

Trabajo Fin de Máster



Universidad
Zaragoza

ELIMINACIÓN DE ENTEROCOCOS Y PSEUDOMONAS EN AGUAS DE SALIDA DE DEPURADORA MEDIANTE PROCESOS DE COAGULACIÓN-FLOCULACIÓN Y FOTOFENTON

Realizado por:

María Morales Gonzalo

Directora: M^a Peña Ormad Melero

Máster en Introducción a la Investigación en Ingeniería Química y del
Medio Ambiente



Departamento de Ingeniería Química y Tecnologías del Medio Ambiente

Escuela de Ingeniería y Arquitectura. Universidad de Zaragoza



Escuela de
Ingeniería y Arquitectura
Universidad Zaragoza

Septiembre 2011

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría dar las gracias a...

A mis padres por su cariño, confianza y apoyo incondicional.

A José por su paciencia y comprensión en todos los aspectos desde el primer momento.

A Peña por haberme dado la oportunidad de realizar este proyecto y por su ayuda y disposición.

A Jorge por su inestimable ayuda en el día a día en el laboratorio y por los buenos momentos compartidos.

A Nati por su colaboración en el día a día.

A mis compañeros de laboratorio por toda su ayuda y apoyo.

A MICINN-FEDER por la financiación de esta investigación a través del proyecto "Regeneración de aguas depuradas mediante procesos de oxidación avanzada (CTM2008-01876/TECNO)".

ELIMINACIÓN DE ENTEROCOCOS Y PSEUDOMONAS EN AGUAS DE SALIDA DE DEPURADORA MEDIANTE PROCESOS DE COAGULACIÓN-FLOCULACIÓN Y FOTOFENTON

RESUMEN

El aumento de la población actual implica un incremento en la demanda de agua, esto ligado a la disminución que se está produciendo en los recursos hídricos provoca una necesidad de reutilizar el agua antes de su retorno al cauce hidráulico como una solución para aumentar los recursos existentes. La regeneración del agua de salida de una Estación de Depuración de Aguas Residuales (EDAR) tiene lugar en la Estación Regeneradora de Aguas Residuales (ERAR). Es el Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre, el que establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas.

Uno de los contaminantes más importantes presente en todo tipo de aguas son los agentes biológicos, como es el caso de las bacterias patógenas. Estas son un gran riesgo para el hombre ya que causan enfermedades de origen hídrico que pueden desembocar en epidemias, por lo que es necesario el control microbiológico del agua. En este trabajo se analizan dos tipos de bacterias que se emplean como indicadores de contaminación fecal, las *Pseudomonas Aeruginosas* y los *Enterococos*.

El objetivo principal de este trabajo es evaluar la aplicación del proceso avanzado de oxidación (PAO) FotoFenton y el de coagulación-floculación-decantación sobre la desinfección de aguas, más concretamente en la eliminación de *Enterococos* y *Pseudomonas*. El proceso FotoFenton se basa en la generación de radicales hidroxilo (OH^\cdot) en presencia de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) e iones ferroso (Fe^{+2}) en condiciones de pH ácido y temperaturas moderadas. La acción de desinfección se aumenta significativamente al introducir radiación UV-Visible dando lugar al proceso FotoFenton. Por otro lado, la coagulación-floculación-decantación tiene como objetivo la eliminación de los sólidos en suspensión presentes, la reducción de la turbidez y el color, llevando a cabo la clarificación del agua.

Se estudia el efecto de la dosis de la sal férrica utilizada, el tiempo de radiación, el pH del medio así como el orden de los procesos de coagulación-floculación-decantación y FotoFenton. Además se compara el efecto de estos procesos sobre los dos diferentes tipos de bacterias, los *Enterococos Gram-positivos* y las *Pseudomonas Aeruginosas Gram-negativas*.

El tratamiento más efectivo, en términos de desinfección, corresponde a aquel en el que se realiza en primer lugar el proceso de coagulación-floculación-decantación seguido del FotoFenton con una dosis de Fe^{3+} inicial de 15 mg/l, 25 mg/l de H_2O_2 , 120 minutos de radiación solar artificial y pH 5. Con estas condiciones de operación se consigue eliminar: 4,6 unidades logarítmicas de *Enterococos*, 5 unidades logarítmicas de *Pseudomonas*, 91% de sólidos en suspensión y 96% de turbidez. La eliminación de *Pseudomonas* se produce a una velocidad superior que la de *Enterococos*, las constantes cinéticas obtenidas en el estudio cinético son aproximadamente un 50% superiores para el caso de las *Pseudomonas*.

De los tres reactivos empleados, FeCl_3 , H_2O_2 y HCl, es el HCl el que supone un mayor coste ya que se añade en gran cantidad para alcanzar pH 5. Si el tratamiento se realiza a pH 7 también se eliminan parte de las bacterias del medio y la cantidad de HCl a añadir es muy inferior. Si el uso que se le va a dar al agua tratada es, por ejemplo, agrícola o recreativo; realizar el tratamiento a pH 7 produce una desinfección adecuada para tal fin y el coste final del tratamiento se ve altamente disminuido.

Índice

1.	Introducción y objetivos	9
2.	Regeneración del agua	11
2.1.	Marco legislativo	11
2.2.	Características del agua de salida de EDARs	11
2.3.	Estación regeneradora de aguas residuales (ERAR).....	12
2.4.	Eliminación de materia particulada en regeneración de aguas.....	13
2.5.	Desinfección en regeneración de aguas.....	13
2.5.1.	Tratamientos convencionales	13
2.5.2.	Procesos avanzados de oxidación: FotoFenton	14
2.5.3.	Modelo cinético de desinfección	16
3.	Procedimiento experimental.....	17
3.1.	Descripción planta piloto y preparación de las muestras	17
3.2.	Metodología analítica.....	18
3.2.1.	Parámetros físico-químicos	18
3.2.2.	Parámetros microbiológicos.....	19
3.3.	Tratamientos de desinfección a escala de laboratorio	20
3.3.1.	Ensayos de referencia	21
3.3.2.	Ensayos FotoFenton	21
3.3.3.	Ensayos combinados: CFD y FotoFenton	22
4.	Resultados y discusión.....	23
4.1.	Ensayos de referencia	23
4.2.	Ensayos FotoFenton	23
4.2.1.	Estudio de la influencia de la dosis de Fe^{3+}	23
4.2.2.	Estudio de la influencia del tiempo de radiación artificial	24
4.2.3.	Estudio de la interacción entre la dosis de Fe^{3+} y el tiempo de radiación.....	25
4.3.	Ensayos combinados: CFD y FotoFenton	25
4.3.1.	Estudio de la influencia del orden de los procesos, CFD y FotoFenton	25
4.3.2.	Estudio de la influencia del pH del medio	27
4.3.3.	Estudio de la influencia de la luz artificial y ambiental en desinfección	28
4.3.4.	Análisis estadístico de la influencia de variables en la desinfección.....	28
4.4.	Estudio cinético de desinfección.....	31
4.4.1.	Efecto del Fe^{3+}	32
4.4.2.	Efecto del pH	33
4.5.	Estudio económico	34
5.	Conclusiones.....	37
6.	Bibliografía.....	39

ANEXOS	43
Anexo I: Requisitos de calidad para aguas regeneradas	47
Anexo II: Microbiología de las aguas.....	53
Anexo III: Metodología analítica	61
Anexo IV: Metodología microbiológica	65
Anexo V: Equipos.....	71
Anexo VI: Resultados CFD	79
Anexo VII: Resultados desinfección	83

1. Introducción y objetivos

El agua es un bien escaso y valioso; utilizarla de forma racional es una obligación de todos los ciudadanos para asegurar a las próximas generaciones un mundo habitable. La mayor parte del agua que se consume se dedica a la agricultura, 79,5%. El resto, un 20%, se usa en las industrias y en los hogares. La repercusión social con respecto al uso del agua ha cambiado en los últimos años. Actualmente la población mundial es consciente de que el agua es un bien escaso, y por lo tanto mediante su reutilización se permite el incremento de recursos disponibles y se minimiza el impacto de su disposición ambiental. El aumento de la población implica un incremento en la demanda de agua, lo que ligado a la disminución que se está produciendo en los recursos hídricos provoca una necesidad de reutilizar el agua antes de su retorno al cauce hidráulico como una solución para aumentar los recursos existentes. En el año 2009 se regeneraron 530 hm³ de 3.500 hm³ de agua que se depuran al año (Iglesias, 2005).

Las aguas que se reutilizan son aguas que ya han sido sometidas a un tratamiento de depuración en las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR). Posteriormente se les somete a un tratamiento adicional o complementario que permite adecuar su calidad al uso al que vaya a destinarse. Este tratamiento tiene lugar en unas instalaciones denominadas Estaciones Regeneradoras de Aguas Residuales (ERAR), la calidad final del agua regenerada debe cumplir lo establecido en el Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas (B.O.E., 2007).

Los agentes biológicos, más concretamente las bacterias patógenas, son contaminantes muy importantes presentes en todo tipo de aguas, también en el agua depurada. Estos microorganismos son un gran riesgo para el hombre ya que son causantes de enfermedades de origen hídrico que pueden desembocar en epidemias, por lo que es necesario el control microbiológico del agua. El microorganismo de referencia más empleado es la *Eschericia Coli* que se usa como indicador de contaminación fecal. Los microorganismos indicadores son aquellos que tienen un comportamiento similar a los patógenos (concentración y reacción frente a factores ambientales y barreras artificiales), pero son más rápidos, económicos y fáciles de identificar. Una vez se ha evidenciado la presencia de grupos indicadores, se puede inferir que los patógenos se encuentran presentes en la misma concentración y que su comportamiento frente a diferentes factores como pH, temperatura, presencia de nutrientes, tiempo de retención hidráulica o sistemas de desinfección es similar a la del indicador. Asimismo; otros indicadores de contaminación fecal, también muy importantes, son los *Enterococcus sp*, los *Clostridium Perfringens*, las *Pseudomonas* o los patógenos humanos que de igual forma se encuentran presentes en el agua (Arce, 2006). La contaminación microbiológica se tiene en cuenta en el RD 1620/2007 a través del control de la bacteria *E. coli*. Para combatirla es fundamental llevar a cabo un proceso de desinfección.

El grado de desinfección de un agua depende fundamentalmente de la cantidad de materia orgánica y de la materia en suspensión presente (Lanao et al, 2007). El desinfectante más común y el más efectivo es el cloro. Sin embargo, la creciente preocupación por la generación de subproductos cancerígenos, como los trihalometanos, generados a partir de la reacción entre el cloro y la materia orgánica presente de forma natural en el agua (sustancias húmicas), está provocando su sustitución paulatina por otros agentes desinfectantes (Bueno, 1997). Con el fin de minimizar el consumo humano de estos contaminantes se han desarrollado los procesos avanzados de oxidación (PAOs). En estos procesos se emplean distintos tipos de reactivos, pero en todos ellos se generan los radicales hidroxilo (OH[•]), capaces de mineralizar los contaminantes (Glaze, 1997). Entre estos se encuentra el proceso FotoFenton, el cual es objeto de estudio en este trabajo.

Muchos de los procesos avanzados de oxidación no han pasado aún del desarrollo en planta piloto aunque se dispone ya de tecnología aplicable a efluentes industriales. La mayoría de los sistemas, de esta tecnología a nivel industrial, utilizan O_3/H_2O_2 o bien se trata de métodos basados en el uso de radiación ultravioleta (UV). La causa principal del bajo uso de los PAOs a nivel industrial está directamente relacionada con su coste económico. Los principales costes a tener en cuenta son el coste energético y el de reactivos (a mayor cantidad de materia a degradar, mayor necesidad de oxidante y tiempos de exposición más prolongados) (Lapertot et al, 2006; Rincón y Pulgarin, 2006, 2007).

En la etapa de desinfección es donde se produce la mayor eliminación de contaminación microbiológica, pero hay otros procesos en la línea de regeneración que también influyen aunque en menor grado. Uno de ellos es la etapa de coagulación-floculación-decantación, la cual se estudia en el presente trabajo y que suele utilizarse habitualmente en la regeneración del agua depurada.

El objetivo principal de este trabajo es evaluar la calidad del agua tratada con el proceso avanzado de oxidación (PAO) FotoFenton y el de precipitación química. La calidad final se analiza principalmente mediante su desinfección, en concreto en la eliminación de *Enterococos* y *Pseudomonas*. Se estudia el efecto de la dosis de la sal férrica utilizada, el tiempo de radiación, el pH del medio, así como el orden de los procesos físico-químico y FotoFenton sobre la desinfección. Las bacterias a eliminar, *Enterococos* y *Pseudomonas*, son *Gram-positiva* y *Gram-negativa* respectivamente. Por lo tanto, se comparará el efecto de los procesos y de las variables de operación sobre los dos diferentes tipos de bacterias. De este modo, el objetivo principal se desglosa en los siguientes objetivos secundarios:

1. Recopilar información bibliográfica de las poblaciones bacterianas que comúnmente se encuentran a la salida de EDARs así como sobre el tratamiento físico-químico y FotoFenton.
2. Estudiar la aplicación de los tratamientos propuestos y la influencia de los distintos parámetros implicados (concentración de hierro, tiempo de radiación, pH del medio y orden de los procesos), en la eliminación de *Enterococos* y *Pseudomonas*.
3. Optimizar la desinfección seleccionando las condiciones idóneas.
4. Efectuar un análisis de las variables más influyentes en la desinfección.
5. Realizar un estudio cinético de inactivación para *Enterococos* y *Pseudomonas*.
6. Estimar costes derivados del tratamiento.

Con la realización de este trabajo se dispone del conocimiento de todos los parámetros necesarios para realizar la regeneración del agua de salida depuradora, se tiene datos de las cantidades necesarias de reactivos así como de los costes asociados al tratamiento.

Este trabajo se ha realizado dentro del grupo consolidado de investigación aplicada "Calidad y Tratamiento de Aguas" perteneciente al IUCA (Instituto Universitario de Ciencias Ambientales) de la Universidad de Zaragoza en colaboración con NILSA. Se ha realizado en el marco del proyecto de investigación "Regeneración de aguas depuradas mediante procesos de oxidación avanzada (CTM2008-01876/TECNO)" con financiación MICINN-FEDER.

2. Regeneración del agua

2.1. Marco legislativo

Las aguas residuales tienen tres orígenes: industrial, urbano y agrícola. Las industrias suelen depurar y/o regenerar sus aguas residuales. Las de origen agrícola son difíciles de canalizar por lo que no experimentan este tratamiento, consecuentemente, las procedentes de las ciudades son las que se regeneran en las ERARs. Dichas aguas van a la estación depuradora, a su salida pueden ser vertidas nuevamente a cauce público o pueden ir a la estación regeneradora para ser reutilizadas.

La Directiva 91/271/CEE sobre tratamiento de las aguas residuales urbanas define los sistemas de recogida, tratamiento y vertido de las aguas residuales urbanas, es decir, establece las medidas necesarias que se han de adoptar para garantizar que las aguas residuales urbanas reciban un tratamiento adecuado antes de su vertido. Esta directiva impone la calidad del agua de salida de la EDAR. El agua dirigida a la estación regeneradora es sometida a un tratamiento de afino, el cual proporciona un agua final que tiene que cumplir los límites impuestos en el Real Decreto 1620/2007 (Anexo I), de 7 de diciembre, en el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas. Este RD impone limitaciones para diversos parámetros físico-químicos (turbidez y sólidos en suspensión), parámetros microbiológicos (*E. coli* y *Nematodos intestinales*) y para el caso de sustancias peligrosas las normas de calidad ambiental que deben ser cumplidas. Los microorganismos que se analizan en este trabajo son los *Enterococos* y las *Pseudomonas*. Las limitaciones impuestas en el RD dependen del uso posterior del agua: urbano, agrícola, industrial, recreativo o ambiental.

2.2. Características del agua de salida de EDARs

Las características microbiológicas y físico-químicas que generalmente presenta el agua a la salida de una EDAR, de acuerdo con la bibliografía, son las que se detallan en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Características microbiológicas y físico-químicas del agua a la salida de una EDAR

Parámetro	Valores bibliografía	Referencia
<i>Escherichia Coli</i> (UFC/100ml)	$3,16 \cdot 10^4 - 2,51 \cdot 10^5$	Folch et al, 2008
<i>Enterococcus Faecalis</i> (UFC/100ml)	$7,30 \cdot 10^3 - 1,80 \cdot 10^4$	Kadam et al, 2008
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i> (UFC/100ml)	$6,40 \cdot 10^4 - 2,80 \cdot 10^5$	Kadam et al, 2008
Sólidos en suspensión (mg/l)	5,6 - 92,2	Folch et al, 2008
Turbidez (NTU)	3 - 54,2	Folch et al, 2008

Las características microbiológicas del agua vienen regidas por la población de microorganismos acuáticos que alberga y que afectan de un modo muy importante a su calidad. Algunos de estos microorganismos pueden dañar de forma más o menos grave la salud humana, tanto por sí mismos como mediante la producción de toxinas durante su ciclo vital, dando lugar a las denominadas enfermedades de transmisión hídrica. La forma más peligrosa de contaminación de agua es la que se produce, a través de la transmisión fecal-oral, mediante la cual un microorganismo patógeno eliminado en las heces humanas o de animales contamina el medio acuático y luego es ingerido. Los microorganismos más numerosos que pueden albergar las diferentes masas de agua existentes en nuestro planeta se pueden clasificar en bacterias, protozoos y virus (Guimaraes et al, 2001; Tortor, 1993) (Anexo II).

El tipo de microorganismo analizado en este trabajo, *Enterococos* y *Pseudomonas*, se clasifica dentro del grupo de bacterias. Las bacterias son microorganismos procariotas, en general de menor tamaño que los organismos eucariotas, pero mayores que los virus. En función de la naturaleza y tipo de pared celular se pueden agrupar en dos grandes divisiones: *bacterias Gram-positivas*, que sintetizan una pared celular de una capa; *bacterias Gram-negativas*, que poseen una pared celular con al menos dos capas estructuralmente distintas. Las bacterias *Gram-positivas* pueden ser aerobias o anaerobias. Para clasificar las bacterias en *Gram-positivas* y *Gram-negativas*, se usa un tipo de tinción especial, la tinción de Gram, que sirve para poner de manifiesto la estructura de la pared celular del individuo (EPA, 1999).

2.3. Estación regeneradora de aguas residuales (ERAR)

El proceso de regeneración es necesario para que sea posible la reutilización del agua. Sus características, entre ellas las microbiológicas y las físico-químicas, se deben adecuar según su uso a lo establecido por el Real Decreto 1620/2007. Este proceso consiste en someter a las aguas depuradas a un tratamiento posterior adicional o complementario. Este proceso tiene lugar en las instalaciones denominadas Estaciones Regeneradoras de Aguas Residuales (ERAR). En la actualidad existen distintas tecnologías de regeneración de aguas residuales. Por un lado están los tratamientos intensivos como por ejemplo: filtros de anillas, biodiscos, bioreactores de membrana y sistemas físico-químicos. Por otro lado, destacar las tecnologías de filtración: filtros de membrana, microfiltración, ultrafiltración, nanofiltración, osmosis inversa, etc. Por último las encargadas de la desinfección: cloración, UV, ozonización, dióxido de titanio, etc. Debido a esta gran diversidad existen muchos tipos de ERAR (Bourrouet et al, 2001; Guerrero et al, 2003; Koning, 2006).

El tratamiento más extendido en España es: físico-químico + decantación + filtro de arena + desinfección (Cl_2) (Jordán, 2008). El efluente es captado a la salida de los decantadores secundarios de la EDAR municipal, pasa a través de una cámara de coagulación - floculación con decantación laminar, posteriormente por unos filtros de arena y finalmente llega a la balsa de cloración. En la Figura 2.1. se puede observar un esquema típico de una Estación de Regeneración de Aguas.

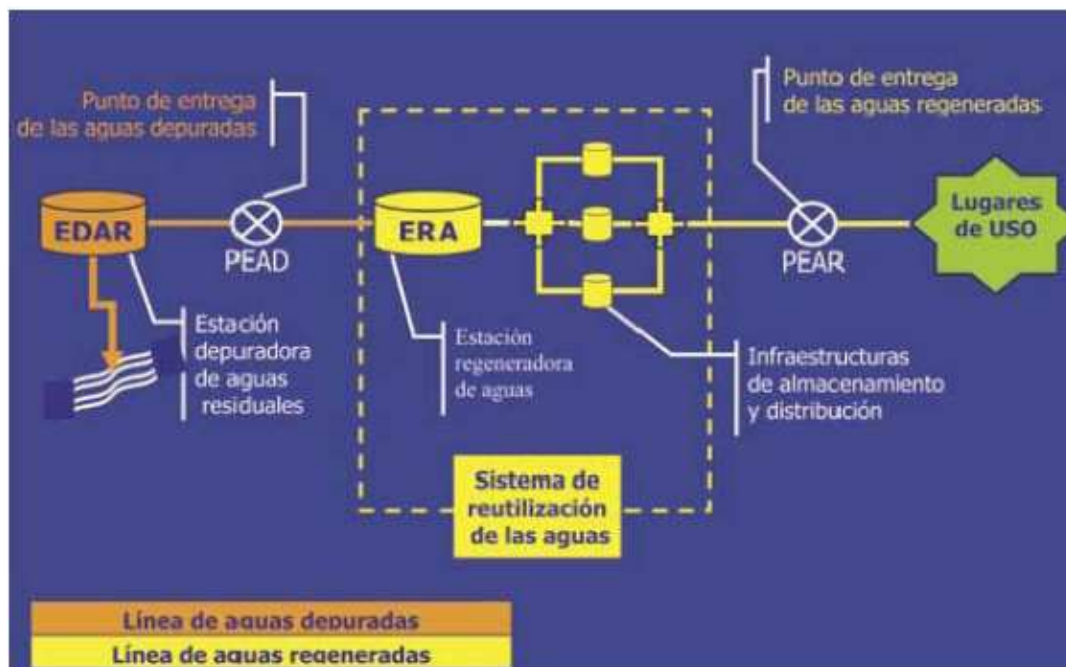


Figura 2.1. Esquema de regeneración de aguas residuales (Fuente: www.mma.es, 2011)

2.4. Eliminación de materia particulada en regeneración de aguas

Las aguas de salida de las EDARs contienen generalmente mayor cantidad de materia particulada y turbidez (Tabla 2.1.) que la que se indica en el RD 1620/2007, por lo que es necesario la eliminación de esta materia para poder utilizarla.

La eliminación de la materia particulada presente en el agua se lleva cabo mediante el proceso de precipitación química el cual consiste en la coagulación-floculación-decantación (CFD) de la misma. La pequeña dimensión de las partículas coloidales presentes en un agua, así como la existencia de cargas negativas repartidas en su superficie, dan lugar a una gran estabilidad de las suspensiones coloidales por lo que es necesario desestabilizarlos para poder eliminarlos y ahí es donde entran en juego los coagulantes.

En el campo del tratamiento de aguas, la coagulación es, por definición, el fenómeno de desestabilización de las partículas coloidales, que puede conseguirse especialmente por medio de la neutralización de sus cargas eléctricas. Se llama coagulante al producto utilizado para esta neutralización, los más comunes son el sulfato de aluminio, el cloruro de hierro o la cal. Siendo el más utilizado en la regeneración el cloruro de hierro, FeCl_3 , por su alta y probada eficacia además de su menor coste. La agrupación de las partículas descargadas, al ponerse en contacto unas con otras, constituye la floculación, que da lugar a la formación de flóculos capaces de ser retenidos en una fase posterior del tratamiento del agua. Algunos productos pueden favorecer la formación del flóculo; a éstos se les llama floculantes. La separación sólido-líquido, del flóculo formado y del agua, puede hacerse por filtración, por decantación o flotación, seguidas o no de filtración.

