

Trabajo Fin de Grado

Eliminación de cafeína en agua mediante
procesos convencionales y Procesos de Oxidación
Avanzada

Elimination of caffeine in water by conventional
processes and Advanced Oxidation Processes

Autora

María Urzay Mendívil

Directora

Natividad Miguel Salcedo

Grado en Ciencias Ambientales
Escuela Politécnica Superior de Huesca

2016

Agradecimientos

*En primer lugar debo dar las gracias a Andrea, Silvia y Nati,
por guiarme, ayudarme y animarme durante todos estos meses.*

*Sin vuestros consejos y sin el buen ambiente que se crea en el
laboratorio no habría disfrutado y aprendido tanto con este proyecto.*

*Agradecer a mis padres su apoyo eterno,
pues sin ellos no habría llegado hasta aquí.*

*Por último, gracias a mis amigos y pareja,
quienes me han acompañado durante todo el camino.*

Índice

Capítulo 1: Introducción y objetivos.....	1
Capítulo 2: Fundamentos teóricos.....	6
2.1 Contaminantes emergentes presentes en aguas.	6
2.2 Cafeína: características estructurales y origen de su vertido en las aguas. 7	
2.3 Procesos convencionales de tratamiento de aguas.....	8
2.3.1 Precipitación química.....	8
2.3.2 Adsorción con Carbón activo.....	9
2.4 Procesos de Oxidación Avanzada para el tratamiento de aguas.	11
2.4.1 Ozonización.....	12
2.4.2 Oxidación con radiación UV combinada con peróxido de hidrógeno	13
2.4.3 Ozonización combinada con luz UV y peróxido de hidrógeno.	14
2.5 Reutilización de las aguas: importancia y legislación vigente.	15
Capítulo 3: Metodología.....	17
3.1 Muestras.....	17
3.1.1 Matriz agua destilada.....	17
3.1.2 Matriz agua de salida de EDAR real	17
3.2 Metodología Analítica	20
3.2.1 Parámetros físico-químicos	20
3.2.2 Parámetros microbiológicos	22
3.2.2.1 Análisis de <i>Escherichia coli</i>	22
3.2.2.1 Análisis de huevos de nemátodos	26
3.3 Procedimiento experimental	28
3.3.1 Precipitación química.....	29
3.3.2 Adsorción con Carbón activo.....	30
3.3.3 Oxidación con peróxido de hidrógeno.....	30

3.3.4 Oxidación con luz ultravioleta	31
3.3.5 Oxidación con luz UV combinada con peróxido de hidrógeno	31
3.3.6 Ozonización	32
3.3.7 Ozonización combinada con peróxido de hidrógeno	34
3.3.8 Ozonización combinada con peróxido de hidrógeno y luz UV	34
Capítulo 4: Resultados y Discusión.....	36
4.1 Recta de calibrado de cafeína	36
4.2 Procesos convencionales	36
4.2.1 Precipitación química.....	36
4.2.2 Adsorción con Carbón activo.....	38
4.3 Procesos de Oxidación Avanzada.....	41
4.3.1 Oxidación con peróxido de hidrógeno	41
4.3.2 Oxidación con luz ultravioleta	41
4.3.3 Ozonización, ozonización con peróxido de hidrógeno y ozonización con peróxido de hidrogeno y luz ultravioleta.....	42
4.3.4 Oxidación con luz UV combinada con peróxido de hidrógeno	47
4.4 Aplicación de los métodos más efectivos a muestras con matriz de agua de salida de EDAR real para reutilización.....	49
4.4.1 Caracterización inicial de las muestras de agua de salida de EDAR real	50
4.4.2 Eliminación de cafeína a través de los procesos seleccionados	51
4.4.3 Variación de los parámetros contemplados en la legislación de reutilización de aguas mediante los procesos seleccionados	52
Capítulo 5: Conclusiones	56
Capítulo 6: Bibliografía	58
Anexos	63
Anexo I. Metodología e instrumentación	63
I. I Alcalinidad	63
I. II Carbono orgánico total	63

I.III Concentración de cafeína	64
I.IV Conductividad eléctrica	66
I.V Demanda química de oxígeno	67
I.VI Dureza	67
I.VII Análisis iónico.....	68
I.VIII Fosfatos	68
I.IX Fósforo total.....	69
I.X Peróxido de hidrógeno en exceso	69
I.XI pH	70
I.XII Sólidos en suspensión	70
I.XIII Turbidez	71
Anexo II. Resultados	72
II.I Precipitación química.....	72
II. II Carbón activo	75
II.III Calibración del equipo ozonizador	77
II. IV Ozonización.....	79
II. V Ozonización combinada con peróxido de hidrógeno	80
II.VI Ozonización combinada con peróxido de hidrógeno y luz UV	80
II. VII Oxidación con peróxido de hidrógeno	81
II.VIII Oxidación con luz UV	81
II.IX Oxidación con luz UV y peróxido de hidrógeno.....	82
II.X Eliminación de cafeína en muestras de agua real de salida de EDAR.	84
II.XI Análisis microbiológico.....	85

Índice de figuras

Figura 1. Etapas del proceso de depuración de aguas residuales. <i>Fuente: Oficina Verde de la Universidad de Zaragoza (2015).</i>	2
Figura 2. Estructura molecular de la cafeína. <i>Fuente: Montagner & Jardim (2011).</i>	7
Figura 3. Proceso de coagulación-floculación-decantación. <i>Fuente: Koshland Science Museum (2007).</i>	9
Figura 4. Modelo de tratamiento de aguas residuales mediante lecho fijo de carbón activo. <i>Fuente: Equipment for Engineering Education (2016).</i>	10
Figura 5. Modelo de tratamiento de aguas residuales mediante carbón activo en polvo. <i>Fuente: Environmental Protection Agency.</i>	10
Figura 6. Movilidad de electrones en la molécula de ozono. <i>Fuente: Tanaka, T., & Morino, Y. (1970).</i>	12
Figura 7. Espectro de radiación solar. <i>Fuente: Semicon Synapsis (2015).</i>	13
Figura 8. Distribución del número de sistemas de reutilización (322). <i>Fuente: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (2010).</i>	16
Figura 9. Vista aérea de la EDAR de Tudela. <i>Fuente: Gómez (2007).</i>	18
Figura 10. Línea de aguas de la EDAR de Tudela. <i>Fuente: Visor SigPac (2016)</i>	19
Figura 11. Toma de muestras del decantador final de la EDAR de Tudela (Navarra). <i>Fuente: elaboración propia.</i>	19
Figura 12. Escherichia coli al microscopio electrónico. <i>Fuente: Centers for Disease Control and Prevention (2016).</i>	22
Figura 13. Preparación del medio de cultivo Macconkey. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	23
Figura 14. Preparación de las placas Petri. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	23
Figura 15. Proceso de diluciones seriadas decimales. <i>Fuente: Instituto Nacional de Tecnologías Educativas y de Formación del Profesorado.</i>	24
Figura 16. Placa Petri tras siembra en superficie e incubación durante 24 horas a 42°C. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	25

Figura 17. Rampa de filtración. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	26
Figura 18. Placa Petri tras filtración en membrana e incubación durante 24 horas a 42°C. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	26
Figura 19. Huevo de nemátodo vistos a microscopio. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	27
Figura 20. Sedimentación de las muestras de agua en conos Imhoff para el análisis de huevos de nemátodos. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	27
Figura 21. Montaje para los ensayos con carbón activo. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	30
Figura 22. Cámara solar <i>Suntest CPS+/XLS+</i> . <i>Fuente: elaboración propia.</i>	31
Figura 23. Esquema de la generación de ozono mediante descarga eléctrica. <i>Fuente: Grupo de Calidad y Tratamiento de Aguas (2010).</i>	32
Figura 24. Montaje para los ensayos de ozonización. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	32
Figura 25. Instalación para los experimentos de ozono combinado con peróxido de hidrógeno y luz UV. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	34
Figura 26. Recta de calibrado de cafeína. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	36
Figura 27. Porcentajes medios de eliminación de cafeína mediante precipitación química. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	37
Figura 28. Eliminación de cafeína mediante adsorción con carbón activo. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	39
Figura 29. Eliminación de cafeína con carbón activo mineral en función del tiempo de actuación. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	40
Figura 30. Recta de calibración del equipo ozonizador. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	43
Figura 31. Degradación de cafeína mediante ozonización. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	44
Figura 32. Comparación de la eliminación de cafeína aplicando tres combinaciones con ozono. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	46
Figura 33. Eliminación de cafeína por oxidación con peróxido de hidrógeno y luz UV. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	48

Figura 34. Comparación en la degradación de cafeína según el método aplicado. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	51
Figura 35. Analizador de Carbono Orgánico Total. <i>Fuente: elaboración propia.</i> .	64
Figura 36. Espectrofotómetro <i>Helios UV-VIS ThermoSpectronic</i> . <i>Fuente: elaboración propia.</i>	65
Figura 37. Recta de calibrado a partir de disoluciones patrón de cafeína. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	66
Figura 38. Conductímetro <i>CRISON Basic 30</i> . <i>Fuente: elaboración propia.</i>	66
Figura 39. Fotómetro y digestor <i>Hanna Instruments HI 83099</i> . <i>Fuente: elaboración propia.</i>	67
Figura 40. Cromatógrafo iónico <i>Dionex ICS 1000</i> . <i>Fuente: elaboración propia.</i> ...	68
Figura 41. Tiras medidoras colorimétricas para la determinación de peróxido de hidrógeno en exceso. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	69
Figura 42. pH metro <i>CRISON GLP 21</i> . <i>Fuente: elaboración propia.</i>	70
Figura 43. Turbidímetro <i>HANNA Instruments LP 2000</i> . <i>Fuente: elaboración propia.</i>	71
Figura 44. Recta de calibración del equipo ozonizador. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	78

Índice de tablas

Tabla 1. Principales Procesos de Oxidación Avanzada. <i>Fuente: Forero, Ortiz, & Rios (2005).</i>	11
Tabla 2. Métodos y equipos empleados según el parámetro físico-químico analizado. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	20
Tabla 3. Métodos y equipos empleados según el parámetro físico-químico analizado (continuación). <i>Fuente: elaboración propia.</i>	21
Tabla 4. Porcentajes de eliminación de TOC según el coagulante y su dosis. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	38
Tabla 5. Área superficial de cada tipo de carbón activo. <i>Fuente: Miguel, Ormad, Mosteo, Rodríguez y Ovelleiro (2011).</i>	39
Tabla 6. Resultados de los experimentos de oxidación con peróxido de hidrógeno. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	41
Tabla 7. Resultados de los experimentos de oxidación con luz UV. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	42
Tabla 8. Porcentaje de ozono en exceso según el tiempo de actuación. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	45
Tabla 9. Ozono en exceso obtenido en cada tratamiento con ozono. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	46
Tabla 10. Eliminación de TOC con cada proceso. <i>Fuente: elaboración propia.</i> ..	47
Tabla 11. Degradación de TOC mediante oxidación con peróxido de hidrógeno y luz UV. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	49
Tabla 12. Caracterización físico-química inicial de las muestras de agua de salida de la depuradora de Tudela. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	50
Tabla 13. Criterios de calidad para reutilización de aguas. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	52
Tabla 14. Criterios de calidad para reutilización de aguas (continuación). <i>Fuente: elaboración propia.</i>	53
Tabla 15. Valores obtenidos para los parámetros de reutilización tras aplicar tres tratamientos de afino. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	53

Tabla 16. Usos del agua propuestos para reutilización en base a los valores máximos admisibles del RD 1620/2007. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	54
Tabla 17. Absorbancias de las disoluciones patrón de cafeína. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	65
Tabla 18. Degradación de cafeína mediante precipitación química con sosa, cal y sulfato de alúmina como coagulantes. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	72
Tabla 19. Degradación de cafeína mediante precipitación química con sosa, cal y sulfato de alúmina como coagulantes (continuación). <i>Fuente: elaboración propia.</i>	73
Tabla 20. Degradación de cafeína mediante precipitación química con cloruro férrico como coagulante. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	74
Tabla 21. Degradación de cafeína con carbón activo vegetal. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	75
Tabla 22. Degradación de cafeína con carbón activo mineral. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	76
Tabla 23. Degradación de cafeína con carbón activo mineral a distintos tiempos de actuación. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	77
Tabla 24. Puntos de calibración del equipo ozonizador. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	77
Tabla 25. Eliminación de cafeína mediante ozonización. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	79
Tabla 26. Eliminación de cafeína mediante ozonización combinada con peróxido de hidrógeno. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	80
Tabla 27. Eliminación de cafeína mediante ozonización combinada con peróxido de hidrogeno y luz UV. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	80
Tabla 28. Degradación de cafeína con peróxido de hidrógeno. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	81
Tabla 29. Degradación de cafeína con luz UV. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	81
Tabla 30. Degradación de cafeína con peróxido de hidrógeno y luz UV. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	82
Tabla 31. Degradación de cafeína con peróxido de hidrógeno y luz UV (continuación). <i>Fuente: elaboración propia.</i>	83

Tabla 32. Degradación de cafeína en muestras de agua de salida de EDAR. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	84
---	----

Tabla 33. Cálculo de la concentración de Escherichia coli en muestras iniciales y tras tratamiento. <i>Fuente: elaboración propia.</i>	85
--	----

Memoria

Capítulo 1: Introducción y objetivos

La mejora de la calidad de vida ha conllevado a un aumento en el consumo de agua por persona, que junto al aumento exponencial de la población y a la ineficiente gestión hídrica ha derivado en una grave crisis mundial del agua y en impactos evidentes en los ecosistemas acuáticos. Hasta hace pocos años, el agua se consideraba un recurso ilimitado, sin embargo, los grandes problemas en muchas áreas para suministrar agua de calidad y la creciente contaminación de las aguas hicieron visible la gran problemática, de forma que en el año 2000 se estableció a nivel Europeo una legislación que pretendía abordar esta crisis hídrica (Directiva 2000/60/CE o Directiva Marco del Agua), y a partir de la cual se desarrollaron legislaciones más específicas a nivel nacional.

Uno de los enfoques que adoptó esta directiva fue la necesidad de tratar las aguas residuales generadas tanto a nivel doméstico como industrial, previo vertido a los cursos de agua naturales.

Generalmente las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales Urbanas están dotadas de tres etapas principales. La primera sería un pretratamiento, formado por un desbaste con rejillas y tamices, un desarenado y un desengrasado, eliminando los sólidos gruesos y sedimentables, así como las grasas. En segundo lugar encontramos un tratamiento primario, formado por procesos físico-químicos como la coagulación-floculación-decantación y la precipitación química, donde se retira materia en suspensión y coloidal. Finalmente, la última etapa previo vertido del efluente de agua al medio natural es un tratamiento secundario o biológico, donde se elimina materia en suspensión, materia biodegradable y nutrientes (como nitrógeno y fósforo), principalmente. La figura 1 mostraría estas etapas:

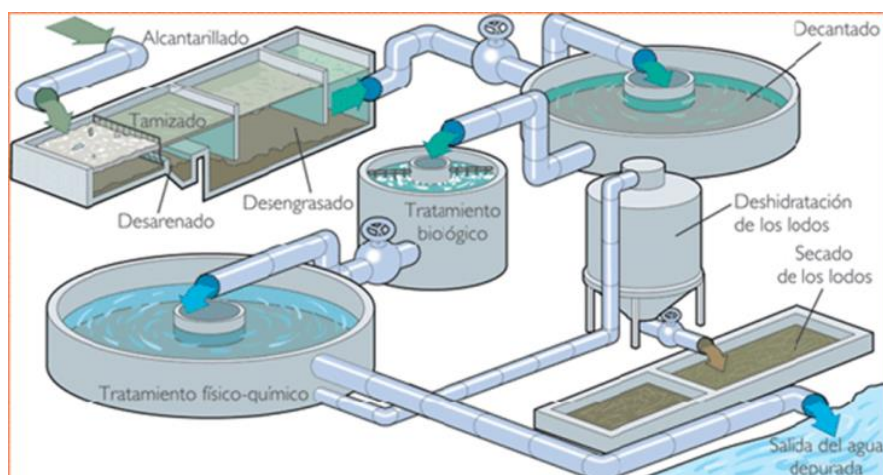


Figura 1. Etapas del proceso de depuración de aguas residuales. Fuente: Oficina Verde de la Universidad de Zaragoza (2015).

Convencionalmente las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales Urbanas (a partir de ahora denominadas EDAR) terminan con un tratamiento secundario, ya que suelen ser etapas suficientes para conseguir los límites de vertido establecidos por la legislación vigente (Directiva 91/271/CEE), eliminando principalmente sólidos gruesos y sedimentables y materia orgánica en suspensión, disuelta y biodegradable.

Sin embargo, esta legislación es algo antigua, por lo que se prevé que se modifique a corto-medio plazo, restringiendo en mayor medida la contaminación que puede verse tras las etapas de depuración, de forma que se deban eliminar compuestos que no son eliminados en las etapas actuales, por su persistencia o baja biodegradabilidad. Un ejemplo de contaminantes que actualmente no están legislados, pero que son objeto de investigación por su alto poder contaminante, son los contaminantes emergentes. Los contaminantes emergentes son compuestos orgánicos de distinto origen, con alta persistencia y solubilidad, y ejemplo de estos a su vez lo es la cafeína, compuesto alcaloide (con fórmula química $C_8H_{10}N_4O_2$) con origen industrial y doméstico en las aguas ya que es empleado en productos de cosmética y cuidado personal, productos químicos de laboratorio, productos farmacéuticos y como producto intermedio de otras sustancias.

Este alto poder contaminante y persistencia, junto con la baja biodegradabilidad que presentan los contaminantes emergentes, hacen que los tratamientos convencionales en las EDAR puedan no ser efectivos en su eliminación, por lo que deben buscarse alternativas a dichos procesos, donde entran en juego los Procesos de Oxidación Avanzada. Estos procesos comprenden un abanico de procesos químicos destinados a eliminar contaminación del agua, el aire o el suelo, empleando especies altamente reactivas, como los radicales hidroxilo, entre otros (Comninellis et al., 2008).

Capítulo 1: Introducción y objetivos

De forma paralela a la investigación en Procesos de Oxidación Avanzada (generalmente abreviados por sus siglas inglesas *AOPs*), se está trabajando en el ámbito de la reutilización de aguas depuradas (legislada por el Real Decreto 1620/2007), entendida como mecanismo para dar un segundo uso a las aguas depuradas antes de ser vertidas al medio natural, o como Esteban & Ortega (2008) la consideran: “un recurso de agua adicional para usos que no requieran de la calidad del agua potable”. Estas aguas pueden emplearse en distintos usos, como urbanos, agrícolas, industriales, recreativos o ambientales, en función de los requisitos mínimos marcados por la legislación que cumplan.

Si unimos ambos enfoques, podrían aplicarse *AOPs* a modo de tratamientos terciarios en las EDAR, con el objetivo de obtener una mayor reducción de la carga contaminante que presentan las aguas tras el proceso de depuración, y a su vez, alcanzar la calidad exigida por la legislación para la reutilización de las aguas. De este modo, los procesos necesarios para que las aguas residuales obtengan la calidad requerida para su reutilización se denominan “regeneración”, siendo los efluentes finales de estos procesos “aguas regeneradas” (Iglesias Esteban & Ortega de Miguel, 2008).

