



Universidad de Oviedo
Universidá d'Uviéu
University of Oviedo

Departamento de Química Orgánica e Inorgánica

Programa de Doctorado de Síntesis y Reactividad Química

**FÁRMACOS COMO CONTAMINATES EMERGENTES:
CARACTERIZACIÓN, CUANTIFICACIÓN Y ELIMINACIÓN
EN PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS
RESIDUALES**

Tesis Doctoral

Julio Antonio Pérez Álvarez



Universidad de Oviedo
Universidá d'Uviéu
University of Oviedo

Departamento de Química Orgánica e Inorgánica

Programa de Doctorado de Síntesis y Reactividad Química

**FÁRMACOS COMO CONTAMINATES EMERGENTES:
CARACTERIZACIÓN, CUANTIFICACIÓN Y ELIMINACIÓN
EN PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS
RESIDUALES**

**Memoria presentada para optar
al grado de Doctor en Química por
Julio Antonio Pérez Álvarez**



RESUMEN DEL CONTENIDO DE TESIS DOCTORAL

1.- Título de la Tesis	
Español/Otro Idioma: Fármacos como contaminantes emergentes: caracterización, cuantificación y eliminación en plantas de tratamiento de aguas residuales	Inglés: Drugs as Emerging Pollutants: Characterization, Quantification, and Disposal in Wastewater Treatment Plants
2.- Autor	
Nombre: JULIO ANTONIO PÉREZ ÁLVAREZ	DNI/Pasaporte/NIE:
Programa de Doctorado: SÍNTESIS Y REACTIVIDAD QUÍMICA	
Órgano responsable: DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA E INORGÁNICA	

RESUMEN (en español)

El desarrollo y los hábitos de consumo actuales han dado lugar a la generación de una serie de contaminantes que hasta hace unos años pasaban desapercibidos y para los cuales no se disponía de datos sobre su presencia y sus efectos en el medio ambiente.

Los contaminantes emergentes son productos que engloban una gran variedad de compuestos químicos. Constituyen un grupo muy diverso y sin una clasificación clara, ya que muchos de ellos pueden incluirse en varios tipos. Esta Tesis Doctoral se centra en los fármacos.

La principal vía de entrada de los contaminantes emergentes en el ciclo del agua es a través de las plantas de tratamiento de aguas residuales.

La característica de los fármacos es que no necesitan persistir en el ambiente para causar efectos negativos, ya que su transformación puede verse compensada por la introducción continuada en el medio ambiente al tratarse de productos de uso común.

Los fármacos llegan al medio ambiente como consecuencia de su fabricación, distribución, consumo y vertidos incontrolados de medicamentos caducados. El foco principal se encuentra en el agua, apareciendo ya estas sustancias en todo el ciclo del agua.

Los fármacos se incorporan a través de las excreciones humanas y animales, biosólidos de las plantas de tratamiento de aguas residuales, vertidos de aguas tratadas, desechos industriales, así como de los residuos de la atención sanitaria y veterinaria.

La Memoria está dividida en cuatro fases. **Una primera fase de definición del estudio y parámetros a analizar.** Se evalúan los fármacos a analizar en el área de influencia de la cuenca del río Caudal, considerando el área sanitaria que queda englobada dentro de la zona de vertido. Los fármacos que se consideran en el estudio se han determinado basándose en los datos de envases facturados en el Principado de Asturias durante el año 2013.

El análisis de los fármacos se realiza en la planta de aguas residuales de Baiña, donde se recogen todas las aguas residuales urbanas e industriales (incluyendo las hospitalarias) de la cuenca del río Caudal. Se estudian las características de dicha planta y se analizan los procesos de depuración que tienen lugar en la misma.

Basándose en los contaminantes emergentes seleccionados, el estudio que se acomete en esta Tesis Doctoral se centra en la identificación y cuantificación de diez contaminantes emergentes de naturaleza farmacológica: alprazolam, lorazepam, bromazepam, simvastatina, atorvastatina, omeprazol, ácido acetilsalicílico, ibuprofeno, acetaminofén y tramadol.

La **segunda fase** de la Memoria aborda la **metodología** y el **plan de trabajo** que se ha considerado para la toma de muestras, considerando factores como: los métodos de muestreo, localización de los puntos de muestreo, preservación de las muestras, así como los aspectos de



seguridad e higiene.

La **tercera fase** se centra en analizar los **parámetros físico-químicos, ensayos de bioindicación y análisis microbiológicos** de la planta de Baiña, así como la caracterización y cuantificación de los **contaminantes emergentes**, determinando los rendimientos de eliminación de estos compuestos en la planta.

El análisis de los contaminantes emergentes es un proceso complejo debido a varios factores. Entre ellos: matriz en la que se encuentran, concentraciones muy bajas y características físico-químicas muy distintas. Todo esto hace que la identificación y cuantificación de los contaminantes emergentes requiera de técnicas analíticas muy específicas con una instrumentación muy especializada.

La **cuarta fase** consiste en el estudio de viabilidad del empleo de **procesos de oxidación avanzada** para la eliminación de contaminantes emergentes. Los dos tipos de procesos avanzados de oxidación que se estudian son:

- Estudio de la fotocatalisis heterogénea, mediante el uso de nanopartículas de óxido de titanio (TiO_2) dispersas en la disolución.
- Oxidación avanzada del agua mediante el proceso foto-Fenton homogéneo, basado en la adición de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y una sal de hierro a pH ácido.

Además, se investiga la interferencia de los contaminantes emergentes en los procesos de eliminación de los compuestos microbiológicos a la salida de planta, en concreto: coliformes totales y *Escherichia coli*.

RESUMEN (en Inglés)

The development and current consumption habits have led to the generation of a number of pollutants that until a few years ago went unnoticed and for which no data on their presence and their effects on the environment were not available.

Emerging pollutants are products that include a wide variety of chemicals. They constitute a very diverse group and without a clear classification, since many of them can be included in several types. This Doctoral Thesis focuses on drugs.

The main route of entry of emerging pollutants into the water cycle is through wastewater treatment plants.

The characteristic of the drugs is that they do not need to persist in the environment to cause negative effects, since their transformation can be compensated by the continuous introduction in the environment as they are commonly used products.

Drugs reach the environment as a result of their manufacture, distribution, consumption and uncontrolled dumping of expired medicines. The main focus is in the water, appearing already these substances throughout the water cycle.

Drugs are incorporated through human and animal excretions, biosolids from wastewater treatment plants, treated water discharges, industrial wastes, as well as healthcare and veterinary waste.

This Doctoral Thesis is divided into four phases. A **first phase of study definition and parameters to be analyzed**. The drugs to be analyzed are from the area of influence of the Caudal river basin, considering the sanitary area that is included within the discharge zone. The drugs that are considered in the study have been determined based on the data of packages invoiced in the Principado de Asturias during the year 2013.



The analysis of the drugs is carried out in the wastewater plant of Baiña, where all urban and industrial wastewater (including hospital wastewater) in the Caudal river basin is collected. The characteristics of this plant are studied and the purification processes that take place in the plant are analyzed.

Based on the selected emerging pollutants, the study is focused on the identification and quantification of ten emerging pharmacological contaminants: alprazolam, lorazepam, bromazepam, simvastatin, atorvastatin, omeprazole, acetylsalicylic acid, ibuprofen, acetaminophen, and tramadol.

The **second phase** covers the **methodology** and **work plan** that has been considered for sampling, considering factors such as: sampling methods, sampling point location, sample preservation, as well as aspects of safety and hygiene.

The **third phase** focuses on **analyzing the physicochemical parameters, bioindication tests, and microbiological analyses** of the Baiña plant, as well as the characterization and quantification of the **emerging pollutants**, determining the elimination yields of these compounds in the plant.

Analysis of emerging pollutants is a complex process due to several factors. Among them: matrix in which they are found, very low concentrations, and physicochemical characteristics very different. Thus, the identification and quantification of emerging pollutants require very specific analytical techniques with a very specialized instrumentation.

The **fourth phase** consists of the feasibility study of the use of **advanced oxidation** processes for the elimination of emerging pollutants. The two types of advanced oxidation processes studied are:

- Study of heterogeneous photocatalysis, using titanium oxide nanoparticles (TiO_2) dispersed in the solution.
- Advanced oxidation of water by the homogeneous photo-Fenton process, based on the addition of hydrogen peroxide (H_2O_2) and an iron salt at acidic pH.

In addition, we investigate the interference of emerging pollutants in the processes of elimination of microbiological compounds in the effluent of the plant, in particular: total coliforms and *Escherichia coli*.

SR. DIRECTOR DE DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA E INORGÁNICA/
SR. PRESIDENTE DE LA COMISIÓN ACADÉMICA DEL PROGRAMA DE DOCTORADO EN SÍNTESIS Y
REACTIVIDAD QUÍMICA

Agradecimientos

Quiero agradecer a Enrique Freyre Jimenez, Director del Departamento de Depuración de Acciona Agua todo el apoyo presentado, ya que sin él este proyecto no se podría haber realizado.

A mi equipo dentro de la empresa Acciona Agua por todo el asesoramiento que me han brindado a lo largo de estos años, así como a José Rodríguez y a Jorge Hurtado de los cuales he aprendido mucho a lo largo de toda esta etapa.

A mis directores de tesis, los profesores Miguel Ferreo y Susana Fernández por su apoyo durante todo este tiempo y por haberme guiado durante todo este proceso de elaboración y desarrollo de la tesis.

No quiero olvidarme de mi hermana Alejandra por sus sabios consejos.

Y quiero agradecer todo el apoyo y cariño que he recibido de mi mujer Marta y mi hija Elena por todo ese tiempo de ausencia.

Gracias a todos.

Índice

Resumen	1
Summary	7
Introducción	13
I.1. Legislación	15
I.2. Contaminantes emergentes	17
I.2.1. Problemática de los contaminantes emergentes	18
I.2.2. Contaminantes emergentes en el ciclo del agua	19
I.2.3. Clasificación de los contaminantes emergentes	21
I.2.4. Fármacos	24
FASE I. Planteamientos y objetivos.....	29
I.A. Definición del estudio y parámetros a analizar	31
1. Definición del estudio y parámetros a analizar	33
I.B. Contaminantes emergentes objeto del estudio	35
1. Areas sanitarias en el Principado de Asturias	37
2. Estadística servicio sanitario del Principado de Asturias	38
3. Consumo de fármacos en España.....	40
4. Fármacos seleccionados para el estudio	49
I.C. Estación depuradora de aguas residuales de Baiña	51
1. Descripción de las instalaciones	53
2. Procesos biológicos de depuración	59
2.1. Proceso de fangos activos	59
2.2. Proceso de eliminación de materia orgánica	61
2.3. Procesos de nitrificación-desnitrificación	63
3. Parámetros físico-químicos de las aguas residuales.....	65
FASE II. Metodología y plan de trabajo	67
Antecedentes.....	69
A.1. Procedimiento de toma de muestras	71

Índice

II.A. Objetivos.....	73
II.B. Alcance de los trabajos. Programa de muestreo	77
II.C. Metodología de trabajo	83
1. Toma de muestras	85
1.1. Consideraciones sobre seguridad	86
1.2. Tipos de muestras	86
1.3. Métodos de toma de muestras	87
2. Recogida de las muestras	88
2.1. Envases de las muestras	89
2.2. Puntos de muestreo.....	91
3. Gestión de las muestras	93
3.1. Recepción.....	93
3.2. Preparación.....	94
3.2.1. Preparación parámetros físico-químicos y fármacos	94
3.2.2. Preparación ensayos de bioindicación y microbiológicos.....	96
3.3. Identificación de las muestras	96
3.4. Conservación de las muestras	97
3.5. Eliminación de las muestras.....	98
FASE III. Ensayos analíticos	99
III.A. Parámetros físico-químicos	101
1. Resultados y discusión	103
1.1. Datos de lluvia.....	103
1.2. Parámetros físico-químicos.....	104
1.2.1. Parámetros físico-químicos de diciembre 2014.....	105
1.2.1.1. Indicadores de contaminación orgánica	107
1.2.1.2. Concentración de compuestos nitrogenados.....	108
1.2.1.3. Valores de pH.....	111
1.2.1.4. Concentración de sólidos en suspensión	112

1.2.2. <i>Parametros físico-químicos de enero 2015</i>	114
1.2.2.1. <i>Indicadores de contaminación orgánica</i>	115
1.2.2.2. <i>Concentración de compuestos nitrogenados</i>	117
1.2.2.3. <i>Valores de pH</i>	119
1.2.2.4. <i>Concentración de sólidos en suspensión</i>	120
1.2.3. <i>Parametros fisico-quimicos de febrero 2015</i>	121
1.2.3.1. <i>Indicadores de contaminación orgánica</i>	122
1.2.3.2. <i>Concentración compuestos nitrogenados</i>	124
1.2.3.3. <i>Valores de pH</i>	126
1.2.3.4. <i>Concentración de sólidos en suspensión</i>	127
1.3. <i>Variables operacionales</i>	128
2. <i>Conclusiones</i>	131
3. <i>Parte experimental</i>	133
III.B. Ensayos de bioindicación	139
1. <i>Resultados y discusión</i>	141
1.1. <i>Ensayos de bioindicación del 3 de diciembre de 2014</i>	143
1.1.1. <i>Cartacterísticas morfológicas</i>	143
1.1.2. <i>Microorganismos filamentosos</i>	146
1.1.3. <i>Grupos funcionales (protozoos y metazoos)</i>	148
1.1.4. <i>Recuento de la microfauna</i>	150
1.2. <i>Ensayos de bioindicación del 29 de diciembre de 2014</i>	152
1.2.1. <i>Características morfológicas</i>	152
1.2.2. <i>Microorganismos filamentosos</i>	153
1.2.3. <i>Grupos funcionales (protozoos y metazoos)</i>	153
1.2.4. <i>Recuento de la microfauna</i>	155
1.3. <i>Ensayos de bioindicación del 7 de enero de 2015</i>	156
1.3.1. <i>Características morfológicas</i>	156
1.3.2. <i>Microorganismos filamentosos</i>	156

Índice

1.3.3. Grupos funcionales (protozoos y metazoos).....	157
1.3.4. Recuento de la microfauna	159
1.4. Ensayos de bioindicación del 29 de enero de 2015.....	160
1.4.1. Características morfológicas.....	160
1.4.2. Microorganismos filamentosos.....	161
1.4.3. Grupos funcionales (protozoos y metazoos).....	162
1.4.4. Recuento de la microfauna	163
1.5. Ensayos de bioindicación del 6 de febrero de 2015	164
1.5.1. Características morfológicas.....	164
1.5.2. Microorganismos filamentosos.....	165
1.5.3. Grupos funcionales (protozoos y metazoos).....	166
1.5.4. Recuento de la microfauna	167
1.6. Ensayos de bioindicación del 27 de febrero de 2015	168
1.6.1. Características morfológicas.....	168
1.6.2. Microorganismos filamentosos.....	169
1.6.3. Grupos funcionales (protozoos y metazoos).....	170
1.6.4. Recuento de la microfauna	171
1.7. Ensayos de bioindicación con técnicas moleculares	172
2. Conclusiones.....	175
3. Parte experimental	176
III.C. Análisis microbiológicos	179
1. Resultados y discusión	181
2. Conclusiones.....	183
3. Parte experimental	184
III.D. Análisis de fármacos	187
1. Resultados y discusión	189
1.1. Validación del método de ensayo.....	189
1.2. Rectas de calibrado.....	197
1.3. Criterios cromatográficos y espectrales.....	202
1.3.1. Cromatogramas y espectros	204

1.4. Interpretación y expresión de los resultados	218
1.5. Resultados obtenidos	218
1.5.1. Análisis del mes de diciembre de 2014.....	221
1.5.2. Análisis del mes de enero de 2015.....	221
1.5.3. Análisis del mes de febrero de 2015.....	223
1.5.4. Estudio comparativo de los periodos de recogida de datos	224
1.5.4.1. Relativo a las concentraciones	224
1.5.4.2. Relativo a la estacionalidad	226
1.5.4.3. Relativo a la reducción debido al tratamiento	227
2. Conclusiones	230
3. Parte experimental.....	233
3.1. Equipos utilizados.....	233
3.2. Preparación de los patrones.....	233
3.3. Condiciones de aceptación/rechazo de las muestras.....	234
3.4. Preparación de muestras.....	234
3.5. Condiciones cromatográficas	234
FASE IV. Procesos de oxidación avanzada	235
IV.A. Objetivos.....	237
IV.B. Procesos de oxidación avanzada	241
1. Fotocatálisis heterogénea.....	245
2. Foto-Fenton homogéneo.....	248
IV.C. Resultados y discusión.....	251
1. Sensibilidad del método	253
2. Tratamiento del agua mediante fotocatálisis heterogénea.....	254
2.1. Estudio de adsorción del ibuprofeno en el catalizador	255
2.2. Estudio de la fotólisis del ibuprofeno	257
2.3. Degradación fotocatalítica del ibuprofeno en agua ultrapura ...	259
2.3.1. Influencia de la concentración del catalizador en la eliminación del ibuprofeno.....	260

Índice

2.3.2. Influencia del pH en la eliminación del ibuprofeno.....	265
2.3.2.1. Fotocatálisis a pH 3.....	266
2.3.2.2. Fotocatálisis a pH 9.....	271
2.3.3. Seguimiento del carbono orgánico total	277
2.4. Degradación fotocatalítica del ibuprofeno en el influente de la planta de Baiña.....	280
3. Tratamiento del agua mediante foto-Fenton homogéneo.....	288
3.1. Degradación de ibuprofeno en agua ultrapura mediante foto-Fenton homogéneo	289
3.1.1. Influencia de la concentración de peróxido de hidrógeno en la eliminación del ibuprofeno.....	289
3.1.2. Influencia de la concentración de Fe(II) en la eliminación del ibuprofeno.....	294
3.1.2.1. Reacción foto-Fenton con 5 mg/L Fe(II)	294
3.1.2.2. Ensayo de foto-Fenton con 50 mg/L Fe(II).....	299
3.1.3. Seguimiento del carbono orgánico total	303
3.2. Degradación de ibuprofeno en el influente de la planta de Baiña mediante foto-Fenton homogéneo.....	306
4. Tratamiento del influente de la planta de Baiña mediante combinación de fotocatálisis heterogénea y foto-Fenton homogéneo.....	309
4.1. Combinación del tratamiento a pequeña escala	309
4.2. Combinación del tratamiento a escala intermedia con un fotorreactor.....	312
5. Contaminantes microbiológicos	315
IV.D. Conclusiones.....	317
IV.E. Parte experimental.....	323
1. Recta de calibrado del ibuprofeno en agua ultrapura.....	325
1.1. Recta de calibrado del ibuprofeno en agua ultrapura con celda de 10 mm a pH 6.....	326
1.2. Recta de calibrado del ibuprofeno en agua ultrapura con celda de 10 mm a pH 3.....	328

1.3. Recta de calibrado del ibuprofeno en agua ultrapura con celda de 10 mm a pH 9	331
1.4. Recta de calibrado del ibuprofeno en agua ultrapura con celda de 100 mm a pH 6	334
1.5. Recta de calibrado del ibuprofeno en agua ultrapura con celda de 0,5 mm a pH 3	337
2. Recta de calibrado del ibuprofeno en el influente de Bañia	340
2.1. Recta de calibrado del ibuprofeno en el influente de la planta de Bañia con celda de 10 mm a pH 6.....	340
2.2. Recta de calibrado del ibuprofeno en el influente de la planta de Bañia con celda de 0,5 mm a pH 3.....	344

Resumen

El desarrollo y los hábitos de consumo actuales han dado lugar a la generación de una serie de contaminantes que hasta hace unos años pasaban desapercibidos y para los cuales no se disponía de datos sobre su presencia y sus efectos en el medio ambiente.

Los contaminantes emergentes son productos que engloban una gran variedad de compuestos químicos. Constituyen un grupo muy diverso y sin una clasificación clara, ya que muchos de ellos pueden incluirse en varios tipos. Esta Tesis Doctoral se centra en los fármacos.

La principal vía de entrada de los contaminantes emergentes en el ciclo del agua es a través de las plantas de tratamiento de aguas residuales.

La característica de los fármacos es que no necesitan persistir en el ambiente para causar efectos negativos, ya que su transformación puede verse compensada por la introducción continuada en el medio ambiente al tratarse de productos de uso común.

Los fármacos llegan al medio ambiente como consecuencia de su fabricación, distribución, consumo y vertidos incontrolados de medicamentos caducados. El foco principal se encuentra en el agua, apareciendo ya estas sustancias en todo el ciclo del agua.

Los fármacos se incorporan a través de las excreciones humanas y animales, biosólidos de las plantas de tratamiento de aguas residuales, vertidos de aguas tratadas, desechos industriales, así como de los residuos de la atención sanitaria y veterinaria.

La Memoria está dividida en cuatro fases. **Una primera fase de definición del estudio y parámetros a analizar.** Se evalúan los fármacos a analizar en el área de influencia de la cuenca del río Caudal, considerando el área sanitaria que queda englobada dentro de la zona de vertido. Los fármacos que se consideran en el estudio se han determinado basándose en los datos de envases facturados en el Principado de Asturias durante el año 2013.

El análisis de los fármacos se realiza en la planta de aguas residuales de Baiña, donde se recogen todas las aguas residuales urbanas e industriales (incluyendo las hospitalarias) de la cuenca del río Caudal. Se estudian las características de dicha planta y se analizan los procesos de depuración que tienen lugar en la misma.

Basándose en los contaminantes emergentes seleccionados, el estudio que se acomete en esta Tesis Doctoral se centra en la identificación y cuantificación de diez contaminantes emergentes de naturaleza farmacológica: alprazolam, lorazepam, bromazepam, simvastatina, atorvastatina, omeprazol, ácido acetilsalicílico, ibuprofeno, acetaminofén y tramadol.

La **segunda fase** de la Memoria aborda la **metodología** y el **plan de trabajo** que se ha considerado para la toma de muestras, considerando factores como: los métodos de muestreo, localización de los puntos de muestreo, preservación de las muestras, así como los aspectos de seguridad e higiene.

La **tercera fase** se centra en analizar los **parámetros físico-químicos, ensayos de bioindicación y análisis microbiológicos** de la planta de Baiña, así como la caracterización y cuantificación de los **contaminantes emergentes**, determinando los rendimientos de eliminación de estos compuestos en la planta.

El análisis de los contaminantes emergentes es un proceso complejo debido a varios factores. Entre ellos: matriz en la que se encuentran, concentraciones muy bajas y características físico-químicas muy distintas. Todo esto hace que la identificación y cuantificación de los contaminantes emergentes requiera de técnicas analíticas muy específicas con una instrumentación muy especializada.

La **cuarta fase** consiste en el estudio de viabilidad del empleo de **procesos de oxidación avanzada** para la eliminación de contaminantes emergentes. Los dos tipos de procesos avanzados de oxidación que se estudian son:

- Estudio de la fotocatalisis heterogénea, mediante el uso de nanopartículas de óxido de titanio (TiO_2) dispersas en la disolución.
- Oxidación avanzada del agua mediante el proceso foto-Fenton homogéneo, basado en la adición de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y una sal de hierro a pH ácido.

Además, se investiga la interferencia de los contaminantes emergentes en los procesos de eliminación de los compuestos microbiológicos a la salida de planta, en concreto: coliformes totales y *Escherichia coli*.

Summary

The development and current consumption habits have led to the generation of a number of pollutants that until a few years ago went unnoticed and for which no data on their presence and their effects on the environment were not available.

Emerging pollutants are products that include a wide variety of chemicals. They constitute a very diverse group and without a clear classification, since many of them can be included in several types. This Doctoral Thesis focuses on drugs.

The main route of entry of emerging pollutants into the water cycle is through wastewater treatment plants.

The characteristic of the drugs is that they do not need to persist in the environment to cause negative effects, since their transformation can be compensated by the continuous introduction in the environment as they are commonly used products.

Drugs reach the environment as a result of their manufacture, distribution, consumption and uncontrolled dumping of expired medicines. The main focus is in the water, appearing already these substances throughout the water cycle.

Drugs are incorporated through human and animal excretions, biosolids from wastewater treatment plants, treated water discharges, industrial wastes, as well as healthcare and veterinary waste.

Summary

This Doctoral Thesis is divided into four phases. A **first phase of study definition and parameters to be analyzed**. The drugs to be analyzed are from the area of influence of the Caudal river basin, considering the sanitary area that is included within the discharge zone. The drugs that are considered in the study have been determined based on the data of packages invoiced in the Principado de Asturias during the year 2013.

The analysis of the drugs is carried out in the wastewater plant of Baiña, where all urban and industrial wastewater (including hospital wastewater) in the Caudal river basin is collected. The characteristics of this plant are studied and the purification processes that take place in the plant are analyzed.

Based on the selected emerging pollutants, the study is focused on the identification and quantification of ten emerging pharmacological contaminants: alprazolam, lorazepam, bromazepam, simvastatin, atorvastatin, omeprazole, acetylsalicylic acid, ibuprofen, acetaminophen and tramadol.

The **second phase** covers the **methodology** and **work plan** that has been considered for sampling, considering factors such as: sampling methods, sampling point location, sample preservation, as well as aspects of safety and hygiene.

The **third phase** focuses on **analyzing the physicochemical parameters, bioindication tests, and microbiological analyses** of the Baiña plant, as well as the characterization and quantification of the **emerging pollutants**, determining the elimination yields of these compounds in the plant.

Analysis of emerging pollutants is a complex process due to several factors. Among them: matrix in which they are found, very low concentrations, and physicochemical characteristics very different. Thus,

the identification and quantification of emerging pollutants require very specific analytical techniques with a very specialized instrumentation.

The **fourth phase** consists of the feasibility study of the use of **advanced oxidation** processes for the elimination of emerging pollutants. The two types of advanced oxidation processes studied are:

- Study of heterogeneous photocatalysis, using titanium oxide nanoparticles (TiO_2) dispersed in the solution.
- Advanced oxidation of water by the homogeneous photo-Fenton process, based on the addition of hydrogen peroxide (H_2O_2) and an iron salt at acidic pH.

In addition, we investigate the interference of emerging pollutants in the processes of elimination of microbiological compounds in the effluent of the plant, in particular: total coliforms and *Escherichia coli*.

Introducción

1.1. Legislación

Desde la creación de la Unión Europea, el compromiso medioambiental y la definición de estrategias para la lucha contra la contaminación de las aguas siempre ha sido un objetivo de las políticas europeas.

En los años 90, se desarrolla la directiva sobre el tratamiento de las Aguas Residuales Urbanas.¹

De forma resumida, la Directiva establece dos obligaciones claramente diferenciadas; en primer lugar, las aglomeraciones urbanas deberán disponer, según los casos, de sistemas de colectores para la recogida y conducción de las aguas residuales y, en segundo lugar, se prevén distintos tratamientos a los que deberán someterse dichas aguas antes de su vertido a las aguas continentales o marinas.

En el año 2000, con la Directiva Marco del Agua,² se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas. De esta forma, se dispone de una estrategia para luchar contra la

¹ Directiva 91/271/CEE sobre el Tratamiento de las Aguas residuales Urbanas. Diario Oficial de la Unión Europea, **1991**, L135/41.

² Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de octubre de 2000 por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de agua. Diario Oficial de la Unión Europea, **2000**, L327.

Introducción

contaminación de las aguas. Esta estrategia implica la identificación de sustancias prioritarias entre aquellas que suponen un riesgo significativo en la Unión Europea para el medio acuático o a través de este. En su anexo X se establece la primera lista de 33 sustancias o grupos de sustancias que son prioritarios.

En el marco legislativo actual se debe hacer referencia a la Directiva 2013/39/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 12 de agosto de 2013, por la que se modifica la Directiva 2008/105/CE y se actualiza la lista de sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas por orden de prioridad respecto de las que se establecerán normas de calidad y medidas de control de las emisiones a escala comunitaria.

La Directiva 2013/39/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, establece:³

“La contaminación química de las aguas superficiales representa una amenaza para el medio acuático, con efectos tales como toxicidad aguda y crónica en organismos acuáticos, acumulación de contaminantes en el ecosistema y pérdida de hábitats y de biodiversidad, y también supone una amenaza para la salud humana. Con carácter prioritario, es preciso identificar las causas de la contaminación y tratar las emisiones de contaminantes en la fuente misma, de la forma más eficaz en términos económicos y ambientales.”

