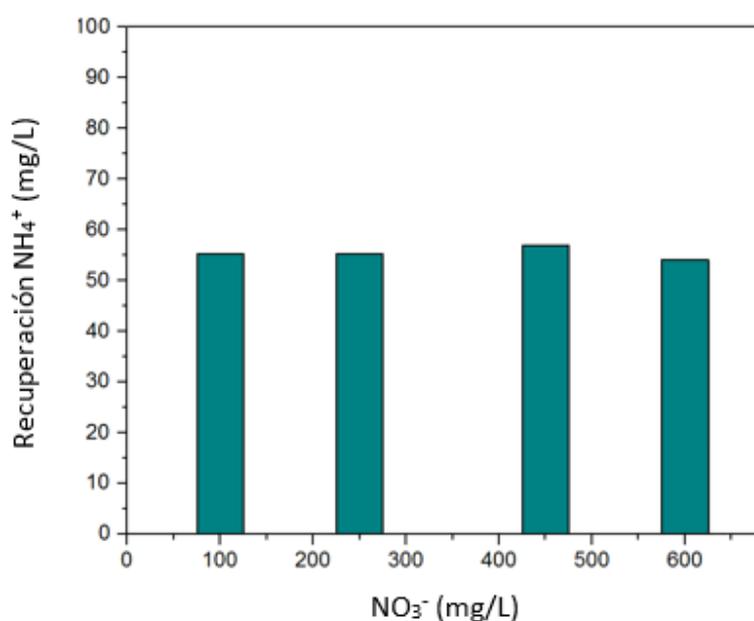


Figura IV.22. Efecto de diferentes concentraciones de nitrato en el porcentaje de recuperación de amonio en un sistema DCMD.

La Figura IV.22 muestra que la concentración de nitrato no influyó en el porcentaje de recuperación de amonio en el permeado. Se obtuvo una recuperación aproximada de amonio en el permeado del 55% para todas las concentraciones de nitrato estudiadas y trabajando en las condiciones de operación óptimas definidas en el diseño experimental.

IV.2.5.3. Aplicación de las condiciones de operación óptimas del sistema DCMD en aguas reales.

En primer lugar, se probaron las condiciones de operación óptimas encontradas para el sistema DCMD a escala de laboratorio ($Q_{\text{alimentación}}=Q_{\text{permeado}}= 300 \text{ mL/min}$, temperatura del lado permeado a 20°C , pH 12, 80°C como temperatura de alimentación y solución de ácido sulfúrico de $0,01 \text{ M}$), para la recuperación de amonio a partir del efluente del tratamiento secundario de una EDAR de Maia (Oporto, Portugal) (descrita en el apartado III.1.2). Puesto que el proceso de nitrificación ocurría de forma completa y correcta en dicha EDAR, fue necesario añadir al efluente de la misma, una concentración de 200 mg/L de amonio en forma de NH_4Cl , a semejanza de la obtenida como media en la salida del RLF tras el tratamiento de los lixiviados de vertedero.

Se obtuvo un porcentaje de recuperación de amonio en el permeado del 55%, muy similar al esperado (60%) de acuerdo con la superficie de respuesta mostrada en la Figura IV.21. Este resultado demuestra la escasa influencia que sobre el proceso de recuperación de amonio mediante DCMD tienen el resto de componentes que forman parte del agua real de salida de una EDAR, y que normalmente no se encuentran contemplados en la receta de agua simulada.

Por último, se utilizó el sistema DCMD bajo las mismas condiciones óptimas de operación para obtener el mayor porcentaje de recuperación de amonio posible, a partir del efluente del RLF obtenido tras el tratamiento completo de los lixiviados de vertedero. Dicha concentración de amonio a la salida del reactor biológico fue de $190,5 \text{ mg/L}$ y se logró un porcentaje de recuperación del 53,3%. Cabe destacar la mínima diferencia que existe entre este valor y el esperado según la superficie de respuesta de la Figura IV.21 (60,5%), que se calculó a partir de experimentos llevados a cabo con efluente de EDAR simulado, en comparación con la naturaleza mucho más compleja del lixiviado de vertedero, aún después de pasar por toda la línea de tratamiento definida a lo largo de esta Tesis Doctoral.

IV.1.6. Conclusiones

Los resultados obtenidos a partir de la experimentación desarrollada en esta primera parte de la Tesis Doctoral permiten llevar a cabo el tratamiento de lixiviados de vertedero como ARI no biodegradables para su regeneración, reutilización y revalorización, estudiando y definiendo, por primera vez, una línea completa de tratamiento basada en la combinación de tecnologías físicas, químicas (con aprovechamiento de la energía solar), biológicas y sistemas de membranas, con el objetivo final de la recuperación de nutrientes para su posible aplicación en riego de cultivos. Además, se han aplicado nuevas estrategias analíticas y microbiológicas avanzadas para la identificación de compuestos desconocidos a lo largo del tren de tratamiento y la caracterización específica de las nuevas poblaciones microbianas desarrolladas en el sistema biológico adaptado a los lixiviados parcialmente tratados. Estos resultados proporcionan una información muy valiosa e interesante para el diseño de sistemas específicos de tratamiento para ARI con características similares a los lixiviados de vertedero, inclusive para distintos tipos de lixiviados, dependiendo del tipo de vertedero del que procedan.

Son varias las conclusiones que se extraen de los estudios llevados a cabo a lo largo de la línea de tratamiento propuesta para este tipo de aguas residuales. En primer lugar, queda ampliamente demostrada la necesidad de abordar el estudio del tipo de tecnología más apropiada para el tratamiento de un ARI, tras una primera fase de C/F que permita la eliminación previa de, principalmente, sólidos en suspensión, turbidez y color, que puedan reducir la eficiencia de cualquier etapa de oxidación química posterior. El considerar siempre un pre-tratamiento físico-químico (de bajo coste) para este tipo de aguas, permite, como consecuencia, una reducción en los costes asociados al tratamiento de oxidación posterior, siempre que el objetivo sea incrementar la biodegradabilidad para poder combinar finalmente con un reactor biológico.

Además, tradicionalmente los sistemas de tratamiento biológico se han planteado con el objetivo no sólo de eliminar la carga orgánica, sino también los nutrientes, principalmente el nitrógeno, fósforo y azufre. De hecho, existen numerosos trabajos de investigación en los que se desarrollan nuevos sistemas biológicos (por ejemplo, Anamox) con el objetivo de eliminar completamente el nitrógeno presente en un agua residual. Sin embargo, a partir del trabajo desarrollado en esta primera parte de esta Tesis Doctoral, se demuestra el enorme interés que ofrece la recuperación de un nutriente como el amonio para otras

aplicaciones, tales como el riego de cultivos. Por tanto, y tras la adición de bicarbonato al caudal de alimentación del RLF, para favorecer el crecimiento de bacterias autótrofas que llevaran a cabo la mayor conversión de nitrógeno a amonio, se obtiene una acumulación del mismo en el caudal de salida de unos 200 mg N-NH₄⁺/L.

La recuperación de este nutriente se llevó a cabo mediante la aplicación de un sistema terciario basado en destilación por membranas de contacto directo con una membrana comercial de PTFE a escala de laboratorio. La optimización de dicho sistema de destilación por membranas con un efluente simulado (ASS) mostró claramente una mayor influencia del pH y de la temperatura del caudal de alimentación sobre el porcentaje de recuperación de amonio en una solución receptora de H₂SO₄ en el lado del permeado. A mayores valores de dichos factores, se obtuvo una mayor recuperación de este nutriente, llegándose a un máximo del 66%. Finalmente, la recuperación de un 53,3% del amonio contenido en el efluente del RLF tras el tratamiento completo de los lixiviados de vertedero, demostró la viabilidad e interés en la utilización de este tipo de tecnologías de membranas para la recuperación de nutrientes. Estos sistemas MD muestran, por tanto, un elevado potencial para este tipo de aplicaciones.

Por otro lado, es importante destacar la importancia del uso de técnicas microbiológicas (convencionales y avanzadas) como el conteo en placa, la extracción de ADN y la técnica de qPCR para el seguimiento del correcto funcionamiento del RLF y diagnóstico de perturbaciones en el sistema tales como las que se observaron en este trabajo de disminución tanto en la concentración total de bacterias heterótrofas como en la concentración total de ADN. Además, la utilización de técnicas microbiológicas avanzadas, como la secuenciación masiva, ha demostrado su utilidad para evaluar el comportamiento y modificación de la microfauna durante el tratamiento biológico, indicando la población predominante y la variación filogenética del sistema, suministrando también información de gran importancia sobre la caracterización del sistema biológico capaz de tratar este tipo de ARI complejas de forma eficiente, y, por tanto, de gran utilidad en el diseño de nuevos sistemas biológicos avanzados específicos.

Por último, se ha demostrado también el gran interés en la aplicación de técnicas analíticas avanzadas, como la cromatografía acoplada a espectrometría de masas (mediante análisis dirigido y de barrido de compuestos sospechosos) para la identificación y monitorización de compuestos desconocidos en ARI a lo largo de la línea de tratamiento. El conocimiento

del tipo de contaminantes contenidos en un ARI puede dar una información muy relevante respecto a la toxicidad y biodegradabilidad del mismo e inclusive, de la mejor tecnología de oxidación a aplicar. En esta Tesis Doctoral se ha empleado cromatografía líquida y de gases acoplada a espectrometría de masas de altas y baja resolución, para llevar a cabo un análisis de gran alcance, identificando y siguiendo los compuestos orgánicos presentes tanto en los lixiviados brutos, como en los efluentes obtenidos después de cada etapa a lo largo de la línea de tratamiento propuesta. Se confirmó una clara reducción del contenido de MC cuantificados del 94% respecto de la carga inicial. Además, se reveló la presencia de tres MC que no habían sido reportados previamente para este tipo de aguas residuales: di-n-nonil ftalato, *o*-fenilfenol y tonalida.

IV.2. Valorización de residuos en el proceso de foto-Fenton solar para la eliminación de microcontaminantes

IV.2.1. Aprovechamiento del residuo líquido obtenido en el procesado de aceite de oliva: alpechín

Atendiendo al objetivo específico de esta Tesis Doctoral correspondiente a la valorización de residuos y al aprovechamiento de ARI con elevado contenido en polifenoles como agentes complejantes del hierro (III), se estudia el efecto positivo de los mismos en el tratamiento mediante foto-Fenton solar a pH neutro de diferentes tipos de aguas conteniendo MC seleccionados de entre los recogidos en las Directivas 2013/39/CE y 2008/105/CE. De esta manera se evalúa esta opción como una alternativa sostenible al uso de agentes complejantes artificiales y comerciales tales como EDDS, ácido oxálico etc., con la consiguiente reducción en los costes de operación.

En primer lugar, se lleva a cabo el estudio del potencial de los polifenoles presentes en el residuo alpechín (OMW, siglas en inglés) como agente complejante del hierro (III) durante el proceso de foto-Fenton solar a pH neutro y comparando con el empleo de EDDS para la eliminación de los MC seleccionados descritos en el apartado III.1.4.

IV.2.1.1. Estabilidad del hierro a diferentes dosis de alpechín

En primer lugar, se midió el contenido en polifenoles del alpechín empleado (Tabla III.6 del capítulo III, lote 1), para lo que fue necesario usar un peso molecular promedio de referencia que permitiera determinar la relación molar entre los polifenoles del alpechín y el hierro requerido para llevar a cabo el proceso de foto-Fenton. Para ello, se seleccionó el ácido gálico (peso molecular: 170,12 g/mol), ya que es el estándar utilizado para los análisis de polifenoles mediante el método de Folin-Ciocalteu (Singleton y col., 1999). En estas condiciones, 6,3 g/L de polifenoles corresponden a una concentración molar de 37 mM. La concentración de hierro seleccionada fue de 0,1 mM (5,5 mg/L), ya que ha sido la más estudiada por diversos autores para el tratamiento mediante foto-Fenton de aguas residuales que contienen MC (De la Cruz y col., 2012; Cabrera Reina y col., 2015). Es necesario destacar que cualquier tratamiento con foto-Fenton a pH natural debe limitarse a una cinética rápida y a una baja concentración de hierro, de lo contrario, la cantidad de agente complejante que se agregaría sería demasiado alta, aumentando el contenido orgánico de las aguas residuales, lo que implicaría una competencia con los MC por los radicales hidroxilo. (Barbosa y col., 2016).

Hasta la fecha, no se disponía de información sobre las condiciones de complejación de los polifenoles contenidos en el alpechín con respecto a los grupos de coordinación (bidentados, tridentados, etc.) que forman anillos de quelatos. Por lo tanto, se eligió una dilución de alpechín para obtener una relación molar Fe^{3+} :polifenoles de 1:2, por analogía con la mejor relación reportada de Fe^{3+} :EDDS en bibliografía y previamente corroborada por trabajos de nuestro propio grupo de investigación (Klamerth y col., 2012; Huang y col., 2013; Miralles-Cuevas y col., 2014b; Clarizia y col., 2017). Así, debido a que la concentración inicial de Fe^{3+} fue 0,1 mM, se seleccionó una dilución 1:200 de alpechín (aproximadamente equivalente a 0,2 mM de polifenoles calculados como ácido gálico) como punto de partida alrededor del cual se estudiaron las condiciones de complejación entre el Fe(III) y diferentes diluciones del alpechín.

Se probaron seis diluciones diferentes de alpechín para determinar la estabilidad del hierro después de una hora de contacto: 1:100, 1:200, 1:400, 1:800, 1:1200 y 1:1500, a escala de laboratorio en un recipiente cilíndrico de vidrio Pyrex colocado en un agitador magnético (300 rpm). Se probaron diluciones superiores e inferiores a 1:200, tratando de encontrar la mejor relación para formar complejos estables con Fe que lo mantuvieran en

disolución. El pH se varió de 3 a 9, manteniendo también el pH deseado al menos una hora para alcanzar el estado de equilibrio. Se estudió la estabilidad de 0,1 mM de Fe^{3+} en agua desmineralizada (AD) y agua natural (AN) y las mismas diluciones de alpechín también se evaluaron agregando 50 mg/L de H_2O_2 (Figura IV.23). Solo se comentan los resultados obtenidos con adición de peróxido de hidrógeno ya que los resultados obtenidos en su ausencia fueron similares. Las concentraciones de hierro se midieron filtrando la muestra y sin filtrar con objeto de diferenciar la presencia de complejos de hierro de gran tamaño que pudieran quedar retenidos en el filtro.

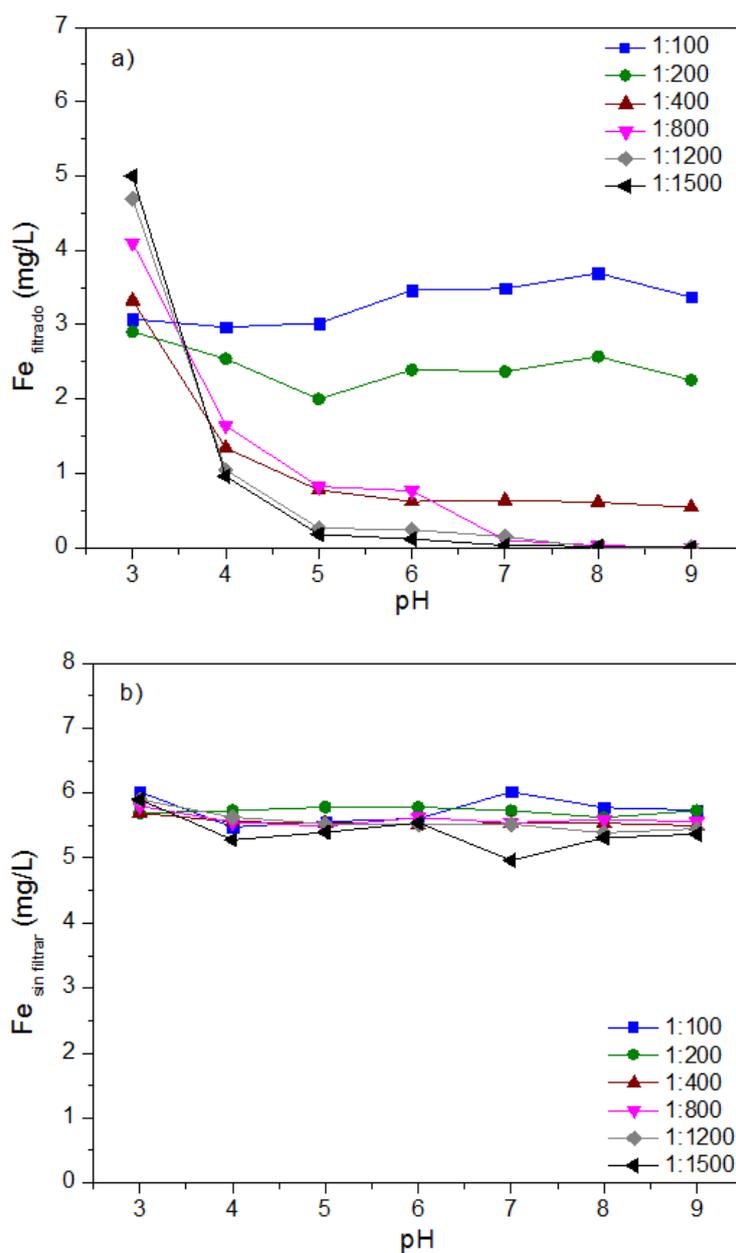


Figura IV.23. Concentración de hierro a lo largo de los experimentos desde pH 3 a 9 en AN a seis dosis diferentes de alpechín después de 1 h: 5,5 mg/L de Fe^{3+} y 50 mg/L de H_2O_2 . (a) filtrado, (b) sin filtrar.

Como se puede observar en la Figura IV.23a, después de filtrar la muestra, el hierro disuelto disminuye a medida que aumenta el pH en la mayoría de las diluciones de alpechín que se probaron. Sin embargo, las muestras no filtradas mostraron que el hierro se mantuvo casi constante a lo largo de los diferentes valores de pH. Estos resultados indican que el hierro estaba formando un complejo estable con componentes del alpechín, pero con características coloidales, y por lo tanto se retuvo parcial o totalmente en el filtro (0.22 μm). La retención parcial o total se vio afectada por el pH y la relación de dilución. A $\text{pH} > 4$ y dilución $> 1:200$, el Fe fue complejado (ver Figura IV.23b), pero la presencia de mayor cantidad de polifenoles provocó la formación de agregados coloidales que quedaron retenidos en el filtro. A una relación de dilución de 1:100 y 1:200, el Fe filtrado presentó mayor estabilidad en todo el rango de pH, ya que la menor cantidad de polifenoles presentes evitó la formación de agregados coloidales de mayor tamaño. En cualquier caso, el Fe particulado y los agregados coloidales complejados con polifenoles de alpechín podrían ser activos en todo el rango de pH, favoreciendo el proceso de foto-Fenton solar. En ninguno de los casos se detectó consumo de H_2O_2 ni mineralización del COD procedente del alpechín diluido.

Es importante remarcar que la dilución 1:200 aportó 144 mg/L de COD, siendo demasiado alto para cualquier aplicación relacionada con el reúso de alpechín en el proceso de foto-Fenton a pH neutro. Teniendo en cuenta los resultados mostrados en la Figura. IV.23 y el COD de las diferentes diluciones de OMW, se eligió una proporción de 1:1200 (24 mg/L de COD, similar a cualquier efluente de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales) para los estudios posteriores de eliminación de MC mediante foto-Fenton solar. Las diluciones 1:100 y 1:200 de alpechín tuvieron éxito desde el punto de vista de la formación de complejos de Fe estables y solubles en un amplio rango de pH, pero no sería consistente agregar mucho COD para tratar MC en efluentes de EDAR. Esta dilución 1:1200 de alpechín corresponde, aproximadamente, a una relación molar de 1:0,33 (equivalente a 0,1 mM Fe (III) y 0,033 mM de polifenoles calculados como ácido gálico).

IV.2.1.2. Influencia del alpechín en el proceso de foto-Fenton solar

Para estudiar la influencia del alpechín en el proceso de foto-Fenton solar a pH natural, se han llevado a cabo experimentos a escala planta piloto, en el CPC denominado SOLEX

(véase el apartado III.8.3) con diferentes matrices de agua a tratar, una dilución 1:1200 de alpechín, 50 mg/L de H_2O_2 , 5,5 mg/L de Fe^{3+} y 200 $\mu\text{g/L}$ de cada MC modelo.

En la Figura IV.24, se puede observar el perfil de degradación de cada MC en AD y AN, respectivamente, a pH libre. En AD (Figura IV.24a), el pH disminuyó progresivamente hasta 3,6, debido a la formación de intermedios ácidos, principalmente ácidos carboxílicos, muy comunes en la degradación de la materia orgánica por PAO (Pignatello y col., 2006). Se logró una degradación superior al 90% de los cuatro MC, con una energía UV acumulada de 20 kJ/L (120 minutos de tiempo de iluminación) y 60 mg/L de consumo de H_2O_2 . Sin embargo, cuando se utilizó AN (Figura IV.24b), solo tres MC se eliminaron en un porcentaje superior al 90% (TBT, PCP y DCF) tras alcanzar una energía UV acumulada de 30 kJ/L (150 minutos de tiempo de iluminación) y un consumo de 20 mg/L de H_2O_2 . 50% de CVF se degradó después acumular 50 kJ/L de energía UV. En AN, el pH no cambió (~7.8–8.2). Los experimentos indicaron que una dilución elevada del alpechín es una alternativa interesante a otros agentes complejantes artificiales para mantener el hierro en disolución, permitiendo operar el proceso de foto-Fenton a un pH cercano a la neutralidad. El COD extra agregado con el alpechín no presentó una competencia muy agresiva por los radicales hidroxilo, pero los iones bicarbonato (380 mg/L, como HCO_3^-) del AN redujeron sustancialmente la velocidad de degradación, debido a su elevada capacidad de atrapar a los radicales hidroxilo (Buxton y Elliot, 1986). Asimismo, el COD no cambió sustancialmente a lo largo de los experimentos.

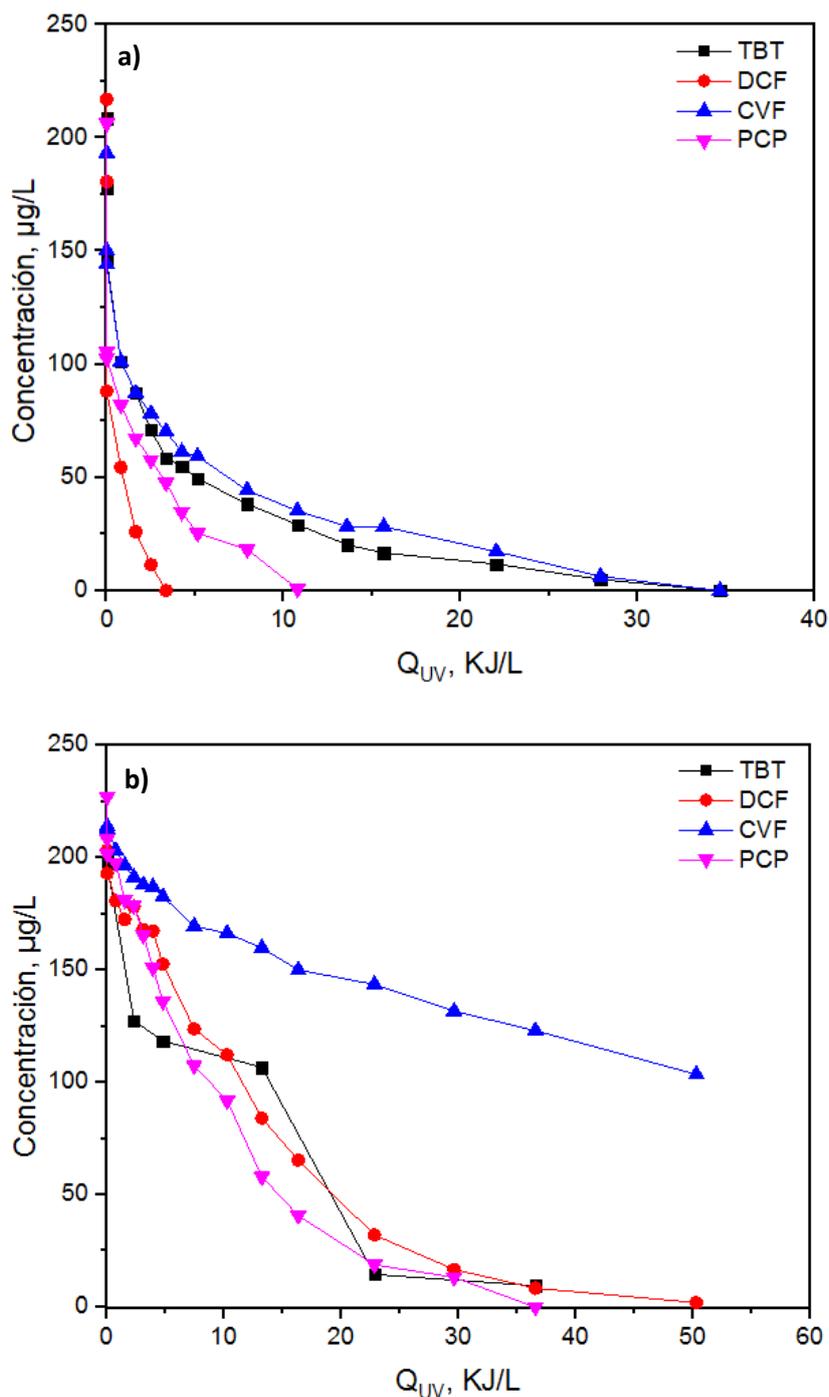


Figura IV.24. Degradación de los MC seleccionados en AD (a) y AN (b) utilizando una dilución de alpechín de 1:1200, 5,5 mg/L de Fe³⁺ y 50 mg/L de H₂O₂.