Así, la reutilización de aguas empleando *AOPs* tendría un doble impacto positivo en el medio ambiente: el de la disminución de la contaminación de los cursos de agua y el de la reducción de la explotación de recursos hídricos.

El presente proyecto se centraría en el impacto positivo de reducción de la contaminación, de forma que el objetivo general de este trabajo es seleccionar los procesos de eliminación de cafeína en aguas más eficientes, en base a distintas condiciones de operación, para poder plantear la reutilización de las aguas tratadas.

Para llevar a cabo el cumplimiento de este objetivo general se deberán desarrollar una serie de objetivos específicos, los cuáles se citan a continuación:

1. Estudiar la eliminación de cafeína a través de tratamientos convencionalmente utilizados en depuración de aguas (precipitación química y adsorción con carbón activo), variando las condiciones de operación (tiempo de actuación, dosis y agente coagulante y tipo de carbón activo empleado).
2. Estudiar la eliminación de cafeína a través de Procesos de Oxidación Avanzada (ozonización, oxidación con peróxido de hidrógeno, oxidación con luz UV, ozonización combinada con peróxido de hidrógeno, ozonización combinada con peróxido de hidrógeno y luz UV y oxidación con radiación UV combinada con peróxido de hidrógeno).

Capítulo 1: Introducción y objetivos

3. Seleccionar los procesos más eficientes para aplicarlos en aguas de salida de depuradora reales, evaluando su efectividad a través de los parámetros que marca la legislación vigente en materia de reutilización de aguas (Real Decreto 1620/2007).

La memoria se estructura de la siguiente manera:

1. Introducción y objetivos
2. Fundamentos teóricos
3. Metodología
4. Resultados y Discusión
5. Conclusiones
6. Bibliografía
7. Anexos

Tras este primer apartado de “Introducción y objetivos”, se presenta en el segundo los “Fundamentos teóricos”, donde se contextualiza el presente Trabajo Fin de Grado. En él se tratarán aspectos referentes a los contaminantes emergentes en general, el caso particular de la cafeína, la base teórica que sustenta a los procesos convencionales de tratamiento de aguas y a los actuales Procesos de Oxidación Avanzada, además de las posibilidades que enmarca la reutilización de aguas y la normativa que la legisla.

En el apartado “Metodología”, se describirán los materiales, equipos y procedimientos utilizados para la toma de muestras, los experimentos realizados y las analíticas físico-químicas y microbiológicas realizadas.

A continuación, en el cuarto apartado de “Resultados y Discusión”, quedarán recogidos los valores obtenidos durante la experimentación. Se analizará el porcentaje de eliminación de cafeína obtenido tanto en muestras de agua destilada como en muestras de agua de salida de EDAR real. En éstas últimas además se evaluará la efectividad de los tratamientos a través del análisis de los parámetros de reutilización legislados, de forma que se propondrán posibles usos según la calidad obtenida con cada proceso.

Capítulo 1: Introducción y objetivos

Por último, el apartado de “Conclusiones” expondrá de forma clara y concisa los resultados obtenidos tras realizar una comparativa de los procesos aplicados.

Además, la memoria se complementa con dos anexos: el primero comprende el desarrollo de la metodología analítica físico-química aplicada y en el segundo se encuentran todos los datos obtenidos a modo de resultados durante la experimentación.

El presente Trabajo Fin de Grado se ha realizado en el Grupo de Investigación de “Calidad y Tratamiento de Aguas”, perteneciente al Departamento de Ingeniería Química y Tecnologías del Medio Ambiente de la Universidad de Zaragoza y al Instituto Universitario de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón (IUCA).

Capítulo 2: Fundamentos teóricos

2.1 Contaminantes emergentes presentes en aguas.

Los contaminantes emergentes son un amplio grupo de compuestos de distinto origen y naturaleza química, de los cuales no se conoce en gran medida los efectos que pueden causar en el medio ambiente y la salud humana, debido a que no han sido tradicionalmente estudiados por su baja concentración en el ambiente y la falta de medios para detectarlos.

Algunos de estos contaminantes no están incluidos en la legislación de ningún país, o no está regulado su vertido al medio ambiente. Sin embargo, en los últimos años empiezan a cuantificarse en las aguas (desde aguas subterráneas hasta fuentes de abastecimiento), mostrándose como contaminantes potencialmente peligrosos que pueden producir daños a la población humana y a los ecosistemas, por lo que podrían ser candidatos a ser incluidos en normativas específicas (Petrovic, Diaz, Ventura, & Barceló, 2003).

Esta falta de legislación, junto con el desconocimiento de sus efectos (incidencia, ecotoxicidad, bioacumulación, persistencia, etc.), hace que sean objeto de estudio en la actualidad. Además, el diseño actual de las plantas depuradoras no es efectivo en la reducción de su concentración previo vertido al medio de los efluentes depurados.

La liberación de estos contaminantes en el medio ambiente puede imponer toxicidad a cualquier nivel de la jerarquía biológica (Shu, Bolton, Belosevic, & Gamal El Din, 2013). Se ha demostrado que gran cantidad de contaminantes emergentes son capaces de alterar el sistema endocrino, bloqueando o perturbando las funciones hormonales de los organismos, provocando feminización y hermafroditismo, disminución de la fertilidad y de la eficacia del apareamiento, e incluso pueden incrementar la incidencia de diferentes tipos de cáncer (Rubio Clemente, Chica Arrieta, & Peñuela Mesa, 2013).

Los principales grupos de contaminantes emergentes serían: pesticidas o plaguicidas, productos farmacéuticos, drogas ilícitas, hormonas esteroideas, compuestos de cuidado personal, estimulantes, surfactantes, productos para tratamientos de aguas, aditivos industriales y subproductos, retardantes de llama y aditivos alimenticios (Janet et al., 2012).

Las vías de entrada de estos compuestos al medio son principalmente las aguas residuales e industriales no tratadas y los efluentes de las EDAR (Rubio Clemente et al., 2013), pero también existen otras fuentes como efluentes hospitalarios o de actividades agrícolas y ganaderas (Janet et al., 2012). Es por esto, que llega una alta proporción de contaminantes emergentes al medio acuático, con gran toxicidad, alterando acuíferos y sistemas fluviales y marinos, entre otros (Dougherty et al., 2010).

2.2 Cafeína: características estructurales y origen de su vertido en las aguas.

Este proyecto se centra en la degradación de cafeína, ya que se trata de uno de los contaminantes emergentes de mayor frecuencia y con concentraciones relativamente altas (Shu et al., 2013).

La cafeína es un polvo inodoro, incoloro y amargo (Calle Aznar, 2011), perteneciente al grupo de contaminantes emergentes, siendo un compuesto orgánico (alcaloide metilxantínico, derivado de las xantinas) muy persistente en las aguas, con elevada solubilidad (21.7 g/l) y despreciable volatilidad (Dalmázio, Santos, Lopes, Eberlin, & Augusti, 2005). Su fórmula química es $C_8H_{10}N_4O_2$, tiene un peso molecular de 194,19 g/mol, y su estructura molecular queda representada en la figura 2:

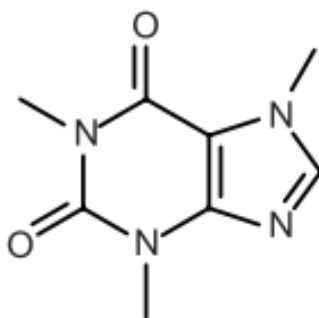


Figura 2. Estructura molecular de la cafeína. Fuente: Montagner & Jardim (2011).

Se trata de un compuesto orgánico fácilmente oxidable, pero que no se mineraliza completamente con facilidad (transformación a CO_2), sino que forma compuestos intermedios (aldehídos y ácidos carboxílicos) más difícilmente oxidables y persistentes (Dalmázio et al., 2005).

La cafeína es, de lejos, la droga legal más comúnmente usada en el mundo (Rosal et al., 2009), siendo manufacturada o importada en el área económica europea en el orden de entre 200 y 1.000 toneladas al año (European Chemicals Agency, 2016). Normalmente se emplea como estimulante, y puede encontrarse en el café, el té, el

chocolate y las bebidas energéticas, así como en analgésicos y medicinas (Dalmázio et al., 2005), aunque también es ampliamente utilizada en productos cosméticos y de cuidado personal, productos químicos de laboratorio, productos farmacéuticos y en la industria se emplea como intermediario en la manufacturación de otras sustancias (European Chemicals Agency, 2016).

Ha sido detectada en cursos de agua naturales en muchos países diferentes, y ha llegado a ser usada como marcador químico para la contaminación de aguas superficiales (Marques et al., 2013). Al igual que los contaminantes emergentes, esta sustancia aparece en los cursos de agua a través de los efluentes de las estaciones depuradoras y vertidos industriales no controlados.

La cafeína también es un problema ambiental desde el punto de vista de los suelos, ya que los residuos derivados del procesamiento del café y el té, ricos en nutrientes y cafeína, acaban llegando a los suelos pudiendo contaminar a éstos y a las aguas subterráneas bajo ellos (Torun, Abbasova, Solpan, & Güven, 2014).

2.3 Procesos convencionales de tratamiento de aguas.

Como se ha nombrado anteriormente, en las EDAR se encadenan principalmente tres etapas formadas por diversos procesos: un pretratamiento, un tratamiento primario y un tratamiento secundario. Pero también podrían considerarse ya como tradicionales, una serie de procesos empleados como etapas finales en depuración para eliminar constituyentes de las aguas residuales que merecen especial atención, como los nutrientes, los compuestos tóxicos, los excesos de materia orgánica y los sólidos en suspensión o disueltos. Estas etapas adicionales se denominan *tratamientos terciarios* o *tratamientos de afino*, y los más habituales serían la oxidación-reducción química, la adsorción con carbón activo, el intercambio iónico con resinas o la ósmosis inversa.

En el presente proyecto se han seleccionado dos procesos a modo de tratamientos convencionales, la precipitación química y la adsorción con carbón activo.

2.3.1 Precipitación química

La precipitación química (o proceso de coagulación-floculación-decantación), es uno de los procesos químicos más empleados en depuración de aguas, consistente en la adición de determinados reactivos al agua (denominados coagulantes y floculantes),

con el objetivo de incrementar la sedimentación de partículas no sedimentables al formar agrupaciones de éstas con mayor peso específico que el agua, llamadas flóculos. Durante el proceso de coagulación, los materiales son desestabilizados, para posteriormente, unirse en grandes partículas en el proceso de floculación, que finalmente son retiradas del agua tras un proceso de decantación, tal y como muestra la figura 3:

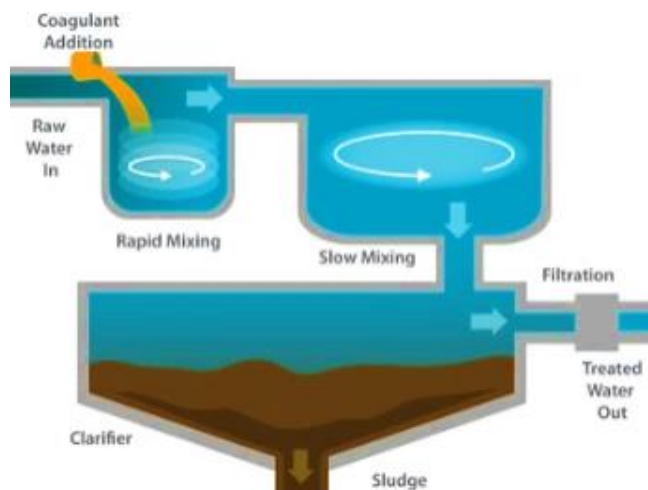


Figura 3. Proceso de coagulación-floculación-decantación. Fuente: Koshland Science Museum (2007).

Existen gran variedad de reactivos, pero los coagulantes más empleados son el sulfato de alúmina, el cloruro férrico, el sulfato férrico y ferroso, la cal y la sosa. A su vez, los floculantes más ampliamente utilizados son polielectrolitos, macromoléculas de carácter orgánico que pueden ser aniónicas, catiónicas o no iónicas.

Para mejorar el proceso de coagulación-floculación-decantación, pueden emplearse una serie de productos llamados coadyuvantes, que favorecen la formación de flóculos de mayor tamaño y densidad, aumentando, por tanto, la velocidad de sedimentación (Otero, 2006).

2.3.2 Adsorción con Carbón activo

El carbón activo es un sólido con elevada porosidad, lo que le hace poseer gran superficie de contacto con los contaminantes contenidos en el agua, que quedan adsorbidos en su superficie, bien mediante enlaces débiles o intermoleculares, o a través de enlaces químicos más fuertes. Posee gran capacidad de adsorción de un amplio grupo de contaminantes, desde hidrocarburos, compuestos orgánicos aromáticos, disolventes, compuestos clorados, etc.

Podemos encontrar este proceso mediante lechos fijos de carbón activo granular, como muestra la figura 4, o en tanques donde se adiciona directamente el carbón activo en polvo (figura 5):

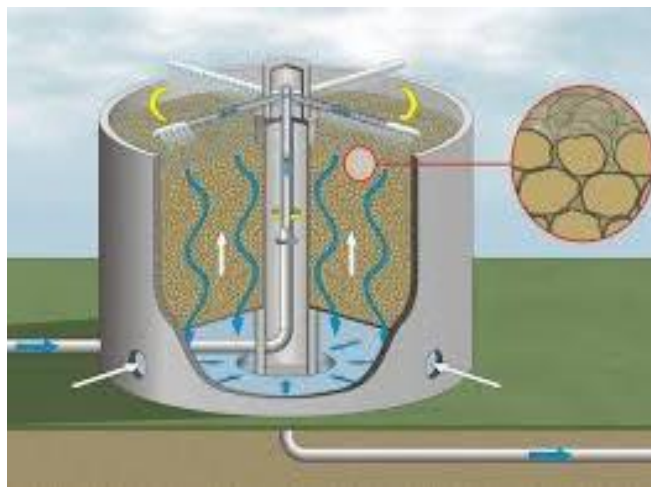


Figura 4. Modelo de tratamiento de aguas residuales mediante lecho fijo de carbón activo.
Fuente: Equipment for Engineering Education (2016).

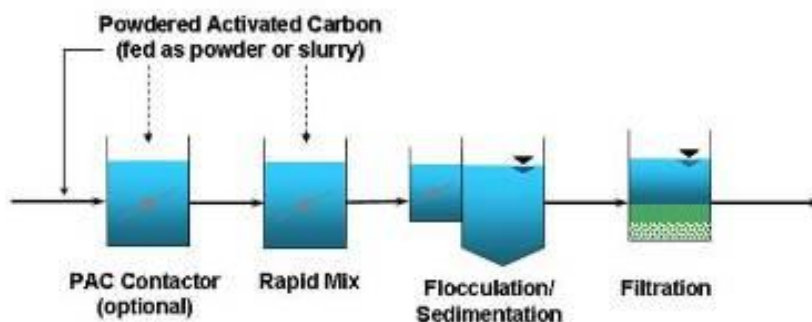


Figura 5. Modelo de tratamiento de aguas residuales mediante carbón activo en polvo.
Fuente: Environmental Protection Agency.

En el caso de emplear lechos fijos, se haría pasar a través de ellos la corriente de agua contaminada, quedando los contaminantes en cuestión adsorbidos en la superficie del carbón activo del lecho, y obteniendo un efluente tratado. El inconveniente que presenta esta técnica es que el lecho termina por saturarse, y es necesario realizar un proceso de limpieza o *desorción* para reutilizar el carbón activo empleado para aumentar la rentabilidad del proceso.

Si se emplea carbón activo en polvo, el proceso consistiría en adicionarlo al tanque que contenga el agua contaminada, aplicando además una agitación determinada para favorecer la adsorción de los contaminantes. Finalmente, se daría un proceso de decantación, de modo que tanto el carbón activo como los contaminantes caen al fondo y se separan del efluente clarificado. Al igual que en el caso anterior, este

carbón necesitaría de un proceso de *regeneración* para volver a ser empleado, generalmente mediante procesos térmicos.

Además de varias posibilidades en cuanto a la ejecución del proceso, existen gran variedad de tipos de carbón activo en cuanto a su composición, el tamaño de grano o la aplicación de procesos adicionales para activarlo (bioactivación, activación térmica, activación química, etc.).

2.4 Procesos de Oxidación Avanzada para el tratamiento de aguas.

Los AOPs se caracterizan por la formación *in situ* de especies altamente reactivas y no selectivas, principalmente radicales hidroxilo libres OH^\bullet (Comninellis et al., 2008), capaces de atacar y degradar a la mayoría de compuestos orgánicos complejos presentes en aguas, que no es posible eliminar a través de tratamientos convencionales.

Según Rubio Clemente et al. (2013), a grandes rasgos estos procesos consisten en la aplicación de un agente oxidante (O_3 , H_2O_2 , etc.), combinado con un agente catalítico (TiO_2 , Fe^{2+} , Fe^{3+} , etc.) y la posibilidad de utilizar una fuente de energía (radiación UV, energía eléctrica y/o ultrasonidos). Los procesos más comunes quedan recogidos en la siguiente tabla:

Tabla 1. Principales Procesos de Oxidación Avanzada. Fuente: Forero, Ortiz, & Rios (2005).

Ozonización (O_3)	Oxidación en agua sub/supercrítica
Ozono/peróxido de hidrógeno ($\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$)	Fotólisis ultravioleta de vacío (UVV)
Procesos fenton ($\text{Fe}/\text{H}_2\text{O}_2$)	Ultravioleta/peróxido de hidrógeno (UV/ H_2O_2)
Oxidación electroquímica	Ultravioleta/ozono (UV/ O_3)
Plasma no térmico	Fotólisis/Fenton
Ultrasonido	Fotocatálisis heterogénea

Una de las ventajas más importante de estas tecnologías es su capacidad de oxidar contaminantes refractarios, resistentes a ser degradados por otros métodos convencionales (Rubio Clemente et al., 2013). Los radicales OH^\bullet pueden modificar la estructura química de compuestos orgánicos convirtiéndolos en compuestos más simples, de menor masa molecular, menos tóxicos para los microorganismos y, consecuentemente, más biodegradables (Rodríguez, Botelho, & Cleto, 2008).

Hoy en día, existen evidencias de que los AOPs pueden ser uno de los sistemas más eficientes para la eliminación de contaminantes (Rubio Clemente et al., 2013), aunque actualmente se aplican a mediana o pequeña escala, en efluentes con muy altas o muy bajas concentraciones de contaminantes tóxicos (Forero et al., 2005). Estos procesos se aplican como tratamientos terciarios o de afino, pero también pueden emplearse como pre-tratamientos para tratamientos biológicos, para mejorar la biodegradabilidad y reducir la toxicidad, facilitando el tratamiento biológico posterior (Comninellis et al., 2008).

De todos estos procesos, se han seleccionado para aplicar experimentalmente la ozonización, la oxidación con radiación ultravioleta y la oxidación con peróxido de hidrógeno, así como todas las combinaciones posibles entre ellos.