En su Artículo 8 quater:

“Con arreglo al Artículo 16, apartado 9, de la Directiva 2000/60/CE, y cuando proceda en función del resultado del estudio de 2013 de la

³ Directiva 2013/39/UE del Parlamento Europeo y del Consejo en cuanto a las sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas. Diario Oficial de la Unión Europea, **2013**, L 226/9-L226/10.

propia Comisión, relativo a los riesgos medioambientales de los medicamentos, y de otros estudios e informes pertinentes, la Comisión desarrollará, en la medida de lo posible, en el plazo de dos años a partir del 13 de septiembre de 2013 un enfoque estratégico para la contaminación del agua por sustancias farmacéuticas.

Ese enfoque estratégico incluirá eventualmente propuestas a fin de que, en la medida de lo necesario, los impactos medioambientales de los medicamentos sean tenidos más eficazmente en cuenta en el procedimiento de comercialización de estos. En el marco de ese enfoque estratégico, la Comisión, en su caso, antes del 14 de septiembre de 2017 propondrá medidas a escala de la Unión y/o de los Estados miembros, según corresponda, para tratar las posibles consecuencias medioambientales de sustancias farmacéuticas, para reducir sus descargas, emisiones y pérdidas en el medio acuático, teniendo en cuenta necesidades de salud pública y la relación coste/eficacia de las medidas propuestas.”

1.2. Contaminantes emergentes

La aplicación de la Directiva 2013/39/UE suscita retos que incluyen la diversidad de las posibles soluciones a cuestiones científicas, técnicas y prácticas, o el incompleto desarrollo de métodos de seguimiento, así como las limitaciones de los recursos humanos y financieros.

Es necesario disponer de datos de seguimiento de gran calidad, junto con datos sobre los efectos ecotoxicológicos y toxicológicos, para evaluar los riesgos y así realizar la nueva selección de sustancias prioritarias. Los datos de seguimiento recopilados de los Estados miembros, si bien han mejorado considerablemente a lo largo de los últimos años, no siempre son adecuados para su finalidad en términos de calidad y cobertura de la Unión. En particular, faltan datos de seguimiento de muchos contaminantes emergentes, que se pueden definir como contaminantes que en la actualidad no están incluidos en los

Introducción

programas de seguimiento sistemático en la Unión, pero que suponen un importante riesgo, lo cual exige su regulación, dependiendo de sus posibles efectos ecotoxicológicos y toxicológicos, y de sus niveles en el medio acuático.³

I.2.1. Problemática de los contaminantes emergentes

El desarrollo y los hábitos de consumo actuales han dado lugar a la generación de una serie de contaminantes que hasta hace unos años pasaban desapercibidos y para los cuales no se disponía de datos sobre su presencia y los efectos de los mismos sobre el medio ambiente.

Los contaminantes emergentes son contaminantes previamente desconocidos, o no reconocidos como tales, cuya presencia en el medio ambiente no es necesariamente nueva, pero sí la preocupación por las posibles consecuencias de los mismos. Los contaminantes emergentes son compuestos de los cuales se sabe relativamente poco o nada acerca de su presencia e impacto en los distintos compartimentos ambientales, razón por la cual y a su vez consecuencia de que no hayan sido regulados. Además, la disponibilidad de métodos para su análisis es limitada y cara.

Otra particularidad de estos compuestos, es que debido a su elevada producción y consumo, la introducción de los mismos en el medio ambiente es continua, no necesitan ser persistentes para ocasionar efectos negativos.⁴

⁴ M. Petrovic, D. Barceló. Analysis and Removal of Emerging Contaminants in Wastewater and Drinking Water. *Trends Anal. Chem.* **2003**, 22, 685-696.

I.2.2. Contaminantes emergentes en el ciclo del agua

La principal vía de entrada de los contaminantes emergentes en el ciclo del agua es a través de las plantas de tratamiento de aguas residuales. Muchos de estos compuestos debido a sus características químicas no van a ser eliminados en los procesos convencionales de depuración, de manera que dependiendo del tipo de compuesto los encontraremos bien en el efluente de la planta, bien en los biosólidos que se han generado en el proceso de depuración.

Como la mayor parte de estos compuestos no son biodegradables, no serán eliminados de las aguas residuales, por lo que continuarán en el ciclo del agua. Pero aun en el caso de que estos compuestos hayan sido retenidos en los biosólidos terminarán apareciendo en el ciclo del agua por procesos de escorrentía y lixiviados.

Por lo tanto, el efecto de los contaminantes emergentes en el medio ambiente dependerá de las condiciones del medio y de sus características físico-químicas, pudiendo encontrarse en distintas matrices, en la línea de agua o en la línea de biosólidos. Este trabajo se centra en la matriz agua.

Tal como se indica en la Figura 1, los contaminantes emergentes se incorporan al medio ambiente de una manera directa a través de las aguas residuales urbanas e industriales, de los residuos de las plantas de tratamiento de los efluentes hospitalarios, de las actividades agrícolas y ganaderas; o bien de una manera indirecta mediante procesos de escorrentía o lixiviación.

El agua, recurso natural, que interviene directamente en todos los aspectos de nuestra vida (alimentación, higiene, industria, energía, agricultura, salud...) es un bien, que debe ser sometido a criterios de gestión que permita su disponibilidad y buen uso.

Introducción



Figura 1. Vías de entrada de los contaminantes emergentes. Notas: IDAM, Instalación desaladora de agua de mar; ETAP, Estación de tratamiento de agua potable; EDAR, Estación depuradora de aguas residuales.

Las políticas internacionales hacen del agua un elemento estratégico, que debe venir acompañado de acciones que permitan, a todos los agentes implicados, mejorar el conocimiento del ciclo del agua e incrementar su capacidad de administrar y explotar mejor sus recursos.

Para ello, debe mejorarse la base científica y tecnológica, con el fin de desarrollar métodos para la gestión racional de los recursos hídricos, incluyendo la protección del medio ambiente.

Los efectos que la contaminación química del agua produce son múltiples; entre los más importantes cabe destacar:

- Acción tóxica y cancerígena.
- Incidencia sobre la producción de alimentos cuando se utiliza para riego.
- Limitación del uso del agua para la reutilización.

I.2.3. Clasificación de los contaminantes emergentes

Los contaminantes emergentes engloban una gran variedad de compuestos químicos. Constituyen un grupo muy diverso y sin una clasificación clara, ya que muchos de ellos pueden incluirse en varios tipos.

La Directiva 2013/39/UE del Parlamento Europeo y del Consejo,³ recoge en su Anexo I la lista de sustancias prioritarias (Tabla 1).

Tabla 1. Sustancias prioritarias incluidas en la Directiva 2013/39/UE.

Número	Nº CAS ^a	Nº UE ^b	Sustancia prioritaria	Sustancia peligrosa
(1)	15972-60-8	240-110-8	Alacloro	
(2)	120-12-7	204-371-1	Antraceno	X
(3)	1912-24-9	217-617-8	Atrazina	
(4)	71-43-2	200-753-7	Benceno	
(5)	No aplicable	No aplicable	Difeniléteres bromados	X
(6)	7440-43-9	231-152-8	Cadmio y sus compuestos	X
(7)	85535-84-8	287-476-5	Cloroalcanos, C10-15	X
(8)	470-90-6	207-432-0	Clorfenvinfós	
(9)	2921-88-2	220-864-4	Clorpirifós(Clorpirifós-etilo)	
(10)	107-06-2	203-458-1	1,2-Dicloroetano	
(11)	75-09-2	200-838-9	Diclorometano	
(12)	117-81-7	204-211-0	Ftalato de di(2-etilhexilo)(DEHP)	X
(13)	330-54-1	206-354-4	Diurón	

*Introducción***Tabla 1.** (Continuación).

Número	Nº CAS ^a	Nº UE ^b	Sustancia prioritaria	Sustancia peligrosa
(14)	115-29-7	204-079-4	Endosulfán	X
(15)	206-44-0	205-912-4	Fluoranteno	
(16)	118-74-1	204-273-9	Hexaclorobenceno	X
(17)	87-68-3	201-765-5	Hexaclorobutadieno	X
(18)	608-73-1	210-168-9	Hexaclociclohexano	X
(19)	34123-59-6	251-835-4	Isoproturón	
(20)	7439-92-1	231-100-4	Plomo y sus compuestos	
(21)	7439-97-6	231-106-7	Mercurio y sus compuestos	X
(22)	91-20-3	202-049-5	Naftaleno	
(23)	7440-02-0	231-111-4	Níquel y sus compuestos	
(24)	No aplicable	No aplicable	Nonilfenoles	X
(25)	No aplicable	No aplicable	Octilfenoles	
(26)	608-93-5	210-172-0	Pentaclorobenceno	X
(27)	87-86-5	201-778-6	Pentaclorofenol	
(28)	No aplicable	No aplicable	Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP)	X
(29)	122-34-9	204-535-2	Simazina	
(30)	No aplicable	No aplicable	Compuestos de tributilestaño	X
(31)	12002-48-1	234-413-4	Triclorobencenos	
(32)	200-663-8	200-663-8	Triclorometano (cloroformo)	X
(33)	216-428-8	216-428-8	Trifluralina	X
(34)	204-082-0	204-082-0	Dicofol	X
(35)	217-179-8	217-179-8	Ácido perfluoro-octano-sulfónico y sus derivados (PFOS)	X
(36)	No aplicable	No aplicable	Quinoxifeno	X
(37)	No aplicable	No aplicable	Dioxinas y compuestos similares	

Tabla 1. (Continuación).

Número	Nº CAS ^a	Nº UE ^b	Sustancia prioritaria	Sustancia peligrosa
(38)	277-704-1	277-704-1	Aclonifeno	
(39)	255-894-7	255-894-7	Bifenox	
(40)	248-872-3	248-872-3	Cibutrina	
(41)	257-842-9	257-842-9	Cipermetrina	
(42)	200-547-7	200-547-7	Diclorvós	
(43)	No aplicable	No aplicable	Hexabromociclododecanos (HBCDD)	X
(44)	200-962-3/213-831-0	200-962-3/213-831-0	Heptacloro y epóxido de heptacloro	X
(45)	212-950-5	212-950-5	Terbutrina	

^aServicio de resúmenes químicos (*Chemical Abstracts Service*). ^bNúmero del registro del Catálogo europeo de sustancias químicas comercializadas.

Entre los distintos contaminantes emergentes que nos podemos encontrar en las aguas residuales podemos considerar:

- Retardantes de llama bromados.
- Cloroalcanos.
- Pesticidas y plaguicidas.
- Compuestos perfluorados.
- Surfactantes, también denominados tensoactivos.
- Productos de tratamiento de aguas.
- Aditivos industriales y subproductos.
- Aditivos alimentarios.
- Productos de higiene personal.
- Nanopartículas.

Introducción

- Fármacos, donde englobamos: principios activos, drogas de abuso, hormonas y esteroides. Incluidos los de uso humano y veterinario.
- Metabolitos y/o productos de degradación de las clases de sustancias anteriores.

I.2.4. Fármacos

La Directiva 2013/39/UE establece disposiciones específicas para sustancias farmacéuticas. La Comisión desarrollará un enfoque estratégico para la contaminación del agua por dichas sustancias, y antes del 14 de septiembre de 2017, propondrá medidas a escala de la Unión y/o de los Estados miembros, según corresponda, para tratar las posibles consecuencias medioambientales de sustancias farmacéuticas.³

Los productos farmacéuticos son utilizados en grandes cantidades, sin embargo el estudio del comportamiento de estas sustancias dentro del ciclo del agua, su impacto en el medio ambiente y su posible incidencia sobre la salud de las personas no se ha desarrollado como debería.

La característica de estos contaminantes es que no necesitan persistir en el ambiente para causar efectos negativos, ya que su transformación puede verse compensada por su introducción continuada en el medio ambiente, ya que son productos de uso común.

Los fármacos llegan al medio ambiente como consecuencia de su fabricación, distribución, consumo y vertidos incontrolados de medicamentos caducados. El foco principal se encuentra en el agua, apareciendo ya estas sustancias tanto en aguas superficiales como subterráneas.

Los fármacos se incorporan a través de las excreciones humanas y animales, biosólidos de las plantas de tratamiento de aguas residuales, vertidos de aguas tratadas, desechos industriales así como de los residuos de la atención sanitaria y veterinaria.

Estos residuos farmacéuticos son transportados al ciclo del agua por diferentes vías, tal como se refleja en la Figura 1, de manera que podemos encontrar los fármacos en distintas matrices, en las aguas, en los suelos, ó en los biosólidos procedentes de los tratamientos de las aguas residuales.

Desde el punto de vista del medio ambiente los fármacos presentan una serie de características que deben de tenerse en cuenta a la hora de su caracterización y cuantificación.

- Incluyen compuestos formados por moléculas grandes y químicamente complejas, pero muy diferentes en peso molecular, estructura y funcionalidad.
- Son moléculas polares y tienen más de un grupo ionizable. El grado de ionización y sus propiedades dependen del pH.
- El principio activo puede ser excretado sin ningún cambio, como un metabolito principal, o como una mezcla de muchos metabolitos.
- Dependiendo del compuesto, su persistencia en el medio ambiente es variable, pero pueden permanecer hasta años, por lo que pueden acumularse alcanzando niveles biológicamente activos.⁵

Dentro de los fármacos también se incluyen las **drogas**. Entran a la red de aguas residuales como drogas inalteradas y/o sus metabolitos activos por excreción humana.

⁵ Fuente: E.T.S. Ingenieros de Caminos, Canales y Puertos. Universidad Politécnica de Madrid. http://www.ciccp.es/biblio_digital/Icitema_III/congreso/pdf/010511.pdf/.

Visitada el 06/02/2015.

Introducción

Las **hormonas y esteroides** también se encuentran en las aguas residuales, procedentes de las excreciones humanas.

Igualmente existen hormonas sintéticas de amplio uso, entre las que se incluyen las píldoras anticonceptivas. Se introducen al medio ambiente a través de los efluentes de aguas residuales de las plantas de tratamiento, donde no son eliminadas completamente.

El rendimiento de eliminación de los fármacos en las aguas residuales está condicionado a dos factores: por un lado, a los procesos y tecnologías que se empleen en los tratamientos de las aguas residuales y, por otra parte, de las características físico-químicas de estos compuestos.

En el caso de los fármacos y de las drogas, al ser compuestos no biodegradables, o en su caso con una biodegradabilidad muy baja, de forma general podemos decir que los procesos convencionales que se llevan a cabo en las plantas de tratamiento de aguas residuales (procesos biológicos de eliminación de materia orgánica y nutrientes, así como procesos físico-químicos para el acondicionamiento de los efluentes) no son efectivos a la hora de reducir la presencia de estos contaminantes, por lo que se requieren procesos más avanzados como las técnicas de oxidación, osmosis, procesos fotocatalíticos u otros. Como consecuencia de esto, los fármacos se incorporan de nuevo al ciclo del agua.⁶

Los efectos que se han detectado por la presencia de estas sustancias en el medio ambiente son:

- Ciertos problemas en algunas especies de peces, debido a la acumulación de componentes activos de medicamentos en su organismo.

⁶ Documentación interna Acciona Agua. Departamento de Depuración.

- Alteraciones en el comportamiento y fisiología de los insectos, inhibición o estimulación del crecimiento en plantas acuáticas y algas, y desarrollo de bacterias resistentes.⁵

En cuanto a los posibles efectos sobre la salud y el medio ambiente podemos considerar:

- Efectos potencialmente acumulativos de los fármacos a medio o largo plazo, pudiendo ocasionar cambios en el medio ambiente o daños en la salud de las personas.
- Proliferación de microorganismos resistentes a los antibióticos.

La combinación de diferentes metabolitos y compuestos biológicamente activos pueden formar una especie de cóctel farmacológico, capaz de potenciar los efectos negativos en el hombre y medio ambiente.⁵

FASE I.
Planteamientos y objetivos

I.A. Definición del estudio y parámetros a analizar

1. Definición del estudio y parámetros a analizar

En esta primera fase nos centramos en determinar los fármacos a analizar, considerando el área sanitaria que queda englobada dentro del área de vertido (Área VII). Los fármacos que se consideran en el estudio se han determinado basándonos en los datos de envases facturados de fármacos en el Principado de Asturias durante el año 2013.

La cuenca que se ha seleccionado para la identificación y análisis de los fármacos ha sido la Cuenca del Caudal, de manera que el estudio se centra en la planta de aguas residuales de Baiña, donde se recogen todas las aguas residuales urbanas e industriales (incluyendo las hospitalarias) en la cuenca del río Caudal.

Se hará una breve descripción de las instalaciones y de los procesos de depuración que se llevan a cabo en la planta. Por otra parte, se definen los parámetros físico-químicos de las aguas residuales que se analizan.

I.B. Contaminantes emergentes objeto del estudio

1. Áreas sanitarias en el Principado de Asturias

En la actualidad los hospitales que quedan englobados dentro del SESPA (Servicio de Sanidad del Principado de Asturias), se distribuyen en las siguientes áreas:

- Área I: Hospital de Jarrio.
- Área II: Hospital de Cangas de Narcea.
- Área III: Hospital de San Agustín y Hospital de la Caridad.
- Área IV: HUCA, Hospital Monte Naranco, Hospital Cruz Roja.
- Área V: Hospital Cabueñes, Hospital Cruz Roja Gijón, Hospital Jove.
- Área VI: Hospital de Arriondas.
- Área VII: Hospital de Mieres (**objeto del estudio**).
- Área VIII: Hospital Adaro, Hospital de Riaño.

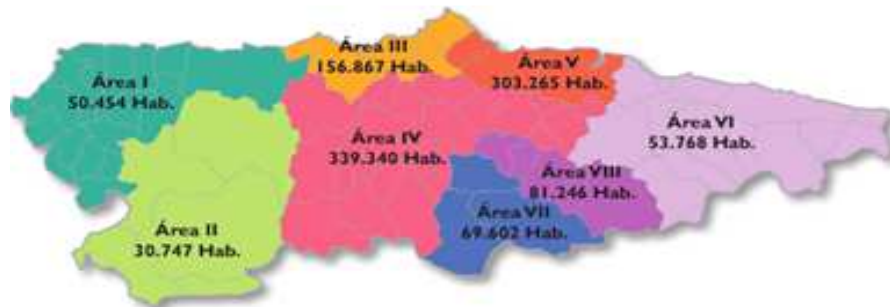


Figura 2. Áreas Hospitalarias del Principado de Asturias.

El proyecto se ha centrado en el ámbito geográfico del área VII.

Planteamientos y Objetivos

2. Estadística servicio sanitario del Principado de Asturias

A la fecha de la realización de este proyecto se disponen de datos de la estadística de Asturias correspondientes al año 2013. Los fármacos más vendidos en el Principado de Asturias durante el año 2013, distribuidos por áreas sanitarias fueron los siguientes:

Tabla 2. Envases facturados por áreas sanitarias.⁷

Principio Activo	Área I	Área II	Área III	Área IV	Área V	Área VI	Área VII	Área VIII
Omeprazol	72.166	51.564	192.541	421.892	370.470	80.868	110.873	122.650
Ácido Acetilsalicílico	42.361	24.680	88.173	202.394	190.265	43.842	48.083	50.807
Lorazepam	32.309	15.863	85.807	184.778	224.964	34.537	53.326	57.042
Acetaminofén	29.881	15.168	101.040	180.983	173.723	31.339	42.390	55.753
Simvastatina	42.988	24.081	82.648	102.756	143.943	34.501	38.890	31.673
Atorvastina	36.062	16.159	69.143	160.557	93.113	20.041	44.307	37.383
Alprazolam	17.282	12.463	68.537	99.948	93.866	25.902	43.232	31.603
Tramadol en Asociación	20.737	10.053	51.939	108.788	103.443	26.250	27.849	40.339
Ibuprofeno	20.086	11.630	55.815	111.685	106.888	18.928	30.034	33.924
Bromazepam	15.119	8.254	52.088	130.059	94.992	22.987	28.695	28.173

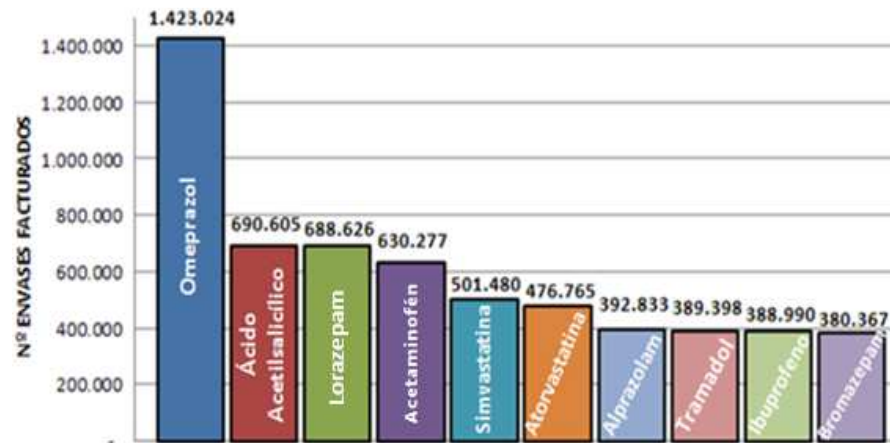
⁷ Fuente Servicio Salud del Principado de Asturias.

<http://www.obsaludasturias.com/obsa/>. Visitada el 04/11/2014.

Basándonos en los datos recogidos se pueden establecer las siguientes consideraciones:

- Las áreas IV y V son las de más venta de los distintos principios activos, lo cual tiene su lógica, ya que estas áreas se corresponden con las zonas de mayor población, las ciudades de Oviedo y Gijón.
- En un segundo escalón podemos ver que las ventas se localizan en el área III, correspondiente al área de influencia de Avilés.
- Por tanto, se puede observar que la distribución de ventas de fármacos guarda una estrecha relación con las principales áreas de población, donde es lógico que los consumos sean más elevados.

La distribución de los principios activos más facturados en Asturias en el año 2013, es la siguiente:

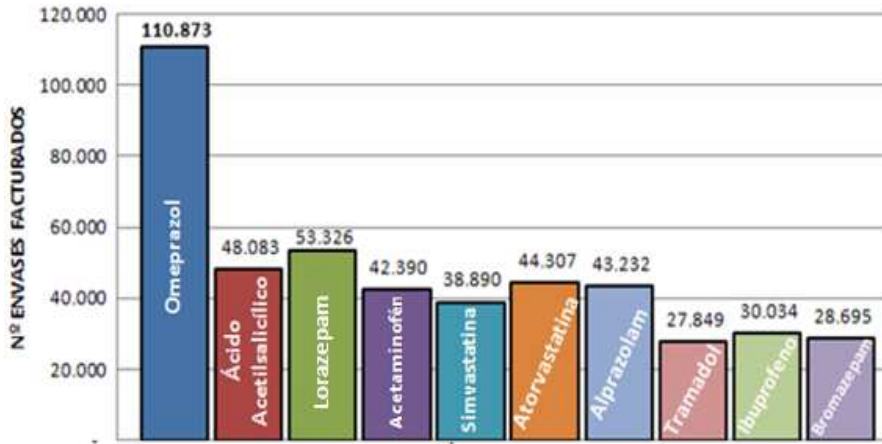


Gráfica 1. Principios activos más vendidos en Asturias. Año 2013.

De la gráfica se observa que el principio activo más vendido con diferencia es el omeprazol, seguido del ácido acetilsalicílico, lorazepam y acetaminofén.

Planteamientos y Objetivos

Centrándonos en el área de estudio (área VII), la Gráfica 2 recoge la distribución de los principios activos.



Gráfica 2. Principios activos más vendidos. Distribución área sanitaria VII.

La gráfica indica que el principio activo más vendido es el omeprazol, seguido del lorazepam.

3. Consumo de fármacos en España

A la fecha de la realización del proyecto se dispone de la estadística de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), correspondiente al año 2012.

Si analizamos los datos de consumo en Asturias con los consumos a nivel nacional, se observa lo siguiente:

Ansiofíticos⁸

Durante años, los ansiofíticos e hipnóticos han sido uno de los grupos farmacológicos más prescritos en la mayoría de países desarrollados. Análisis más recientes sugieren que España estaría situada por encima de la media europea en consumo de ansiofíticos.

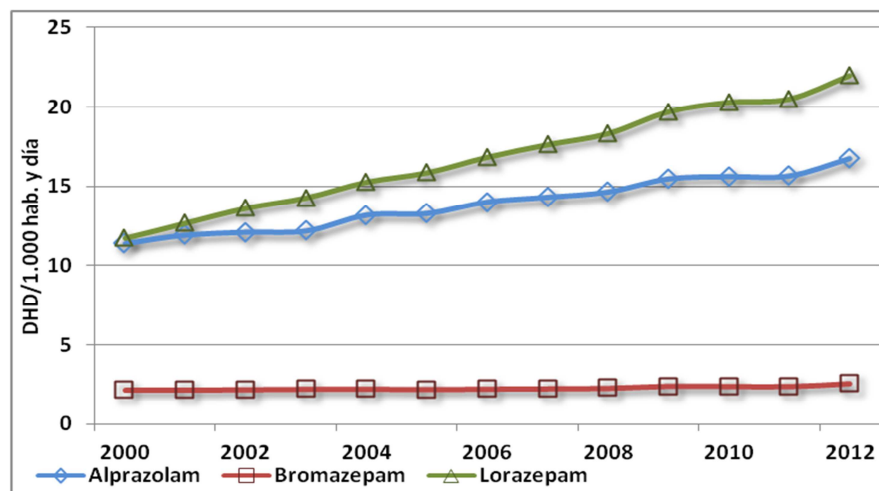


Gráfico 3. Consumo de ansiofíticos, estudio en España. DHD (Dosis por habitante y día).

Entre los ansiofíticos más consumidos en Asturias están el lorazepam, alprazolam y bromazepam. Los datos en Asturias coinciden con la media en España, donde el lorazepam es el ansiofítico más consumido, seguido del alprazolam y con un consumo menor el bromazepam.

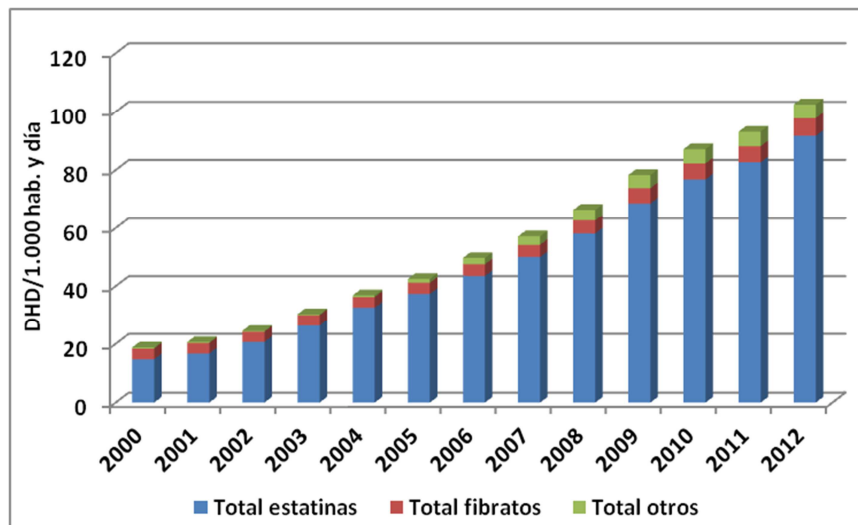
⁸ Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Agencia española de medicamentos y productos sanitarios. Informe de utilización de medicamentos U/HAY/V1/17012014. <http://www.aemps.gob.es/>. Visitada el 25/11/2014.

Planteamientos y Objetivos

Hipolipemiantes⁸

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el año 2008 las enfermedades cardiovasculares fueron la primera causa de muerte precoz en España (33%) y en el mundo (48%), y se espera un progresivo aumento de su incidencia durante las próximas décadas debido al incremento de las tasas de obesidad y diabetes.