Si se observa el comportamiento del hierro en estos experimentos, tal y como se muestra en la Figura IV.25, éste se mantuvo disponible para el proceso en AD y AN utilizando alpechín muy diluido a pH neutro, aunque la velocidad de reacción fue sustancialmente

menor en AN, no solo para la degradación de MC sino también en lo que respecta al consumo de H_2O_2 .

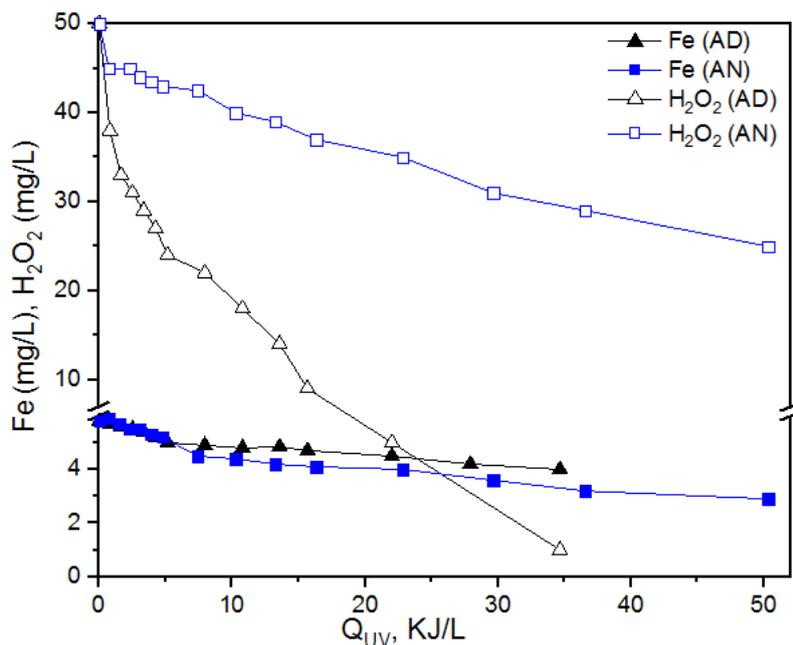


Figura IV.25. Concentración de hierro y H_2O_2 a lo largo de los experimentos con AD y AN utilizando una dilución de alpechín de 1:1200, 5,5 mg/L de Fe^{3+} y 50 mg/L de H_2O_2 .

La evolución del H_2O_2 en el experimento con AN reforzó la idea de que el hierro se mantiene correctamente en disolución mediante la adición de alpechín diluido, pero los polifenoles (PF) presentes no generaron complejos de hierro lo suficientemente activos como para reaccionar con todo el H_2O_2 (Reacción IV.5) ni para dar lugar a una producción eficiente de HO^\bullet o regeneración de Fe^{2+} a partir de Fe^{3+} lo suficientemente rápida porque la Reacción IV.6 tiene un rendimiento cuántico bajo.



Por tanto, los aniones típicos que se pueden encontrar en el AN (cloruro, sulfato, bicarbonato, etc.) reaccionaron con una parte importante de los HO^\bullet generados y con otros radicales de menor poder oxidante como son $\text{HO}_2^\bullet/\text{O}_2^{\bullet-}$. En contraste, un pH bajo ($\geq 3,6$)

en los experimentos con AD podría permitir que una parte del hierro estuviera como hierro libre, formando acuo-complejos y participando en reacciones clásicas de foto-Fenton, siendo la velocidad de reacción sustancialmente mayor. Al observar los resultados mostrados en la Figura IV.25, durante las primeras etapas del proceso parece que la Reacción IV.7 también fue importante, ya que se utilizó Fe^{3+} en todos los experimentos y el consumo de H_2O_2 fue importante durante los primeros minutos, tanto para AD como para AN.

Además, se probaron otras diluciones de alpechín en AN (1:800, Figura IV.26), para comprobar si la adición de una mayor cantidad de éste pudiera mejorar la eficiencia del proceso de foto-Fenton solar respecto a la degradación de los MC.

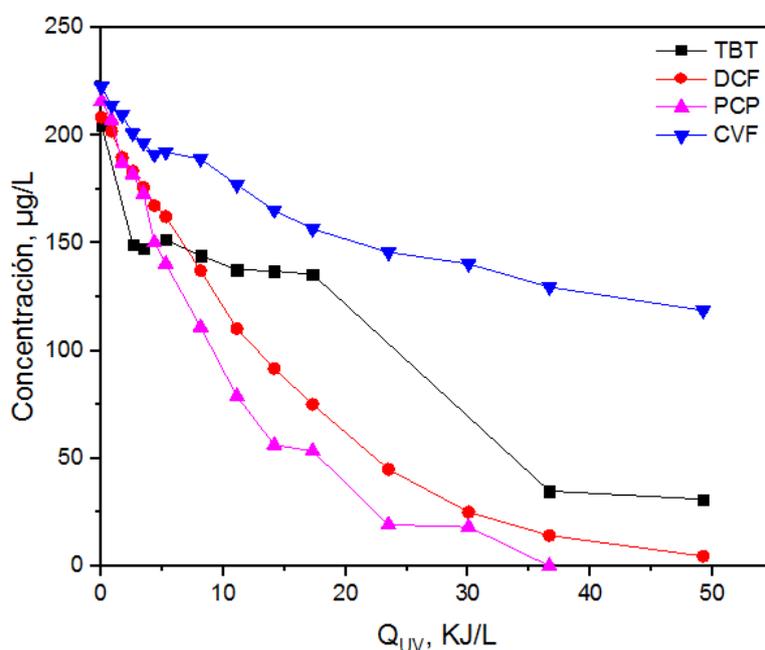


Figura IV.26. Degradación de los MC seleccionados en AN utilizando una dilución de 1:800 de alpechín, 5,5 mg/L de Fe^{3+} y 50 mg/L de H_2O_2 .

En la Figura IV.26 se observa que sólo se alcanza una degradación superior al 90% para dos de los MC estudiados, PCP y DCF, con un requerimiento de energía UV acumulada de 36 kJ/L que corresponde a 180 minutos de tiempo de iluminación y 21 mg/L de consumo de H_2O_2 . Si se compara el resultado de eliminación de estos dos MC con la Figura IV.2b, se observa como la velocidad de reacción disminuye al hacer uso de una dilución menor de alpechín, haciendo falta 30 minutos más para alcanzar el mismo resultado. También, se puede observar como la TBT en el experimento con dilución 1:800

(Figura IV.26) no se degrada completamente, al contrario que en el experimento con una dilución 1:1200, (Figura IV.24b), necesiéndose 240 minutos de tiempo de iluminación y 50 kJ/L de energía UV acumulada para llegar al 85% de degradación. Además, solo se logró alcanzar un porcentaje de degradación del 46% del CVF en comparación con el 50% obtenido en el experimento con 1:1200 para los mismos requerimientos de energía acumulada. Considerando estos resultados y el mayor COD (competidor de los radicales hidroxilo) aportado en la dilución 1:800 de alpechín, se descartó ésta como posible opción de mejora en el proceso de foto-Fenton solar a pH neutro.

Cabe destacar, que estos estudios se realizaron a una concentración total de MC de 4×200 $\mu\text{g/L}$, la cual, en realidad, aún resulta ligeramente más alta de lo que normalmente se puede encontrar en aguas naturales o en efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales, que suelen estar en el rango de 50-150 $\mu\text{g/L}$ en total. Teniendo en cuenta esto y considerando las condiciones de operación evaluadas, se explora el uso de alpechín diluido en un factor 1:1200 para mantener el hierro en disolución a pH neutro durante el proceso de foto-Fenton solar para la eliminación de MC a una concentración de 40 $\mu\text{g/L}$ cada uno, más cercana a la situación real en efluentes de EDAR. Se estudiaron diferentes matrices de agua (agua natural simulada, ANS y agua simulada de salida del secundario de una EDAR, ASS) (ver caracterización en apartado III.1.2) a escala planta piloto, en el foto-reactor CPC denominado SOLEX (descripción en apartado III.8.3) con 50 mg/L de H_2O_2 , 5,5 mg/L de Fe^{3+} y a pH neutro. Estos experimentos se realizaron con un segundo lote de alpechín que presentaba un mayor contenido en polifenoles, 9,5 g/L (características físico-químicas del lote 2 en la Tabla III.6 del apartado III.1.2), por lo que se seleccionó una tasa de dilución ligeramente más alta, de 1:1500, con el objetivo de fijar el porcentaje de polifenoles necesario para mantener la misma cantidad de hierro (III) en disolución durante el proceso de foto-Fenton solar, en comparación con los ensayos realizados con el primer lote de alpechín (y dilución 1:1200).

En la Figura IV.27a, se muestran los resultados obtenidos en ANS, observándose una rápida degradación inicial de TBT, PCP y DCF, siendo CVF especialmente resistente al tratamiento, lográndose menos del 30% de eliminación después de 240 minutos de tiempo de iluminación. Con objeto de discernir si pudiera existir algún efecto sinérgico entre los MC cuando se encontraban en mezcla que pudiera ralentizar la degradación del CVF, se llevó a cabo el tratamiento de éste de forma aislada en ANS, bajo las mismas condiciones de operación (Figura IV.27b), obteniéndose resultados similares. Es importante

mencionar que CVF se ha descrito como el pesticida organofosforado más difícil de degradar por fotocatalisis (Miguel y col., 2012), aunque se ha publicado previamente su completa degradación mediante los procesos convencionales de Fenton y foto-Fenton a pH ácido (Hincapie y col., 2005; Klamerth y col., 2009).

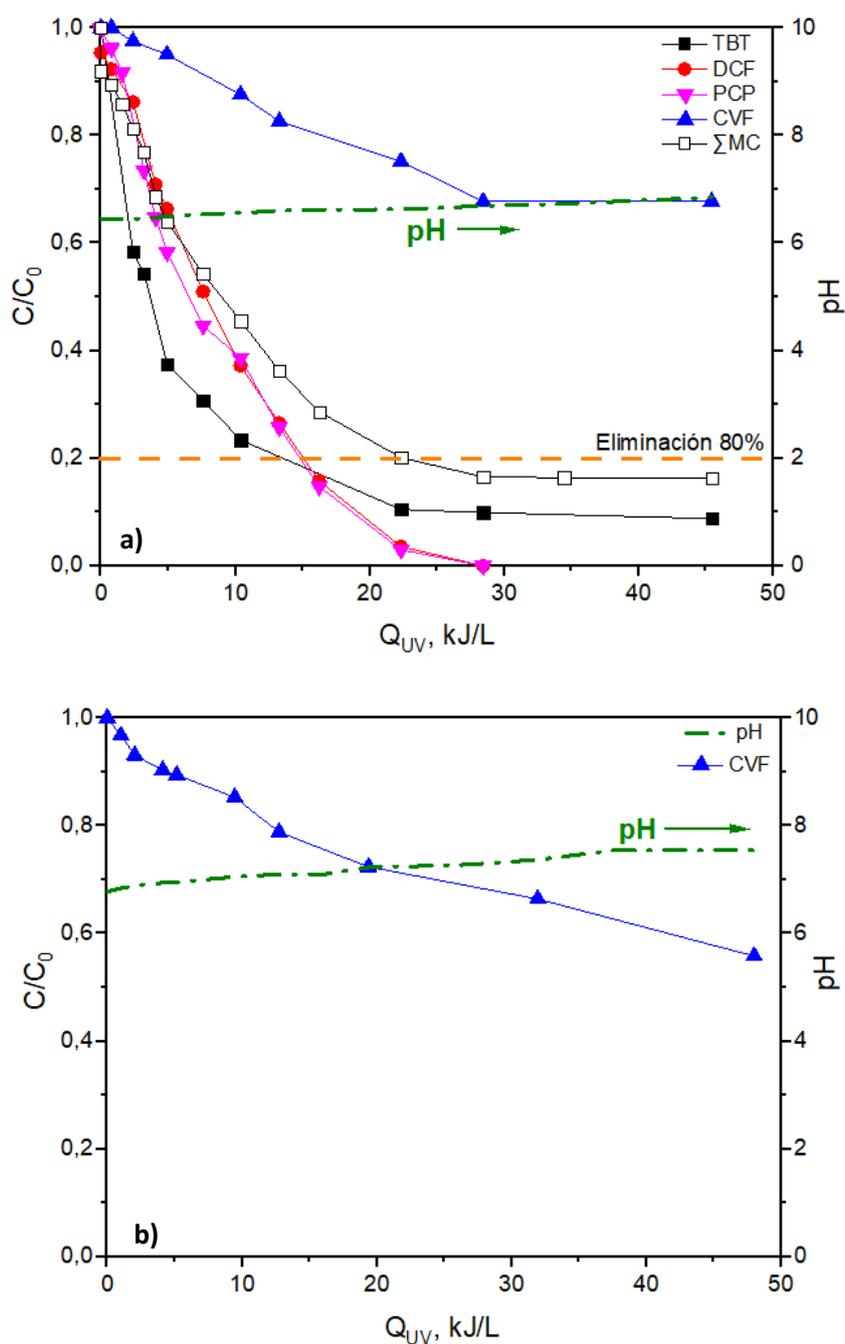


Figura IV.27. a) Eliminación de los MC seleccionados (40 $\mu\text{g/L}$ de cada uno) en ANS con 0,1 mM de Fe^{3+} y 50 mg/L H_2O_2 con una dilución del segundo lote de alpechín de 1:1500. b) Eliminación de CVF solo, bajo las mismas condiciones de operación.

Tal y como se puede ver en la gráfica, la cinética de degradación de los MC se detiene tras alcanzar una energía UV acumulada de 30 kJ/L (159 minutos de tiempo de iluminación), lo que indica una clara desestabilización del complejo Fe-polifenoles. En cualquier caso, el objetivo de lograr la degradación del 80% de la suma de los MC se alcanzó después de 22 kJ/L de Q_{UV} (120 minutos de tiempo de iluminación). La velocidad de degradación inicial (r_0) para la suma de los MC fue de 0,86 $\mu\text{g/L}\cdot\text{min}$. Se realizó una segunda adición de 25 mg/L de H_2O_2 después de 90 minutos de tratamiento, para evitar la falta de este reactivo que limitaría la reacción, consumiéndose finalmente 42,6 mg/L de H_2O_2 cuando se llegó al porcentaje de degradación del 80% de MC totales.

A partir de estos resultados se puede concluir que el complejo de Fe-polifenoles no fue estable durante suficiente tiempo de tratamiento y sufrió descomposición y degradación progresiva, al igual que se ha descrito que ocurre durante el proceso de foto-Fenton cuando se emplea EDDS como agente complejante (Soriano-Molina y col., 2018). En este sentido, sería esperable que la eficiencia de degradación mejorara al ir reduciendo el pH, por lo que se llevó a cabo un experimento acidificando ligeramente la mezcla de MC disueltos en ANS (pH cercano a 4). Aunque aún lejos del pH óptimo del proceso de foto-Fenton (2,8), se mostró una degradación mucho más rápida de los MC (incluido CVF) (Figura IV.28). El objetivo del 80% de degradación de todos los MC se logró después de 0,8 kJ/L de energía UV acumulada (5,8 minutos de tiempo de iluminación) con $r_0=14,8$ $\mu\text{g/L}\cdot\text{min}$. El ligero pH ácido permitió eliminar gran parte del contenido en carbonatos, principal competidor por los radicales hidroxilo en este tipo de aguas (Gligorovski y col., 2015; Von Gunten, 2018) pudiendo ser el motivo por el cual, a pH ácido la estabilidad del complejo de Fe-polifenoles pareció mejorar en el tiempo. En comparación con el tratamiento a pH neutro (Figura IV.27a), la velocidad inicial de degradación fue más de 15 veces mayor y la energía UV acumulada requerida para alcanzar el objetivo de eliminación del 80% de MC totales fue más de 25 veces menor.

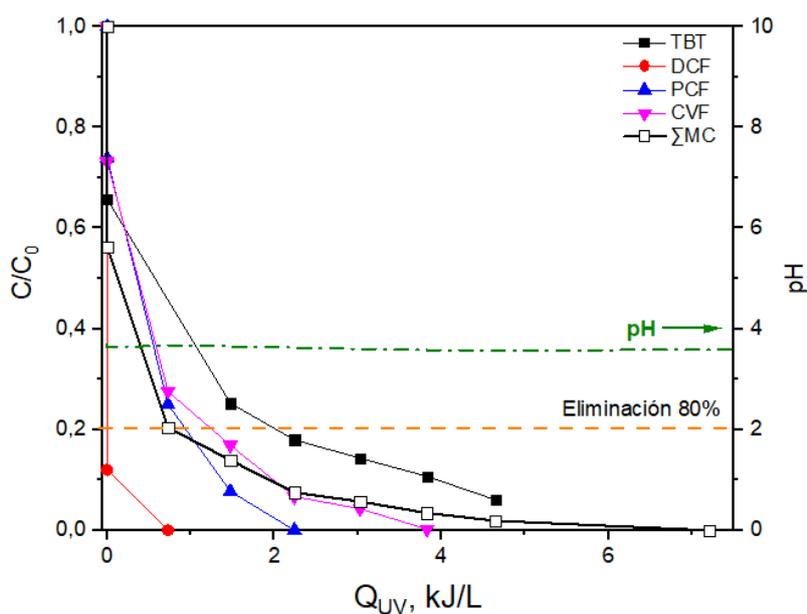


Figura IV.28. Eliminación de los MC (40 $\mu\text{g/L}$ de cada uno) en ANS (pH 3,6) con 0,1 mM de Fe^{3+} y 50 mg/L de H_2O_2 usando una dilución del segundo lote de alpechín de 1:1500.

Por último, con el fin de comprobar el efecto de la presencia de carbonatos a pH neutro en la eficiencia de eliminación de los MC, se llevó a cabo un experimento con ANS sin carbonatos (eliminando los 96 mg/L de NaHCO_3 que se añaden en la receta de ANS, apartado III.1.2) y otro con ASS a pH neutro (Figura IV.29).

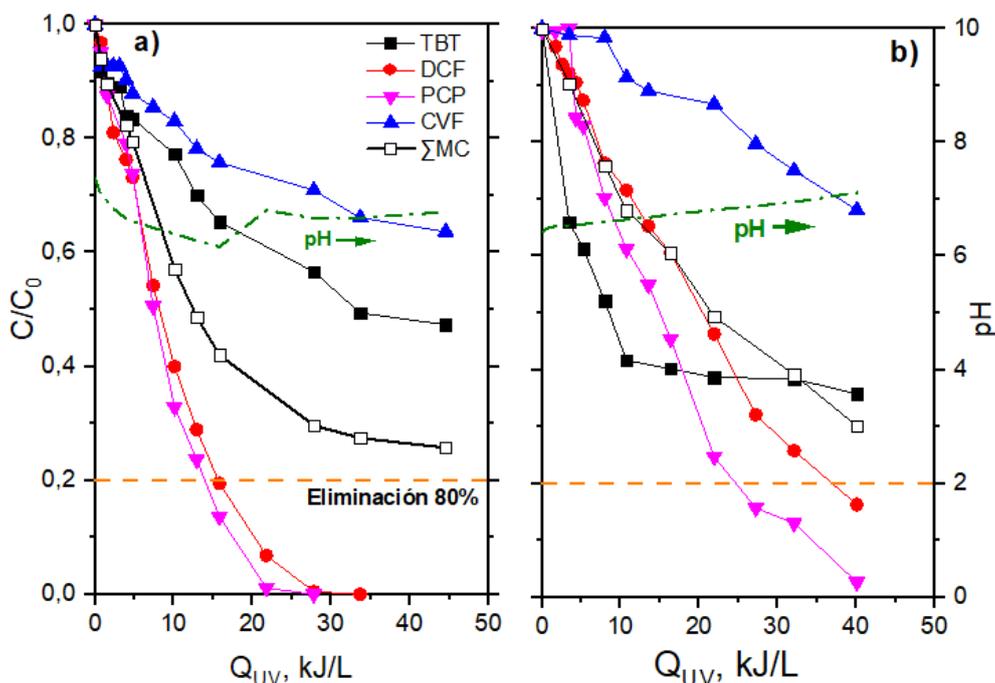


Figura IV.29. Eliminación de los MC (40 $\mu\text{g/L}$ de cada uno) en ANS sin carbonatos (a) y en ASS (b), ambas con 0,1 mM de Fe^{3+} y 50 mg/L H_2O_2 usando 1:1500 de alpechín.

En ambos casos, la velocidad inicial de degradación fue bastante baja, lo que indica que la presencia de carbonatos no ejerce un efecto determinante en la eficiencia del proceso, siendo el factor clave la inestabilidad del complejo de Fe-polifenoles a pH neutro a lo largo del tiempo. De hecho, la concentración de hierro en disolución fue bastante baja en el experimento con ANS pero al menos el 40% permaneció en disolución después de 2 kJ/L de energía UV acumulada (15 minutos de tiempo de iluminación). Sin embargo, no se encontró hierro disuelto en el experimento con ASS. Esto concuerda con la mayor velocidad de degradación inicial obtenida en el experimento con ANS ($r_0 = 1,74 \mu\text{g/L}\cdot\text{min}$) en comparación con el de ASS ($r_0 = 0,83 \mu\text{g/L}\cdot\text{min}$), una consecuencia de tener parte del hierro en disolución durante la primera etapa de la reacción. Es importante señalar que, en ninguno de los dos casos, se logró una degradación del 80% del total de los MC. Sólo se consigue una degradación superior al 80% de PCF y DCF, los dos MC menos recalcitrantes.

La Tabla IV.9 muestra las velocidades iniciales de degradación para los distintos experimentos de foto-Fenton solar llevados a cabo con alpechín y EDDS y $0,1 \text{ mM Fe}^{3+}$.

Tabla IV.9. Velocidades iniciales de degradación para los experimentos de foto-Fenton solar con alpechín y EDDS, $0,1 \text{ mM Fe}^{3+}$ y pH neutro.

Tipo de matriz	Conc. de cada MC, $\mu\text{g/L}$	Complejante	pH medio a lo largo del tratamiento	r_0 , $\mu\text{g/L}\cdot\text{min}$
AD	200	Alpechín, 1:1200	3,8	38,32
AN	200	Alpechín, 1:1200	7,7	8,11
AN	200	Alpechín, 1:800	7,6	6,65
ANS	40	Alpechín, 1:1500	6,9	0,86
ANS	40	Alpechín, 1:1500	3,6	14,8
ANS sin carbonatos	40	Alpechín, 1:1500	6,6	1,74
ASS	40	Alpechín, 1:1500	6,7	0,83
AD	200	EDDS, 1:2	5,9	77,81

A la luz de estos resultados es importante destacar que, aunque se ha demostrado la idoneidad del uso de alpechín como agua residual rica en polifenoles para promover el

proceso de foto-Fenton solar a pH neutro (y de forma asociada la valorización de la misma), se ha observado de forma clara que el proceso de oxidación permanece activo solo por unos minutos, ya que el complejo de Fe-polifenoles no es lo suficientemente estable. Sin embargo, a un pH ligeramente ácido (alrededor de $\text{pH} = 4$), la velocidad de reacción para alcanzar el objetivo de degradación del 80% de los MC seleccionados, es al menos de un orden de magnitud mayor.

IV.2.1.3. Comparación de alpechín con EDDS en el proceso de foto-Fenton solar

Con objeto de comparar el uso de alpechín como agente complejante de hierro (III) con el EDDS en la eficiencia de eliminación de MC mediante el proceso de foto-Fenton solar a pH neutro, se repitió el experimento en AD con una relación molar 1:2 de Fe^{3+} :EDDS y 0,1 mM de Fe^{3+} (Figura IV.30).

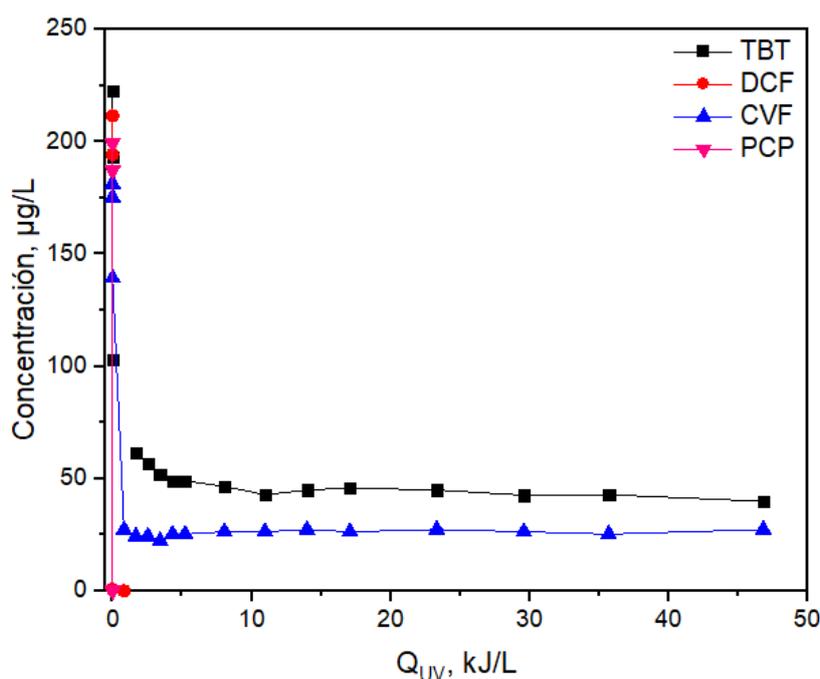


Figura IV.30. Degradación de los MC seleccionados al aplicar foto-Fenton solar con 0,1 mM de Fe^{3+} a pH neutro agregando Fe:EDDS con una relación molar 1:2 en AD.