2.4.1 Ozonización

El ozono es una molécula formada por tres átomos de oxígeno y es un potente oxidante y desinfectante, debido a su facilidad para captar y movilizar electrones (figura 6). Algunos autores, como Pérez Calvo (2006), llegan a considerarlo incluso el método más fiable en cuanto a desinfección en reutilización de aguas.

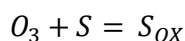


Figura 6. Movilidad de electrones en la molécula de ozono. Fuente: Tanaka, T., & Morino, Y. (1970).

La molécula de ozono puede reaccionar con muchos compuestos orgánicos, particularmente aquellos insaturados o que contienen anillos aromáticos, y también es capaz de descomponerse en agua para formar radicales hidroxilo (Janet et al., 2012).

Es por ello que pueden diferenciarse dos mecanismos de acción en el proceso de ozonización en agua: una primera oxidación directa de los compuestos mediante el ozono molecular (con potencial de oxidación de 2,07 V), y una segunda vía de oxidación por la formación de radicales libres hidroxilo. Estos radicales libres, formados por la combinación de las moléculas de agua y las de ozono, constituyen uno de los oxidantes más potentes, con un potencial de 2,80 V, y la oxidación que llevan a cabo es mucho más rápida que la oxidación directa por moléculas de ozono. La prevalencia de una u otra vía depende principalmente del pH, favoreciendo un pH bajo la oxidación por

moléculas de ozono y un pH alto la oxidación por radicales hidroxilo (Pérez Calvo, 2006). Ambas reacciones (Forero et al., 2005), se muestran a continuación, siendo S cualquier compuesto orgánico:



El punto negativo de este proceso es la posible formación de subproductos de degradación, que pueden llegar a ser más tóxicos que los compuestos de partida (Rubio Clemente et al., 2013).

2.4.2 Oxidación con radiación UV combinada con peróxido de hidrógeno

Este proceso estaría formado por la combinación de dos agentes que también pueden emplearse de forma individual: la radiación UV y el peróxido de hidrógeno.

El espectro ultravioleta está dividido en cuatro bandas: UV-A (315 a 400 nm); UV-B (280 a 315 nm), UV-C (200 a 280 nm) y UV-vacío (100 a 200 nm), como representa la figura 7:

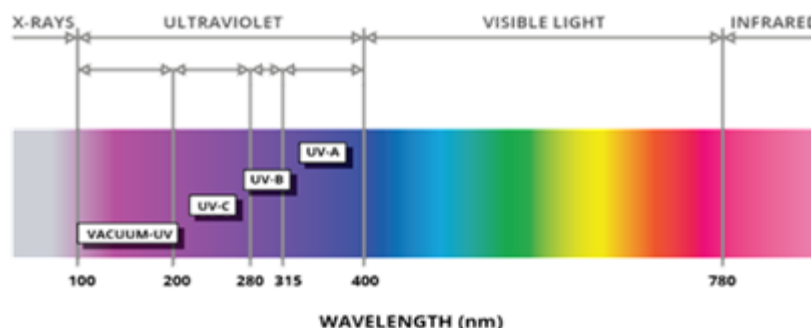
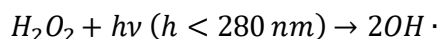
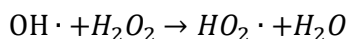


Figura 7. Espectro de radiación solar. Fuente: Semicon Synapsis (2015).

Por su parte, el peróxido de hidrogeno (H_2O_2) es un compuesto que ha sido utilizado para el tratamiento de efluentes industriales y de aguas potables, con el objetivo de eliminar materia orgánica (Rodríguez et al., 2008), y que combinado con radiación UV ha resultado ser efectivo en el tratamiento de contaminantes orgánicos a nivel de trazas (Shu et al., 2013). Posee un potencial de oxidación de 1,78 V, superior al cloro (Forero et al., 2005), y tiene la capacidad de producir radicales hidroxilo, tal y como muestra la siguiente ecuación:



Un factor a tener en cuenta en estos procesos es la dosis óptima de peróxido necesaria, ya que este compuesto en exceso actúa capturando radicales $\text{OH}\cdot$, de forma que se darían reacciones competitivas con las reacciones de degradación de los compuestos en cuestión (Rodríguez et al., 2008). Esta reacción de consumo sería la siguiente:

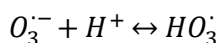
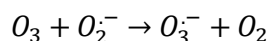
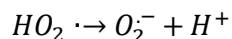
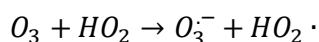
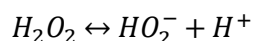
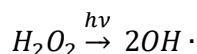
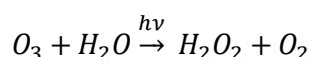


2.4.3 Ozonización combinada con luz UV y peróxido de hidrógeno.

Como se ha mencionado anteriormente, los AOPs también pueden aplicarse de forma conjunta, por lo que el tercer proceso que se ha seleccionado ha sido la combinación de los dos procesos anteriores.

Las combinaciones de procesos generalmente conllevan a una mejora de la eficiencia en la degradación de contaminantes debido al efecto sinérgico entre ellos, ya que se incrementa la formación de radicales libres, lo que finalmente conduce a mayores tasas de oxidación (Agustina, Ang & Vareek, 2005). Aunque esta mejora no se trata de una regla general, ya que depende de muchos factores (dosis, tiempos de actuación, pH, ratio entre agentes oxidantes, contaminante a eliminar, etc.).

La combinación $\text{O}_3/\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2$ mejora esta eficiencia de degradación al darse lugar tres tipos de procesos simultáneamente: degradación por fotólisis directa, degradación por ozonización directa y degradación por la oxidación de los radicales hidroxilo libres formados. Estas reacciones (Rodríguez et al., 2008), rápidas y poco selectivas, serían las siguientes:



Vemos como la aplicación conjunta de $\text{O}_3/\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2$ aumenta la formación de radicales hidroxilo, lo que podría favorecer la degradación de contaminantes orgánicos,

aunque este aumento de la efectividad depende de cada caso particular (Rodríguez et al., 2008).

2.5 Reutilización de las aguas: importancia y legislación vigente.

Las aguas residuales tras su uso pueden ser reutilizadas si alcanzan unos niveles de calidad adecuados, tras ser sometidas a distintos procesos como los descritos anteriormente. Es decir, el agua regenerada no es otra que “agua residual tratada” que satisface los criterios para poder ser usada nuevamente (Seguí Amórtegui, 2004).

La reutilización de aguas depuradas en nuestro país está legislada por el Real Decreto 1620/2007, de 7 de Diciembre, y a pesar de los avances científicos en esta área, no es todavía una práctica común a nivel nacional (Seguí Amórtegui, 2004), además, los casos que sí se han dado se limitan en mayor parte a usos agrícolas.

A parte del uso agrícola, la legislación prevé otros 4 usos para las aguas regeneradas: urbanos, industriales, ambientales y recreativos. Estos usos implican el cumplimiento de determinados valores, más o menos restrictivos, para 4 parámetros microbiológicos y físico-químicos: huevos de nemátodos, *Escherichia coli*, sólidos en suspensión y turbidez. Además de estos 4, para determinados casos han de cumplirse otros parámetros como concentración de nitrógeno total, nitratos, *Legionella spp.*, entre otros. Junto con los valores máximos admisibles, se encuentra regulada la frecuencia y método de análisis de los parámetros.

Las zonas que más actúan en este ámbito en nuestro país son las zonas costeras y los archipiélagos, debido a su alta demanda de recursos hídricos, su climatología y el nivel de sobreexplotación de sus acuíferos (Otero Calviño, 2006). Las EDAR que poseen sistemas de reutilización a nivel nacional, a fecha de 2010, serían las siguientes:

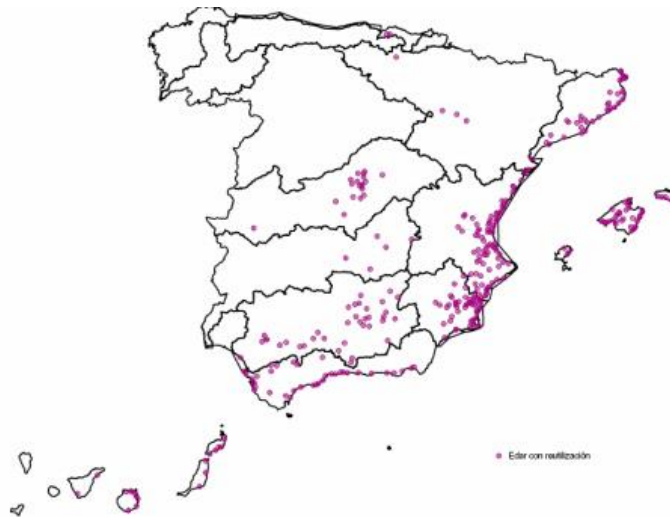


Figura 8. Distribución del número de sistemas de reutilización (322). Fuente: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (2010).

La reutilización de aguas no sólo tendría beneficios ambientales, sino que se trata de una medida de gestión y planificación hidrológica que genera impactos positivos en otros ámbitos como económicos y sociales (Otero Calviño (2006), Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (2010)):

- Posibilidad de destinar para usos más exigentes el agua de mejor calidad (como producción de agua potable).
- Garantía de poseer recursos de agua independientemente de las precipitaciones (muy importante para sectores sensibles al déficit hídrico como la agricultura o la industria).
- Reducción del aporte de contaminación a los cursos naturales de agua.
- Aprovechamiento de los elementos nutritivos contenidos en el agua regenerada (como nitrógeno y fósforo).
- Reducción de la explotación de recursos hídricos, destacando el impacto positivo sobre acuíferos sobreexplotados, ya que permitiría un mayor margen de tiempo para reestablecer su equilibrio entre recargas y extracciones.

Capítulo 3: Metodología

3.1 Muestras

Los distintos experimentos realizados a lo largo de este proyecto se realizaron en dos tipos de muestras, en primer lugar sobre muestras de agua sintética (3.1.1 *Matriz agua destilada*) para evaluar la eficacia de los procesos, y posteriormente sobre muestras de agua de salida de EDAR reales (3.1.2 *Matriz de agua de salida de EDAR real*). Las aguas residuales contienen multitud de compuestos como proteínas, hidratos de carbono, lípidos e incluso gases como ácido sulfhídrico, junto con gran cantidad de microorganismos vivos, como *Escherichia coli* o *Salmonella* (Benítez Rodas, 2013), por lo que estas muestras servirán para analizar la influencia de esta compleja matriz en la eficiencia de los procesos aplicados previamente en muestras de agua destilada.

3.1.1 *Matriz agua destilada*

Estas muestras se realizaban mediante dilución de cafeína en polvo (Caffeine anhydrous, Panreac), en agua destilada. Para ello, y mediante una balanza de precisión, se pesaban 40 mg de cafeína, se trasvasaban a un matraz aforado con 1L de agua destilada, y se dejaba en agitación hasta su completa disolución (unos 45 minutos a 100 rpm). De este modo, se obtenían muestras de 40 mg cafeína/l, concentración teórica que se comprobaba mediante espectroscopía (*Anexo I.III*).

La conservación de las muestras se limitaba a mantenerlas refrigeradas y correctamente etiquetadas con la fecha de preparación y la concentración exacta.

3.1.2 *Matriz agua de salida de EDAR real*

El segundo tipo de muestras que se emplearon fueron muestras procedentes del decantador final de la EDAR de Tudela (Navarra), propiedad de Navarra de Infraestructuras Locales S. A. (NILSA), y cuya vista aérea puede verse en la figura 9:



Figura 9. Vista aérea de la EDAR de Tudela. Fuente: Gómez (2007).

El agua bruta de esta EDAR está compuesta de aguas pluviales, residuales de origen urbano en su mayoría y de tipo industrial, y lixiviados procedentes de un vertedero cercano a la zona (Cisneros Lainez, 2015).

La EDAR de Tudela (Gómez, 2007), está compuesta por dos líneas: la línea de tratamiento de aguas y la línea de tratamiento de fangos. La línea de aguas, con un caudal medio de entrada de $850 \text{ m}^3/\text{h}$, está compuesta por las siguientes etapas, representadas en la figura 10:

- Sistema de bombeo del agua bruta (1): dispone de una reja de gruesos que deja pasar únicamente aquellas partículas en suspensión de menos de 20 mm de grosor.
- Pretratamiento (2): en esta etapa se eliminan las partículas en suspensión mayores a 3 mm y las arenas. Está compuesta por un tamizado con tres tamices y un desarenado formado por dos desarenadores de flujo horizontal.
- Tratamiento primario: formado por dos decantadores circulares (3), con rascadores superficiales y de fondo para la extracción de flotantes y decantados respectivamente. Los sólidos flotantes son bombeados hasta un desengrasador y los decantados, denominados fango primario, a la línea de tratamiento de fango. En esta etapa se elimina materia en suspensión y coloidal.
- Tratamiento secundario o biológico: en esta última etapa se eliminaría la materia orgánica disuelta, la materia coloidal biodegradable junto con nutrientes como nitrógeno y fósforo. Estaría formada por tres reactores biológicos circulares de lecho bacteriano de alta carga (4) y dos decantadores circulares intermedios (5), seguidos de dos reactores biológicos circulares de lecho bacteriano de baja carga (6) y dos decantadores circulares finales (7). Estos dos últimos decantadores finales serían el punto de muestreo seleccionado para el proyecto.



Figura 10. Línea de aguas de la EDAR de Tudela. *Fuente: Visor SigPac (2016)*

Los muestreos en esta EDAR se realizaron durante los días 4, 5, 20 y 28 de julio de 2016. Las muestras se tomaron del decantador final empleando envases de plástico estériles de 500 ml (figura 11) para no modificar la microbiología de las mismas. Además, en las cuatro ocasiones se tomaron a primera hora de la mañana, para poder realizar durante el mismo día las analíticas necesarias sin que se modificara la concentración microbiológica de las muestras (teóricamente esta concentración se mantiene en un límite de 24 horas).



Figura 11. Toma de muestras del decantador final de la EDAR de Tudela (Navarra). *Fuente: elaboración propia.*

Una vez tomadas las muestras, se etiquetaban con rotulador permanente (nombre, dirección, fecha y hora de muestreo) y trasladaban utilizando neveras portátiles, para mantenerlas refrigeradas y en oscuridad, hasta el laboratorio del grupo

de investigación “Calidad y Tratamiento de Aguas” (Departamento de Ingeniería Química y Tecnologías del Medio Ambiente, Universidad de Zaragoza), situado en el edificio Torres Quevedo de la Escuela de Ingeniería y Arquitectura (EINA) de la Universidad de Zaragoza.

3.2 Metodología Analítica

A continuación se describen todos los parámetros analizados durante el proyecto, tanto físico-químicos (3.2.1) como microbiológicos (3.2.2).

3.2.1 Parámetros físico-químicos

A lo largo de los distintos experimentos y análisis se determinaron varios parámetros físico-químicos, siguiendo métodos estándar y empleando distintos equipos, como recoge la tabla 2:

Tabla 2. Métodos y equipos empleados según el parámetro físico-químico analizado.
Fuente: elaboración propia.

Parámetro	Método normalizado	Equipo	Rango de detección y error
Alcalinidad	UNE-EN ISO 9963-1:1996		
Carbono orgánico total	5310-B <i>Standard Methods</i>	Analizador de TOC SHIMADZU, TOC-V _{CSH}	CT: 0-25.000 mg/l CIT: 0-30.000 mg/l (5-10%)
Cloruros	ISO 10304:1995	Cromatógrafo iónico Dionex ICS 1000	
Concentración de cafeína		Espectrofotómetro Helios UV-VIS ThermoSpectronic (Anexo I.III)	1-50 mg/l
Conductividad eléctrica	UNE-EN ISO 2788	Conductivímetro CRISON Basic 30	0,01-19999 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ($\pm 0,02 \mu\text{S}/\text{cm}$)
Demanda química de oxígeno	5220-D <i>Standard Methods</i>	Fotómetro Multiparámetro Hanna HI 83099	0-1500 mg O ₂ /l ($\pm 1 \text{ mg/l}$)

Tabla 3. Métodos y equipos empleados según el parámetro físico-químico analizado (continuación). Fuente: elaboración propia.

Parámetro	Método normalizado	Equipo	Rango de detección y error
Dureza	2340-C <i>Standard Methods</i>		
Fluoruros	ISO 10304:1995	Cromatógrafo iónico Dionex ICS 1000	
Fosfatos	4500-PC <i>Standard Methods</i>	Fotómetro Multiparámetro Hanna HI 83099	0-30 mg/l ($\pm 0,1$ mg/l)
Fósforo total	4500-P <i>Standard Methods</i>	Fotómetro Multiparámetro Hanna HI 83099	0-15 mg/l ($\pm 0,3$ mg/l)
Nitratos	ISO 10304:1995	Cromatógrafo iónico Dionex ICS 1000	
Nitritos	ISO 10304:1995	Cromatógrafo iónico Dionex ICS 1000	
pH	4500-HB <i>Standard Methods</i>	pH-metro CRISON GLP 21	1-14 ($\pm 0,02$)
Sólidos en suspensión	2540-D <i>Standard Methods</i>		
Sulfatos	ISO 10304:1995	Cromatógrafo iónico Dionex ICS 1000	
Turbidez	UNE-EN ISO 7027	Turbidímetro HANNA Instruments LP 2000	0-1000 UNT ($\pm 0,5$ UNT)

En el Anexo I se desarrolla de forma más detallada la metodología y la instrumentación empleada para cuantificar cada parámetro.

3.2.2 Parámetros microbiológicos

3.2.2.1 Análisis de *Escherichia coli*

Escherichia coli es uno de los parámetros microbiológicos que exige analizar la ley de reutilización, proponiendo como método el recuento de bacterias *Escherichia coli* β -Glucuronidasa positiva. Para ello, se siguió la norma de referencia UNE-EN ISO 16649-1:2013 “*Método horizontal para la enumeración de Escherichia coli beta-glucuronidasa positivo*”, la cual establece el medio de cultivo que debe emplearse, las diluciones necesarias para realizar las siembras y la incubación de las placas. Junto a ella, se siguió el método estandarizado 9215-C “*Método de placa difusa*” (Eaton et al., 2005), el cual determina cómo debe llevarse a cabo la siembra de las placas y la norma UNE-EN ISO 9308-1:2014 “*Detección y recuento de Escherichia coli y bacterias Coliformes*”, para realizar el recuento final.

Escherichia coli (figura 12) es una bacteria aerobia gramnegativa, perteneciente al grupo de los Coliformes fecales y miembro de la familia *Enterobacteriaceae*, que reside en el colon de los seres humanos y de otros animales de sangre caliente, por lo que suele utilizarse como indicador de contaminación fecal en el análisis de aguas (Hawley, 2016).



Figura 12. *Escherichia coli* al microscopio electrónico. Fuente: Centers for Disease Control and Prevention (2016).

Para realizar el conteo de esta bacteria es necesario generar un medio de cultivo específico (con humedad suficiente, pH ajustado, concentración determinada de oxígeno y estéril), es decir, un material nutritivo artificial preparado para el crecimiento de este microorganismo en laboratorio (Tortora, Funke & Case, 2007). Siguiendo las normas de referencia antes citadas, el medio de cultivo que se empleó fue Agar Macconkey deshidratado (Scharlau).