La Tabla 2.2. muestra los valores numéricos más comunes de los parámetros del proceso según la bibliografía consultada (González et al, 2006).

Tabla 2.2. Parámetros operacionales del proceso de CFD

Proceso	Tiempo (minutos)	Velocidad (r.p.m.)
Coagulación	2 – 5	150 – 300
Floculación	10 – 15	30 – 50
Decantación	15 – 30	-

2.5. Desinfección en regeneración de aguas

Las aguas de salida de las EDARs poseen una mayor concentración de microorganismos (Tabla 2.1.) que la que se indica en el RD 1620/2007, por lo que es necesario su desinfección.

2.5.1. Tratamientos convencionales

UV → La aplicación de luz ultravioleta es muy empleada como técnica de desinfección en la regeneración del agua residual. Las principales ventajas son, entre otras, una insignificante formación de subproductos durante la desinfección, y que no afecta al sabor ni al olor del agua tratada. Como desventajas destacar que es una tecnología cara y que se trata de un método de desinfección sin efecto residual. Además, la presencia de materia particulada disminuye la efectividad de este tratamiento ya que esta produce sombras en el agua a tratar impidiendo que la luz UV llegue a todo el volumen (Pedro, 2010).

Cl_2 → El desinfectante más común y el más efectivo es el cloro. Sin embargo, la creciente preocupación por la generación de subproductos cancerígenos, como los trihalometanos, generados a partir de la reacción entre el cloro y la materia orgánica presente

de forma natural en el agua (sustancias húmicas), está provocando su sustitución paulatina por otros agentes desinfectantes (Bueno, 1997; Richardson et al, 2007).

Con el fin de buscar técnicas alternativas que minimicen el consumo humano de los trihalometanos y con elevado grado de desinfección, se han desarrollado los Procesos Avanzados de Oxidación (PAOs).

2.5.2. Procesos avanzados de oxidación: FotoFenton

Los Procesos Avanzados de Oxidación (PAOs) se basan en su capacidad de generar radicales hidroxilo in-situ (OH^\cdot) (Glaze, 1997), especie con un elevado potencial de oxidación, mediante la combinación de un agente oxidante con un catalizador y/o radiación UV. Estos radicales OH^\cdot son capaces de oxidar muchos compuestos orgánicos de forma no selectiva y con altas velocidades de reacción. Esta propiedad es aprovechada para conseguir la completa mineralización de los contaminantes o su degradación en sustancias más fácilmente biodegradables y atacar a los microorganismos y contaminantes orgánicos presentes. Estos radicales tienen un mayor potencial estándar de oxidación si se compara con otros oxidantes, como el Cl_2 (Tabla 2.3.) (Esplugas et al, 2002).

Tabla 2.3. Potenciales estándar de oxidación

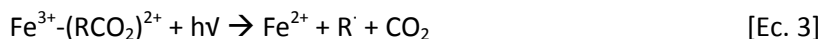
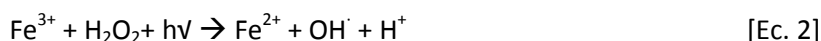
Especie	F_2	OH^\cdot	O atómico	O_3	H_2O_2	MnO_4^{2-}	Cl_2	ClO_2
E_0 (V, 25°C)	3,03	2,80	2,42	2,07	1,76	1,67	1,36	1,15

La principal ventaja de estos procesos es que consiguen una completa mineralización y no forman, o lo hacen en baja concentración, subproductos de reacción. La gran desventaja que presentan son los altos costes de operación, son relativamente altos en comparación con los tratamientos convencionales (Murray et al, 2004; Yuranova et al, 2006).

El PAO que se estudia en este trabajo es el FotoFenton, el cual es la unión del Fenton y la irradiación de luz. En el proceso Fenton se forman radicales hidroxilo (OH^\cdot) según la reacción (Fenton, 1894; Walling, 1975):



Durante el proceso Fenton, los iones Fe^{3+} se acumulan en el sistema, ralentizando la cinética de la reacción, sin embargo, esta puede aumentarse mediante irradiación de luz visible y luz UV (Kiwi et al, 1993).



El ion Fe^{3+} acumulado se reduce a Fe^{2+} y así este vuelve a reaccionar con el peróxido generando radicales hidroxilo en un ciclo continuo. Tanto la luz UV como la luz solar se utilizan como fuentes de radiación, siendo esta última la más empleada al disminuir los costes del tratamiento (Barb et al, 1949, 1951a, 1951b). En la actualidad se emplean fotorreactores sin concentración de luz. Éstos presentan un menor coste, estructura simple y fácil instalación necesitando poca mano de obra en operación y mantenimiento. Sin embargo, su diseño no es sencillo por requerir resistencia a la intemperie, elevada transmitancia en el UV y operar a elevadas presiones.

Este proceso ocasiona daños en las actividades vitales de las células (Figura 2.2.), ya que se cataliza la producción de especies reactivas de O_2 (Al-Hayek y Doré, 1985).

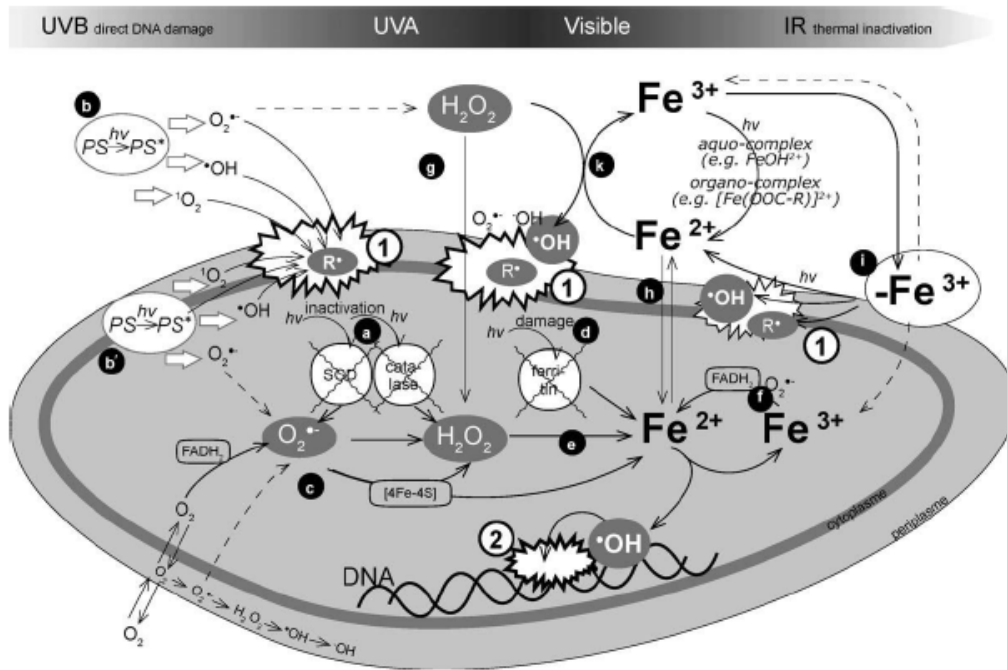


Figura 2.2. Efecto de la reacción Fenton en la célula (Spuhler et al, 2010)

En este proceso hay una serie de variables críticas en la efectividad del sistema:

- Estado del hierro, $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$: El más utilizado es el Fe^{2+} , pero el Fe^{3+} también se puede utilizar como catalizador, aunque su eficacia es inferior a la del Fe^{2+} . Si se adiciona Fe^{3+} este evoluciona espontáneamente a Fe^{2+} consumiendo H_2O_2 ($\text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{HO}_2\cdot + \text{H}^+$). El catalizador se suele dosificar previamente al peróxido de hidrógeno, procurando su total disolución. Se puede añadir en estado sólido o líquido (Martínez et al, 2007).
- Concentración de reactivos, $\text{Fe}^{3+} \text{ ó } \text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$: Un exceso de uno u otro reactivo puede afectar de forma negativa al sistema (Wang y Lemley, 2002).
- Temperatura: La reacción de oxidación Fenton es exotérmica. La velocidad de oxidación aumenta con el incremento de la temperatura. A presión atmosférica si se sobrepasan los 40°C se descompone el peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua; y la velocidad de la reacción disminuye drásticamente (Martínez y López, 2001).
- pH: El pH óptimo se encuentra entre 3-4. Un pH inferior frena la reacción porque es más estable el ión férrico y puede descomponerse el reactivo peróxido, mientras que a valores de pH superiores puede precipitar hidróxido férrico y también puede descomponerse el reactivo peróxido (Szyprkowicz et al, 2001; Malato et al, 2009).
- Matriz acuosa: La presencia de iones inorgánicos como Cl^- , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , etc (X) puede interferir en el proceso consumiendo radicales hidroxilo ($\text{HO}\cdot + \text{X} \leftrightarrow \text{HOX} \leftrightarrow \text{X} \leftrightarrow \text{X}_2^{\cdot-}$).
- Agitación: La agitación favorece que el medio de reacción esté en contacto con el aire oxigenándose mejor, lo que desencadena la auto-oxidación de las flavoproteínas celulares (FADH_2) que provoca la liberación de Fe^{2+} celular y la formación de nuevos radicales hidroxilo, viéndose favorecida la desinfección (Malato et al, 2009; Spuhler et al, 2010).
- Fuente de radiación: Este proceso puede darse en oscuridad total (Fenton estricto), con luz ambiental (Fenton) o en presencia de una fuente de luz (FotoFenton). En numerosos estudios realizados se ha comprobado que el proceso FotoFenton es más efectivo que el Fenton (Blanco, 2009). El tipo de luz empleada también influye, cuanto mayor energía posea la radiación más se favorece el proceso de oxidación. La radiación de mayor energía corresponde

a la UV-C que es la responsable de los daños en el ADN celular, mientras que las UV-A y la UV-B son absorbidas por los cromóforos celulares pudiendo resultar letales así como mutagénicas (Malato et al, 2009) (Figura 2.3.).

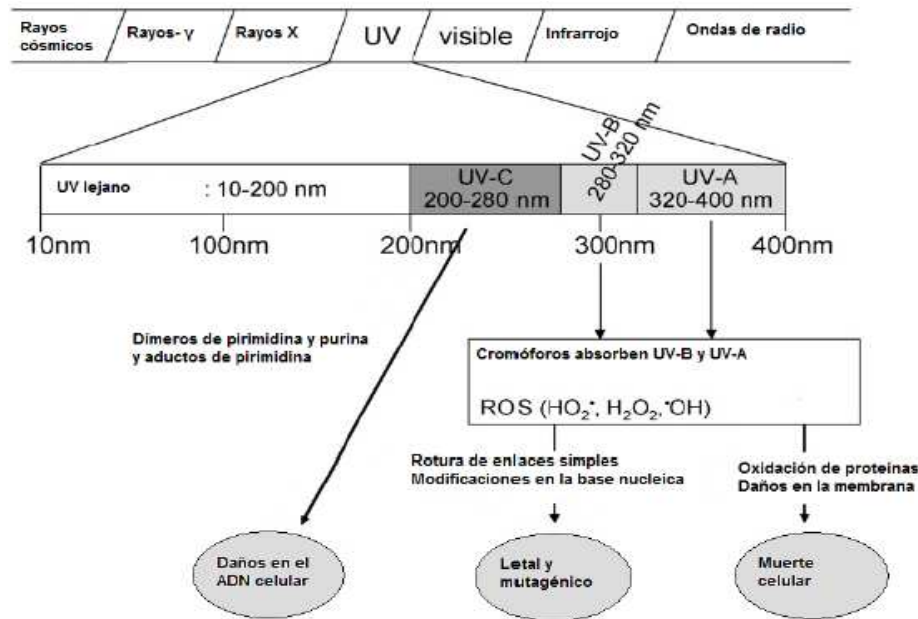


Figura 2.3. Daños de la radiación UV sobre las células

2.5.3. Modelo cinético de desinfección

Un modelo cinético de desinfección es una idealización simplificada de un proceso complejo en que participan diferentes fenómenos químicos, biológicos e hidráulicos. Con él se consigue obtener una expresión matemática que facilita el diseño adecuado de un sistema de desinfección. Existen distintos modelos cinéticos de desinfección pero, para simplificar, en este trabajo se limitan a dos: Chick y Chick-Watson.

El modelo cinético de Chick (1908), un modelo lineal y simple, supone que la concentración del desinfectante no se ve alterada significativamente durante el transcurso de la desinfección al encontrarse este en gran exceso, y por lo tanto la reacción podía ser de primer orden (Lambert et al, 1999; Regalado, 2008).

$$\frac{dN}{dt} = -kN \rightarrow \ln \frac{N_t}{N_0} = -kt \quad [\text{Ec. 5}]$$

Siendo N_0 la concentración inicial de microorganismos y N_t la concentración de microorganismos presentes en un tiempo t .

El modelo cinético de Chick fue modificado por Watson dando lugar al modelo Chick-Watson. Watson pensaba que era posible incorporar el efecto de la concentración de desinfectante sobre la velocidad de reacción. Pensó que existía una relación estequiométrica entre los reactivos, es decir entre el número de microorganismo y el número de moléculas de desinfectante necesarias para inactivarlos (Lambert et al, 1999; Regalado, 2008). La velocidad de reacción viene dada por la siguiente ecuación de orden distinto de uno:

$$\frac{dN}{dt} = -kCN \rightarrow \ln \frac{N_t}{N_0} = -kC^n t \quad [\text{Ec. 6}]$$

Siendo C la concentración inicial de desinfectante y n la relación estequiométrica entre los reactivos.

3. Procedimiento experimental

3.1. Descripción planta piloto y preparación de las muestras

Para la realización de los experimentos de regeneración del agua depurada se necesita agua de salida de depuradora. Conseguirla diariamente supondría un elevado consumo de tiempo, por lo que se instaló en el laboratorio del grupo de Calidad y Tratamiento de Aguas del departamento de Ingeniería Química y Tecnologías del Medioambiente una planta piloto de lodos activos como la que se puede ver en la Figura 3.1. La planta consta de un reactor biológico y un decantador, con un volumen de 3 l y 2 l respectivamente. El reactor tiene un sistema de aireación y agitación que suministra el oxígeno necesario a las bacterias encargadas de la depuración, además de homogeneizar los fangos activados. Las reacciones de oxidación y de síntesis celular aeróbicas se pueden expresar de forma genérica, como se puede ver a continuación:

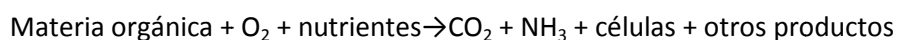


Figura 3.1. Planta piloto de lodos activos

El reactor es alimentado por agua residual sintética de caudal aproximado 1 l/h. A continuación pasa a un decantador donde se separa el fango biológico del agua. Parte de este se extrae del sistema y se recircula al reactor para mantener una concentración de microorganismos adecuada en él, obtenidos de una EDAR real, aproximadamente entre 3.000 - 3.500 mg/l. El agua clarificada rebosa en el decantador y se recoge en una garrafa. El agua sintética de trabajo se prepara con agua destilada y los reactivos presentes en la Tabla 3.1. obtenidos en la Directiva 82/243/CEE (DOCE, 1982).

Tabla 3.1. Composición del agua sintética que alimenta la planta piloto de lodos activos

Reactivo	Glucosa	Peptona de carne	Extracto de carne	Urea $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	NaCl	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
mg/l de agua	200	160	110	30	7	4

La Tabla 3.2. muestra las características microbiológicas y físico-químicas del agua de salida de la planta piloto. Si estos datos se comparan con los que presenta un agua a la salida de una EDAR real según la bibliografía consultada (Tabla 2.1.) se observa que ambos son muy similares.

Tabla 3.2. Características microbiológicas y físico-químicas del agua de salida de la planta piloto

Parámetros	Agua de salida de la planta piloto
<i>Enterococos</i> (UFC/100ml)	$4,83 \cdot 10^3 - 2,05 \cdot 10^5$
<i>Pseudomonas</i> (UFC/100ml)	$1,67 \cdot 10^5 - 2,83 \cdot 10^7$
Sólidos en suspensión (mg/l)	28 – 35
Turbidez (NTU)	80 – 300
pH	7 – 8

El agua de salida de la planta piloto es congelada por lo que gran parte de los microorganismos mueren debido a las extremas temperaturas, en consecuencia se considera necesario aumentar de manera artificial esa población para poder apreciar la reducción a lo largo de los experimentos realizados. A este proceso se le denomina fortificación de la muestra y es similar para ambas bacterias. La muestra fortificada contiene una población bacteriana de aproximadamente 10^5 - 10^7 UFC/100ml de cada una de las bacterias.

La fortificación se lleva a cabo a partir de la cepa madre de cada bacteria que se mantiene congelada para su conservación. Para poder disponer de cultivo bacteriano joven, se descongela la cepa madre y se realiza una siembra en superficie en agar nutritivo. Estas placas se incuban en la estufa a una temperatura de $35 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2$ durante $24\text{h}-48\text{h} \pm 2$ para el caso de los *Enterococos*, y durante $48\text{h} \pm 2$ para las *Pseudomonas*. Una vez incubadas, se prepara una suspensión bacteriana concentrada transfiriendo colonias a un tubo con suero fisiológico, NaCl 0.9%, el cual ha sido previamente esterilizado en el autoclave. El número de colonias a transferir se calcula en relación a la turbidez que presenta esta suspensión. Conocida la turbidez necesaria de la suspensión bacteriana concentrada, se procede a añadir dicha suspensión al agua a tratar (Anexo IV).

3.2. Metodología analítica

3.2.1. Parámetros físico-químicos

La Tabla 3.3. muestra los parámetros físico-químicos utilizados en la caracterización de las muestras, la metodología analítica y la instrumentación usada (Anexo III).

Tabla 3.3. Parámetros físico-químicos analizados en el agua

Parámetro	Instrumento	Marca	Modelo	Error	Método normalizado
pH y temperatura	pH-metro	Crison	GLP 21	$\leq 0.02 \text{ pH}$ $\leq 0,3^\circ\text{C}$	4500-HB Standard Methods
Turbidez	Turbidímetro	Hanna	LP 2000	0,2 NTU	ISO 7027 Internacional Standards
Sólidos en suspensión	Fotómetro multiparamétrico	Hach Lange	DR 2800	-	2540D Standard Methods
Conductividad	Conductímetro	Crison	Basic 30	$\leq 0.5^\circ\text{C}$	UNE-EN 27888:1994
Fe	Fotómetro multiparamétrico	Hanna	HI 83099	0,01mg/l	315B, Phenantrolina Method, EPA

3.2.2. Parámetros microbiológicos

Equipos

La Tabla 3.4. muestra los equipos utilizados durante la experimentación microbiológica (Anexo V).

Tabla 3.4. Equipos utilizados durante el proceso de experimentación

Instrumento	Función	Marca	Modelo
Estufas de cultivo	Cultivo bacteriológico	J.P. Selecta	INCUDIGIT 36 L
Autoclave¹	Esterilización del material	J.P Selecta	437-P
Microscopio óptico	Pruebas de confirmación bacteriológicas	Zeiss	Axiostar Plus
Equipo de filtración por membranas	Análisis microbiológico de grandes volúmenes	Millipore	Sistema Microfil
Cámara solar	Tratamiento FotoFenton	Atlas	Suntest CPS+/XLS
Cabina de flujo laminar	Esterilización del material	Cruma	670-FL

¹ Todo el material de vidrio y los medios de cultivos son esterilizados en el autoclave a 121°C y a 1 bar de presión durante 15 minutos.

Medios de cultivo

Los medios de cultivo empleados se muestran en la Tabla 3.5. Un medio de cultivo consiste en un gel o una solución que cuenta con los nutrientes necesarios para permitir (bajo condiciones favorables de pH y temperatura) el crecimiento de virus, microorganismos, células o incluso pequeñas plantas. Según qué se quiera hacer crecer, el medio requerirá unas u otras condiciones. La composición y la preparación de los medios de cultivo citados se detallan en el Anexo IV.

Tabla 3.5. Medios de cultivo empleados en la experimentación

Medio de cultivo	Marca	Selectivo	Tiempo incubación (h)	Temperatura incubación (°C)
Agar Nutritivo	Scharlau	Recuperación de todo tipo de microorganismos	En función del microorganismo	En función del microorganismo
Agar base Slanetz & Bartley	Scharlau	<i>Enterococcus sp.</i>	24h-48h ± 4h	35°C ± 2,0
Agar Centrimide	Scharlau	<i>Pseudomonas Aeruginosas</i>	48h ± 4h	35°C ± 2,0

Métodos de siembra

Los métodos de siembra que se utilizan son los mismos para las dos bacterias, cambiando únicamente el medio de cultivo y las condiciones de incubación (Tabla 3.5.). Los métodos de siembra son el método de filtración de membrana, para los casos en los que la población bacteriana no sea muy elevada, y el método de siembra en superficie, cuando esta población sea mayor. Estos métodos de siembra, se detallan en mayor profundidad en el Anexo IV.

Recuento de colonias

Tras la siembra y el proceso de incubación se procede al recuento de las colonias supervivientes de cada bacteria presentes en las placas para poder cuantificar la eficacia de los distintos procesos estudiados. Para el caso de los *Enterococos*, el método utilizado está descrito en la Norma Española UNE-EN ISO 7899:2 “Detección y recuento de *Enterococos intestinales*”. Las colonias se presentan de color granate, cóncavas y brillantes, tal y como se aprecia en la Figura 3.2. En el caso de las *Pseudomonas*, el método utilizado está descrito en la

Norma Española UNE-EN ISO 7899:2 “Detección y recuento de *Pseudomonas Aeruginosas*”. Las colonias son de color amarillo claro, cóncavas y brillantes, Figura 3.3.

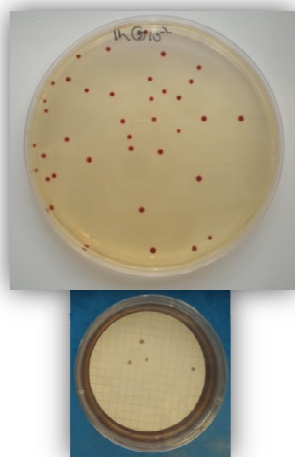


Figura 3.2. Placas con *Enterococos*

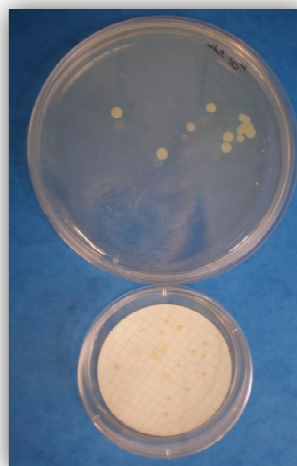


Figura 3.3. Placas con *Pseudomonas*

Los métodos de recuento en placa son indirectos, ya que se basan en el recuento de colonias en la superficie de la placa, y no en el número real de bacterias. Se cuentan las placas que comprenden un número de colonias entre 30 y 300 UFC después de la incubación. Se asume que cada bacteria viable forma una colonia individual. Las unidades en las que se expresa el resultado son UFC (unidades formadoras de colonias). Como la legislación está dada en UFC/100 ml, ya que se considera 100 ml como el volumen de referencia, se tiene que calcular el resultado obtenido en dichas unidades, aunque el volumen utilizado no sea de 100 ml. Hay que destacar que por cada muestra se suelen filtrar varios volúmenes distintos de la misma e incluso diluciones, porque con frecuencia el número de bacterias es tan alto que impide un recuento adecuado de colonias si se filtraran 100 ml directamente.

Una vez obtenidos los recuentos bacterianos para los distintos experimentos, se calcula el grado de eliminación de bacterias para así determinar la eficacia del método utilizado. Esta eliminación se define de la siguiente forma:

$$\text{Eliminación} = \log \left(\frac{N_t}{N_o} \right) \quad [\text{Ec. 7}]$$

Siendo:

N_t : Población de bacterias existente en el instante de tiempo t .

N_o : Población inicial de bacterias.