Como se observa en la Figura IV.30, DCF y PCP se degradaron completamente de manera más rápida después de alcanzar una energía UV acumulada de 0,83 kJ/L (después de 5 minutos de tiempo de iluminación) y con un consumo de 31 mg/L de H_2O_2 , aunque al

usar EDDS (comparando con la Figura IV.24a), TBT y CVF fueron más resistentes, y no se eliminaron completamente (82% y 85%, respectivamente) después de aproximadamente 50 kJ/L de energía UV acumulada y 75 mg/L de consumo de H₂O₂. Igualmente, se alcanza una degradación superior al 80% para todos los MC estudiados, después de sólo 5 kJ/L de energía UV acumulada (correspondientes a 30 minutos de tiempo de iluminación) y un consumo de H₂O₂ de 50 mg/L.

Estos resultados en AD verifican la idoneidad del uso de diluciones de alpechín como aditivo en el proceso de foto-Fenton solar con un efecto similar al de otros agentes complejantes comerciales como el EDDS que permiten mantener el hierro en disolución a pH neutro. Además, el reúso de este tipo de aguas residuales complejas, tales como el alpechín, supondría también un valor añadido al tratamiento global desde el punto de vista económico y medioambiental.

IV.2.2. Aprovechamiento de las sustancias tipo húmicas en el proceso de foto-Fenton solar para la eliminación de microcontaminantes

Otra de las alternativas estudiadas para promover la aplicación del proceso foto-Fenton solar a pH neutro para la degradación de los MC seleccionados en esta Tesis Doctoral, es el uso de sustancias tipo húmicas (STH) extraídas del alpeorujó como agentes complejantes del hierro (III) (apartado I.7.2.). De esta manera, se pretende revalorizar un residuo muy peligroso y abundante en los países de la Cuenca del Mediterráneo, llevando a cabo el tratamiento y posible reutilización de aguas conteniendo MC mediante el empleo de radiación solar, recurso, por otro lado, muy abundante en dichos países.

En primer lugar, y al igual que se hizo en el estudio del uso de alpechín, se llevó a cabo el análisis de la estabilidad de estas STH como agentes complejantes de hierro (III). Para ello, se probaron 10 mg/L de STH a escala de laboratorio (apartado III.8.1) en un recipiente cilíndrico de vidrio Pyrex y en un agitador magnético, manteniendo una agitación de 300 rpm. El pH se varió de 5 a 9 y los ensayos se mantuvieron durante al menos una hora para alcanzar el estado de equilibrio. Se estudió la estabilidad de 0,1 mM de Fe³⁺ en AN agregando 20 mg/L de H₂O₂ (Figura IV.31). Sólo se muestran los resultados del hierro sin filtrar, debido a que el hierro filtrado era prácticamente nulo, al igual que ocurrió con diluciones elevadas de alpechín.

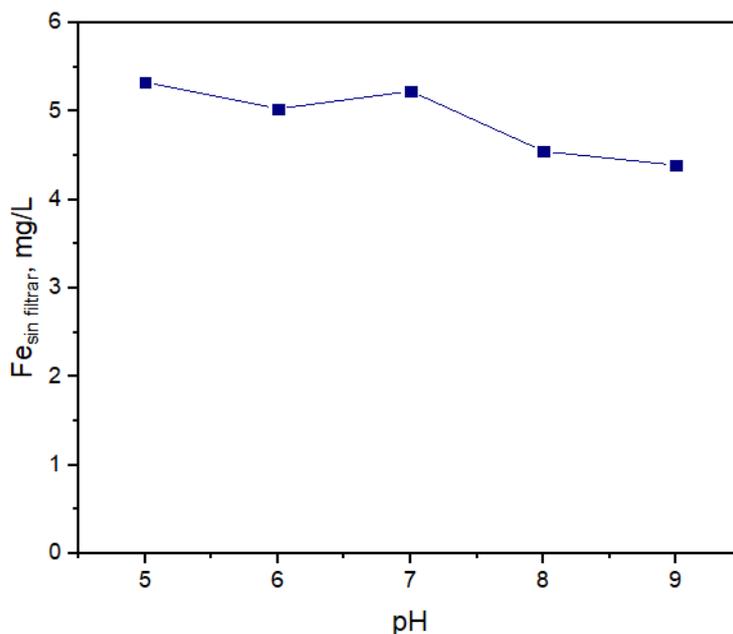


Figura IV.31. Concentración de hierro sin filtrar a lo largo de los ensayos de estabilidad (1 h) desde pH 5 a 9 en AN con 10 mg/L de STH, 5,5 mg/L de Fe^{3+} y 20 mg/L de H_2O_2 .

Como se puede observar en la Figura IV.31, el hierro mostró un descenso insignificante con los diferentes pH evaluados, indicando que el hierro forma un complejo estable de características coloidales que se retiene completamente en el filtro (0,22 μm). Esto permite igualmente llevar a cabo el proceso foto-Fenton solar, debido a que este hierro complejoado con las STH podría estar activo en todo el rango de pH. Al igual que ocurrió con la adición de alpechín, no se registró consumo de H_2O_2 ni hubo mineralización. Cabe destacar que las STH, al contrario que el alpechín, prácticamente no añaden COD al sistema.

IV.2.2.1. Foto-Fenton solar a escala de laboratorio: simulador solar

El efecto que los STH pudieran tener, de forma aislada, sobre los MC bajo estudio también se evaluó en el simulador solar, a 200 $\mu\text{g/L}$ de cada MC en AN y con una concentración de STH de 10 mg/L (Figura IV.32).

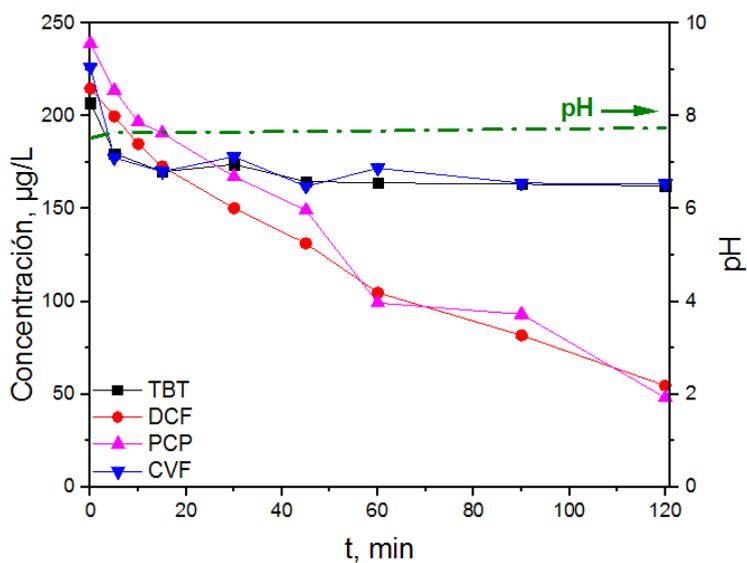


Figura IV.32. Degradación de los MC seleccionados en presencia de 10 mg/L de STH a pH neutro en AN.

Tal y como se observa en la Figura IV.32, DCF y PCP desaparecieron en un 74% y 79%, respectivamente. Sin embargo, TBT y CVF se mostraron más resistentes, alcanzándose una desaparición del 22% y 27%, respectivamente.

Por otra parte, se probaron las mismas condiciones anteriores añadiendo 0,1 mM de Fe^{3+} . La Figura IV.33 muestra estos resultados, los cuales siguen la misma tendencia que los obtenidos en presencia de sólo STH. Cabe destacar una reducción del porcentaje de desaparición del DCF y PCP al 55% y 61%, respectivamente.

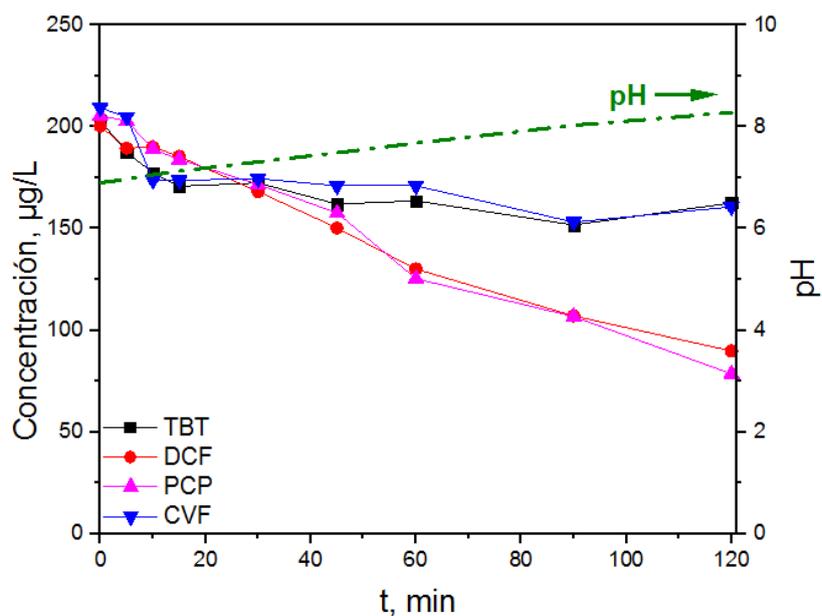


Figura IV.33. Degradación de los MC seleccionados en presencia de 10 mg/L de STH y 0,1 mM Fe^{3+} a pH neutro en AN.

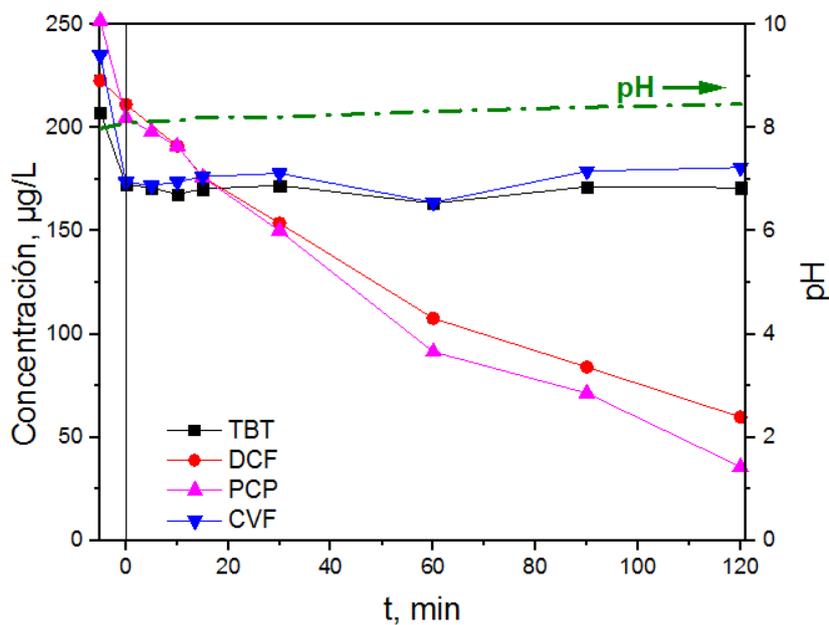


Figura IV.34. Degradación de los MC seleccionados en presencia de 10 mg/L de STH y 10 mg/L de H_2O_2 a pH neutro en AN.

Por último, la Figura IV.34 muestra los resultados obtenidos en presencia de 10 mg/L de STH y 10 mg/L de H_2O_2 y ausencia de hierro. En este caso, el porcentaje de desaparición

de todos los MC fue muy similar al de los dos ensayos anteriores (en torno al 20% para TBT y CVF, y 73% para DCF y 85% para PCP), con un consumo de H_2O_2 de 1,4 mg/L.

Todos estos resultados llevan a la conclusión del posible efecto de adsorción del DCF y PCP sobre las STH, ya que la fotólisis de dichos MC es despreciable en el tiempo de tratamiento estudiado.

De igual modo, la capacidad de STH como agente complejante del hierro (III) en el proceso de foto-Fenton solar se estudió añadiendo 200 $\mu\text{g/L}$ de cada MC seleccionado para esta Tesis Doctoral (apartado III.1.4). Teniendo en cuenta el procedimiento descrito en el apartado III.8.1, se llevaron a cabo experimentos en AN y en simulador solar, a diferentes concentraciones de STH (10, 20 y 50 mg/L), y de H_2O_2 (10 mg/L y 20 mg/L) y diferentes valores de pH (5 y 7) con 5,5 mg/L de Fe^{3+} . La Figura IV.35 muestra el perfil de degradación de la suma de MC frente al tiempo de iluminación, para todas las condiciones estudiadas. Se observa cómo se obtiene prácticamente la misma degradación del 70% de MC totales en todos los experimentos, excepto cuando se usan 20 mg/L de STH y 10 mg/L de H_2O_2 , y 50 mg/L de STH y 10 mg/L H_2O_2 (50-60% degradación). Cabe destacar que, en ninguno de estos casos, al igual que ocurre en algunos experimentos con alpechín, se obtiene una degradación mayor al 35% de CVF, corroborando su naturaleza recalcitrante. Los mejores resultados se lograron con 10 mg/L de STH y 20 mg/L H_2O_2 , donde CVF se degrada un 35% y el resto de MC en el rango de 78-84%. Se obtuvieron resultados muy similares con el uso de 10 mg/L de STH y 10 mg/L de H_2O_2 , el cual resultó en una degradación de CVF del 25% y del resto de MC en el rango de 70-81%.

En cuanto al consumo de H_2O_2 , en el experimento realizado con 50 mg/L de STH y adición inicial de 20 mg/L de H_2O_2 , se consumieron 7,5 mg/L de H_2O_2 , 3,5 mg/L para 20 mg/L de STH y 4 mg/L con 10 mg/L de STH. En contraposición, para aquellos experimentos en los que se adicionaron inicialmente 10 mg/L de H_2O_2 , se consumieron aproximadamente 2 mg/L para cada una de las concentraciones de STH ensayadas. Todo esto indica la escasa influencia que la concentración de STH parece tener en el consumo de dicho reactivo. Concretamente, teniendo en cuenta las dos condiciones que reportan mejores resultados en la degradación de MC: 10 mg/L de STH con 20 mg/L de H_2O_2 y 10 mg/L de STH con 10 mg/L de H_2O_2 , consumieron 4 mg/L y 2 mg/L de H_2O_2 , respectivamente. En consecuencia, se decidió descartar la adición de una concentración

inicial de 20 mg/L de H_2O_2 en los experimentos siguientes, de forma que se pudiera reducir el consumo de este tipo de reactivo, directamente asociado a los costes de operación en el proceso de foto-Fenton.

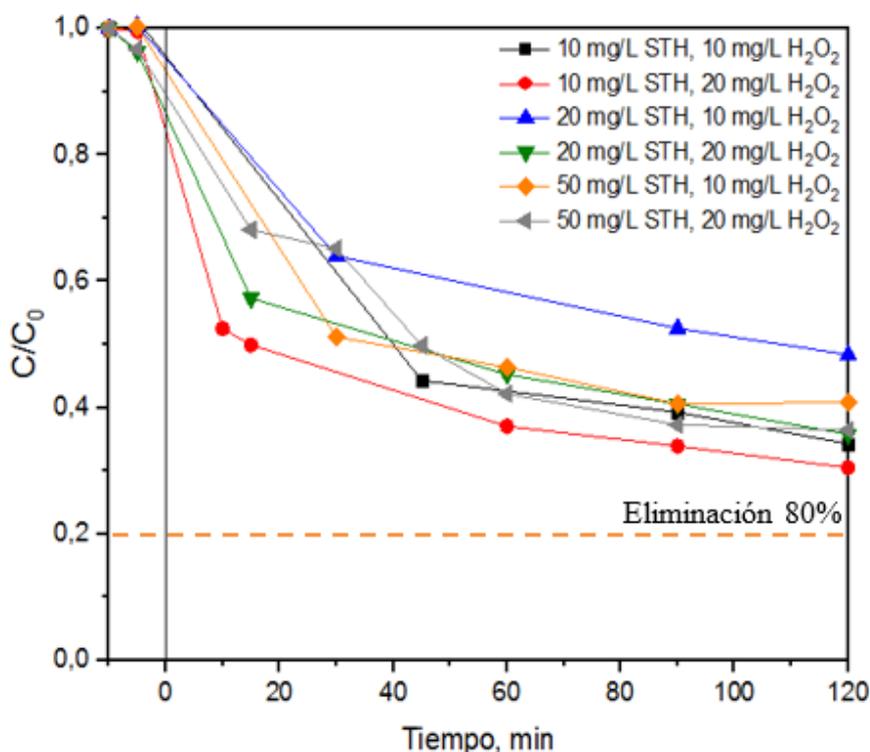


Figura IV.35. Eliminación de la suma de la concentración de todos los MC (200 $\mu\text{g/L}$ de cada uno) en AN con 0,1 mM de Fe^{3+} y pH natural.

A continuación, se procedió a estudiar el efecto del pH probando 10 y 20 mg/L de STH con una concentración inicial de H_2O_2 de 10 mg/L y un pH de 5 (reportado en estudios previamente mencionados, García Ballesteros y col., 2018, Ballesteros y col., 2017) y pH natural (pH 7) en AN (Figura IV.36).

En la Figura IV.36, se observa de nuevo que los peores resultados de eficiencia en la degradación de la suma de MC se obtienen con 20 mg/L de STH, 10 mg/L de H_2O_2 y pH natural (52% degradación). El uso de un pH ligeramente ácido (pH 5), para 20 mg/L de STH, mejoró la degradación de los MC (aproximadamente 62% de degradación). Sin embargo, se muestra cómo el uso de una concentración inferior de STH, 10 mg/L, 10 mg/L de H_2O_2 y pH natural (66% degradación), ofrece una eficiencia ligeramente mejor que a pH 5 (62% de degradación de MC totales). En cuanto al consumo de H_2O_2 , el uso de un pH 5 hizo que éste aumentara en 4 mg/L en ambos casos.

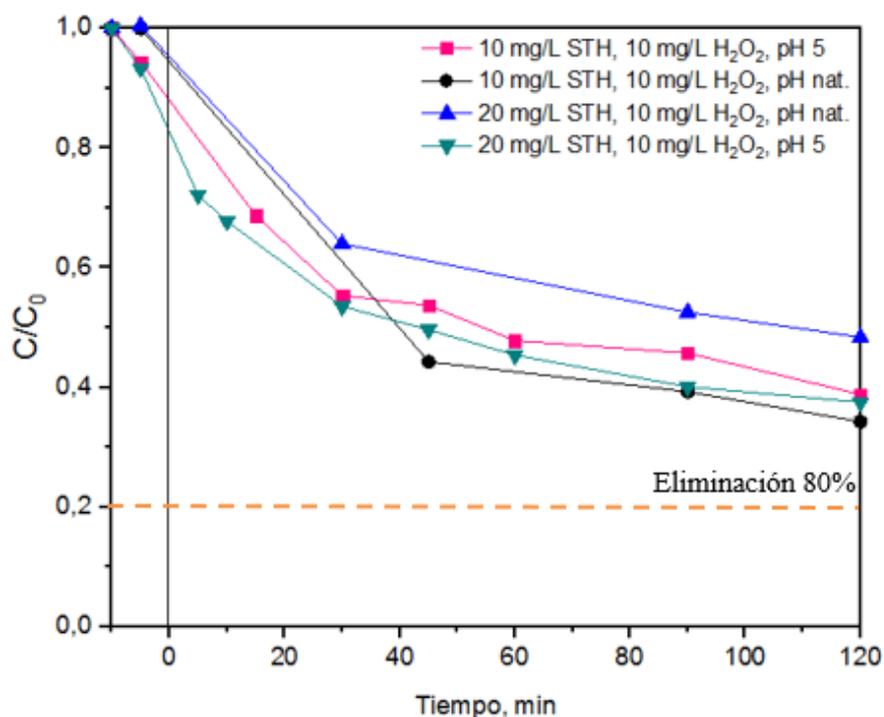


Figura IV.36. Eliminación de la suma de todos los MC (200 µg/L de cada uno) en AN con 0,1 mM de Fe³⁺.

Finalmente, y a la luz de estos resultados obtenidos a escala de laboratorio, se decidió trabajar con 10 mg/L de STH, 10 mg/L de H₂O₂ y pH natural, con la consiguiente reducción de costes en consumo de reactivos y de requerimiento energético (asociado al proceso de aislamiento de las STH), para llevar a cabo los experimentos posteriores a escala planta piloto.

IV.2.2.2. Foto-Fenton solar a escala planta piloto en foto-reactor tipo CPC

Una vez llevada a cabo la selección de las mejores condiciones de operación en el simulador solar, se evaluaron éstas a escala planta piloto en un foto-reactor tipo CPC denominado SOLEX y siguiendo el procedimiento descrito en el apartado III.8.3 para la degradación de los MC modelo mediante foto-Fenton solar a pH neutro.

La Figura IV.37 muestra la degradación de cada uno de los MC mediante foto-Fenton solar en AN a pH natural y mediante la adición de 10 mg/L de STH como agente complejante del hierro (III). En este caso, sólo se obtiene la degradación completa de dos de los MC: DCF y PCP. DCF se degradó a los 5 minutos de iluminación, tras alcanzar

una energía UV acumulada de 0,8 kJ/L. PCP se eliminó con una energía UV acumulada de 16,7 kJ/L (90 minutos de tiempo de iluminación), aunque se consiguió una degradación del 80% con 5 kJ/L y tras 30 minutos de tiempo de iluminación. Con respecto al TBT y CVF se logró una degradación inferior al 50% después de 49 kJ/L de energía UV acumulada (240 minutos de tiempo de iluminación). También en este caso se pone de manifiesto el carácter más recalcitrante del CVF. Además, también la TBT ofrece mayor resistencia, tal y como se observó con el uso de alpechín. El consumo de H_2O_2 fue de 7,6 mg/L, tras la adición extra de 5 mg/L más de este reactivo a mitad del experimento, para tener la certeza de que su baja concentración no fuera un factor limitante. El pH se mantuvo a lo largo del experimento en torno a 7,8. La concentración de hierro se redujo en 3,4 mg/L.

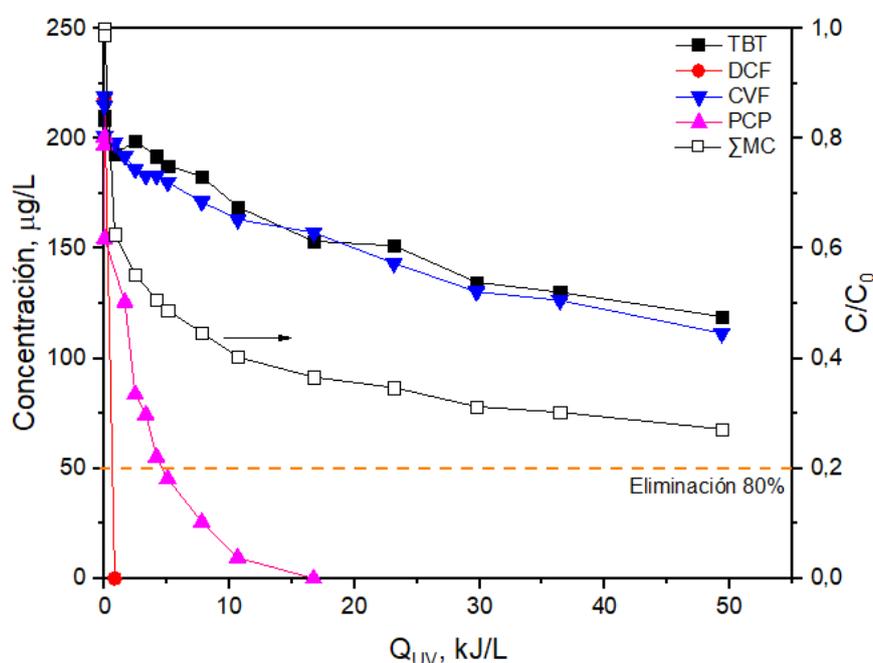


Figura IV.37. Degradación de los MC en AN utilizando 10 mg/L de STH, 5,5 mg/L de Fe^{3+} y 10 mg/L de H_2O_2 a pH natural.

Por otra parte, las mejores condiciones de operación encontradas en el simulador solar también se probaron para tratar agua simulada de salida del secundario de una EDAR, dopada con 200 $\mu\text{g/L}$ de cada MC, mediante foto-Fenton solar a pH natural (Figura IV.38). Se observa cómo el tratamiento se ralentizó, aunque se obtuvo una mayor degradación de TBT, 28% más que en el caso del AN, para un mismo tiempo de iluminación y energía UV acumulada (240 minutos y 50,5 kJ/L). Esta ralentización viene

provocada por la pequeña cantidad de COD procedente del ASS, además de por la presencia de diferentes especies de iones, todos ellos competidores por los radicales hidroxilo. Cabe suponer que la interacción del TBT con alguna de las especies presentes en el ASS favorezca su degradación en comparación con el AN. El COD del ASS prácticamente no cambió durante el experimento. De nuevo la degradación del CVF fue baja y similar a la obtenida en AN (53%, 240 min de tiempo de iluminación y 50,5 kJ/L). DCF se degradó un 94,5% tras 240 minutos de tiempo de iluminación y 50,5 kJ/L de energía UV acumulada, siendo el que más diferencia presenta en su eliminación con respecto al AN, en la que desapareció en los primeros minutos del tratamiento. Por último, PCP se eliminó completamente necesitando 30 minutos más (120 minutos de tiempo de iluminación y 23,9 kJ/L).