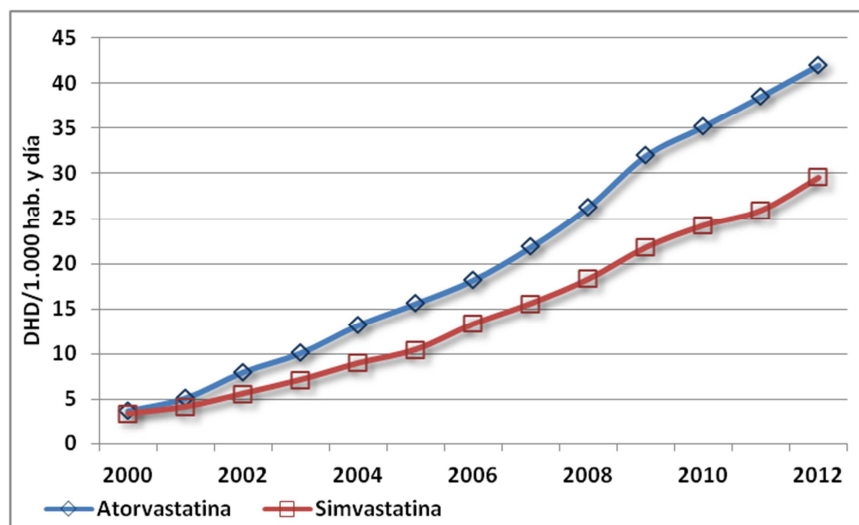
El consumo de hipolipemiantes en España ha pasado de 18,9 dosis habitante y día (DHD) en el año 2000 a 102,6 DHD en el año 2012, lo que supone un incremento del 442% (Gráfica 4). Las estatinas son los fármacos más utilizados, experimentado un incremento de 76,9 DHD entre 2000 y 2012 y representando un 89,3% del consumo de hipolipemiantes en 2012.



Gráfica 4. Consumo de hipolipemiantes en España.

El fármaco más utilizado durante todo el periodo de estudio fue atorvastatina, que ha pasado de 3,78 DHD en 2000 a 42,08 DHD en 2012 (incremento de 1012%). También hay que destacar la simvastatina como segunda estatina más consumida a lo largo de este periodo, con 3,44

DHD en 2000 y 29,64 DHD en 2012 (Gráfica 5). La suma de atorvastatina y simvastatina representaron en 2012 el 78,2% del consumo del total de estatinas.



Gráfica 5. Consumo hipolipemiantes a estudio en España.

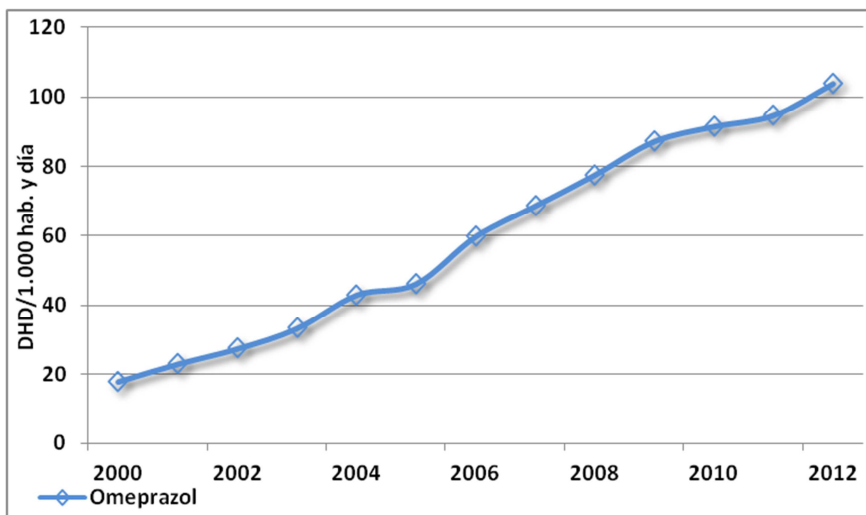
Entre los hipolipemiantes más consumidos en Asturias dentro del grupo de las estatinas están la simvastatina y en menor medida la atorvastatina. En España la estatina más consumida ha sido la atorvastatina, seguida de la simvastatina. En este caso, los consumos en Asturias no coinciden con el consumo medio en España.

Antiulcerosos⁸

El tratamiento farmacológico de las enfermedades acidopépticas o la profilaxis de los trastornos digestivos relacionados con la secreción ácida en el estómago ha variado en las últimas décadas, del empleo de antiácidos o fármacos anticolinérgicos como pirenzepina en los años 80, al uso de antihistamínicos H2 (Anti-H2) o de inhibidores de la bomba de protones (IBP) que, desde los años noventa hasta la actualidad, han pasado a ser los antiulcerosos más utilizados.

Planteamientos y Objetivos

Entre los IBP el más utilizado es el omeprazol, con 18,1 DHD en 2000 y 104,0 DHD en 2012 (Gráfica 6). En el año 2012 el omeprazol representó el 79,1% del consumo de los IBP y el 76,1% del consumo del total del grupo de antiulcerosos. El resto de IBP (esomeprazol, lansoprazol, pantoprazol y rabeprazol) también han aumentado en este periodo, aunque en menor medida que el omeprazol en términos absolutos.



Gráfica 6. Consumo antiulcerosos a estudio.

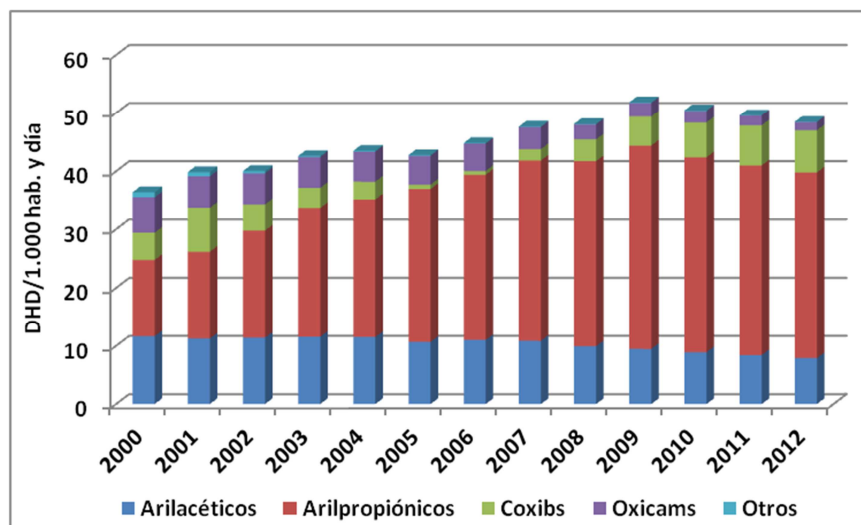
El omeprazol es el fármaco más consumido en Asturias. Los datos en Asturias coinciden con la media en España donde el omeprazol es el antiulceroso más consumido con diferencia.

Antiinflamatorios no esteroideos⁸

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) son un extenso grupo de fármacos con estructuras químicas muy distintas, y no necesariamente relacionadas entre sí, que poseen propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias. Dada la alta prevalencia de cuadros clínicos susceptibles de ser tratados con estos medicamentos, los AINEs son uno

de los grupos farmacológicos más utilizados y que registra mayor consumo en España.

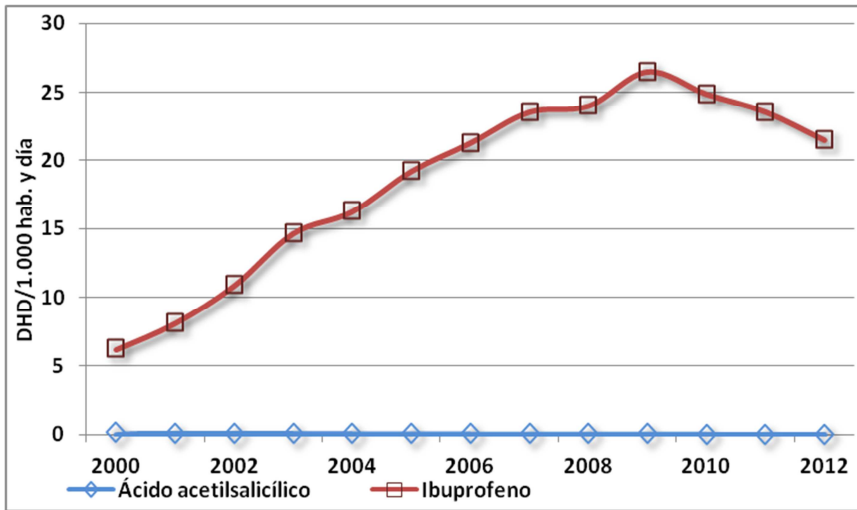
El consumo de AINE en España ha pasado de 38,7 DHD en el año 2000 a 49 DHD en el año 2012, lo que supone un incremento del 26,5% (Gráfica 7). No obstante, desde el año 2009 se observa una tendencia hacia la disminución del consumo total.



*Otros incluye: fenamatos, indolacéticos, pirazolonas, salicilatos y el grupo “otros AINE”

Gráfica 7. Consumo de antiinflamatorios en España.

Los derivados arilpropiónicos han sido el grupo de AINE más consumido, con 13,1 DHD en 2000 y 31,9 DHD en 2012 (incremento del 143,7%). Entre ellos el ibuprofeno fue el principio activo más utilizado en términos absolutos y su consumo aumentó de 6,2 DHD en 2000 a 26,5 DHD en 2009 (Gráfica 8). Sin embargo, a partir de ese año su consumo descendió hasta 21,5 DHD en 2012. No obstante, representa el 43,9% del consumo total de AINE en 2012.



Gráfica 8. Consumo de antiinflamatorios a estudio en España.

En Asturias el consumo de ácido acetilsalicílico es superior al consumo del ibuprofeno, este último de consumo mayoritario en España.

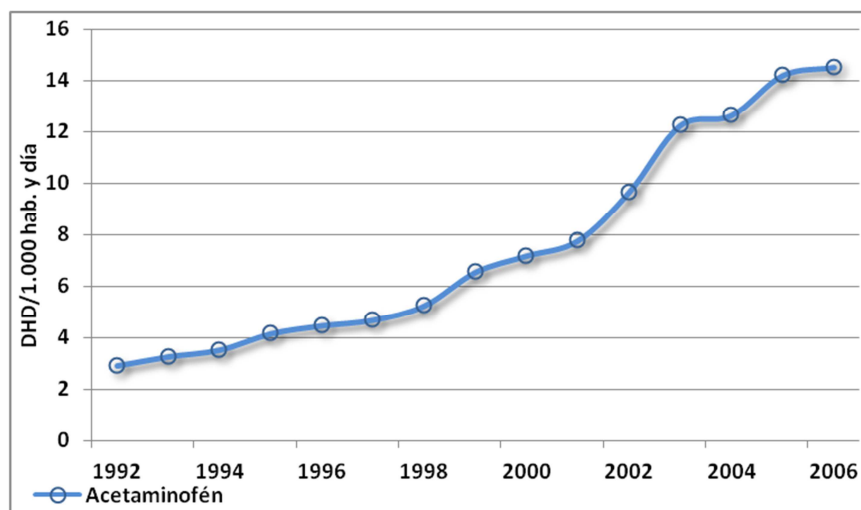
Analgésicos no opioides⁸

Para el consumo de analgésicos opioides y no opioides la AEMPS, sólo dispone de datos hasta el año 2006. Es por ello, que se analiza el periodo de 1992 a 2006.

Desde el punto de vista farmacológico, los analgésicos y antipiréticos comercializados en España se han venido clasificando tradicionalmente en: derivados del ácido acetilsalicílico (N02BA: ácido salicílico y derivados), pirazolonas (N02BB: pirazolonas), acetaminofén y derivados (N02BE: anilidas), y otros analgésicos (N02BG otros analgésicos y antipiréticos).

De todos los analgésicos no opioides disponibles, unos pocos son los que suponen la mayor parte del consumo, en particular acetaminofén y, en menor medida, metamizol.

Es necesario tener en cuenta que en los últimos años se ha producido un aumento importante en el consumo de antiinflamatorios no esteroideos, principalmente ibuprofeno, que se utilizan con las mismas indicaciones (analgésicos y antipiréticos) que el grupo que estamos estudiando. Del mismo modo también se considera el ácido acetilsalicílico (AAS).



Gráfica 9. Consumo de analgésicos no opioides a estudio.

En Asturias, como en España, el mayor consumo corresponde al acetaminofén.

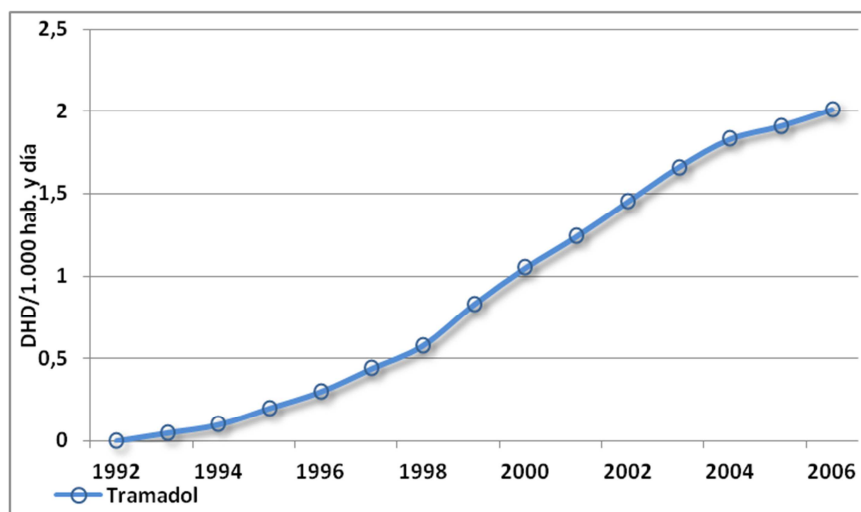
Analgesicos opioides⁸

Durante el amplio periodo analizado, de 1992 a 2006, se ha producido en España un aumento considerable de la utilización de opioides. Este aumento lo es tanto para los opioides tomados en su conjunto, como para aquellos que necesitan receta de estupefacientes (fentanilo y morfina sobre todo).

Fase I

Planteamientos y Objetivos

El uso de dos principios activos, el fentanilo y el tramadol, representó en el último año de la serie que se analiza, el año 2006, el 86% del total de los opioides en España.



Gráfica 10. Consumo de analgésicos opioides a estudio.

En Asturias el mayor consumo corresponde al tramadol.

4. Fármacos seleccionados para el estudio

Basándonos en lo anteriormente expuesto, datos de consumo del año 2013, el estudio de caracterización y análisis de contaminantes emergentes se va a centrar en los siguientes principios activos:

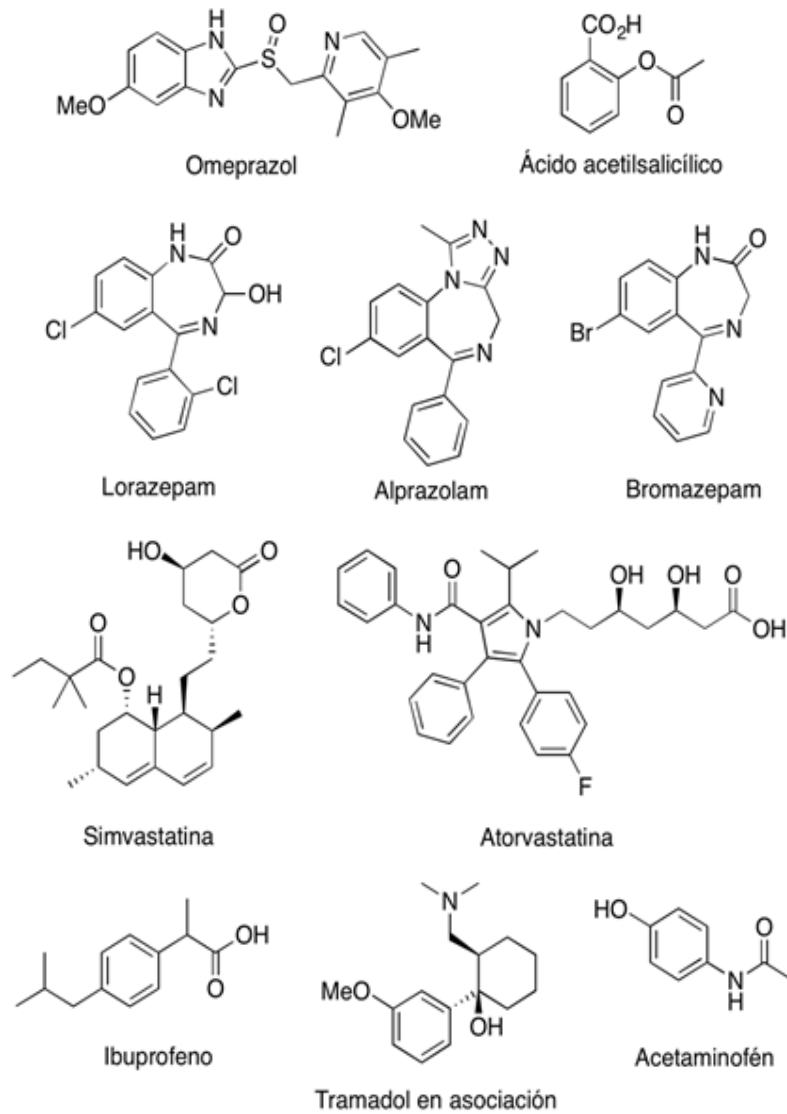


Figura 3. Estructuras moleculares de los principios activos.

Planteamientos y Objetivos

Los principios activos seleccionados se pueden agrupar en las siguientes familias:

- **Ansiolíticos:** donde quedarían englobados el alprazolam, lorazepam y bromazepam.
- **Hipolipemiantes:** donde quedarían englobados la simvastatina y la atorvastatina.
- **Antiulcerosos:** donde quedaría englobado el omeprazol.
- **Antiinflamatorios:** donde quedaría englobado el ácido acetilsalicílico y el ibuprofeno (dentro de los antiinflamatorios no esteroides).
- **Analgésicos:** donde quedarían englobados el acetaminofén (dentro del grupo de los analgésicos no opioides) y el tramadol en asociación (dentro del grupo de los analgésicos opioides).

**I.C. Estación depuradora de aguas residuales de
Baña**

1. Descripción de las instalaciones

El Consorcio de Aguas de Asturias, órgano dependiente de la Consejería de Infraestructuras, Ordenación del Territorio y Medio Ambiente, gestiona los siguientes sistemas de Saneamiento:⁹

- (1) Cuenca Minera del Nalón (E.D.A.R de Frieres).
- (2) Cuenca del Caudal (E.D.A.R de Baiña).
- (3) Nora y Noreña (E.D.A.R de Villapérez).
- (4) Cuenca de San Claudio (E.D.A.R de San Claudio).
- (5) Alto Nalón (E.D.A.R de Rioseco).
- (6) Colunga (E.D.A.R de Colunga).
- (7) Bajo Nalón (E.D.A.R de Soto del Barco).
- (8) Trubia (E.D.A.R de Trubia).
- (9) Litoral de Llanes (E.D.A.R de Llanes).
- (10) Cangas del Narcea (E.D.A.R de Cangas del Narcea).
- (11) Comarca de Avilés (E.D.A.R de Maqua).

⁹ <http://www.consorcioaa.com/cmscaa/opencms>. Visitada el 25/11/2014.

Planteamientos y Objetivos

- (12) Ribadesella (E.D.A.R de Ribadesella).
- (13) Sella y Piloña (E.D.A.R de Ricao).
- (14) Tineo (E.D.A.R de Tineo).
- (15) Ría de Villaviciosa (E.D.A.R de Villaviciosa).
- (16) Pola de Allande (E.D.A.R de Pola de Allande).
- (17) Olloniego (E.D.A.R de Olloniego).
- (18) Cudillero (E.D.A.R de Cudillero).
- (19) Luarca (E.D.A.R de Luarca).
- (20) Novellana (E.D.A.R. de Novellana).
- (21) Grado (E.D.A.R. de Grado).
- (22) Ribadedeva (E.D.A.R. de la Franca).

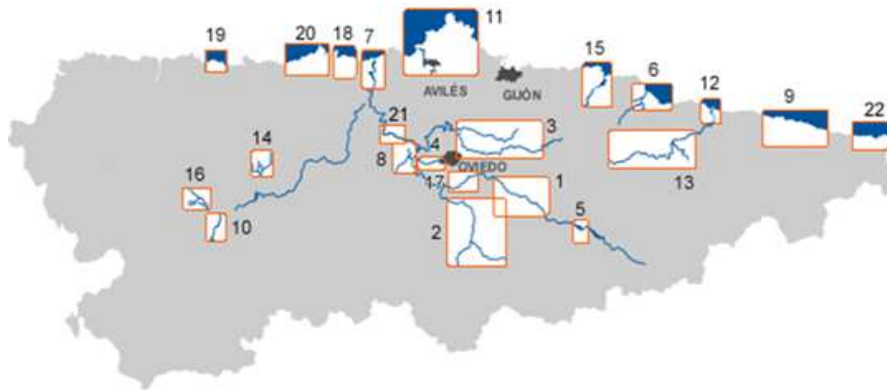



Figura 4. Sistema de Saneamiento gestionado por el Consorcio de Aguas de Asturias.

La cuenca que se ha seleccionado para la identificación y análisis de los fármacos ha sido la Cuenca del río Caudal, de manera que el estudio

se centra en la planta de aguas residuales de Baiña (2 en el mapa de la Figura 4), donde se recogen todas las aguas residuales urbanas e industriales (incluyendo las hospitalarias) en la Cuenca del Caudal. La planta de Baiña quedaría englobada dentro del área sanitaria VII.

Las características técnicas de la planta de Baiña se recogen en la siguiente tabla:

Tabla 3. Características técnicas de la planta de Baiña.

E.D.A.R DE BAIÑA
 <p>UBICACIÓN:</p> <p>La estación depuradora de aguas residuales de Baiña satisface las necesidades de Saneamiento y Depuración del agua bruta procedentes de las poblaciones de Mieres, Turón, Aller y Pola de Lena.</p>

Planteamientos y Objetivos

Tabla 3. (Continuación).

DESCRIPCIÓN:	
<p>Línea de agua</p> <p>Tratamiento Primario</p> <ul style="list-style-type: none"> • Obra de llegada. • By-pass general. • Desbaste. • Desarenado-desengrasado. • Separador de arenas. • Concentrador de grasas. • Decantación primaria. • By-pass biológico. <p>Tratamiento Secundario</p> <ul style="list-style-type: none"> • Reactor biológico: fangos activos de baja carga con proceso de nitrificación-desnitrificación. • Recirculación del licor mezcla a cabecera. • Decantación secundaria. <p>Elementos Auxiliares</p> <ul style="list-style-type: none"> • Red de vaciados. • Red de agua potable. • Red de agua servicios auxiliares. • Línea de flotantes y sobrenadantes. • Red de aire comprimido. • Alumbrado exterior e interior. • Desodorización vía química (fuera de servicio). • Edificio de control y laboratorio. • Edificio de pretratamiento. • Edificio de soplantes. • Salas de centro de control de motores. 	<p>Línea de fangos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bombeo de fangos primarios al espesador. • Bombeo de fangos en exceso al flotador. • Bombeo de fangos espesados a depósitos tampón. • Bombeo de fangos a deshidratación. • Acondicionamiento químico. • Deshidratación de fangos mediante filtros prensa. • Almacenamiento de fangos deshidratados. • Secado térmico (fuera de servicio). <ul style="list-style-type: none"> • Edificio de deshidratación y secado térmico. • Centros de transformación. • Edificio de agua de servicios. • Galería de servicios. • Edificio de recirculación.

El Sistema de Saneamiento General de la Cuenca del río Caudal, consta de 40.409 metros de tuberías de diferentes diámetros que comprenden los colectores interceptores generales de los ríos Caudal, Lena y Aller. Cuenta con 24 sistemas de regulación de caudal (aliviaderos) y 15 estaciones de bombeo.

El Plano Director de la Cuenca de Saneamiento del Caudal se representa en la Figura 5.

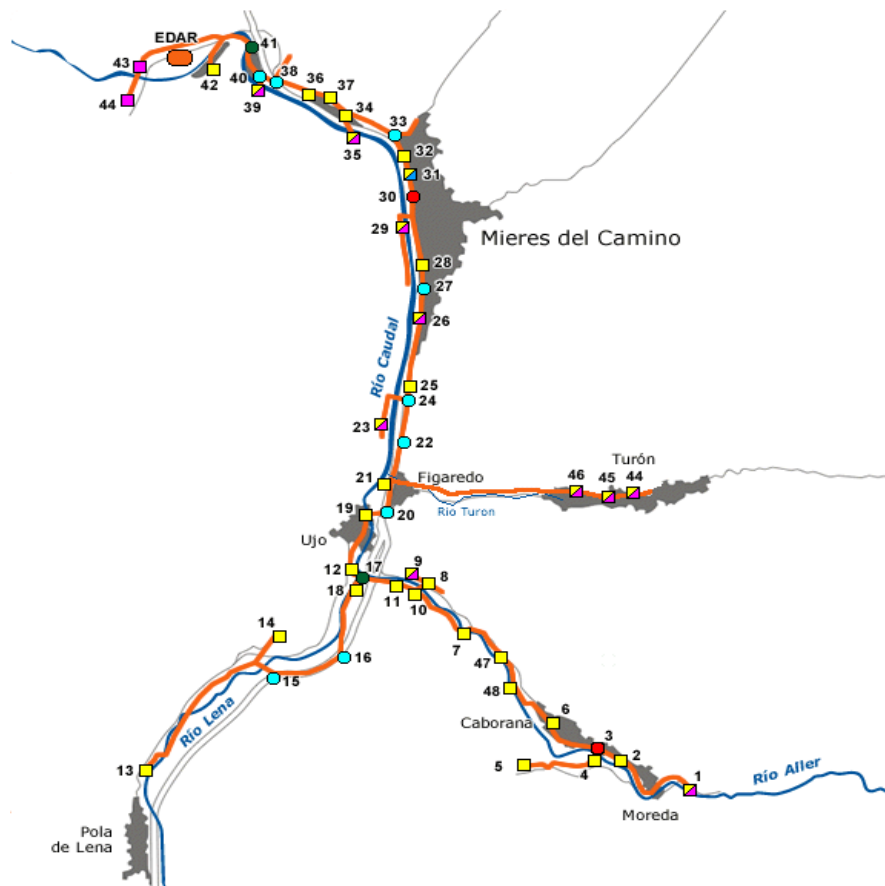


Figura 5. Plano Director de la Cuenca de Saneamiento del Caudal.

Notas: Estación depuradora Bombeos Aliviaderos Aliviadero/bombeo Aliviadero/Achique Galerías Pozos.

Planteamientos y Objetivos

En el proceso de caracterización e identificación de fármacos en la Cuenca de Saneamiento del Caudal es importante considerar que una de las principales vías de emisión de estos compuestos es a través de las aguas del hospital de Mieres. En la planta de Baiña se encuentra instalado el Sistema de Información Geográfica del Consorcio de Aguas de Asturias (SIGCAA). Disponer de este sistema permite garantizar la disponibilidad de la información precisa, rápida, actualizada y georreferenciada de las infraestructuras en servicio relativas a las redes de saneamiento.

En la Figura 6 se muestra el trazado de la red del colector y el punto señalado donde se localiza el hospital de Mieres y su conexión a la red de saneamiento de la Cuenca del Caudal:



Figura 6. Conexión del hospital al sistema de saneamiento.

Notas: — Colector Principal ▶ Localización Hospital de Mieres.

2. Procesos biológicos de depuración

Podemos definir el tratamiento de las aguas residuales como el conjunto de operaciones unitarias encaminadas al tratamiento y depuración de las aguas residuales, antes de su vertido al medio receptor, con el objetivo de evitar cualquier alteración en las características del mismo, siendo el objetivo final la protección del medio ambiente.

En las depuradoras convencionales de aguas residuales se distinguen dos líneas de tratamiento:

- Línea de agua: incluye los procesos o tratamientos que permiten reducir los contaminantes presentes en las aguas residuales.
- Línea de biosólidos: en ella se tratan la mayor parte de los subproductos que se originan como consecuencia de los procesos de depuración biológica que tienen lugar en la línea de agua.

En la planta de Baiña el proceso de depuración de las aguas residuales tiene lugar a través de un proceso de media carga en reactores flujo pistón, con una eliminación de nutrientes mediante un proceso de nitrificación-desnitrificación.

2.1. Proceso de fangos activos

El esquema de depuración de la planta de Baiña es el siguiente:

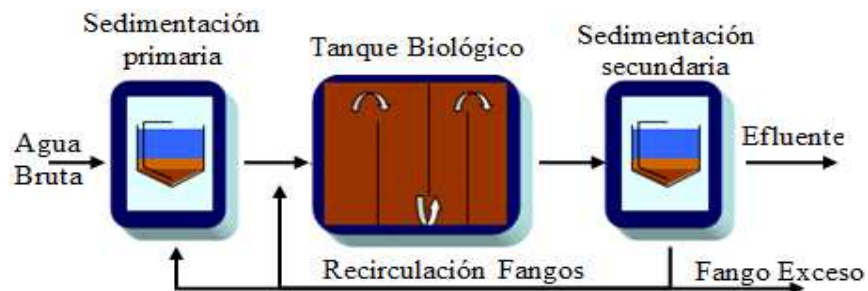


Figura 7. Esquema de depuración EDAR Baiña.