3.3. Tratamientos de desinfección a escala de laboratorio

Para una mejor comprensión, los experimentos se dividen en tres tipos: ensayos de referencia, ensayos FotoFenton y ensayos combinados de CDF y FotoFenton. Es necesario que todo el material que se utiliza durante los tratamientos se encuentre esterilizado. Con la excepción del material que se suministra estéril, el material de vidrio debe ser esterilizado conforme a las instrucciones dadas en la Norma ISO 8199. La adición del H_2O_2 establece el inicio de la reacción del proceso FotoFenton, por lo tanto se toma dicho instante como el tiempo cero del tratamiento. Para simular los casos en los que existe radiación solar artificial, se utiliza la cámara solar de la marca Atlas y modelo Suntest CPS+/XLS, cuyo funcionamiento se detalla en el Anexo VI.

En este trabajo se analiza con especial detalle la influencia de tres variables: el pH del medio, el tiempo de exposición a la radiación artificial y la realización del proceso de CFD

previo al FotoFenton. Por lo que, de forma complementaria, se lleva a cabo un análisis estadístico de los resultados obtenidos con los ensayos combinados indicados en la Tabla 3.6; con el programa informático Statgraphics. Con este análisis se puede obtener las variables más influyentes, así como las interacciones entre ellas.

Tabla 3.6. Datos del análisis estadístico

Variables	Valores
pH	5 – 7
Tiempo luz artificial (min)	30 - 210
CFD previa	Si -No

3.3.1. Ensayos de referencia

Los ensayos de referencia realizados consisten en estudiar la influencia de dos variables de forma independiente en el proceso FotoFenton, el uso único del H_2O_2 y el de la radiación solar artificial. La Tabla 3.7. muestra las condiciones de operación de los ensayos de referencia realizados, todos ellos por triplicado (Anexo VII).

Tabla 3.7. Condiciones de operación de los experimentos de referencia

	Exp.	Fe^{3+} FotoFenton (mg/l)	H_2O_2 (mg/l)	Radiación	t (minutos)	pH
Referencia	1	-	25	Oscuridad	30, 60, 90, 120, 165,210	5
	2	-	-	Artificial	30, 60, 90, 120, 165,210	5

3.3.2. Ensayos FotoFenton

En la Tabla 3.8. se muestran los experimentos realizados del proceso FotoFenton cuyo objetivo es analizar la influencia de la dosis de Fe^{3+} , del tiempo de exposición a la luz solar artificial y la interacción entre ambos en la eliminación de *Enterococos* y *Pseudomonas*. Todos los ensayos se realizan por triplicado (Anexo VII).

El pH juega un papel clave en la eficacia de las reacciones FotoFenton. Para lograr la máxima eficacia en estos tratamientos es preciso tener un pH ácido, pero a ese pH es imposible cuantificar el efecto del tratamiento sobre la desinfección puesto que las bacterias no sobreviven a valores de pH tan bajos (Carlberg, 2005). Por eso se emplea el pH mínimo a partir del cual no se ven afectados los microorganismos, pH 5 (Louwen, 2010).

Tabla 3.8. Condiciones de operación de los experimentos FotoFenton

	Exp.	Fe^{3+} FotoFenton (mg/l)	H_2O_2 (mg/l)	Radiación	t (minutos)	pH
FotoFenton	1	1,5	25	Artificial	30	5
	2	2	25	Artificial	30	5
	3	3	25	Artificial	30	5
	4	4	25	Artificial	30, 60, 90, 120, 165,210	5
	5	5	25	Artificial	30, 60, 90, 120, 165,210	5
	6	10	25	Artificial	30, 60, 90, 120, 165,210	5
	7	15	25	Artificial	30, 60, 90, 120, 165,210	5

3.3.3. Ensayos combinados: CFD y FotoFenton

Ensayos de precipitación química (CFD)

El proceso de CFD, se realiza antes o después del FotoFenton en los ensayos combinados. El objetivo de estos ensayos es determinar la influencia de este proceso en la desinfección, así como el efecto de su realización como etapa previa o posterior al FotoFenton en la eliminación de *Enterococos*, *Pseudomonas*, sólidos en suspensión y turbidez.

En la CFD se utiliza como coagulante el FeCl_3 . Los pHs estudiados son 5 y 7 los cuales se alcanzan con Ca(OH)_2 o HCl , respectivamente. Se ha seleccionado pH 5 al ser el adecuado para el proceso FotoFenton y pH 7 por ser el pH natural del agua de salida de depuradora y el óptimo para la CFD (Morales, 2010). Las características de los reactivos empleados se muestran en la Tabla 3.9.

Tabla 3.9. Características de los reactivos empleados en la CFD

Reactivo	Marca comercial	Concentración de la disolución
FeCl_3	Cinca S.A.	30%
Ca(OH)_2	Panreac	Lechada de cal
HCl	Hermanos Adiego	30%

La dosis de Fe^{3+} empleada son 15 mg/l (Morales, 2010), tanto si el proceso es previo o posterior al FotoFenton. Tras la CFD la cantidad de hierro presente en el medio es de aproximadamente 0,4 mg/l (Anexo VI), si la cantidad a analizar es superior a esta es necesario añadirlo de forma adicional. La muestra de agua se coloca en el equipo Jar-Test, de la marca comercial SBS, y se le somete al proceso de CFD indicado en la Tabla 3.10.

Tabla 3.10. Parámetros operacionales del proceso coagulación - floculación

Proceso	Tiempo (min)	Velocidad (r.p.m)
Coagulación	3	200
Floculación	15	40
Decantación	30	-

Ensayos combinados

En la Tabla 3.11. se muestran los experimentos combinados de los procesos de CFD y FotoFenton cuyo objetivo es analizar la influencia del orden de estas etapas, del pH de trabajo, de la dosis de Fe^{3+} y del tiempo de exposición a la luz artificial o ambiente en la eliminación de *Enterococos* y *Pseudomonas*. Todos los ensayos se realizan por triplicado (Anexo VII).

Tabla 3.11. Condiciones de operación de los experimentos combinados

	Exp.	$\text{Fe}^{3+}_{\text{DFD}}$ (mg/l)	$\text{Fe}^{3+}_{\text{FotoFenton}}$ (mg/l)	H_2O_2 (mg/l)	Radiación	t (minutos)	pH
CFD + FotoFenton	1	15	0,4	25	Artificial	30, 60, 90, 120, 165,210	5
	2	15	0,4	25	Artificial	30, 60, 90, 120, 165,210	7
	3	15	5	25	Ambiente	30, 60, 90, 120, 165,210	5
	4	15	0,4	25	Ambiente	30, 60, 90, 120, 165,210	5
FotoFenton + CFD	5	15	15	25	Artificial	30, 60, 90, 120, 165,210	5
	6	15	15	25	Artificial	30, 60, 90, 120, 165,210	7

4. Resultados y discusión

4.1. Ensayos de referencia

En las Figuras 4.1. y 4.2. se muestran los resultados obtenidos tras someter a la muestra a los ensayos de referencia: el único uso del H_2O_2 y el de la radiación solar artificial, respectivamente, utilizando las siguientes condiciones de operación:

- $[\text{H}_2\text{O}_2] = 25 \text{ mg/l}$
- Tiempo de luz artificial = 30, 60, 90, 120, 165, 210 minutos
- $\text{pH} = 5$

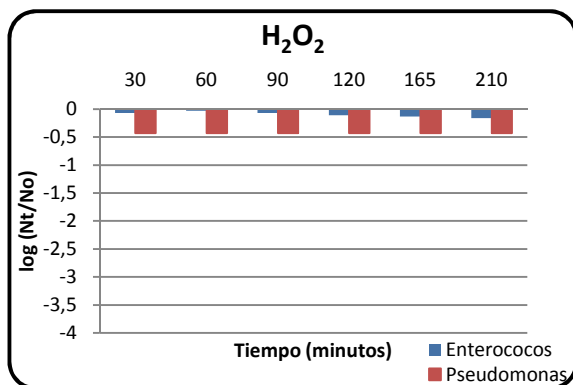


Figura 4.1. Eliminación de *Enterococos* y *Pseudomonas* en función del tiempo con 25mg/l de H_2O_2 y $\text{pH} 5$

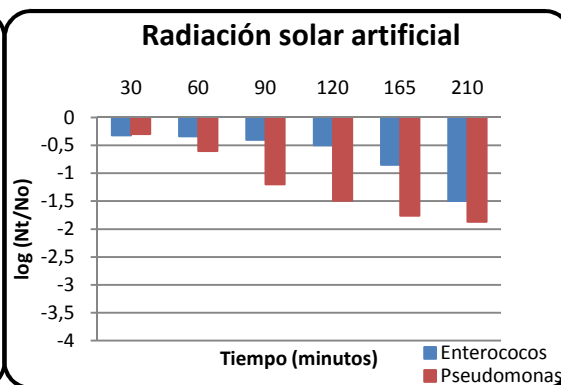


Figura 4.2. Eliminación de *Enterococos* y *Pseudomonas* en función del tiempo con luz artificial y $\text{pH} 5$

Se observa en la Figura 4.1. que el único uso del H_2O_2 no tiene ningún efecto en la desinfección del medio, 0,1 unidades logarítmicas (Ec. 7) para el caso de los *Enterococos* y 0,4 para las *Pseudomonas*. En la Figura 4.2. se ve que el efecto de la radiación artificial es superior al del H_2O_2 e incrementa cuando aumenta el tiempo de exposición. Para 210 minutos se consigue eliminar 1,5 unidades logarítmicas de *Enterococos* y 1,8 de *Pseudomonas*, un efecto significativo pero no comparable con otros desinfectantes (EPA, 1999). El uso independiente del H_2O_2 y de la radiación solar artificial produce una mayor eliminación para el caso de la *E. coli*. en condiciones de operación similares. Aun así es necesario un tiempo de exposición superior al de otros PAOs (Ricón y Pulgarin, 2006). Esto es cierto si el tratamiento se realiza a pH ácido (~ 5), si es a pH natural (7 - 8) estas condiciones no son efectivas (Moncayo-Lasso et al, 2009).

La eliminación de *Pseudomonas* es superior a la de *Enterococos* en las diferentes situaciones estudiadas. Este contraste se debe a que son bacterias con diferencias en su pared celular, las *Pseudomonas* son *Gram-Negativas* y los *Enterococos* *Gram-Positivos*. Según se ha comentado en el apartado 2.2., las bacterias *Gram-negativas* presentan dos membranas lipídicas entre las que se localiza una fina pared celular, relativamente fácil de destruir; mientras que las bacterias *Gram-positivas* presentan sólo una membrana lipídica y la pared celular es mucho más gruesa por lo que su destrucción resulta más compleja (EPA, 1999). El uso de otros PAOs como el del O_3 , $\text{O}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ o $\text{O}_3 + \text{TiO}_2$; producen una eliminación de *Enterococos* mucho mayor para tiempos de exposición muy bajos (Regalado, 2008).

4.2. Ensayos FotoFenton

4.2.1. Estudio de la influencia de la dosis de Fe^{3+}

La Figura 4.3. muestra los resultados obtenidos tras someter a la muestra a tratamiento FotoFenton, utilizando las siguientes condiciones:

- $[\text{Fe}^{3+}] = 1,5, 2, 3, 4, 5, 10, 15 \text{ mg/l}$
- $[\text{H}_2\text{O}_2] = 25 \text{ mg/l}$
- Tiempo de luz artificial = 30 minutos
- pH = 5

Se puede observar (Figura 4.3.) que al incrementar la dosis de Fe^{3+} aumenta el poder de desinfección de 1,5 a 5 mg/l, disminuyendo a partir de este valor hasta 15 mg/l. Este hecho podría deberse a que mayores cantidades de Fe^{3+} suponen un incremento de color en el agua a tratar lo que da lugar a una dispersión de la luz incidente. En consecuencia, se considera la dosis de 5 mg/l de Fe^{3+} como la más efectiva en el tratamiento FotoFenton al conseguir una reducción de 0,4 y 1,3 unidades logarítmicas en *Enterococos* y *Pseudomonas*, respectivamente. Este grado de eliminación es muy inferior al logrado por otros desinfectantes (EPA, 1999).

En los procesos Fenton y FotoFenton existe una relación $\text{Fe}^{3+} \text{ o } 2^+/\text{H}_2\text{O}_2$ en la que se produce un máximo en la destrucción del compuesto, si se aumenta la dosis de $\text{Fe}^{3+} \text{ o } 2^+$ o se disminuye la eliminación se reduce (Blanco, 2009).

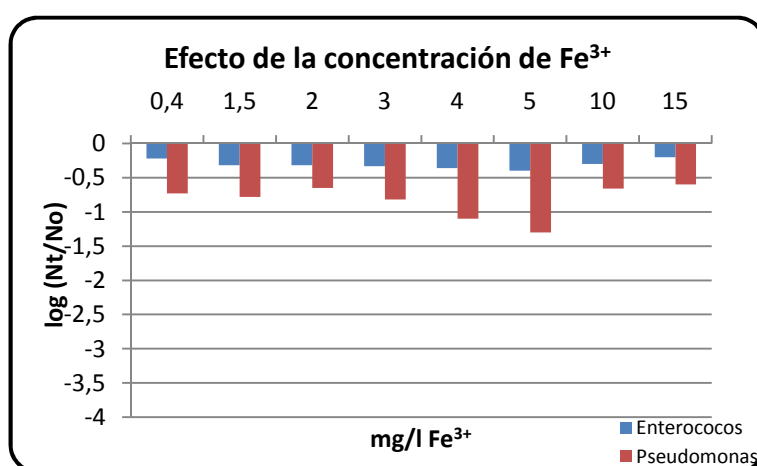


Figura 4.3. Eliminación de *Enterococos* y *Pseudomonas* en función de la dosis de Fe^{3+} , con 25mg/l de H_2O_2 , 30 min de radiación artificial y pH 5

4.2.2. Estudio de la influencia del tiempo de radiación artificial

La Figura 4.4. muestra los resultados obtenidos tras someter a la muestra a tratamiento FotoFenton, utilizando las siguientes condiciones:

- $[\text{Fe}^{3+}] = 5 \text{ mg/l}$
- $[\text{H}_2\text{O}_2] = 25 \text{ mg/l}$
- Tiempo de luz artificial = 30, 60, 90, 120, 165, 210 minutos
- pH = 5

Se puede observar, en la Figura 4.4., que al aumentar el tiempo de exposición a la radiación solar artificial la desinfección se ve altamente incrementada. Con estas condiciones de operación, un tiempo de 210 minutos es el más efectivo en la inactivación bacteriana. Además, en el caso de los *Enterococos*, hasta ese tiempo no se consigue una eliminación de *Enterococos* importante, 2,32 unidades logarítmicas. La eliminación de *Pseudomonas* es más elevada en todos los casos, para un tiempo de 210 minutos la eliminación es de 3,6 unidades logarítmicas. Este grado de eliminación es equiparable a otros agentes bactericidas (EPA, 1999), por lo que la desinfección es relevante.

En condiciones de operación análogas, la eliminación de la *E. coli* es superior. Al aumentarse el tiempo de exposición de luz solar artificial esta bacteria se inactiva más rápidamente (Ricón y Pulgarin, 2006).

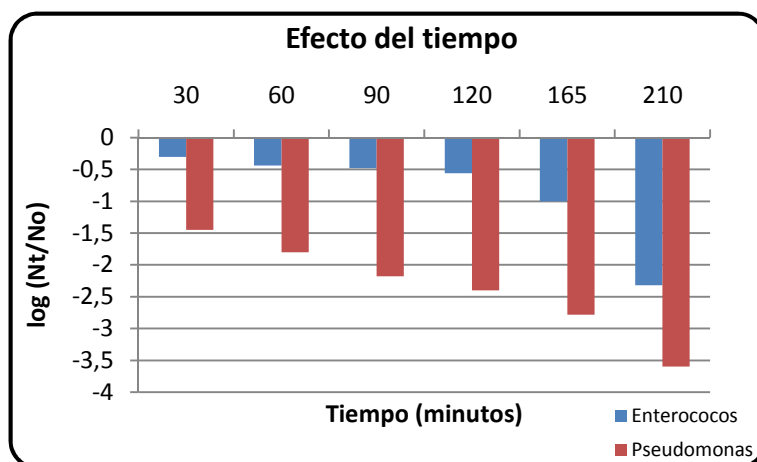


Figura 4.4. Eliminación de *Enterococos* y *Pseudomonas* en función del tiempo de radiación artificial, con 25mg/l de H_2O_2 , 5ppm de Fe^{3+} y pH 5

4.2.3. Estudio de la interacción entre la dosis de Fe^{3+} y el tiempo de radiación

En las Figuras 4.5. y 4.6. se muestran los resultados obtenidos tras someter a la muestra al tratamiento FotoFenton, utilizando las siguientes condiciones de operación:

- $[Fe^{3+}] = 5, 10, 15 \text{ mg/l}$
- $[H_2O_2] = 25 \text{ mg/l}$
- Tiempo de luz artificial = 30, 60, 90, 120, 165, 210 minutos
- pH = 5

Las Figuras 4.5. y 4.6. muestran, como en los casos anteriores, que un incremento en la dosis de Fe^{3+} de 5 a 15 mg/l supone un descenso en la desinfección y que mayores tiempos de exposición de luz artificial supone un aumento de esta. Una dosis de 5 mg/l de Fe^{3+} y 210 minutos de luz artificial son las variables que dan lugar a una mayor desinfección, 2,32 unidades logarítmicas para los *Enterococos* y 3,6 para las *Pseudomonas*. Estas, como ya se ha comentado, se eliminan más fácilmente que los *Enterococos* al ser *Gram-positivas*.

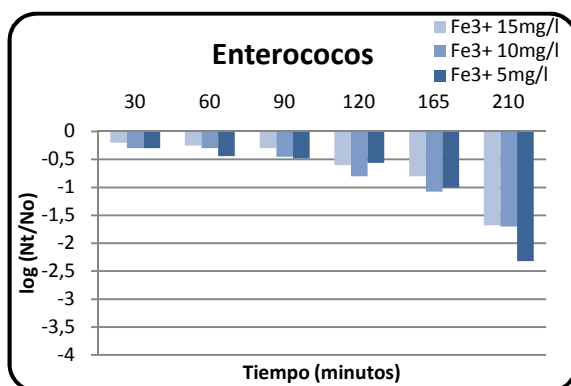


Figura 4.5. Eliminación de *Enterococos* en función del tiempo de radiación artificial a distintas dosis de Fe^{3+} , con 25mg/l de H_2O_2 y pH 5

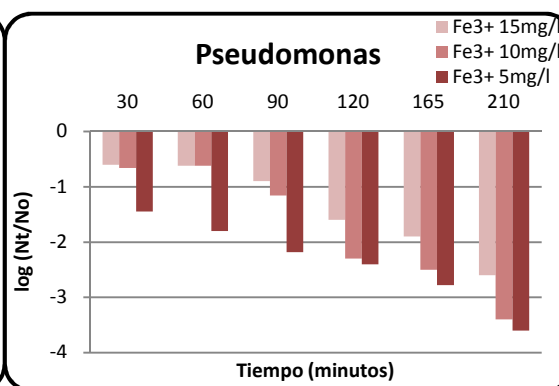


Figura 4.6. Eliminación *Pseudomonas* en función del tiempo de radiación artificial a distintas dosis de Fe^{3+} , con 25mg/l de H_2O_2 y pH 5

4.3. Ensayos combinados: CFD y FotoFenton

4.3.1. Estudio de la influencia del orden de los procesos, CFD y FotoFenton

Las Figuras 4.7. y 4.8. representan los resultados obtenidos tras someter a la muestra a un tratamiento combinado, FotoFenton y CFD y a la inversa. Las condiciones de operación utilizadas son:

- $[Fe^{3+}]_i = 15 \text{ mg/l}$

- $[H_2O_2] = 25 \text{ mg/l}$
- Tiempo de luz artificial = 30, 60, 90, 120, 165, 210 minutos
- pH = 5

Se puede observar en la Figura 4.7. que la realización posterior del proceso de CFD al tratamiento FotoFenton, aumenta la desinfección del sistema. La desinfección producida por la etapa de CFD se debe a que parte de las bacterias presentes se encuentran adheridas a los sólidos en suspensión y estas son retiradas del agua mediante la decantación del fango que se produce en este proceso. De igual forma que en los casos anteriores, el incremento en el tiempo de exposición a la luz artificial en el proceso FotoFenton, previo a la CFD, produce un aumento en la desinfección y la eliminación de *Pseudomonas* es mayor que la de *Enterococos*.

En la Figura 4.8. se observa que el proceso de CFD como primera etapa produce una desinfección mínima en el medio, 1,3 unidades logarítmicas, pero reduce altamente los sólidos en suspensión y la turbidez del agua (Figura 4.9.). El proceso FotoFenton produce una elevada desinfección en el medio después de la CFD. Esto es así debido a que el agua se encuentra más limpia y la radiación incide sin obstáculos en todo el volumen, aumentando la desinfección que produce el proceso FotoFenton. Así mismo, el incremento en el tiempo de exposición a la luz artificial en el proceso FotoFenton, previo a la CFD, produce un aumento en la desinfección y la eliminación de *Pseudomonas* es mayor que la de *Enterococos*. En estudios análogos en los que se elimina la bacteria *Clostridium* y se emplea sulfato de alúmina como coagulante y un pH de 7, la eliminación producida por el proceso de CFD es prácticamente inexistente (Lanao, 2010).

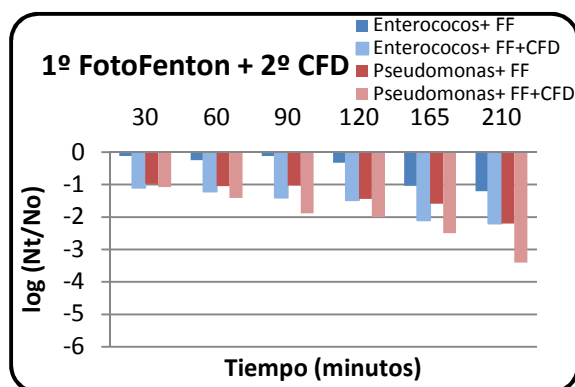


Figura 4.7. Influencia de los procesos FotoFenton y CFD en la eliminación de *Enterococos* y *Pseudomonas* con 15 mg/l de Fe^{3+} , 25mg/l de H_2O_2 y pH 5

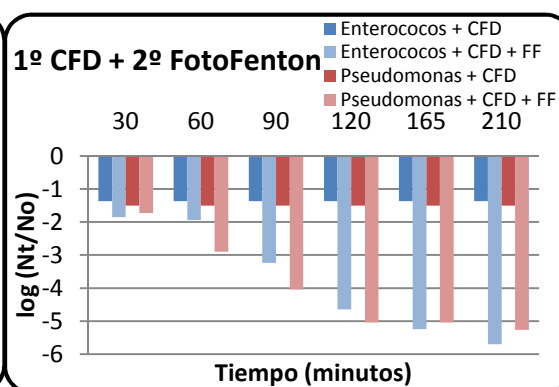


Figura 4.8. Influencia de los procesos CFD y FotoFenton en la eliminación de *Enterococos* y *Pseudomonas* con 15 mg/l de Fe^{3+} , 25mg/l de H_2O_2 y pH 5

En las Figuras 4.7. y 4.8. se puede comparar la efectividad del orden de los procesos CFD y FotoFenton en la desinfección. Se observa claramente que si se realiza en primer lugar la CFD seguida del proceso FotoFenton la desinfección es mayor que invirtiendo el orden de las etapas. Esto es así debido a que tras la eliminación de los sólidos presentes en el medio el efecto de la luz en el agua clarificada se ve incrementado. A mayores tiempos de exposición a la luz artificiales mayor la eliminación de bacterias. Un tiempo de 120 minutos de radiación artificial consigue una reducción de 4,6 unidades logarítmicas para el caso de los *Enterococos* y 5 para las *Pseudomonas*, una eliminación igual e incluso superior a la conseguida por los desinfectantes más usados (EPA, 1999). Lo mismo ocurre para el caso de la *E. coli.*, cuanto más limpia se encuentra el agua más efectivo es el tratamiento FotoFenton. Las diferencias en la eliminación bacteriana entre un agua limpia y otra con materia particulada son análogas para los tres tipos de bacterias (Spuhler, 2010).