En este experimento también se agregaron 5 mg/L de H_2O_2 tras dos horas de ensayo, con objeto de evitar que este reactivo fuera limitante, de forma que el consumo total de H_2O_2 fue de 12,7 mg/L. El pH fue constante y aproximadamente de 7,6. La concentración de hierro sólo descendió 1 mg/L al final del experimento.

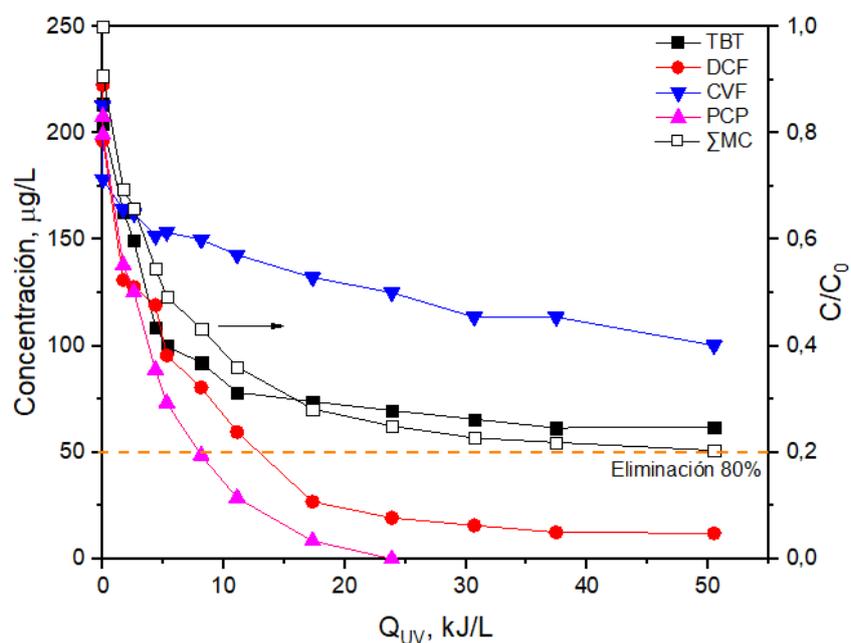


Figura IV.38. Degradación de los MC en ASS utilizando 10 mg/L de STH, 5,5 mg/L de Fe^{3+} y 10 mg/L de H_2O_2 a pH natural.

Teniendo en cuenta la degradación de los MC en términos de concentración total, en ASS sí se alcanzó el objetivo del 80% de degradación a los 240 minutos de tiempo de iluminación y 50,5 kJ/L de energía UV acumulada, al contrario que en AN, para el que

con el mismo tiempo de iluminación y energía acumulada se obtuvo un 73% de degradación de MC totales.

IV.2.3. Comparación de los residuos valorizados como agentes complejantes del hierro para la degradación de MC mediante foto-Fenton solar a pH neutro

La comparación del uso de alpechín y STH como agentes complejantes del hierro (III) en la degradación de MC mediante foto-Fenton solar a pH neutro, se realiza con los ensayos llevados a cabo en AN con 5,5 mg/L de Fe^{3+} y, por un lado, 10 mg/L de STH con 10 mg/L de H_2O_2 (Figura IV.37) y, por otro lado, una dilución de alpechín de 1:1200 con 50 mg/L de H_2O_2 (Figura IV.24b).

En ambos casos, se obtuvo una degradación similar del CVF (aproximadamente del 50%) con una energía UV acumulada de 50 kJ/L y 240 minutos de iluminación, pero con un consumo de 24,2 mg/L de H_2O_2 cuando se usó alpechín y un consumo de 8,9 mg/L para el caso de STH. En cuanto a TBT, uno de los MC más recalcitrantes, junto con CVF, se obtuvo una degradación mucho mayor con el uso de alpechín, degradándose prácticamente por completo con 50 kJ/L de energía UV acumulada y un consumo de 24,2 mg/L de H_2O_2 (240 minutos de tiempo de iluminación). Con el uso de STH, se consiguió una degradación inferior al 50% para las mismas condiciones de energía acumulada, pero un consumo de H_2O_2 de 8,9 mg/L. Por otro lado, PCP y DCF se degradaron por completo en ambos casos, pero con el uso de STH la velocidad de degradación fue mucho más rápida, con el consiguiente menor requerimiento energético (< 20 kJ/L de energía UV acumulada y 90 minutos de iluminación) y un consumo de H_2O_2 de 4,3 mg/L.

Por último, la Figura IV.39 muestra el perfil de degradación de la suma de los MC mediante el uso de STH y de alpechín. Se observa como el uso de alpechín permite alcanzar una degradación total del 86% (50 kJ/L, 240 minutos de tiempo de iluminación y un consumo de 24,2 mg/L de H_2O_2) al contrario que con el uso de STH, donde se obtuvo una degradación solo del 73% con una energía UV acumulada de 49,4 kJ/L, un consumo de H_2O_2 de 8,9 mg/L para el mismo tiempo de iluminación. Además, con el uso de alpechín, se logra el objetivo general de alcanzar el 80% de degradación de la suma de MC a partir de una energía UV acumulada de 30 kJ/L (150 minutos de tiempo de iluminación) y 16,5 mg/L de consumo de H_2O_2 .

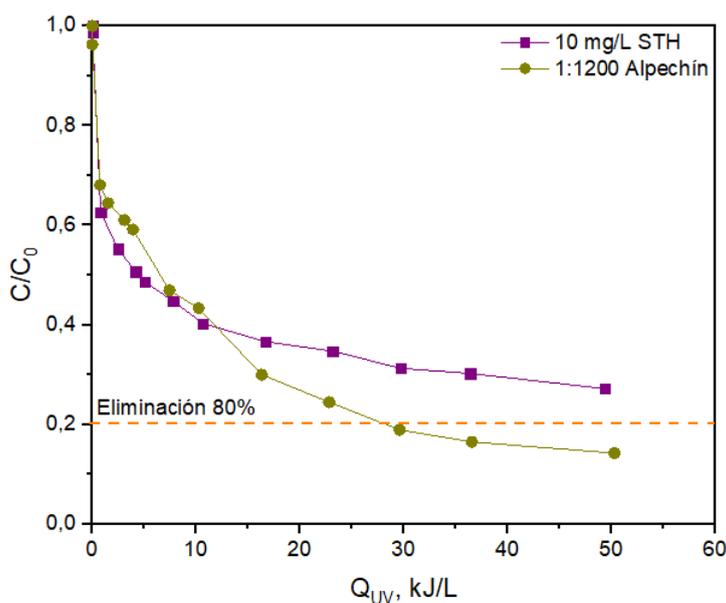


Figura IV.39. Degradación de los MC en AN con el uso de STH (10 mg/L de H_2O_2) y alpechín (50 mg/L H_2O_2) como agentes complejantes del hierro a pH natural.

IV.2.4. Conclusiones

Los resultados obtenidos a partir de la experimentación desarrollada en esta segunda parte de la Tesis Doctoral permiten asegurar que el uso de compuestos naturales, tanto alpechín muy diluido como STH, son opciones interesantes frente a otros complejos artificiales para mantener el hierro en disolución en el proceso foto-Fenton solar a pH neutro para la eliminación de MC presentes en aguas residuales. Sin embargo, el uso de alpechín parece postularse como la mejor alternativa, debido a que se obtiene una mayor degradación de los MC (80% de degradación), además de facilitar la reutilización de este tipo de ARI complejas, que pueden emplearse de forma directa para este fin sin requerir ningún tipo de tratamiento previo y con el consiguiente menor coste que esto conlleva. Por el contrario, las STH necesitan de un arduo proceso de aislamiento o extracción, aunque se requiera un menor consumo de H_2O_2 para llevar a cabo la eliminación de MC mediante foto-Fenton.

Sin embargo, es importante llamar la atención sobre el hecho de que, si bien los polifenoles presentes en el alpechín podrían usarse para complejar el hierro y ejecutar el proceso de foto-Fenton solar a pH neutro para la eliminación de MC, se ha demostrado que este proceso está activo solo durante los primeros minutos del tratamiento, ya que el complejo Fe:polifenoles no es lo suficientemente estable. De hecho, sólo fue posible

mantener el hierro (III) requerido en disolución durante la primera hora de tratamiento, cuando se aplicaron factores de dilución de 1:400 (v:v), 1:200 (v: v) o inferiores de alpechín, no cumpliendo, en esos casos con el principio de "aumento mínimo de COD". Por lo tanto, mantener el hierro en solución a pH neutro solo podría aplicarse con éxito a procesos de foto-Fenton solar que necesiten tiempos de tratamiento cortos, en el rango de decenas de minutos, y con un factor de dilución de, como mínimo, 1:1000 (v:v).

Por lo tanto, la aplicación de agentes complejantes, que son componentes ubicuos de muchas aguas residuales cuya disponibilidad, además, suele coincidir con la abundancia del recurso solar, podría justificarse para ejecutar procesos similares a los de foto-Fenton solar que solo requieren unos minutos de tratamiento para lograr el objetivo deseado de eliminación de MC y reutilización del agua tratada. No obstante, es importante resaltar el valor agregado de reutilizar aguas residuales industriales complejas como es el alpechín, para eliminar otros contaminantes específicos recalcitrantes. Tomando como ejemplo el volumen de alpechín generado en Andalucía, que es de alrededor de 3,8 Mm³/año, y empleando la dilución 1: 1200 de este para complejar el hierro en el proceso foto-Fenton, se podrían tratar 4500 Mm³/año (12,3 Mm³/día) de efluentes de EDAR. Además, los costes preliminares sugieren que el uso de agentes complejantes sintéticos no sería necesario, reduciendo alrededor del 80% los costes de operación (Miralles-Cuevas y col., 2017). Por último, el agua tratada sería compatible con aplicaciones muy diferentes, incluida la reutilización del efluente en riego de cultivos, solo después de un ligero ajuste de pH mediante una simple mezcla con agua natural.

CONCLUSIONES/CONCLUSIONS

V. CONCLUSIONES/CONCLUSIONS

CONCLUSIONES

A partir de la discusión de los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral, y teniendo en cuenta los objetivos que se plantearon en su inicio, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- La metodología empleada tanto para la caracterización, monitorización y definición de la combinación de tecnologías más conveniente para el tratamiento completo de lixiviados de vertedero, puede extrapolarse con toda fiabilidad a otro tipo de ARI tóxicas y/o no biodegradables con el objetivo final de su reutilización y posible recuperación de nutrientes para otro tipo de aplicaciones.
- La primera etapa de cualquier línea de tratamiento que se proponga para un ARI debe comenzar con un pre-tratamiento físico-químico que permita, principalmente la eliminación de sólidos en suspensión, turbidez y color. De esta forma se logrará siempre mejorar la eficiencia del PAO que se desea aplicar posteriormente, y más especialmente si se pretende utilizar radiación solar, y en consecuencia reducir los costes de operación asociados.
- El diseño y operación de sistemas biológicos específicamente adaptados a la fracción biodegradable de un ARI es clave para lograr un tren de tratamiento

eficiente y de bajo coste. La operación de cualquier sistema biológico debe asegurar no sólo la eliminación de la carga orgánica, sino también la posible recuperación de sustancias de valor añadido como nutrientes. En el caso de esta Tesis Doctoral se observó la acumulación de amonio en el efluente del RLF operado en modo continuo debido a la descompensación existente entre la carga de carbono orgánico y el nitrógeno de la alimentación. Por tanto, una vez optimizada la fase de nitrificación se afrontó la recuperación del nitrógeno en forma de amonio como nutriente de especial interés en la formulación de nuevos fertilizantes de base nitrogenada respetuosos con el medio ambiente.

- El desarrollo de técnicas microbiológicas avanzadas como la determinación de la concentración de ADN, la técnica qPCR y secuenciación masiva aplicadas a la monitorización de sistemas biológicos específicos para el tratamiento de ARI, permite la caracterización e identificación de la nueva población microbiana generada capaz de afrontar la remediación de este tipo de aguas residuales de elevada complejidad. Dicha información resulta especialmente valiosa para el diseño de sistemas biológicos específicos para el tratamiento de determinado tipo de ARI.
- La aplicación de técnicas analíticas avanzadas (cromatografía líquida y gaseosa acoplada a espectrometría de masas) para la identificación, cuantificación y monitorización de contaminantes desconocidos presentes en ARI, ofrece la oportunidad de correlacionar los valores de toxicidad y baja biodegradabilidad con la presencia de determinados compuestos. En esta Tesis Doctoral, se confirmó una clara reducción del contenido de MC cuantificados del 94% con respecto a la carga inicial, después de la línea de tratamiento propuesta para lixiviados de vertedero. Además, se reveló la presencia de tres MC que no habían sido reportados previamente para este tipo de aguas residuales: di-n-nonil ftalato, *o*-fenilfenol y tonalida.
- La optimización y validación de un sistema de destilación por membranas de contacto directo (membrana comercial de PTFE) a escala de laboratorio, demostró la viabilidad e interés de esta tecnología para la recuperación de nutrientes y específicamente de amonio como tratamiento terciario. Esta nueva aplicación abre

- nuevos nichos de mercado para la destilación por membranas incluyendo la cristalización para recuperación de otras especies inorgánicas de especial interés.
- Con respecto a la valorización de ARI y/o complejas en otro tipo de aplicaciones, se verifica la idoneidad del uso de diluciones de alpechín y residuos procedentes de la extracción de sustancias tipo húmicas (STH) del alperujo, como agentes complejantes del hierro (III) para llevar a cabo procesos de foto-Fenton solar a pH neutro, gracias a su elevado contenido en polifenoles.
 - Se obtuvo una mejor eficiencia en la eliminación de MC mediante foto-Fenton solar a pH neutro con el uso de alpechín (> 86%) como agente complejante del hierro (III) en comparación con el uso de STH (73%).
 - Los complejos formados entre el alpechín y STH, y el hierro (III) mostraron suficiente estabilidad para llevar a cabo el proceso de foto-Fenton solar a pH neutro durante unos pocos minutos al inicio del tratamiento (alrededor de 20 minutos para alpechín). Por tanto, el reúso de este tipo de aguas complejas se convierte en una alternativa muy interesante para la eliminación de MC presentes en efluentes de EDAR, que suele ocurrir en los primeros minutos de tratamiento terciario (20-30 minutos). Además, este tipo de aplicación supone un valor añadido al tratamiento de este tipo de efluentes conteniendo MC, desde el punto de vista económico y medioambiental.
 - Finalmente es importante mencionar que los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral respecto a la eliminación de MC mediante foto-Fenton solar a pH neutro, se muestran conservadores con la situación de Suiza, el único país de Europa en el que existe actualmente legislación vigente que regula la calidad del agua a la salida de EDAR urbanas respecto a su contenido en MC. Dicha legislación obliga a la eliminación del 80% de los MC en relación con las aguas residuales sin tratar, incluyendo todas las etapas convencionales (primario y secundario) existentes en las EDAR, complementados con adsorción con carbón activo (PAC y GAC) y/o ozonización (Rizzo y col., 2019).

CONCLUSIONS

From the discussion of the results obtained in this PhD Thesis and taking into account the objectives that were set at the beginning, the following conclusions can be drawn:

- The methodology used for characterization, monitoring and definition of the most convenient combination of technologies for the landfill leachate complete treatment, can be extrapolated with all reliability to other types of toxic and/or non-biodegradable industrial wastewater to its reuse and possible recovery of nutrients for other applications as the final objective.
- The first stage of any treatment line proposed for industrial wastewater should start with a physical-chemical pre-treatment to remove suspended solids, turbidity and colour. Thus, it will always be possible to improve the efficiency of the AOP, to be applied later and with solar radiation especially; and so reduce the associated operating costs consequently.
- The design and operation of biological systems specifically adapted to the industrial wastewater biodegradable fraction is the key to achieve an efficient and low-cost treatment line. The operation of any biological system must ensure not only the elimination of the organic load, but also the possible recovery of value-added substances such as nutrients. In the case of this PhD Thesis, the accumulation of ammonium in the RLF effluent operated in continuous mode was observed due to the decompensation between the organic carbon load and the nitrogen in the feed. Therefore, once the nitrification phase was optimized, the nitrogen recovery in the form of ammonium as a nutrient of special interest in the formulation of new environmentally friendly nitrogen-based fertilizers was faced.
- The development of advanced microbiological techniques such as the determination of DNA concentration, qPCR technique and massive sequencing applied to the monitoring of specific biological systems for the treatment of industrial wastewater, allows the characterization and identification of the new generated microbial population capable of facing the remediation of this type of high complexity wastewater. This information is especially valuable for the design of specific biological systems for the treatment of a certain type of industrial wastewater.

- The application of advanced analytical techniques (liquid and gas chromatography coupled to mass spectrometry) for the identification, quantification and monitoring of unknown contaminants present in industrial wastewater, offers the opportunity to correlate toxicity values and low biodegradability with the presence of certain compounds. In this PhD Thesis, a clear reduction of the quantified MC content of 94% with respect to the initial load was confirmed, after the landfill leachate treatment line proposed. In addition, it was revealed the presence of three MCs that had not been previously reported for this type of wastewater: di-n-nonyl phthalate, o-phenylphenol and tonalide.
- The optimization and validation of a membrane distillation system by direct contact membranes (commercial PTFE membrane) at laboratory scale, demonstrated the viability and interest of this technology for nutrients recovery and specifically of ammonia as tertiary treatment. This new application opens up new market niches for membrane distillation including crystallization for recovery of other inorganic species of special interest.
- With respect to the valorization of industrial wastewater and/or complexes in other types of applications, the suitability of the use of olive mill wastewater dilutions and residues from the extraction of humic substances (STH) from "alperujo", as iron complexing agents (III) to carry out solar photo-Fenton processes at circumneutral pH, thanks to its high polyphenol content, has been demonstrated.
- A better efficiency in the elimination of MC was obtained by solar photo-Fenton at neutral pH with the use of olive mill wastewater (> 86%) as a complexing agent for iron (III) compared to the use of STH (73%).
- The complexes formed between olive mill wastewater and STH, and iron (III) showed sufficient stability to carry out the solar photo-Fenton process at circumneutral pH for a few minutes at the beginning of the treatment (about 20 minutes for olive mill wastewater). Therefore, the reuse of this type of complex wastewaters becomes a very interesting alternative for the elimination of MCs present in MWWTP effluents, which usually occurs in the first minutes of the tertiary treatment (20-30 minutes). In addition, this type of application implies an added value to the treatment of this type of effluents containing MCs, from the economic and environmental point of view.

- Finally, it is important to remark that the results obtained in this PhD Thesis regarding the elimination of MCs by solar photo-Fenton process at circumneutral pH, are conservative with the situation of Switzerland, the only country in Europe where there is currently legislation in force that regulates the quality of water at the exit of urban WWTPs regarding its content in MCs. This legislation requires the elimination of 80% of the MCs in relation to the untreated wastewater, including all the conventional stages (primary and secondary) existing in the MWWTP, supplemented with activated carbon adsorption (PAC and GAC) and/or ozonation (Rizzo et al., 2019).

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

-A-

Abdul, J. M., Vigneswaran, S., Shon, H. K., Nathaporn, A., Kandasamy, J. (2009). Comparison of granular activated carbon bio-sorption and advanced oxidation processes in the treatment of leachate effluent. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 26(3), 724–730.

Acero, J. L., Benitez, F. J., Teva, F., Leal, A. I. (2010). Retention of emerging micropollutants from UP water and a municipal secondary effluent by ultrafiltration and nanofiltration. *Chemical Engineering Journal*, 163(3), 264–272.

Agüera, A., Lambropoulou, D. (2015). New Challenges for the Analytical Evaluation of Reclaimed Water and Reuse Applications. *Wastewater Reuse and Current Challenges*, 7–47.

Ahn, W. Y., Kang, M. S., Yim, S. K., Choi, K. H. (2002). Advanced landfill leachate treatment using an integrated membrane process. *Desalination*, 149(1-3), 109–114.

Ajao, A.T., Mustapha, M. O., Yakubu, S.E. (2019). Model for the Treatment of Refinery Wastewater and expression of catabolic genes in Fluidized Bed Bioreactor using mixed bacterial consortium. *Pollution*, 5(1), 179-187.

Alba-Mendoza, J. (1995). El orujo de aceituna. Evolución, estado actual y perspectivas. *Agricultura LXIII* 84-86.

Alcalde-Sanz L., Gawlik B.M. (2017). Minimum quality requirements for water reuse in agricultural irrigation and aquifer recharge. Towards water reuse regulatory instrument at EU level.

Aleya, L., Grisey, E., Bouriou, M., Bourgeade, P. (2019). Performance assessment of Etuefont (France) lagooning treatment system: Report from a 16-year survey. *Science of the Total Environment*, 648, 518–529.

Alvarez-Vazquez, H., Jefferson, B., Judd, S. J. (2004). Membrane bioreactors vs conventional biological treatment of landfill leachate: a brief review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 79(10), 1043–1049.

Amaral-Silva, N., Martins, R. C., Castro-Silva, S., Paiva, C., Quinta-Ferreira, R. M. (2015a). Integration of advanced oxidation processes and activated sludge for the treatment of high refractory industrial wastewater. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 91(9), 2503–2509.

Amaral-Silva, N., Martins, R. C., Castro-Silva, S., Quinta-Ferreira, R. M. (2015b). Fenton's treatment as an effective treatment for elderberry effluents: economical evaluation. *Environmental Technology*, 37(10), 1208–1219.

- Amaral-Silva, N., Martins, R. C., Castro-Silva, S., Quinta-Ferreira, R. M. (2016). Ozonation and perozonation on the biodegradability improvement of a landfill leachate. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 4(1), 527–533.
- Amokrane, A., Comel, C., Veron, J. (1997). Landfill leachates pretreatment by coagulation-flocculation. *Water Research*, 31(11), 2775–2782.
- Amor, C., Lucas, M. S., García, J., Dominguez, J. R., De Heredia, J. B., Peres, J. A. (2015a). Combined treatment of olive mill wastewater by Fenton's reagent and anaerobic biological process. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 50(2), 161–168.
- Amor, C., Torres-Socías, E. D., Peres, J. A., Maldonado, M. I., Oller, I., Malato, S., Lucas, M. S. (2015b). Mature landfill leachate treatment by coagulation/flocculation combined with Fenton and solar photo-Fenton processes. *Journal of Hazardous Materials*, 286, 261–268.
- Amor, C., Marchão, L., Lucas, M. S., Peres, J. A. (2019). Application of Advanced Oxidation Processes for the Treatment of Recalcitrant Agro-Industrial Wastewater: A Review. *Water*, 11(2), 205.
- Andreozzi, R. (1999). Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. *Catalysis Today*, 53(1), 51–59.
- Arnell, N. W., van Vuuren, D. P., Isaac, M. (2011). The implications of climate policy for the impacts of climate change on global water resources. *Global Environmental Change*, 21(2), 592–603.
- Arous, F., Hamdi, C., Kmiha, S., Khammassi, N., Ayari, A., Neifar, M., Mechichi, T., Jaouani, A. (2018) Treatment of olive mill wastewater through employing sequencing batch reactor: performance and microbial diversity assessment. *3 Biotech*, 8, 481.
- Arzate, S., García-Sánchez, J. L., Soriano-Molina, P., Casas-López, J. L., Campos-Mañas, M. C., Agüera, A., Sánchez-Pérez, J. A. (2017). Effect of residence time on micropollutant removal in WWTP secondary effluents by continuous solar photo-Fenton process in raceway pond reactors. *Chemical Engineering Journal*, 316, 1114–1121.
- Assou, M., Madinzi, A., Anouzla, A., Aboulhassan, M.A., Souabi, S., Hafidi, M. (2014). Reducing pollution of stabilized landfill leachate by mixing of coagulants and flocculants: A comparative study. *International Journal of Engineering and Innovative Technology*, 4, 20–25.
- Atmaca, E. (2009). Treatment of landfill leachate by using electro-Fenton method. *Journal of Hazardous Materials*, 163(1), 109–114.
- Aye T., Anderson W. A., Mehrvar M. (2003). Photocatalytic treatment of cibacron brilliant yellow 3G-P (reactive yellow 2 textile dye). *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 38(9), 1903-1914.
- Aye, T., Mehrvar, M., Anderson, W. A. (2004). Effects of Photocatalysis on the Biodegradability of Cibacron Brilliant Yellow 3G-P (Reactive Yellow 2). *Journal of*

Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering, 39(1), 113–126.

-B-

Bae, B.-U., Jung, E.-S., Kim, Y.-R., Shin, H.-S. (1999). Treatment of landfill leachate using activated sludge process and electron-beam radiation. *Water Research*, 33(11), 2669–2673.

Bai, C., Zhang, D., He, Q., Lu, P. Ai, H., (2013). An EGSB-SBR based process for coupling methanogenesis and shortcut nitrogen removal. *Water Science and Technology: a Journal of the International Association on Water Pollution Research*, 68 (7), 1633-1640.

Baiju, A., Gandhimathi, R., Ramesh, S. T., Nidheesh, P. V. (2018). Combined heterogeneous Electro-Fenton and biological process for the treatment of stabilized landfill leachate. *Journal of Environmental Management*, 210, 328–337.

Ballesteros, S. G., Costante, M., Vicente, R., Mora, M., Amat, A. M., Arques, A., Einschlag, F. S. G. (2017). Humic-like substances from urban waste as auxiliaries for photo-Fenton treatment: a fluorescence EEM-PARAFAC study. *Photochemical and Photobiological Sciences*, 16(1), 38–45.

Bampalioutas, K., Vlysidis, A., Lyberatos, G., Vlyssides, A. (2018). Detoxification and methane production kinetics from III-phase olive mill wastewater using Fenton reagents followed by anaerobic digestion. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 94(1), 265-275.