Para la preparación del medio de cultivo, se pesan 25,75 gramos de Agar Macconkey en polvo, y se diluyen en un matraz aforado con 500 ml de agua destilada, sobre una placa agitadora y calentadora, hasta llegar a ebullición (figura 13).



Figura 13. Preparación del medio de cultivo Macconkey. Fuente: elaboración propia.

A continuación, se trasvasa la mezcla a una botella de 500 ml con tapón de rosca y se autoclava a 121°C y 1 bar de presión durante 15 minutos, para la esterilización del medio, empleando un equipo autoclave (J.P Selecta, modelo 41758).

Tras el autoclavado, se deja enfriar hasta 50°C empleando un baño termostático (J.P Selecta modelo Precistem 20 L) para que la botella sea manejable y se pueda verter su contenido en estado líquido en las placas Petri. El rellenado de las placas Petri se realiza directamente de la botella a estas, pasando el cuello de la botella por la llama de un mechero Bunsen para asegurar la esterilidad del medio (figura 14).



Figura 14. Preparación de las placas Petri. Fuente: elaboración propia.

Una vez preparados los medios de cultivo, la siembra de bacterias se realizó de dos formas: método de siembra por diluciones decimales seriadas y método de filtración en membrana.

- **Diluciones decimales seriadas**

Este método consiste en realizar diluciones decimales consecutivas de las muestras para reducir la concentración bacteriana y alcanzar un número adecuado para el recuento.

De este modo, la muestra inicial sería la dilución 0, y tomando 1 ml de ésta empleando una micro pipeta y trasvasándolo a un tubo estéril con 9 ml de NaCl 0,9%, se obtiene una primera dilución 1:10 o dilución -1 (tras homogeneizarla correctamente empleando un agitador tipo vortex modelo Valp Scientifica 2x3). Si de ésta primera dilución homogeneizada se toma 1 ml de nuevo y se trasfiere a otro tubo estéril con 9 ml de NaCl, obtendríamos la segunda dilución 1:100 o dilución -2. Para obtener más diluciones seriadas se procedería de la misma forma, como muestra la figura 15:



Figura 15. Proceso de diluciones seriadas decimales. Fuente: Instituto Nacional de Tecnologías Educativas y de Formación del Profesorado.

Una vez preparadas las diluciones, las muestras se sembraron en las placas Petri empleando el método de siembra en superficie. Este método consiste en añadir 100 µl de muestra mediante micro pipeta en la placa, y extenderlos uniformemente describiendo círculos por la superficie hasta que la muestra ha sido absorbida por el medio de cultivo, empleando una varilla de vidrio previamente esterilizada.

A continuación, se introducen las placas sembradas durante 24 horas en una estufa a 42°C (J.P Selecta, modelo Incudigit 36L), para que se complete el periodo de incubación necesario y se proceda al recuento de las placas en el momento óptimo (Tortora et al., 2007). La figura 16 muestra el aspecto final de una placa sembrada tras el periodo de incubación:



Figura 16. Placa Petri tras siembra en superficie e incubación durante 24 horas a 42°C.
Fuente: elaboración propia.

En el caso de utilizar el medio de cultivo Agar Macconkey para detectar *E.coli*, se deben contar las manchas color violeta como Unidades Formadoras de Colonias (UFC), y el resultado de cada placa se expresa en unidades de UFC/100 ml, aplicando la siguiente expresión:

$$\frac{UFC}{100} ml = \frac{UFC}{ml \text{ muestra filtrados}} * 100 ml * F_d$$

Siendo F_d el factor de dilución, es decir, la inversa de la dilución seleccionada.

No todos los conteos son válidos ya que el número de UFC no deben ser ni demasiado grande (para evitar solapamientos entre ellas y dar lugar a estimaciones erróneas) ni demasiado pequeño para que sea significativo. Según las normas de referencia, el número de UFC debe estar entre 30 y 300.

- **Filtración en membrana**

El segundo método de siembra que se aplicó fue el de filtración en membrana. Este método consiste en filtrar un volumen conocido de muestra homogeneizada (1, 5 y 10 ml), empleando una rampa de filtración, como la que se observa en la figura 17 (Millipore, modelo Sistema Microfil), embudos estériles y filtros estériles de 0,45 µm.



Figura 17. Rampa de filtración. Fuente: elaboración propia.

La filtración se realiza en un medio estéril proporcionado por la llama del mechero Bunsen, y tras finalizarla, se coloca el filtro de membrana en la superficie del medio de cultivo de una placa Petri. Finalmente, al igual que en el método anterior, se dejan incubar las placas durante 24 horas a 42°C para realizar el recuento (figura 18), y el resultado final se expresa en UFC/100 ml.

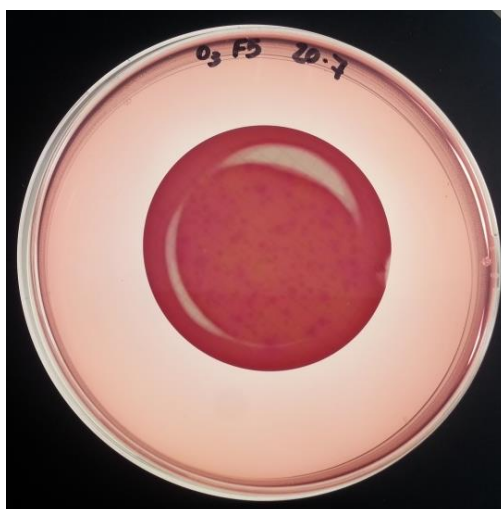


Figura 18. Placa Petri tras filtración en membrana e incubación durante 24 horas a 42°C. Fuente: elaboración propia.

3.2.2.1 Análisis de huevos de nemátodos

Los nemátodos son animales invertebrados, pseudocelomados, con aspecto en general de gusano y que se reproducen formando huevos fértiles (figura 19). Tienen una amplia distribución y la mayoría dependen del agua para su supervivencia (Armendáriz, Landázuri, Quiña, & Ríos, 2015).



Figura 19. Huevo de nemátodo visto a microscopio. Fuente: elaboración propia.

Los nemátodos intestinales son el segundo parámetro microbiológico de obligado control para la reutilización de aguas. Para este análisis se siguió el método de referencia que propone el Real Decreto 10620/2007 de reutilización: Método Bailinger modificado por Bouhoum & Schwartzbrod. Este método Bailinger modificado es generalmente útil, simple y barato y se realizó siguiendo los pasos determinados por Ayres & Mara (1996).

Se toma un volumen de 10 litros para cada muestra a analizar, y se someten a un proceso de sedimentación durante 24 horas, como muestra la figura 20:



Figura 20. Sedimentación de las muestras de agua en conos Imhoff para el análisis de huevos de nemátodos. Fuente: elaboración propia.

De esta manera se elimina el 90% de sobrenadante mediante una bomba de succión. A continuación, el sedimento es transferido a tubos de centrifuga y centrifugado a 1000 rpm durante 15 minutos. Tras la primera centrifugación, se elimina el sobrenadante y al sedimento obtenido se le añade un mismo volumen de solución

tampón acetato-acético de pH 4,5. A continuación, se añade un volumen de éter dietílico igual al doble del volumen del sedimento obtenido, y se agita vigorosamente con ayuda de un vortex para seguidamente centrifugar nuevamente la mezcla a 1000 rpm durante 15 minutos. De éste modo se obtiene una distribución en tres fases: fase oscura superior, tampón intermedio con coloración clara y en último lugar el sedimento sólido. Las fases superiores se eliminan conservando el sedimento, donde están concentrados los huevos de nemátodos. Finalmente, se centrifuga de nuevo durante 5 minutos, se extrae el sobrenadante y se resuspende el sedimento en un volumen cinco veces mayor de sulfato de zinc al 33%.

Tras homogeneizar la mezcla, se retiran alícuotas a una cámara McMaster, cubriéndose con cubreobjetos y examinando toda la preparación al microscopio con un objetivo de 20x, utilizándose el de 40x para confirmar. Destacar que las alícuotas se dejan reposar durante 5 minutos sobre el portaobjetos para favorecer la flotación de los huevos antes de su examen.

El método incluye una fórmula matemática para calcular la concentración de huevos por litro, pero como el objetivo del proyecto es únicamente determinar su presencia o ausencia (debido al criterio establecido por el RD 1620/2007), no se determinó dicha concentración.

3.3 Procedimiento experimental

En primer lugar se aplicaron a muestras de agua destilada los tratamientos convencionales (3.3.1 *Precipitación química* y 3.3.2 *Adsorción con carbón activo*) y los Procesos de Oxidación Avanzada (3.3.3 *Oxidación con peróxido de hidrógeno*, 3.3.4 *Oxidación con luz ultravioleta*, 3.3.5 *Oxidación con luz UV combinada con peróxido de hidrógeno*, 3.3.6 *Ozonización*, 3.3.7 *Ozonización combinada con peróxido de hidrógeno* y 3.3.8 *Ozonización combinada con peróxido de hidrogeno y luz ultravioleta*).

Se determinó la concentración de cafeína antes y después del tratamiento por espectrofotometría, y así se obtuvieron los porcentajes de degradación de cafeína para las distintas condiciones de operación para cada tratamiento, mediante la siguiente expresión:

$$\% \text{ Eliminación cafeína} = \frac{\text{Cafeína}_{\text{inicial}} - \text{Cafeína}_{\text{final}}}{\text{Cafeína}_{\text{inicial}}} * 100$$

Esta misma expresión se aplicó para calcular la reducción de TOC:

$$\% \text{ Eliminación de TOC} = \frac{TOC_{inicial} - TOC_{final}}{TOC_{inicial}} * 100$$

Posteriormente, y seleccionando aquellos tratamientos que resultaron más efectivos en las muestras de agua destilada, se aplicaron a las muestras con matriz de agua de salida de EDAR real, calculando de nuevo el porcentaje de degradación de cafeína. Finalmente, y en estas últimas muestras de salida de EDAR real, se analizaron los criterios de calidad para reutilización de aguas antes y después de cada tratamiento, de forma que según la calidad final obtenida tras cada tratamiento se pueden proponer distintos usos de reutilización.

3.3.1 Precipitación química

Se realizó el ensayo de coagulación-floculación con 4 coagulantes distintos (sulfato de alúmina, sosa, cal y cloruro férrico) y empleando el mismo floculante en todos los casos (disolución de 800 mg/l de Poliacrilamida).

La disolución de sulfato de alúmina (Panreac) se realizó directamente del compuesto sólido; en el caso de la sosa cáustica (Panreac) se empleó una disolución 1 N; para la disolución de cal se empleó el compuesto sólido (Panreac) y finalmente para la disolución de cloruro férrico de nuevo se utilizó compuesto sólido (Probus SA).

En los experimentos con cloruro férrico además tuvo que realizarse la medición de un blanco para cada concentración analizada (muestra de agua destilada con cloruro férrico únicamente), ya que la primera tanda de ensayos dio como resultado un aumento de la concentración de cafeína, lo que se sospechó estar relacionado con una absorción por parte del coagulante. Así, se vio que el cloruro férrico absorbía a 272 nm y el valor del blanco se restó al valor de la mezcla total para determinar el porcentaje de eliminación de cafeína.

En todos los casos se prepararon tres vasos de precipitados con 300 ml de disolución de cafeína de 40 mg/l, y se añadieron concentraciones de 25, 50 y 100 mg/l del coagulante, junto con dos gotas de floculante.

Se empleó un equipo Jar test (SBS modelo Floc Tester) para mantener las muestras en agitación enérgica en primer lugar (200 rpm durante 3 minutos) para favorecer la coagulación, y después en agitación suave (40 rpm durante 15 minutos) para favorecer la floculación. Finalmente, se dejaron decantar durante 10 minutos y se filtraron (empleando filtros de 0,45 µm), para determinar la concentración final de cafeína de cada matraz en el espectrofotómetro y la reducción de TOC.

3.3.2 Adsorción con Carbón activo

Los ensayos con carbón activo se realizaron empleando dos tipos de carbón activo: vegetal (VPlus, CHIEMIVALL) fabricado a partir de madera y mineral (BM-8, CHIEMIVALL), fabricado a partir de material bituminoso. Para cada uno de ellos se emplearon 4 dosis distintas de carbón (10 mg/l, 100 mg/l, 500 mg/l y 1g/l) y un mismo tiempo de actuación (10 minutos). El tratamiento se realizó en vasos de precipitados con 300 ml de cafeína (40 mg/l), empleando el equipo Jar test con la misma configuración que en el apartado anterior, tal como muestra la figura 21:



Figura 21. Montaje para los ensayos con carbón activo. Fuente: elaboración propia.

Tras ver la mayor efectividad del carbón activo tipo mineral (desarrollado en el apartado 4.1.2), se realizaron nuevos ensayos manteniendo la dosis de 100 mg/l de este carbón, y modificando los tiempos de actuación del equipo Jar test (5, 10, 20 y 30 minutos).

3.3.3 Oxidación con peróxido de hidrógeno

Para estos ensayos se emplearon matraces con 300 ml de cafeína (40 mg/l), donde se añadían mediante micro pipeta concentraciones de 5 mM, 10 mM, 20 mM y 50 mM de peróxido de hidrógeno (Panreac, 30% peso/volumen).

Los experimentos se realizaron empleando el quipo Jar test, con la misma configuración que en los experimentos anteriores.

Se determinó el porcentaje de reducción de cafeína mediante espectrofotometría, así como el peróxido en exceso mediante tiras colorimétricas y la reducción de TOC.

3.3.4 Oxidación con luz ultravioleta

Para realizar estos experimentos se empleó una cámara solar Atlas, modelo *Suntest CPS+/XLS+* (figura 22). Esta cámara está equipada con una lámpara de Xenón que emite luz a una longitud de onda entre 290 y 800 nm, simulando la luz solar natural.



Figura 22. Cámara solar *Suntest CPS+/XLS+*. Fuente: elaboración propia.

El ensayo consistía en introducir dentro de la cámara un vaso de precipitados con 1 litro de cafeína (40 mg/l), durante un total de 150 minutos. Al vaso de precipitados se añadía además un imán, ya que dentro de la cámara se colocaba una placa agitadora. Durante el tiempo de funcionamiento se extraía una alícuota de 50 ml de muestra cada 15 minutos, para ir determinando el porcentaje de reducción de cafeína por espectrofotometría, así como la reducción de TOC y el peróxido en exceso mediante tiras colorimétricas.

3.3.5 Oxidación con luz UV combinada con peróxido de hidrógeno

Cada ensayo consistía en introducir dentro de la cámara solar (descrita en 3.3.4) un vaso de precipitados con 1 litro de cafeína (40 mg/l) y dosis de peróxido de hidrógeno (añadida con micro pipeta) de 5 mM y 10 mM.

Se realizaron 4 ensayos, 2 empleando una concentración de 5 mM y 2 empleando una concentración de 10 mM, con una duración de 180 minutos en todos los casos. Durante estos tiempos se extraía una alícuota de 50 ml de muestra cada 15 minutos para ir determinando el porcentaje de reducción de cafeína mediante espectrofotometría, así como el peróxido en exceso mediante tiras colorimétricas y la reducción de TOC.

3.3.6 Ozonización

Para este ensayo se empleó un ozonizador (FISCHER, Ozon 500), formado por dos electrodos concéntricos entre los que se establece un alto voltaje mientras fluye una corriente de oxígeno puro. En la descarga que se produce, se genera oxígeno atómico que se combina con el oxígeno molecular que circula entre los electrodos, formándose así la molécula de ozono gas. Esquemáticamente, la generación de ozono se representa en la figura 23:

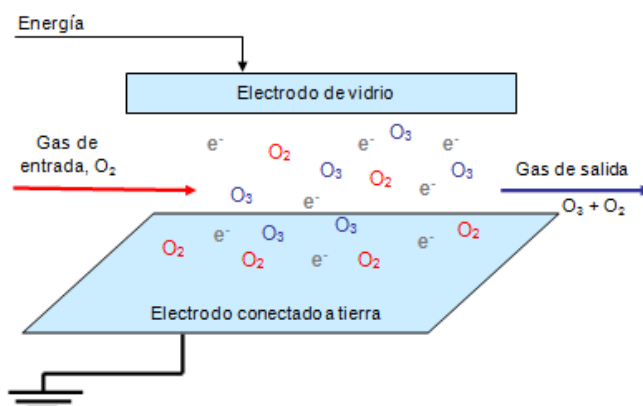


Figura 23. Esquema de la generación de ozono mediante descarga eléctrica. *Fuente: Grupo de Calidad y Tratamiento de Aguas (2010).*

El montaje necesario para llevar a cabo los experimentos está compuesto por el equipo ozonizador, una bombona de oxígeno puro, un lecho de sílica gel para eliminar la humedad de la corriente de oxígeno, un reactor de vidrio cerrado para la muestra a tratar, y dos reactores con disolución de KI 2% para capturar el ozono sobrante, tal como muestra la figura 24:

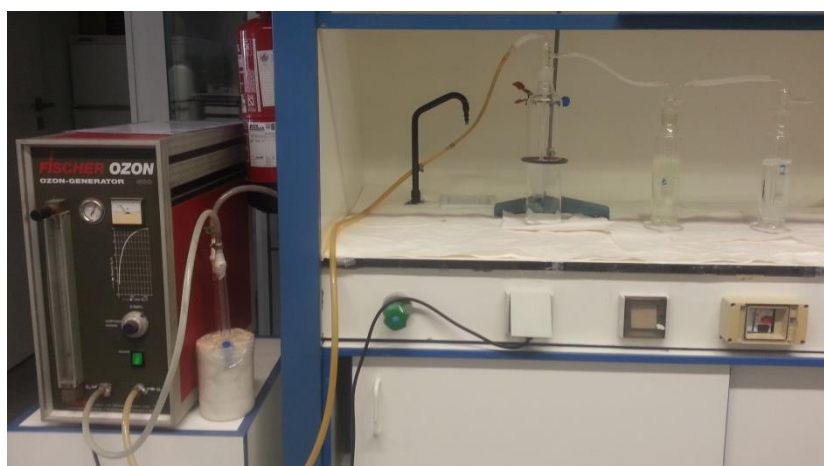


Figura 24. Montaje para los ensayos de ozonización. *Fuente: elaboración propia.*

A todos los reactores se hace llegar el ozono gas (con un caudal fijo de 50l/h) por la parte superior a través de un divisor poroso, a modo de borboteador, que produce

un burbujeo que proporciona agitación a la muestra, favoreciendo el contacto ozono-agua.

No todo el ozono generado es consumido en la reacción de degradación de la muestra a tratar, y es recogido en dos reactores con 250 ml de disolución de yoduro potásico (Panreac) al 2% en peso, para ser cuantificado mediante una valoración con tiosulfato sódico (Panreac, 0.026N) y almidón (Panreac) como indicador, y así determinar el ozono en exceso, mediante la siguiente expresión:

$$mg\ O_3 = V * N * \frac{250}{V'} * 24$$

Siendo:

V = volumen de agente valorante, $S_2O_3^{2-}$, consumido

N = normalidad del $S_2O_3^{2-}$

V' = volumen tomado de muestra de KI (10 ml)

24 = peso equivalente del ozono

Una vez determinado el ozono en exceso, se conoce la cantidad de ozono que realmente se ha consumido en la reacción deseada, ya que:

$$O_3\text{consumido} = O_3\text{introducido} - O_3\text{exceso}$$

Para determinar la cantidad de ozono introducido, es necesario realizar una calibración previa al quipo.