Planteamientos y Objetivos

Vamos a centrarnos en el reactor biológico donde tienen lugar los procesos biológicos de depuración (Figura 8).

Todos los procesos biológicos que se emplean en el tratamiento del agua residual tienen su origen en fenómenos que se producen en la naturaleza.

En los reactores de flujo pistón el agua bruta (influyente de entrada a la planta) y el fango recirculado entran en el reactor biológico donde se mezclan con aire disuelto. Durante el período de aireación, se produce la adsorción, floculación y oxidación de la materia orgánica. Los fangos generados se separan en un decantador secundario.

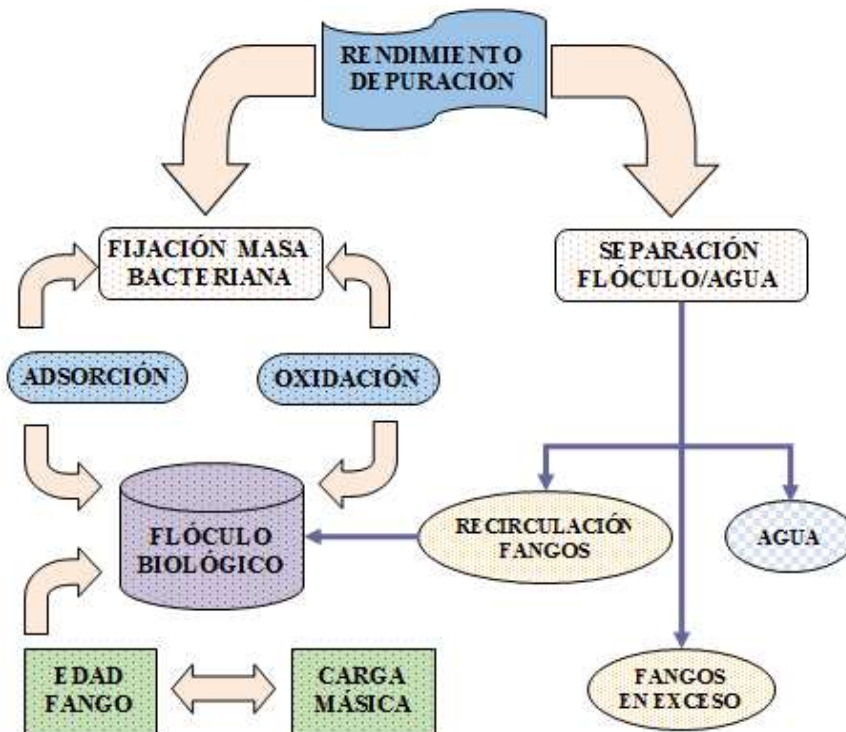


Figura 8. Proceso de Fangos Activos.

2.2. Proceso de eliminación de materia orgánica

El proceso de oxidación biológica que tiene lugar en los reactores biológicos de las plantas de aguas residuales consiste en la transformación de la materia orgánica de las aguas residuales en presencia de oxígeno y nutrientes de acuerdo al siguiente esquema:

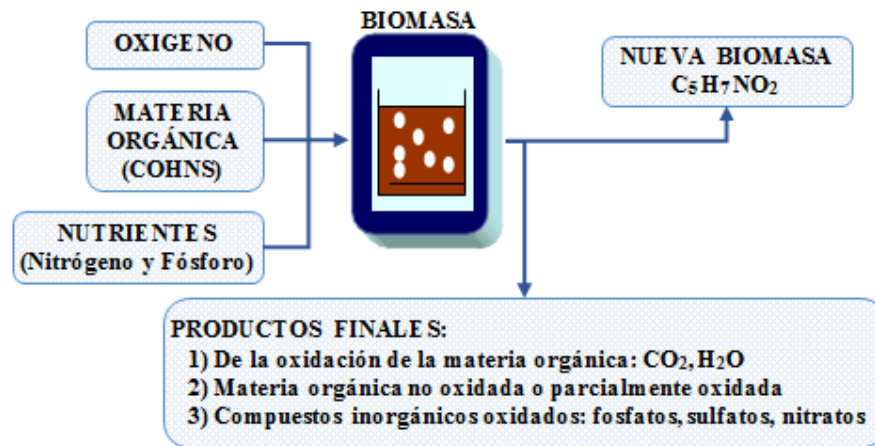
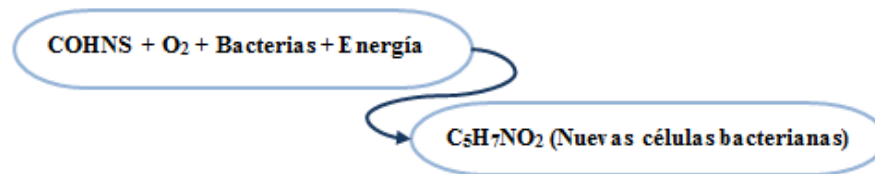


Figura 9. Esquema proceso de oxidación biológica.

De forma simultánea se llevan a cabo tres tipos de reacciones:⁶

- **Reacciones de Síntesis (proceso asimilatorio)**

Consisten en la incorporación de materia orgánica al protoplasma de los microorganismos, produciéndose nuevo tejido celular, es decir un incremento de la masa de organismos.



COHNS representa la materia orgánica presente en el agua residual. La fórmula $\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2$ representa el tejido celular, es un valor que se usa

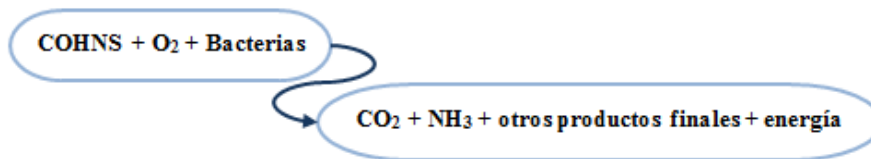
Fase I

Planteamientos y Objetivos

con carácter generalizado obtenido de estudios experimentales. El proceso por el que los microorganismos aumentan y consiguen energía es complicado. Parte de la materia orgánica en disolución puede difundirse directamente a través de la membrana celular de los microorganismos y otra parte, de carácter más complejo, debe sufrir un tratamiento previo de hidrólisis, con la ayuda de enzimas extracelulares segregadas por las bacterias.

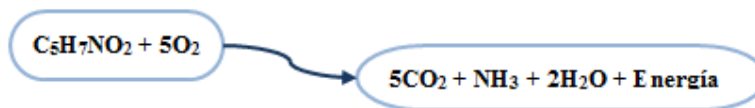
- **Reacciones de Oxidación (proceso disimilatorio)**

Una fracción de la materia orgánica se oxida dando lugar a productos finales. Este proceso se lleva a cabo para obtener la energía necesaria para la síntesis de nuevo tejido celular.



- **Respiración endógena (autooxidación)**

En ausencia de materia orgánica, el tejido celular será utilizado endógenamente, generándose productos finales y energía para el mantenimiento de las células.



Los objetivos del tratamiento biológico son dos:

- Eliminación de materia orgánica disuelta, coloidal y particulada.
- Eliminación de nitrógeno y fósforo.

2.3. Procesos de nitrificación-desnitrificación

En el caso de la planta de Baiña la eliminación de la materia orgánica y de los nutrientes (en este caso sólo del nitrógeno) se lleva a cabo mediante un proceso de nitrificación-desnitrificación:

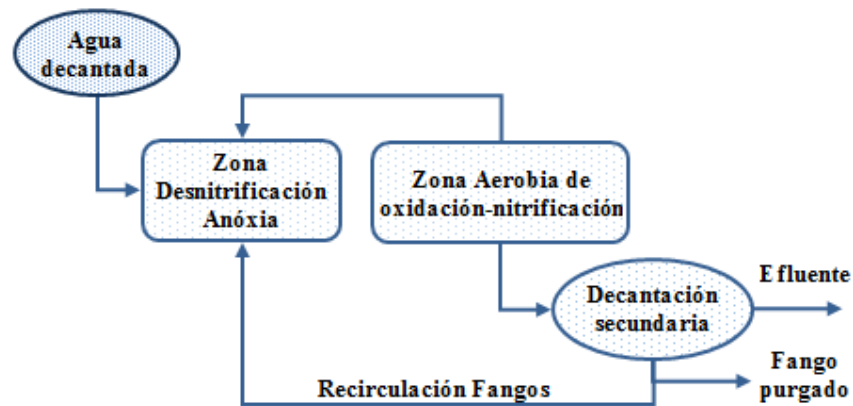


Figura 10. Esquema proceso nitrificación-desnitrificación.

El nitrógeno y el fósforo son los principales nutrientes de importancia en el vertido de aguas residuales tratadas. Los vertidos que contienen nitrógeno y fósforo pueden causar:

- Eutrofización de lagos y embalses.
- Crecimiento de algas y plantas acuáticas en aguas poco profundas.
- Reducción de la concentración de oxígeno disuelto en las aguas receptoras.
- Toxicidad para la vida acuática.
- Efectos negativos sobre la efectividad de la desinfección con cloro.
- Efectos sobre el potencial de un agua residual para ser reutilizada.

Planteamientos y Objetivos

En el caso de la planta de Baiña la instalación está preparada para eliminar nitrógeno pero no fósforo, por lo que nos vamos a centrar en la eliminación del nitrógeno.

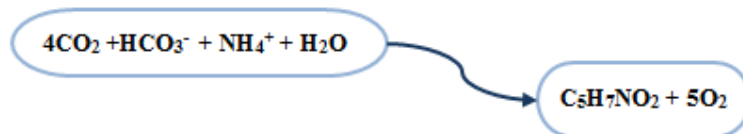
En el agua residual, el nitrógeno puede estar presente en múltiples formas, y son numerosas las transformaciones que puede sufrir en los diferentes procesos de tratamiento. Estas transformaciones permiten convertir el nitrógeno amoniacal en otros productos fácilmente separables del agua residual.

Los dos mecanismos principales que intervienen en este proceso son:

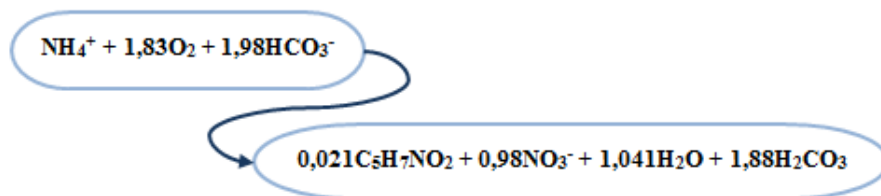
La asimilación

Como el nitrógeno es un nutriente, los microorganismos presentes en los tratamientos tenderán a asimilar el nitrógeno amoniacal y a incorporarlo a su masa celular. Una parte de este nitrógeno amoniacal retornará al agua residual con la lisis y muerte de las células.

La reacción de síntesis de biomasa se puede representar:



$\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2$ representa las células bacterianas sintetizadas. La reacción global de oxidación y síntesis se puede representar como sigue:



La nitrificación-desnitrificación.

En la nitrificación-desnitrificación, la eliminación del nitrógeno se consigue en dos etapas. En la primera, la nitrificación, el amoniacal se

convierte en nitrato. En esta etapa el nitrógeno apenas ha cambiado de forma y no se ha eliminado. En la segunda etapa, la desnitrificación, el nitrato se convierte en producto gaseoso que es eliminado.⁶

De esta manera, el proceso global que se lleva a cabo en la planta de Baña para la eliminación de materia orgánica y de nitrógeno es el siguiente:

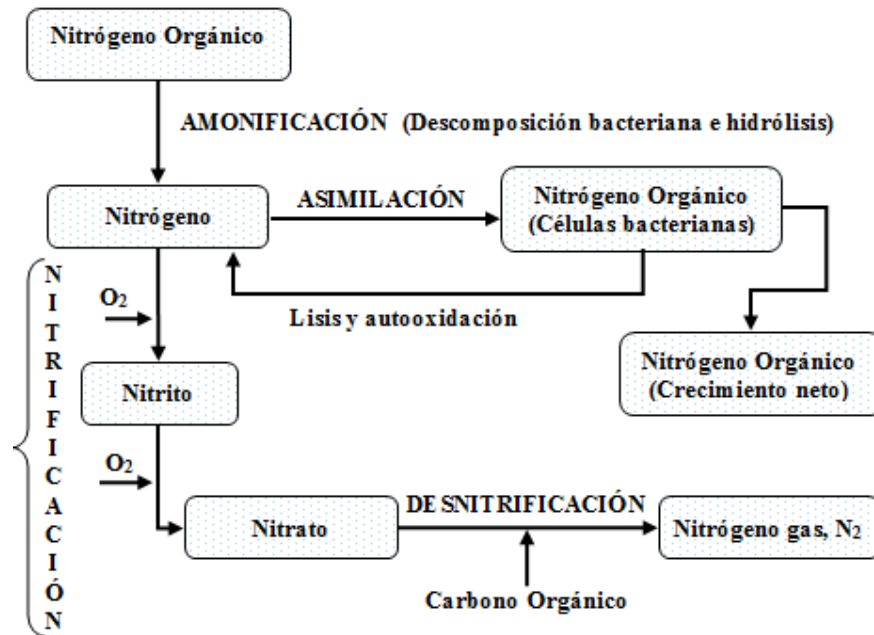


Figura 11. Proceso de transformación del nitrógeno.

3. Parámetros físico-químicos de las aguas residuales

Los parámetros físico-químicos que se han seleccionado y se analizarán en las aguas residuales serán los siguientes:

Planteamientos y Objetivos

Tabla 4. Parámetros físico-químicos.

Parámetro
pH (a 20 °C)
Sólidos en Suspension (SS)
Demanda Química de Oxígeno (DQO)
Demanda Biológica de Oxígeno (DBO ₅)
Nitrógeno amoniacal
Nitrógeno total Kjeldahl (NTK)
Nitratos
Nitritos
Nitrógeno total (NT)

Se han seleccionado estos parámetros por ser los que se recogen en la autorización de vertido de la planta de Baiña y mediante los cuales se establecen los rendimientos de depuración en el efluente de la planta, en su vertido al río Caudal.

FASE II.
Metodología y plan de trabajo

Antecedentes

A.1. Procedimiento de toma de muestras

No existe una técnica de preparación universal para todo tipo de muestras y ésta dependerá de la naturaleza de los analitos, de la matriz, y del método de análisis final seleccionado. Por lo tanto, la selección y optimización del procedimiento de preparación de muestras será un factor clave en el éxito final del análisis, y la elección de un procedimiento adecuado influirá mucho en la fiabilidad y la precisión del análisis y, por tanto, en los resultados.¹⁰

¹⁰ http://www.consolider-tragua.com/documentos/protocolo_muestreo_analisis.pdf.

Pág 5. Visitada el 29/11/2014.

II.A. Objetivos

El objetivo de la Fase II es la elaboración del plan de muestreo para el análisis de los parámetros físico-químicos, de los ensayos de bioindicación, de los análisis microbiológicos, así como de los contaminantes emergentes, de la planta de tratamiento de aguas residuales de Baiña. Se establecen las directrices sobre la toma y conservación de las muestras, así como la logística para el transporte de las muestras a otros laboratorios.

Las muestras se tomarán en la EDAR de Baiña, sita en Mieres (Asturias), perteneciente al Consorcio de Aguas de Asturias. Trata un caudal del orden de 10.000.000 m³/año, con una carga contaminante de 84.000 habitantes equivalentes. Las aguas a tratar son mixtas, urbanas e industriales, incluidas las aguas residuales hospitalarias.

**II.B. Alcance de los trabajos. Programa de
muestreo**

El muestreo se puede definir como el proceso de selección de una pequeña porción de material, representativo del medio, la cual será transportada y manipulada posteriormente en el laboratorio. Es tan importante que, en algunos casos, representa la principal contribución al error de todo el proceso analítico, siendo esta etapa una de las más cruciales para obtener datos representativos que permitan la correcta evaluación de la contaminación. Por ello, es conveniente una vez establecido el propósito del análisis, y antes de realizar el muestreo de campo, desarrollar un plan de muestreo.

Para el **análisis de los parámetros físico-químicos y los fármacos**, se ha diseñado un plan de carácter trimestral, tal como se refleja en la Tabla 5. El muestreo se inicia en diciembre de 2014 y finaliza en febrero de 2015. Las muestras se recogen todos los viernes (para tener una muestra homogénea de toda la semana) y los lunes (para tener una muestra homogénea del fin de semana), excepto que el día sea festivo que la recogida se pasa al día siguiente o anterior. Se toman las muestras correspondientes a los fines de semana para comprobar si existe una estacionalidad en el consumo de los fármacos durante estos días. En las muestras del fin de semana, recogidas los lunes, no se analizan los parámetros físico-químicos, sólo los fármacos.

Los días marcados en rojo corresponden a festivos y fines de semana.

Metodología y Plan de Trabajo

Tabla 5. Calendario de muestreo.

Diciembre 2014

L	M	X	J	V	S	D
1	2	3	4	5	6	7
8	9*	10	11	12	13	14
15	16	17	18	19	20	21
22	23	24	25	26	27	28
29	30	31				


Enero 2015

L	M	X	J	V	S	D
			1	2	3	4
5	6	7	8	9	10	11
12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	25	25
26	27	28	29**	30	31	

Febrero 2015

L	M	X	J	V	S	D
						1
2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22
23	24	25	26	27	28	

ROJO Fin de semana y Festivos

 Toma de muestras

(*) Se toma el martes por ser festivo el lunes

(**) Se toma el jueves por ser festivo el viernes

Para los **ensayos de bioindicación** se toman dos muestras al mes, los días de recogida son los siguientes:

- 3 y 29 de diciembre de 2014.
- 7 y 29 de enero de 2015.
- 6 y 27 de febrero de 2015.

Para los **análisis microbiológicos** se tomaron dos muestras:

- 23 de febrero de 2015.
- 23 de julio de 2015.

II.C. Metodología de trabajo

1. Toma de muestras

El objetivo de la toma de muestras es la obtención de una porción de material cuyo volumen sea lo suficientemente pequeño como para que pueda ser manipulado en el laboratorio sin que por ello deje de representar con exactitud al material de donde procede. Este objetivo implica que la proporción o concentración relativa de todos los componentes serán las mismas en las muestras que en el material de donde proceden, y que dichas muestras serán manejadas de tal forma que no se produzcan alteraciones significativas en su composición antes de que se hagan las pruebas correspondientes.

Por ello, el diseño del procedimiento de muestreo debe tomar en consideración los siguientes aspectos:

- Parámetros que se van a analizar.
- Métodos de muestreo.
- Localización del punto correcto de muestreo.
- Frecuencia y tipo de muestreo.
- Preservación, transporte y conservación de la muestra.
- Aspectos de Seguridad e Higiene.

1.1. Consideraciones sobre seguridad

Habida cuenta que los componentes de la muestra de agua residual pueden presentar riesgos en su manipulación, durante la toma y la manipulación de las mismas adoptamos y cumplimos las precauciones básicas de Seguridad e Higiene, así como los protocolos y procedimientos establecidos en los laboratorios, donde realizamos los análisis.

1.2. Tipos de muestras

La toma de muestras es un factor esencial en la caracterización analítica del proceso, ya que los valores que se obtengan al realizar los diversos análisis dependen directamente de la muestra obtenida. En los ensayos hemos considerado dos tipos de muestras. **Muestras puntuales**, es una muestra recogida en un lugar y un momento determinados, por lo que sólo puede representar la composición en ese momento y lugar. **Muestras compuestas**, se refiere a una mezcla de muestras sencillas recogidas en el mismo punto en distintos momentos.

Las muestras compuestas son las más útiles para determinar las concentraciones medias que se han de utilizar, por ejemplo, para calcular la carga o la eficiencia de una planta de tratamiento de aguas residuales.

Se emplean para puntos con alta variabilidad a lo largo del día o en aquellos en que se desea conocer con un elevado grado de fiabilidad las características del agua en estudio.

Las muestras compuestas representan un ahorro sustancial de trabajo y gasto de laboratorio.

Con este objeto, se considera como estándar para la mayoría de los análisis una muestra compuesta que represente un período de 24 h, para lo cual utilizamos un tomamuestras automático.

En el estudio para el **análisis de los parámetros físico-químicos** y de los **fármacos**, se toman **muestras compuestas** de agua tratada a la salida de la planta y de agua de entrada, que representaran periodos de lunes a viernes (muestra semanal) y de viernes a lunes (muestra de fin de semana). Para los **análisis de bioindicación** se toman **muestras puntuales** del reactor biológico, y para los **análisis microbiológicos** se toman **muestras puntuales** a la salida del tratamiento terciario de la planta.

1.3. Métodos de toma de muestras

Podemos considerar:

- a) **Toma manual:** En la toma manual se supone que no se utiliza equipo alguno, pero este procedimiento puede resultar demasiado costoso en tiempo y dinero para programas de toma rutinaria de muestras o a gran escala.
- b) **Toma automática:** Mediante la toma automática se pueden eliminar los errores humanos en la manipulación, se reducen los costes laborables y se proporciona la posibilidad de hacer tomas con mayor frecuencia, por lo que su uso está cada vez más extendido.

En este proyecto para el **análisis de los parámetros físico-químicos y de los fármacos**, se ha seleccionado la **toma de muestras automática**. De manera que se colocan dos tomamuestras, uno a la entrada de la planta y otro en la salida.

Los tomamuestras se han programado para tomar muestras en continuo, de 100 mL cada media hora, lo que supone 48 muestras al día. Los tomamuestras constan de 4 botellas de 8 L cada una, programadas para recoger 60 muestras cada botella. Los tomamuestras están refrigerados a una temperatura de 4 °C.

Metodología y Plan de Trabajo

En el caso de los **ensayos de bioindicación y análisis microbiológico** se toman **muestras manuales**.

En la Fotografía 1 se recoge el tomamuestras utilizado en el estudio.



Fotografía 1. Tomamuestras.

2. Recogida de las muestras

Es esencial asegurar la integridad de la muestra desde su toma hasta el momento del análisis.

Las muestras, tanto de entrada a planta (influyente o agua bruta) como de salida de planta (efluente o agua tratada), se recogen de los tomamuestras los viernes (obteniendo así una muestra representativa y homogénea a lo largo de la semana) y los lunes (obteniendo una muestra homogénea y representativa del fin de semana).

Se integran todas las muestras recogidas en las cuatro botellas del tomamuestras en una sola botella (5 L de muestra), tanto para el influyente como el efluente. Se tendrán así, dos muestras compuestas finales, representativas una del agua de entrada y otra del agua de salida, para así

poder analizar el comportamiento tanto a lo largo de la semana, como la estacionalidad en el caso del fin de semana. A partir de estas muestras obtenemos las distintas alícuotas que utilizamos para realizar los diferentes análisis.

Para la realización de los **ensayos de bioindicación** se toma muestra de los reactores biológicos, es lo que denominamos muestra de fango activo. Las muestras se toman en botes de plástico limpios, sin que sea necesario que estén estériles. Las muestras se toman en recipientes de 2 L, ya que si bien para el examen microscópico no hace falta tal volumen de muestra, si se precisará para realizar los correspondientes ensayos físico-químicos, que se llevan a cabo en el reactor biológico, como los análisis de los sólidos en suspensión en el reactor biológico, los parámetros indicadores de la sedimentabilidad del fango: V30, decantación del lodo durante treinta minutos en una probeta de 1 L y el índice volumétrico de fangos (IVF), relación entre la V30 y la concentración del lodo en el reactor biológico.

Es conveniente que la muestra no se tome en superficie, sino que se toma a una determinada profundidad, para evitar que se introduzcan en el recipiente las posibles espumas acumuladas en superficie.

Por otro lado, los recipientes de muestreo nunca se llenan en su totalidad, sino que dejamos aproximadamente 1/3 de su contenido vacío, para evitar que se produzcan condiciones de anoxia en el fango si el transporte se prolongara en el tiempo.

Para los **análisis microbiológicos** las muestras se recogen en botes estériles, a través del grifo conectado a las bombas de recirculación del tratamiento terciario.

2.1. Envases de las muestras

El tipo de envase que se utilice tiene una importancia capital. En general, los envases están hechos de plástico o vidrio; según los casos

Metodología y Plan de Trabajo

puede resultar preferible uno u otro de estos materiales. Por ejemplo, el sílice y el sodio pueden lixiviarse en el vidrio pero no en el plástico, y los metales pueden dejar residuos adsorbidos en las paredes de los envases de vidrio.

Para muestras que contienen compuestos orgánicos, sin embargo, conviene evitar los envases de plástico, salvo los fabricados con polímeros fluorados como el politetrafluoretileno (TFE).

Para el análisis de los **parámetros físico-químicos y de los fármacos** se han considerado botellas de vidrio en los tomamuestras y botellas de plástico (TFE) para las alícuotas.



Fotografía 2. Envases utilizados parámetros físico-químicos y fármacos.

Para los **análisis de bioindicación** consideramos botellas de plástico (TFE) de boca ancha de 2 L de capacidad.

Para los **análisis microbiológicos** se utilizan botes de plástico (TFE) de al menos 1,5 L de capacidad e imprescindiblemente estériles.

En todos los casos adherimos las etiquetas a los envases en el momento de hacer la toma. La etiqueta se rellena con tinta indeleble en el momento de la toma.

	
REF MUESTRA	
TIPO DE AGUA	
TIPO DE MUESTRA	
FECHA RECOGIDA	
FECHA ENVIO	

Figura 12. Etiqueta utilizada en el muestreo.

Las botellas de muestreo, una vez realizados los análisis se vacían, se enjuagan con agua de la red municipal, con posterior enjuague de agua destilada, y finalmente son secadas al aire libre.

2.2. Puntos de muestreo

Además del tipo de muestra es importante el punto de toma de la misma. En el caso de los **parámetros físico-químicos y de los fármacos**, se ha seleccionado un punto de fácil acceso y en el que se produzca una buena homogenización de la muestra. En la Figura 13 se recogen los puntos de muestreo seleccionados para la colocación de los dos tomamuestras. Un tomamuestras se coloca a la entrada de la planta para el análisis del agua bruta de entrada a la planta, y el otro tomamuestras se coloca a la salida de planta, antes del vertido al medio receptor, una vez que el agua ha pasado por los distintos procesos de depuración dentro de la planta.

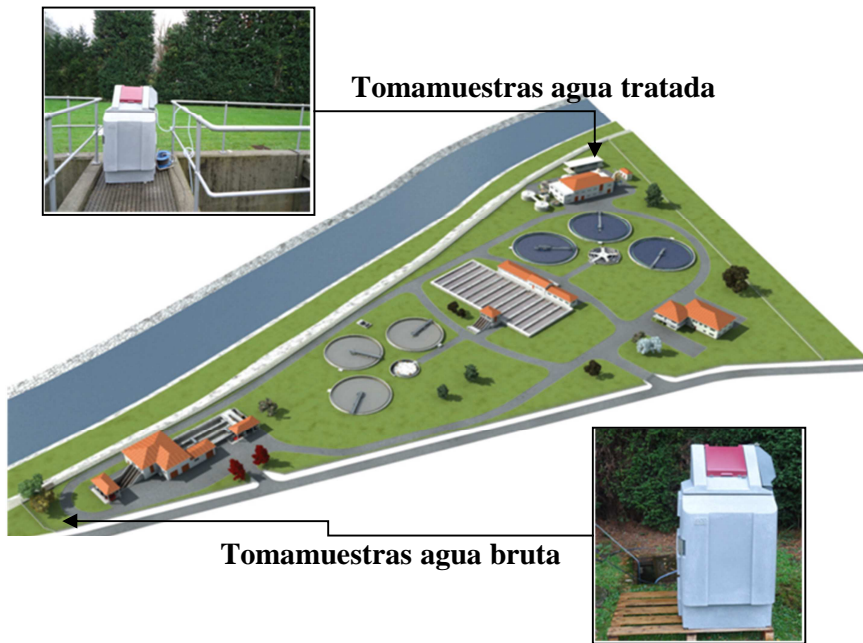


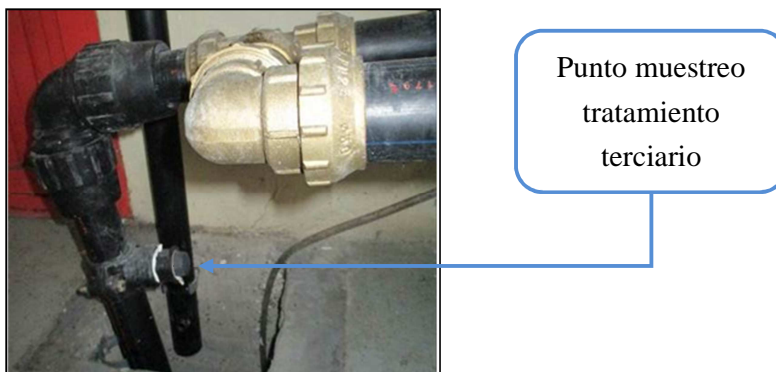
Figura 13. Puntos muestreo parámetros físico-químicos y fármacos.