Barbosa, M.O., Moreira, N.F.F., Ribeiro, A.R., Pereira, M.F.R., Silva, A.M.T. (2016). Occurrence and removal of organic micropollutants: an overview of the watch list of EU Decision 2015/495. *Water Research*, 94, 257–279.

Barbosa Segundo, I. D., Silva, T. F. C. V., Moreira, F. C., Silva, G. V., Boaventura, R. A. R., Vilar, V. J. P. (2019). Sulphur compounds removal from an industrial landfill leachate by catalytic oxidation and chemical precipitation: From a hazardous effluent to a value-added product. *Science of the Total Environment*, 655, 1249-1260.

Bashir, M. J., Aziz, H. A., Yusoff, M. S., Adlan, M. N. (2010). Application of response surface methodology (RSM) for optimization of ammoniacal nitrogen removal from semi-aerobic landfill leachate using ion exchange resin. *Desalination*, 254, 154–161.

Bashir, M. J. K, Isa, M. H, Kutty, S. R. M, Awang, Z, Aziz, H. A, Mohajeri, S., Faroqi, I. H. (2009). Landfill leachate treatment by electrochemical oxidation. *Waste Management*, 29, 2534-2541.

Bauer M.J., Hermann R., Martin A., Zellmann H. (1998). Chemodynamics, transport behaviour and treatment of phthalic acid esters in municipal landfill leachates. *Water Science and Technology*, 38 (2), 185-192.

Baycan, N., Hülögü, D. (2011). Optimization of TiO₂/Fe(III)/solar UV conditions for the removal of organic contaminants in pulp mill effluents. *Desalination*, 265. 37-42.

- Begum, S., Anupoju, G. R., Sridhar, S., Bhargava, S. K., Jegatheesan, V., Eshtiaghi, N. (2018). Evaluation of single and two stage anaerobic digestion of landfill leachate: Effect of pH and initial organic loading rate on volatile fatty acid (VFA) and biogas production. *Bioresource Technology*, 251, 364–373.
- Beltrán, F.J. (2003). *Ozone Reaction Kinetics for Water and Wastewater Systems*. Boca Raton, EEUU: CRC press.
- Benítez, C.; Gil, J.; González, J.L. (2000). Influencia de la humedad en la evolución de parámetros químicos de un suelo tras la adición de alperujo. *Boletín de la Sociedad Española de la Ciencia del Suelo*, 7(2), 215-220.
- Bernabeu, A., Vercher, R.F., Santos-Juanes, L., Simón, P.J., Lardín, C., Martínez, M.A., Vicente, J.A., González, R., Llosá, C., Arques, A., Amat, A.M. (2011). Solar photocatalysis as a tertiary treatment to remove emerging pollutants from wastewater treatment plant effluents. *Catalysis Today*, 161, 235–240.
- Bertin, L., Ferri, F., Scoma, A., Marchetti, L., Fava, F. (2011). Recovery of high added value natural polyphenols from actual olive mill wastewater through solid phase extraction. *Chemical Engineering Journal*, 171(3), 1287–1293.
- Białowiec, A., Siudak, M., Jakubowski, B., Wiśniewski, D. (2017). The influence of leachate recirculation on biogas production in a landfill bioreactor. *Environment Protection Engineering*, 43(1), 113-120.
- Bila, D. M., Filipe Montalvão, A., Silva, A. C., Dezotti, M. (2005). Ozonation of a landfill leachate: evaluation of toxicity removal and biodegradability improvement. *Journal of Hazardous Materials*, 117(2-3), 235–242.
- Bigot, V., Luck, F., Paillard, H., Wagner, A. (1994). Landfill leachate treatment: comparison of three oxidation processes using ozone, in: *Proceedings of the International Ozone Association Regional Conference, Zurich, Switzerland*.
- Bletsou, A. A., Jeon, J., Hollender, J., Archontaki, E., Thomaidis, N. S. (2015). Targeted and non-targeted liquid chromatography-mass spectrometric workflows for identification of transformation products of emerging pollutants in the aquatic environment. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 66, 32–44.
- Booth, S. D. J., Urfer, D., Pereira, G., Caber, K. J. (1996). Assessing the impact of a landfill leachate on a Canadian wastewater treatment plant. *Water Environment Research*, 68(7), 1179–1186.
- Bui, X. T., Vo, T. P. T., Ngo, H. H., Guo, W. S., Nguyen, T. T. (2016). Multicriteria assessment of advanced treatment technologies for micropollutants removal at large-scale applications. *Science of The Total Environment*, 563-564, 1050–1067.
- Butt, T. E., Gouda, H. M., Baloch, M. I., Paul, P., Javadi, A. A., Alam, A. (2014). Literature review of baseline study for risk analysis - The landfill leachate case. *Environment International*, 63, 149–162.

Buxton, G. V., Elliot, A. J. (1986). Rate constant for reaction of hydroxyl radicals with bicarbonate ions. *International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. Part C. Radiation Physics and Chemistry*, 27(3), 241–243.

-C-

Cabrera Reina, A., Santos-Juanes, L., García Sánchez, J. L., Casas López, J. L., Maldonado Rubio, M. I., Li Puma, G., Sánchez Pérez, J. A. (2015). Modelling the photo-Fenton oxidation of the pharmaceutical paracetamol in water including the effect of photon absorption (VRPA). *Applied Catalysis B: Environmental*, 166-167, 295–301.

Cai, F., Lei, L., Li, Y. (2019). Different bioreactors for treating secondary effluent from recycled paper mill. *Science of the Total Environment*, 667, 49-56.

Campos-Mañas, M. C., Plaza-Bolaños, P., Sánchez-Pérez, J. A., Malato, S., Agüera, A. (2017). Fast determination of pesticides and other contaminants of emerging concern in treated wastewater using direct injection coupled to highly sensitive ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1507, 84–94.

Caputo, A. C., Scacchia, F., Pelagagge, P. M. (2003). Disposal of by-products in olive oil industry: waste-to-energy solutions. *Applied Thermal Engineering*, 23(2), 197–214.

Caram, B., García-Ballesteros, S., Santos-Juanes, L., Arques, A., García-Einschlag, F. S. (2018). Humic like substances for the treatment of scarcely soluble pollutants by mild photo-Fenton process. *Chemosphere*, 198, 139–146.

Caravaca, F., Tortosa, G., Carrasco, L., Cegarra, J., RViejoán, A. (2006). Interaction between AM fungi and a liquid organic amendment with respect to enhancement of the performance of the leguminous shrub *Retama sphaerocarpa*. *Biology and Fertility of Soils*, 43, 30–38.

Carbajo, J. B., Petre, A. L., Rosal, R., Herrera, S., Letón, P., García-Calvo, E., Fernández-Alba, A. R., Perdígón-Melón, J. A. (2015). Continuous ozonation treatment of ofloxacin: Transformation products, water matrix effect and aquatic toxicity. *Journal of Hazardous Materials*, 292, 34–43.

Cardoso, S. M., Coimbra, M. A., Lopes da Silva, J. (2003). Calcium-mediated gelation of an olive pomace pectic extract. *Carbohydrate Polymers*, 52(2), 125–133.

Carra, I., Sirtori, C., Ponce-Robles, L., Sánchez Pérez, J. A., Malato, S., Agüera, A. (2015). Degradation and monitoring of acetamiprid, thiabendazole and their transformation products in an agro-food industry effluent during solar photo-Fenton treatment in a raceway pond reactor. *Chemosphere*, 130, 73–81.

Casas, M. E., Bester, K. (2015). Can those organic micropollutants that are recalcitrant in activated sludge treatment be removed from wastewater by biofilm reactors (slow sand filters)? *Science of the Total Environment*, 506, 315–322.

Cassano, D., Zapata, A., Brunetti, G., Del Moro, G., Di Iaconi, C., Oller, I., Malato, S., Mascolo, G. (2011). Comparison of several combined/integrated biological-AOPs setups

for the treatment of municipal landfill leachate: Minimization of operating costs and effluent toxicity. *Chemical Engineering Journal*, 172(1), 250–257.

Castillo, M., Barceló, D. (2001). Characterisation of organic pollutants in textile wastewaters and landfill leachate by using toxicity-based fractionation methods followed by liquid and gas chromatography coupled to mass spectrometric detection. *Analytica Chimica Acta*, 426(2), 253–264.

Castro, G., Rodríguez, I., Ramil, M., Cela, R. (2017). Evaluation of nitrate effects in the aqueous photodegradability of selected phenolic pollutants. *Chemosphere*, 185, 127–136.

Çeçen F., Gürsoy G. (2000). Characterization of landfill leachates and studies on heavy metal removal. *Journal of Environmental Monitoring*, 2, 436–442.

Çeçen, F., Çakıroğlu, D. (2001). Impact of landfill leachate on the co-treatment of domestic wastewater. *Biotechnology Letters*, 23(10), 821–826.

Çeçen, F., Erdinçler, A., Kiliç, E. (2003). Effect of powdered activated carbon addition on sludge dewaterability and substrate removal in landfill leachate treatment. *Advances in Environmental Research*, 7(3), 707–713.

Çeçen, F., Aktaş, Ö. (2004a). Aerobic Co-Treatment of Landfill Leachate with Domestic Wastewater. *Environmental Engineering Science*, 21(3), 303–312.

Çeçen, F., Aktas, O. (2004b). Effect of PAC addition in combined treatment of landfill leachate and domestic wastewater in semi-continuously fed batch and continuous-flow reactors. *Water SA*, 27(2), 177–188.

Cédat, B., de Brauer, C., Métivier, H., Dumont, N., Tutundjan, R. (2016). Are UV photolysis and UV/H₂O₂ process efficient to treat estrogens in waters? Chemical and biological assessment at pilot scale. *Water Research*, 100, 357–366.

Chan, G.Y.S., Chu, L.M., Wong, M.H. (2002). Effects of leachate recirculation on biogas production from landfill co-disposal of municipal solid waste, sewage sludge and marine sediment. *Environmental Pollution*, 118, 393–399.

Chang, H., Fu, Q., Zhong, N., Yang, X., Quan, X., Li, S., Xiao, C. (2019). Microalgal lipids production and nutrients recovery from landfill leachate using membrane photobioreactor. *Bioresource Technology*, 277, 18–26.

Cheah, W. Y., Ling, T. C., Show, P. L., Juan, J. C., Chang, J. S., Duu-Jong Lee, D. J. (2016). Cultivation in wastewaters for energy: a microalgae platform. *Applied Energy* 179, 609–625.

ChemSpider Database, (n.d.). <http://www.chemspider.com/>. Acceso el 22/05/19.

Chen, C., Bloomfield, A. J., Sheehan, S. W. (2017). Selective Electrochemical Oxidation of Lactic Acid Using Iridium-Based Catalysts. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 56(13), 3560–3567.

- Chen, W., Zhang, A., Jiang, G., Li, Q. (2019). Transformation and degradation mechanism of landfill leachates in a combined process of SAARB and ozonation. *Waste Management*, 85, 283–294.
- Chian, E. S. K., De Walle, F. P. (1976). Sanitary Landfill Leachates and Their Leachate Treatment. *Journal of the Environmental Engineering Division*, 102 (2), 411–431.
- Cho, S. P., Hong, S. C., Hong, S. I. (2002). Photocatalytic degradation of the landfill leachate containing refractory matters and nitrogen compounds. *Applied Catalysis B: Environmental*, 39(2), 125–133.
- Christensen, T. H., Kjeldsen, P. (1968). Basic biochemical processes in landfills. En: Christensen, T. H., Cossu, R. and Stegmann, R. (Eds), *Sanitary Lanfilling: Process, Technology and Environmental Impact* (pp. 29-49). Academic Press.
- Clarizia, L., Russo, D., Di Somma, I., Marotta, R., Andreozzi, R. (2017). Homogeneous photo-Fenton processes at near neutral pH: A review. *Applied Catalysis B: Environmental*, 209, 358–371.
- Clarke, B. O., Anumol, T., Barlaz, M., Snyder, S. A. (2015). Investigating landfill leachate as a source of trace organic pollutants. *Chemosphere*, 127, 269–275.
- Colombo, A., Módenes, A. N., Góes Trigueros, D. E., Giordani da Costa, S. I., Borba, F. H., Espinoza-Quñones, F. R. (2019). Treatment of sanitary landfill leachate by the combination of photo-Fenton and biological processes. *Journal of Cleaner Production*, 214, 145–153.
- Comunicación COM (2012) 673, 2012.
- Comunicación COM (2015) 120, 2015.
- Couto, R. S. de P., Oliveira, A. F., Guarino, A. W. S., Perez, D. V., Marques, M. R. da C. (2016). Removal of ammonia nitrogen from distilled old landfill leachate by adsorption on raw and modified aluminosilicate. *Environmental Technology*, 38(7), 816–826.
- Cruz-Salomón, A., Meza-Gordillo, R., Lagunas-Rivera, S., Ventura-Canseco, C. (2017a). Biogas production from a native beverage vinasse using a modified UASB bioreactor. *Waste Technology*, 5(1), 9-14.
- Cruz-Salomón, A., Ríos-Valdovinos, E., Pola-Albores, F., Meza-Gordillo, R., Lagunas-Rivera, S., Ruíz-Valdiviezo, V. (2017b). Anaerobic treatment of agro-industrial wastewaters for COD removal in expanded granular sludge bed bioreactor. *Biofuel Research Journal*, 4(4), 715-720.
- Cruz-Salomón, A., Ríos-Valdovinos, E., Pola-Albores, F., Lagunas-Rivera, S., Meza-Gordillo, R., Ruíz-Valdiviezo, V. (2018). Evaluation of hydraulic retention time on treatment of coffee processing wastewater (CPWW) in EGSB bioreactor. *Sustainability*, 10(1), 83.

-D-

Dacanal, M., Beal, L. L. (2010). Filtro anaeróbico asociado à membrana de microfiltração tratando lixiviado de aterro sanitário. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, 15(1), 11–18.

Davarnejad, R., Nikseresht, M. (2016). Dairy wastewater treatment using an electrochemical method: Experimental and statistical study. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 775, 364–373.

De la Cruz, N., Giménez, J., Esplugas, S., Grandjean, D., de Alencastro, L. F., Pulgarín, C. (2012). Degradation of 32 emergent contaminants by UV and neutral photo-fenton in domestic wastewater effluent previously treated by activated sludge. *Water Research*, 46(6), 1947–1957.

De Torres-Socías, E., Fernández-Calderero, I., Oller, I., Trinidad-Lozano, M. J., Yuste, F. J., Malato, S. (2013). Cork boiling wastewater treatment at pilot plant scale: Comparison of solar photo-Fenton and ozone (O₃, O₃/H₂O₂). Toxicity and biodegradability assessment. *Chemical Engineering Journal*, 234, 232–239.

De Torres-Socías, E., Prieto-Rodríguez, L., Zapata, A., Fernández-Calderero, I., Oller, I., Malato, S. (2015). Detailed treatment line for a specific landfill leachate remediation. Brief economic assessment. *Chemical Engineering Journal*, 261, 60–66.

Decisión n° 2455/2001/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de noviembre de 2001, por la que se aprueba la lista de sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas. *Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado*, DOUE-L-2001-82703, 331, 1-5.

Decisión de ejecución (UE) 2015/495 DE LA COMISIÓN de 20 de marzo de 2015 por la que se establece una lista de observación de sustancias a efectos de seguimiento a nivel de la Unión en el ámbito de la política de aguas, de conformidad con la Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo y del Consejo. L 78, 40-42.

Decisión de ejecución (UE) 2018/840 DE LA COMISIÓN de 5 de junio de 2018 por la que se establece una lista de observación de sustancias a efectos de seguimiento a nivel de la Unión en el ámbito de la política de aguas, de conformidad con la Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, y se deroga la Decisión de Ejecución (UE) 2015/495 de la Comisión. L 141, 9-12.

De la Obra I., L. Ponce-Robles, S. Miralles-Cuevas, I. Oller, S. Malato, J.A. Sánchez Pérez. (2017). Microcontaminant removal in secondary effluents by solar photo-Fenton at circumneutral pH in raceway pond reactors. *Catalysis Today*, 287, 10–14.

De Luca, A., Dantas, R. F., Esplugas, S. (2014). Assessment of iron chelates efficiency for photo-Fenton at neutral pH. *Water Research*, 61, 232–242.

De Morais, J. L., Zamora, P. P. (2005). Use of advanced oxidation processes to improve the biodegradability of mature landfill leachates. *Journal of Hazardous Materials*, 123(1-3), 181–186.

Dhaouadi, H., Marrot, B. (2008). Olive mill wastewater treatment in a membrane bioreactor: Process feasibility and performances. *Chemical Engineering Journal*, 145(2), 225–231.

Diamadopoulos, E., Samaras, P., Dabou, X., Sakellaropoulos, G.P. (1997). Combined treatment of leachate and domestic sewage in a sequencing batch reactor. *Water Science and Technology*, 36, 61–68.

Dias, F. F., Bhat, J. V. (1965). Microbial ecology of activated sludge II. Bacteriophages, bdellovibrio, coliforms, and other organisms. *Applied microbiology*, 13(2), 257-261.

Díez, A. M., Ribeiro, A. S., Sanromán, M. A., Pazos, M. (2018). Optimization of photo-Fenton process for the treatment of prednisolone. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(28), 27768-27782.

Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 23 de octubre de 2000, estableciendo un marco para la acción comunitaria en el ámbito de la política de aguas. *Revista oficial del parlamento europeo*, L 327, 1-82.

Directiva 2006/7/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de febrero de 2006, relativa a la gestión de la calidad de las aguas de baño. *Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado*, DOUE-L-2006-80413, 64, 37-51.

Directiva 2006/11/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de febrero de 2006, relativa a la contaminación causada por determinadas sustancias peligrosas vertidas en el medio acuático de la Comunidad. *Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado*, DOUE-L-2006-80414, 64, 52-59.

Directiva 2008/1/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de enero de 2008, relativa a la prevención y al control integrados de la contaminación. *Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado*, DOUE-L-2008-80074, 24, 8-29.

Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, relativa a las normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas. *Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado*, DOUE-L-2008-82606, 348, 84-97.

Directiva 2010/75/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 24 de noviembre de 2010, sobre las emisiones industriales (prevención y control integrados de la contaminación). *Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado*, DOUE-L-2010-82362, 334, 17-119.

Directiva 2013/39/UE del Parlamento Europeo y del Consejo de 12 de agosto de 2013 por la que se modifican las Directivas 2000/60/CE y 2008/105/CE en cuanto a las sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas. L 226, 1-17.

Directiva 76/160/CEE del Consejo, de 8 de diciembre de 1975, relativa a la calidad de las aguas de baño. *Diario oficial de las comunidades europeas*, L 31, 1, 133-139.

Directiva 80/778/CEE del Consejo, de 15 de julio de 1980, relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano. *Diario oficial de las comunidades europeas*, L 229/11, 2, 174-192.

Directiva 91/271/CEE del Consejo, de 21 de mayo de 1991, sobre el tratamiento de las aguas residuales urbanas. *Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado*, DOUE-L-1991-80646, 135, 40-52.

Directiva 96/61/CE del Consejo, de 24 de septiembre de 1996, relativa a la prevención y al control integrados de la contaminación. Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado, DOUE-L-1996-81690, 257, 26-40.

Directiva 98/15/CE de la Comisión, de 27 de febrero de 1998, por la que se modifica la Directiva 91/271/CEE del Consejo en relación con determinados requisitos establecidos en su anexo I. Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado, DOUE-L-1998-80424, 67, 29-30.

Diya'uddeen, B. H., Rahim Pouran, S., Abdul Aziz, A. R., Nashwan, S. M., Wan Daud, W. M. A., Shaaban, M. G. (2015). Hybrid of Fenton and sequencing batch reactor for petroleum refinery wastewater treatment. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 25, 186–191.

Domínguez, C. M., Quintanilla, A., Casas, J. A., Rodríguez, J. J. (2014). Treatment of real winery wastewater by wet oxidation at mild temperature. *Separation and Purification Technology*, 129, 121–128.

Durán, A., Monteagudo, J. M., Gil, J., Expósito, A. J., San Martín, I. (2015). Solar-photo-Fenton treatment of wastewater from the beverage industry: Intensification with ferrioxalate. *Chemical Engineering Journal*, 270, 612–620.

-E-

Eggen, T., Moeder, M., Arukwe, A. (2010). Municipal landfill leachates: A significant source for new and emerging pollutants. *Science of The Total Environment*, 408 (21), 5147–5157.

Ehrig, H.J., Robinson, H. (2010). Landfilling: Leachate Treatment. En: Christensen T. H. (Ed), *Solid waste technology and management* (pp. 858-897). Chichester, Reino Unido: John Wiley and Sons Inc.

Engebretson, R. R., von Wandruszka, R. (1994). Micro-Organization in Dissolved Humic Acids. *Environmental Science and Technology*, 28(11), 1934–1941.

España-Gamboa, E., Vicent, T., Font, X., Dominguez-Maldonado, J., Canto-Canché, B., Alzate-Gaviria, L. (2017). Pretreatment of vinasse from the sugar refinery industry under non-sterile conditions by *Trametes versicolor* in a fluidized bed bioreactor and its effect when coupled to an UASB reactor. *Journal of Biological Engineering*, 11(6).

Esplugas, S., Giménez, J., Contreras, S., Pascual, E., Rodríguez, M. (2002). Comparison of different advanced oxidation processes for phenol degradation. *Water Research*, 36(4), 1034- 1042.

Esplugas, S., Bila, D. M., Krause, L. G. T., Dezotti, M. (2007). Ozonation and advanced oxidation technologies to remove endocrine disrupting chemicals (EDCs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in water effluents. *Journal of Hazardous Materials*, 149(3), 631–642

European Parliament Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013, Amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as Regards Priority Substances in the Field of Water Policy (2013).

-F-

Fascella, G., Montoneri, E., Ginepro, M., Francavilla, M. (2015). Effect of urban biowaste derived soluble substances on growth, photosynthesis and ornamental value of *Euphorbia x lomi*. *Scientia Horticulturae*, 197, 90–98.

Feng, M., Yan, L., Zhang, X., Sun, P., Yang, S., Wang, L., Wang, Z. (2016). Fast removal of the antibiotic flumequine from aqueous solution by ozonation: Influencing factors, reaction pathways, and toxicity evaluation. *Science of The Total Environment*, 541, 167–175.

Fenton, H.J.H. (1894). Oxidation of tartaric acid in presence of iron. *Journal of the Chemical Society*, 65, 899–910.

Foo, K. Y., Hameed, B. H. (2009). An overview of landfill leachate treatment via activated carbon adsorption process. *Journal of Hazardous Materials*, 171(1-3), 54–60.

Fossi, M., Casini, S., Marsili, L., Neri, G., Mori, G., Ancora, S., Moscatelli, A., Ausili, A., Notarbartolo-di-Sciara, G. (2002), Biomarkers for endocrine disruptors in three species of Mediterranean large pelagic fish. *Marine Environmental Research*, (54) 667–671.

Fu, F., Wang, Q. (2011). Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. *Journal of Environmental Management*, 92(3), 407–418.

Fuertes, I., Gómez-Lavín, S., Elizalde, M. P., Urtiaga, A. (2017). Perfluorinated alkyl substances (PFASs) in northern Spain municipal solid waste landfill leachates. *Chemosphere*, 168, 399–407.

Fukushima, M., Tatsumi, K. (2001). Degradation Pathways of Pentachlorophenol by Photo-Fenton Systems in the Presence of Iron (III), Humic Acid, and Hydrogen Peroxide. *Environmental Science and Technology*, 35(9), 1771–1778.

-G-

Gallego-Schmid, A., Tarpani, R. R. Z., Miralles-Cuevas, S., Cabrera-Reina, A., Malato, S., Azapagic, A. (2019). Environmental assessment of solar photo-Fenton processes in combination with nanofiltration for the removal of micro-contaminants from real wastewaters. *Science of the total environment*, 650, 2210–2220.

Gao, J., Oloibiri, V., Chys, M., Audenaert, W., Decostere, B., He, Y., Langenhove, V., Demeestere, K., Van Hulle, S.W. (2014). The present status of landfill leachate treatment and its development trend from a technological point of view. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 14(1), 93–122.

García, C. A., Hodaifa, G. (2017). Real olive oil mill wastewater treatment by photo-Fenton system using artificial ultraviolet light lamps. *Journal of Cleaner Production*, 162, 743–753.

García-Ballesteros, S., Grimalt, J., Berto, S., Minella, M., Laurenti, E., Vicente, R., López-Pérez, M.F., Amat, A.M., Prevot, A.B., Arques, A. (2018). New Route for

Valorization of Oil Mill Wastes: Isolation of Humic-Like Substances to be Employed in Solar-Driven Processes for Pollutants Removal. *ACS Omega* 3, 13073–13080.

Giannakis, S., Gamarra Vives, F. A., Grandjean, D., Magnet, A., De Alencastro, L. F., Pulgarin, C. (2015). Effect of advanced oxidation processes on the micropollutants and the effluent organic matter contained in municipal wastewater previously treated by three different secondary methods. *Water Research*, 84, 295–306.

Gligorovski, S., Strekowski, R., Barbati, S., Vione, D. (2015). Environmental Implications of Hydroxyl Radicals ($\bullet\text{OH}$). *Chemical Reviews*, 115(24), 13051–13092.

Gogate P.R., Pandit A.B. (2004). A review of imperative technologies for wastewater treatment I: oxidation technologies at ambient conditions. *Advances in Environmental Research*, 8, 501–551.

Gomes, A. I., Foco, M. L.R., Vieira, E., Cassidy, J., Silva, T. F.C.V., Fonseca, A., Saraiva, I., Boaventura, R. A. R., Vilar, V. J. P. (2018). Multistage treatment technology for leachate from mature urban landfill: Full scale operation performance and challenges. *Chemical Engineering Journal*, Article in press.