- **Calibración del equipo ozonizador**

El equipo requiere de una calibración previa, para conocer la relación exacta entre el tiempo de funcionamiento del equipo y la cantidad de ozono generado que es introducido a la muestra a tratar. Para ello, se realizan una serie de ensayos, modificando los tiempos de funcionamiento, y determinando en cada caso la cantidad de ozono que se genera.

Para la calibración del quipo la instalación requerida es la misma, a excepción del reactor con muestra a tratar que en este caso no se incluye. Se realizaron 6 ensayos (*Anexo II.III*) a tiempos distintos de funcionamiento (0.5, 1.25, 2, 3, 4 y 5 minutos) determinando la cantidad de ozono recogido en los borboteadores de yoduro potásico, ya que en este caso se trata de todo el ozono introducido.

Una vez finalizada la calibración del equipo, se realizaron los distintos experimentos con muestras de cafeína. Se trataron muestras de 500 ml de cafeína (40 mg/l) en el primer reactor, y se realizaron 7 ensayos distintos, por duplicado, durante 0.5, 1, 1.7, 2.43, 3.76, 4.86 y 6.31 minutos de actuación (correspondientes a 239, 405, 635, 876, 1314, 1677 y 2155 mg/l de O_3). Se determinó el porcentaje de eliminación de cafeína mediante espectrofotometría, junto con el valor de pH y la reducción de TOC.

3.3.7 Ozonización combinada con peróxido de hidrógeno

Tras los ensayos de ozonización, se empleó la misma instalación y los mismos tiempos de actuación para comprobar la eficacia de la combinación de ozono con peróxido de hidrógeno. Para ello, se añadió al reactor que contenía la muestra de cafeína la cantidad de peróxido de hidrógeno (Panreac, 30% peso/volumen), correspondiente a un ratio de 2:1 O_3 - H_2O_2 molar (considerado como el ratio óptimo por autores como Forero et al., 2005). Al igual que en los experimentos con ozono, se determinó el porcentaje de eliminación de cafeína mediante espectrofotometría, la reducción de TOC y el peróxido en exceso mediante tiras colorimétricas (metodología explicada en el Anexo II. V).

3.3.8 Ozonización combinada con peróxido de hidrógeno y luz UV

Para realizar estos experimentos, se introdujo una lámpara UV en el interior del primer reactor que contenía la muestra de cafeína en los ensayos de ozonización, donde también se añadió peróxido de hidrógeno (Panreac, 30% peso/volumen), siguiendo el ratio anteriormente citado, como puede verse en la figura 25:

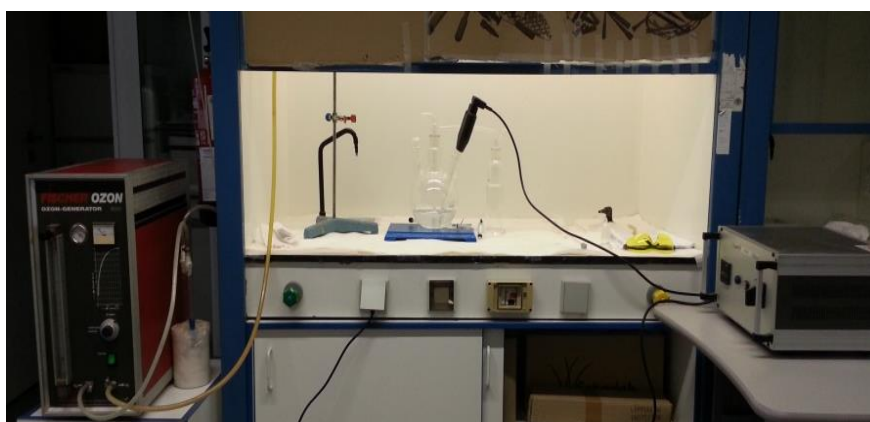


Figura 25. Instalación para los experimentos de ozono combinado con peróxido de hidrógeno y luz UV. *Fuente: elaboración propia.*

Capítulo 3: Metodología

En este caso se realizaron dos experimentos, por duplicado, en muestras de 500 ml de cafeína (40 mg/l) durante 2,43 y 6,31 minutos de funcionamiento del ozonizador (correspondientes a 876 y 2155 mg/l de O₃ respectivamente).

Capítulo 4: Resultados y Discusión

4.1 Recta de calibrado de cafeína

Los porcentajes de degradación de cafeína de cada proceso se determinaron calculando mediante espectrofotometría la concentración inicial y final de cafeína de cada muestra. Para conocer dichas concentraciones a partir de las absorbancias obtenidas en cada medida, se aplicaba la siguiente ecuación:

$$y = 0,0494x + 0,038$$

Dicha ecuación proviene de la recta de calibrado (figura 26) obtenida tras representar las concentraciones de 8 disoluciones patrón de cafeína (eje X) frente a sus respectivas absorbancias (eje Y).

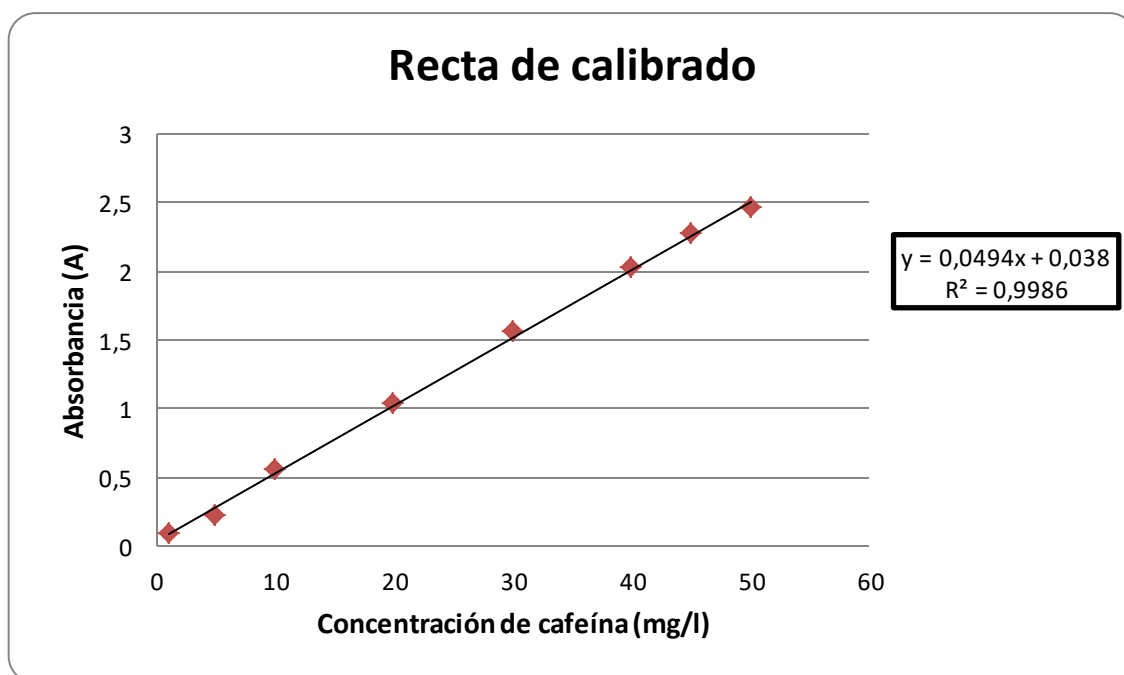


Figura 26. Recta de calibrado de cafeína. Fuente: elaboración propia.

4.2 Procesos convencionales

4.2.1 Precipitación química

Con estos experimentos se quería comprobar la influencia del tipo de coagulante empleado y la dosis aplicada en la degradación de cafeína. Todos los resultados se

recogen en el *Anexo II.1* y los resultados medios obtenidos quedan reflejados en la figura 27:

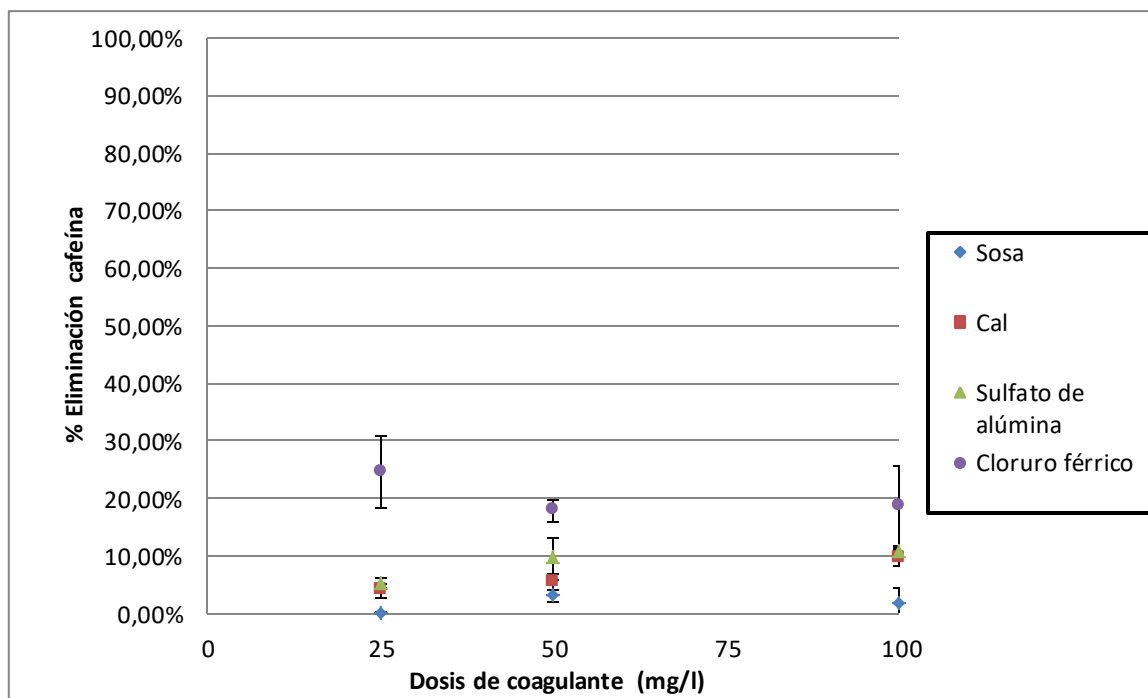


Figura 27. Porcentajes medios de eliminación de cafeína mediante precipitación química.
Fuente: elaboración propia.

La influencia de la dosis de coagulante se vio en el seguimiento de una misma tendencia en tres de ellos (cal, sosa y sulfato de alúmina), ya que resultaron más efectivos a mayor dosis aplicada, en cambio, los experimentos con cloruro férrico mostraron una tendencia distinta, siendo la dosis menor (25 mg/l) la que más porcentaje de degradación consiguió (24,45 %). Esta dosis por tanto, sería la más eficiente de todos los casos analizados, al conseguir el mayor porcentaje de degradación empleando la dosis mínima.

En cuanto al tipo de coagulante empleado, el que mejores resultados obtuvo, y con bastante margen de diferencia, fue el cloruro férrico, siendo el orden de eficacia de los distintos coagulantes, empleando las mismas dosis, el siguiente:

$$\text{Cloruro férrico} > \text{Sulfato de alúmina} > \text{Cal} > \text{Sosa}$$

Cabe destacar que todos los porcentajes de degradación obtenidos fueron pequeños en comparación con el resto de experimentos aplicados, ya que no se llegó en ningún caso a superar el 30% de eliminación, comparado con porcentajes obtenidos de hasta 96,2% de eliminación de cafeína (con adsorción con carbón activo mineral).

Capítulo 4: Resultados y Discusión

Lo mismo ocurrió con los valores de reducción de TOC, llegando a obtenerse valores máximos de 10,09% para la dosis mayor de cal, y de 10,37% para la dosis mayor de cloruro férrico, lo que podría extrapolarse a una baja mineralización final de cafeína, como muestra la tabla 4:

Tabla 4. Porcentajes de eliminación de TOC según el coagulante y su dosis. Fuente: elaboración propia.

Coagulante	Dosis (mg/l)	% Eliminación TOC
Sosa	25	0,5
Sosa	50	0,2
Sosa	100	0,0
Cal	25	5,3
Cal	50	0,9
Cal	100	10,1
Sulfato de alúmina	25	0,0
Sulfato de alúmina	50	0,8
Sulfato de alúmina	100	2,4
Cloruro férrico	25	3,7
Cloruro férrico	50	5,5
Cloruro férrico	100	10,4

Finalmente, también se analizó la influencia en el pH de la disolución según el tipo de coagulante, mostrando que no se producían cambios destacables al añadir los distintos coagulantes ni al variar sus concentraciones.

4.2.2 Adsorción con Carbón activo

Este segundo tipo de método convencional mostró muy buenos resultados (*Anexo II.II*), en comparación con el primer método tradicional (*4.1.1 Precipitación química*) y en comparación también con los Procesos de Oxidación Avanzada.

Con los experimentos con carbón activo se pretendía comprobar la influencia en la degradación de cafeína del tipo de carbón activo empleado, la dosis aportada y el tiempo de actuación.

Ambos mostraron la misma tendencia a aumentar el porcentaje de eliminación de cafeína al aumentar la dosis de carbón activo (figura 28), y además, ambos muestran una elevada pendiente en los primeros puntos (un pequeño aumento en la dosis de carbón activo implica un elevado incremento en la degradación de cafeína), que se va reduciendo hasta quedar prácticamente constante en las dosis mayores. Esto podría significar que se necesitaría incrementar en gran medida la dosis para conseguir el

100% de eliminación, o que directamente no puede conseguirse con este tratamiento y habría que modificar otros parámetros, como el tiempo de agitación.

El tipo de carbón que mejores resultados mostró fue el mineral, obteniendo para todas las dosis porcentajes de eliminación mayores que el vegetal. Esto se debe a que el carbón activo mineral posee un área superficial mayor (tabla 5), de forma que tendría más superficie para adsorber cafeína y tardaría más en obturar todos sus poros.

Tabla 5. Área superficial de cada tipo de carbón activo. Fuente: Miguel, Ormad, Mosteo, Rodríguez y Ovelleiro (2011).

Carbón activo	Área (m ² /g)
Vegetal	555,2 ± 10,9
Mineral	745.4 ± 14.5

Cabe destacar que esta diferencia entre tipos de carbón activo era mayor en las dosis más bajas, y que a partir de los 500 mg/l las diferencias eran menos notables, llegando a obtener casi el mismo resultado ambos con la dosis de 1000 mg/l (95,7% en el caso del carbón vegetal y 96,2% en el caso del carbón mineral).

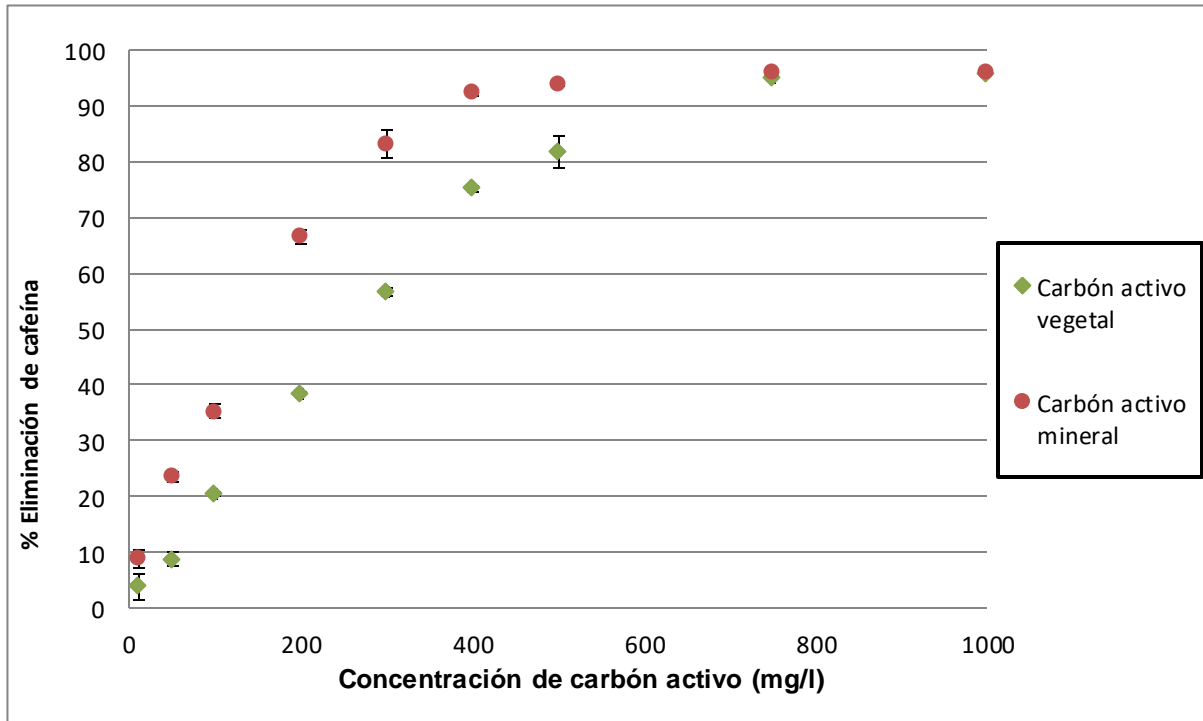


Figura 28. Eliminación de cafeína mediante adsorción con carbón activo. Fuente: elaboración propia.

Aunque se obtuvieron resultados muy elevados, las dosis empleadas fueron muy grandes para ello, por lo que se trataría de procesos muy eficaces pero poco eficientes,

en la línea de lo que afirman Janet et al. (2012): “los procesos de adsorción no generan subproductos no deseables al agua; sin embargo, se requieren altas tasas de consumo de adsorbente en el caso de usar carbón activado”.