Las muestras para los **análisis de bioindicación** se toman directamente del reactor biológico. El punto de muestreo puede ser cualquier punto de la balsa de aireación donde el licor mezcla sea suficientemente homogéneo. En el estudio se toman las muestras en la zona aerobia del reactor biológico.



Fotografía 3. Punto de muestreo reactor biológico.

Las muestras para los análisis microbiológicos se toman directamente del grifo conectado a las bombas de recirculación del tratamiento terciario.



Fotografía 4. Punto de muestreo parámetros microbiológicos.

3. Gestión de las muestras

La gestión de las muestras tiene las siguientes etapas:

- Recepción.
- Preparación.
- Identificación.
- Conservación.
- Eliminación.

3.1. Recepción

Las muestras se reciben en el laboratorio de la planta de Bañía desde donde se organiza toda la logística necesaria para el análisis de los siguientes parámetros:

- Parámetros físico-químicos.
- Fármacos.

Metodología y Plan de Trabajo

- Ensayos de bioindicación.
- Parámetros microbiológicos.

3.2. Preparación

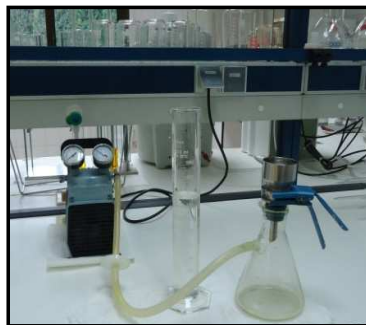
El objetivo principal del pre-tratamiento de la muestra es la conservación de ésta, para asegurar sus propiedades físico-químicas, y evitar posibles procesos de degradación de los analitos.

3.2.1. Preparación parámetros físico-químicos y fármacos

Al laboratorio de la planta llegan dos botellas de 5 L, procedentes de los tomamuestras, rotuladas con la muestra compuesta del influente y del efluente, respectivamente. De las dos muestras se toman 500 mL y como paso previo al proceso de análisis, se filtran con filtros estándar de fibra de vidrio, tipo Millipore AP40, con un tamaño de poro de 0,7 μm .

De las muestras filtradas del influente y efluente se toman 4 alicuotas de 125 mL respectivamente. Estas cuatro alicuotas se corresponden:

- Alicuota A. Estudio de contaminantes emergentes.
- Alicuota B. Estudio de contaminantes emergentes.
- Alicuota C. Estudio parámetros físico-químicos.
- Alicuota D. Conservación en laboratorio de Baña.



Fotografía 5. Equipo de filtración.

Las analíticas de control de los **parámetros físico-químicos** se realizan en el laboratorio de Baiña, donde se dispone de la instrumentación necesaria para llevar a cabo la cuantificación.

Las muestras se conservan a 4 °C, hasta el momento de su análisis.

Los parámetros físico-químicos que analizamos en el estudio son los recogidos en la Tabla 4.

Con respecto a los análisis de los fármacos, el laboratorio de Baiña no dispone de la instrumentación adecuada para realizarlos. Por tanto, las muestras se envían al laboratorio de la empresa Tekniker, en San Sebastian, que se encargará de su custodia y conservación. Los análisis de los fármacos se realizan en el Hospital militar Gómez Ulla donde se dispone de la instrumentación necesaria para llevar a cabo los mismos.

A continuación, se recogen la relación de los fármacos a analizar:

Tabla 6. Fármacos a analizar.

Fármacos
Omeprazol
Acido acetilsalicílico
Lorazepam
Acetaminofén
Simvastatina
Atorvastatina
Alprazolam
Tramadol en asociación
Ibuprofeno
Bromazepam

3.2.2. Preparación ensayos de bioindicación y microbiológicos

Una vez tomadas las muestras, éstas no requieren un tratamiento previo al análisis. Las analíticas se realizan en el laboratorio de Baiña, donde se dispone de la instrumentación necesaria para llevar a cabo la cuantificación. A continuación, se recoge la relación de ensayos de bioindicación que se realizan:

Tabla 7. Ensayos bioindicación.

Ensayos bioindicación
Características morfológicas del flóculo
Microorganismos filamentosos
Grupos funcionales dentro de los protozoos y metazoos
Recuento de la microfauna

En la Tabla 8 se especifica la relación de análisis microbiológicos que se llevan a cabo:

Tabla 8. Análisis microbiológicos.

Análisis microbiológicos
Coliformes totales
<i>Escherichia coli</i>

3.3. Identificación de las muestras

En el caso de las muestras para los **ensayos de bioindicación y análisis microbiológico**, al ser muestras puntuales, los recipientes se etiquetan indicando la fecha de la muestra y el tipo de muestra.

En el caso de las muestras para los **análisis físico-químicos y de los fármacos**, al ser muestras automáticas, se procede a registrar las muestras pretratadas aplicando las siguientes indicaciones.

A cada alicuota se le asignará una referencia que consiste en una serie de números y letras con la siguiente estructura:

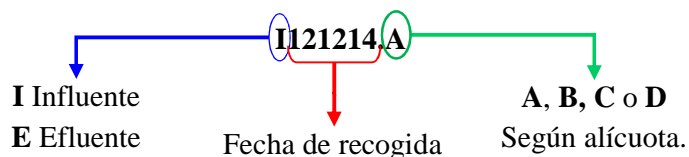


Figura 14. Referencia de alicuota.

Esa referencia, por tanto, correspondería a la fracción A de la muestra de agua de influente recogida el día 12 de diciembre de 2014.



Fotografía 6. Alicuotas.

3.4. Conservación de las muestras

El correcto almacenamiento de las muestras es crucial para asegurarse de que los analitos no se han transformado antes de realizar el análisis. Debe asegurarse, en la medida de lo posible, que tanto el recipiente como el cierre del envase, no sean capaces de alterar la composición de las muestras, bien por disolución, adsorción o reacción.

Las muestras puntuales para los ensayos de bioindicación y análisis microbiológico se analizan en el mismo día, mientras que las muestras para los análisis físico-químicos y de los fármacos, teniendo en cuenta

que las muestras no se analizan inmediatamente, se conservaran mediante congelación a -18 °C.

3.5. Eliminación de las muestras

Las muestras se eliminan una vez que se han supervisado los resultados obtenidos.

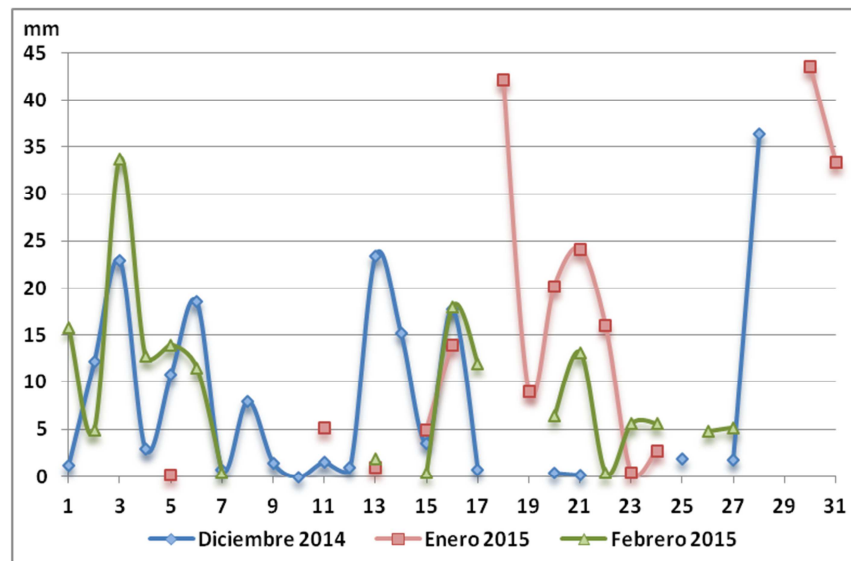
FASE III.
Ensayos analíticos

III.A. Parámetros físico-químicos

1. Resultados y discusión

1.1. Datos de lluvia

Los datos de lluvia se registran en la estación de la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET) ubicada en la planta de Baiña. En la Gráfica 11 se recogen los datos correspondientes a los meses de diciembre 2014, enero 2015 y febrero 2015, que fueron los meses en los que se llevó a cabo la campaña de muestreo.



Gráfica 11. Datos lluvia, Diciembre 2014, Enero 2015, Febrero 2015.

Se observa que los tres meses de muestreo han coincidido con meses con precipitaciones regulares y en algunos casos con picos de

Ensayos Analíticos

precipitaciones importantes, como las registradas el 19 y 30 de enero de 2015. Pero más que los picos puntuales hay que considerar el efecto acumulativo, ya que el periodo de lluvias se mantuvo durante los tres meses en los que se realizó el estudio.

1.2. Parámetros físico-químicos

En los tres meses del estudio se realizaron los análisis de los parámetros físico-químicos recogidos en la autorización de vertido de la planta de Baiña. En primer lugar, se analizaron los indicadores de contaminación orgánica (DBO₅ y DQO), tanto a la entrada de la planta (agua influente) como a la salida de la planta (agua efluente), para comprobar los rendimientos de eliminación de la materia orgánica, que es uno de los objetivos que se persiguen en el tratamiento biológico. Para el control de la eliminación del nitrógeno se analizaron los siguientes parámetros: nitratos, nitritos, nitrógeno amoniacal, nitrógeno total y nitrógeno Kjeldal (considera el nitrógeno orgánico y el amoniacal). El resto de parámetros analizados fueron el pH y los sólidos en suspensión.

Los valores establecidos en la autorización de vertido de la planta al medio receptor son los siguientes:

Tabla 9. Valores autorización de vertido.

Parámetro	Límite
pH (a 20 °C)	6,5-9
Sólidos en Suspension	< 15 mg/L
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	< 60 mg/L
Demanda Biológica de Oxígeno (DBO ₅)	< 10 mg/L
Nitrógeno amoniacal	< 1,5 mg/L
Nitrógeno total Kjeldahl	< 4 mg/L
Nitrógeno total	< 15 mg/L

Hay que remarcar que los valores considerados en la autorización de vertido son muy restrictivos, ya que están por debajo de los valores que recoge la Directiva 91/271/CEE¹ y que se detallan en la Tabla 10.

Tabla 10. Límites de vertido según Directiva 91/271/CEE.

Parámetro	Límite
Sólidos en Suspensión	35 mg/L
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	125 mg/L
Demanda Biológica de Oxígeno (DBO ₅)	25 mg/L
Nitrógeno total	15 mg/L

Lo que obliga a ser muy riguroso en el control operacional de la planta.

1.2.1. *Parametros físico-químicos de diciembre 2014*

Los resultados de los análisis se recogen en la siguiente tabla:

Tabla 11. Parámetros físico-químicos influente/efluente. Diciembre 2014.

AGUA INFLUENTE (I) / EFLUENTE (E) Diciembre 2014						
Parámetros		P1 ^a	P2 ^b	P3 ^c	P4 ^d	P5 ^e
DBO ₅ (mg/L)	I	60	150	135	310	50
	E	4	3	4	4,5	7,5
DQO (mg/L)	I	186	366	451	1.010	159
	E	14	< 10	< 10	16	15
Nitratos (mg/L)	I	0,56	0,28	1,06	0,07	0,81
	E	8,22	8,4	10,0	13,01	6,93

Tabla 11. (Continuación).

AGUA INFLUENTE (I) / EFLUENTE (E) Diciembre 2014						
Parámetros		P1 ^a	P2 ^b	P3 ^c	P4 ^d	P5 ^e
Nitritos (mg/L)	I	0,22	0,15	0,18	0,03	0,25
	E	0,11	0,09	0,09	0,12	0,19
Nitrógeno amoniacal (mg/L)	I	8,8	11,5	7,36	15,15	9,79
	E	< 0,40	< 0,40	< 0,40	< 0,40	< 0,40
Nitrógeno total (mg/L)	I	17,3	21,04	17,35	44,50	17,8
	E	8,83	9,61	11,63	14,18	8,81
Nitrógeno Kjeldahl (mg/L)	I	16,5	20,6	16,1	44,4	16,7
	E	< 0,50	1,12	1,54	1,05	1,68
pH (20 °C)	I	7,5	7,6	7,1	7,7	7,7
	E	7,6	7,6	7,4	7,8	7,7
Sólidos Suspensión (mg/L)	I	118	165	102	286	83,5
	E	7,2	7,0	4,5	3,6	6,0

^a P1 del 1 al 5 de diciembre de 2014.

^b P2 del 8 al 12 de diciembre de 2014.

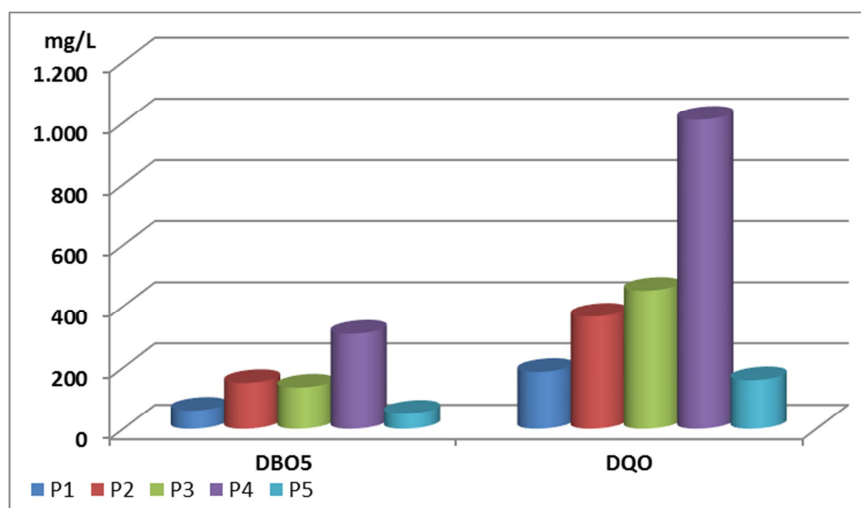
^c P3 del 15 al 19 de diciembre de 2014.

^d P4 del 22 al 26 de diciembre de 2014.

^e P5 del 29 de diciembre de 2014 al 2 de enero de 2015.

1.2.1.1. Indicadores de contaminación orgánica

Los datos de DBO₅ registrados en el influente de la planta (Gráfica 12), son valores bajos con respecto a los datos históricos de la planta de Baiña (valor medio de 250 mg/L), si bien del 22 al 26 de diciembre (periodo P4), se obtiene un valor de 310 mg/L, que está por encima del valor medio de la planta. El resto de valores nos indican un efecto de dilución en el agua de entrada como consecuencia de los periodos de lluvias en el mes de diciembre.



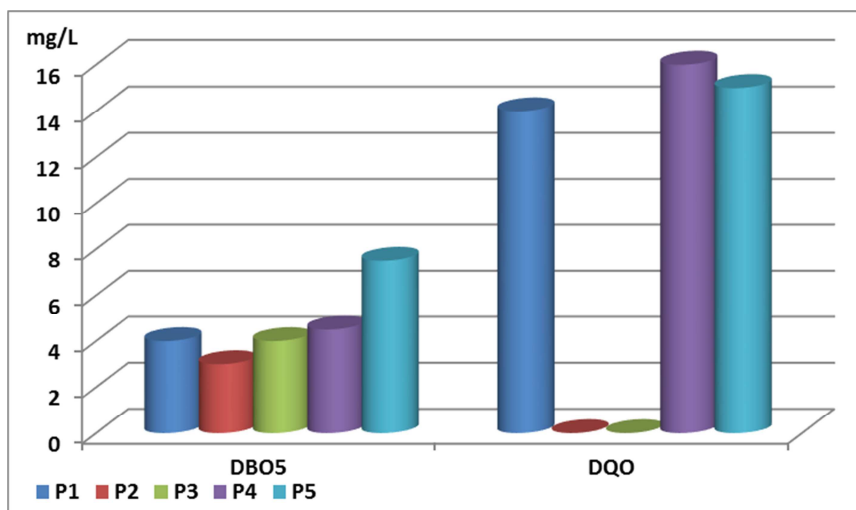
Gráfica 12. Contaminación orgánica, DBO₅-DQO influentes. Diciembre 2014.

Los valores de DQO (Gráfica 12) son más altos que los registrados para la DBO₅, lo cual es lógico, ya que la DBO₅ mide la cantidad de oxígeno que consumen los microorganismos al alimentarse de la materia orgánica, mientras que la DQO reemplaza a los microorganismos por un reactivo oxidante fuerte, el dicromato de potasio. Como la cantidad de dicromato que reacciona está relacionada con la cantidad de oxígeno necesario para consumir la materia orgánica, puede estimarse el oxígeno que se consumiría junto con la materia orgánica.

Ensayos Analíticos

Con los valores de DQO de nuevo se observa el pico en el periodo P4 y valores bajos en el resto de los periodos, en comparación con los valores históricos de la planta (400-460 mg/L), pero no tan bajos como los de la DBO₅.

En el efluente de la planta los resultados obtenidos de DBO₅ (Gráfica 13) están por debajo del valor permitido para el vertido, 10 mg/L, y lo mismo sucede para la DQO (Gráfica 13), con un valor permitido de 60 mg/L. De manera que en el mes de diciembre se cumplen los valores de la autorización de vertido para los indicadores de contaminación orgánica.



Gráfica 13. Contaminación orgánica, DBO₅-DQO efluentes. Diciembre 2014.

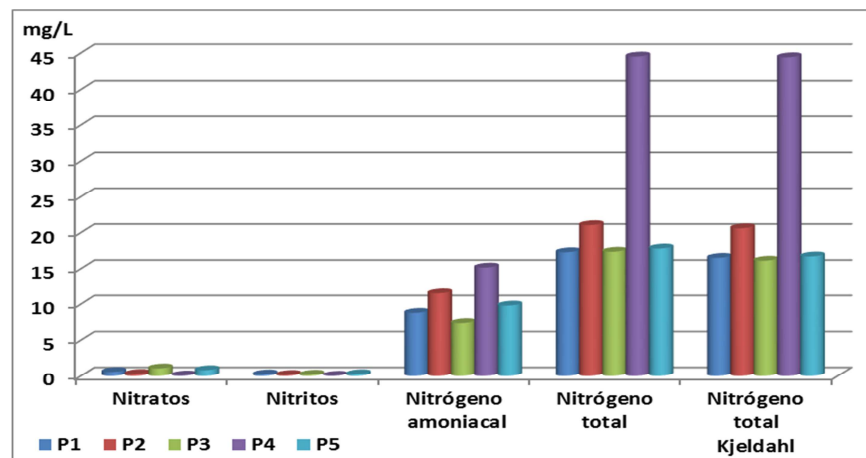
1.2.1.2. Concentración de compuestos nitrogenados

Otro de los objetivos que se persigue con el tratamiento biológico de las aguas residuales es la eliminación de nutrientes, en el caso de Baiña, la planta está preparada para la eliminación de nitrógeno pero no de fósforo. El proceso de eliminación de nitrógeno tiene lugar a través de un proceso de nitrificación (oxidación del nitrógeno amoniacal a nitrito y

posteriormente a nitrato) desnitrificación (eliminación del nitrato vía nitrógeno gas). Por este motivo, para determinar los rendimientos de eliminación se analizaron los siguientes parámetros:

- Nitratos.
- Nitritos.
- Nitrógeno amoniacal.
- Nitrógeno total.
- Nitrógeno Kjeldal (considera el nitrógeno orgánico y el amoniacal).

Los resultados de los análisis de los compuestos nitrogenados en el influente de la planta, se recogen en la Gráfica 14.



Gráfica 14. Contaminación compuestos nitrogenados, influentes. Diciembre 2014.

Los valores de nitratos y de nitritos son los esperados para un agua residual urbana, valores muy bajos a la entrada de la planta, despreciables para los nitritos y menores que 1 mg/L para los nitratos.

El nitrógeno que se descarga a la red de colectores proviene de los vertidos de urea y proteínas (procedentes de las excreciones humanas). El nitrógeno orgánico puede ser inerte o degradable. De manera que en el proceso de transporte del agua residual desde la red de colectores hasta la planta, la fracción orgánica degradable se transforma, por acción enzimática, en forma amoniacal, mediante el proceso denominado amonificación. La cinética de esta reacción es muy rápida para la urea, pero inferior para las proteínas; aun así, se puede considerar que al final del tratamiento no existe más que la fracción orgánica inerte. Debido a este proceso de amonificación nos encontramos el amonio a la entrada de la planta. El valor medio según los datos históricos de la planta es de 18 mg/L, mientras que en los análisis obtenemos valores por debajo de los valores medios, excepto en el periodo P4.

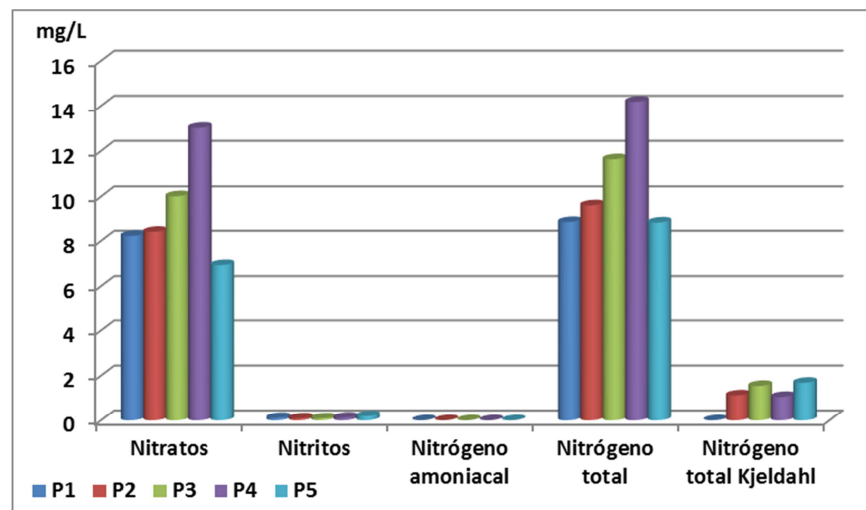
El nitrógeno total Kjeldahl representa el total de nitrógeno en forma orgánica y amoniacal (no incluye nitritos ni nitratos). El valor medio según los datos históricos de la planta es de 35 mg/L, mientras que los análisis arrojan valores por debajo de los valores medios, excepto en el periodo P4.

El nitrógeno total es la suma del nitrógeno orgánico, amonio, nitrito y nitrato. En comparación con el valor medio de la planta (38 mg/L), los análisis proporcionan valores por debajo de los valores medios, excepto en el periodo P4.

Los datos obtenidos para los compuestos nitrogenados a la entrada de la planta están por debajo de los valores históricos de la planta de Baña, observándose un efecto de dilución, debido a las lluvias del periodo. Se mantiene el pico en el periodo P4 que también habíamos observado para los parámetros orgánicos.

En el efluente de la planta todos los valores (Gráfica 15) recogidos en la autorización de vertido; tales como, nitrógeno amoniacal, nitrógeno total Kjeldahl y nitrógeno total, están por debajo de los valores

permitidos para el vertido. En el caso del amonio menor de 1,5 mg/L, menor de 4 mg/L para el nitrógeno total Kjeldhal y menor de 15 mg/L, para el nitrógeno total. De manera que en el mes de diciembre se cumplen los valores de vertido para los compuestos nitrogenados.



Gráfica 15. Contaminación compuestos nitrogenados, efluentes. Diciembre 2014.

Destacar que los valores obtenidos para el amonio, en el efluente de la planta, son menores de 0,40 mg/L, lo que nos indica que la planta es muy eficiente desde el punto de vista de la nitrificación, ya que es capaz de oxidar la mayor parte del amonio que entra en el reactor biológico. Y en el caso del proceso de desnitrificación, se observa que los rendimientos no son tan efectivos como los de nitrificación.

1.2.1.3. Valores de pH

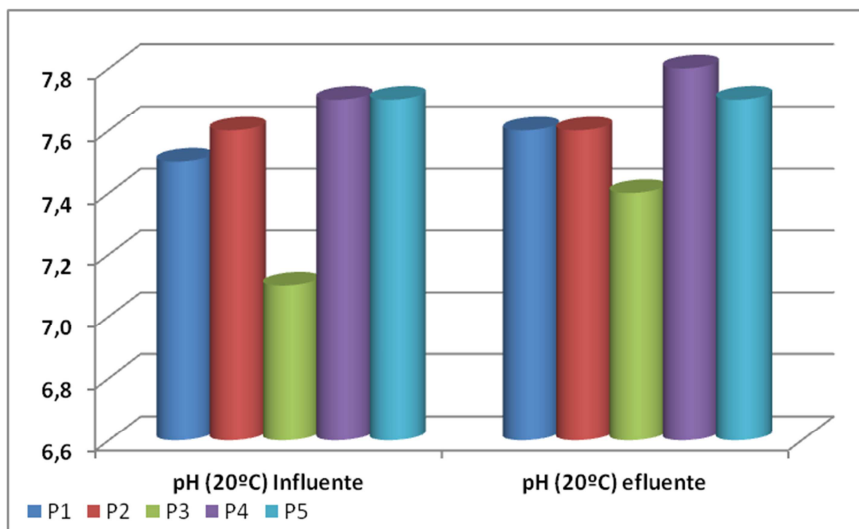
Con respecto a los otros dos parámetros que se consideran en la autorización de vertido, pH y sólidos en suspensión, nos centramos en primer lugar en el pH.

Los valores de pH en el influente (Gráfica 16), son típicos de un agua residual urbana. Durante todo el mes de diciembre los valores de pH

Ensayos Analíticos

a la salida de planta (Gráfica 16) están dentro del intervalo recogido en la autorización de vertido (6,5-9). Las variaciones entre los datos de entrada a planta y salida son mínimas de lo que se deduce que existe un equilibrio entre los procesos de nitrificación y desnitrificación.

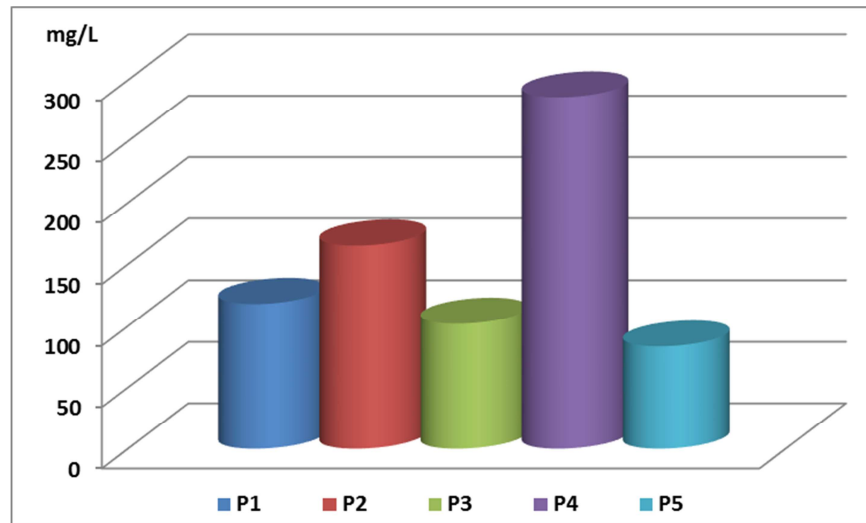
Recordemos que los procesos de nitrificación provocan un descenso del pH, mientras que los procesos de desnitrificación producen el efecto contrario, un incremento de pH.



Gráfica 16. Contaminación pH (20 °C), influentes-efluentes. Diciembre 2014.