Gomes, D. S., Gando-Ferreira, L. M., Quinta-Ferreira, R. M., Martins, R. C. (2017). Removal of sulfamethoxazole and diclofenac from water: strategies involving O_3 and H_2O_2 . *Environmental Technology*, 39(13), 1658–1669.

Gomis, J., Carlos, L., Prevot, A. B., Teixeira, A. C. S. C., Mora, M., Amat, A. M., Arques, A. (2015a). Bio-based substances from urban waste as auxiliaries for solar photo-Fenton treatment under mild conditions: Optimization of operational variables. *Catalysis Today*, 240, 39–45.

Gonçalves, A.L., Pires, J.C.M., Simoes, M. (2017). A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. *Algal Research*, 24, 403–415.

González-Gómez, F., García-Rubio, M.A., Guardiola, J. (2012). Water Policy and Management in Spain. *International Journal of Water Resources Development*, 28, 3–12.

González-González, A., Cuadros, F. (2015). Effect of aerobic pretreatment on anaerobic digestion of olive mill wastewater (OMWW): An ecoefficient treatment. *Food and Bioproducts Processing*, 95, 339–345.

Gosling, S. N., Bretherton, D., Haines, K., Arnell, N. W. (2010). Global hydrology modelling and uncertainty: running multiple ensembles with a campus grid. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 368(1926), 4005–4021.

Gosling, S. N., Arnell, N. W. (2016). A global assessment of the impact of climate change on water scarcity. *Climatic Change*, 134(3), 371–385.

Gros, M., Petrović, M., Ginebreda, A., Barceló, D. (2010) Removal of pharmaceuticals during wastewater treatment and environmental risk assessment using hazard indexes. *Environment International*, 36, 15–26.

Gulsen, H., Turan, M. (2004a). Treatment of Sanitary Landfill Leachate Using a Combined Anaerobic Fluidized Bed Reactor and Fenton's Oxidation. *Environmental Engineering Science*, 21(5), 627–636.

Gulsen, H., Turan, M. (2004b). Startup of an Anaerobic Fluidized Bed Reactor for Landfill Leachate Treatment. *Environmental Technology*, 25(10), 1107–1114.

Guo, J, Abbas, A.A, Chen, Y, Liu, Z, Fang, F and Chen, P. (2010). Treatment of landfill leachate using a combined stripping, Fenton, SBR and Coagulation process. *Journal of Hazardous Material*, 178, 699-705.

Gupta, V. K., Ali, I., Saleh, T. A., Nayak, A., Agarwal, S. (2012). Chemical treatment technologies for waste-water recycling-an overview. *RSC Advances*, 2(16), 6380-6388.

Gutiérrez-Zapata, H. M., Rojas, K. L., Sanabria, J., Rengifo-Herrera, J. A. (2016). 2,4-D abatement from groundwater samples by photo-Fenton processes at circumneutral pH using naturally iron present. Effect of inorganic ions. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(7), 6213–6221.

-H-

Haapea, P., Korhonen, S., Tuhkanen, T. (2002). Treatment of Industrial Landfill Leachates By Chemical And Biological Methods: Ozonation, Ozonation + Hydrogen Peroxide, Hydrogen Peroxide And Biological Post-Treatment For Ozonated Water. *Ozone: Science and Engineering*, 24(5), 369–378.

Hario, M., Hirvi, J. P., Hollmen, T. and Rudback, E., (2004), 'Organochlorine concentrations in diseased vs. healthy gull chicks from the northern Baltic'. *Environmental Pollution*, 127, 411–423.

Hassan, M., Wang, X., Wang, F., Wu, D., Hussain, A., Xie, B. (2017). Coupling ARB-based biological and photochemical (UV/TiO₂ and UV/S₂O₈²⁻) techniques to deal with sanitary landfill leachate. *Waste Management*, 63, 292–298.

Hayashi, A., Akimoto, K., Sano, F., Mori, S., Tomoda, T. (2010). Evaluation of global warming impacts for different levels of stabilization as a step toward determination of the long-term stabilization target. *Climatic Change*, 98(1-2), 87–112.

He, P., Xue, J., Shao, L., Li, G., Lee, D.-J. (2006). Dissolved organic matter (DOM) in recycled leachate of bioreactor landfill. *Water Research*, 40(7), 1465–1473.

He, Y., Sutton, N. B., Rijnaarts, H. H. H., Langenhoff, A. A. M. (2016). Degradation of pharmaceuticals in wastewater using immobilized TiO₂ photocatalysis under simulated solar irradiation. *Applied Catalysis B: Environmental*, 182, 132–141.

Heavey, M. (2003). Low-cost treatment of landfill leachate using peat. *Waste Management*, 23(5), 447–454.

Hermes, N., Jewell, K. S., Wick, A., Ternes, T. A. (2018). Quantification of more than 150 micropollutants including transformation products in aqueous samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using scheduled multiple reaction monitoring. *Journal of Chromatography A*, 1531, 64–73.

- Hernández-García, A., Velásquez-Orta, S. B., Novelo, E., Yáñez-Noguez, I., Monje-Ramírez, I., Orta Ledesma, M. T. (2019). Wastewater-leachate treatment by microalgae: Biomass, carbohydrate and lipid production. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 174, 435–444.
- Hilles, A. H., Abu Amr, S. S., Hussein, R. A., El-Sebaie, O. D., Arafa, A. I. (2016). Performance of combined sodium persulfate/H₂O₂ based advanced oxidation process in stabilized landfill leachate treatment. *Journal of Environmental Management*, 166, 493–498.
- Hincapié, M., Maldonado, M. I., Oller, I., Gernjak, W., Sánchez-Pérez, J. A., Ballesteros, M. M., Malato, S. (2005). Solar photocatalytic degradation and detoxification of EU priority substances. *Catalysis Today*, 101(3-4), 203–210.
- Hollender, J., Zimmermann, S. G., Koepke, S., Krauss, M., McArdell, C. S., Ort, C., Singer, H., Gunten, U. V., 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 and Technology*, 43(20), 7862–7869.
- Hu, W., Zhou, Y., Min, X., Liu, J., Li, X., Luo, L., Zhang, J., Mao, Q., Chai, L., Zhou, Y. (2017). The study of a pilot-scale aerobic/Fenton/anoxic/aerobic process system for the treatment of landfill leachate. *Environmental Technology*, 39(15), 1926–1936.
- Huang, C. P., Dong, C., Tang, Z. (1993). Advanced chemical oxidation: Its present role and potential future in hazardous waste treatment. *Waste Management*, 13(5-7), 361–377.
- Huang, L., Gao, B., Guo, P., Zhang, B. (2009). Removal of Organic Matters and Ammonia in Landfill Leachate via a UASB and Anoxic/Aerobic Bioreactor Process. 2009 3rd International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering, Pekín, China, 1-6.
- Huang, W., Brigante, M., Wu, F., Hanna, K., Mailhot, G. (2012). Development of a new homogenous photo-Fenton process using Fe(III)-EDDS complexes. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 239, 17–23.
- Hübner, U., von Gunten, U., Jekel, M. (2015). Evaluation of the persistence of transformation products from ozonation of trace organic compounds – a critical review. *Water Research*. 68, 150–170.
- Hur, J.M, Park, J.A, Son, B.S, Jang, B.G and Kim, S.H. (2000). Mature landfill leachate treatment from an abandoned municipal waste disposal site. *Korean Journal Chemistry Engineering*, 18(2), 233-239.

-I-

- Iboukhoulef, H., Amrane, A., Kadi, H. (2014). Removal of phenolic compounds from olive mill wastewater by a Fenton-like system H₂O₂/Cu(II)—thermodynamic and kinetic modeling. *Desalination and Water Treatment*, 57(4), 1874–1879.

Insel, G.; Dagdar, M.; Dogruel, S.; Dizge, N.; Cokgor, E.U.; Keskinler, B. Biodegradation characteristics and size fractionation of landfill leachate for integrated membrane treatment. *J. Hazard. Mater.* 2013, 260, 825–832.

Iskander, S.M., Novak, J. T., He, Z. (2019). Reduction of reagent requirements and sludge generation in Fenton's oxidation of landfill leachate by synergistically incorporating forward osmosis and humic acid recovery. *Water Research*, 151, 310-317.

Ismail, S., Tawfik, A. (2015). Treatment of hazardous landfill leachate using Fenton process followed by a combined (UASB/DHS) system. *Water Science and Technology*, 73(7), 1700–1708.

Ismail, S., Tawfik, A. (2016). Performance of passive aerated immobilized biomass reactor coupled with Fenton process for treatment of landfill leachate. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 111, 22–30.

-J-

Janin, A., Blais, J.-F., Mercier, G., Drogui, P. (2009). Selective recovery of Cr and Cu in leachate from chromated copper arsenate treated wood using chelating and acidic ion exchange resins. *Journal of Hazardous Materials*, 169(1-3), 1099–1105.

Javadi, N. H. S., Baghdadi, M., Mehrdadi, N., Mortazavi, M. (2018). Removal of benzotriazole from secondary municipal wastewater effluent by catalytic ozonation in the presence of magnetic alumina nanocomposite. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6(5), 6421-6430.

Jernberg, J., Pellinen, J., Rantalainen, A.L. (2013). Qualitative nontarget analysis of landfill leachate using gas chromatography time-of-flight mass spectrometry. *Talanta*, 103, 384–391.

Jobling, S., Williams, R., Johnson, A., Taylor, A., Gross- Sorokin, M., Nolan, M., Tyler, C. R., van Aerle, R., Santos, E., Brighty, G., (2006), Predicted exposures to steroid estrogens in U.K. rivers correlate with widespread sexual disruption in wild fish populations. *Environmental Health Perspectives*, 114, 32–39.

-K-

Kalmykova, Y., Björklund, K., Strömvall, A.M., Blom, L. (2013). Partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons, alkylphenols, bisphenol A and phthalates in landfill leachates and stormwater. *Water Research*, 47(3), 1317–1328.

Kamaruddin, M.A., Yusoff, M. S., Rui, L. M., Isa, A. M.; Zawawi, M. H.; Alrozi, R. (2017). An overview of municipal solid waste management and landfill leachate treatment: Malaysia and Asian perspectives. *Environmental science and pollution research international*, 24 (35), 26988-27020.

Kapelewska, J., Kotowska, U., Wiśniewska, K. (2015). Determination of personal care products and hormones in leachate and groundwater from Polish MSW landfills by ultrasound-assisted emulsification microextraction and GC-MS. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(2), 1642–1652.

- Karapmar, M., Worgan, J. T. (1983). Bioprotein production from the waste products of olive oil extraction. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology. Biotechnology*, 33(3), 185–188.
- Karlsson, T., Persson, P. (2012). Complexes with aquatic organic matter suppress hydrolysis and precipitation of Fe(III). *Chemical Geology*, 322-323, 19–27.
- Katsumata, H., Kaneco, S., Suzuki, T., Ohta, K., Yobiko, Y. (2006). Photo-Fenton degradation of alachlor in the presence of citrate solution. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 180, 38–45.
- Kheradmand, S., Karimi-Jashni, A., Sartaj, M. (2010). Treatment of municipal landfill leachate using a combined anaerobic digester and activated sludge system. *Waste Management*, 30(6), 1025-1031.
- Kim, S-M., Geissen, S-U., Vogelpohl A. (1997). Landfill leachate treatment by a photoassisted Fenton reaction. *Water Science and Technology*, 35(4), 239–248.
- Kim, J. S., Kim, C. H., Won, H. Y., Kim, J. G. (2001). Treatment of leachate produced in stabilized landfills by coagulation and Fenton oxidation process. *Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers*, 32(5), 425-429.
- Kjeldsen, P., Barlaz, M. A., Rooker, A. P., Baun, A., Ledin, A., Christensen, T. H. (2002). Present and Long-Term Composition of MSW Landfill Leachate: A Review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 32(4), 297–336.
- Klamerth, N., Gernjak, W., Malato, S., Agüera, A., Lendl, B. (2009). Photo-Fenton decomposition of chlorfenvinphos: Determination of reaction pathway. *Water Research*, 43(2), 441–449.
- Klamerth, N., Malato, S., Maldonado, M. I., Agüera, A., Fernández-Alba, A. R. (2011). Modified photo-Fenton for degradation of emerging contaminants in municipal wastewater effluents. *Catalysis Today*, 161, 241–246.
- Klamerth, N., Malato, S., Agüera, A., Fernández-Alba, A., Mailhot, G. (2012). Treatment of Municipal Wastewater Treatment Plant Effluents with Modified Photo-Fenton as a Tertiary Treatment for the Degradation of Micro Pollutants and Disinfection. *Environmental Science and Technology*, 46(5), 2885–2892.
- Klamerth, N., Malato, S., Agüera, A., Fernández-Alba, A. (2013). Photo-Fenton and modified photo-Fenton at neutral pH for the treatment of emerging contaminants in wastewater treatment plant effluents: a comparison. *Water. Research*, 47, 833-840.
- Klauck, C. R., Giacobbo, A., de Oliveira, E. D. L., da Silva, L. B., Rodrigues, M. A. S. (2017). Evaluation of acute toxicity, cytotoxicity and genotoxicity of landfill leachate treated by biological lagoon and advanced oxidation processes. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5(6), 6188–6193.
- Klauson, D., Kivi, A., Kattel, E., Klein, K., Viisimaa, M., Bolobajev, J., Velling, S., Goi, A., Tenno, T., Trapido, M. (2014). Combined processes for wastewater purification: treatment of a typical landfill leachate with a combination of chemical and biological

oxidation processes. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 90(8), 1527–1536.

Klein, K., Kivi, A., Dulova, N., Zekker, I., Mölder, E., Tenno, T., Trapido, M., Tenno, T. (2016). A pilot study of three-stage biological–chemical treatment of landfill leachate applying continuous ferric sludge reuse in Fenton-like process. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 19(2), 541–551.

Knopp, G., Prasse, C., Ternes, T.A., Cornel, P. (2016). Elimination of micropollutants and transformation products from a wastewater treatment plant effluent through pilot scale ozonation followed by various activated carbon and biological filters. *Water Research*, 100, 580–592.

Kragelund, C., Levantesi, C., Borger, A., Thelen, K., Eikelboom, D., Tandoi, V., Nielsen, P. H. (2008). Identity, abundance and ecophysiology of filamentous bacteria belonging to the Bacteroidetes present in activated sludge plants. *Microbiology*, 154(3), 886–894.

Krzeminska, D., Neczaj, E. (2013). Treatment of dairy wastewater by ozone and biological process. En: Pavlowski, Dudzinska M. R. (Eds), *Environmental Engineering IV - Proceedings of the Conference on Environmental Engineering IV* (pp. 103–110). Londres, Reino Unido: Taylor and Francis Group.

Kulikowska, D., Kaczówka, E., Pokój, T., Gusiatin, Z. (2009). Application of moving bed biofilm reactor (MBBR) for high-ammonium landfill leachate nitrification. *New Biotechnology*, 25S, S351–S352.

Kumari, M., Ghosh, P., Thakur, I. S. (2016). Landfill leachate treatment using bacto-algal co-culture: An integrated approach using chemical analyses and toxicological assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 128, 44–51.

Kurniawan T.A., Lo W.H., Chan G.Y.S. (2006). Physico-chemical treatments for removal of recalcitrant contaminants from landfill leachate. *Journal of Hazardous Materials*, 129, 80–100.

-L-

Lado Ribeiro, A.R., Moreira, N. F. F., Li Puma, G., Silva, A.M.T. (2019). Impact of water matrix on the removal of micropollutants by advanced oxidation technologies. *Chemical Engineering Journal*, 363, 155–173.

Lapworth D.J., Baranb N., Stuarda M.E., Warda R.S. (2012). Review Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence *Environmental Pollution* 163, 287–303.

Lee, Y., Von Gunten, U. (2016). Advances in predicting organic contaminant abatement during ozonation of municipal wastewater effluent: reaction kinetics, transformation products, and changes of biological effects. *Environmental Science: Water Research and Technology*, 2(3), 421–442.

Ledakowicz, S., Kaczorek, K. (2004). Laboratory Simulation of Anaerobic Digestion of Municipal Solid Waste. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 39(4), 859–871.

- Ley 29/1985, de 2 de agosto, de Aguas. Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado, BOE-A-1985-16661, 189, 25123-25135.
- Ley 16/2002, de 1 de julio, de Prevención y Control Integrados de la Contaminación. Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado, BOE-A-2002-12995, 157, 23910-23927.
- Ley 62/2003, de 30 de diciembre, de medidas fiscales, administrativas y del orden social. Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado, BOE-A-2003-23936, 313, 46874-46992.
- Ley 26/2007, de 23 de octubre, de Responsabilidad Medioambiental. Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado, BOE-A-2007-18475, 255, 43229-43250.
- Li J., Niu A., Lu C.J., Zhang, J.H., Junaid M., Strauss P. R., Xiao P., Wang X., Ren Y., Pei D.S. (2017). A novel forward osmosis system in landfill leachate treatment for removing polycyclic aromatic hydrocarbons and for direct fertigation. *Chemosphere*, 168, 112–121.
- Li, X. Z., Zhao, Q. L., Hao, X. D. (1999). Ammonium removal from landfill leachate by chemical precipitation. *Waste Management*, 19(6), 409–415.
- Li, X., Zhao, Q. (2003). Recovery of ammonium-nitrogen from landfill leachate as a multi-nutrient fertilizer. *Ecological Engineering*, 20(2), 171–181.
- Lim, J.X., Vadivelu, V. M. (2014). Treatment of agro based industrial wastewater in sequencing batch reactor: Performance evaluation and growth kinetics of aerobic biomass. *Journal of Environmental Management*, 146, 217-225.
- Lipczynska-Kochany, E., Kochany, J. (2008). Effect of humic substances on the Fenton treatment of wastewater at acidic and neutral pH. *Chemosphere*, 73(5), 745–750.
- Liu, G., Ye, Z., Tong, K., Zang, Y. (2013). Biotreatment of heavy oil wastewater by combined upflow anaerobic sludge blanket and immobilized biological aerated filter in a pilot-scale test. *Biochemical Engineering Journal*, 72, 48-53.
- Loaiza-Ambuludi, S., Panizza, M., Oturan, N., Oturan, M. A. (2014). Removal of the anti-inflammatory drug ibuprofen from water using homogeneous photocatalysis. *Catalysis Today*, 224, 29-33.
- Lopez, M. Pagano, A. Volpe, A. Di Pinto. A.C. (2004) Fenton's pre-treatment of mature landfill leachate. *Chemosphere*, 54 (7), 1005–1010.
- Lucas, M. S.; Peres, J. A.; Amor, C., Prieto-Rodríguez, L., Maldonado, M.I., Malato, S. (2012). Tertiary treatment of pulp mill wastewater by solar photo-Fenton. *Journal of Hazardous Materials*, 225–226, 173–181.
- Lucas, M. S., Beltrán-Heredia, J., Sanchez-Martin, J., Garcia, J., Peres, J. A. (2013). Treatment of high strength olive mill wastewater by Fenton's reagent and aerobic biological process. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 48(8), 954–962.
- Luo, Y., Guo, W., Ngo, H.H., Nghiem, L.D., Hai, F.I., Zhang, J., Liang, S., Wang, X.C. (2014). A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and

their fate and removal during wastewater treatment. *Science of the Total Environment*, 473 (474), 619-641.

-M-

Ma, J., Wang, Z., Zou, X., Feng, J., Wu, Z. (2013). Microbial communities in an anaerobic dynamic membrane bioreactor (AnDMBR) for municipal wastewater treatment: Comparison of bulk sludge and cake layer. *Process Biochemistry*, 48(3), 510–516.

MacCarthy, P. (2001). The principles of humic substances: An introduction to the first principle. *Special Publication-Royal Society of Chemistry*, 273, 19–30.

Malato, S., Fernández-Ibáñez, P., Maldonado, M. I., Blanco, J., Gernjak, W. (2009). Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends. *Catalysis Today*, 147(1), 1–59.

Malato-Rodríguez, S., Fernández-Ibáñez, P., Maldonado, M.I., Oller, I., Polo-López, M.I. (2013). Photocatalysis solar pilot plants. Commercially available reactors. En: Pichat, P. (Ed.), *Photocatalysis and Water Purification: From Fundamentals to Recent Applications* (pp.377-397). Weinheim, Alemania: Wiley–VCH.

Manenti, D. R., Soares, P. A., Módenes, A. N., Espinoza-Quñones, F. R., Boaventura, R. A. R., Bergamasco, R., Vilar, V. J. P. (2015). Insights into solar photo-Fenton process using iron(III)–organic ligand complexes applied to real textile wastewater treatment. *Chemical Engineering Journal*, 266, 203–212.

Mantzavinos, D., Psillakis, E. (2004). Enhancement of biodegradability of industrial wastewaters by chemical oxidation pre-treatment. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 79, 431-454.

Martín, J., Sampedro, I., García-Romera, I., García-Garrido, J. M., Ocampo, J. A. (2002). Arbuscular mycorrhizal colonization and growth of soybean (*Glycine max*) and lettuce (*Lactuca sativa*) and phytotoxic effects of olive mill residues. *Soil Biology and Biochemistry*, 34(11), 1769–1775.

Martínez-Piernas, A. B., Plaza-Bolaños, P., García-Gómez, E., Fernández-Ibáñez, P., Agüera, A. (2018). Determination of organic microcontaminants in agricultural soils irrigated with reclaimed wastewater: Target and suspect approaches. *Analytica Chimica Acta*, 1030, 115–124.

Marttinen, S.K., Kettunen, R.H, Sormunen, K.M., Soimasuo, R.M., Rintala, J.A. (2002). Screening of physical–chemical methods for removal of organic material, nitrogen and toxicity from low strength landfill leachates. *Chemosphere*, 46(6), 851–858.

Marttinen, S. K., Kettunen, R. H., Rintala, J. A. (2003). Occurrence and removal of organic pollutants in sewages and landfill leachates. *Science of The Total Environment*, 301(1-3), 1–12.

Maruya, K. A., Schlenk, D., Anderson, P. D., Denslow, N. D., Drewes, J. E., Olivieri, A. W. (2014). An adaptive, comprehensive monitoring strategy for chemicals of emerging

concern (CECs) in California's aquatic ecosystems. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 10(1), 69–77.

Masoner, J. R., Kolpin, D. W., Furlong, E. T., Cozzarelli, I. M., Gray, J. L., Schwab, E. A. (2014). Contaminants of emerging concern in fresh leachate from landfills in the conterminous United States. *Environ. Sci.: Processes Impacts*, 16(10), 2335–2354.

Masoner, J. R., Kolpin, D. W., Furlong, E. T., Cozzarelli, I. M., Gray, J. L. (2015). Landfill leachate as a mirror of today's disposable society: Pharmaceuticals and other contaminants of emerging concern in final leachate from landfills in the conterminous United States. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35(4), 906–918.

MassBank Database, (n.d.). <https://massbank.eu/>. Acceso el 18/05/19.

Matthews, R., Winson, M., Scullion, J. (2009). Treating landfill leachate using passive aeration trickling filters; effects of leachate characteristics and temperature on rates and process dynamics. *Science of The Total Environment*, 407(8), 2557–2564.

Meyer, T., Wania, F. (2007). What environmental fate processes have the strongest influence on a completely persistent organic chemical's accumulation in the Arctic?. *Atmospheric Environment*, 41(13), 2757–2767.

Miao, L., Wang, K., Wang, S., Zhu, R., Li, B., Peng, Y., Weng, D. (2014). Advanced nitrogen removal from landfill leachate using real-time controlled three-stage sequence batch reactor (SBR) system. *Bioresource Technology*, 159, 258–265.

Miao, L., Wang, S., Cao, T., Peng, Y. (2015). Optimization of three-stage Anammox system removing nitrogen from landfill leachate. *Bioresource Technology*, 185, 450–455.

Michael, I., Panagi, A., Ioannou, L. A., Frontistis, Z., Fatta-Kassinos, D. (2014). Utilizing solar energy for the purification of olive mill wastewater using a pilot-scale photocatalytic reactor after coagulation-flocculation. *Water Research*, 60, 28–40.

Miguel, N., Ormad, M. P., Mosteo, R., Ovelleiro, J. L. (2012). Photocatalytic Degradation of Pesticides in Natural Water: Effect of Hydrogen Peroxide. *International Journal of Photoenergy*, 2012, 1–11.

Miklos, D.B., Remy, C., Jekel, M., Linden, K.G., Drewes, J.E., Hübner, U. (2018). Evaluation of advanced oxidation processes for water and wastewater treatment – a critical review. *Water Research*, 139, 118–131.

Miralles-Cuevas, S., Oller, I., Pérez, J. A. S., Malato, S. (2014a). Removal of pharmaceuticals from MWTP effluent by nanofiltration and solar photo-Fenton using two different iron complexes at neutral pH. *Water Research*, 64, 23–31.

Miralles-Cuevas, S., Audino, F., Oller, I., Sánchez-Moreno, R., Sánchez Pérez, J. A., Malato, S. (2014b). Pharmaceuticals removal from natural water by nanofiltration combined with advanced tertiary treatments (solar photo-Fenton, photo-Fenton-like Fe(III)–EDDS complex and ozonation). *Separation and Purification Technology*, 122, 515–522.