Para analizar la influencia del tiempo de actuación en la eliminación de cafeína se seleccionó el carbón mineral, por ser el más efectivo en los primeros ensayos. Se vio como al aumentar el tiempo de actuación a dosis fija de carbón activo se aumentó el porcentaje de degradación (desde un 35,3% hasta un 39% con 30 minutos de aplicación), como muestra la figura 29:

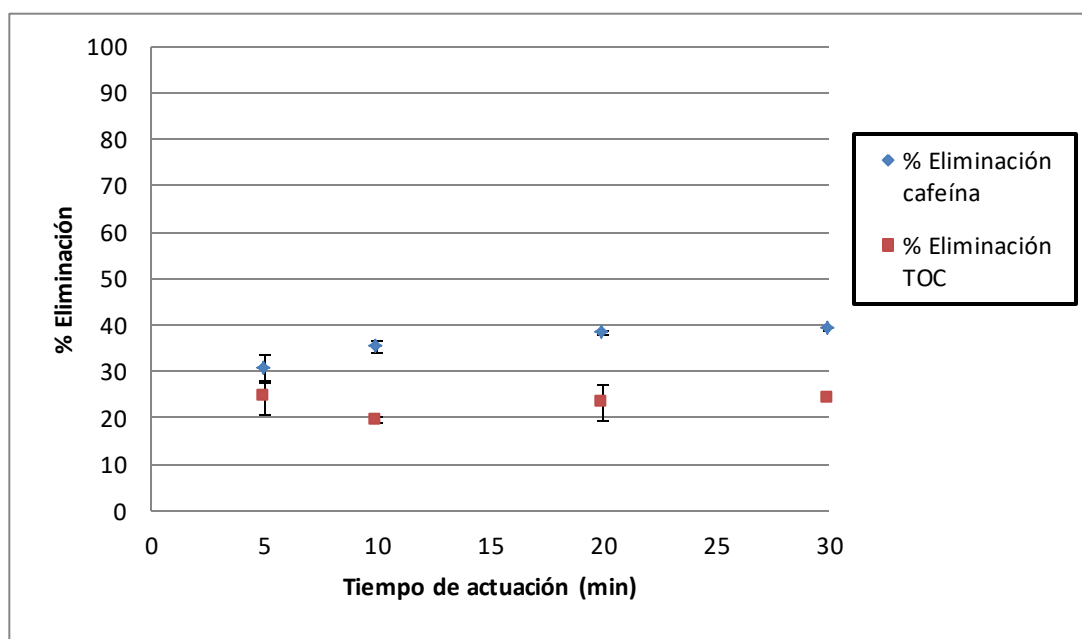


Figura 29. Eliminación de cafeína con carbón activo mineral en función del tiempo de actuación. Fuente: elaboración propia.

Sin embargo, este aumento no sería muy notable (apenas un 3,7% mayor), pese a triplicar el tiempo de actuación, por lo que podría afirmarse que es mucho más influyente el tipo de carbón y la dosis aplicada, que el tiempo de actuación a dosis fijas.

Un aspecto a destacar es la degradación de TOC mediante este proceso, ya que fue el único tratamiento que consiguió reducir este parámetro de forma considerable. Esto se debe a que el carbón activo es una sustancia con gran capacidad de adsorción, y que no formaría productos intermedios de degradación (a diferencia de los AOPs descritos posteriormente).

Entre los aspectos positivos de este tratamiento señalaríamos su capacidad para trabajar eficazmente a concentraciones bajas de contaminante, su flexibilidad frente a las variaciones de caudal y concentración, sus moderadas necesidades de espacio, la facilidad de automatización, la posibilidad de regenerar el adsorbente y la posibilidad de recuperar sustancias retenidas cuando resulte de interés económico.

Las principales desventajas de este tratamiento es la necesidad de gran cantidad de material, y la necesidad de regenerar el carbón para volver a utilizarlo o gestionarlo como residuo tras su vida útil. Además, el coste de operación suele ser alto.

4.3 Procesos de Oxidación Avanzada

4.3.1 Oxidación con peróxido de hidrógeno

Se vio que el peróxido de hidrógeno no degradaba cafeína ni TOC por sí solo, obteniendo valores 0 en tres de las cuatro dosis aplicadas para la eliminación de cafeína (los resultados completos se adjuntan en el *Anexo II.VII*). Además, los intervalos de peróxido en exceso que permitían determinar las tiras medidoras, parecerían mostrar que la mayoría del peróxido añadido no se consumía, como se ve en la tabla 6:

Tabla 6. Resultados de los experimentos de oxidación con peróxido de hidrógeno. Fuente: elaboración propia.

[Peróxido] (mM)	[Peróxido] (mg/l)	% Eliminación cafeína	Peróxido en exceso (mg/l)	% Eliminación TOC
5	170 mg/l	2,5	30-100	0,0
10	340 mg/l	0,0	300-400	0,3
20	680 mg/l	0,0	600	0,4
50	1700 mg/l	0,0	>1000	0,0

4.3.2 Oxidación con luz ultravioleta

La luz UV individualmente tampoco consiguió resultados de eliminación de cafeína y TOC destacables, aunque algo mayores que en los ensayos de oxidación con peróxido de hidrógeno, como se ve en los resultados recogidos en la tabla 7 (los resultados completos se adjuntan en el *Anexo II.VIII*).

Tabla 7. Resultados de los experimentos de oxidación con luz UV. Fuente: elaboración propia.

Tiempo (min)	% Eliminación Cafeína	% Eliminación TOC
15	0,7	0,6
30	1,5	0,0
45	3,4	1,4
60	3,4	0,0
75	2,1	0,0
90	1,0	0,0
105	0,0	0,0
120	0,0	0,0
135	0,0	0,0
150	0,0	0,0

Estos resultados negativos irían en la línea de afirmaciones de autores como Rodriguez et al. (2008), quienes obtuvieron poca mineralización de compuestos orgánicos con este proceso, incluso cuando aplicaban tiempos de aplicación de radiación relativamente largos.

4.3.3 Ozonización, ozonización con peróxido de hidrógeno y ozonización con peróxido de hidrogeno y luz ultravioleta.

Antes de realizar los distintos experimentos de ozonización, fue necesario realizar una calibración previa del equipo ozonizador. Los resultados obtenidos se adjuntan en el Anexo II.III, y la recta de calibración obtenida se recoge en la figura 30:

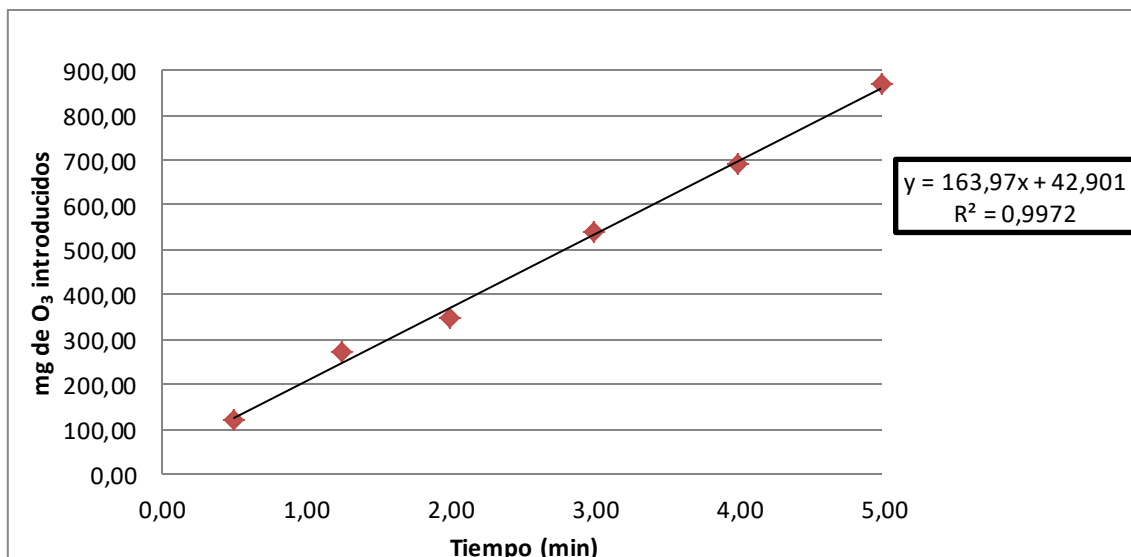


Figura 30. Recta de calibración del equipo ozonizador. Fuente: elaboración propia.

Vemos como tras realizar los distintos puntos de calibrado y representar el tiempo de funcionamiento del equipo ozonizador (eje X) frente a la cantidad de ozono introducida (eje Y), la recta de calibración se adaptaría a una recta lineal, con un elevado índice de regresión. La ecuación de la recta se empleó posteriormente para calcular los tiempos de funcionamiento del equipo ozonizador que se aplicaron en los distintos ensayos.

En estos experimentos con ozono se analizó la influencia de la dosis aportada de ozono (mg/l) en la degradación de cafeína, a través del tiempo de funcionamiento del equipo a caudal fijo. Así, se llegaron a obtener resultados de hasta un 89,4% de degradación (los resultados completos se adjuntan en el *Anexo II.IV*), para el caso de la dosis mayor, como se ve en la figura 31:

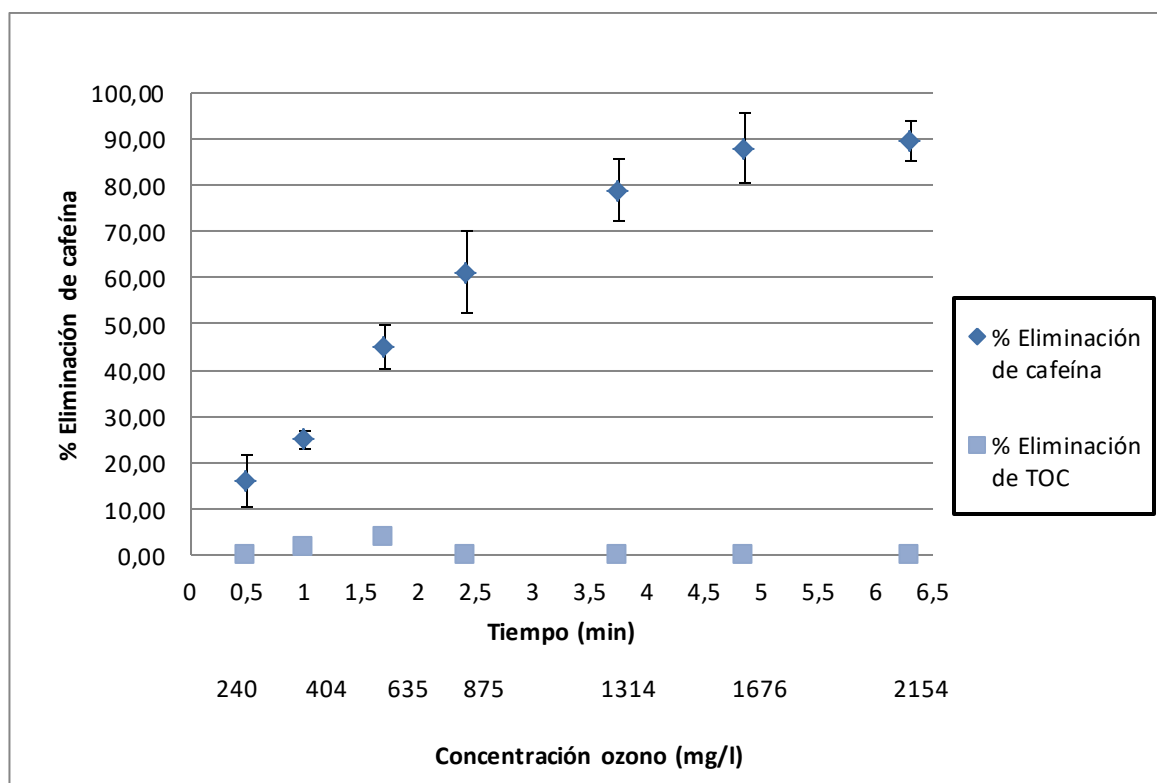


Figura 31. Degradación de cafeína mediante ozonización. Fuente: elaboración propia.

Aunque se obtuvieron valores de degradación de cafeína muy elevados, la reducción de TOC durante los experimentos fue nula en la mayoría de las ocasiones (con un máximo de un 3,8% de degradación para el tiempo de 1,7 minutos correspondiente a 635 mg/l de ozono), lo que indicaría la presencia de productos intermedios de transformación, al igual que muestran los resultados de autores como Rosal et al. (2009). Este proceso, aunque suele obtener elevados resultados en cuanto a la degradación de contaminantes, consigue porcentajes de mineralización no demasiado altos, generándose subproductos de degradación que pueden llegar a ser mucho más tóxicos que los compuestos de partida.

En cuanto a la eficiencia del proceso según el consumo de ozono, se puede afirmar que fue muy alta, obteniendo porcentajes de ozono en exceso muy bajos (incluso 0 para los dos primeros tiempos de actuación), y que se incrementaban levemente en los tiempos mayores (tabla 8). Esto sería debido a la rápida oxidación inicial de cafeína, lo que llevaría al consumo de la mayor parte del ozono aportado en los primeros tiempos.

Tabla 8. Porcentaje de ozono en exceso según el tiempo de actuación. Fuente: elaboración propia.

Tiempo (min)	Ozono introducido (mg/l)	Ozono en exceso (mg/l)	% Ozono en exceso
0,5	240	0	0
1	404	7,5	1,9
1,7	635	22,5	8,9
2,43	875	75	12,6
3,76	1314	161	16,5
4,86	1676	390	25,4
6,31	2154	416	21,0

Diversos autores, como Forero et al. (2005) o Comninellis et al. (2008), afirman que la aplicación simultánea de varios AOPs ejercen un efecto sinérgico en la eliminación de contaminantes.

Forero et al. (2005) afirman que al combinar peróxido de hidrógeno con ozono se acelera la descomposición de ozono a radicales hidroxilo. Y además, que la eficiencia del proceso de ozonización se mejora incluyendo radiación ultravioleta, incluso propone la siguiente relación de efectividades:

$$O_3/UV > O_3 > UV$$

Por otra parte, Comninellis et al. (2008) relata una mayor efectividad tras combinar ozono y peróxido de hidrógeno, que la suma por separado de ambos agentes.

Sin embargo, tras aplicar dos combinaciones con ozono (ozono con peróxido de hidrógeno y ozono con luz UV y peróxido de hidrógeno), se determinó que no se generaba este efecto sinérgico, como muestra la figura 32:

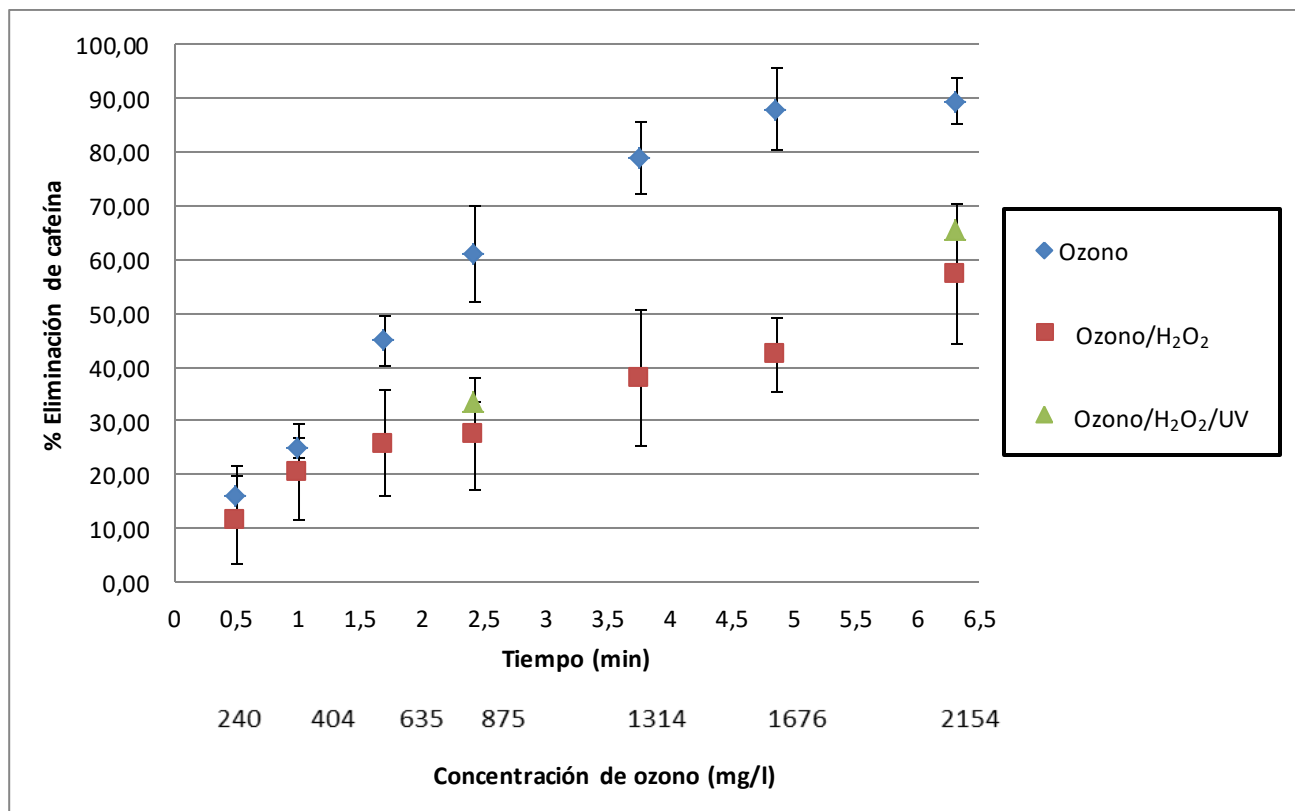


Figura 32. Comparación de la eliminación de cafeína aplicando tres combinaciones con ozono. Fuente: elaboración propia.

Los experimentos con únicamente ozono fueron los que mejores resultados mostraron en cuanto a degradación de cafeína, sin embargo, al aplicar luz UV (resultados completos en Anexo II.VI) se mejoraba la eficiencia de aprovechamiento reflejada en menores porcentajes de ozono en exceso, como muestra la tabla 9:

Tabla 9. Ozono en exceso obtenido en cada tratamiento con ozono. Fuente: elaboración propia.

Tiempo (min)	Ozono introducido (mg/l)	O ₃		O ₃ /H ₂ O ₂		O ₃ /H ₂ O ₂ /UV	
		Ozono en exceso (mg/l)	% Ozono en exceso	Ozono en exceso (mg/l)	% Ozono en exceso	Ozono en exceso (mg/l)	% Ozono en exceso
0,5	240	0	0	0	0		
1	404	7,5	1,9	24,4	13,8		
1,7	635	22,5	8,9	88,1	39,1		
2,43	875	75	12,6	138,7	48,2	41,2	10,4
3,76	1314	161	16,5	277,5	75,5		
4,86	1676	390	25,4	271,8	48,4		
6,31	2154	416	21,0	427,5	65,8	131,2	13,9

Capítulo 4: Resultados y Discusión

En términos de reducción de TOC, tanto ozono individualmente como la combinación de ozono, peróxido de hidrógeno y luz UV obtuvieron resultados prácticamente nulos. Los experimentos con ozono y peróxido de hidrógeno mostraron resultados algo mayores (resultados complejos en *Anexo II.V*), con tendencia a reducir más TOC al aumentar el tiempo, aunque teniendo en cuenta el propio error que comete el equipo en las medidas, podrían considerarse como valores de reducción nulos igualmente. Por tanto, en los tres casos al no reducir la concentración de TOC, se estarían formando los ya citados compuestos intermedios, como se ve en la tabla 10:

Tabla 10. Eliminación de TOC con cada proceso. Fuente: elaboración propia.

Tiempo	Ozono introducido (mg/l)	O ₃	O ₃ /H ₂ O ₂	O ₃ /H ₂ O ₂ /UV
0,5	240	0	0	
1	404	1,6	1,4	
1,7	635	3,8	2,1	
2,43	875	0	2,2	0
3,76	1314	0	3,2	
4,86	1676	0	2,9	
6,31	2154	0	6,7	0

Estas diferencias con la bibliografía, en cuanto al efecto sinérgico de combinar varios agentes oxidantes, pueden deberse a diversas causas, como la escala de aplicación, los equipos empleados, las sustancias objeto de eliminación y su concentración, o las condiciones de operación (temperatura, pH, etc.).