La Figura 4.9. muestra la influencia del orden de los procesos CFD y FotoFenton en la eliminación de sólidos en suspensión y turbidez. Se puede observar en la Figura 4.9. que la eliminación de sólidos en suspensión y turbidez es mayor cuando la CFD se realiza en segundo

lugar ($\approx 95\%$ y 99%), siendo el efecto opuesto con respecto a la desinfección. Si los procesos se realizan en orden inverso la eliminación de sólidos en suspensión y turbidez disminuye aproximadamente un 5% ($\approx 91\%$ y 96%), sin embargo la desinfección se ve altamente incrementada.

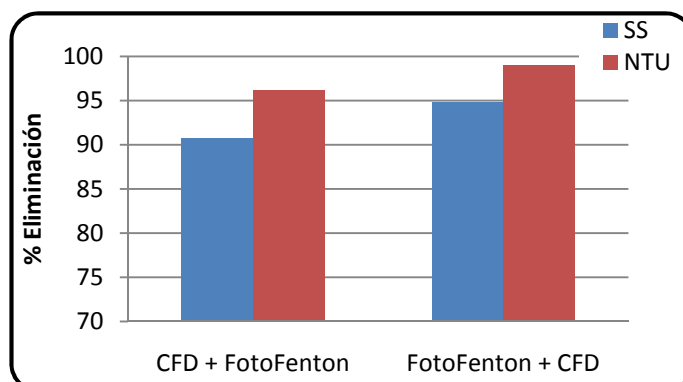


Figura 4.9. Comparativa de la influencia de los procesos de CFD y FotoFenton en la eliminación de sólidos en suspensión (SS) y turbidez (NTU) con 15 mg/l de Fe^{3+} , 25 mg/l de H_2O_2 y pH 5

4.3.2. Estudio de la influencia del pH del medio

Las Figuras 4.10. y 4.11. muestran los resultados obtenidos tras someter a la muestra a un tratamiento combinado, CFD y FotoFenton y a la inversa. Las condiciones de operación utilizadas son:

- $[\text{Fe}^{3+}]_i = 15 \text{ mg/l}$
- $[\text{H}_2\text{O}_2] = 25 \text{ mg/l}$
- Tiempo de luz artificial = 30, 60, 90, 120, 165, 210 minutos
- pH = 5 y 7

Las Figuras 4.10. y 4.11. muestran que la desinfección es más elevada a pH 5 que a pH 7, tanto si la CFD se realiza en primer lugar como en último. El pH 5 es más efectivo en la inactivación bacteriana debido a que, como ya se ha comentado en el apartado 2.5.2., el proceso FotoFenton necesita de un pH ácido para una mayor formación de OH^\cdot .

De igual forma que en los casos anteriores, el incremento en el tiempo de exposición a la luz artificial en el proceso FotoFenton produce un aumento en la desinfección y la eliminación de *Pseudomonas* es, en general, mayor que la de *Enterococos*. Para el caso de la bacteria de la *E. coli*, un pH de 5 también da lugar a una mayor eliminación, pero un pH neutro (7 – 7,5) genera inactivaciones superiores a las de *Pseudomonas* y *Enterococos* en condiciones similares (Spuhler et al, 2010).

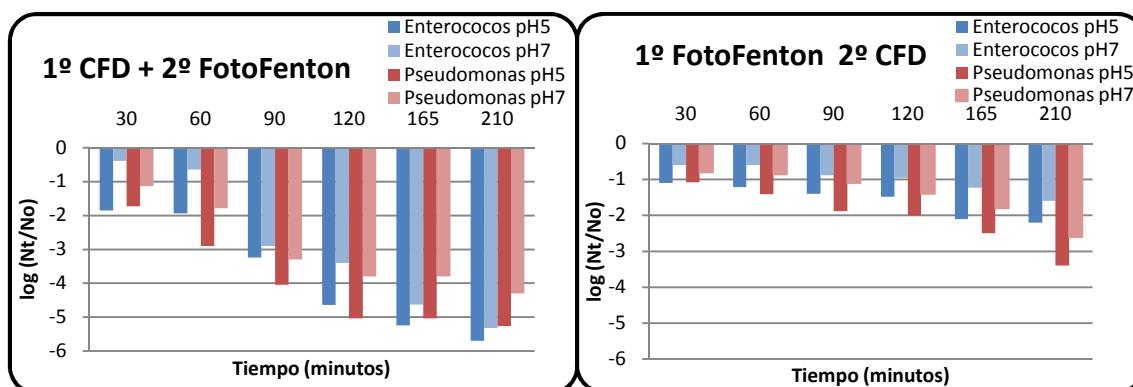


Figura 4.10. Influencia del pH en la eliminación de *Enterococos* y *Pseudomonas* del tratamiento CFD y FotoFenton con 15 mg/l de Fe^{3+} y 25 mg/l de H_2O_2

Figura 4.11. Influencia del pH en la eliminación de *Enterococos* y *Pseudomonas* del tratamiento FotoFenton y CFD con 15 mg/l de Fe^{3+} y 25 mg/l de H_2O_2

4.3.3. Estudio de la influencia de la luz artificial y ambiental en desinfección

Las Figuras 4.12. y 4.13. muestran los resultados obtenidos tras someter a la muestra a un tratamiento combinado, CFD y FotoFenton. Las condiciones de operación utilizadas son:

- $[\text{Fe}^{3+}]_i = 15 \text{ mg/l}$
- $[\text{H}_2\text{O}_2] = 25 \text{ mg/l}$
- Tiempo de luz artificial y ambiente = 30, 60, 90, 120, 165, 210 minutos
- $\text{pH} = 5$

Las Figuras 4.12. y 4.13. muestran que este tratamiento es más efectivo en gran medida si la luz es artificial. La radiación artificial favorece la formación de especies reactivas del oxígeno como son los radicales hidroxilo (OH^\cdot) o los radicales superóxido (O_2^\cdot), que son en los que se basa el proceso FotoFenton. Esto es así debido a que la cámara solar, que simula dicha radiación, concentra altamente la luz en las muestras tratadas. La respuesta para otras bacterias como la *E. coli*. es similar, el tratamiento es altamente más efectivo cuando se emplea luz artificial (Ricón y Pulgarin, 2006).

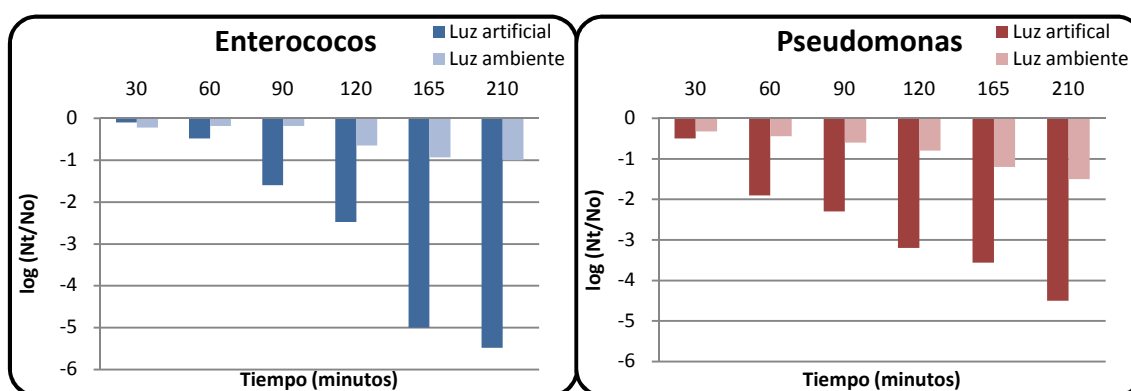


Figura 4.12. Influencia del tipo de luz en la eliminación de *Enterococcos* del tratamiento CFD y FotoFenton con $15 \text{ mg/l Fe}_i^{3+}$, $25 \text{ mg/l de H}_2\text{O}_2$ y $\text{pH}5$

Figura 4.13. Influencia del tipo de luz en la eliminación de *Pseudomonas* del tratamiento CFD y FotoFenton con $15 \text{ mg/l Fe}_i^{3+}$, $25 \text{ mg/l de H}_2\text{O}_2$ y $\text{pH}5$

4.3.4. Análisis estadístico de la influencia de variables en la desinfección

Para poder determinar cuáles y cómo los anteriores parámetros estudiados, o combinaciones de los mismos, influyen en los resultados obtenidos, se realiza un análisis de variables con la herramienta Statgraphics. Dadas las características del programa informático, se seleccionan aquellos experimentos que son más representativos del proceso estudiado para ser analizados, el pH del medio, el tiempo de exposición a la radiación artificial, y la realización del proceso de CFD previo al FotoFenton (Tabla 3.6.).

El número total de experimentos realizados para este análisis es de 8 (2^3). Las variables respuesta estudiadas son la desinfección de *Enterococcos* y de *Pseudomonas*. Se obtienen dos análisis independientes para cada una de las variables respuesta, por lo que se comentan por separado (Mosteo et al, 2006 y Ormad et al, 2006).

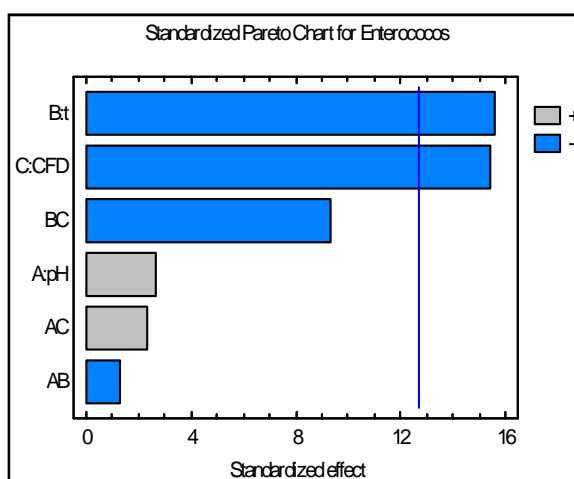
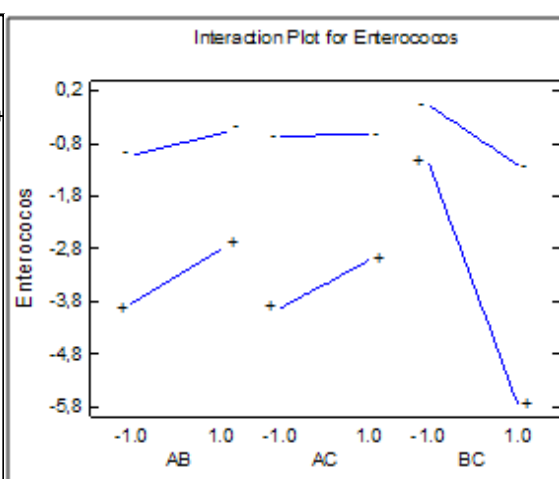
Enterococcos

Los resultados del análisis de varianza se presentan en la tabla ANOVA, Tabla 4.1., que resume los valores importantes del análisis. Esta tabla muestra principalmente cuales de las variables estudiadas y sus iteraciones influyen en la desinfección de los *Enterococcos*. En ella se indica que las dos únicas variables que influyen en la desinfección de *Enterococcos* son el tiempo de radiación de luz artificial y la realización del proceso de CFD previo al FotoFenton. En ambos casos, el valor numérico de P-value es inferior a $\alpha=0,05$, lo que indica que ambas variables tienen un efecto significativo con un nivel de confianza del 95%.

Tabla 4.1. Tabla ANOVA de la desinfección de *Enterococos*

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
A:pH	0,482653	1	0,482653	7,15	0,2279
B:t	16,3163	1	16,3163	241,62	0,0409
C:CFD	16,032	1	16,032	237,41	0,0413
AB	0,116403	1	0,116403	1,72	0,4144
AC	0,376278	1	0,376278	5,57	0,2551
BC	5,9082	1	5,9082	87,49	0,0678
Total error	0,0675281	1	0,0675281		
Total (corr.)	39,2993	7			

A través del diagrama de Pareto, Figura 4.14., se conocen el grado de influencia de las variables para la respuesta estudiada. Las variables más influyentes en la desinfección de *Enterococos* son el tiempo de radiación artificial y el proceso de CFD previo al FotoFenton, ambas de forma significativa como ya se había detectado en la Tabla ANOVA (Tabla 4.1.). Estas variables tienen efectos negativos sobre la desinfección. Hay que tener en cuenta que la desinfección es un valor negativo, y por tanto, es mayor el grado de desinfección alcanzado cuanto más negativo sea el valor calculado. El tiempo de exposición a la luz artificial es ligeramente más influyente que la realización de la etapa de coagulación floculación, seguidas ambas por la interacción de estas.

Figura 4.14. Diagrama de Pareto para la desinfección de *Enterococos*.Figura 4.15. Diagrama de interacciones dobles en la desinfección de *Enterococos*

Al tener tres variables distintas, se tienen que estudiar tres interacciones posibles entre dichas variables, Figura 4.15.

- pH-t (AB): La interacción en este caso se debe a que a tiempos bajos de radiación, las condiciones de pH del tratamiento no van a afectar prácticamente a la desinfección. Sin embargo, a tiempos elevados unas condiciones más ácidas suponen un aumento considerable del poder desinfectante.
- pH-CFD (AC): La interacción es similar al caso anterior. Si el proceso de CFD previo no se realiza, las condiciones de pH del tratamiento no van a influir en la desinfección. No obstante, con la realización de la etapa previa de CFD un pH más ácido mejora la eficacia del sistema.
- t-CFD (BC): Se trata de la interacción doble más fuerte. Un mayor tiempo de radiación siempre es favorable en términos de desinfección haya o no CFD previa. La realización del proceso de CFD antes de la desinfección favorece la eliminación de microorganismos, sean elevados o no los tiempos de radiación. El uso simultáneo de

altos tiempos de radiación y el proceso de CFD previo favorece especialmente esta desinfección.

Pseudomonas

La Tabla ANOVA, Tabla 4.2., muestra que las dos únicas variables que influyen en la desinfección de las *Pseudomonas* son el tiempo de exposición a la luz artificial y el proceso de CFD previo al FotoFenton, de igual forma que en caso de los *Enterococos*.

Tabla 4.2. Tabla ANOVA de la desinfección de *Pseudomonas*

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
A:pH	0,68445	1	0,68445	47,37	0,0919
B:t	10,3968	1	10,3968	719,50	0,0237
C:CFD	5,8482	1	5,8482	404,72	0,0316
AB	0,01805	1	0,01805	1,25	0,4647
AC	0,07605	1	0,07605	5,26	0,2617
BC	2,2898	1	2,2898	158,46	0,0505
Total error	0,01445	1	0,01445		
Total (corr.)	19,3278	7			

El diagrama de Pareto, Figura 4.16., muestra las variables más influyentes en la desinfección de *Pseudomonas*, el tiempo de radiación artificial y el proceso de CFD previo al FotoFenton. Ambas influyen de forma significativa y tienen un efecto negativo sobre la desinfección, lo que como ya se ha comentado indica que la desinfección aumenta.

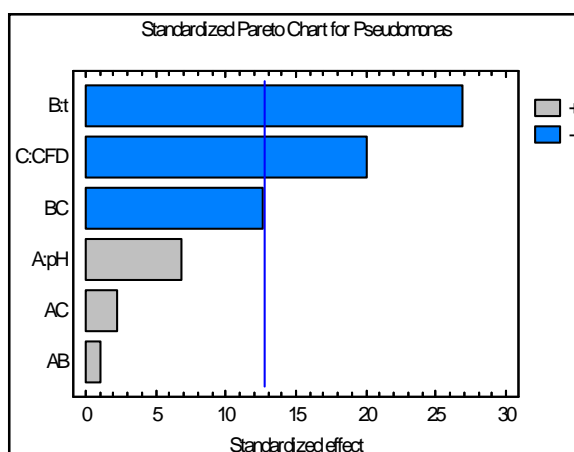


Figura 4.16. Diagrama de Pareto para la desinfección de *Enterococos*.

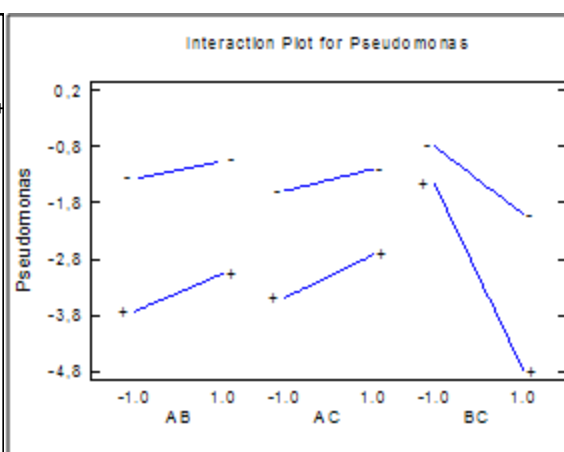


Figura 4.17. Diagrama de interacciones dobles en la desinfección de *Enterococos*

La Figura 4.17. muestra los tres tipos de interacciones entre las variables estudiadas.

- pH-t (AB): De forma análoga que en el caso anterior, a tiempos elevados de exposición a la desinfección un pH ácido mejora la desinfección, mientras que a pH neutro el tiempo no influye en gran medida.
- pH-CFD (AC): Al igual que sucede con los *Enterococos*, con la realización de la etapa previa de CFD unas condiciones más ácidas suponen un aumento considerable del poder desinfectante. Sin embargo, sin la realización de este proceso el pH del medio no influye.
- t-CFD (BC): Es la interacción más influyente como en el caso de los *Enterococos*. Si se utilizan a la vez tiempos altos de radiación y el proceso de CFD previo, se observa un incremento claramente significativo en la desinfección.

Una de las conclusiones más destacables del análisis de las distintas variables, es la importancia de tiempos elevados de exposición a la luz. La radiación favorece la formación de especies reactivas del oxígeno como son los radicales hidroxilo (OH^\cdot) o los radicales superóxido (O_2^\cdot), que son en los que se basa el proceso FotoFenton. Las células contienen cromóforos intracelulares que absorben la radiación UV-A y UV-B, lo que en presencia de oxígeno resulta tóxico para la célula pues favorece la generación de especies reactivas de oxígeno.

En cuanto a la otra variable influyente, el proceso de CFD previo al FotoFenton, el comportamiento es como se esperaba. Tras este proceso el agua se encuentra libre de partículas en suspensión y turbidez por lo que la radiación puede llegar más fácilmente a todo el volumen y los microorganismos no tienen partículas en las que absorberse por lo que estos se eliminan más fácilmente.

Por último con respecto al pH, su comportamiento concuerda con estudios previos (Szpyrkowicz et al, 2001; Louwen, 2010). Un aumento del pH provoca una inhibición en la formación de radicales hidroxilo y por consiguiente la desinfección alcanzada es menor. Por lo que es este estudio se comprueba que el pH ácido da lugar a mejores resultados en la desinfección.

En conclusión, tras los distintos análisis realizados, el proceso seleccionado como el óptimo en la regeneración del agua al eliminar una mayor cantidad de *Enterococos* y *Pseudomonas* y gran cantidad de sólidos en suspensión y turbidez, es el siguiente:

- En primer lugar la CFD y en segundo el FotoFenton
- $[\text{Fe}^{3+}]_i = 15 \text{ mg/l}$
- $[\text{H}_2\text{O}_2] = 25 \text{ mg/l}$
- Luz solar artificial con un tiempo de 120 minutos
- $\text{pH} = 5$

Con estas condiciones de operación se consigue eliminar:

- 4,6 unidades logarítmicas de *Enterococos*
- 5 unidades logarítmicas de *Pseudomonas*
- 91% de sólidos en suspensión
- 96% de turbidez.

4.4. Estudio cinético de desinfección

Los datos experimentales de la cinética de inactivación de *Enterococos* y *Pseudomonas* se ajustan mediante el modelo de Chick-Watson (1908) (Ec. 6). Suponiendo primer orden ($n=1$) y siendo la concentración de desinfectante (C) la concentración de radicales hidroxilo (OH^\cdot), la ecuación resulta:

$$\log \frac{N_0}{N_t} = k \cdot [\text{OH}^\cdot] \cdot t \quad [\text{Ec. 8}]$$

La concentración de radicales hidroxilo que se forman depende principalmente de: la cantidad de hierro añadida, la dosis de peróxido y el tiempo expuesto a la luz artificial. Por otro lado se encuentran los microorganismos y los *scavengers* (S_j), los cuales consumen parte de los OH^\cdot generados (Sun et al, 2007). Teniendo esto en cuenta y que la concentración del agente desinfectante $[\text{OH}^\cdot]$ se puede considerar constante con el tiempo, se sustituye $k[\text{OH}^\cdot]$ por una constante aparente, k_{ap} , dando lugar a:

$$\log \frac{N_0}{N_t} = k_{ap} \cdot t \quad [\text{Ec. 9}]; \quad \text{siendo } [\text{OH}^\cdot] \approx \frac{k_i [\text{Fe}^{3+}][\text{H}_2\text{O}_2][h\nu]}{k_{ii}[\text{N}_0] + k_{iii}[S_j]}; \quad (\text{Sun et al, 2007})$$

Suponiendo que la relación entre $\log(N_0/N_t)$ y el tiempo de reacción es lineal, la velocidad de desactivación de los microorganismos es de primer orden ($n=1$) y los valores de k_{ap} se obtienen de las pendientes de las representaciones de $\log(N_0/N_t)$ vs t .

En este estudio cinético se analiza el efecto de la dosis de Fe^{3+} en el proceso FotoFenton del tratamiento combinado, CFD y FotoFenton; además del pH del medio en este tratamiento, sobre la velocidad de eliminación de *Enterococos* y *Pseudomonas*.

4.4.1. Efecto del Fe^{3+}

Las Figuras 4.18. y 4.19. muestran la cinética de degradación para ambas bacterias cuando la muestra es sometida al tratamiento FotoFenton utilizando las siguientes condiciones de operación:

- $[Fe^{3+}] = 0,4, 5, 10, 15 \text{ mg/l}$
- $[H_2O_2] = 25 \text{ mg/l}$
- Tiempo de luz artificial = 30, 60, 90, 120, 165, 210 minutos
- pH = 5

En las Figuras 4.18. y 4.19. se observa que al aumentar la dosis de Fe^{3+} entre 0,4 y 15 mg/l la k_{ap} decrece, es decir, la velocidad de eliminación de los microorganismo disminuye. La degradación de estas bacterias posee un ajuste adecuado para un modelo cinético de orden 1 ($R > 0,8$ y $R > 0,9$). La velocidad de eliminación es máxima para 0,4 mg/l de Fe^{3+} , la dosis resultante tras la realización del proceso de CFD con 15 mg/l de Fe^{3+} .