- Miralles-Cuevas, S., Oller, I., Pérez, J. A. S., Malato, S. (2015). Tesis: Eliminación de micro-contaminantes mediante combinación de tecnologías de membrana (nanofiltración) y procesos avanzados de oxidación. ISBN: 978-84-7834-737-7, CIEMAT, Madrid.
- Miralles-Cuevas, S., Oller, I., Agüera, A., Sánchez Pérez, J. A., Malato, S. (2017). Strategies for reducing cost by using solar photo-Fenton treatment combined with nanofiltration to remove microcontaminants in real municipal effluents: Toxicity and economic assessment. *Chemical Engineering Journal*, 318, 161–170.
- Miranda-García, N., Maldonado, M. I., Coronado, J., Malato, S. (2010). Degradation study of 15 emerging contaminants at low concentration by immobilized TiO₂ in a pilot plant. *Catalysis Today*, 151(1), 107–113.
- Monteagudo, J. M., Durán, A., Corral, J. M., Carnicer, A., Frades, J. M., Alonso, M. A. (2012). Ferrioxalate-induced solar photo-Fenton system for the treatment of winery wastewaters. *Chemical Engineering Journal*, 181-182, 281–288.
- Montoneri, E., Prevot, A. B., Avetta, P., Arques, A., Carlos, L., Magnacca, G., Laurenti, E., Tabasso, S. (2013). Food Wastes Conversion to Products for Use in Chemical and Environmental Technology, Material Science and Agriculture. En: Kazmi, A., Shuttleworth, P. (Eds), *The Economic Utilisation of Food Co-Products* (pp. 64-109). Cambridge, Reino Unido: The Royal Society of Chemistry.
- Moo-Young, H.K. (2007) Pulp and Paper Effluent Management. *Water Environment Research*, 79, 1733-1741.
- Moraes P.B., Bertazzoli R. (2005). Electrodegradation of landfill leachate in a flow electrochemical reactor. *Chemosphere*, 58, 41-46.
- Moreira, F. C., Soler, J., Fonseca, A., Saraiva, I., Boaventura, R. A. R., Brillas, E., Vilar, V. J. P. (2015). Incorporation of electrochemical advanced oxidation processes in a multistage treatment system for sanitary landfill leachate. *Water Research*, 81, 375–387.
- Moreira, N. F. F., Orge, C. A., Ribeiro, A. R., Faria, J. L., Nunes, O. C., Pereira, M. F. R., Silva, A. M. T. (2015). Fast mineralization and detoxification of amoxicillin and diclofenac by photocatalytic ozonation and application to an urban wastewater. *Water Research*, 87, 87–96.
- Moretti, M., Van Passel, S., Camposeo, S., Pedrero, F., Dogot, T., Lebailly, P., Vivaldi, G.A. (2019). Modelling environmental impacts of treated municipal wastewater reuse for tree crops irrigation in the Mediterranean coastal region. *Science of the Total Environment* 660, 1513–1521.
- Müller, G. T., Giacobbo, A., dos Santos Chiamonte, E. A., Rodrigues, M. A. S., Meneguzzi, A., Bernardes, A. M. (2015). The effect of sanitary landfill leachate aging on the biological treatment and assessment of photoelectrooxidation as a pre-treatment process. *Waste Management*, 36, 177–183.
- Munter, R. (2001). Advanced Oxidation Processes—Current Status and Prospects. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences. Chemistry*, 50 (2), 59–80.

Muralikrishna, I. V., Manickam, V. (2017). Chapter Thirteen - Industrial Wastewater Treatment Technologies, Recycling, and Reuse. En: Muralikrishna, I. V., Manickam, V. (Eds.), *Environmental Management: Science and Engineering for Industry* (pp. 295-336). Oxford, Reino Unido: Butterworth-Heinemann.

Mwiganga M. and Kansime F. (2005). The impact of Mpererwe landfill in Kampala-Uganda, on the surrounding environment. *Physics and Chemistry of the Earth*, 30, 744-750.

-N-

Nadais, H., Li, X., Alves, N., Couras, C., Andersen, H. R., Angelidaki, I., Zhang, Y. (2018). Bio-electro-Fenton process for the degradation of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs in wastewater. *Chemical Engineering Journal*, 338, 401–410.

Negueroles, P. G., Bou-Belda, E., Santos-Juanes, L., Amat, A. M., Arques, A., Vercher, R. F., Vicente, R. (2016). Treatment and reuse of textile wastewaters by mild solar photo-Fenton in the presence of humic-like substances. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(14), 12664–12672.

Nivya, T. K., Minimol Pieus, T. (2016). Comparison of Photo ElectroFenton Process (PEF) and combination of PEF Process and Membrane Bioreactor in the treatment of Landfill Leachate. *Procedia Technology*, 24, 224–231.

Niwa, T., Yamashita, T., Mitsumizo, M., Takahashi, M., Hatamoto, M., Yamaguchi, T., Kekre, K. A., Lin, L. L., Tao, G., Seah, H. (2017). Pilot-scale test of industrial wastewater treatment by UASB and MBR using a ceramic flat sheet membrane for water reuse. *Journal of Water Reuse and Desalination*, 8(4), 490–496.

Nogueira, V., Lopes, I., Freitas, A. C., Rocha-Santos, T. A. P., Gonçalves, F., Duarte, A. C., Pereira, R. (2015). Biological treatment with fungi of olive mill wastewater pre-treated by photocatalytic oxidation with nanomaterials. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 115, 234–242.

NORMAN Network, NORMAN Suspect List Exchange, (2018). <https://www.norman-network.com/?q=node/236>. Acceso el 15/05/2019.

Nürenberg, G., Schulz, M., Kunkel, U., Ternes, T. A. (2015). Development and validation of a generic nontarget method based on liquid chromatography-high resolution mass spectrometry analysis for the evaluation of different wastewater treatment options. *Journal of Chromatography A*, 1426, 77–90.

-O-

Obied, H. K., Allen, M. S., Bedgood, D. R., Prenzler, P. D., Robards, K., Stockmann, R. (2005). Bioactivity and Analysis of Biophenols Recovered from Olive Mill Waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(4), 823–837.

Oller I., Malato S., y Sanchez-Perez J.A. (2011). Combination of Advanced Oxidation Processes and biological treatments for wastewater decontamination-A review. *Science of the total environment*, 409, 4141- 4166.

Orescanin, V., Kollar, R., Nad, K., Mikelic, I. L., Gustek, S. F. (2013). Treatment of winery wastewater by electrochemical methods and advanced oxidation processes. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 48(12), 1543–1547.

Oz, N. A., Yarimtepe, C.C. (2014). Ultrasound assisted biogas production from landfill leachate. *Waste Management*, 34(7), 1165–1170.

Ozturk, I., Altinbas, M., Koyuncu, I., Arikan, O., Gomec-Yangin, C. (2003). Advanced physico-chemical treatment experiences on young municipal landfill leachates. *Waste Management*, 23(5), 441–446.

-P-

Pagnanelli F., Toro I., Veglio F. (2002). Olive mil solid residues as heavy metal sorbent material: a preliminary study. *Waste Management*, 22, 901-907.

Pal, A., Gin, K. Y.-H., Lin, A. Y.-C., Reinhard, M. (2010). Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: Review of recent occurrences, sources, fate and effects. *Science of the Total Environment*, 408(24), 6062–6069.

Papoutsakis, S., Pulgarin, C., Oller, I., Sánchez-Moreno, R., Malato, S. (2016). Enhancement of the Fenton and photo-Fenton processes by components found in wastewater from the industrial processing of natural products: The possibilities of cork boiling wastewater reuse. *Chemical Engineering Journal*, 304, 890–896.

Paraskeva, P., Diamadopoulos, E. (2006). Technologies for olive mill wastewater (OMW) treatment: a review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 81(9), 1475–1485.

Paskuliakova, A., Tonry, S., Touzet, N. (2016). Phycoremediation of landfill leachate with chlorophytes: phosphate a limiting factor on ammonia nitrogen removal. *Water Research*, 99, 180–187.

Peeters, K., Lespes, G., Milačić, R., Ščančar, J. (2015). Adsorption and degradation processes of tributyltin and trimethyltin in landfill leachates treated with iron nanoparticles. *Environmental Research*, 142, 511–521.

Peña-Mendez, E. M., Havel, J., Patočka, J. (2005). Humic substances-compounds of still unknown structure: applications in agriculture, industry, environment and biomedicine. *Journal of Applied Biomedicine*, 3, 13–24.

Pereira, S., Gonçalves, A., Moreira, F., Silva, T., Vilar, V., Pires, J. (2016). Nitrogen Removal from Landfill Leachate by Microalgae. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(11), 1926.

Pfister, S., Bayer, P. (2014). Monthly water stress: Spatially and temporally explicit consumptive water footprint of global crop production. *Journal of Cleaner Production*, 73, 52–62.

Pignatello, J. J. (1992). Dark and photoassisted Fe³⁺-catalyzed degradation of chlorophenoxy herbicides by hydrogen peroxide. *Environmental Science and Technology*, 26(5), 944–951.

Pignatello, J.J., Oliveros, E., MacKay, A. (2006). Advanced oxidation processes for organic contaminant destruction based on the Fenton reaction and related chemistry. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 36, 1–84.

Plantard, G., Azais, A., Mendret, J., Brosillon, S., Goetz, V. (2018). Coupling of photocatalytic and separation processes as a contribution to mineralization of wastewater. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 134, 115-123.

Ponce-Robles, L., Miralles-Cuevas, S., Oller, I., Agüera, A., Trinidad-Lozano, M. J., Yuste, F. J., Malato, S. (2016). Cork boiling wastewater treatment and reuse through combination of advanced oxidation technologies. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(7), 6317–6328.

Pramanik, B. K., Roddick, F. A., Fan, L. (2015). A comparative study of biological activated carbon, granular activated carbon and coagulation feed pre-treatment for improving microfiltration performance in wastewater reclamation. *Journal of Membrane Science*, 475, 147–155.

Prasetyo, E., Sudiby, H., Budhijanto, W. (2017). Determination of the Optimum Hydraulic Retention Time in Two-Stage Anaerobic Fluidized Bed Bioreactor for Landfill Leachate Treatment. *Journal of Engineering Science and Technology*, 49 (3), 388-399.

Prieto-Rodríguez, L., Spasiano, D., Oller, I., Fernandez-Calderero, I., Agüera, A., Malato, S. (2013). Solar photo-Fenton optimization for the treatment of MWTP effluents containing emerging contaminants. *Catalysis Today*, 209, 188–194.

Prieto-Rodríguez, L., Oller, I., Agüera, A., Malato, S. (2017). Elimination of organic micro-contaminants in municipal wastewater by a combined immobilized biomass reactor and solar photo-Fenton tertiary treatment. *Journal of Advanced Oxidation Technologies*, 20(1)

Propuesta 2018/0169/COD, 2018.

Pulido, J. M. O. (2016). A review on the use of membrane technology and fouling control for olive mill wastewater treatment. *Science of The Total Environment*, 563-564, 664–675.

-Q-

Qureshi, T.I., Kim, H.-T., Kim, Y.-J. (2002). UV-catalytic treatment of municipal solid-waste landfill leachate with hydrogen peroxide and ozone oxidation, *Journal Chemical Engineering*, 10, 444–449.

-R-

Rahmani, H., Gholami, M., Mahvi, A. H., Alimohammadi, M., Azarian, G., Esrafil, A., Rahmani, K., Farzadkia, M. (2014). Tinidazole Removal from Aqueous Solution by Sonolysis in the Presence of Hydrogen Peroxide. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 92(3), 341–346.

Ramos-Cormenzana, A. (1986). Physical, chemical, microbiological and biochemical characteristics of vegetation water. Proc. International Symposium on Olive By-products Valorization. FAO, UNDP, Sevilla, 19-40.

Real Decreto-ley 11/1995, de 28 de diciembre, por el que se establecen las normas aplicables al tratamiento de las aguas residuales urbanas. Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado, BOE-A-1995-27963, 312, 37517-37519.

Real Decreto Legislativo 1/2001, de 20 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Aguas. Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado, BOE-A-2001-14276, 176, 26791-26817.

Real Decreto 907/2007, de 6 de julio, por el que se aprueba el Reglamento de la Planificación Hidrológica. Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado, BOE-A-2007-13182.

Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas. Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado, BOE-A-2007-21092, 294, 50639-50661.

Real Decreto 817/2015, de 11 de septiembre, por el que se establecen los criterios de seguimiento y evaluación del estado de las aguas superficiales y las normas de calidad ambiental. Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado, BOE-A-2015-9806, 219, 80582-80677.

Real Decreto Legislativo 1/2016, de 16 de diciembre, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de prevención y control integrados de la contaminación. Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado, BOE-A-2016-12601, 316, 91806-91842.

Resolución legislativa del Parlamento Europeo de 12 de febrero de 2019; P8_TA-PROV (2019) 0071.

Reinhart, D.R., Al-Yousfi, A.B. (1996). The impact of leachate recirculation on municipal solid waste landfill operating characteristics. Waste Management and Research, 14(4), 337–346.

Remmas, N., Ntougias, S., Chatzopoulou, M., Melidis, P. (2018). Optimization aspects of the biological nitrogen removal process in a full-scale twin sequencing batch reactor (SBR) system in series treating landfill leachate. Journal of Environmental Science and Health, Part A, 53(9), 847–853.

Renou, S, Givaudan, J.G, Poulain, S, Dirassouyan, F and Moulin, P. (2008). Landfill leachate treatment: Review and opportunity. Journal Hazardous Materials, 150(3), 468-493.

Rivas, F.J., Beltran, F., Gimeno, O., Acedo, B., Carvalho, F. (2003). Stabilized leachates: ozone-activated carbon treatment and kinetics. Water Research, 37, 4823–4834.

Rizzo, L., Malato, S., Antakyali, D., Beretsou, V. G., Đolić, M. B., Gernjak, W., Heath, E., Ivancev-Tumbas, I., Karaolia, P., Lado Ribeiro, A.R., Mascolo, G., McArdell, C.S., Schaar, H., Silva, A.M.T., Fatta-Kassinos, D. (2019). Consolidated vs new advanced

treatment methods for the removal of contaminants of emerging concern from urban wastewater. *Science of The Total Environment*, 655, 986-1008.

Robles-Molina J., Gilbert-López B., García-Reyes J.F., Molina-Díaz A. (2010). Determination of organic pollutants in sewage treatment plant effluents by gas chromatography high-resolution mass spectrometry. *Talanta*, 82, 1318-1324.

Roccamante, M., Salmerón, I., Ruiz, A., Oller, I., Malato, S. (2019). New approaches to solar Advanced Oxidation Processes for elimination of priority substances based on electrooxidation and ozonation at pilot plant scale. *Catalysis Today*, in press.

Rocha, E. M. R., Mota, F. S., Vilar, V. J. P., Boaventura, R. A. R. (2013). Comparative analysis of trace contaminants in leachates before and after a pre-oxidation using a solar photo-Fenton reaction. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(9), 5994–6006.

Rodríguez, J., Castrillón, L., Marañón, E., Sastre, H., Fernández, E. (2004). Removal of non-biodegradable organic matter from landfill leachates by adsorption. *Water Research*, 38(14-15), 3297–3303.

Rodríguez-Chueca, J., Amor, C., Fernandes, J. R., Tavares, P. B., Lucas, M. S., Peres, J. A. (2016). Treatment of crystallized-fruit wastewater by UV-A LED photo-Fenton and coagulation–flocculation. *Chemosphere*, 145, 351–359.

Rodríguez-Narvaez, O. M., Peralta-Hernandez, J. M., Goonetilleke, A., Bandala, E. R. (2017). Treatment technologies for emerging contaminants in water: A review. *Chemical Engineering Journal*, 323, 361–380.

Roig, A., Cayuela, M. L., Sánchez-Monedero, M. A. (2006). An overview on olive mill wastes and their valorisation methods. *Waste Management*, 26(9), 960–969.

Román Sánchez, I.M., Carra, I., Sánchez Pérez, J.A. (2014). Promoting environmental technology using sanitary tax: the case of agro-food industrial wastewater in Spain. *Environmental Engineering and Management Journal*, 13 (4), 961-969.

Roshini, P. S., Gandhimathi, R., Ramesh, S. T., Nidheesh, P. V. (2017). Combined Electro-Fenton and Biological Processes for the Treatment of Industrial Textile Effluent: Mineralization and Toxicity Analysis. *Journal of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste*, 21(4), 04017016.

Ryan D., Robards K. (1998). Phenolic compounds in olives. *Analyst*, 123, 31-44R.

-S-

Saggiaro, E. M., Oliveira, A. S., Pavesi, T., Tototzintle, M. J., Maldonado, M. I., Correia, F. V., Moreira, J. C. (2014). Solar CPC pilot plant photocatalytic degradation of bisphenol A in waters and wastewaters using suspended and supported-TiO₂. Influence of photogenerated species. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(21), 12112–12121.

Sainz H., Benítez E., Melgar R., Álvarez R., Gómez M., Nogales R. (2000). Biotransformación y valorización agrícola de subproductos del olivar, orujos secos y

extractados, mediante vermicompostaje. *Boletín de la Sociedad Española de la Ciencia del Suelo*, 7(2), 103-111.

Salavera, D., Chaudhari, S.K., Esteve, X., Coronas, A. (2005). Vapor-Liquid Equilibria of Ammonia + Water + Potassium Hydroxide and Ammonia + Water + Sodium Hydroxide Solutions at Temperatures from (293.15 to 353.15) K. *J. Chem. Eng. Data* 50, 471-476

Salimi, M., Esrafil, A., Gholami, M., Jonidi Jafari, A., Rezaei Kalantary, R., Farzadkia, M., Sobhi, H. R. (2017). Contaminants of emerging concern: a review of new approach in AOP technologies. *Environmental Monitoring and Assessment*, 189(8), 414.

Šan, I., Onay, T. T. (2001). Impact of various leachate recirculation regimes on municipal solid waste degradation. *Journal of Hazardous Materials*, 87(1-3), 259–271.

Santos, A. P. F., Souza, B. M., Silva, T. F. C. V., Cavalcante, R. P., Oliveira, S. C., Machulek, A., Vilar, V. J. P. (2018). Mineralization of humic acids (HAs) by a solar photo-Fenton reaction mediated by ferrioxalate complexes: commercial HAs vs extracted from leachates. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(28), 27783-27795.

Sarkar, S., Ali, S., Rehmann, L., Nakhla, G., Ray, M. B. (2014). Degradation of estrone in water and wastewater by various advanced oxidation processes. *Journal of Hazardous Materials*, 278, 16–24

Savarino, P., Montoneri, E., Bottigliengo, S., Boffa, V., Guizzetti, T., Perrone, D. G., Mendichi, R. (2009). Biosurfactants from urban wastes as auxiliaries for textile dyeing. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 48, 3738–3748.

Schulte, P., Bayer, A., Kuhn, F., Luy, T., Volkmer, M. (1995). H₂O₂/O₃, H₂O₂/UV and H₂O₂/ Fe²⁺ Processes For The Oxidation Of Hazardous Wastes. *Ozone: Science and Engineering*, 17(2), 119–134.

Schymanski, E. L., Singer, H. P., Longrée, P., Loos, M., Ruff, M., Stravs, M. A., Hollender, J. (2014). Strategies to Characterize Polar Organic Contamination in Wastewater: Exploring the Capability of High Resolution Mass Spectrometry. *Environmental Science & Technology*, 48(3), 1811–1818.

Schwarzenbach, R.P., Egli, T., Hofstetter, T.B., Gunten, U. Von, Wehrli, B. (2010). Global Water Pollution and Human Health. *Annual Review of Environment and Resources*, 35, 109–136.

Seviour, R. J., Kragelund, C., Kong, Y., Eales, K., Nielsen, J. L., Nielsen, P. H. (2008). Ecophysiology of the Actinobacteria in activated sludge systems. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 94(1), 21-33.

Shah, T. M., Ramaswami, S., Behrendt, J.; Otterpohl, R. (2017). Simultaneous removal of organics and ammonium nitrogen from reverse osmosis concentrate of mature landfill leachate. *Journal of Water Process Engineering*, 19, 126-132.

Shim, W. G., He, K., Gray, S., Moon, I. S. (2015). Solar energy assisted direct contact membrane distillation (DCMD) process for seawater desalination. *Separation and Purification Technology*, 143, 94–104.

- Siciliano, A. (2015). Assessment of fertilizer potential of the struvite produced from the treatment of methanogenic landfill leachate using low-cost reagents. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(6), 5949–5959.
- Silva, A. C., Dezotti, M., Sant'Anna, G. L. (2004). Treatment and detoxification of a sanitary landfill leachate. *Chemosphere*, 55(2), 207–214.
- Silva, J. R. O., Santos, D. S., Santos, U. R., Eguiluz, K. I. B., Salazar-Banda, G. R., Schneider, J. K., Krause L. C., López J.A., Hernández-Macedo, M. L. (2017). Electrochemical and/or microbiological treatment of pyrolysis wastewater. *Chemosphere*, 185, 145–151.
- Silva, M. R. A., Trovó, A. G., Nogueira, R. F. P. (2007). Degradation of the herbicide tebuthiuron using solar photo-Fenton process and ferric citrate complex at circumneutral pH. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 191(2-3), 187–192.
- Silva, T. F. C. V., Soares, P. A., Manenti, D. R., Fonseca, A., Saraiva, I., Boaventura, R. A. R., Vilar, V. J. P. (2017a). An innovative multistage treatment system for sanitary landfill leachate depuration: Studies at pilot-scale. *Science of The Total Environment*, 576, 99–117.
- Silva, T.F.C.V., Vieira, E., Lopes, A. R., Nunes, O. C., Fonseca, A., Saraiva, I., Boabentura, R. A. R., Vilar, V. J. P. (2017b). How the performance of a biological pre-oxidation step can affect a downstream photo-Fenton process on the remediation of mature landfill leachates: Assessment of kinetic parameters and characterization of the bacterial communities. *Separation and Purification Technology*, 175, 274–286.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 152–178.
- Sirianuntapiboon, S., Chairattanawan, K. (2016). Comparison of sequencing batch reactor (SBR) and granular activated carbon-SBR (GAC-SBR) systems on treatment textile wastewater containing basic dye. *Desalination and Water Treatment*, 57, 27096-27112.
- Sivathass, B. S., Shreeshivadasan, C., Mohd, F.M.D., Noor, S.N., Norhayati, A., Ali Y. (2017). Performance of an up-flow anaerobic sludge bed (UASB) reactor for treating landfill leachate containing heavy metals and formaldehyde. *Desalination and Water Treatment*, 86, 51–58.
- 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 PhACs. *Desalination*, 202, 156–181.
- Sodré, F. F., Locatelli, M. A. F., Jardim, W. F. (2010). Occurrence of emerging contaminants in Brazilian drinking waters: a sewage-to-tap issue. *Water, Air, and Soil Pollution*, 206(1–4), 57–67.
- Soriano-Molina, P., García Sánchez, J. L., Alfano, O. M., Conte, L. O., Malato, S., Sánchez Pérez, J. A. (2018). Mechanistic modeling of solar photo-Fenton process with Fe 3+ -EDDS at neutral pH. *Applied Catalysis B: Environmental*, 233, 234–242.

Soriano-Molina, P., Plaza-Bolaños, P., Lorenzo, A., Agüera, A., García Sánchez, J. L., Malato, S., Sánchez Pérez, J. A. (2019). Assessment of solar raceway pond reactors for removal of contaminants of emerging concern by photo-Fenton at circumneutral pH from very different municipal wastewater effluents. *Chemical Engineering Journal*, 366, 141-149.

Sørmo, E. G., Jussi, I., Jussi, M., Braathen, M., Skaare, J. U. and Jenssen, B. M., (2005), Thyroid hormone status in gray seal (*Halichoerus grypus*) pups from the Baltic Sea and the Atlantic Ocean in relation to organochlorine pollutants. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24(3), 610–616.

Sornalingam, K., McDonagh, A., Zhou, J. L., Johir, M. A. H., Ahmed, M. B. (2018). Photocatalysis of estrone in water and wastewater: Comparison between Au-TiO₂ nanocomposite and TiO₂, and degradation by-products. *Science of The Total Environment*, 610-611, 521–530.

Sortino, O., Dipasquale, M., Montoneri, E., Tomasso, L., Avetta, P., Bianco Prevot, A. (2013). 90% yield increase of red pepper with unexpectedly low doses of compost soluble substances. *Agronomy for Sustainable Development*, 33, 433–441.

Stes, H., Aerts, S., Caluwe, M., D'aeys, J., De Vleeschauwer, F., Dobbeleers, T., De Langhe, P., Kiekens, F., Dries, J. (2019). Influence of mixed feeding rate in a conventional SBR on biological P-removal and granule stability while treating different industrial effluents. *Water Science and Technology*, 79(4), 645-655.

Stevenson, F. (1994). *Humus chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. Nueva York, EEUU: John Wiley and Sons, Inc.

Steensen, M. (1997). Chemical oxidation for the treatment of leachate-process comparison and results from full-scale plants. *Water Science and Technology*, 35(4), 249–256.

Sun, P., Pavlostathis, S. G., Huang, C.-H. (2014). Photodegradation of Veterinary Ionophore Antibiotics under UV and Solar Irradiation. *Environmental Science and Technology*, 48(22), 13188–13196.

Suna Erses, A., Fazal, M. A., Onay, T. T., Craig, W. H. (2005). Determination of solid waste sorption capacity for selected heavy metals in landfills. *Journal of Hazardous Materials*, 121(1-3), 223-232.

Suty, H., de Traversay, C., Cost, M. (2004). Applications of advanced oxidation processes: present and future. *Water Science and Technology*, 49, 4 (2004) 227-233.

Swedish EPA (2008). Report 8306. Swedish Environmental Protection Agency, Stockholm.

-T-

Tatsi A.A., Zouboulis A.I., Matis K.A., Samaras P. (2003). Coagulation-flocculation pretreatment of sanitary landfill leachates. *Chemosphere* 53(7), 734-744.