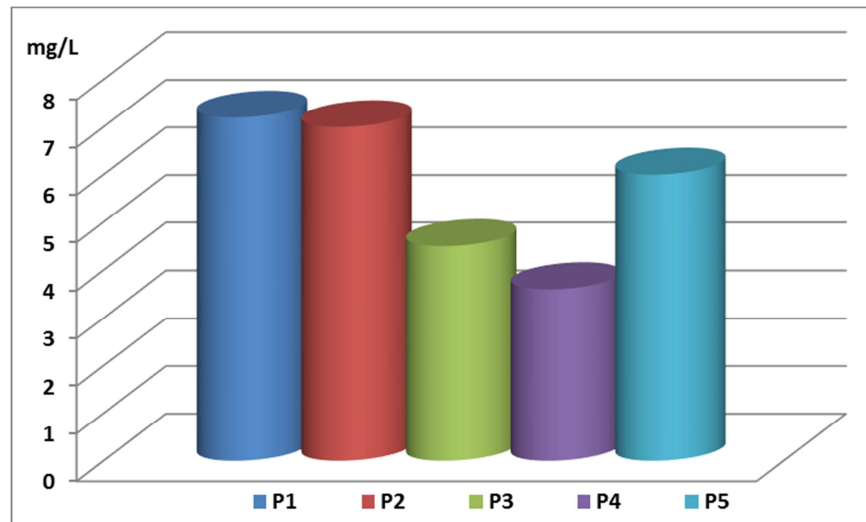
1.2.1.4. Concentración de sólidos en suspensión

Los resultados que se obtienen para los sólidos en suspensión a la entrada de planta (Gráfica 17), son bajos con respecto a los datos históricos de la planta de Baiña (valor medio de 195 mg/L), si bien la última semana de diciembre (periodo P4), se obtiene un valor de 286 mg/L, que está por encima de los valores medios de la planta. El resto de valores nos indican un efecto de dilución en el agua de entrada como consecuencia de los periodos de lluvias en el mes de diciembre.



Gráfica 17. Contaminación sólidos en suspensión, influentes. Diciembre 2014.

Los valores registrados a la salida de planta (Gráfica 18), están por debajo del valor recogido en la autorización de vertido 15 mg/L.



Gráfica 18. Contaminación sólidos en suspensión, efluentes. Diciembre 2014.

Ensayos Analíticos

Los valores bajos a la salida de la planta son indicativos de que los decantadores secundarios están funcionando de una manera muy efectiva, ya que no se produce un escape de sólidos por el vertedero de los mismos. En la decantación secundaria tiene lugar la separación entre los biosólidos y el agua de salida de planta. De manera que la sedimentación de los biosólidos en los decantadores secundarios es adecuada y no se observan fenómenos de bulking que dieran lugar a una mala sedimentación del biosólido y en consecuencia de su escape con la línea de agua, incrementando los valores de sólidos en suspensión y de los indicadores de contaminación orgánica, ya que los sólidos en suspensión tienen un componente orgánico.

1.2.2. *Parámetros físico-químicos de enero 2015*

Los resultados obtenidos en el mes de enero son los siguientes:

Tabla 12. Parámetros físico-químicos influente/efluente planta. Enero 2015.

AGUA INFLUENTE (I) / EFLUENTE (E) Enero 2015					
Parámetros		P1 ^a	P2 ^b	P3 ^c	P4 ^d
DBO ₅ (mg/L)	I	160	155	32	88
	E	4	5,5	3,5	3,5
DQO (mg/L)	I	257	235	63	157
	E	22	< 10	17	20
Nitratos (mg/L)	I	1,24	0,57	2,68	1,34
	E	10,23	9,2	1,31	11,95
Nitritos (mg/L)	I	0,13	0,21	0,15	0,38
	E	0,13	0,20	< 0,36	0,09
Nitrógeno amoniacal (mg/L)	I	14,9	14,5	3,15	9,17
	E	< 0,40	< 0,40	< 0,40	< 0,40
Nitrógeno total (mg/L)	I	28,8	29,7	11	17,5
	E	12,1	11	3,1	13,5

Tabla 12. (Continuación).

AGUA INFLUENTE (I) / EFLUENTE (E) Enero 2015					
Parámetros		P1 ^a	P2 ^b	P3 ^c	P4 ^d
Nitrógeno Kjeldahl (mg/L)	I	26,8	28,9	8,13	15,8
	E	1,75	1,54	1,68	1,47
pH (20 °C)	I	7,3	7,3	7,4	7,3
	E	7,4	7,4	7,3	7,6
Sólidos Suspensión (mg/L)	I	132	146	39,4	88,5
	E	13,8	8,2	8,0	8,5

^a P1 del 5 al 9 de enero de 2015.

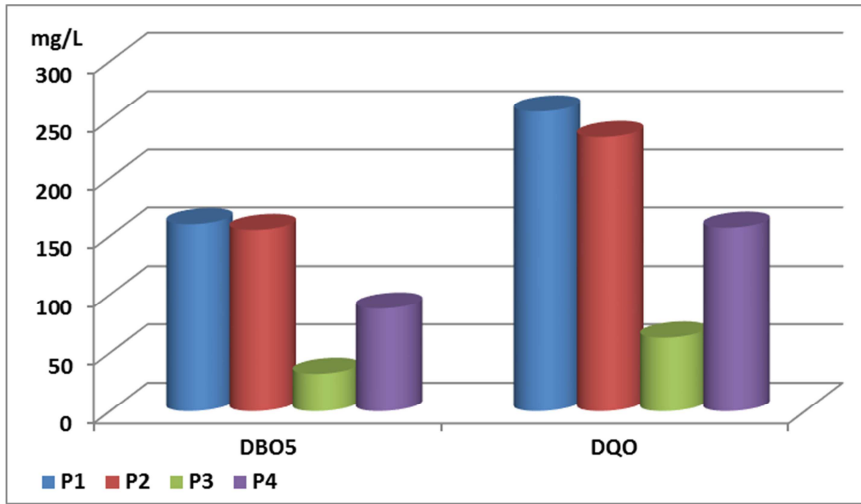
^b P2 del 12 al 16 de enero de 2015.

^c P3 del 19 al 23 de enero de 2015.

^d P4 del 26 al 29 de enero de 2015.

1.2.2.1. Indicadores de contaminación orgánica

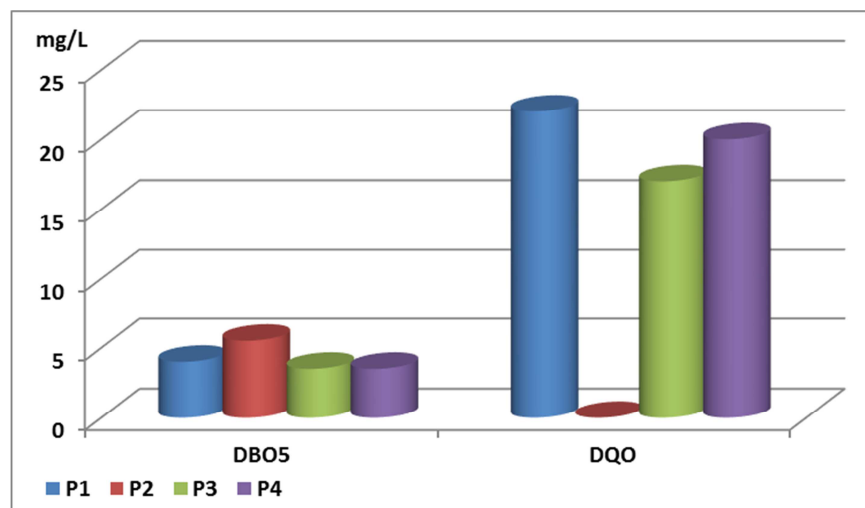
Los resultados de la DBO₅ a la entrada de planta (Gráfica 19) reflejan un incremento de la concentración en los periodos P1 y P2 con respecto al mes de diciembre de 2014, pero aún así son valores bajos con respecto a los datos históricos de la planta de Baiña (250 mg/L), siendo este descenso aun más acusado en los periodos P3 y P4. El efecto de dilución es muy marcado en la segunda quincena de enero de 2015.



Gráfica 19. Contaminación orgánica, DBO₅-DQO influentes. Enero 2015.

Los valores de DQO están por debajo de los valores históricos de la planta (400-460 mg/L), se observa el descenso en los periodos P3 y P4 con respecto a la primera quincena del mes de enero de 2015. Pero en este caso el efecto de dilución en la segunda quincena no es tan acusado como en el caso de la DBO₅.

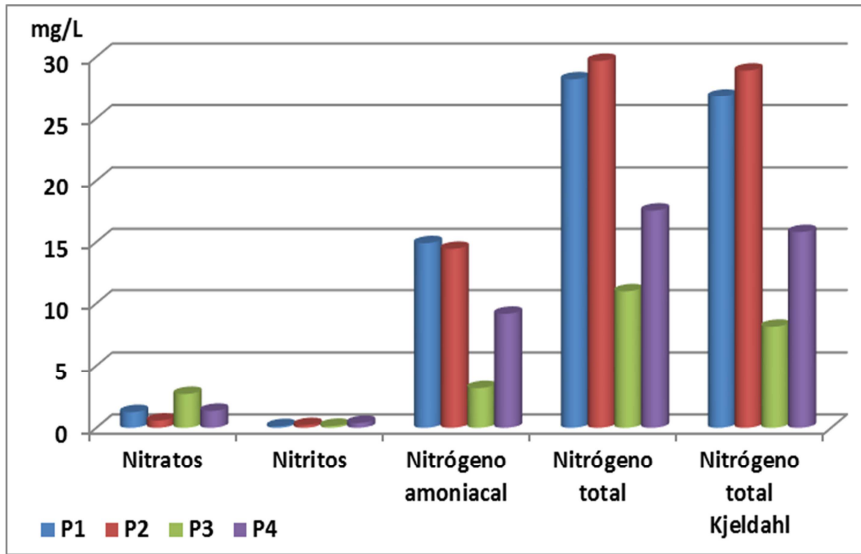
Al igual que en el mes de diciembre de 2014 todos los valores de DBO₅ y DQO (Gráfica 20) están por debajo del valor permitido para el vertido. De manera que aún a pesar de los efectos de dilución como consecuencia del periodo de lluvias durante dos meses, la planta responde perfectamente siendo capaz de cumplir con los rendimientos de eliminación de materia orgánica.



Gráfica 20. Contaminación orgánica, DBO₅-DQO efluentes. Enero 2015.

1.2.2.2. Concentración de compuestos nitrogenados

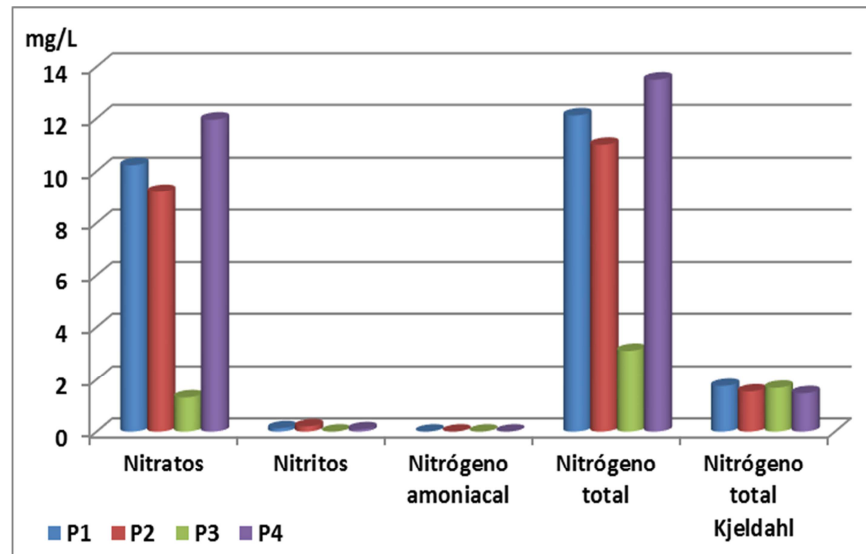
Los valores para los distintos compuestos del nitrógeno en el influente de planta (Gráfica 21), indican un ligero incremento en la concentración de los nitratos con respecto al mes de diciembre de 2014, aun así las concentraciones de nitratos y nitritos a la entrada de la planta son despreciables. Con respecto al amonio se observa un incremento en la concentración en la primera quincena del mes con respecto al mes de diciembre de 2014, si bien se produce una disminución en la segunda quincena (periodos P3 y P4), especialmente en el periodo P3. No obstante los valores siguen estando por debajo del valor medio de la planta (18 mg/L). La misma tendencia se observa analizando los resultados del nitrógeno total Kjeldahl (NTK) y del nitrógeno total, con valores por debajo del valor medio de 35 mg/L para el NTK y 38 mg/L, para el nitrógeno total.



Gráfica 21. Contaminación compuestos nitrogenados, influentes. Enero 2015.

Si recordamos los datos de la Gráfica 11 el día 18 de enero se registró un valor punta de 42 mm. Lo que permite explicar esa disminución en las concentraciones en el periodo P3.

En el efluente de la planta todos los valores recogidos (Gráfica 22) en la autorización de vertido, están por debajo de los valores permitidos para el vertido.

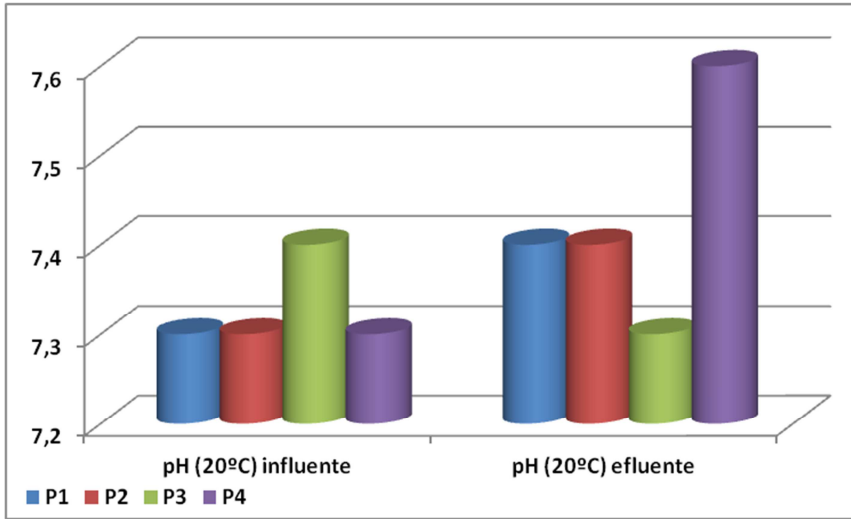


Gráfica 22. Contaminación compuestos nitrogenados, efluentes. Enero 2015.

Señalar que salvo en el periodo P3, los valores de nitratos en el efluente de planta se han incrementado con respecto a los valores del mes de diciembre de 2014. La planta presenta una eficiencia alta en los procesos de nitrificación (lo que se ratifica con los valores tan bajos de amonio a la salida de planta) pero no así en el proceso de desnitrificación, y esto es debido a que no hay suficiente carga orgánica en los reactores anóxicos donde tiene lugar el proceso de desnitrificación. Aún así la planta cumple con garantías los límites establecidos en la autorización de vertido para el nitrógeno total.

1.2.2.3. Valores de pH

Los valores de pH, en el mes de enero 2015 son los siguientes:

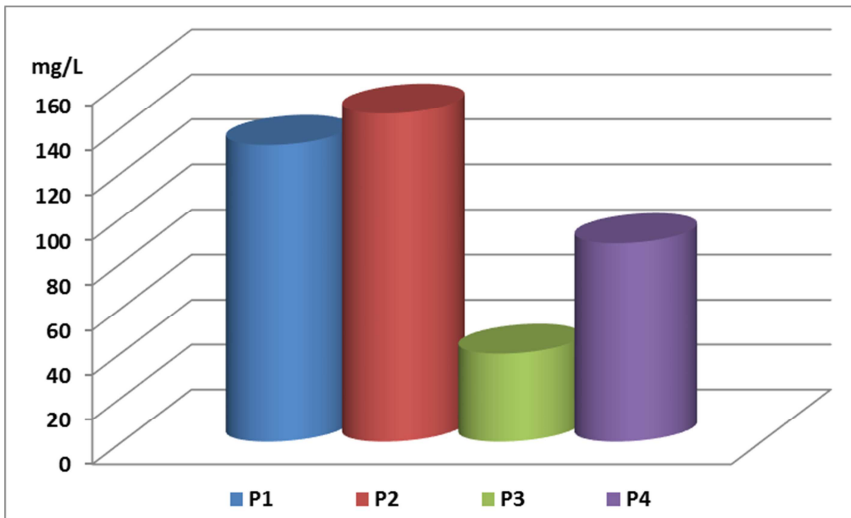


Gráfica 23. Contaminación pH (20 °C), influentes-efluentes. Enero 2015.

No se observan cambios con respecto al mes de diciembre de 2014, cumpliendo con los valores recogidos en la autorización de vertido.

1.2.2.4. Concentración de sólidos en suspensión

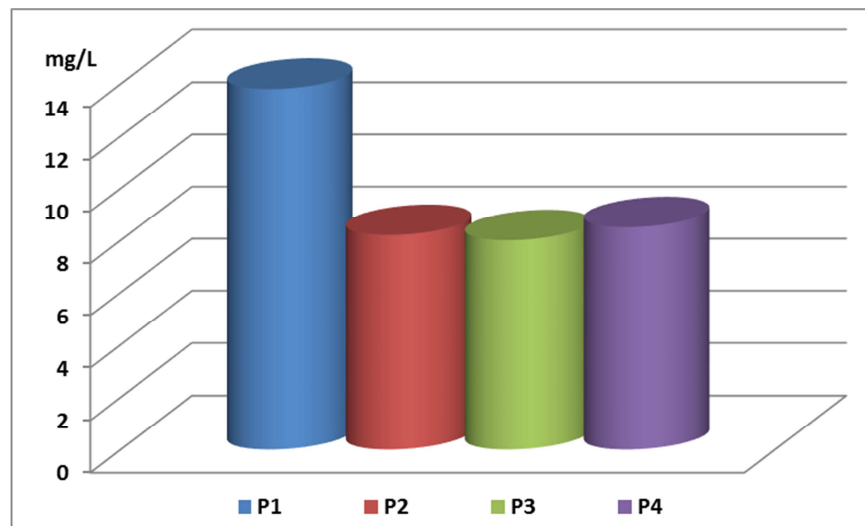
En el influente de planta los valores se recogen en la Gráfica 24.



Gráfica 24. Contaminación sólidos en suspensión, influentes. Enero 2015.

A la entrada de planta se observan valores bajos con respecto a los valores medios de la planta de Baiña (195 mg/L), si bien en los periodos P3 y P4 se obtienen valores muy bajos, por lo que el efecto de dilución es muy marcado, especialmente en el periodo P3. Se mantiene la tendencia observada en los indicadores de contaminación orgánica y compuestos del nitrógeno, de un incremento de la concentración en la primera quincena del mes con respecto al mes de diciembre pero que como consecuencia de los efectos de dilución por la lluvia bajan drásticamente en el periodo P3.

Durante todo el mes de enero los valores de los sólidos en suspensión a la salida de planta (Gráfica 25), están por debajo del valor recogido en la autorización de vertido (15 mg/L).



Gráfica 25. Contaminación sólidos en suspensión, efluentes. Enero 2015.

1.2.3. Parametros fisico-quimicos de febrero 2015

La Tabla 13 recoge los resultados del mes de febrero.

Tabla 13. Parámetros físico-químicos influente/Efluente planta. Febrero 2015.

AGUA INFLUENTE (I) / EFLUENTE (E) Febrero 2015				
Parámetros		P1 ^a	P2 ^b	P3 ^c
DBO ₅ (mg/L)	I	37	60	78
	E	< 3	4,5	< 3
DQO (mg/L)	I	103	116	152
	E	24	14	< 10
Nitratos (mg/L)	I	2,62	1,77	1,54
	E	5,32	6,6	4,99
Nitritos (mg/L)	I	< 0,30	0,33	0,13
	E	< 0,30	< 0,30	< 0,30
Nitrógeno amoniacal (mg/L)	I	1,26	5,8	1,83
	E	< 0,40	< 0,40	< 0,40
Nitrógeno total (mg/L)	I	7,26	12,40	8,67
	E	6,26	7,89	6,05
Nitrógeno Kjeldahl (mg/L)	I	4,6	10,3	7,00
	E	0,84	1,18	0,97
pH (20 °C)	I	7,4	7,3	7,1
	E	7,4	7,4	7,3
Sólidos Suspensión (mg/L)	I	63	79,6	154
	E	9,6	5,7	8,7

^a P1 del 2 al 6 de Febrero de 2015.

^b P2 del 9 al 13 de Febrero de 2015.

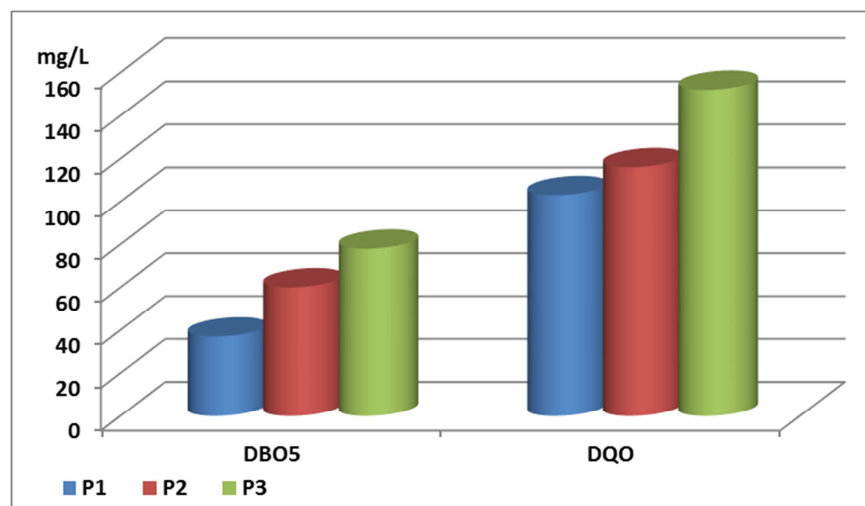
^c P3 del 16 al 20 de Febrero de 2015.

1.2.3.1. Indicadores de contaminación orgánica

Los datos de DBO₅ y DQO a la entrada de planta (Gráfica 26), reflejan un efecto de dilución muy acusado en comparación con los

meses de diciembre de 2014 y enero de 2015. Señalar que el 30 de enero de 2015 se recogió una punta de lluvia de 44 mm. El valor más alto de los datos registrados durante el periodo de estudio.

Los datos registrados de DBO_5 están muy por debajo ya no sólo del valor medio de la planta (250 mg/L) sino también con respecto a los valores registrados en los meses de diciembre de 2014 y enero de 2015.



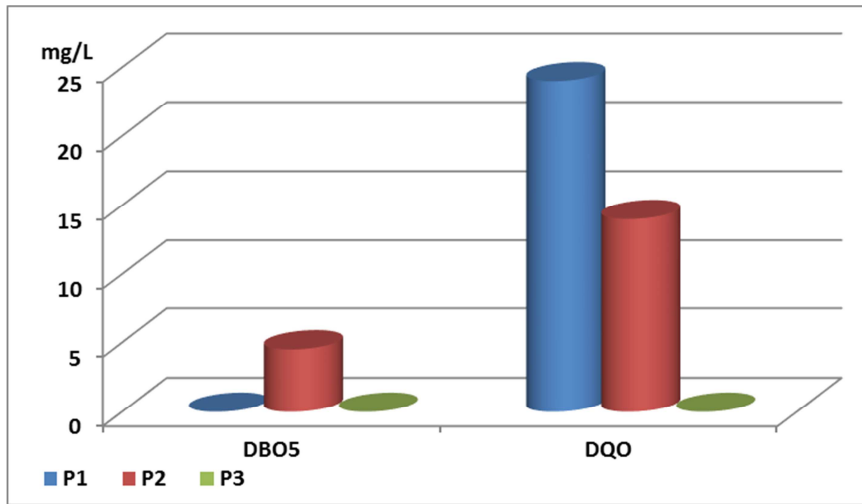
Gráfica 26. Contaminación orgánica, DBO_5 -DQO influentes. Febrero 2015.

Lo mismo sucede con los valores de DQO (Gráfica 26) con valores muy por debajo de los valores medios registrados en la planta (400-460 mg/L).

Podemos pensar que el efecto de dilución en el mes de febrero es más acusado como consecuencia de la acumulación de lluvias durante casi un trimestre.

La misma tendencia se observa en los valores registrados en el efluente de la planta (Gráfica 27). De manera que en el mes de febrero se cumplen los valores de vertido de los indicadores de contaminación

orgánica. Con rendimientos de eliminación muy altos debido a las bajas concentraciones de entrada.

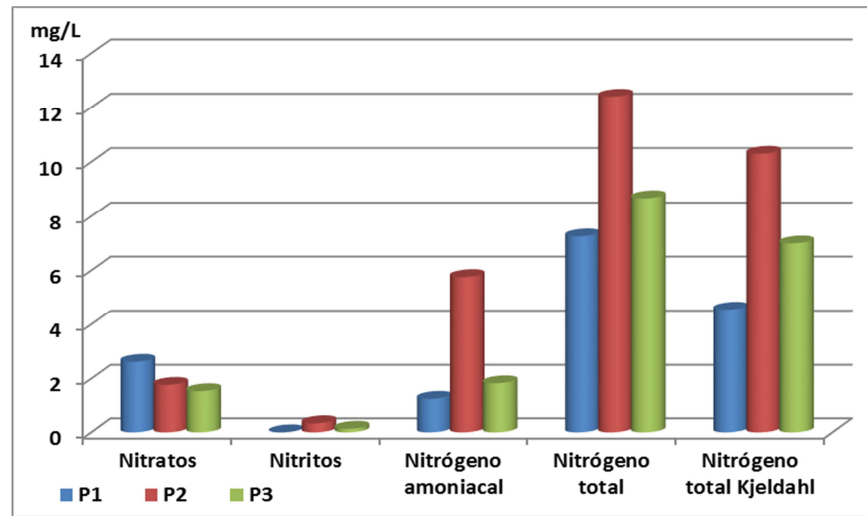


Gráfica 27. Contaminación orgánica, DBO₅-DQO efluentes. Febrero 2015.

1.2.3.2. Concentración compuestos nitrogenados

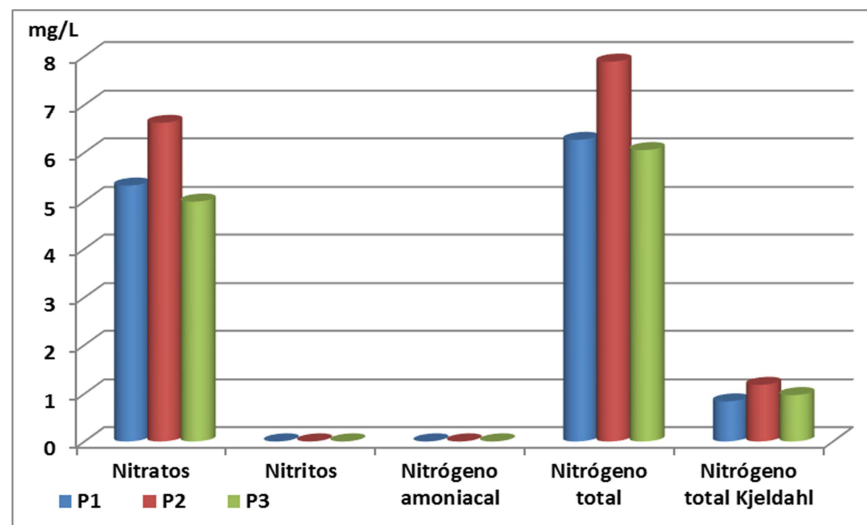
Con respecto a los valores obtenidos en el influente de la planta (Gráfica 28), destacar los valores tan bajos del amonio, no ya con respecto a los meses de diciembre de 2014 y enero de 2015 sino con respecto al valor medio (18 mg/L). Y esta tendencia se mantiene tanto para el NTK como para el nitrógeno total.

Podemos decir que los resultados de los análisis de los compuestos nitrogenados están por debajo de los valores históricos de la planta de Baña, observándose un efecto de dilución muy importante, como consecuencia de las lluvias durante los tres meses que duró el muestreo.



Gráfica 28. Contaminación compuestos nitrogenados, influentes. Febrero 2015.

En el efluente de la planta todos los valores recogidos (Gráfica 29) en la autorización de vertido: nitrógeno amoniacal, nitrógeno total Kjeldahl y nitrógeno total, están muy por debajo de los valores permitidos para el vertido.