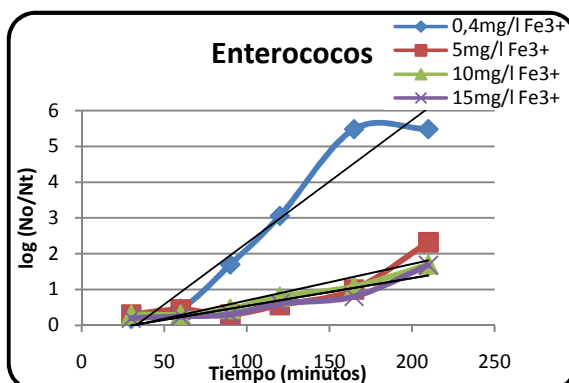


Figura 4.18. Ajuste lineal de los datos experimentales de inactivación de *Enterococos*: 25mg/l H_2O_2 , pH 5 y distintas dosis de Fe^{3+}

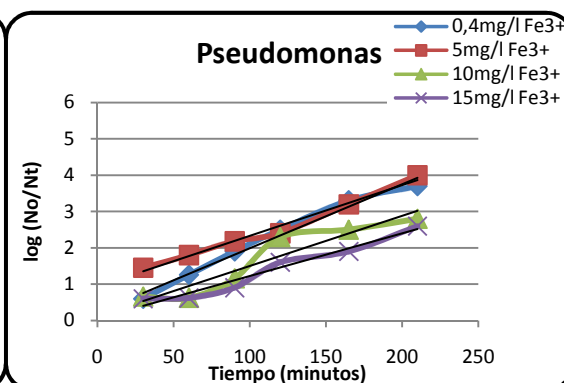


Figura 4.19. Ajuste lineal de los datos experimentales de inactivación de *Pseudomonas*: 25mg/l H_2O_2 , pH 5 y distintas dosis de Fe^{3+}

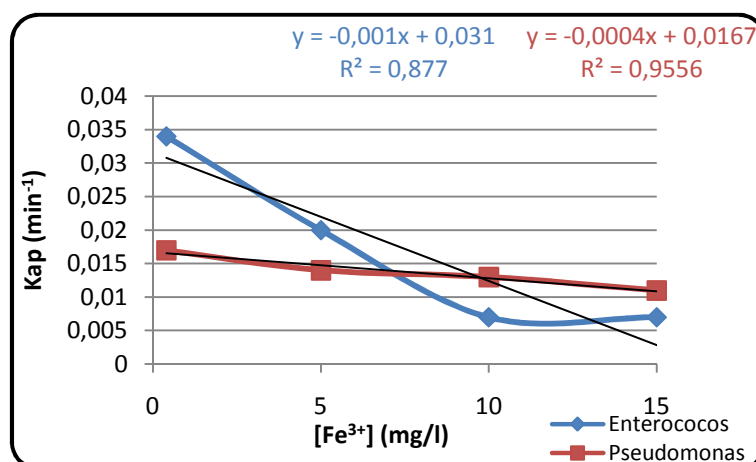
La Tabla 4.3. muestra las distintas k_{ap} así como el ajuste lineal (R) para cada microorganismo a las diferentes dosis de Fe^{3+} .

Tabla 4.3. Valores de las constantes cinéticas y del coeficiente de regresión lineal en función del $[Fe^{3+}]$

Fe^{3+} (mg/l)	0,4		5		10		15	
Microorganismo	Ente.	Pseudo.	Ente.	Pseudo.	Ente.	Pseudo.	Ente.	Pseudo.
k_{ap} (min^{-1})	0,019	0,028	0,010	0,014	0,007	0,013	0,007	0,011
R	0,814	0,964	0,767	0,983	0,937	0,895	0,860	0,958

Los valores numéricos de las constantes cinéticas (k_{ap}) son muy similares a los encontrados en bibliografía para el proceso del FotoFenton (Liou et al, 2003, 2004; Rodríguez et al, 2005; Thiruvengkatachari et al, 2007).

La Figura 4.20. muestra claramente como al incrementarse la dosis de Fe^{3+} la velocidad de degradación disminuye. La concentración de 0,4 mg/l de Fe^{3+} es suficiente para la efectividad del proceso FotoFenton. Si se incrementa la cantidad de hierro el color del agua a tratar se intensifica y difracta la luz que se le irradia disminuyendo el efecto de la desinfección.

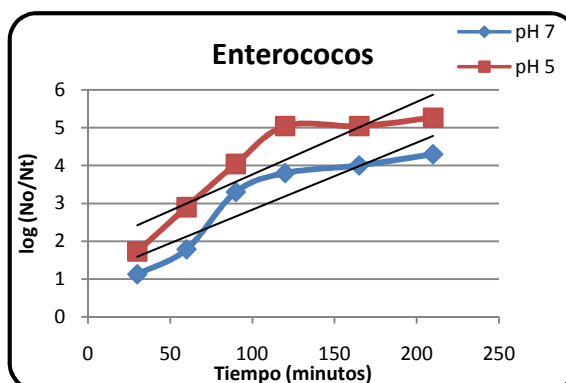
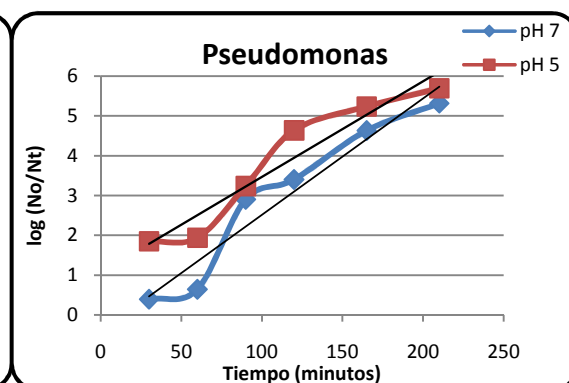
Figura 4.20. Efecto de $[Fe^{3+}]$ en k_{ap}

4.4.2. Efecto del pH

Las Figuras 4.21. y 4.22. muestran la cinética de degradación de ambas bacterias cuando la muestra es sometida al tratamiento combinado CFD y FotoFenton utilizando las siguientes condiciones de operación:

- $[Fe^{3+}]_i = 15$ mg/l
- $[H_2O_2] = 25$ mg/l
- Tiempo de luz artificial y ambiente = 30, 60, 90, 120, 165, 210 minutos
- pH = 5 y 7

Las Figuras 4.21. y 4.22. muestran que al aumentar el pH del medio la k_{ap} decrece. La velocidad de eliminación es máxima para pH 5, al ser un mejor pH para este proceso un pH ácido. La degradación de estos microorganismos posee un ajuste adecuado para un modelo cinético de orden 1 ($R > 0,9$ y $R > 0,8$).

Figura 4.21. Ajuste lineal de datos experimentales de eliminación de *Enterococos*: 25mg/l H_2O_2 , 15 mg/l Fe^{3+} y pH 5 o 7Figura 4.22. Ajuste lineal de datos experimentales de eliminación de *Pseudomonas*: 25mg/l H_2O_2 , 15 mg/l Fe^{3+} y pH 5 o 7

La Tabla 4.4. muestra las distintas k_{ap} así como el ajuste lineal para cada microorganismo a los dos pH estudiados. Los valores numéricos de las k_{ap} son análogos a los encontrados en la bibliografía consultada (Sun et al, 2007).

Tabla 4.4. Valores de las constantes cinéticas y del coeficiente de regresión lineal en función del pH

pH	5		7	
Microorganismo	<i>Enterococos</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Enterococos</i>	<i>Pseudomonas</i>
k_{ap} (min ⁻¹)	0,019	0,028	0,017	0,026
R	0,814	0,964	0,838	0,903

4.5. Estudio económico

Un análisis de costes de un tratamiento a escala real supondría tener en cuenta varios aspectos como son el capital inicial, los costes de operación y mantenimiento, etc.; todo lo cual depende de las condiciones de operación, el tipo de sistema adoptado, la configuración del reactor y del tipo de efluente a tratar.

En este trabajo solo se van a considerar los costes relativos a los reactivos empleados. Los tres reactivos implicados en el tratamiento son: FeCl_3 , H_2O_2 y el acondicionante del pH (HCl) para disminuir el pH hasta 5. La Tabla 4.5. muestra las características de estos reactivos.

Tabla 4.5. Características de los reactivos empleados

Reactivo	Cantidad	Coste reactivo (€/kg)	Densidad (kg/l)	Pureza	Empresa suministradora
FeCl_3	15 mg/ $l_{\text{H}_2\text{O}}$	0,110	1,440	30%	Cinca S.A., Zaragoza
H_2O_2	25 mg/ $l_{\text{H}_2\text{O}}$	0,21	-	40%	FMC Foret, Zaragoza
HCl	8 $l_{\text{HCl}}/\text{m}^3_{\text{H}_2\text{O}}$	0,03	1,18	99%	Hermanos Adiego, Zaragoza

FeCl_3

$$15 \text{ mg/l} = 0,11 \text{ ml}_{\text{FeCl}_3}/l_{\text{H}_2\text{O}}$$

$$\frac{0,11 \text{ ml}_{\text{FeCl}_3}}{l_{\text{H}_2\text{O}}} * \frac{1 l_{\text{FeCl}_3}}{10^3 \text{ ml}_{\text{FeCl}_3}} * \frac{1,44 \text{ kg}_{\text{FeCl}_3}}{l_{\text{FeCl}_3}} * \frac{0,11 \text{ €}}{\text{kg}_{\text{FeCl}_3}} = 1,74 \cdot 10^{-5} \frac{\text{€}}{l_{\text{H}_2\text{O}}} = 0,0174 \text{ €/m}^3$$

H_2O_2

$$\frac{25 \cdot 10^{-6} \text{ kg}_{\text{H}_2\text{O}_2}}{l_{\text{H}_2\text{O}_2}} * \frac{100}{0,3} * \frac{0,21 \text{ €}}{\text{kg}_{\text{H}_2\text{O}_2}} = 1,57 \cdot 10^{-5} \frac{\text{€}}{l_{\text{H}_2\text{O}}} = 0,0157 \text{ €/m}^3$$

HCl

$$\frac{8 l_{\text{HCl}}}{\text{m}^3_{\text{H}_2\text{O}}} * \frac{1 \text{ m}^3_{\text{H}_2\text{O}}}{10^3 \text{ dm}^3_{\text{H}_2\text{O}}} * \frac{1 \text{ dm}^3_{\text{H}_2\text{O}}}{1 l_{\text{H}_2\text{O}}} * \frac{1,18 \text{ kg}_{\text{HCl}}}{l_{\text{HCl}}} * \frac{0,03 \text{ €}}{\text{kg}_{\text{HCl}}} = 2,83 \cdot 10^{-4} \frac{\text{€}}{l_{\text{H}_2\text{O}}} = 0,283 \text{ €/m}^3$$

La Figura 4.23. muestra claramente que el reactivo más influyente en el coste del tratamiento es el HCl. La cantidad necesaria a añadir para disminuir el pH hasta 5 es muy elevada, por eso el gran coste derivado de él. El FeCl_3 es un reactivo relativamente barato por lo que no supone un valor elevado. El H_2O_2 es el reactivo más caro de los empleados, pero debido a la pequeña cantidad empleada su coste es muy bajo.

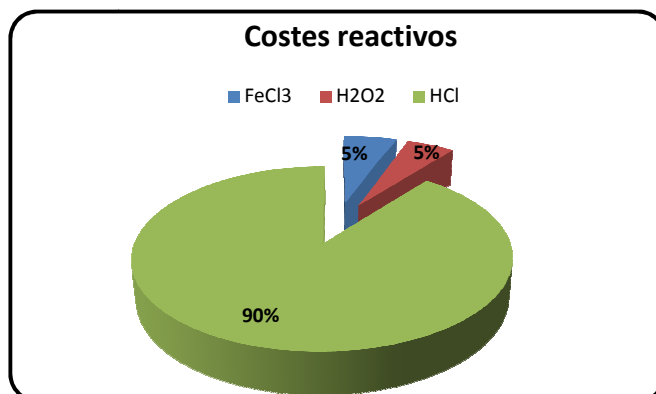


Figura 4.23. Influencia del coste de los tres reactivos

Por lo tanto, es necesario hacer hincapié en la cantidad de HCl necesaria a añadir al ser el reactivo que supone un mayor coste ya que se añade en gran cantidad para alcanzar pH 5. En el apartado 4.3.2. se ha concluido que pH 5 es más efectivo que pH 7 en la desinfección. Sin embargo, a pH 7 también se eliminan parte de las bacterias del medio y la cantidad de HCl a añadir es muy inferior (Tabla 4.6.). No siempre es necesario realizar una desinfección intensiva, esta depende del uso posterior del agua tratada. Si por ejemplo el agua se va a utilizar para uso agrícola o recreativo en el que esta puede contener altas concentraciones de bacterias (Anexo I), realizar el tratamiento a pH 7 produciría una desinfección adecuada para este fin y el coste final del tratamiento se vería altamente reducido (Tabla 4.6).

También se podría estudiar la desinfección producida por el tratamiento seleccionado a un pH intermedio, pH 6, pero se puede comprobar en la Tabla 4.6. que el coste no se vería prácticamente modificado de realizarlo a pH 5.

Tabla 4.6. Cantidad y coste de la adición del HCl en función del pH

pH	Cantidad ml_{HCl}/l_{H2O}	Coste HCl (€/m³)	Influencia del coste del HCl en el coste total del tratamiento	Coste Total (€/m³)
5	8	0,283	89,8%	0,316
6	6	0,212	86,5%	0,245
7	2	0,071	68,3%	0,104

5. Conclusiones

Las principales conclusiones obtenidas tras la realización de este trabajo son las siguientes:

- Las aguas de salida de EDARs contienen, en general, concentraciones elevadas de microorganismos. Se detectan con frecuencia bacterias de origen fecal como *Escherichia Coli* o *Enterococcus Faecalis* así como *Clostridium*, *Salmonella* y *Pseudomona Aeruginosa*. Por ello, se han seleccionado los *Enterococos* y las *Pseudomonas* como bacterias a estudiar este trabajo. El microorganismo más estudiado es la *Escherichia Coli* por lo que su comportamiento es muy conocido. Los *Enterococos* también han sido ampliamente investigados, no siendo este el caso de las *Pseudomonas*. Este trabajo supone un punto de partida para el análisis de las *Pseudomonas* en materia de desinfección mediante tratamientos FotoFenton.
- La eliminación de *Pseudomonas* es superior a la de *Enterococos* en las diferentes situaciones estudiadas. Este contraste se debe a que son bacterias con diferencias en su pared celular, las *Pseudomonas* son Gram-Negativas y los *Enterococos* Gram-Positivos. Las bacterias Gram-negativas presentan dos membranas lipídicas entre las que se localiza una fina pared celular, relativamente fácil de destruir; mientras que las bacterias Gram-positivas presentan sólo una membrana lipídica y la pared celular es mucho más gruesa por lo que su destrucción resulta más compleja.
- La diferencia en la eliminación entre ambas bacterias es mayor a elevados tiempos de exposición a la luz solar artificial y es aproximadamente de una unidad logarítmica.
- Las características físico-químicas del agua utilizada afectan a la desinfección obtenida a través de parámetros como la turbidez o los sólidos en suspensión.
- El proceso de coagulación-floculación-decantación como única etapa del proceso no desinfecta y tratando el agua exclusivamente con el proceso FotoFenton la eliminación de bacterias es elevada. Sin embargo, si tras la coagulación-floculación-decantación se realiza el proceso FotoFenton, la desinfección producida se ve altamente incrementada debido a que el agua se encuentra más limpia y la radiación incide sin obstáculos en todo el volumen.
- La cantidad de hierro presente en el agua tras la realización del proceso de coagulación-floculación-decantación con 15 mg/l de Fe^{3+} y pH 5 es aproximadamente de 0,4 mg/l. Esta cantidad es suficiente para la realización posterior del tratamiento FotoFenton, es la que da lugar a una mayor desinfección. Mayores cantidades de Fe^{3+} suponen un incremento de color en el agua a tratar lo que da lugar a una dispersión de la luz incidente.
- El tratamiento más efectivo, en términos de desinfección, corresponde a aquel en el que se realiza en primer lugar el proceso de coagulación-floculación-decantación seguido del FotoFenton con una dosis de Fe^{3+} inicial de 15 mg/l, 25 mg/l de H_2O_2 , 120 minutos de radiación solar artificial y pH 5. Con estas condiciones de operación se consigue eliminar: 4,6 unidades logarítmicas de *Enterococos*, 5 unidades logarítmicas de *Pseudomonas*, 91% de sólidos en suspensión y 96% de turbidez. Este tratamiento consigue unas desinfecciones muy similares e incluso superiores a las de otros desinfectantes que se usan comúnmente como es el caso del cloro o la radiación UV.

- Los parámetros más influyentes del tratamiento seleccionado como el más efectivo en la desinfección son: el tiempo de exposición a la radiación solar artificial, la realización previa o no del proceso de coagulación-floculación-decantación así como la interacción entre ambas. Un mayor tiempo de radiación siempre es favorable en términos de desinfección haya o no coagulación-floculación-decantación previa. La realización de este proceso antes del FotoFenton favorece la eliminación de microorganismos, sean elevados o no los tiempos de radiación. El uso simultáneo de altos tiempos de radiación y del proceso de coagulación-floculación-decantación previo, favorece especialmente esta desinfección.
- El uso de la radiación solar artificial en el proceso FotoFenton ocasiona una mejor desinfección que si se emplea luz ambiental. La radiación ultravioleta favorece la formación de los radicales hidroxilo y superóxido. Las células contienen cromóforos intracelulares que absorben la radiación UV-A y UV-B, lo que en presencia de oxígeno resulta tóxico para la célula pues favorece la generación de especies reactivas de oxígeno, aumentando la desinfección. En este trabajo hasta 120 minutos de exposición a la radiación artificial no se consiguen desinfecciones importantes empleando 15 mg/l Fe^{3+} , 25 mg/l de H_2O_2 , pH 5 y coagulación-floculación-decantación previa al FotoFenton.
- El único uso del H_2O_2 no tiene ningún efecto en la desinfección del medio, el de la radiación solar artificial es ligeramente superior y se ve incrementado con el tiempo de exposición. El H_2O_2 necesita de la radiación para poder producir radicales hidroxilo, principales causantes de la desinfección.
- Al ajustar la cinética de inactivación con el modelo de Chick-Watson las regresiones obtenidas no son muy elevadas debido a las suposiciones iniciales consideradas. Las constantes cinéticas obtenidas, k_{app} , son muy similares a los valores bibliográficos consultados en situaciones análogas. Al aumentar la dosis de Fe^{3+} entre 0,4 y 15 mg/l o aumentar el pH de 5 a 7, la velocidad de eliminación de los microorganismos disminuye. La eliminación de *Pseudomonas* se produce a una velocidad superior que la de *Enterococos*, las constantes cinéticas obtenidas son aproximadamente un 50% superiores para el caso de las *Pseudomonas*.
- La supervivencia de las bacterias está muy condicionada por el pH del medio en el que se encuentran. Para valores de pH por debajo de 5, la muerte celular tiene lugar en un breve espacio de tiempo por lo que hay que trabajar a valores de pH iguales o superiores a 5 para que sea posible cuantificar el efecto del tratamiento efectuado.
- Realizar el tratamiento seleccionado a pH 5 da lugar a una desinfección mucho mayor que a pH 7 ya que el proceso FotoFenton necesita de un pH ácido para una mayor formación de OH^\cdot . Debido a que es necesario añadir gran cantidad de HCl para alcanzar pH 5, este reactivo es el más influyente en el coste del tratamiento. Sin embargo, utilizar un pH 7 también elimina parte de las bacterias del medio y la cantidad de HCl a añadir es muy inferior. Si el uso que se le va a dar al agua tratada es, por ejemplo, agrícola o recreativo; realizar el tratamiento a pH 7 produce una desinfección adecuada para tal fin y el coste final del tratamiento se ve altamente reducido.

6. Bibliografía

- Al-Hayek, N.; Doré, M.; "Oxidation of organic compounds by Fenton's reagent: possibilities and limits". Environment Technology Letters, 6 (1) (1985) 37-50.
- Arce; O.; "Indicadores biológicos de calidad del agua". Universidad Mayor de San Simón (2006).
- B.O.E.; 2007. *Real Decreto 1620/2007* de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de aguas depuradas. BOE nº 294 de 08.12.2007.
- Barb, W., Baxendale, J., George, P., "Reactions of ferrous and ferric ions with hydrogen peroxide .1. The ferrous ion reaction". Transactions of the Faraday Society 47 (1951) 462 – 500.
- Barb, W., Baxendale, J., George, P., "Reactions of ferrous and ferric ions with hydrogen peroxide .2. The ferrous ion reaction". Transactions of the Faraday Society 47 (1951) 591 – 616.
- Barb, W., Baxendale, J., George, P., "Reactions of ferrous and ferric ions with hydrogen peroxide". Nature 163 (1949) 692 – 694.
- Blanco, J.; "Degradación de un efluente textil real mediante procesos Fenton y Foto-Fenton". Tesis de Máster. Julio 2009.
- Bourrouet A., García J., Mujeriego R., Peñuelas G. 2001. "Faecal bacteria and bacteriophage inactivation in a full-scale UV disinfection system used for wastewater reclamation". Water Science and Technology, 43(10), 187-194.
- Bueno J. L., Sastre, H., Lawing, A. G., "Contaminación e Ingeniería Ambiental. Contaminación de las Aguas". Ed. F.I.C.Y.T. 1997
- Carlberg, D.M. 2005. "Cleanroom Microbiology for the Non-Microbiologist". CRC Press. ISBN 0-8493-1996-X.
- D.O.C.E., *Directiva 82/243/CEE* del Consejo referente a la aproximación de las legislaciones de los Estados Miembros relativas a los métodos de control de la biodegradabilidad de los tensoactivos aniónicos. D.O.C.E, nº L 109 de 22.04.1982.
- D.O.C.E.; *Directiva 91/271/CEE* del consejo, de 21 de Mayo de 1991, sobre el tratamiento de las aguas residuales urbanas. D.O.C.E, nº L 135 de 30.05.1991.
- Eaton, A.D.; Clesceri, L.S.; Rice, E.W.; Greenberg, A.E.; Franson, M.A.H.; "Standard Methods for the examination of water and wastewater", 21th Edition. APA- AWWAWEF. ISBN 0875530478 (2005).
- Environmental Protection Agency, 1999. United States. *Alternative Disinfectants and Oxidants Guidance Manual*.
- Esplugas, S.; Giménez, J.; Contreras, S.; Pascual, E.; Rodríguez, M.; "Comparison of different advanced oxidation processes for phenol degradation". Water Research 36 (2002) 1034–1042.
- Fenton, H.J.H. 1894. "Oxidation of tartaric acid in the presence of iron". Journal of Chemistry Society 65, 899-910.
- Folch, M.; Alcalde, L.; Enguádanos, S.; Salgot, M.; Tapias, J.; Martínez, F. 2008. "Reutilización de efluentes secundarios: sistemas de regeneración. Secondary effluent reuse: Reclamation systems". XXXI Congreso Interamericano Aids, Santiago de Chile.