Junto con la problemática de la generación de subproductos, las desventajas de estos procesos con ozonización se encuentran principalmente en su coste económico, ya que requiere de gran cantidad de energía para generar ozono, que además debe realizarse *in situ*.

4.3.4 Oxidación con luz UV combinada con peróxido de hidrógeno

Con estos experimentos se quería comprobar la influencia que tiene en la eliminación de cafeína modificar la concentración de peróxido de hidrógeno y el tiempo de actuación. Los resultados al completo se adjuntan en el *Anexo II.IX*, y los resultados medios se muestran en la figura 33:

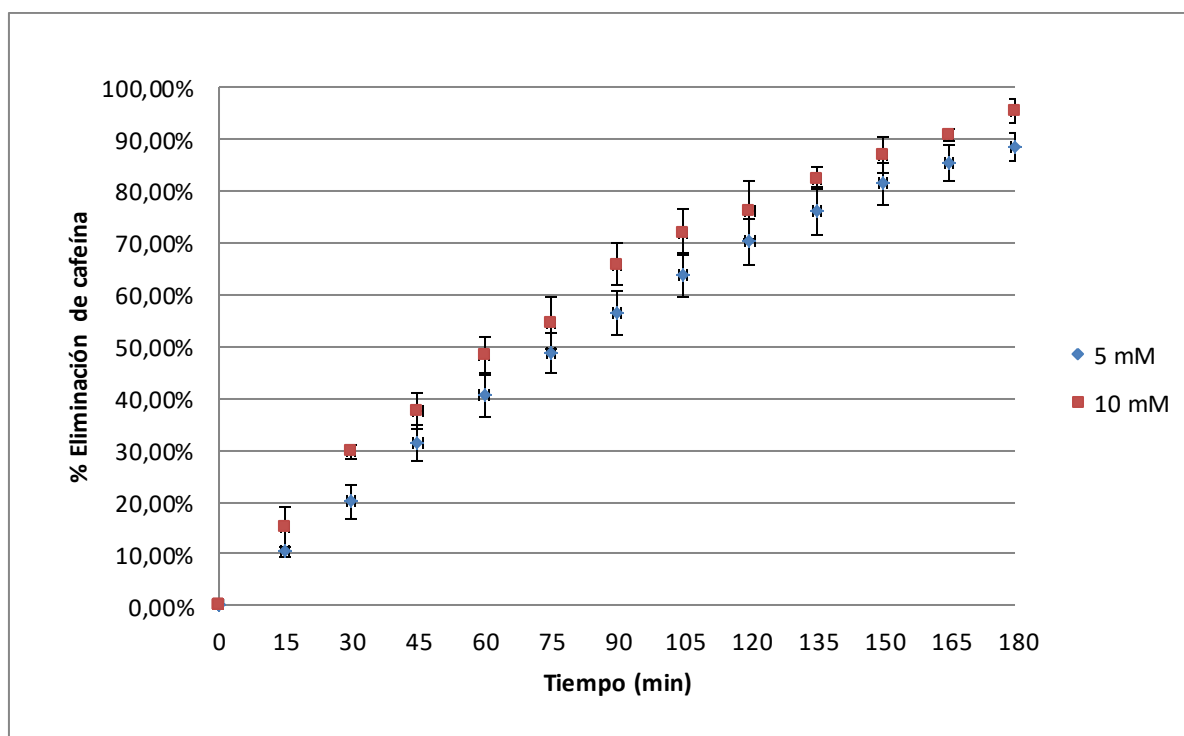


Figura 33. Eliminación de cafeína por oxidación con peróxido de hidrógeno y luz UV.
Fuente: elaboración propia.

Si se representan en la misma gráfica la curva de degradación para las dos concentraciones de peróxido analizadas, puede verse como la eliminación de cafeína es directamente proporcional al tiempo de actuación, llegando a obtenerse valores mayores al 90%.

En todos los tiempos analizados la degradación de cafeína fue mayor con la dosis de 10 mM, por lo que la cantidad inicial de peróxido aplicada a la muestra afecta la velocidad de reacción, de acuerdo con Forero et al. (2005). Aun así, pese a que la dosis de 10 mM duplica a la de 5 mM, los porcentajes de eliminación no fueron el doble de elevados ni mucho menos, sino que se situaban la mayoría de los casos entre un 6% y un 20% mayor.

Pese a obtenerse valores muy elevados de degradación (de hasta un 92,66% en una de las repeticiones para la dosis mayor con 5 mM) esto no ocurrió con la degradación de TOC (tabla 11), por lo que este proceso, al igual que la ozonización y las combinaciones antes analizadas, no consigue mineralizar completamente la molécula de cafeína, sino que la degrada formando otros compuestos orgánicos intermedios.

Tabla 11. Degradación de TOC mediante oxidación con peróxido de hidrógeno y luz UV.
Fuente: elaboración propia.

Tiempo (min)	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165	180
5mM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10mM	1,9	2,6	3	1,7	1,5	0	0	0	0	0	0	0

El consumo de peróxido fue bajo, obteniendo siempre concentraciones de peróxido en exceso similares a la dosis añadida inicialmente, por lo tanto y al igual que en el caso del carbón activo, hablaríamos de un proceso muy eficaz pero poco eficiente, que pese a duplicar la dosis inicial de peróxido, los porcentajes de degradación sólo aumentaron una pequeña parte obteniendo además gran parte como peróxido en exceso.

Podría decirse que este proceso, al igual que la ozonización, presenta dos grandes desventajas: el elevado coste de instalación y de energía para la formación de radiación artificial a través de lámparas UV y la formación de subproductos intermedios de degradación.

4.4 Aplicación de los métodos más efectivos a muestras con matriz de agua de salida de EDAR real para reutilización

A la hora de comprobar la degradación de cafeína en muestras reales, únicamente se seleccionaron aquellos procesos que mostraron ser más eficientes en las muestras con matriz de agua destilada. De entre los dos procesos convencionales se seleccionó la adsorción con carbón activo mineral (500 mg/l), y de entre los cuatro AOPs se seleccionaron ozonización (4,86 minutos correspondientes a 1676 mg/l de ozono) y oxidación con luz UV y peróxido de hidrógeno (5mM durante 180 minutos).

Al emplear esta matriz de agua real, se realizaron experimentos paralelos con un objetivo doble: determinar la eliminación de cafeína (empleando muestras a las que se añadía una concentración de 40 mg/l de cafeína) y analizar el cumplimiento de los parámetros marcados por la legislación de reutilización de aguas (empleando muestras sin añadir cafeína ya que se trata de una concentración muy elevada que modificaría los parámetros microbiológicos y los resultados no serían realistas).

4.4.1 Caracterización inicial de las muestras de agua de salida de EDAR real

Previo a los distintos experimentos, se realizó una caracterización inicial de estas muestras, para conocer los elementos químicos y biológicos que contiene, aportando información necesaria para el diseño de los experimentos. Los distintos parámetros que se analizaron en las distintas fechas de muestreo quedan recogidos en la tabla 12:

Tabla 12. Caracterización físico-química inicial de las muestras de agua de salida de la depuradora de Tudela. Fuente: elaboración propia.

Parámetro analizado	Fecha de muestreo			
	4/07/2016	5/07/2016	20/07/2016	28/07/2016
Alcalinidad (mg CaCO ₃ /l)	220	170	225	220
Carbono orgánico total TOC (mg/l)	19	15,3	41,4	43,6
Cloruro (mg Cl ⁻ /l)	276	175	292	265
Conductividad (μS/cm)	1563	1151	1677	1515
Demanda Química de Oxígeno DQO (mg O ₂ /l)	214	155	253	223
Dureza (mg CaCO ₃ /l)	720	508	660	660
<i>Escherichia coli</i> (UFC/100 ml)	5,00E+04	1,5E+05	1,26E+05	1,42E+06
Fluoruros (mg F/l)	0,18	0,19	0,2	0,16
Fosfatos (mg PO ₄ ⁻³ /l)	4,6	6	7,1	9,8
Fósforo total (mg P/l)	14,2	18,4	21,6	30,1
Nitrato (mg NO ₃ ⁻ /l)	54	32,2	36,9	36,4
Nitrito (mg NO ₂ ⁻)	1,06	0,2	1,6	0,8
pH	7,8	7,8	7,8	7,8
Sólidos en suspensión (mg/l)	16	15	17,5	19
Sulfato (mg SO ₄ ²⁻ /l)	485	304,7	568	515
Turbidez (UNT)	16,6	18,3	10,6	11,8

Esta caracterización sirve de claro ejemplo de cómo influye el agua de entrada a las EDAR en la composición del agua de salida. Puede verse gran diferencia en cuanto a la carga orgánica (DQO y TOC) entre las dos primeras muestras y las dos segundas, probablemente debido al vertido de industrias alimentarias de la zona que incrementan su producción en los meses de verano. En cuanto al resto de parámetros podría afirmarse que en general se mantienen constantes.

4.4.2 Eliminación de cafeína a través de los procesos seleccionados

Los resultados esperados consistían en una reducción del porcentaje de eliminación de cafeína en las muestras de salida de EDAR aplicando los mismos procesos, y con las mismas condiciones de operación, debido a la complejidad de la matriz de las muestras. Esto ocurrió en todos los casos analizados (los resultados completos se adjuntan en el *Anexo II.X*), como se ve en la figura 34:

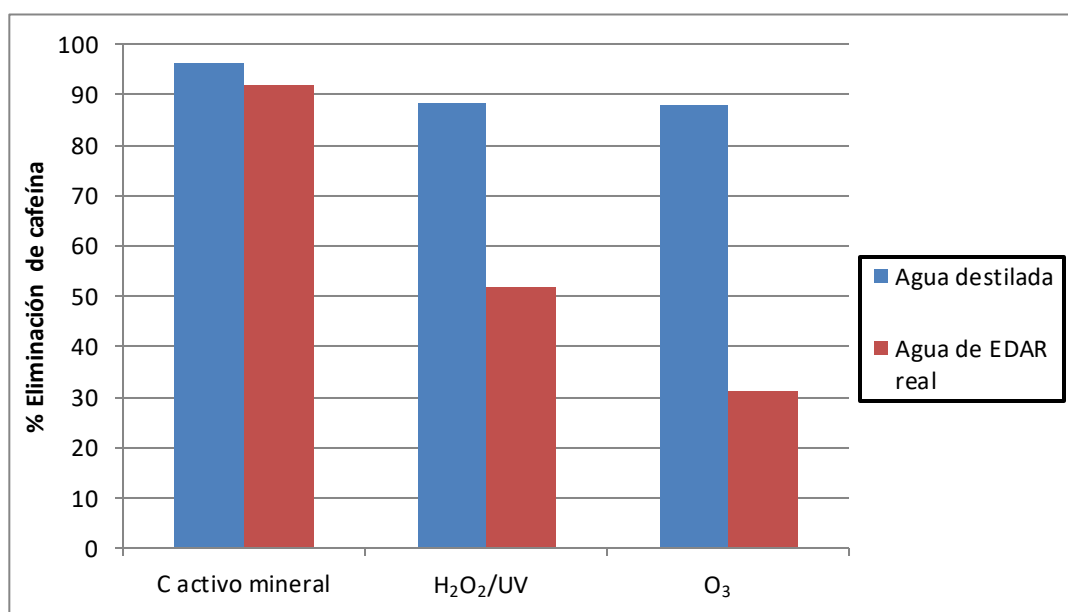


Figura 34. Comparación en la degradación de cafeína según el método aplicado. Fuente: elaboración propia.

Todos los experimentos obtuvieron porcentajes de eliminación menores con el agua de salida de EDAR que con las muestras de agua sintéticas. En el caso de la adsorción con carbón activo mineral, esta reducción fue menos notable que en los otros dos casos, debido a que el agua de salida de EDAR empleada era de buena calidad, y no contenía la cantidad de materia orgánica necesaria para obturar los poros del carbón activo y así reducir la degradación de cafeína. Pese a esta calidad inicial de la muestra, la complejidad de la matriz mostró su influencia en la eficiencia del proceso reduciendo el porcentaje de eliminación de cafeína.

En los otros dos casos, la reducción respecto a los experimentos con agua destilada fue muy elevada. En los experimentos de ozonización, el porcentaje de eliminación de cafeína se reduce a más de la mitad (de 87,9% hasta un 31,3%), ya que las moléculas de ozono ya no sólo degradan cafeína, sino que ejercen de agentes oxidantes del complejo conjunto de compuestos orgánicos presentes en la muestra.

Por otro lado, los experimentos con luz UV/H₂O₂ redujeron los porcentajes de degradación algo menos (de 88,4% hasta 51,8%), en contra de lo que indican autores

Capítulo 4: Resultados y Discusión

como Forero et al. (2005), quienes afirman que la diferencia del comportamiento en el caso de aguas sintéticas y reales no es tan marcada con este proceso y que la complejidad de las aguas reales un factor no limitante.

Esta reducción es debida a la composición del agua de salida de EDAR, ya que presenta compuestos que pueden competir o participar en las reacciones, por lo que con las mismas condiciones de operación se obtienen porcentajes de degradación menores, y si se quisiera alcanzar el mismo porcentaje de degradación (en caso de que fuera posible) se necesitaría aumentar los tiempos de tratamiento o las dosis de agentes oxidantes aplicadas. A parte de la naturaleza de los compuestos en sí, otro parámetro que afecta a la eficiencia de los procesos es la turbidez, ya que interfiere en la incidencia de los rayos UV o en el contacto de las moléculas de ozono con las sustancias a degradar, disminuyendo el porcentaje de eliminación de cafeína.

4.4.3 Variación de los parámetros contemplados en la legislación de reutilización de aguas mediante los procesos seleccionados

El Real Decreto 1620/2007 prevé 4 usos generales para aguas regeneradas, en cumplimiento a 4 parámetros básicos, que son los que fueron analizados en este apartado: turbidez, sólidos en suspensión, *Escherichia coli* y huevos de nemátodos. A modo de resumen, los criterios de calidad establecidos quedan recogidos en la tabla 13:

Tabla 13. Criterios de calidad para reutilización de aguas. Fuente: elaboración propia.

Uso del agua previsto	Valor máximo admisible (VMA)				
	Huevos de nemátodo (huevos/10L)	<i>Escherichia coli</i> (UFC/100 mL)	Sólidos en suspensión (mg/L)	Turbidez (UNT)	Otros
1. Urbano					
Calidad 1.1 Residencial	1	0	10	2	<i>Legionella spp.</i> 100 UFC/L
Calidad 1.2 Servicios	1	200	20	10	
2. Agrícola					
Calidad 2.1	1	100	20	10	<i>Legionella spp.</i> 1000 UFC/L
Calidad 2.2	1	1.000	35	Sin límite	<i>Taenia saginata</i> y <i>Taenia solium</i> 1huevo/L
Calidad 2.3	1	10.000	35	Sin límite	<i>Legionella spp.</i> 100 UFC/L
3. Industrial					
Calidad 3.1 (a, b)	Sin límite	10.000	35	15	<i>Legionella spp.</i> 100 UFC/L
Calidad 3.1 (c)	1	1.000	35	Sin límite	

Capítulo 4: Resultados y Discusión

Tabla 14. Criterios de calidad para reutilización de aguas (continuación). Fuente: elaboración propia.

Uso del agua previsto	Valor máximo admisible (VMA)				
Calidad 3.2	1	Ausencia	5	1	<i>Legionella</i> spp. Ausencia
4. Recreativo					
Calidad 4.1	1	200	20	10	<i>Legionella</i> spp. 100 UFC/L
Calidad 4.2	Sin límite	10.000	35	Sin límite	P _T 2 mg P/L
5. Ambiental					
Calidad 5.1	Sin límite	1.000	35	Sin límite	N _T : 10 mg N/L NO ₃ : 25 mg/L
Calidad 5.2	1	0	10	2	
Calidad 5.3	Sin límite	Sin límite	35	Sin límite	
Calidad 5.4	La calidad mínima requerida se estudiará caso por caso				

Para estudiar los posibles usos de las muestras de agua tras aplicar los procesos seleccionados, a modo de tratamientos terciarios, se analizaron estos cuatro parámetros, antes y después de aplicar los tres mismos procesos aplicados en el apartado anterior. La medición final se realizó tras un periodo de sedimentación (dos horas), para simular la fase de decantación que se daría en una EDAR real tras un proceso terciario. Los resultados medios obtenidos en cada experimento quedan recogidos en la siguiente tabla:

Tabla 15. Valores obtenidos para los parámetros de reutilización tras aplicar tres tratamientos de afino. Fuente: elaboración propia.

	Nemátodos intestinales	<i>Escherichia coli</i> (UFC/100 ml)	Sólidos en suspensión (mg/l)	Turbidez (UNT)
Muestra inicial	Presencia	1,26E+05	18,3	11,2
C activo	Ausencia	2,89E+05	25,0	8,7
Ozonización	Ausencia	1,31E+04	11,7	14,0
UV/H₂O₂	Presencia	1,00E+01	25,0	2,3

Analizando caso por caso, vemos como el tratamiento con carbón activo supuso una reducción de la turbidez pero un incremento de los sólidos en suspensión. En cuanto al parámetro *Escherichia coli*, aunque se ve un incremento (de 1,26E+05 a 2,89E+05) podría considerarse que no hubo aumento por el propio error intrínseco al método empleado. Habría que resaltar que el carbón activo adsorbe en su superficie las

bacterias, pero no las mata, de forma que no ejercería de agente desinfectante, como sí lo hace el peróxido de hidrógeno.

El tratamiento con luz UV/H₂O₂ mostró muy buenos resultados en cuanto a la eliminación de *Escherichia coli*, ya que durante los conteos no se detectó ninguna UFC, aunque el límite de detección del método únicamente permite afirmar que se detectaron <1,00E+01. Esto es debido a que tanto la luz UV como el peróxido de hidrógeno son potentes agentes desinfectantes, ampliamente utilizados en depuración y potabilización de aguas. Este tratamiento además redujo un 79,5% la turbidez de la muestra, resultando los valores más bajos de turbidez de todos los tratamientos. No se dio el mismo efecto de reducción con los sólidos en suspensión, que en ambas repeticiones se incrementaron respecto a la muestra inicial.

En cuanto a los experimentos con ozono, mostraron eliminación de *Escherichia coli* (aunque no tan notable como el peróxido de hidrogeno y luz UV), junto con una reducción de los sólidos en suspensión, siendo el único tratamiento que no incrementó este parámetro. Por otro lado, produjo un leve aumento de la turbidez, en torno al 25%.

Tras comparar los resultados obtenidos con los valores máximos admisibles por la legislación (tabla 13), estos serían los posibles usos del agua tratada previstos:

Tabla 16. Usos del agua propuestos para reutilización en base a los valores máximos admisibles del RD 1620/2007. Fuente: elaboración propia.