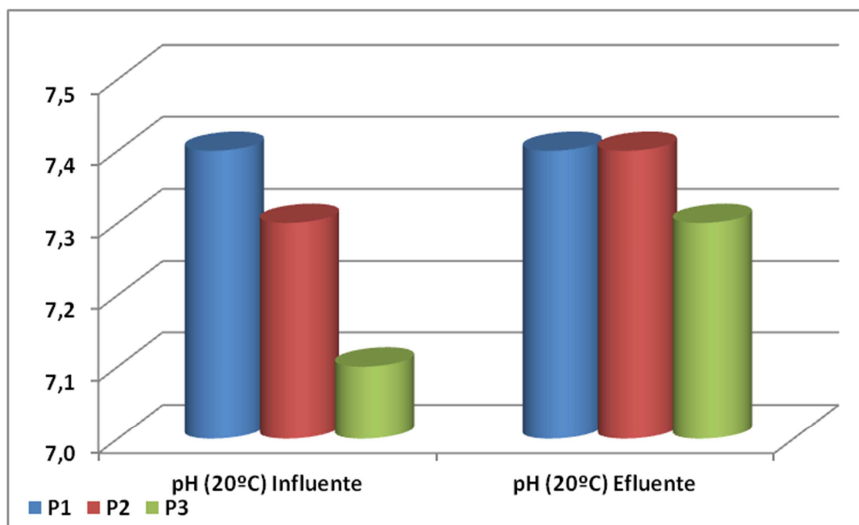
Gráfica 29. Contaminación compuestos nitrogenados, efluentes. Febrero 2015.

Ensayos Analíticos

Incluso en el caso de los nitratos, que en los meses anteriores registraban valores altos, en el mes de febrero se obtienen concentraciones más bajas. Podemos concluir que a pesar del efecto de dilución la planta es capaz de garantizar los rendimientos de eliminación de nitrógeno.

1.2.3.3. Valores de pH

Durante todo el mes de febrero al igual que en los meses anteriores los valores tanto en la entrada como en la salida de planta (Gráfica 30) están dentro del intervalo recogido en la autorización de vertido (6,5-9), comprobándose que existe un equilibrio entre los procesos de nitrificación y desnitrificación.

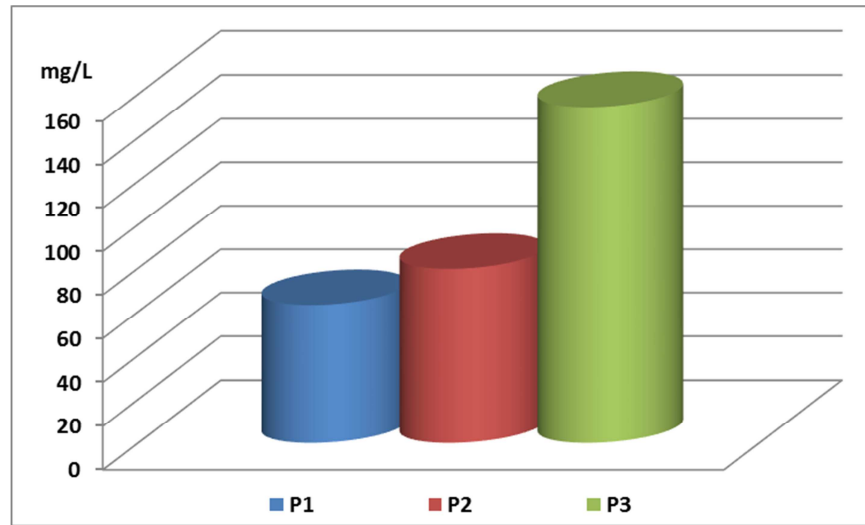


Gráfica 30. Contaminación pH (20 °C), influentes-efluentes. Febrero 2015.

El pH se ha mantenido muy estable a lo largo de todo el periodo de estudio, siendo la variable que menos cambios ha sufrido.

1.2.3.4. Concentración de sólidos en suspensión

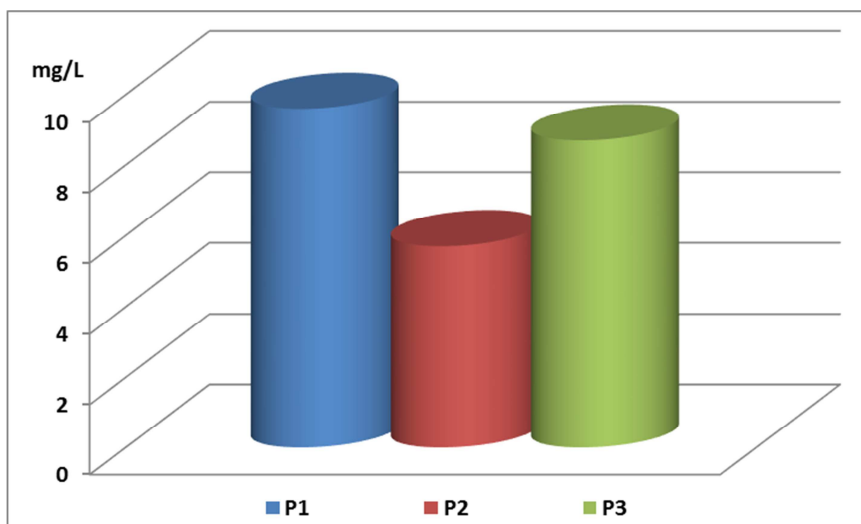
Con respecto a los datos de sólidos en suspensión a la entrada de planta (Gráfica 31) se observan valores muy bajos con respecto a los datos históricos de la planta de Baiña (valor medio de 195 mg/L), por lo que el efecto de dilución es muy marcado.



Gráfica 31. Contaminación sólidos en suspensión, influentes. Febrero 2015

Durante todo el mes de febrero los valores a la salida de planta (Gráfica 32), están por debajo del valor recogido en la autorización de vertido, 15 mg/L.

Podemos concluir que durante todo el periodo de estudio tanto los procesos biológicos en los reactores, como los procesos de sedimentabilidad en la decantación secundaria, han funcionado de una manera muy efectiva siendo la planta capaz de amortiguar periodos intensos y acumulativos de lluvia, sin verse afectada la calidad del agua de salida de planta en ningún momento.



Gráfica 32. Contaminación sólidos en suspensión, efluentes. Febrero 2015.

1.3. Variables operacionales

Los datos relativos a las variables operacionales durante el periodo del muestreo, son los siguientes:

Tabla 14. Variables operacionales.

Variables Operacionales	Dic 2014	Ene 2015	Feb 2015
Edad del Fango (días)	13	10	13
Temperatura reactor biológico (°C)	12,6	12,2	11,2
Sólidos en Suspensión reactor biológico (g/L)	1,68	1,91	1,95
Sólidos en Suspensión recirculación (g/L)	3,21	3,96	4,87
Oxígeno reactor biológico (mg/L)	1,5	1,7	2,2
Índice volumétrico de fangos (mL/g)	91	90	56

Se define la edad del fango como la relación entre la biomasa existente en el reactor y la biomasa que se saca del reactor biológico. Este parámetro es de gran importancia para el control del funcionamiento de los procesos biológicos en el reactor. Una edad del fango insuficiente puede traer problemas en los procesos de nitrificación. Por el contrario, un valor alto de la edad del fango puede dar lugar a problemas de sedimentabilidad de los lodos en la decantación secundaria como consecuencia del desarrollo de microorganismos favorecedores de los episodios de *bulking*, que originan una mala sedimentabilidad del lodo, y escape de flotantes en la decantación secundaria, dando lugar a un empeoramiento de la calidad del agua de salida de la planta. Por tanto, se trata de buscar la edad del fango más adecuada para lograr los rendimientos de eliminación de materia orgánica y nutrientes (en nuestro caso nitrógeno).

Durante el periodo de análisis la edad del fango se ha mantenido estable entre los 10 y 13 días. La temperatura tiene una gran influencia sobre la edad del fango, ya que cuanto mayor sea la temperatura menor será la edad del fango necesaria para los procesos de nitrificación. La temperatura influye en las cinéticas de las reacciones bioquímicas que tienen lugar en el reactor biológico. En el periodo de estudio la temperatura en el reactor se ha mantenido estable entre 11 y 13 °C.

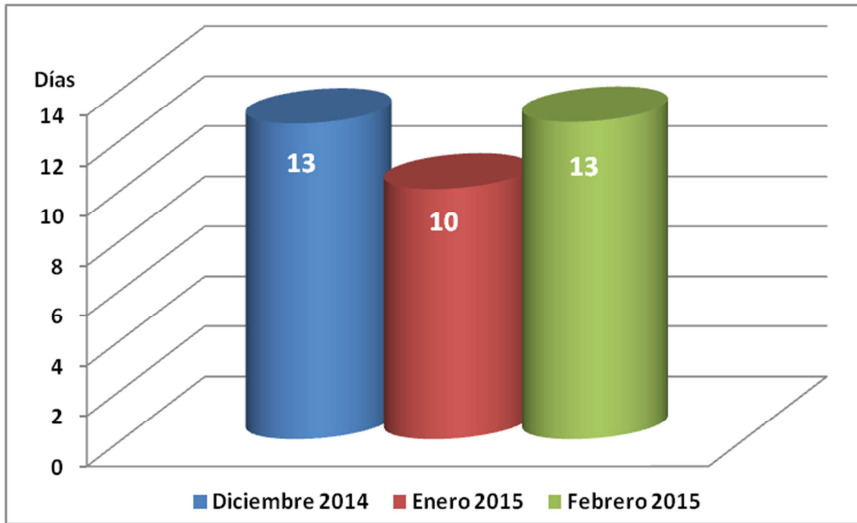
Con respecto a los sólidos en suspensión, tanto en el reactor biológico como los procedentes de la recirculación de los decantadores secundarios, permiten mantener una concentración adecuada de biomasa en el reactor, para de este modo desarrollar la microfauna necesaria que lleve a cabo los procesos de degradación de la materia orgánica y la eliminación del nitrógeno. Durante los tres meses de estudio los valores se han mantenido sin grandes incrementos o disminuciones.

Ensayos Analíticos

El control de todas estas variables ha permitido mantener durante el periodo de estudio una edad del fango estable con altos rendimientos de depuración y gran estabilidad del sistema sin alteraciones en el proceso.

Como consecuencia de esta estabilidad, los rendimientos de eliminación de los fármacos no debería estar influenciado por los procesos biológicos que tienen lugar en el reactor, ya que hemos visto que el comportamiento del mismo mantiene una estabilidad a lo largo del periodo de estudio.

En la Gráfica 33 se observa como la variación de la edad del fango a lo largo del periodo de estudio ha sido mínima.



Gráfica 33. Edad del Fango, Diciembre 2014 – Enero 2015 – Febrero 2015.

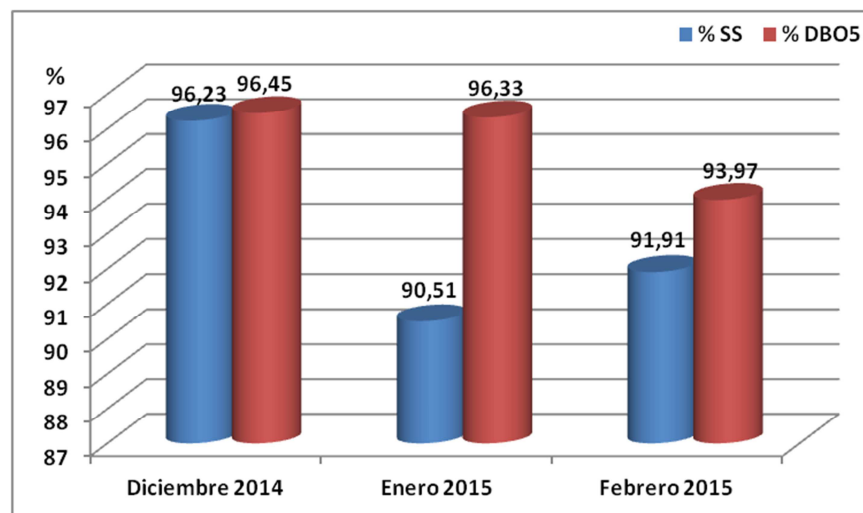
2. Conclusiones

El análisis de los parámetros físico-químicos de entrada a la planta durante los tres meses del estudio destacan por ser valores bajos con respecto a los históricos de la planta de Baiña.

Se observa un efecto de dilución de las muestras analizadas como consecuencia de los periodos de lluvia, viéndose un efecto acumulativo en el mes de febrero después de un periodo de tres meses con lluvia.

En todas las muestras se cumplen los parámetros de garantía del vertido.

En relación con el funcionamiento de la planta, los análisis realizados se observa que los rendimientos de depuración en DBO₅ y sólidos en suspensión son superiores al 90%, por lo que podemos afirmar que la planta durante el periodo de estudio ha operado de manera satisfactoria.



Gráfica 34. Rendimientos de depuración SS, DBO₅.

Ensayos Analíticos

Señalar que los rendimientos de depuración obtenidos están por encima de los recogidos en la Directiva 91/271/CEE¹ que establece un porcentaje mínimo de reducción del 90% para los sólidos en suspensión y entre el 70-90% para la DBO₅.

Con respecto a las variables operacionales analizadas se desprende que existe una estabilidad en el proceso, de manera que se ha mantenido una edad del fango adecuada para llevar a cabo los procesos de degradación de la materia orgánica y la eliminación de nitrógeno.

3. Parte experimental

Los fundamentos de los procedimientos analíticos seguidos en la determinación de los parámetros físico-químicos se detallan a continuación.

Tabla 15. Parámetros físico-químicos a analizar.

Parámetro	Metodología Analítica
pH (a 20 °C)	Electrometría
Sólidos en Suspensión (SS)	Filtración
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	Espectrofotometría UV-VIS
Demanda Biológica de Oxígeno (DBO ₅)	Respirometría
Nitrógeno amoniacal	Espectrofotometría UV-VIS
Nitrógeno total Kjeldahl (NTK)	Titulación volumétrica
Nitratos	Espectrofotometría UV-VIS
Nitritos	Espectrofotometría UV-VIS
Nitrógeno total (NT)	Calculado

Demanda Química de Oxígeno (DQO): Se determina por espectrofotometría. Las sustancias oxidables reaccionan con solución de ácido sulfúrico y dicromato de potasio en presencia de sulfato de plata como catalizador. El cloruro se enmascara con sulfato de mercurio. Se valora la disminución de la coloración amarilla del ion Cr(VI).

En los kits (LCK 514) de rango alto (100-2000 mg/L), se evalúa la coloración verde del ion Cr(III) formado por reducción del ion dicromato, midiendo la absorción a 620 nm. En los kits (LCK 1414) de rango bajo (5-60 mg/L), se evalúa la coloración amarilla del ion Cr(VI) que no ha reaccionado, midiendo la absorción a 340 nm.

Se toma la muestra y se agita la cubeta para que el sedimento quede en suspensión. Se pipetea 2 mL de muestra sin filtrar, se homogeneiza la mezcla y se cierra la cubeta. Se lleva a digestión a 150-170 °C durante 15

Ensayos Analíticos

min (con el Termostato HT 200S). Se extrae la cubeta, se agita y se deja reposar a temperatura ambiente hasta que sedimente. A continuación, se realiza la medida.

Demanda Biológica de Oxígeno (DBO₅): El análisis se realiza a través del método Oxitop, que consiste en incubar durante 5 días a 20 °C (± 1) en ausencia de luz las muestras y medir el consumo de oxígeno de los microorganismos que oxidan la materia orgánica. En las botellas parcialmente llenas queda un volumen de aire a presión atmosférica; esta atmósfera de aire va conectada a un medidor de presión. La actividad biológica produce un consumo de oxígeno disuelto, de modo que el oxígeno del aire se va disolviendo en el agua, provocando una caída de presión en el volumen de aire, que es detectada por el medidor de presión.

El análisis se hace en botellas de 500 mL donde se añade la muestra sin filtrar. Para el agua de entrada a planta consideramos 164 mL de muestra y para el agua de salida de planta 432 mL de muestra. Se utiliza un inhibidor de la nitrificación (N-aliltiourea) y en los capuchones de las botellas se colocan unas perlas de sosa para recoger el dióxido de carbono que se genera. Una vez preparadas las muestras se incuban en nevera durante cinco días. Si bien los oxitop permiten ir viendo el consumo de oxígeno día a día.

Nitratos (NO₃⁻): Se determina por espectrofotometría. En soluciones que contienen ácido sulfúrico y fosfórico, los iones nitrato reaccionan con 2,6-dimetilfenol, formando 4-nitro-2,6-dimetilfenol, que se determina espectrofotométricamente a una longitud de onda de 339 nm.

Para el agua de entrada a la planta, se filtra previamente la muestra, 60 mL, con filtros Millipore de fibra de vidrio (AP40) con diámetro de poro de 0,7 μ m. En el caso del agua de salida de planta se toman 60 mL y no se requiere filtración.

Se determinan mediante Kits Hach (LCK 339) rango de concentración 1-60 mg/L. Se utiliza 1 mL de muestra filtrada y 0,2 mL de reactivo del fabricante. Se agita y se espera 15 min antes de realizar la medida.

Nitritos (NO_2^-): Se determina por espectrofotometría. En disolución ácida, los nitritos reaccionan con aminas aromáticas primarias, formando sales de diazonio. Estas sales forman, con compuestos aromáticos que contienen un grupo amino o un grupo hidroxilo, colorantes azoicos intensamente coloreados. Se miden a una longitud de onda de 535 nm.

Para el agua de entrada y salida a la planta se filtra previamente la muestra, 60 mL, con filtros Millipore de fibra de vidrio (AP40), con diámetro de poro de 0,7 μm . Para el análisis se toman 2 mL de muestra, se añade reactivo del fabricante, se agita y se esperan 10 min antes de realizar la medida. Se analiza mediante el Kit (LCK 341).

Nitrógeno amoniacal: A un pH de 12,6 los iones amonio reaccionan con iones hipoclorito e iones salicilato, en presencia de nitroprusiato de sodio como catalizador, formando azul de indofenol. Las mediciones se realizan a 540 nm (rango alto) o a 630 nm (rango bajo).

Los rangos usados comprenden las concentraciones entre 0,02-2,5 mg/L de amonio para efluentes o aguas muy limpias (Kit LCK 304) y de 2,5 - 60 mg/L de amonio para influentes (Kit LCK 303).

Para el análisis de efluentes se utilizan 5 mL y para influentes 0,2 mL de muestra filtrada en ambos casos. La muestra se añade en la cubeta y se agita para mezclar la disolución con el reactivo sólido del fabricante incluido en la cubeta. Transcurridos 15 min se realiza la medida.

Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK): Conversión de los compuestos nitrogenados reactivos al sulfato amónico, por mineralización de la muestra con ácido sulfúrico con un alto contenido de sulfato potásico. Liberación de ion amonio a partir del sulfato amónico mediante la

Ensayos Analíticos

adición de un álcali y destilación sobre una solución indicadora de ácido bórico. Determinación del ion amonio en el destilado por valoración.

En este caso se utilizan 100 mL de muestra, excepto con influentes muy cargados (NTK esperada mayor de 30 mg/L) donde realizamos una dilución al 50% de la muestra. Se debe preparar al menos un blanco usando 100 mL de agua destilada exenta de amonio.

A las muestras y blancos se les añade una cucharada de selenio (que actúa de catalizador) y 10 mL de ácido sulfúrico. La muestra se lleva a digestión durante 90 min a 350 °C.

Una vez finalizada la digestión se dejan enfriar las muestras y blancos y se comienza la destilación en el equipo Buchi. La muestra se va recogiendo sobre ácido bórico (30 mL) y cuatro gotas de indicador mixto de nitrógeno (solución indicadora mixta rojo de metilo-azul de metileno).

La disolución del erlenmeyer de color violeta/rosa al inicio de la destilación pasa a verde según se van desprendiendo los iones amonio del sulfato amónico generado en la digestión. Según la cantidad de amonio recogido aparecerá un verde más o menos intenso.

El equipo de destilación trabaja con la siguiente programación: 20 mL de agua y 85 mL de sosa. Tras completar la destilación, se coloca el erlenmeyer en el que se ha recogido el destilado sobre un agitador magnético y se valora con una solución factorizada de ácido sulfúrico 0,02 N hasta viraje del indicador de verde a incoloro acerado.

Nitrógeno total: El nitrógeno total es la suma del nitrógeno orgánico más el amoniacal, más el nitrógeno de nitratos y el de nitritos. Por su parte el nitrógeno orgánico más el amoniacal, es el Nitrógeno Total Kjeldahl, que calculamos previamente. De esta manera el nitrógeno total se obtiene por cálculo directo.

Los resultados se cotejan con análisis por espectrofotometría.

El nitrógeno ligado inorgánica y orgánicamente se oxida a nitrato mediante digestión con peroxidisulfato. Los iones nitrato reaccionan en una solución de ácido sulfúrico y fosfórico con 2,6-dimetilfenol formando un nitrofenol, que se determina espectrofotométricamente a una longitud de onda de 340 nm.

Para aguas de entrada el rango utilizado es de 2-100 mg/L de nitrógeno total (Kit LCK 338), se necesitan 0,2 mL de muestra sin filtrar. Para aguas de salida el rango es de 1-16 mg/L de nitrógeno total (Kit LCK 138) y el volumen de muestra 1,3 mL sin filtrar.

Se coge una muestra del agua y se añaden, 2,3 mL para el agua de entrada y 1,3 mL para el agua de salida, del agente de reacción del fabricante y una pastilla de un segundo agente de reacción de manera que se lleva a digestión durante 15 min a temperatura de 150 °C (termostato HT 200S). Tras la digestión, se añade un tercer agente de reacción del fabricante y se homogeniza la mezcla, de la que se toman 0,5 mL de muestra y se llevan a una cubeta de análisis donde se añaden 0,2 mL de un cuarto agente de reacción del fabricante, se espera 15 min y se procede a la lectura de la concentración.

pH: El pH se obtiene a través de la medida de potencial eléctrico entre dos electrodos (electrodo de membrana de vidrio y electrodo de referencia), montados en este equipo sobre un mismo cuerpo. Dicho potencial eléctrico se crea en la membrana de vidrio del electrodo y es función de la actividad de los iones hidrógeno a ambos lados de la membrana.

Sólidos en Suspensión (SS): La muestra se filtra utilizando un aparato de vacío a través de un filtro de fibra de vidrio. Posteriormente, se seca el filtro a 105 ± 2 °C y se determina la masa del residuo retenido en el filtro mediante pesada.

III.B. Ensayos de bioindicación

1. Resultados y discusión

El reactor biológico de una EDAR se puede considerar como un ecosistema artificial, formado por una amplia diversidad de organismos, incluyendo bacterias, hongos, algas, protozoos o pequeños metazoos. El contenido del reactor biológico es lo que llamamos, fango activo o licor mixto. Los microorganismos más abundantes en el fango activo son los heterótrofos, que son los responsables de la eliminación de la materia orgánica y de los procesos de desnitrificación. Sin embargo, la nitrificación es un proceso microbiológico en dos etapas llevado a cabo por organismos autótrofos. No consideramos la eliminación de nitrógeno vía nitrito.

En la fase inicial del proceso de depuración existen bacterias dispersas. Si el proceso sigue evolucionado al darse las condiciones adecuadas, se establecen microorganismos floculantes capaces de agregarse entre sí y dar lugar a la formación de los flóculos.

El flóculo contiene otras sustancias orgánicas e inorgánicas provenientes del agua residual y sustancias poliméricas segregadas por las bacterias que ejercen un papel fundamental en la biofloculación.

Está demostrado que las alteraciones del flóculo son un indicativo de problemas, así como de la salud del sistema. De esta manera, los análisis de bioindicación son herramientas que nos permiten averiguar el estado de los procesos que ocurren en el reactor biológico, donde tienen lugar los procesos de eliminación de materia orgánica y nutrientes.

Ensayos Analíticos

La composición y estructura de la comunidad biológica de un reactor refleja características de gran importancia sobre el funcionamiento del proceso depurador. De esta forma, la comunidad microbiana indica en cada momento el estado de funcionamiento del reactor, lo que permite actuar de forma rápida y eficaz, tanto en la resolución de problemas habituales, como en la optimización de rendimientos y costes energéticos.

Se realizaron dos análisis al mes, de manera que las muestras puntuales en el reactor biológico se tomaban al inicio y al fin del mes. Las fechas de los ensayos fueron las siguientes:

- Diciembre de 2014 (días 3 y 29).
- Enero de 2015 (días 7 y 29).
- Febrero de 2015 (días 6 y 27).

Los análisis de bioindicación que llevamos a cabo por microscopía convencional se recogían en la Tabla 7.

Cómo modelo de análisis utilizamos el formato utilizado en el laboratorio de la planta de Baiña.

1.1. Ensayos de bioindicación del 3 de diciembre de 2014

1.1.1. Características morfológicas

Los resultados de los análisis se recogen en la Tabla 16.

Tabla 16. Características morfológicas. Análisis 03/12/2014.

ASPECTO / COLOR / OLOR	
Aspecto muy compacto. Buen color. Buen olor, "a fresco" típico de un fango bien oxigenado.	
CLARIFICADO	
Buen clarificado, con algún flóculo en suspensión.	
CARACTERIZACIÓN DEL FLÓCULO	
Forma	Regular
Consistencia	Firme
Estructura	Compacta
Tamaño	Medio (entre 150-500 µm)
Diversidad bacteriana	Alta
Crecimiento disperso	No
Fibras orgánicas	No
Partículas inorgánicas	Pocas
Colonias Zooglea spp.	No
Bacterias helicoidales	No

Dentro de las características morfológicas del flóculo los aspectos que vamos analizando al microscopio son los siguientes:

Aspecto/Color/Olor

La observación visual de estas variables nos dan una idea sobre la calidad del lodo. Dentro del aspecto nos fijamos si los flóculos son compactos o son difusos.

Ensayos Analíticos

En nuestra muestra se observa un flóculo compacto, con buen color y olor fresco. Cuando decimos olor fresco nos referimos a un lodo bien oxigenado.

Clarificado

Nos fijamos en el sobrenadante que deja en la probeta donde analizamos la decantación del lodo. El lodo debe decantar y dejar un sobrenadante claro. La decantación del lodo tiene una gran importancia en los decantadores secundarios (proceso que tiene lugar después del reactor biológico), de manera que si un lodo no decanta podríamos tener problemas de escape de lodo al medio receptor.

En nuestra muestra se observa un buen clarificado, con algún flóculo en suspensión.

Caracterización del flóculo

Dentro de este apartado los parámetros que tenemos en cuenta son:

- Forma. Los flóculos presentan una forma más o menos esférica, si su morfología difiere mucho de esta forma redonda decimos entonces que son “irregulares”. En nuestra muestra el flóculo presenta una forma “regular”.
- Consistencia. Da idea del grado de cohesión de la microestructura flocular. En nuestra muestra tenemos un flóculo con una consistencia firme.
- Estructura. Decimos que el flóculo es abierto o difuso, cuando partes del mismo están separadas entre sí, mientras que en los flóculos compactos existe muy poco o ningún espacio abierto. En nuestra muestra el flóculo presenta una estructura compacta.
- Tamaño. Siempre se refiere a su diámetro mayor, que se determina midiendo la distancia entre los dos extremos más alejados del flóculo. En nuestro análisis el tamaño del flóculo es

medio. Está comprendido entre 150 y 500 μm . Cuando es inferior a 150 se considera pequeño y por encima de 500 de tamaño grande.

- Diversidad bacteriana. Se puede definir como los distintos grupos de microorganismos que forman parte del flóculo. A 40X y 100X, se puede obtener una idea aproximada del número de especies diferentes de microorganismos que componen el flóculo. En nuestra muestra la diversidad bacteriana es alta.
- Crecimiento disperso. Se habla de crecimiento disperso cuando la línea de división entre el líquido intersticial y el flóculo (contorno) no es clara, debido a la presencia de células bacterianas, donde no se puede apreciar si se encuentran libres o forman parte del flóculo. En nuestra muestra no existe crecimiento disperso.
- Fibras orgánicas. Son partículas macromoleculares procedentes del agua residual, que quedan atrapadas en los flóculos. Tienen gran tamaño y aspecto fibroso. En nuestra muestra no se observan fibras orgánicas.
- Partículas inorgánicas. Hablamos de granos de arena, se aprecian por su brillo. En la muestra se observan pocas partículas inorgánicas.
- Colonias *Zooglea spp.* Son conglomerados compuestos por bacterias de la misma especie. Suelen sobresalir del flóculo y en ocasiones con formas ramificadas. Son indicadores de una buena calidad del proceso biológico. No se observan en nuestra muestra.
- Bacterias helicoidales. Se estudian los espirilos y espiroquetas. Las espiroquetas son bacterias muy móviles, que recuerdan a una espiral; mientras que los espirilos son más rígidos, pero con

Ensayos Analíticos

movimiento veloz. Estas bacterias son indicadores de una mala calidad del proceso, plantas poco cargadas, fango en proceso de formación y deficiencia de oxígeno. No se observan en nuestra muestra.