- Gesche, E.; Vallejos, A.; Saez, M.; “Eficiencia de anaerobios sulfito-reductores como indicadores de calidad sanitaria del agua. Método del número más probable (NMP)”. 2003. Arch. Med. Vet., 35(1), 99-107.
- Glaze, W.H. 1987. “*Drinking water treatment with ozone*”. Environmental Science and Technology, 21, 224-230.
- González, T.; Dominguez, J.; Beltrán-Heredia, J.; Garcia, H.; Sanchez-Lavado, F.; “*Aluminium sulfate as coagulant for highly polluted cork processing wastewater: evaluation of settleability parameters and design of a clarifier-thickener unit*”. Water Research 31 (2006) 932-941.
- Guerrero, L.; Ortega, J.M.; Sanz, J.; “*Tratamientos de regeneración de aguas residuales depuradas para la recarga de acuíferos. Filtración granular y sistemas integrados de membranas*”. Tecnología de la intrusión de agua de mar en acuíferos costeros: países mediterráneos (2003).
- Guimaraes, J.R.; Ibáñez, J.; Litter, M.I.; Pizarro, R.; “*Desinfección de agua. Eliminación de contaminantes por fotocátalisis heterogénea*”. 2001. Libro colectivo CYTED. Editado por Miguel A. Blesa. ISBN: 987-43-3809-1.
- Hassanli, A.; Javan, M.; Saadat, Y.; “*Reuse of municipal effluent with drip irrigation and evaluation the effect on soil properties in a semi-arid area*”. Environmental Monitoring and Assessment, 144 (2008) 151-158.
- Iglesias. Jornadas técnicas de reutilización del agua. Lloret de Mar, Girona, (2005).
- Jordán, Y.; “*Regeneración de aguas residuales urbanas para su reutilización*” (2008).
- Kadam, A.; Oza, G.; Nemade, P.; Shankar, H.; “*Pathogen Removal from Municipal Wastewater in Constructed Soil Filter*”. Ecological Engineering, 33(1) (2008) 37-44.
- Kiwi, J.; Pulgarin, C.; Peringer, P.; Gratzel, M.; “*Beneficial effects of homogeneous photo-Fenton pretreatment upon the biodegradation of anthraquinone sulfonate in waste water treatment*”. Applied Catalysis B: Environmental, 3 (1993) 85-99.
- Koning, J.; Bixio, D.; Karabelas, A.; Salgot, M.; Schäfer, A.; “*Characterisation and assessment of water treatment technologies for reuse*”. Science Direct (2006).
- Lambert, R.; Johnston, M.; Simons, E.; “*A kinetic study of the effect of hydrogen peroxide and peracetic acid against Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa using the Bioscreen disinfection Method*”. Journal of Applied Microbiology 87 (1999) 782–786.
- Lanao M., Ormad M. P., Goñi P., Miguel N., Ovelleiro J. L. 2007. International Conference & Exhibition. Sustainable Agri-Food Industry. Use of Ozone & Related Oxidants. Valencia.
- Lanao, M. 2007. “*Estudio de la eliminación de Clostridium perfringens en potabilización de aguas*”. DEA.
- Lapertot, M.; Pulgarín, C.; Fernández-Ibáñez, P.; Maldonado, M.; Pérez-Estrada, L.; Oller, I.; Gernjak, vW.; Malato, S.; “*Enhancing biodegradability of priority substances (pesticides) by solar photo-Fenton*”. Water Research 40 (2006) 1086 – 1094.
- Liou, M.; Lu, M.; Chen, J.; “*Oxidation of explosives by Fenton and photo-Fenton processes*”. Water Research 37 (2003) 3172–3179.
- Liou, M.; Lu, M.; Chen, J.; “*Oxidation of TNT by photo-Fenton process*”. Chemosphere 57 (2004) 1107–1114.

- Louwen, S. Septiembre 2010. *“Eliminación de Enterococos en aguas de salida de depuradoras mediante procesos Fenton y Foto-Fenton”*. Proyecto Fin de Carrera.
- Malato, S.; Fernández-Ibáñez, P.; Maldonado, M.; Blanco, J.; Gernjak, W.; *“Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends”*. Catalysis Today 147 (2009) 1–59.
- Martínez, F.; Melero, J. A.; Botas, J. A.; Pariente, M. I.; Molina, R.; *“Treatment of phenolic effluents by catalytic wet hydrogen peroxide oxidation over Fe_2O_3 /SBA-15 extruded catalyst in a fixed-bed reactor”*. Industrial & Engineering Chemistry Research 46 (2007) 4396-4405.
- Martínez; López. 2001. *“Efecto de hidrocarburos en las propiedades físicas y químicas de suelo arcilloso”*. Terra 19, 9-17.
- Meier, L.; Koob, C.; Ludwig, W.; Amman, R.; Frahm, E.; Hoffmann, S.; Obst, U; Schleifer, K.H. 1997. *“Detection of enterococci with rRNA targeted DNA probes and their use for hygienic drinking water control”*. Water Science and Technology. 35(11-12), 437-444.
- Moncayo-Lasso, A.; Sanabria, J.; Pulgarín, C.; Benítez, N.; *“Simultaneous E. coli inactivation and NOM degradation in river water via photo-Fenton process at natural pH in solar CPC reactor. A new way for enhancing solar disinfection of natural water”*. Chemosphere 77 (2009) 296–300.
- Morales, M. Septiembre 2010. *“Aplicación de procesos de coagulación-floculación en la regeneración de aguas depuradas”*. Proyecto Fin de Carrera.
- Mosteo, R.; Ormad, P.; Mozas, E.; Sarasa, J.; Ovelleiro, J.; *“Factorial experimental design of winery wastewaters treatment by heterogeneous photo-Fenton process”*. Water Research 40 (2006) 1561 – 1568.
- Murray, C.; Parsons, S.; *“Removal of NOM from drinking water: Fenton’s and photo-Fenton’s processes”*. Chemosphere 54 (2004) 1017–1023.
- OMS. 1995. *“Guías para la calidad del agua potable. Vol 1. Recomendaciones”*. ISBN: 92-4-354460-8.
- Ormad, P.; Mosteo, R.; Ibarz, C.; Ovelleiro, J.; *“Multivariate approach to the photo-Fenton process applied to the degradation of winery wastewaters”*. Applied Catalysis B: Environmental 66 (2006) 58–63.
- Pedro, T. Junio 2010. *“Estudio de la degradación de sustancias peligrosas presentes en aguas de salida de EDAR mediante tratamientos basados en luz UV”*. Proyecto Fin de Carrera.
- Regalado, E. Noviembre 2008. *“Eliminación de Enterococos en aguas naturales mediante técnicas de oxidación avanzadas basadas en ozono, peróxido de hidrógeno y dióxido de titanio”*. Proyecto Fin de Carrera.
- Richardson, S.; Plew, M.; Wagner, E.; Schoeny, R.; DeMarini, D.; *“Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in drinking water: A review and roadmap for research”*. Mutation Research 636 (2007) 178–242.
- Rincón, A.; Pulgarín, C.; *“Absence of E. coli regrowth after Fe^{3+} and TiO_2 solar photoassisted disinfection of water in CPC solar photoreactor”*. Catalysis Today 124 (2007) 204–214.
- Rincón, A.; Pulgarín, C.; *“Comparative evaluation of Fe^{3+} and TiO_2 photoassisted processes in solar photocatalytic disinfection of water”*. Applied Catalysis B: Environmental 63 (2006) 222–231.

- Rodríguez, M.; Malato, S.; Pulgarin, C.; Contreras, S.; Curcó, D.; Giménez, J.; Esplugas, S.; "Optimizing the solar photo-Fenton process in the treatment of contaminated water. Determination of intrinsic kinetic constants for scale-up". *Solar Energy* 79 (2005) 360–368.
- Spuhler, D.; Rengifo-Herrera, J.; Pulgarin, C.; "The effect of Fe^{2+} , Fe^{3+} , H_2O_2 and the photo-Fenton reagent at near neutral pH on the solar disinfection (SODIS) at low temperatures of water containing *Escherichia coli* K12". *Applied Catalysis B: Environmental* 96 (2010) 126–141.
- Sun, J.; Sun, S.; Fan, M.; Guo, M.; Qiao, L.; Sun, R.; "A kinetic study on the degradation of p-nitroaniline by Fenton oxidation process". *Journal of Hazardous Materials* 148 (2007) 172–177.
- Szpyrkowicz, L.; Juzzolino, C.; Kaul, S.; "A comparative study on oxidation of disperses dyes by electrochemical process, ozone, hypochlorite and Fenton reagent". *Water Research* 35 (2001) 2129–2136.
- Thiruvengkatachari, R.; Kwon, T.; Jun, J.; Balaji, S.; Matheswaran, M.; Moon, S.; "Application of several advanced oxidation processes for the destruction of terephthalic acid (TPA)". *Journal of Hazardous Materials* 142 (2007) 308–314.
- Tortor, G.J.; Funke, B.R.; Case C.L.; "Introducción a la microbiología". 1993. Editorial ACRIBIA, S.A. Zaragoza.
- Walling, C. 1975. "Fenton's reagent revisited". *Accounts. Chemical Research*, 9, 125- 131.
- Wang, Q.; Lemley, A.T.; "Oxidation of diazinon by anodic Fenton treatment". *Water Research*, 36 (2002) 3237-3244.
- www.mma.es, página principal del ministerio del Medio Ambiente y Medio rural y Marino. Última consulta, Julio 2011.
- Yuranova, T.; Mosteo, R.; Bandara, J.; Laub, D.; Kiwi, J.; "Self-cleaning cotton textiles surfaces modified by photoactive SiO_2/TiO_2 coating". *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* 244 (2006) 160–167.

ANEXOS

ANEXO I

Requisitos de calidad para aguas
regeneradas (RD 1620/2007)

Anexo I: Requisitos de calidad para aguas regeneradas

Los criterios de calidad para la reutilización de las aguas según sus usos de acuerdo con el RD 1620/2007 son los siguientes:

USO DEL AGUA PREVISTO	VALOR MÁXIMO ADMISIBLE (VMA)				
	NEMATODOS INTESTINALES ¹	ESCHERICHIA COLI	SÓLIDOS EN SUSPENSIÓN	TURBIDEZ	OTROS CRITERIOS
1.- USOS URBANOS					
CALIDAD 1.1: RESIDENCIAL ² a) Riego de jardines privados. ³ b) Descarga de aparatos sanitarios. ³	1 huevo/10 L	0 (UFC ⁴ /100 mL)	10 mg/L	2 UNT ⁵	OTROS CONTAMINANTES ⁶ contenidos en la autorización de vertido de aguas residuales: se deberá limitar la entrada de estos contaminantes al medio ambiente. En el caso de que se trate de sustancias peligrosas ⁷ deberá asegurarse el respeto de las NCAs. ⁸ <i>Legionella spp.</i> 100 UFC/L (si existe riesgo de aerosolización)
CALIDAD 1.2: SERVICIOS a) Riego de zonas verdes urbanas (parques, campos deportivos y similares). ⁹ b) Baldeo de calles. ⁹ c) Sistemas contra incendios. ⁹ d) Lavado industrial de vehículos. ⁹	1 huevo/10 L	200 UFC/100 mL	20 mg/L	10 UNT	

¹ Considerar en todos los grupos de calidad al menos los géneros: *Ancylostoma*, *Trichuris* y *Ascaris*.

² Deben someterse a controles que aseguren el correcto mantenimiento de las instalaciones.

³ Su autorización estará condicionada a la obligatoriedad de la presencia doble circuito señalizado en todos sus tramos hasta el punto de uso.

⁴ Unidades Formadoras de Colonias.

⁵ Unidades Nefelométricas de Turbiedad.

⁶ ver el Anexo II del RD 849/1986, de 11 de abril.

⁷ ver Anexo IV del RD 907/2007, de 6 de julio.

⁸ Norma de calidad ambiental ver el artículo 245.5.a del RD 849/1986, de 11 de abril, modificado por el RD 606/2003 de 23 de mayo.

⁹ Cuando exista un uso con posibilidad de aerosolización del agua, es imprescindible seguir las condiciones de uso que señale, para cada caso, la autoridad sanitaria, sin las cuales, esos usos no serán autorizados.

USO DEL AGUA PREVISTO	VALOR MÁXIMO ADMISIBLE (VMA)				
	NEMATODOS INTESTINALES	ESCHERICHIA COLI	SÓLIDOS EN SUSPENSIÓN	TURBIDEZ	OTROS CRITERIOS
2.- USOS AGRÍCOLAS¹					
CALIDAD 2.1 ² a) Riego de cultivos con sistema de aplicación del agua que permita el contacto directo del agua regenerada con las partes comestibles para alimentación humana en fresco.	1 huevo/10 L	100 UFC/100 mL Teniendo en cuenta un plan de muestreo a 3 clases ³ con los siguientes valores: n = 10 m = 100 UFC/100 mL M = 1.000 UFC/100 mL c = 3	20 mg/L	10 UNT	OTROS CONTAMINANTES contenidos en la autorización de vertido de aguas residuales: se deberá limitar la entrada de estos contaminantes al medio ambiente. En el caso de que se trate de sustancias peligrosas deberá asegurarse el respeto de las NCAs. <i>Legionella spp.</i> 1.000 UFC/L (si existe riesgo de aerosolización) Es obligatorio llevar a cabo la detección de patógenos Presencia/Ausencia (<i>Salmonella</i> , etc.) cuando se repita habitualmente que c=3 para M=1.000

¹ Características del agua regenerada que requieren información adicional: Conductividad: 3,0 dS/m; Relación de Adsorción de Sodio (RAS): 6 meq/L; Boro: 0,5 mg/L; Arsénico: 0,1 mg/L; Berilio: 0,1 mg/L; Cadmio: 0,01 mg/L; Cobalto: 0,05 mg/L; Cromo: 0,1 mg/L; Cobre: 0,2 mg/L; Manganeseo: 0,2 mg/L; Molibdeno: 0,01 mg/L; Níquel: 0,2 mg/L; Selenio: 0,02 mg/L; Vanadio: 0,1 mg/L. Para el cálculo de RAS se utilizará la fórmula:

$$RAS \text{ (meq / L)} = \frac{[Na]}{\frac{[Ca] + [Mg]}{2}}$$

² Cuando exista un uso con posibilidad de aerosolización del agua, es imprescindible seguir las condiciones de uso que señale, para cada caso, la autoridad sanitaria, sin las cuales, esos usos no serán autorizados.

³ Siendo n: nº de unidades de la muestra; m: valor límite admisible para el recuento de bacterias; M: valor máximo permitido para el recuento de bacterias; c: número máximo de unidades de muestra cuyo número de bacterias se sitúa entre m y M.

Anexol: Requisitos de calidad para aguas regeneradas

USO DEL AGUA PREVISTO	VALOR MÁXIMO ADMISIBLE (VMA)				
	NEMATODOS INTESTINALES	ESCHERICHIA COLI	SÓLIDOS EN SUSPENSIÓN	TURBIDEZ	OTROS CRITERIOS
CALIDAD 2.2 a) Riego de productos para consumo humano con sistema de aplicación de agua que no evita el contacto directo del agua regenerada con las partes comestibles, pero el consumo no es en fresco sino con un tratamiento industrial posterior. b) Riego de pastos para consumo de animales productores de leche o carne. c) Acuicultura.	1 huevo/10 L	1.000 UFC/100 mL Teniendo en cuenta un plan de muestreo a 3 clases ¹ con los siguientes valores: n = 10 m = 1.000 UFC/100 mL M = 10.000 UFC/100 mL c = 3	35 mg/L	No se fija límite	OTROS CONTAMINANTES contenidos en la autorización de vertido aguas residuales: se deberá limitar la entrada de estos contaminantes al medio ambiente. En el caso de que se trate de sustancias peligrosas deberá asegurarse el respeto de las NCAs. <i>Taenia saginata</i> y <i>Taenia solium</i> : 1 huevo/L (si se riegan pastos para consumo de animales productores de carne) Es obligatorio llevar a cabo detección de patógenos Presencia/Ausencia (<i>Salmonella</i> , etc.) cuando se repita habitualmente que c=3 para M=10.000
CALIDAD 2.3 a) Riego localizado de cultivos leñosos que impida el contacto del agua regenerada con los frutos consumidos en la alimentación humana. b) Riego de cultivos de flores ornamentales, viveros, invernaderos sin contacto directo del agua regenerada con las producciones. c) Riego de cultivos industriales no alimentarios, viveros, forrajes ensilados, cereales y semillas oleaginosas.	1 huevo/10 L	10.000 UFC/100 mL	35 mg/L	No se fija límite	OTROS CONTAMINANTES contenidos en la autorización de vertido aguas residuales: se deberá limitar la entrada de estos contaminantes al medio ambiente. En el caso de que se trate de sustancias peligrosas deberá asegurarse el respeto de las NCAs. <i>Legionella spp.</i> 100 UFC/L

¹ Siendo n: nº de unidades de la muestra; m: valor límite admisible para el recuento de bacterias; M: valor máximo permitido para el recuento de bacterias; c: número máximo de unidades de muestra cuyo número de bacterias se sitúa entre m y M.

USO DEL AGUA PREVISTO	VALOR MÁXIMO ADMISIBLE (VMA)				
	NEMATODOS INTESTINALES	ESCHERICHIA COLI	SÓLIDOS EN SUSPENSIÓN	TURBIDEZ	OTROS CRITERIOS
3.- USOS INDUSTRIALES					
CALIDAD 3.1¹ a) Aguas de proceso y limpieza excepto en la industria alimentaria. b) Otros usos industriales.	No se fija límite	10.000 UFC/100 mL	35 mg/L	15 UNT	OTROS CONTAMINANTES contenidos en la autorización de vertido aguas residuales: se deberá limitar la entrada de estos contaminantes al medio ambiente. En el caso de que se trate de sustancias peligrosas deberá asegurarse el respeto de las NCAs. <i>Legionella spp.</i> : 100 UFC/L
c) Aguas de proceso y limpieza para uso en la industria alimentaria	1 huevo/10 L	1.000 UFC/100 mL Teniendo en cuenta un plan de muestreo a 3 clases ² con los siguientes valores: n = 10 m = 1.000 UFC/100 mL M = 10.000 UFC/100 mL c = 3	35 mg/L	No se fija límite	OTROS CONTAMINANTES contenidos en la autorización de vertido aguas residuales: se deberá limitar la entrada de estos contaminantes al medio ambiente. En el caso de que se trate de sustancias peligrosas deberá asegurarse el respeto de las NCAs. <i>Legionella spp.</i> : 100 UFC/L Es obligatorio llevar a cabo detección de patógenos Presencia/Ausencia (<i>Salmonella</i> , etc.) cuando se repita habitualmente que c=3 para M=10.000
CALIDAD 3.2 a) Torres de refrigeración y condensadores evaporativos.	1 huevo/10 L	Ausencia UFC/100 mL	5 mg/L	1 UNT	<i>Legionella spp.</i> : Ausencia UFC/L Para su autorización se requerirá: - La aprobación, por la autoridad sanitaria, del Programa específico de control de las instalaciones contemplado en el Real Decreto 865/2003, de 4 de julio, por el que se establecen los criterios higiénico-sanitarios para la prevención y control de la legionelosis. - Uso exclusivamente industrial y en localizaciones que no estén ubicadas en zonas urbanas ni cerca de lugares con actividad pública o comercial.

¹ Cuando exista un uso con posibilidad de aerosolización del agua, es imprescindible seguir las condiciones de uso que señale, para cada caso, la autoridad sanitaria, sin las cuales, esos usos no serán autorizados

² Siendo n: nº de unidades de la muestra; m: valor límite admisible para el recuento de bacterias; M: valor máximo permitido para el recuento de bacterias; c: número máximo de unidades de muestra cuyo número de bacterias se sitúa entre m y M.

USO DEL AGUA PREVISTO	VALOR MÁXIMO ADMISIBLE (VMA)				
	NEMATODOS INTESTINALES	ESCHERICHIA COLI	SÓLIDOS EN SUSPENSIÓN	TURBIDEZ	OTROS CRITERIOS
4.- USOS RECREATIVOS					
CALIDAD 4.1¹ a) Riego de campos de golf.	1 huevo/10 L	200 UFC/100 mL	20 mg/L	10 UNT	OTROS CONTAMINANTES contenidos en la autorización de vertido aguas residuales: se deberá limitar la entrada de estos contaminantes al medio ambiente. En el caso de que se trate de sustancias peligrosas deberá asegurarse el respeto de las NCAs. Si el riego se aplica directamente a la zona del suelo (goteo, microaspersión) se fijan los criterios del grupo de Calidad 2.3 <i>Legionella spp.</i> : 100 UFC/L (si existe riesgo de aerosolización)
CALIDAD 4.2 a) Estanques, masas de agua y caudales circulantes ornamentales, en los que está impedido el acceso del público al agua.	No se fija límite	10.000 UFC/100 mL	35 mg/L	No se fija límite	OTROS CONTAMINANTES contenidos en la autorización de vertido aguas residuales: se deberá limitar la entrada de estos contaminantes al medio ambiente. En el caso de que se trate de sustancias peligrosas deberá asegurarse el respeto de las NCAs. P ₁ : 2 mg P/L (en agua estancada)

¹ Cuando exista un uso con posibilidad de aerosolización del agua, es imprescindible seguir las condiciones de uso que señale, para cada caso, la autoridad sanitaria, sin las cuales, esos usos no serán autorizados

USO DEL AGUA PREVISTO	VALOR MÁXIMO ADMISIBLE (VMA)				
	NEMATODOS INTESTINALES	ESCHERICHIA COLI	SÓLIDOS EN SUSPENSIÓN	TURBIDEZ	OTROS CRITERIOS
5.- USOS AMBIENTALES					
CALIDAD 5.1 a) Recarga de acuíferos por percolación localizada a través del terreno.	No se fija límite	1.000 UFC/100 mL	35 mg/L	No se fija límite	N _T ¹ : 10 mg N/L NO ₃ : 25 mg NO ₃ /L Art. 257 a 259 del RD 849/1986
CALIDAD 5.2 a) Recarga de acuíferos por inyección directa.	1 huevo/10 L	0 UFC/100 mL	10 mg/L	2 UNT	
CALIDAD 5.3 a) Riego de bosques, zonas verdes y de otro tipo no accesibles al público. b) Silvicultura.	No se fija límite	No se fija límite	35 mg/L	No se fija límite	OTROS CONTAMINANTES contenidos en la autorización de vertido aguas residuales: se deberá limitar la entrada de estos contaminantes al medio ambiente. En el caso de que se trate de sustancias peligrosas deberá asegurarse el respeto de las NCAs.
CALIDAD 5.4 a) Otros usos ambientales (mantenimiento de humedales, caudales mínimos y similares).	La calidad mínima requerida se estudiará caso por caso				

¹ Nitrógeno total, suma del nitrógeno inorgánico y orgánico presente en la muestra

ANEXO II

Microbiología de las aguas

Anexo II: Microbiología de las aguas

Las características biológicas y microbiológicas del agua vienen regidas por la población de microorganismos acuáticos que alberga y que afectan de un modo muy importante a su calidad. Algunos de estos microorganismos pueden dañar de forma más o menos grave la salud humana, tanto por sí mismos como mediante la producción de toxinas durante su ciclo vital, dando lugar a las denominadas enfermedades de transmisión hídrica. Éstas tienen una incidencia especialmente acusada en los países en vías de desarrollo, e incluso cada vez más frecuentemente en los desarrollados. En los países en vías de desarrollo se estima que el 80% de las enfermedades y más de un tercio de las muertes están asociadas a la utilización y consumo de aguas contaminadas (Guimaraes et al, 2001).

Las enfermedades de transmisión hídrica componen un grupo importante de enfermedades que suelen aparecer en brotes epidémicos, algunos de ellos de graves consecuencias para amplios grupos poblacionales, y cuya común particularidad es que se transmiten a través de aguas contaminadas por distintos agentes biológicos (microorganismos patógenos) y se manifiestan por cuadros importantes de diarreas agudas.

La forma más peligrosa de contaminación de agua es la que se produce, a través de la transmisión fecal-oral, mediante la cual un microorganismo patógeno eliminado en las heces humanas o de animales contamina el medio acuático y luego es ingerido.

En términos globales se estima que las enfermedades transmitidas por el agua son responsables de más de 2 millones de muertes anuales, en especial en niños menores de 5 años. Esto equivale a un choque de 20 aviones por día y representa un 15% de todas las muertes en el grupo de edad mencionado (Tortor et al, 1993).

Los microorganismos patógenos se transmiten sobre todo por la ingestión del agua que los contenga, aunque también se pueden transmitir por contacto con personas o animales infectados, o por exposición a aerosoles ricos en estos patógenos. Por otro lado, el contenido microbiológico de un agua puede afectar al desarrollo posterior de olores y sabores en esa agua, incluso después de su correcta potabilización.

Los microorganismos más numerosos que pueden albergar las diferentes masas de agua existentes en nuestro planeta se pueden clasificar en bacterias, protozoos y virus (EPA 1999).

Bacterias

Las bacterias son microorganismos procariotas, en general de menor tamaño que los organismos eucariotas, pero mayores que los virus. En función de la naturaleza y tipo de pared celular se pueden agrupar en tres grandes divisiones: *micoplasmas*, que no sintetizan una pared celular y sólo tienen membrana celular; *bacterias Gram-positivas*, que sintetizan una pared celular de una capa; *bacterias Gram-negativas*, que poseen una pared celular con al menos dos capas estructuralmente distintas.