Tchobanoglous, G., Hilary, T., Samuel, V. (1993). *Integrated Solid Waste Management: Engineering Principles and Management Issues*. Londres, Reino Unido: McGraw-Hill Education.

Timur, H., Öztürk, I. (1997). Anaerobic treatment of leachate using sequencing batch reactor and hybrid bed filter. *Water Science and Technology*, 36(6-7), 501–508.

Timur, H., Ozturk, I., Altinbas, M., Arıkan, O., Tuyluoğlu, B. S. (2000). Anaerobic treatability of leachate: a comparative evaluation for three different reactor systems. *Water Science and Technology*, 42(1-2), 287–292.

Tipping, E. (2002). *Cation Binding by Humic Substances*. Cambridge, Reino Unido: Cambridge University Press.

Tizaoui, C, Bouselmi, L, Mansouri, L and Gharabi, A. (2007). Landfill leachate treatment with ozone and ozone/hydrogen peroxide systems. *Journal of Hazardous Materials*, 140, 316-324.

Tokumura, M., Sugawara, A., Raknuzzaman, M., Habibullah-Al-Mamun, M., Masunaga, S. (2016). Comprehensive study on effects of water matrices on removal of pharmaceuticals by three different kinds of advanced oxidation processes. *Chemosphere*, 159, 317–325.

Tomaszewski, M., Cema, G., Twardowski, T., Ziemińska-Buczyńska, A. (2018). Performance of the anammox sequencing batch reactor treating synthetic and real landfill leachate. *E3S Web of Conferences*, 44, 00179.

Trebouet, D, Schlumpf, J.P, Jaouen, P and Quemeneur, F. (2001). Stabilized landfill leachate treatment by combined physic chemical nanofiltration processes. *Water Resource*, 35, 2935–2942.

-U-

UNDESA (2015). United Nations Department of Economic and Social Affairs. International. Decade for Action “Water for Life” 2005-2015. Focus Areas: Water scarcity. URL: <http://www.un.org/waterforlifedecade/scarcity.shtml>. Acceso el 22/04/2019.

Ushikoshi, K., Kobayashi, T., Uematsu, K., Toji, A., Kojima, D., Matsumoto, K. (2002). Leachate treatment by the reverse osmosis system. *Desalination*, 150(2), 121–129.

-V-

Vashi, H., Iorhemen, O. T., Tay, J. H. (2018). Degradation of industrial tannin and lignin from pulp mill effluent by aerobic granular sludge technology. *Journal of Water Process Engineering*, 26, 38-45.

Vedrenne, M., Vasquez-Medrano, R., Prato-Garcia, D., Frontana-Uribe, B. A., Ibanez, J. G. (2012). Characterization and detoxification of a mature landfill leachate using a combined coagulation–flocculation/photo Fenton treatment. *Journal of Hazardous Materials*, 205-206, 208–215.

Velegraki, T., Mantzavinos, D. (2015). Solar photo-Fenton treatment of winery effluents in a pilot photocatalytic reactor. *Catalysis Today*, 240, 153–159.

Verma, M., Naresh Kumar, R. (2016). Can coagulation–flocculation be an effective pre-treatment option for landfill leachate and municipal wastewater co-treatment? *Perspectives in Science*, 8, 492–494.

Vilar, V. J. P., Rocha, E. M. R., Mota, F. S., Fonseca, A., Saraiva, I., Boaventura, R. A. R. (2011). Treatment of a sanitary landfill leachate using combined solar photo-Fenton and biological immobilized biomass reactor at a pilot scale. *Water Research*, 45(8), 2647–2658.

Von Gunten, U. (2018). Oxidation Processes in Water Treatment: Are We on Track? *Environmental Science & Technology*, 52(9), 5062–5075.

-W-

www.ruedaoliva.com/web/es/6/proceso-elaboracion.html. Acceso el 22/04/2019.

Wang, Y., Li, X., Zhen, L., Zhang, H., Zhang, Y., Wang, C. (2012). Electro-Fenton treatment of concentrates generated in nanofiltration of biologically pretreated landfill leachate. *Journal of Hazardous Materials*, 229-230, 115–121.

Wang, L., Zeng, G., Yang, Z., Luo, L., Xu, H., Huang, J. (2014). Operation of partial nitrification to nitrite of landfill leachate and its performance with respect to different oxygen conditions. *Biochemical Engineering Journal*, 87, 62–68.

Wang, X., Han, J., Chen, Z., Jian, L., Gu, X., Lin, C.-J. (2012). Combined processes of two-stage Fenton-biological anaerobic filter–biological aerated filter for advanced treatment of landfill leachate. *Waste Management*, 32(12), 2401–2405.

Wang, Z. P., Zhang, Z., Lin, Y. J., Deng, N. S., Tao, T., Zhuo, K. (2002). Landfill leachate pretreatment by a coagulation-photooxidation process. *Journal of Hazardous Materials* 95, 153-159.

Wang, C., Lee, P., Kumar, M., Huang, Y., Sung, S., Lin, J. (2010). Partial nitrification anaerobic ammonium oxidation and denitrification (SNAD) in a full scale landfill leachate treatment plant. *Journal of Hazardous Materials* 175, 622-628.

Wenzel A., Gahr A., Niessner R. (1999). TOC-removal and degradation of pollutants in leachate using a thin-film photoreactor. *Water Research*, 33(4), 937-946.

Wiszniewski, J., Robert, D., Surmacz-Gorska, J., Miksch, K., Malato, S., Weber, J.V. (2004). Solar photocatalytic degradation of humic acids as a model of organic compounds of landfill leachate in pilot-plant experiments: influence of inorganic salts. *Applied Catalysis B: Environmental*, 53(2), 127–137.

Wiszniewski, J., Robert, D., Surmacz-Gorska, J., Miksch, K., Weber, J. V. (2006). Landfill leachate treatment methods: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 4(1), 51–61.

Wu, C., Gao, Z., Zhou, Y., Liu, M., Song, J., Yu, Y. (2014). Treatment of secondary effluent from a petrochemical wastewater treatment plant by ozonation-biological aerated filter. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 90(3), 543–549.

Wu, J. J., Wu, C.C., Ma, H.W., Chang, C.C. (2004). Treatment of landfill leachate by ozone-based advanced oxidation processes. Short Communication. *Chemosphere*, 54, 997-1003.

Wu, L., Zhang, L., Xu, Y., Liang, C., Kong, H., Shi, X., Peng, Y. (2016). Advanced nitrogen removal using bio-refractory organics as carbon source for biological treatment of landfill leachate. *Separation and Purification Technology*, 170, 306–313.

-X-

Xie, Z., Duong, T., Hoang, M., Nguyen, C., Bolto, B. (2009). Ammonia removal by sweep gas membrane distillation. *Water Research*, 43(6), 1693–1699.

Xiong, J., Zheng, Z., Yang, X., He, J., Luo, X., Gao, B. (2018). Mature Landfill Leachate Treatment by the MBBR Inoculated with Biocarriers from a Municipal Wastewater Treatment Plant. *Process Safety and Environmental Protection*, 119, 304-310.

Xu, Q., Siracusa, G., Becarelli, S., Yuan, Q. (2018). COD removal from biologically stabilized landfill leachate using Advanced Oxidation Processes (AOPs). *Process Safety and Environmental Protection*, 120, 278-285.

-Y-

Yang, Y., Pignatello, J. J., Ma, J., Mitch, W. A. (2016). Effect of matrix components on UV/H₂O₂ and UV/ S₂O₈²⁻ advanced oxidation processes for trace organic degradation in reverse osmosis brines from municipal wastewater reuse facilities. *Water Research*, 89, 192–200.

Yang, B., Zuo, J., Li, P., Wang, K., Yu, X., Zhang, M. (2016). Effective ultrasound electrochemical degradation of biological toxicity and refractory cephalosporin pharmaceutical wastewater. *Chemical Engineering Journal*, 287, 30–37.

Yazdanbakhsh, A., Mehdipour, F., Eslami, A., Maleksari, H. S., Ghanbari, F. (2015). The combination of coagulation, acid cracking and Fenton-like processes for olive oil mill wastewater treatment: phytotoxicity reduction and biodegradability augmentation. *Water Science and Technology*, 71(7), 1097–1105.

Yong, Z. J., Bashir, M. J. K., Ng, C. A., Sethupathi, S., Lim, J. W. (2018). A sequential treatment of intermediate tropical landfill leachate using a sequencing batch reactor (SBR) and coagulation. *Journal of Environmental Management*, 205, 244–252.

Yuan, M.-H., Chen, Y.-H., Tsai, J.-Y., Chang, C. Y. (2016). Ammonia removal from ammonia-rich wastewater by air stripping using a rotating packed bed. *Process Safety and Environmental Protection*, 102, 777–785.

-Z-

Zamora, R. M., Durán-Moreno, A., De Velásquez, M. T. O., Monje Ramírez, I. (2000). Treatment of landfill leachates by comparing advanced oxidation and coagulation-flocculation processes coupled with activated carbon adsorption. *Water Science and Technology*, 41, 231-235.

Zhao, R., Gupta, A., Novak, J. T., Goldsmith, C. D., Driskill, N. (2013). Characterization and treatment of organic constituents in landfill leachates that influence the UV disinfection in the publicly owned treatment works (POTWs). *Journal of Hazardous Materials*, 258-259, 1–9.

Zhang, R., Vigneswaran, S., Ngo, H., Nguyen, H. 2007. A submerged membrane hybrid system coupled with magnetic ion exchange (MIEX®) and flocculation in wastewater treatment. *Desalination* 216, 325-333.

Zhang, Y., Klammerth, N., Chelme-Ayala, P., Gamal El-Din, M. (2017). Comparison of classical fenton, nitrilotriacetic acid (NTA)-Fenton, UV-Fenton, UV photolysis of Fe-NTA, UV-NTA-Fenton, and UV-H₂O₂ for the degradation of cyclohexanoic acid. *Chemosphere*, 175, 178–185.

Zhang, R., Vigneswaran, S., Ngo, H., Nguyen, H. 2007. A submerged membrane hybrid system coupled with magnetic ion exchange (MIEX®) and flocculation in wastewater treatment. *Desalination* 216, 325-333.

Zielińska, M., Wojnowska-Baryła, I., Cydzik-Kwiatkowska, A. (2019). Bisphenol A Removal from Water and Wastewater.

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE FIGURAS

I. INTRODUCCIÓN

Figura I.1. Esquema del tratamiento de aguas residuales industriales.

Figura I.2. Estrategia para la selección de la mejor opción de tratamiento para aguas residuales industriales. Fuente: modificada de Oller y col., 2011.

Figura I.3. Clasificación de los procesos avanzados de oxidación. Fuente: modificada de Miklos y col., 2018.

Figura I.4. Tipos de tratamientos biológicos aplicados tradicionalmente a lixiviados de vertedero. Fuente: modificada de Renou y col., 2008.

Figura I.5. Producción mundial de aceite de oliva 2015/2016. Fuente: modificada de Consejo oleícola Internacional.

Figura I.6. Esquema de los diferentes procesos de obtención del aceite de oliva. Fuente: modificada de www.ruedaoliva.com/web/es/6/proceso-elaboracion.html.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Figura III.1. Cromatógrafo iónico Metrohm IC850 y Metrohm 858 utilizados en este trabajo.

Figura III.2. Fotografía del analizador de carbono orgánico total Shimadzu TOC-VCSN con el sistema analizador de nitrógeno total TNM-1.

Figura III.3. Termorreactor TR 300 de Merk y espectrofotómetro NOVA 30 de Merk para la medida de la DQO.

Figura III.4. Espectrofotómetro T60U, PG Instruments Ltd.

Figura III.5. Turbidímetro Hach modelo 2100N.

Figura III.6. a) pH-metro GLP 22 de Crison y b) pH- metro portátil LAQUAact D-72 de Horiba.

Figura III.7. Conductímetro GLP 31 de Crison.

Figura III.8. Mecanismo de acción del reactivo de Folin-Ciocalteu.

Figura III.9. Estufa (izquierda) y mufla (derecha) de la marca SELECTA usadas en esta Tesis Doctoral.

Figura III.10. UHPLC Agilent serie 1200 a) Detalle de los módulos b) automuestreador, columna, y detector UV-DAD (de arriba abajo).

Figura III.11 Rectas de calibrado de los cuatro MC seleccionados como modelo.

Figura III.12. Esquema de extracción seguido en el análisis de sospechosos por GC-Q-MS

Figura III.13. a) Extracción líquido- líquido con n-hexano y b) extracción líquido-líquido con diclorometano del lixiviado pre-tratado mediante coagulación/floculación. c) Rotavapor usado en este trabajo.

Figura III.14. Fotografía del sistema 5500 Q-TRAP® LC-MS-MS.

Figura III.15. Sistema LC-ESI-QTOF-MS empleado en el análisis de MC “sospechosos”.

Figura III.16. Fotografía del cromatógrafo 7890B conectado al analizador de cuadrupolo 5977A (GC-Q-MS) (Agilent Technologies).

Figura III.17. Respirómetro BMT-Advance (Surcis S.L.).

Figura III.18. Cabina de flujo laminar modelo Telstar BIO II A/P e incubadora SINDER.

Figura III.19. a) Kit comercial utilizado para la extracción de ADN (FastDNA™ SPIN Kit for Soil) b) FastPrep® utilizado para favorecer la extracción del ADN.

Figura III.20. NanoDrop™ Lite para la determinación de la cantidad de ADN extraído.

Figura III.21. Equipo 7500/7500 Fast Real-time PCR System (Applied Biosystem).

Figura III.22. Analizador genético MiseQ Illumina.

Figura III.23. Sistema “jar-test” JTS60E (OVAN).

Figura III.24. Fotografía del sistema de coagulación/floculación/filtración diseñado e instalado por S.E.T.A.

Figura III.25. Simulador solar ATLAS XLS+.

Figura III.26. Planta piloto de ozonización ubicada en la PSA.

Figura III.27. Fotografía del captador CPC CADOX utilizado para reacciones de foto-Fenton solar.

Figura III.28. Fotorreactor CPC SOLEX instalado en la PSA.

Figura III.29. Radiómetro de UV KIPP&ZONEN, modelo CUV4.

Figura III.30. a) Sistema biológico basado en RLF instalado en la PSA. b) Fotografía de la biomasa fijada en los soportes K1. c) Fotografía de un soporte K1.

Figura III.31. Calibración del caudal que proporciona la bomba peristáltica WM en función de las revoluciones por minuto aplicadas.

Figura III.32. Sistema de destilación por membranas de contacto directo (DCMD) disponible en el laboratorio LSRE-LCM de Oporto, Portugal.

Figura III.32. Módulo de membrana, LH-Cell.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Figura IV.1. Turbidez de los lixiviados de vertedero tras la etapa de C/F con el uso de diferentes coagulantes comerciales, FeCl_3 y $\text{Ca}(\text{OH})_2$ a 0,5 g/L y 1 g/L. a) pH natural de las aguas residuales. b) pH 5.

Figura IV.2. Turbidez de los lixiviados de vertedero tras la combinación de 1 g/L de coagulante con 1 g/L de floculante a pH 5.

Figura IV.3. Evolución del COD y consumo de O_3 frente al tiempo de tratamiento durante el proceso de ozonización bajo diferentes condiciones de operación.

Figura IV.4. Evolución del COD y la DQO durante la fase de adaptación del RLF a los lixiviados de vertedero parcialmente tratados. Entre paréntesis se muestra el COD aportado por los lixiviados en cada alimentación.

Figura IV.5. Evolución del NT de los lixiviados de vertedero pre-tratados y de las especies N-NH_4^+ , N-NO_3^- y N-NO_2^- a lo largo de la fase de adaptación del RLF.

Figura IV.6. Evolución del COD y la DQO durante el tratamiento de los lixiviados de vertedero pre-tratados en el RLF en modo de operación discontinuo. Entre paréntesis se muestra el COD aportado por los lixiviados en cada alimentación.

Figura IV.7. Evolución del NT y de N-NH_4^+ , N-NO_3^- y N-NO_2^- durante el tratamiento de los lixiviados de vertedero pre-tratados en RLF operado en modo discontinuo y para la capacidad máxima de tratamiento encontrada (lote 9).

Figura IV.8. Seguimiento del COD y el NT en la corriente de salida del RLF operado en modo continuo. Entre paréntesis se muestra el COD aportado por los lixiviados en cada alimentación.

Figura IV.9. Variación de N-NH_4^+ , N-NO_2^- y N-NO_3^- en el efluente del RLF durante la operación en modo continuo.

Figura IV.10. Abundancia relativa en cuanto a filo, clase y orden encontrada en las muestras de sobrenadante del RLF.

Figura IV.11. Abundancia relativa en cuanto a filo, clase y orden encontrada en las muestras de biopelícula procedente de los soportes del RLF.

Figura IV.12. Resumen de los resultados obtenidos en el análisis dirigido de MC por LC-QqLIT-MS/MS: carga total de MC ($\mu\text{g/L}$), porcentaje de eliminación y número de MC detectados.

Figura IV.13. Comparación de los TIC obtenidos por LC-QTOF-MS del lixiviado bruto y del lixiviado después de cada etapa de la línea de tratamiento propuesta.

Figura IV.14. Evolución de las concentraciones de los MC confirmados por el análisis de sospechosos mediante GC-Q-MS.

Figura IV.15. Comparación de los cromatogramas de iones totales (TIC) obtenidos en modo *Full Scan* por GC-Q-MS del efluente después de la C/F y del efluente después de la etapa de foto-Fenton solar (también se muestra el área total).

Figura IV.16. Variación del porcentaje de recuperación de amonio frente al caudal de alimentación a pH 8 y 12.

Figura IV. 17. Efectos principales de cada variable sobre la recuperación de amonio en el permeado.

Figura IV.18. Diagrama de Pareto del diseño experimental factorial general completo de dos niveles en Minitab® 18.

Figura IV.19. Porcentaje de recuperación de amonio frente a la temperatura de alimentación a pH 7 y 12 (experimentos 1, 9, 2 y 10 de la Tabla IV.8).

Figura IV.20. Superficie de respuesta en ASS para la recuperación de amonio a 200 mg/L de NH_4^+ en la alimentación y 0,01 M de solución receptora de H_2SO_4 (20°C de temperatura de permeado y 300 mL/min como caudal de permeado y alimentación).

Figura IV.21. Superficie de respuesta en ASS para la recuperación de amonio a pH de la alimentación de 12 y 80°C como temperatura de alimentación (20°C de temperatura de permeado y 300 mL/min como caudal de permeado y alimentación).

Figura IV.22. Efecto de diferentes concentraciones de nitrato en el porcentaje de recuperación de amonio en un sistema DCMD.

Figura IV.23. Concentración de hierro a lo largo de los experimentos desde pH 3 a 9 en AN a seis dosis diferentes de alpechín después de 1 h: 5,5 mg/L de Fe^{3+} y 50 mg/L de H_2O_2 . (a) filtrado, (b) sin filtrar.

Figura IV.24. Degradación de los MC seleccionados en AD (a) y AN (b) utilizando una dilución de alpechín de 1:1200, 5,5 mg/L de Fe^{3+} y 50 mg/L de H_2O_2 .

Figura IV.25. Concentración de hierro y H_2O_2 a lo largo de los experimentos con AD y AN utilizando una dilución de alpechín de 1:1200, 5,5 mg/L de Fe^{3+} y 50 mg/L de H_2O_2 .

Figura IV.26. Degradación de los MC seleccionados en AN utilizando una dilución de 1:800 de alpechín, 5,5 mg/L de Fe^{3+} y 50 mg/L de H_2O_2 .

Figura IV.27. a) Eliminación de los MC seleccionados (40 $\mu\text{g/L}$ de cada uno) en ANS con 0,1 mM de Fe^{3+} y 50 mg/L H_2O_2 con una dilución del segundo lote de alpechín de 1:1500. b) Eliminación de CVF solo, bajo las mismas condiciones de operación.

Figura IV.28. Eliminación de los MC (40 $\mu\text{g/L}$ de cada uno) en ANS (pH 3,6) con 0,1 mM de Fe^{3+} y 50 mg/L de H_2O_2 usando una dilución del segundo lote de alpechín de 1:1500.

Figura IV.29. Eliminación de los MC (40 $\mu\text{g/L}$ de cada uno) en ANS sin carbonatos (a) y en ASS (b), ambas con 0,1 mM de Fe^{3+} y 50 mg/L H_2O_2 usando 1:1500 de alpechín.

Figura IV.30. Degradación de los MC seleccionados al aplicar foto-Fenton solar con 0,1 mM de Fe^{3+} a pH neutro agregando Fe:EDDS con una relación molar 1:2 en AD.

Figura IV.31. Concentración de hierro sin filtrar a lo largo de los ensayos de estabilidad (1 h) desde pH 5 a 9 en AN con 10 mg/L de STH, 5,5 mg/L de Fe^{3+} y 20 mg/L de H_2O_2 .

Figura IV.32. Degradación de los MC seleccionados en presencia de 10 mg/L de STH a pH neutro en AN.

Figura IV.33. Degradación de los MC seleccionados en presencia de 10 mg/L de STH y 0,1 mM Fe³⁺ a pH neutro en AN.

Figura IV.34. Degradación de los MC seleccionados en presencia de 10 mg/L de STH y 10 mg/L de H₂O₂ a pH neutro en AN.

Figura IV.35. Eliminación de la suma de la concentración de todos los MC (200 µg/L de cada uno) en AN con 0,1 mM de Fe³⁺ y pH natural.

Figura IV.36. Eliminación de la suma de todos los MC (200 µg/L de cada uno) en AN con 0,1 mM de Fe³⁺.

Figura IV.37. Degradación de los MC en AN utilizando 10 mg/L de STH, 5,5 mg/L de Fe³⁺ y 10 mg/L de H₂O₂ a pH natural.

Figura IV.38. Degradación de los MC en ASS utilizando 10 mg/L de STH, 5,5 mg/L de Fe³⁺ y 10 mg/L de H₂O₂ a pH natural.

Figura IV.39. Degradación de los MC en AN con el uso de STH (10 mg/L de H₂O₂) y alpechín (50 mg/L H₂O₂) como agentes complejantes del hierro a pH natural.

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE TABLAS

I. INTRODUCCIÓN

Tabla I.1. Principales características y métodos de eliminación de algunos residuos industriales.

Tabla I.2. Tratamientos biológicos aplicados a la depuración de diferentes ARI.

Tabla I.3. Potenciales redox de algunos agentes oxidantes.

Tabla I.4. Tratamientos de aguas residuales industriales mediante PAO.

Tabla I.5. Tratamientos de aguas residuales industriales mediante la combinación de PAO y tratamiento biológico.

Tabla I.6. Compuestos orgánicos encontrados en lixiviados de vertedero.

Tabla I.7. Composición media de lixiviados de vertedero (Kjeldsen y col., 2002).

Tabla I.8. Principales problemas encontrados en el tratamiento de lixiviados de vertedero mediante PAO. (Wiszniewski y col., 2006)

Tabla I.9. Bibliografía donde se utiliza PAO antes del tratamiento biológico para el tratamiento de lixiviados de vertedero.

Tabla I.10. Bibliografía donde se utiliza PAO después del proceso biológico para el tratamiento de lixiviados de vertedero.

Tabla I.11. Principales características fisicoquímicas del alpechín (Amor y col., 2019).

Tabla I.12. Principales categorías y fuentes de microcontaminantes (Luo y col., 2014).

Tabla I.13. PAO utilizados en la eliminación de microcontaminantes.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Tabla III.1. Reactivos utilizados durante la realización de la Tesis, fórmula, uso y proveedor.

Tabla III.2. Caracterización del agua natural de la PSA.

Tabla III.3. Composición del agua simulada de salida del tratamiento secundario de una EDAR.

Tabla III.4. Caracterización de los lixiviados de vertedero.

Tabla III.5. Caracterización del agua de salida de la EDAR de Maia (Oporto, Portugal).

Tabla III.6. Caracterización de los dos lotes de alpechín utilizados.

Tabla III.7. Principales características de los MC orgánicos seleccionados.

Tabla III.8. Condiciones de operación y fase móvil para la medida de aniones, cationes, aminas y ácidos carboxílicos.

Tabla III.9. Tiempo de retención, longitud de medida y límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ), obtenidos en el análisis por UHPLC-UV/DAD para los MC seleccionados.

Tabla III.10. Programa de qPCR para amplificación de ADNr 16S bacteriano y gen AOB 16S ARNr (Harms y col., 2003).

Tabla III.11. Características fisicoquímicas de los coagulantes y floculantes comerciales seleccionados.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla IV.1. Comparación de los procesos de foto-Fenton solar y ozonización a pH 12 para el tratamiento de lixiviados de vertedero tras la etapa de C/F.

Tabla IV.2. Variación filogenética global encontrada para las muestras del tratamiento biológico en RLF operado en continuo.

Tabla IV.3. Lista de los MC identificados y cuantificados por LC-QqLIT-MS/MS.

Tabla IV.4. Resumen de los resultados obtenidos en el análisis de sospechosos por LC-QTOF-MS.

Tabla IV.5. Evolución de los compuestos confirmados (área) en el análisis de sospechosos por LC-QTOF-MS.

Tabla IV.6. Resumen de los resultados obtenidos en el análisis de compuestos sospechosos mediante GC-Q-MS.

Tabla IV.7. Resumen de las concentraciones de MC ($\mu\text{g/L}$) encontradas mediante el análisis de sospechosos por GC-Q-MS.

Tabla IV.8. Matriz de experimentos del diseño experimental factorial general completo de dos niveles. Porcentajes de recuperación de amonio obtenidos para cada experimento.

Tabla IV.9. Velocidades iniciales de degradación para los experimentos de foto-Fenton solar con alpechín y EDDS, 0,1 mM Fe^{3+} y pH neutro.