	Nemátodos intestinales	<i>Escherichia coli</i> (UFC/100 ml)	Sólidos en suspensión (mg/l)	Turbidez (UNT)	Uso del agua previsto
Muestra inicial	Presencia	1,26E+05	18,3	11,2	5.3
Carbón activo	Ausencia	2,89E+05	25,0	8,7	5.3
Ozonización	Ausencia	1,31E+04	11,7	14,0	5.3
UV/H₂O₂	Presencia	1,00E+01	25,0	2,3	3.1 (a, b), 4.2, 5.1, 5.3

Vemos como las muestras iniciales, sin someterse a ningún tratamiento, sólo podrían destinarse al uso 5.3 *Riego de bosques, zonas verdes y silvicultura*, ya que la concentración de *Escherichia Coli* supera todos los límites permitidos.

Tras aplicar el tratamiento de adsorción con carbón activo, no se mejoraría esta situación inicial, debido también a la concentración de *Escherichia Coli*, ya que este tratamiento no consiguió reducirla lo suficiente, quedando limitadas estas muestras al uso 5.3 *Riego de bosques, zonas verdes y silvicultura*.

En cuanto al tratamiento con ozono vemos como sólo permitiría de nuevo el uso 5.3 *Riego de bosques, zonas verdes y silvicultura* por la elevada concentración de *Escherichia coli*. El siguiente parámetro que limitó la proposición de otros usos fue la turbidez, ya que en este caso no se detectaron huevos de nemátodo y la concentración de sólidos en suspensión cumplía diez de los catorce usos.

Finalmente, los ensayos con luz UV y peróxido de hidrógeno, al reducir enormemente la concentración de *Escherichia Coli* y la turbidez permitían proponer un mayor número de los usos, siendo limitantes en este caso para proponer otros usos la concentración de sólidos en suspensión y la presencia de huevos de nemátodo. Se cumplirían los valores máximos admisibles de los usos 3.1 *Aguas de proceso y limpieza (a, b)*, 4.2 *Estanques y masas de agua ornamentales*, 5.1 *Recarga de acuíferos por percolación*, y 5.3 *Riego de bosques, zonas verdes y silvicultura*.

En resumen, el mejor tratamiento sería el tratamiento con luz UV y peróxido de hidrógeno, ya que permitiría destinar los efluentes tratados a un mayor abanico de posibles usos de reutilización, a excepción de los usos urbanos y agrícolas que son los más restrictivos.

Capítulo 5: Conclusiones

En primer lugar cabe destacar que los tratamientos desarrollados en este proyecto se realizaron a escala de laboratorio, y es por ello que en muchos casos habría sido recomendable realizar más repeticiones para obtener valores medios más reales, alargar los tiempos de actuación, aplicar dosis diferentes, etc., pero fueron realizados en base a los materiales, la capacidad y el tiempo disponibles. Tampoco podría asegurarse que los resultados obtenidos fueran a repetirse a escala real, pero si servirían como aproximación a ellos.

En la mayoría de experimentos que son función del tiempo, se observa una tendencia común que consiste en un elevado incremento de los porcentajes de degradación en los primeros tiempos de aplicación, que se va suavizando durante los tiempos mayores. Esto mostraría la rápida conversión inicial de cafeína en las primeras especies intermedias de degradación, por el ataque de los radicales hidroxilos, mientras que la mineralización final a CO₂ es mucho más lenta. (Dalmázio et al., 2005)

Si se hiciera una comparación en conjunto, de los mejores resultados obtenidos con cada proceso en cuanto a degradación de cafeína en muestras de agua destilada, obtendríamos la siguiente expresión:

$$C_{min}(96,2\%) > C_{veg}(95,7\%) > UV/H_2O_2(88,4\%) > O_3(87,9\%) > O_3/H_2O_2/UV(65,6\%) > O_3/H_2O_2(57,4\%) \\ > FeCl_3(24,5\%) > Al_2(SO_4)_3(10,8\%) > CaO(9,75\%) > NaOH(2,9\%)$$

La tendencia general de los tratamientos al ser aplicados en muestras de agua reales es a obtener peores resultados en la degradación de cafeína. La compleja matriz influiría en las reacciones de degradación, de forma que las sustancias que contiene pueden actuar como inhibidores o competidores de dichas reacciones. Se podría deducir por tanto que la composición de la muestra condiciona la eficacia del tratamiento. Para el caso de emplear muestras con esta matriz, la expresión global de eficiencia en la degradación de cafeína de los tres procesos aplicados sería:

$$C_{mineral}(92,1\%) > H_2O_2/UV(51,8\%) > O_3(31,3\%)$$

El mejor tratamiento sería la adsorción con carbón activo mineral, al mostrar el mayor porcentaje de eliminación cafeína tanto en muestras con agua destilada (96,2%) como en muestras de agua de salida de EDAR real (93,1%). La principal desventaja de este tratamiento es la necesidad de gran cantidad de material, y la necesidad de regenerar el carbón para volver a utilizarlo o gestionarlo como residuo tras su vida útil.

Capítulo 5: Conclusiones

Hablando en términos de reutilización, el tratamiento que más redujo los parámetros legislados fue la oxidación con luz UV y peróxido de hidrógeno, al reducir enormemente la concentración de *Escherichia Coli* y la turbidez. La problemática de este tratamiento sería el alto coste energético, ya que requiere de gran cantidad de energía a través de lámparas UV eléctricas.

Junto al coste económico, hay que destacar otro de los principales inconvenientes de los AOPs: la formación de subproductos durante las reacciones de degradación. Autores como Forero et al. (2005) afirman que en general no se forman subproductos que sea necesario tratar posteriormente. Por otro lado autores como Murillo (2014), sí consideran la formación de subproductos en estos procesos, pudiendo ser más tóxicos que las moléculas originales. Tras comprobar que los AOPs aplicados en este trabajo no consiguieron apenas mineralizar la molécula de cafeína (mostrado en los bajos porcentajes de reducción de TOC), pero sí eliminar la molécula en sí, sería conveniente posicionarse en la opinión a favor la formación de especies intermedias, aunque no se haya llegado a conocer la naturaleza de las moléculas formadas ni su posible mayor toxicidad.

Es por esto, que el tratamiento ideal sería aquel que combinara un Proceso de Oxidación Avanzada eficiente, que degradara la molécula del contaminante objetivo (tanto cafeína como cualquier contaminante orgánico de elevada persistencia en las aguas), seguido de un proceso que produjera una reducción del TOC. Un ejemplo, siguiendo los procesos abordados en este proyecto, sería aplicar una primera fase con oxidación con luz UV y peróxido de hidrógeno, de forma que se degradarían las moléculas originales y serviría a la vez de desinfección, seguida de una segunda fase de adsorción con carbón activo, que retiraría del efluente un alto porcentaje de TOC, obteniendo así una corriente tratada de buena calidad, que podría destinarse a diversos usos de reutilización.

Finalmente, aunque este proyecto no se ha centrado en términos de eficiencia económica, a la hora de seleccionar realmente un tratamiento sería importante identificar aquel que permita minimizar la concentración de sustancias contaminantes, con bajo coste económico y energético y con las instalaciones y el mantenimiento más sencillo posible, además de tener en cuenta criterios sanitarios.

Capítulo 6: Bibliografía

Agustina, T. E., Ang, H. M., & Vareek, V. K. (2005). A review of synergistic effect of photocatalysis and ozonation on wastewater treatment. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 6(4), 264-273.

Armendáriz, I., Landázuri, P., Quiña, D., & Ríos, M. (2015). *Nemátodos. Fitopatógenos y sus estrategias de control*. Universidad de las Fuerzas Armadas.

Ayres, R. M., & Mara, D. D. (1996). Analysis of Wastewater for Use in Agriculture - A Laboratory Manual of Parasitological and Bacteriological Techniques. *Who*, 35. Retrieved from http://www.who.int/water_sanitation_health/wastewater/en/labmanual.pdf

Benítez Rodas, G. A. (2013). *Análisis y Modelización de la Inactivación de Escherichia coli en Aguas Residuales*. Universidad Complutense de Madrid. Retrieved from <http://eprints.ucm.es/22907/1/T34742.pdf>

Bernabeu, A., Vercher, R. F., Santos-Juanes, L., Simón, P. J., Lardín, C., Martínez, M. A., ... Amat, A. M. (2011). Solar photocatalysis as a tertiary treatment to remove emerging pollutants from wastewater treatment plant effluents. *Catalysis Today*, 161(1), 235–240. <http://doi.org/10.1016/j.cattod.2010.09.025>

Calle Aznar, S. (2011). *Determinación analítica de la cafeína en diferentes productos comerciales*. Universidad Politécnica de Cataluña. Universitat Politècnica de Catalunya.

Centers For Disease Control and Prevention (2016): *E.coli (Escherichia coli)*. Recuperado el 5 de noviembre de 2016 en <https://www.cdc.gov/ecoli/>

Cisneros Lainez, L. (2015). *Evolución de contaminantes físico-químicos y microbiológicos durante el proceso de depuración de aguas residuales urbanas*. Escuela Politécnica Superior de Huesca. Universidad de Zaragoza.

Comninellis, C., Kapalka, A., Malato, S., Parsons, S. A., Poullos, I., & Mantzavinos, D. (2008). Advanced Oxidation Processes for Water Treatment : Advances and Trends for R & D Advanced oxidation processes for water treatment : advances and trends for R & D. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 83(February), 769–776. <http://doi.org/10.1002/jctb.1873>

Dalmázio, I., Santos, L. S., Lopes, R. P., Eberlin, M. N., & Augusti, R. (2005). Advanced oxidation of caffeine in water: On-line and real-time monitoring by electrospray

ionization mass spectrometry. *Environmental Science and Technology*, 39(16), 5982–5988. <http://doi.org/10.1021/es047985v>

Dougherty, J. A., Swarzenski, P. W., Dinicola, R. S., & Reinhard, M. (2010). Occurrence of Herbicides and Pharmaceutical and Personal Care Products in Surface Water and Groundwater around Liberty Bay, Puget Sound, Washington. *Journal Of Environmental Quality*, v. 39, p. 1173-1180

Eaton, A. D., Clesceri, L. S., Rice, E. W., Greenberg, A. E. (2005): *Standard methods for the examination of water & wastewater*. Washington, D.C.: American Public Health Association.

Environmental Protection Agency (s.f): *Powered activated carbon*. Recuperado el 20 de abril de <https://iaspub.epa.gov/tdb/pages/treatment/treatmentOverview.do?treatmentProcessId=2109700949>

Equipment for Engineering Education (2016): Adsorción con carbon activo. Recuperado el 20 de abril de https://www.google.es/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=images&cd=&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwih_ezkr6bQAhWCOhQKHSAaDNgQjB0IBg&url=http%3A%2F%2Fwww.gunt2e.de%2F5060_1.php%3Fp1%3D%26p2%3D%26pN%3D&bvm=bv.138169073,d.amc&psig=AFQjCNHTmwE0VeodJc-JCjwKacnBJ6V5hg&ust=1479148486376168

European Chemicals Agency. (2 de Febrero de 2016). *ECHA*. Recuperado el 4 de Febrero de 2016, de <http://echa.europa.eu/es/substance-information/-/substanceinfo/100.000.329>

Forero, J. E., Ortiz, O. P., & Rios, F. (2005). Aplicación de procesos de oxidación avanzada como tratamiento de fenol en aguas residuales industriales de refinería. *CT Y F - Ciencia, Tecnología Y Futuro*, 3(1), 97–110.

Gómez Muñoz, J. (2007): *Digestión Aerobia Termófila Autosostenida (ATAD) de fangos. Estudio Experimental a escala real y Modelización Matemática del Reactor*. Campus Tecnológico de la Universidad de Navarra. San Sebastián.

Grupo de Calidad y Tratamiento de Aguas (2010): *Manejo del ozonizador*. Departamento de Ingeniería Química y Tecnologías del Medio Ambiente. Universidad de Zaragoza.

Hawley, H. M.; Bradford, M.D. (2016): E.Coli infection. *Magill'S Medical Guide (Online Edition)*.

Capítulo 6: Bibliografía

Iglesias Esteban, R., & Ortega de Miguel, E. (2008). Present and future of wastewater reuse in Spain. *Desalination*, 218(1–3), 105–119. <http://doi.org/10.1016/j.desal.2006.09.031>

Instituto Nacional de Tecnologías Educativas y de Formación del Profesorado, Ministerio de Educación, Cultura y Deporte. *Banco de imágenes y sonido*. Recuperado el 4 de noviembre de 2016 en <http://recursostic.educacion.es>

ISO 9308-1:2001. Calidad del agua. Detección y recuento de *Escherichia coli* y bacterias coliformes por filtración y siembra en agar comogénico. Parte 1: Método de filtración en membrana.

Janet, M., Adriana, G., Soto, M., Iván, J., Omar, U., & Gutiérrez, D. (2012). Contaminantes emergentes en aguas , efectos y posibles tratamientos, 7(2), 52–73.

Koshland Science Museum (2007): *Coagulación Floculación*. Recuperado el 15 de marzo de <https://www.koshland-science-museum.org/water/html/es/Treatment/Coagulation-Flocculation.html>

Marques, R. R. N., Sampaio, M. J., Carrapiço, P. M., Silva, C. G., Morales-Torres, S., Dražić, G., ... Silva, A. M. T. (2013). Photocatalytic degradation of caffeine: Developing solutions for emerging pollutants. *Catalysis Today*, 209, 108–115. <http://doi.org/10.1016/j.cattod.2012.10.008>

Miguel, N., Ormad, M.P., Mosteo, R., Rodríguez, J., Ovelleiro, J.L. (2011): Influence of the activated carbon nature and the aqueous matrix on the pesticides adsorption. *Pesticides-formulation, effects, fate*. (pp 747-768). INTECH.

Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (2010): *Plan Nacional de Reutilización de Aguas*. Recuperado el 20 de abril de 2016 de http://www.mapama.gob.es/es/agua/participacion-publica/version_preliminar_pnra231210_tcm7-149085.pdf

Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. (2010). *Guía para la aplicación del R.D. 1620/2007 por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas*. Boe. Retrieved from http://www.magrama.gob.es/es/agua/temas/concesiones-y-autorizaciones/guia_rd_1620_2007__tcm7-178027.pdf

Montagner, C. C., & Jardim, W. F. (2011). Spatial and seasonal variations of pharmaceuticals and endocrine disruptors in the Atibaia River, Sao Paulo State (Brazil). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22(8), 1452–1462. <http://doi.org/10.1590/S0103-50532011000800008>

Capítulo 6: Bibliografía

Oficina Verde de la Universidad de Zaragoza (2015). *7ª Caravana Universitaria por el Clima*. Universidad de Zaragoza

Otero Calviño, N. (2006). *Filtración de aguas residuales para reutilización*. Universidad de La Laguna.

Pérez Calvo, M. del M. (2006). Tratamiento avanzado de aguas residuales para riego mediante oxidación con ozono: una alternativa ecológica. In *Congreso Nacional de Medio Ambiente. Cumbre del Desarrollo Sostenible*.

Petrovic, M., Diaz, A., Ventura, F., & Barceló, D. (2003). Occurrence and removal of estrogenic short-chain ethoxy nonylphenolic compounds and their halogenated derivatives during drinking water production. *Environmental Science and Technology*, 37(19), 4442–4448. <http://doi.org/10.1021/es034139w>

Quiñones Murrillo, D. H. (2014). *Eliminación de contaminantes emergentes del agua mediante ozonación solar fotocatalítica*. Universidad de Extremadura.

Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de reutilización de las aguas depuradas. *Boletín Oficial del Estado*, 8 de diciembre de 2007, núm. 294.

Rodriguez, T., Botelho, D., & Cleto, E. (2008). Tratamiento de efluentes industriales de naturaleza recalcitrante usando ozono, peróxido de hidrógeno y radiación ultravioleta Treatment of industrial effluents of recalcitrant nature using ozone, hydrogen peroxide and ultraviolet radiation, 24–38.

Rosal, R., Rodríguez, A., Perdígón-Melón, J. A., Petre, A., García-Calvo, E., Gómez, M. J., ... Fernández-Alba, A. R. (2009). Degradation of caffeine and identification of the transformation products generated by ozonation. *Chemosphere*, 74(6), 825–831. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.10.010>

Rubio Clemente, A., Chica Arrieta, E. L., & Peñuela Mesa, G. A. (2013). Procesos de tratamiento de aguas residuales para la eliminación de contaminantes orgánicos emergentes Processos de tratamento de águas residuárias para a remoção de contaminantes orgânicos emergentes Wastewater treatment processes for the removal of emerg. *Ambiente E Água*, 8. <http://doi.org/10.4136/1980-993X>

Seguí Amórtégui, L. A. (2004). *Sistemas de Regeneración y Reutilización de Aguas Residuales. Metodología para el Análisis Técnico-Económico y Casos*. Universidad Politécnica de Cataluña.

Semicon Synapsis (2015). *Ultraviolet Technologies*. Recuperado el 4 de noviembre de 2016 en <http://www.spectralinnovations.com/index.html>

Capítulo 6: Bibliografía

Shu, Z., Bolton, J. R., Belosevic, M., & Gamal El Din, M. (2013). Photodegradation of emerging micropollutants using the medium-pressure UV/H₂O₂ Advanced Oxidation Process. *Water Research*, 47(8), 2881–2889. <http://doi.org/10.1016/j.watres.2013.02.045>

Tanaka, T., & Morino, Y. (1970). Coriolis interaction and anharmonic potential function of ozone from the microwave spectra in the excited vibrational states. *Journal of Molecular Spectroscopy*, 33(3), 538-551.

Tortora, G.J.; Funke, B.R.; Case C.L. (2007): *Introducción a la microbiología*. 9ª Edición. Buenos Aires: Panamericana.

Torun, M., Abbasova, D., Solpan, D., & Güven, O. (2014). Caffeine degradation in water by gamma irradiation, ozonation and ozonation/gamma irradiation. *Nukleonika*, 59(1). <http://doi.org/10.2478/nuka-2014-0004>

Universidad de Cantabria (2011): ¿Qué son los radicales libres? Recuperado el 27 de octubre de <http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/biogerontologia/materiales-de-clase-1/capitulo-7.-dano-oxidativo-y-envejecimiento/7.3-bfque-son-los-radicales-libres>

UNE EN ISO 16649-1:2013. Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Método horizontal para la enumeración de *Escherichia coli* beta-glucuronidasa positivo. Parte 1: Técnica de recuento de colonias a 44°C utilizando membranas y 5-bromo-4-cloro-3-indolil beta-D-glucurónido.

UNE-EN 27888:1994. Calidad del agua. Determinación de la conductividad eléctrica.

UNE-EN ISO 7027:2001. Calidad del agua. Determinación de la turbidez.

Unión Europea. Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de octubre de 2000, por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, 22 de diciembre del 2000 núm. 327, pp. 1-73.

Unión Europea. Directiva 91/271/CEE del Consejo, de 21 de mayo de 1991, sobre el tratamiento de las aguas residuales urbanas. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, de 30 de mayo de 1991 núm. 135, pp. 40-52

Visor SigPac (s.f). Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Recuperado el 4 de noviembre de 2016 en <http://sigpac.magrama.es/fega/h5visor/>