Los *micoplasmas* son organismos deformables y frágiles, debido a la ausencia de pared celular. Suelen ser contaminantes habituales de cultivos de tejidos, además de haberse encontrado en otros medios libres (aguas). Sus células pueden ser redondeadas o alargadas e irregulares, o bien filamentosas. Pueden ser móviles o inmóviles. Son los microorganismos más pequeños observables al microscopio óptico.

Las bacterias *Gram-positivas* pueden ser aerobias o anaerobias. También se pueden diferenciar según la forma que presentan: pueden ser esféricas (cocos) o alargadas (bacilos). En algunos casos forman endosporas resistentes al calor, la radiación y los agentes tóxicos. Por otro lado, muchas bacterias *Gram-positivas* unicelulares pueden ser inmóviles o bien móviles mediante flagelos. Las bacterias *Gram-negativas* son un grupo muy diverso de microorganismos, algunos de los cuales tienen flagelos para moverse, en diferente número y morfología, bien insertados en una zona determinada de la superficie celular (flagelación polar) o distribuidos por toda la pared celular (flagelación peritrica).

Para clasificar las bacterias en *Gram-positivas* y *Gram-negativas*, se usa un tipo de tinción especial, la tinción de Gram, que sirve para poner de manifiesto la estructura de la pared celular del individuo. La tinción de Gram fue desarrollada por el bacteriólogo danés Hans Christian Gram en 1884 y es uno de los procedimientos de tinción más útiles porque permite clasificar las bacterias en dos grandes grupos: *Gram-positivas* y *Gram-negativas*. El procedimiento completo llevado a cabo en la realización de una tinción de Gram puede observarse en la Figura II.1., así como los cambios de color producidos en las bacterias según su clasificación.

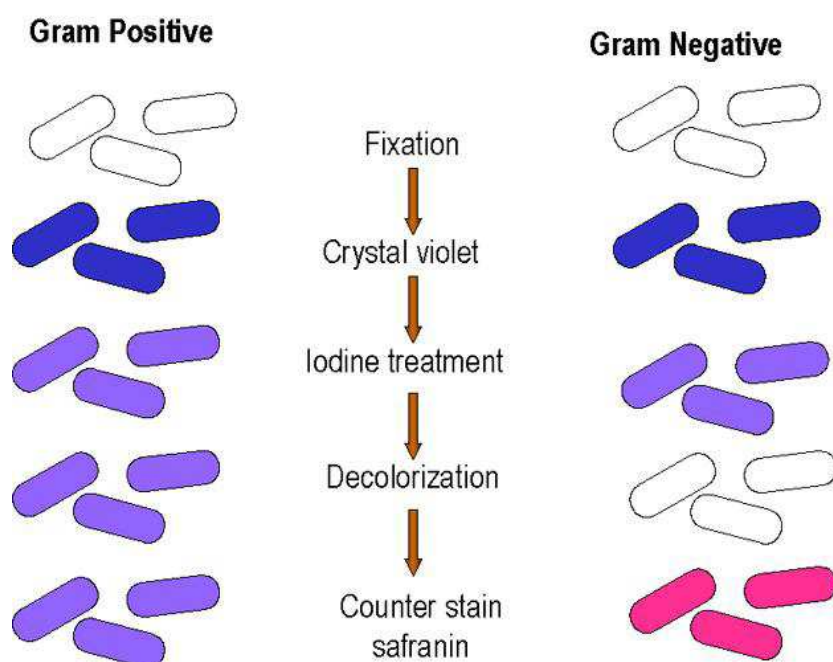


Figura II.1. Procedimiento y cambios de color en la tinción de Gram

En primer lugar se realiza un frotis de un cultivo de las bacterias a estudiar en un porta. Cuando la muestra está seca se prosigue con la tinción. El primer colorante usado es el denominado colorante primario, violeta de genciana, el cual imparte su color a todas las células. Tras un minuto, se lava el porta con agua destilada y se añade yodo. Este compuesto da a todas las bacterias un color violeta oscuro. Tras otro minuto, se vuelve a lavar el porta y se añade un agente decolorante el cual únicamente elimina el color violeta de las células *Gram-negativas*. Este decolorante puede ser alcohol o una mezcla alcohol-acetona. En este punto de la tinción, las bacterias *Gram-positivas* siguen siendo violetas mientras que las *Gram-negativas* son incoloras y por consiguiente son invisibles al microscopio. Por último, se elimina el alcohol con agua y se añade safranina, un colorante denominado de contraste. Se lava el porta y se seca. El motivo de la adición de este último colorante es conseguir que las bacterias *Gram-negativas* sean visibles al microscopio, tomando un tono rosado. Las bacterias *Gram-positivas* por su parte conservarán el color violeta que ya tenían (Figura II.2).

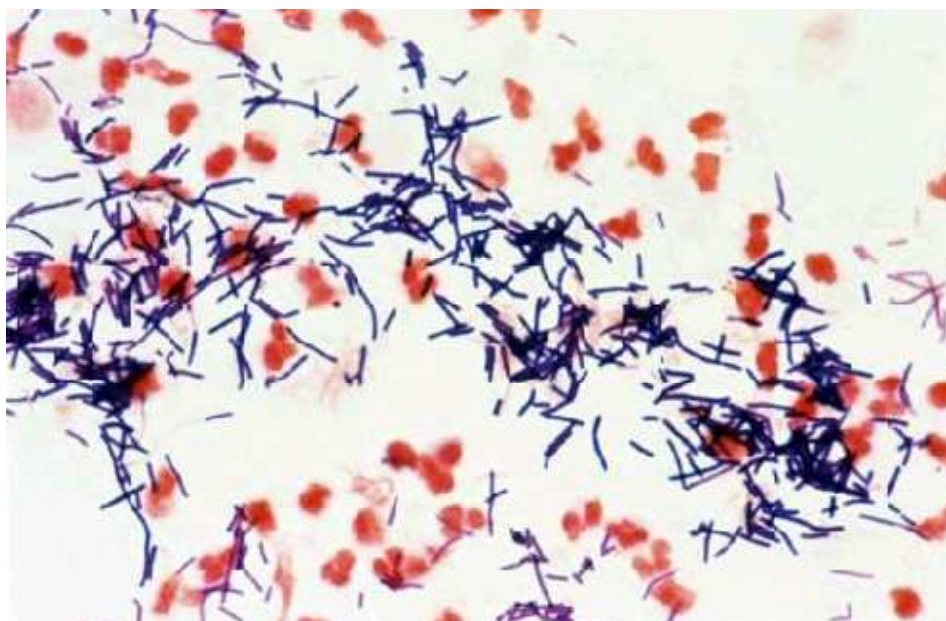


Figura II.2. Tinción de Gram

La diferencia principal de los dos tipos de bacterias es que las *Gram-negativas* se decoloran con alcohol, mientras que las *Gram-positivas* no lo hacen. Esto se debe a que en las bacterias *Gram-positivas* la red de peptidoglucanos (disacáridos y aminoácidos) origina varias capas superpuestas, es gruesa y homogénea y no hay membrana externa; mientras que en las bacterias *Gram-negativas* hay una única capa de peptidoglucanos sobre la que se dispone una membrana externa constituida por una capa de fosfolípidos y otra de glicolípidos, asociados a polisacáridos, que se proyectan hacia el exterior. Por tanto, al ser la capa de peptidoglucanos más delgada en las bacterias *Gram-negativas*, el complejo de gran tamaño formado por el violeta de genciana y el yodo (complejo CV-I) se elimina sin problemas ya que el alcohol altera la capa externa de lipopolisacáridos.

Protozoos

Se trata de un grupo variado de células eucariotas, típicamente móviles y no fotosintéticas. Se pueden considerar cuatro grupos principales de protozoos: flagelados, flagelados ameboides, ciliados y parásitos. Este último grupo tiene especial incidencia en patogenicidad de aguas destinadas al consumo humano. Dos ejemplos importantes son *Cryptosordium parvum* y *Giardia lamblia*.

Virus

Microorganismos acelulares ubicados en la frontera entre la vida y el mundo inorgánico (materia inerte). No son capaces de vivir ni reproducirse si no es parasitando células a las que ocasiona su destrucción. Están compuestos por el virión (integrado por ácido nucleico ADN o ARN) y una cápside proteica. Su tamaño es extremadamente pequeño, oscilando entre las 20 milimicras y las 300 milimicras. Su descubrimiento se puso de manifiesto dado que eran tan pequeños que atravesaban los filtros que retenían las bacterias.

Los virus se clasifican atendiendo al tipo de ácido nucleico que los conforma y a su morfología, la cual responde a tres formas principales: simetría icosaédrica, helicoidal y compleja.

Muchas especies de virus se transmiten vía aguas naturales, ríos, arroyos, lagos y embalses. En concreto, los virus acuáticos suelen ser parásitos de organismos superiores, de organismos o microorganismos típicamente encontrados en aguas.

A diferencia de las bacterias, los virus son siempre nocivos y provocan enfermedades a todo organismo al que atacan. Enfermedades tan comunes como la gripe, el catarro, el sarampión o la viruela, son debidas a virus.

Indicadores microbiológicos de contaminación fecal

Escherichia coli

Pertenece al grupo de los coliformes que se definen como bacterias aeróbicas o anaeróbicas facultativas, *Gram-negativas*, que no crean endosporas, con forma de bacilo y que fermentan la lactosa formando gas a las 48 horas de ser cultivadas en caldo lactosado a 35°C. Es uno de los habitantes más comunes del tracto intestinal humano y animal, y el más estudiado en microbiología. De hecho, la concentración de esta bacteria en las heces de origen humano y animal es muy elevada, del orden de 10⁹ por gramo (OMS, 1995). Esta bacteria es una herramienta importante en la investigación biológica básica. En 1895 se propuso una prueba *E.coli* para determinar la potabilidad del agua de bebida (Gesche et al., 2003).

No suele ser un organismo patógeno pero puede causar infecciones urinarias y ciertas cepas segregan enterotoxinas que producen diarreas y en ocasiones enfermedades muy graves transmitidas por los alimentos.

Clostridium perfringens

El género *Clostridium* se define como bacteria *Gram-positiva*, de forma bacilar y anaerobia estricta, aunque puede resistir concentraciones más o menos fuertes de oxígeno. Todos los *Clostridium* forman una espora, circular u oval, a menudo deformante. El hecho de formar esporas es lo que les confiere una mayor resistencia ante las condiciones adversas del medio, como la resistencia al calor y a varias sustancias químicas. Pueden ser móviles (debido a la presencia de cilios peritricos) o inmóviles.

Las enfermedades relacionadas con esta bacteria son el tétanos, el botulismo y la gangrena gaseosa. Estas bacterias también son causa frecuente de diarrea transmitida por los alimentos.

Enterococcus sp.

El género *Enterococcus* está formado por bacterias esféricas u ovoides (cocos), que se encuentran aisladas, formando pares (diplococos) o cadenas cortas. Son *Gram-positivos*, no formadores de esporas, catalasa negativos e inmóviles, y tienen complejos y variables requerimientos nutricionales. Son organismos facultativos anaerobios, por lo que sobreviven bien en ausencia de oxígeno.

Son causantes en la mayoría de los casos de infecciones endógenas, entre ellas, infección del tracto urinario, endocarditis infecciosa, diverticulitis, meningitis, bacteremias e infecciones intrahospitalarias asociadas a procedimientos como instalación de catéteres vasculares, urinarios y neuroquirúrgicos entre otros.

En cuanto al género *Enterococcus* como indicador de contaminación fecal, se ha demostrado que es un indicador muy útil debido a su gran abundancia en las heces y a su gran

capacidad de supervivencia en el medio. La posibilidad de indicar la fuente de contaminación mediante la identificación de estas especies ha llevado a debate si los Enterococos deberían ser considerados indicadores de contaminación fecal más fiables que *E.coli* (Meier et al, 1997). Finalmente, los resultados indican que realmente son un indicador más estable que *E.coli* y que los coliformes fecales. Además son un indicador conservador bajo condiciones de agua salobre.

Pseudomona Aeruginosa

Las *Pseudomonas Aeruginosas* son una bacteria *Gram-negativa*, aeróbica, con motilidad unipolar. Es un patógeno oportunista en humanos y también en plantas. *P. Aeruginosa* es a menudo identificada, de modo preliminar, por su apariencia perlada y olor a uvas in vitro. Esta bacteria es capaz de crecer en combustibles como queroseno o gasóleo, ya que es un microorganismo capaz de nutrirse a partir de hidrocarburos, causando estragos de corrosión microbiana, y creando una gelatina oscura que a veces se identifica inadecuadamente con un alga. Puede causar enfermedades respiratorias graves, como la neumonía.

ANEXO III

Metodología analítica

Anexo III: Metodología analítica

pH y temperatura

El pH es la medida del grado de acidez o alcalinidad de un medio acuoso y se define como: $-\log[H^+]$. Para la determinación del pH se utiliza un pH-metro marca CRISON, modelo GLP. La metodología empleada se basa en el método 4500-HB del *Standard Methods* (APHA, 2005). Antes de la realización de la medida, el aparato debe ser calibrado. Para ello, se utiliza disoluciones tampón de pH 7,00 y 4,01 de la marca CRISON. La temperatura se mide con la sonda de temperatura de este mismo instrumento.

Conductividad

La conductividad es la expresión numérica de la capacidad del agua de transportar la corriente eléctrica. Esta medida indica la cantidad total de iones en el agua. La determinación se realiza mediante un conductímetro de la marca CRISON, modelo Basic 30 (rango 0.01-19999 $\mu S\ cm^{-1}$, error $\leq 0.02\ \mu S\ cm^{-1}$), según la Norma UNE-EN 27888 (AENOR, 1994). Previamente a la medida de la conductividad, el conductímetro se calibra utilizando disolución tampón de 1413 $\mu S\ cm^{-1}$.

Turbidez

Se entiende como turbidez a la propiedad óptica de una muestra de dispersar o absorber la luz en lugar de transmitirla en línea recta. En otros términos, se define como la reducción de la transparencia de un líquido originada por la presencia de materias sin disolver. Para medir este parámetro se utiliza un turbidímetro Hanna LP 2000 (error $\leq 0.2\ NTU$), según la norma ISO 7027 (AENOR, 1999). Previamente a la medida, es necesario calibrar el instrumento con agua destilada. Los resultados se expresan en unidades nefelométricas de turbidez (NTU).

Sólidos en Suspensión

La determinación de los sólidos en suspensión se realiza con un fotómetro multiparamétrico Hach Lange DR 2800 según el método estándar 2540 D (APHA, 2005).

Hierro

La determinación de la concentración de hierro se realiza con un fotómetro multiparamétrico Hanna HI 83099 según el método estándar 315B (EPA, 1999).

La bibliografía consultada en la metodología:

- Environmental Protection Agency.
- Standard methods for the Examination of Water and Wastewater, APHA-AWWA-WPCF. Edición 20.
- Method 2540-D: *Determination of suspended solids. Gravimetric Method.*
- Method 4500 H-B: *Determination of pH. Electrometric method.*
- UNE-EN ISO 7027: *Water Quality-Determination of turbidity* (1999).
- UNE-EN ISO 7888: *Determinación de conductividad por el método electrométrico* (1985).

ANEXO IV

Metodología microbiológica

Anexo IV: Metodología microbiológica

Medios de cultivo

Un medio de cultivo es un material nutritivo artificial preparado para el crecimiento de microorganismos en un laboratorio. Algunas de las bacterias pueden crecer bien en casi cualquier medio de cultivo; otras requieren medios especiales.

A la hora de cultivar una bacteria determinada el medio de cultivo tiene que satisfacer una serie de criterios. Debe contener los nutrientes adecuados para la bacteria específica que se desea desarrollar. También debe contener humedad suficiente, un pH ajustado y una concentración conveniente de oxígeno. El medio en el que se siembra debe ser estéril, es decir, en un principio no debe tener bacterias viables, de modo que el cultivo tenga sólo las bacterias que se agreguen al medio. Por último, el medio de cultivo sembrado debe incubarse a la temperatura adecuada.

Se dispone de una amplia variedad de medios de cultivo para el crecimiento de bacterias en el laboratorio. Casi todos esos medios están deshidratados y sólo precisan el agregado de agua y un proceso de esterilización (Tortor et al, 1993).

Cuando se desea que las bacterias se desarrollen sobre un medio sólido se agrega un agente solidificante como el agar. Es un polisacárido complejo proveniente de un alga marina. Posee algunas propiedades muy importantes que lo convierten en valioso para la microbiología. Pocos microorganismos pueden degradarlo, de modo que permanece en estado sólido. Se licúa a una temperatura de alrededor de 100°C. Para el uso en laboratorio se mantiene en baños de agua a 50°C.

En el estudio llevado a cabo se han utilizado tres tipos de medios de cultivo diferentes, por un lado se utiliza agar nutritivo que permite el crecimiento de cualquier tipo de bacteria y por otro lado se han utilizado agares selectivos tanto para *Pseudomonas* como para *Enterococos*.

Agar nutritivo

Este tipo de agar se utiliza para obtener grandes números de colonias de un determinado tipo de bacteria, a partir de las cuales se procederá a fortificar o dopar las muestras de agua con las que se va a trabajar. Su composición es la que aparece en la Tabla IV.1.

Tabla IV.1. Composición del agar nutritivo

Ingrediente	Cantidad (g/l)
Peptona (proteína parcialmente digerida)	5,0
Extracto de carne	3,0
Cloruro de sodio	8,0
Agar	15,0

Para preparar este agar se añaden 23 gramos del agar deshidratado por cada litro de agua destilada. Se lleva a ebullición y tras esto se esteriliza mediante el autoclave. Después se vierte la cantidad adecuada en las placas Petri dispuestas para el posterior cultivo de bacterias. Se han de incubar entre 24 y 48 horas a una temperatura de 35°C ± 2,0 °C.

Agar Centrimide

Este agar es selectivo de *Pseudomonas* y por lo tanto tiene inhibido el crecimiento de otras bacterias. La composición de este agar es la que figura en la Tabla IV.2.

Tabla IV.2. Composición del agar Centrimide

Ingrediente	Cantidad (gramos/litro)
Peptona	20,0
Cloruro de magnesio	1,4
Sulfato de potasio	10,0
Bromuro de cetilmetil amonio	0,3
Agar	15,0

Para preparar este medio de cultivo es preciso diluir 46,7 gramos del medio deshidratado en un litro de agua que contenga 10 ml de glicerina y llevarlo a ebullición. Tras someterlo al proceso de esterilización en el autoclave se vierte el medio fundido en placas Petri y una vez solidificado se conservan en la nevera hasta su utilización.

Agar Slanetz & Bartley

Al igual que el medio anterior, se trata de un medio selectivo, aunque en este caso es selectivo para *Enterococos*. Su composición es la mostrada en la Tabla IV.3.

Tabla IV.3. Composición del agar Slanetz & Bartley

Ingrediente	Cantidad (gramos/ litro)
Triptosa	20,0
Extracto de levadura	5,0
Glucosa	2,0
Hidrogenofosfato de dipotasio	4,0
Azida de sodio	0,4
Agar	12,0

Métodos de siembra

En el presente trabajo se han utilizado dos métodos de siembra distintos. Por un lado se han realizado siembras en superficie, y por otro, se ha utilizado el método de filtración en membrana.

Método de siembra en superficie

Este método de siembra se utiliza tanto en el caso de agar nutritivo, como cuando se espera una alta concentración de bacterias suspendidas en el agua tratada y por tanto se han de realizar diluciones seriadas como se explica en el siguiente epígrafe.

En el caso del agar nutritivo hablaremos de dos formas de siembra dependiendo de cómo se realice la distribución de la cepa madre sobre la placa. Podemos hablar de siembra por agotamiento (Figura IV.1) o de siembra en estría (Figura IV.2).

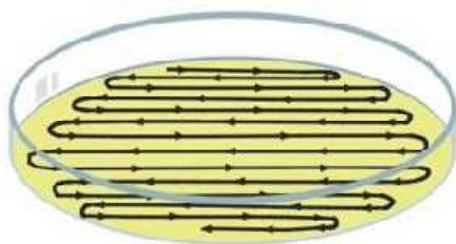


Figura IV.1. Siembra por agotamiento

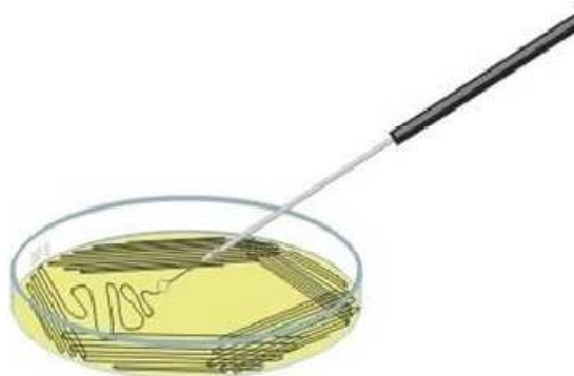


Figura IV.2. Siembra en estría

Para los otros dos tipos de agar, cuando se hable de siembra en superficie, se refiere a una siembra consistente en extender con ayuda de un asa de Drigalski estéril una cantidad determinada de muestra sobre la superficie del medio solidificado contenido en una placa Petri de 90 mm de diámetro.

Método de la dilución seriada

Pese a que la legislación vigente (Real Decreto 140/2003) recomienda un volumen de filtración de 100 mL, en muchos casos esto no es posible. La gran variabilidad de concentraciones de bacterias que presentan las muestras hace necesario trabajar con cantidades más pequeñas e incluso con diluciones que permitan un recuento adecuado puesto que en el método de filtración de membrana sólo serán válidas las placas que contengan entre 15 y 150 colonias, mientras que en el caso de siembra en superficie, este número puede variar entre 30 y 300. Esta técnica se conoce como dilución seriada. La Figura IV.3. muestra cómo proceder con esta técnica.

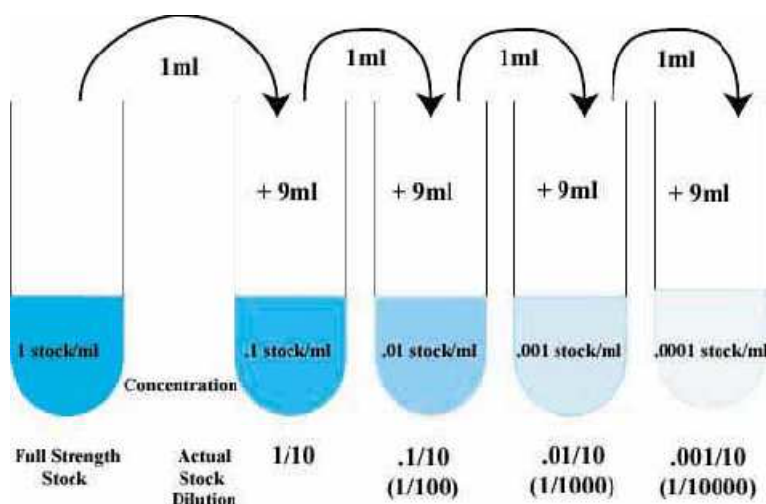


Figura IV.3. Técnica de dilución seriada

Método de filtración en membrana

Este método es un método normalizado que se utiliza cuando las concentraciones esperadas de bacterias son pequeñas. Se utiliza un equipo para filtración en membrana (Millipore) y filtros de membrana estériles de 0,45µm de tamaño nominal de poro (Millipore). Se filtra un volumen de muestra adecuado, y se coloca el filtro de membrana en el medio selectivo. La norma que rige este método de filtración es la UNE-EN ISO 16266:2008 para *Pseudomonas* y la UNE-EN ISO 7899-2 en el caso de *Enterococos*.

ANEXO V

Equipos

Anexo V: Equipos

Cámara solar

Como fuente de radiación UV/VIS se utiliza una cámara solar ATLAS SUNTEST CPS+/XLS+. Esta cámara es un instrumento equipado con una lámpara de xenon utilizado para iluminación y envejecimiento de materiales que puede emplearse como simulador de luz solar natural y que además incluye sistema de agitación, filtro de cuarzo de filtración e irradiación UV, luz visible, control de temperatura, etc. Para su manejo, cuenta con un sistema de medición y regulación de la intensidad de irradiación programable. La irradiación del equipo oscila entre 250 y 785 W/m² con una longitud de onda de 300 a 800 nm. En la Figura V.1. se muestra la cámara solar utilizada y en la Tabla V.1. se muestran las características técnicas de esta cámara solar. Se utiliza un filtro de “vidrio de ventana” de manera que se irradian las muestras con una longitud de onda de 320 a 800 nm, de forma que se simula la radiación solar que alcanza la superficie terrestre y además se limitan las longitudes de onda a aquellas que no son letales para las células. En la Figura V.2. se presentan los espectros de absorción de la lámpara de xenon utilizada en la cámara solar.



Figura V.1. Cámara solar Atlas Suntest CPS+/XLS+

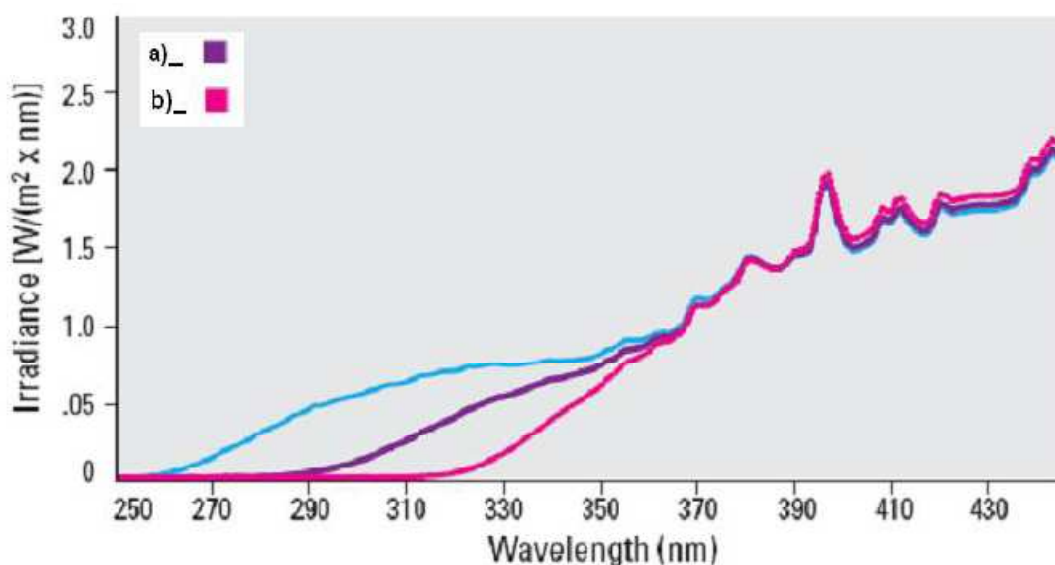


Figura V.2. Radiometría de la luz solar y la lámpara de xenón con y sin filtro de ventana
a) Sin filtro de ventana. b) Con filtro de “vidrio de ventana”

Tabla V.1. Características técnicas de la cámara solar Atlas Suntest CPS+/XLS+

Tensión de la red	
Conexión de la cámara	200 V – 240 V \pm 10%, 50/60 Hz
Conexión del sistema de inundación	200 V – 240 V \pm 10%, 50/60 Hz
Conexión del grupo frigorífico	230 V/50 Hz
Consumo nominal	
Sin sistema de inundación	2.1 KVA
Potencia de la lámpara de xenon	Máximo 1.5 KW
Intensidad de la corriente del equipo	Máximo 4.5 A
Intensidad de inundación	Máximo 8 A
Consumo nominal del refrigerador	2.2 KW
Características radiotécnicas	
Distancia entre eje de la lámpara y nivel de muestras	230 mm
Superficie destinada a la muestra	500 cm ²
Temperatura estándar de cuerpo negro a nivel de muestras	Hasta 100 °C \pm 10%
Intensidad de irradiación regulable de forma continua para la gama de longitudes de onda por debajo de los 800 nm en el sistema de filtros máximo UV	250 W/m ² – 765 W/m ² \pm 10%

Equipo de filtración por membranas

En los casos en los que se precisa realizar la siembra por filtración, se recurre a un equipo compuesto por una rampa de filtración con la cual se filtra a través de un filtro de membrana con un tamaño de poro de 45 μ m utilizando un embudo estéril (Figura V.3.).



Figura V.3. Equipo de filtración por membrana

En primer lugar, se procede a la limpieza de la rampa de filtración que puede llevarse a cabo mediante el uso de alcohol o con la aplicación directa de una llama, con lo que se logrará tener condiciones estériles para trabajar. Una vez limpio, se sitúa un filtro de membrana sobre la rampa de filtración y a continuación se coloca el embudo estéril. Ahora ya está preparado para verter la muestra a filtrar en el embudo, la cual se hará pasar a través del filtro haciendo vacío (Figura V.4).



Figura V.4. Filtración

Cuando toda la muestra ha pasado a través del filtro de membrana, se desecha el filtrado y con ayuda de unas pinzas previamente esterilizadas, se toma el filtro de membrana teniendo precaución de no cogerlo por la zona atravesada por el filtrado, y se deposita sobre una placa Petri preparada para el crecimiento de los microorganismos de interés.

Estufas de cultivo

Las estufas de cultivo utilizadas son de la marca J.P Selecta modelo Incudigit (Figura V.5). Se caracterizan por ser estufas a convección natural pudiendo regularse la temperatura así como el tiempo, siendo la lectura de ambos parámetros digital. La resolución es de 0,1°C. Las temperaturas pueden regularse entre +5°C hasta +80°C, siendo la estabilidad alcanzada de $\pm 0,5^\circ\text{C}$ y la homogeneidad de $\pm 2\%$ a la temperatura de trabajo. Por su parte el error de consigna cometido será de un $\pm 2\%$ a la temperatura de trabajo. Al tratarse de una estufa para cultivo bacteriológico, posee una puerta interior de cristal templado que favorece la estabilidad de la temperatura en la estufa, evitando oscilaciones que podrían afectar a los cultivos.



Figura V.5. Estufa de cultivo Incudigit

Autoclave

El autoclave corresponde al modelo Presoclave II perteneciente a la empresa J.P Selecta. Se trata de un autoclave vertical con una capacidad de 50 litros, y un rango de trabajo de entre 115°C y 134°C (0,62-2 bar). La rutina de trabajo seguida por este aparato es la que se muestra en la Figura V.6.

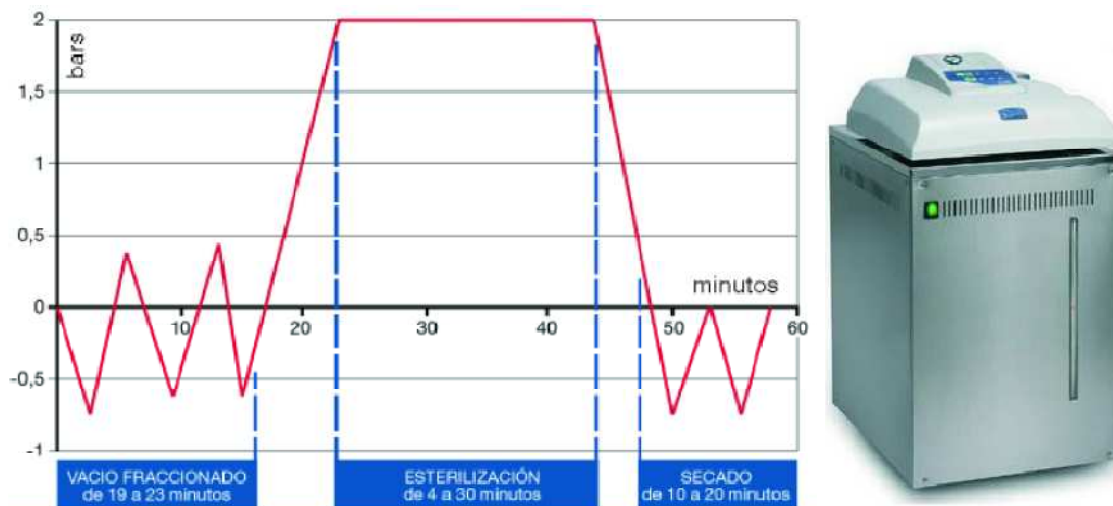


Figura V.6. Método de operación del autoclave

Microscopio óptico

El microscopio óptico utilizado en las pruebas de confirmación bacteriológicas como la tinción de Gram es de la marca Zeiss y corresponde al modelo Axiostar Plus. Este microscopio se caracteriza por usar una lámpara de 20 W para la iluminación y tener tubos binoculares de 10 aumentos. Los objetivos utilizados son de 10, 40 y 100 (inmersión en aceite) aumentos. (Figura V.7).



Figura V.7. Microscopio óptico

Cabina de flujo laminar

Se trata de una cabina de flujo laminar vertical con filtro absoluto HEPA H-14 (Figura V.8.) con una eficacia mínima del 99,995% para partículas de 0,3 µm y superior en el resto de tamaños tanto superiores como inferiores. Asegura la fiabilidad de los ensayos creando un ambiente estéril de Clase ISO 5 (antigua Clase100) en pureza de aire, garantizando la descontaminación después de cada trabajo gracias a la acción de a lámpara germicida UV. Todo ello en cumplimiento con las actuales normas: EN-1822, DIN-24184, US St-209, ISO-14644, UNE-EN-ISO 90001:2000.

La aplicación de este tipo de equipo está recomendada para las siguientes actividades:

- Análisis clínicos
- Laboratorios de industrias lácteas, cárnicas y alimentarias en general
- Laboratorios farmacéuticos y de investigación
- Trasvase de medicamentos en servicio de farmacia
- Hematología
- Análisis microscópico
- Fabricación y montaje de dispositivos electrónicos
- Cultivo de tejidos
- Llenado de antibióticos y de fármacos inyectables (excepto citostáticos)



Figura V.8. Cabina de flujo laminar

Jar test

Se trata del equipo empleado en los experimentos de coagulación-floculación (Figura V.9.). Es un Jar-test de la marca comercial SBS. Consta de seis palas las cuales tienen una velocidad de giro comprendida entre 10 r.p.m. y 275 r.p.m., así como de un controlador temporal.

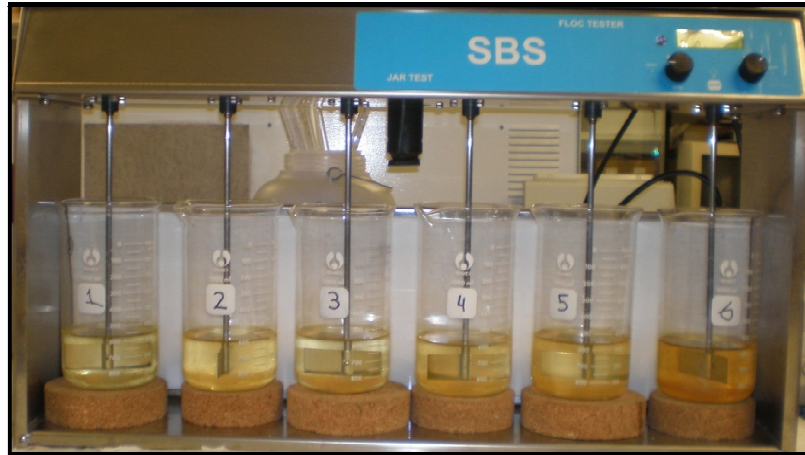


Figura V.9. Jar-test

ANEXO VI

Resultados CFD

Anexo VI: Resultados CFD

La Figura VI.1. muestra la cantidad de hierro presente en el agua tras el proceso de coagulación – floculación – decantación (CFD) empleando 15 mg/l de Fe^{3+} iniciales y pH 5. El hierro final oscila entre 0,3 y 0,5, por lo que se toma una cantidad media de 0,4 mg/l.

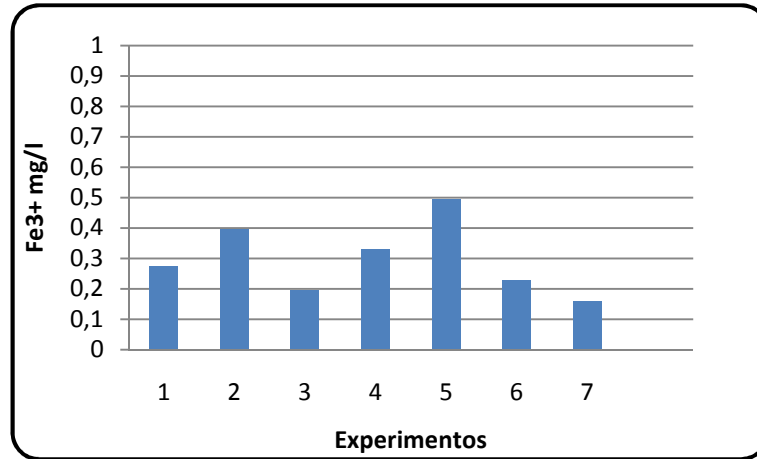


Figura VI.1. Cantidad de hierro tras la CFD, empleando 15 mg/l de Fe^{3+} y pH 5

ANEXO VII

Resultados Desinfección

Anexo VII: Resultados desinfección

Ensayos de referencia

H_2O_2

Tabla VII.1. Resultados de desinfección empleando 25 mg/l de H_2O_2

Tiempo (min)	Reactor	<i>Enterococos</i>	<i>Pseudomonas</i>
		Log (Nt/N0)	Log (Nt/N0)
30	1	-0,09	-0,43
	2	-0,07	-0,38
60	1	-0,03	-0,43
	2	-	-0,38
90	1	-0,07	-0,43
	2	-0,1	-0,38
120	1	-0,098	-0,43
	2	-0,11	-0,38
165	1	-0,13	-0,43
	2	-0,13	-0,38
210	1	-0,13	-0,43
	2	-0,16	-0,38

Luz artificial

Tabla VII.2. Resultados de desinfección empleando luz artificial

Tiempo (min)	Reactor	<i>Enterococos</i>	<i>Pseudomonas</i>
		Log (Nt/N0)	Log (Nt/N0)
30	1	-0,2	-0,4
	2	-0,32	-0,3
60	1	-0,45	-0,6
	2	-0,34	-0,67
90	1	-0,4	-1,2
	2	-0,47	-1,14
120	1	-0,5	-1,49
	2	-0,52	-1,07
165	1	-0,85	-1,89
	2	-1,1	-1,76
210	1	-1,5	-2,05
	2	-1,34	-1,87

Ensayos FotoFenton

Efecto de la dosis de Fe^{3+} para 30 minutos de radiación artificial

Tabla VII.3. Resultados de desinfección (FF) empleando 30min de radiación artificial y diferentes dosis de Fe^{3+}

[Fe^{3+}] (mg/l)	Reactor	<i>Enterococos</i>	<i>Pseudomonas</i>
		Log (Nt/N0)	Log (Nt/N0)
1,5	1	-0,32	-0,78
	2	-0,03	-
	3	-0,15	-
2	1	-0,25	-2,6
	2	-0,32	-0,65
	3	-0,28	-0,53
3	1	-0,27	-0,54
	2	-0,33	-2,3
	3	-	-0,82
4	1	-0,36	-1,1
	2	-0,34	-1,07
	3	-	-
5	1	-	-0,85
	2	-0,4	-1
	3	-0,36	-1,3
10	1	-0,3	-0,66
	2	-0,36	-
	3	-0,34	-
15	1	-0,2	-0,6
	2	-0,16	-
	3	-0,22	-

Efecto del tiempo de radiación artificial con 5 mg/l de Fe³⁺

Tabla VII.4. Resultados de desinfección (FF) empleando 5 mg/l de Fe³⁺ y distintos tiempos de radiación artificial

Tiempo (min)	Reactor	<i>Enterococos</i>	<i>Pseudomonas</i>
		Log (Nt/N0)	Log (Nt/N0)
30	1	-0,25	-1,45
	2	-	-1,65
	3	-0,3	-1,69
60	1	-0,44	-1,8
	2	-	-2,7
	3	-0,45	-
90	1	-0,48	-2
	2	-0,54	-2,18
	3	-0,48	-3
120	1	-0,4	-2,4
	2	-0,56	-2,52
	3	-0,34	-2,72
165	1	-1	-2,78
	2	-1,15	-2,7
	3	-	-3
210	1	-2,32	-3,3
	2	-3,5	-3,18
	3	-	-3,6

Efecto del tiempo de radiación artificial con 10 mg/l de Fe³⁺

Tabla VII.5. Resultados de desinfección (FF) empleando 10 mg/l de Fe³⁺ y distintos tiempos de radiación artificial

Tiempo (min)	Reactor	<i>Enterococos</i>	<i>Pseudomonas</i>
		Log (Nt/N0)	Log (Nt/N0)
30	1	-0,3	-0,66
	2	-0,36	-
	3	-0,34	-
60	1	-0,3	-
	2	-0,27	-0,62
	3	-0,29	-
90	1	-0,45	-1,16
	2	-0,53	-1,6
	3	-0,44	-
120	1	-0,8	-2,3
	2	-0,94	-
	3	-	-
165	1	-1,08	-2,5
	2	-1,73	-4
	3	-1,32	-3,4
210	1	-1,7	-3,4
	2	-2,5	-3,5
	3	-1,7	-3,7

Efecto del tiempo de radiación artificial con 15 mg/l de Fe^{3+}

Tabla VII.6. Resultados de desinfección (FF) empleando 15 mg/l de Fe^{3+} y distintos tiempos de radiación artificial

Tiempo (min)	Reactor	<i>Enterococos</i>	<i>Pseudomonas</i>
		Log (Nt/N0)	Log (Nt/N0)
30	1	-0,2	-0,6
	2	-0,16	-
	3	-0,22	-
60	1	-0,25	-
	2	-0,22	-0,62
	3	-0,25	-
90	1	-0,3	-0,9
	2	-0,33	-1,08
	3	-0,25	-
120	1	-0,6	-1,6
	2	-0,66	-1,54
	3	-	-1,34
165	1	-0,8	-1,9
	2	-0,6	-2
	3	-0,88	-1,6
210	1	-1,68	-2,6
	2	-1,2	-3
	3	-1,7	-1,87

Ensayos Combinados

CFD + FotoFenton: 15 mg/l Fe_i^{3+} y pH 7

Tabla VII.7. Resultados de desinfección (CFD+FF) empleando 15 mg/l de Fe^{3+} , distintos tiempos de radiación artificial y pH 7

Tiempo (min)	Reactor	<i>Enterococos</i>	<i>Pseudomonas</i>
		Log (Nt/N0)	Log (Nt/N0)
CFD	1	-0,16	-0,15
	2	-0,07	-0,16
	3	-0,2	-0,2
30	1	-0,23	-0,74
	2	-0,39	-1,13
	3	-0,32	-
60	1	-0,6	-1,95
	2	-0,64	-1,79
	3	-0,73	-
90	1	-3	-3,3
	2	-3,32	-3,15
	3	-2,9	-3,86
120	1	-3,86	-3,8
	2	-3,4	-3,15
	3	-3,87	-
165	1	-4,63	-3,8
	2	-4,67	-4
	3	-4,78	-
210	1	-5,8	-4,3
	2	-5,32	-4,09
	3	-5,49	-

CFD + FotoFenton: 15 mg/l Fe_i^{3+} y pH 5

Tabla VII.8. Resultados de desinfección (CFD+FF) empleando 15 mg/l de Fe^{3+} , distintos tiempos de radiación artificial y pH 5

Tiempo (min)	Reactor	Enterococos	Pseudomonas
		Log (Nt/N0)	Log (Nt/N0)
CFD	1	-1,37	-1,5
	2	-1,5	-1,45
30	1	-1,85	-1,73
	2	-1,85	-1,81
60	1	-1,94	-2,9
	2	-1,22	-3
90	1	-3,24	-4,04
	2	-3,34	-4,34
120	1	-4,64	-5,04
	2	-4,46	-5,04
165	1	-5,24	-5,04
	2	-5,07	-4,74
210	1	-5,7	-5,34
	2	-5,59	-5,26

FotoFenton + CFD: 15 mg/l Fe_i^{3+} y pH 7

Tabla VII.9. Resultados de desinfección (FF+CFD) empleando 15 mg/l de Fe^{3+} , distintos tiempos de radiación artificial y pH 7

Tiempo (min)	Reactor	Enterococos	Pseudomonas		Enterococos	Pseudomonas
		Log (Nt/N0)	Log (Nt/N0)		Log (Nt/N0)	Log (Nt/N0)
30	1	-	-0,3	CFD	-0,5	-0,8
	2	-0,1	-0,6		-0,6	-0,8
60	1	-0,07	-0,6	CFD	-0,6	-0,99
	2	-0,15	-0,56		-0,27	-0,86
90	1	-0,16	-0,6	CFD	-0,88	-1,1
	2	-0,12	-0,66		-0,76	-1,05
120	1	-0,23	-0,8	CFD	-0,87	-1,4
	2	-0,17	-0,67		-0,95	-1,47
165	1	-0,9	-1,2	CFD	-1,02	-1,56
	2	-0,6	-1,01		-1,23	-1,8
210	1	-0,92	-1,8	CFD	-1,8	-2,04
	2	-0,98	-		-1,6	-2,6

FotoFenton + CFD: 15 mg/l Fe_i^{3+} y pH 5

Tabla VII.10. Resultados de desinfección (FF+CFD) empleando 15 mg/l de Fe^{3+} , distintos tiempos de radiación artificial y pH 5

Tiempo (min)	Reactor	Enterococos	Pseudomonas		Enterococos	Pseudomonas
		Log (Nt/N0)	Log (Nt/N0)		Log (Nt/N0)	Log (Nt/N0)
30	1	-	-1	CFD	-1,3	-1,08
	2	-0,12	-0,98		-1,1	-1,09
60	1	-0,07	-1,05	CFD	-1,21	-2,52
	2	-0,25	-1,39		-0,27	-1,41
90	1	-0,12	-0,85	CFD	-1,4	-1,88
	2	-0,02	-1,03		-1,65	-1,6
120	1	-0,33	-1,44	CFD	-1,4	-2
	2	-0,17	-1,12		-1,48	-3,3
165	1	-1,12	-1,59	CFD	-2,4	-2,08
	2	-1,04	-		-2,1	-2,5
210	1	-1,02	-2,2	CFD	-2	-3
	2	-1,2	-2,15		-2,2	-3,4

CFD + FotoFenton: 15 mg/l Fe_i^{3+} , pH 5 y luz ambiental

Tabla VII.11. Resultados de desinfección (CFD+FF) empleando 15 mg/l de Fe^{3+} , distintos tiempos de luz ambiental y pH 5

Tiempo (min)	Reactor	Enterococos	Pseudomonas
		Log (Nt/N0)	Log (Nt/N0)
CFD	1	-0,19	-0,2
	2	-0,2	-0,175
	3	-0,191	-0,188
30	1	-0,2	-0,3
	2	-0,176	-0,25
	3	-0,22	-0,32
60	1	-0,147	-0,5
	2	-0,168	-0,44
	3	-0,187	-
90	1	-0,183	-0,6
	2	-0,162	-
	3	-0,45	-0,66
120	1	-0,65	-0,8
	2	-0,67	-0,6
	3	-0,65	-
165	1	-0,95	-0,8
	2	-0,93	-1,01
	3	-0,96	-1,2
210	1	-1,002	-1,5
	2	-1,008	-1,35
	3	-0,958	-1,36