1.1.2. Microorganismos filamentosos

Es importante analizar el contenido en microorganismos filamentosos, ya que su presencia está relacionada con la sedimentabilidad del lodo. Cuando los organismos filamentosos son predominantes, los filamentos interfieren con la compactación y sedimentación del lodo, provocando una mala decantabilidad y un aumento de sólidos en el efluente, como consecuencia del escape del lodo en los decantadores secundarios. En la observación microscópica nos centraremos en el criterio de abundancia y categoría numérica. Se trata de una técnica cualitativa, que ha demostrado ser rápida y útil en los análisis microbiológicos de rutina.

La escala que tenemos en cuenta se recoge en la Tabla 17.

Tabla 17. Criterio de abundancia y categoría numérica.¹¹

Categoría	Criterio de abundancia
0	Ninguno
1	Pocos: presentes y ocasionalmente observados
2	Algunos: no presentes en todos los flóculos
3	Comunes: presentes en todos los flóculos (entre 1 y 5)
4	Muy comunes: entre 5 – 20 en cada flóculo
5	Abundantes: > 20 por flóculo
6	Excesivos

¹¹ Microorganismos Filamentosos en el Fango Activo. Empresa Municipal de Abastecimiento y Saneamiento de Aguas de Sevilla. **1997**.

Para establecer el criterio de abundancia y categoría numérica analizamos los siguientes parámetros:

- Descripción.
- Filamento dominante.
- Filamento secundario.
- Otros filamentos.
- Efecto sobre el flóculo.

De la observación de filamentosas en la muestra tenemos un lodo con una categoría numérica 3, que corresponde a un criterio de abundancia “Comunes”. Esto significa que tenemos filamentos en todos los flóculos con baja densidad (de 1 a 5 por flóculo). Los resultados de la observación se recogen en la Tabla 18.

Tabla 18. Microorganismos filamentosos. Análisis 03/12/2014.

MICROORGANISMOS FILAMENTOSOS	
Criterio de abundancia	Comunes
Categoría numérica	3
Descripción	Se observan filamentos en todos los flóculos pero en pequeña cantidad (de 1 a 5 por flóculo)
Filamento dominante	<i>Tipo 0041</i>
Filamento secundario	<i>Tipo 0675</i>
Otros filamentos	<i>Tipo 021N</i> <i>Nostocoida limicola II</i> <i>Microthrix parvicella</i>
Efecto sobre el flóculo	Ninguno

Las bacterias filamentosas presentes son típicas de baja carga másica.

1.1.3. Grupos funcionales (protozoos y metazoos)

El componente biótico del fango activo está constituido por bacterias, que pueden representar hasta el 90% de la biomasa existente, y el resto está constituido por protozoos (flagelados, rizópodos y ciliados), metazoos (rotíferos, nematodos) y hongos, además de un componente no biológico, formado por partículas orgánicas e inorgánicas.¹¹

La presencia de protozoos ciliados está relacionado con una mejor clarificación del efluente. Mientras que la presencia de metazoos indica una edad del lodo alto con altos rendimientos de depuración.

Los grupos funcionales observados se recogen en la Tabla 19.

Tabla 19. Grupos funcionales. Análisis 03/12/2014.

GRUPOS FUNCIONALES					
(Protozoos y Metazoos)					
	DENSIDAD		UNIDADES	DENSIDAD	
	Uni. (x10⁶)	%	TAXONÓMICAS	Uni. (x10⁶)	%
Ciliados reptantes ó móviles de fondo	1,83	26,52	<i>Aspidisca sp.</i>	1,02	14,78
			<i>Chilodonella sp.</i>	0,51	7,39
			<i>Euplotes sp.</i>	0,30	4,35
Ciliados sésiles ó pedunculados	3,19	46,23	<i>Epistylis</i>	1,52	22,03
			<i>V. campanula</i>	0,29	4,20
			<i>V. convallaria</i>	1,38	20,00
Ciliados suctores	0,12	1,74	<i>Acineta sp.</i>	0,12	1,74
Grandes Flagelados	0,08	1,16	<i>Peranema sp.</i>	0,08	1,16
Metazoos rotíferos	0,79	11,45	<i>Lecanus sp.</i>	0,48	6,96
			<i>Philodina sp.</i>	0,31	4,49
Rizópodos	0,89	12,90	<i>Tecamebas arcella sp.</i>	0,50	7,25
			<i>Tecamebas euglypha sp.</i>	0,39	5,65

Dentro de los **protozoos**, se estudia la presencia de flagelados, ciliados y amebas, para de este modo calcular el porcentaje que representan sobre el total de la microfauna presente:

Los **ciliados reptantes** representan el 26,52% del total de la microfauna presente, con un número de individuos de $1,83 \times 10^6$.

Los **ciliados sésiles** representan el 46,23% del total de la microfauna, con un número de individuos de $3,19 \times 10^6$.

Los **ciliados suctores** representan el 1,74% del total de la microfauna, con un número de individuos de $0,12 \times 10^6$.

Los **grandes flagelados** representan el 1,16% del total de la microfauna, con un número de individuos de $0,08 \times 10^6$.

Los **rizópodos** (amebas) representan el 12,90% del total de la microfauna, con un número de individuos de $0,89 \times 10^6$.

Además, para cada grupo funcional de los protozoos se estudia la presencia de las diferentes unidades taxonómicas presentes, indicando el número de individuos como el porcentaje que representa con respecto al grupo funcional. Así, en el caso de los ciliados reptantes la *Aspidisca sp.* con un porcentaje del 14,78% y un número de individuos de $1,02 \times 10^6$ es el grupo mayoritario.

Dentro de los **metazoos** lo que se estudia es la presencia de rotíferos, para de este modo calcular el porcentaje que representan sobre el total de la microfauna presente.

Los **rotíferos** representan el 11,45% del total de la microfauna, con un número de individuos de $0,79 \times 10^6$.

En cuanto a las diferentes unidades taxonómicas presentes en los metazoos, la especie de rotíferos *Lecanus sp.*, con un porcentaje del 6,96% y un número de individuos de $0,48 \times 10^6$ es el grupo mayoritario.

1.1.4. Recuento de la microfauna

Una vez que hemos estudiado los grupos funcionales presentes de protozoos y metazoos estamos en disposición de hacer un recuento de la microfauna presente en nuestra muestra, tal y como se refleja en la Tabla 20.

Para ello, tenemos en cuenta la densidad total, expresada en número de individuos/L, y la diversidad, expresada en número de unidades taxonómicas.

Tabla 20. Recuento de la microfauna. Análisis 03/12/2014.

RECuento DE LA MICROFAUNA	
DENSIDAD TOTAL (n° individuos/L)	6,9x10 ⁶
DIVERSIDAD (n° unidades taxonómicas)	12
PEQUEÑOS FLAGELADOS	<10

De la suma del número de individuos de los grupos funcionales obtenemos una densidad total de 6,9x10⁶. Con una diversidad de unidades taxonómicas que habíamos observado de 12.

También se hace un recuento de los pequeños flagelados que se tienen en la muestra. En la Fotografía 7 se puede apreciar un flagelado del género *Peramena*.



Fotografía 7. Flagelado del género *Peramena*. En fresco x400.

La microfauna presenta un estado excelente, con predominio de los protozoos ciliados sésiles y reptantes, además de los rizópodos y rotíferos, lo que nos indica una edad de fango estable con altos rendimientos de depuración.

Para valorar la diversidad de la microfauna del fango activo se emplea el índice biótico de fangos (SBI, del inglés *Sludge Biotic Index*) propuesto por Madoni,¹² que se basa en los resultados obtenidos en numerosas investigaciones realizadas sobre la microfauna de fangos activados. Tiene en cuenta la diferente sensibilidad de diferentes grupos de microorganismos a los principales parámetros físico-químicos y operativos de las plantas, y la influencia que tienen estos parámetros sobre la abundancia y la diversidad de la microfauna. Así, se define la calidad biológica de los fangos a través de valores numéricos (Tabla 21).

Tabla 21. Calidad del fango activo en función del SBI.

SBI	CLASE	DIAGNOSIS
8-10	I	Fango estable y muy bien colonizado, excelente actividad biológica; muy buen funcionamiento
6-7	II	Fango estable y bien colonizado, actividad biológica en descenso; buen funcionamiento
4-5	III	Depuración biológica insuficiente en la balsa de aireación; funcionamiento mediocre
0-3	IV	Depuración biológica escasa en la balsa de aireación; bajo rendimiento

¹² P. Madoni. Applicazione dell'Indice Biotico del Fango (S.B.I.) en el processo di Depurazione a Fanghi Attivi. Universidad de Parma. **2004**.

Nuestro fango presenta un SBI de 8-10 con una clase del fango de I. Lo que indica que tenemos un fango estable y muy bien colonizado. De manera que el proceso biológico está funcionando adecuadamente.

Con los mismos criterios se procede a realizar el resto de muestras.

1.2. Ensayos de bioindicación del 29 de diciembre de 2014

1.2.1. Características morfológicas

Los resultados de los análisis se recogen en la Tabla 22.

Tabla 22. Características morfológicas. Análisis 29/12/2014.

ASPECTO / COLOR / OLOR	
Aspecto muy compacto. Buen color, marrón grisáceo. Buen olor.	
CLARIFICADO	
Excelente clarificado.	
CARACTERIZACIÓN DEL FLÓCULO	
Forma	Regular
Consistencia	Firme
Estructura	Compacta
Tamaño	Medio (entre 150-500 μm)
Diversidad bacteriana	Alta
Crecimiento disperso	No
Fibras orgánicas	No
Partículas inorgánicas	Pocas
Colonias Zooglea spp.	No
Bacterias helicoidales	No

No se observan diferencias con los datos analizados el día 3 de diciembre.

1.2.2. Microorganismos filamentosos

De la observación de filamentosas en la muestra tenemos un lodo con una categoría numérica 4 y un criterio de abundancia “Muy comunes”. Los resultados se recogen en la Tabla 23.

Tabla 23. Microorganismos filamentosos. Análisis 29/12/2014.

MICROORGANISMOS FILAMENTOSOS	
Criterio de abundancia	Muy comunes
Categoría numérica	4
Descripción	Se observan filamentos en todos los flóculos pero en pequeña cantidad (de 5 a 20 por flóculo)
Filamento dominante	<i>Tipo 0411</i>
Filamento secundario	<i>Tipo 0675</i>
Otros filamentos	<i>Tipo 021</i> <i>Nostocoida limicola II</i> <i>Microthrix parvicella</i>
Efecto sobre el flóculo	Ninguno

No se detectan cambios significativos en las especies de bacterias filamentosas presentes, aunque si se obtiene un ligero aumento del número de filamentos/flóculo de 7-10 filamentos/flóculo, pasando por tanto el índice de abundancia a ser 4.

1.2.3. Grupos funcionales (protozoos y metazoos)

Los grupos funcionales observados se recogen en la siguiente tabla:

Tabla 24. Grupos funcionales. Análisis 29/12/2014.

GRUPOS FUNCIONALES (Protozoos y Metazoos)					
	DENSIDAD		UNIDADES TAXONÓMICAS	DENSIDAD	
	Uni. (x10 ⁶)	%		Uni. (x10 ⁶)	%
Ciliados nadadores carnívoros	0,35	4,61	<i>Litonotus sp.</i>	0,35	4,61
Ciliados reptantes ó móviles de fondo	1,84	24,21	<i>Aspidisca sp.</i>	0,86	11,32
			<i>Chilodonella sp.</i>	0,98	12,89
Ciliados sésiles ó pedunculados	3,17	41,71	<i>Carchesium</i>	0,39	5,13
			<i>Epistylis</i>	1,07	14,08
			<i>V. campanula</i>	0,49	6,45
			<i>V. convallaria</i>	1,22	16,05
Ciliados suctores	0,18	2,37	<i>Tokophrya sp.</i>	0,18	2,37
Grandes Flagelados	0,30	3,95	<i>Peranema sp.</i>	0,30	3,95
Metazoos rotíferos	0,65	8,56	<i>Lecanus sp.</i>	0,36	4,74
			<i>Philodina sp.</i>	0,29	3,82
Rizópodos	1,11	14,61	<i>Tecamebas arcella sp.</i>	0,48	6,32
			<i>Amebas desnudas.</i>	0,23	3,03
			<i>Tecamebas euglypha sp.</i>	0,40.10 ⁶	5,26

Dentro de los **protozoos** los grupos funcionales más numerosos siguen siendo los ciliados sésiles con un 41,71%, mientras que en el 3 de diciembre el porcentaje era del 46,23%.

Dentro de los **metazoos** la presencia de rotíferos ha bajado del 11,45%, que teníamos el día 3 de diciembre, al 8,56%.

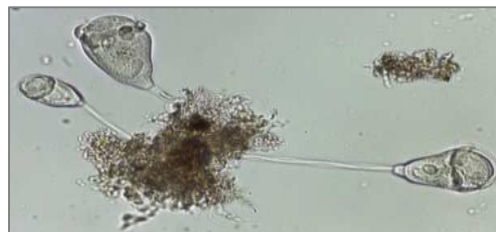
1.2.4. Recuento de la microfauna

Los datos del recuento de la microfauna se recogen en la Tabla 25.

Tabla 25. Recuento de la microfauna. Análisis 29/12/2014.

RECuento DE LA MICROFAUNA	
DENSIDAD TOTAL (n° individuos/L)	7,60x10 ⁶
DIVERSIDAD (n° unidades taxonómicas)	14
PEQUEÑOS FLAGELADOS	<10

El lodo presenta buenas características: alta densidad y diversidad, así como ausencia total de pequeños flagelados ó especies indicativas de mala calidad del efluente, lo que nos indica gran estabilidad del sistema, sin alteraciones en el proceso. Nuestro fango presenta un SBI de 8-10 con una clase del fango de I. Esto significa que tenemos un fango estable y muy bien colonizado. En la Fotografía 8, se puede apreciar una colonia de *Vorticellas convallarias*.



Fotografía 8. Floculo colonizado por tres *Vorticellas convallarias*. En fresco x400.

1.3. Ensayos de bioindicación del 7 de enero de 2015

1.3.1. Características morfológicas

Los resultados de los análisis se recogen en la siguiente tabla:

Tabla 26. Características morfológicas. Análisis 07/01/2015.

ASPECTO / COLOR / OLOR	
Aspecto muy compacto. Buen color, marrón grisáceo. Buen olor, propio de un fango bien oxigenado.	
CLARIFICADO	
Buen clarificado, sin flóculos en suspensión.	
CARACTERIZACIÓN DEL FLÓCULO	
Forma	Regular
Consistencia	Firme
Estructura	Compacta
Tamaño	Medio (entre 150-500 μm)
Diversidad bacteriana	Alta
Crecimiento disperso	No
Fibras orgánicas	No
Partículas inorgánicas	Pocas
Colonias Zooglea spp.	No
Bacterias helicoidales	No

No se observan diferencias con los datos analizados en el mes de diciembre.

1.3.2. Microorganismos filamentosos

De la observación de filamentosas en la muestra tenemos un lodo con una categoría numérica 4 y un criterio de abundancia “Muy

comunes”. Los resultados de la observación se recogen en la siguiente tabla:

Tabla 27. Microorganismos filamentosos. Análisis 07/01/2015.

MICROORGANISMOS FILAMENTOSOS	
Criterio de abundancia	Muy comunes
Categoría numérica	4
Descripción	Se observan filamentos en todos los flóculos en cantidad media (de 5 a 20 por flóculo)
Filamento dominante	<i>Tipo 0041</i>
Filamento secundario	<i>Tipo 021N</i>
Otros filamentos	<i>Tipo 1851</i> <i>Microthrix parvicella</i> <i>Nostocoida limicola II</i>
Efecto sobre el flóculo	Ninguno

Las filamentosas presentes en este fango activo son típicas de baja carga másica. El filamento *Tipo 021N* pasa a ser filamento secundario, pero en este índice de abundancia no provoca alteraciones en el proceso de decantación y además se asocia a influentes con compuestos de fácil degradación.

1.3.3. Grupos funcionales (protozoos y metazoos)

Los grupos funcionales observados se recogen en la siguiente tabla:

Tabla 28. Grupos funcionales. Análisis 07/01/2015.

GRUPOS FUNCIONALES					
(Protozoos y Metazoos)					
	DENSIDAD		UNIDADES TAXONÓMICAS	DENSIDAD	
	Uni. (x10⁶)	%		Uni. (x10⁶)	%
Ciliados nadadores carnívoros	0,28	3,79	<i>Litonotus sp.</i>	0,28	3,79
Ciliados reptantes ó móviles de fondo	2,08	28,19	<i>Aspidisca sp.</i>	0,92	12,47
			<i>Chilodonella sp.</i>	0,96	13,01
			<i>Euplotes sp.</i>	0,20	2,71
Ciliados sésiles ó pedunculados	3,24	43,91	<i>Epistylis</i>	1,76	23,85
			<i>V. campanula</i>	0,32	4,34
			<i>V. convallaria</i>	1,16	15,72
Ciliados suctores	0,16	2,17	<i>Acineta sp.</i>	0,16	2,17
Grandes Flagelados	0,32	4,34	<i>Peranema sp.</i>	0,32	4,34
Metazoos rotíferos	0,66	8,94	<i>Lecanus sp.</i>	0,38	5,15
			<i>Philodina sp.</i>	0,28	3,79
Rizópodos	0,64	8,67	<i>T. arcella sp.</i>	0,40	5,42
			<i>T. euglypha sp.</i>	0,24	3,25

Dentro de los **protozoos** los grupos funcionales más numerosos siguen siendo los ciliados sésiles con un 43,91%.

En cuanto a los **metazoos**, la presencia de rotíferos se mantiene en porcentajes similares a los del mes de diciembre.

1.3.4. Recuento de la microfauna

Los datos del recuento de la microfauna se recogen en la Tabla 29.

Tabla 29. Recuento de la microfauna. Análisis 07/01/2015.

RECuento DE LA MICROFAUNA	
DENSIDAD TOTAL (n° individuos/L)	7,38x10 ⁶
DIVERSIDAD (n° unidades taxonómicas)	13
PEQUEÑOS FLAGELADOS	<10

Los grupos dominantes son los protozoos ciliados sésiles y reptantes, lo que nos indica estabilidad en el ecosistema.

Nuestro fango presenta un SBI de 8-10 con una clase del fango de I. Por tanto se trata de un fango estable y muy bien colonizado. El proceso biológico está funcionando de manera adecuada.

1.4. Ensayos de bioindicación del 29 de enero de 2015

1.4.1. Características morfológicas

Los resultados de los análisis se recogen en la siguiente tabla:

Tabla 30. Características morfológicas. Análisis 29/01/2015.

ASPECTO / COLOR / OLOR	
Aspecto muy compacto. Buen color, marrón grisáceo. Buen olor.	
CLARIFICADO	
Buen clarificado, sin sobrenadante.	
CARACTERIZACIÓN DEL FLÓCULO	
Forma	Regular
Consistencia	Firme
Estructura	Compacta
Tamaño	Medio (entre 150-500 μm)
Diversidad bacteriana	Alta
Crecimiento disperso	No
Fibras orgánicas	No
Partículas inorgánicas	Pocas
Colonias Zooglea spp.	No
Bacterias helicoidales	No

No se observan diferencias con los datos analizados en el mes de diciembre.

1.4.2. Microorganismos filamentosos

Del análisis de filamentosas presentes en la muestra tenemos un lodo con una categoría numérica 3 y un criterio de abundancia “Comunes”. Los datos se recogen en la siguiente tabla:

Tabla 31. Microorganismos filamentosos. Análisis 29/01/2015.

MICROORGANISMOS FILAMENTOSOS	
Criterio de abundancia	Comunes
Categoría numérica	3
Descripción	Se observan filamentos en todos los flóculos pero en pequeña cantidad (de 1 a 5 por flóculo)
Filamento dominante	<i>Tipo 1851</i>
Filamento secundario	<i>Tipo 0041</i>
Otros filamentos	<i>Tipo 021N</i> <i>Nostocoida limicola II</i>
Efecto sobre el flóculo	Ninguno

Baja el número de filamentos/floculo, situándose el índice de abundancia en 3. Las bacterias filamentosas son típicas de baja carga másica, pasando a ser el filamento dominante el *Tipo 1851*.

1.4.3. Grupos funcionales (protozoos y metazoos)

Los grupos funcionales observados se recogen en la siguiente tabla:

Tabla 32. Grupos funcionales. Análisis 29/01/2015.

GRUPOS FUNCIONALES (Protozoos y Metazoos)					
	DENSIDAD		UNIDADES	DENSIDAD	
	Uni. (x10 ⁶)	%	TAXONÓMICAS	Uni. (x10 ⁶)	%
Ciliados nadadores carnívoros	0,16	2,50	<i>Litonotus sp.</i>	0,16	2,50
Ciliados reptantes ó móviles de fondo	1,86	29,11	<i>Aspidisca sp.</i>	0,92	14,40
			<i>Chilodonella sp.</i>	0,52	8,14
			<i>Euplotes sp.</i>	0,42	6,57
Ciliados sésiles ó pedunculados	2,50	39,12	<i>Epistylis</i>	1,08	16,90
			<i>V. convallaria</i>	1,42	22,22
Grandes Flagelados	0,18	2,82	<i>Peranema sp.</i>	0,18	2,82
Metazoos rotíferos	0,81	12,68	<i>Lecanus sp.</i>	0,42	6,57
			<i>Philodina sp.</i>	0,39	6,10
Rizópodos	0,88	13,77	<i>Amebas desnudas</i>	0,36	5,63
			<i>T. arcella sp.</i>	0,32	5,01
			<i>T. euglypha sp.</i>	0,20	3,13

Dentro de los **protozoos**, los ciliados sésiles siguen siendo el grupo funcional más numeroso con un 39,12%.

Dentro de los **metazoos** la presencia de rotíferos se ha incrementado con respecto a las otras muestras.

1.4.4. Recuento de la microfauna

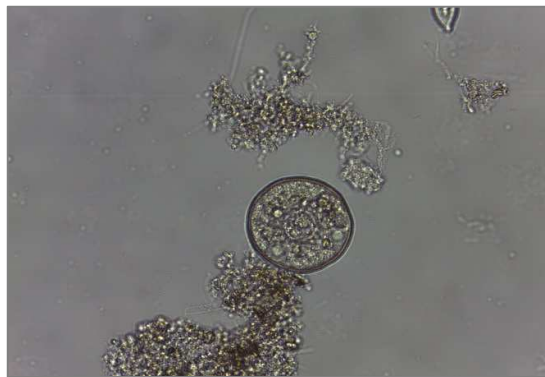
Los datos del recuento de la microfauna se recogen en la Tabla 33.

Tabla 33. Recuento de la microfauna. Análisis 29/01/2015.

RECuento DE LA MICROFAUNA	
DENSIDAD TOTAL (n° individuos/L)	6,39x10 ⁶
DIVERSIDAD (n° unidades taxonómicas)	12
PEQUEÑOS FLAGELADOS	<10

El estado de la microfauna nos indica que no existen alteraciones en el proceso, que se trata de un ecosistema altamente estable

Nuestro fango presenta un SBI de 8-10 con una clase del fango de I. Tenemos un fango estable y muy bien colonizado. De manera que el proceso biológico funciona adecuadamente. En la Fotografía 9 podemos observar una *Tecameba arcella*.



Fotografía 9. *Tecameba arcella*. En fresco x 400.

1.5. Ensayos de bioindicación del 6 de febrero de 2015

1.5.1. Características morfológicas

Los resultados de los análisis se recogen en la Tabla 34.

Tabla 34. Características morfológicas. Análisis 06/02/2015.

ASPECTO / COLOR / OLOR	
Aspecto muy compacto. Buen color. Buen olor.	
CLARIFICADO	
Muy buen clarificado, sin sobrenadante.	
CARACTERIZACIÓN DEL FLÓCULO	
Forma	Regular
Consistencia	Firme
Estructura	Compacta
Tamaño	Medio (entre 150-500 μm)
Diversidad bacteriana	Alta
Crecimiento disperso	No
Fibras orgánicas	No
Partículas inorgánicas	Pocas
Colonias Zooglea spp.	No
Bacterias helicoidales	No

No se observan diferencias con los datos analizados en el mes de enero.

1.5.2. Microorganismos filamentosos

De la observación de filamentosas en la muestra tenemos un lodo con una categoría numérica 3 y un criterio de abundancia “Comunes”. Los resultados se recogen en la siguiente tabla:

Tabla 35. Microorganismos filamentosos. Análisis 06/02/2015.

MICROORGANISMOS FILAMENTOSOS	
Criterio de abundancia	Comunes
Categoría numérica	3
Descripción	Se observan filamentos en todos los flóculos pero en pequeña cantidad (de 1 a 5 por flóculo)
Filamento dominante	<i>Tipo 1851</i>
Filamento secundario	<i>Tipo 021N</i>
Otros filamentos	<i>Tipo 0041</i> <i>Nostocoida limicola II</i> <i>Thiotrix II</i>
Efecto sobre el flóculo	Ninguno

El índice de abundancia de las bacterias filamentosas es 3, lo que permite que se registren bajas V30, así como bajos índices volumétricos de fango (IVF).

La bacteria filamentosa dominante *Tipo 1851*, es típica de baja carga másica.

1.5.3. Grupos funcionales (protozoos y metazoos)

Los grupos funcionales observados se recogen en la siguiente tabla:

Tabla 36. Grupos funcionales. Análisis 06/02/2015.

GRUPOS FUNCIONALES					
(Protozoos y Metazoos)					
	DENSIDAD		UNIDADES	DENSIDAD	
	Uni. (x10⁶)	%	TAXONÓMICAS	Uni. (x10⁶)	%
Ciliados nadadores carnívoros	0,28	4,59	<i>Litonotus sp.</i>	0,28	4,59
Ciliados reptantes ó móviles de fondo	1,50	24,59	<i>Aspidisca sp.</i>	0,84	13,77
			<i>Euplotes sp.</i>	0,66	10,82
Ciliados sésiles ó pedunculados	2,68	43,94	<i>Epistylis</i>	1,32	21,64
			<i>Opercularia</i>	0,40	6,56
			<i>V. convallaria</i>	0,96	15,74
Metazoos rotíferos	0,96	15,73	<i>Lecanus sp.</i>	0,52	8,52
			<i>Philodina sp.</i>	0,44	7,21
Rizópodos	0,68	11,15	<i>T. arcella sp.</i>	0,32	5,25
			<i>T. euglypha sp.</i>	0,36	5,90

Dentro de los **protozoos** los grupos funcionales más numerosos siguen siendo los ciliados sésiles que representan un 43,94%.

Respecto a los **metazoos**, la presencia de rotíferos se ha incrementado con respecto a las muestras de diciembre y enero.

1.5.4. Recuento de la microfauna

Los datos del recuento de la microfauna se recogen en la Tabla 37.

Tabla 37. Recuento de la microfauna. Análisis 06/02/2015.

RECuento DE LA MICROFAUNA	
DENSIDAD TOTAL (n° individuos/L)	6,10x10 ⁶
DIVERSIDAD (n° unidades taxonómicas)	10
PEQUEÑOS FLAGELADOS	<10

Destaca la aparición de *Opercularias*, aunque en baja densidad; nos indican que se están registrando bajas concentraciones en los reactores biológicos.

Nuestro fango presenta un SBI de 8-10 con una clase del fango de I. Es representativo de un fango estable y muy bien colonizado. Por tanto el proceso biológico está funcionando de manera adecuada. En la Fotografía 10 se observan los cilios de una *Vorticella convallaria*.



Fotografía 10. Detalle de los cilios con gran actividad de *Vorticella convallaria*.

1.6. Ensayos de bioindicación del 27 de febrero de 2015

1.6.1. Características morfológicas

Los resultados de los análisis se recogen en la Tabla 38.

Tabla 38. Características morfológicas. Análisis 27/02/2015.

ASPECTO / COLOR / OLOR	
Aspecto muy compacto. Buen color. Buen olor.	
CLARIFICADO	
Muy buen clarificado, sin sobrenadante.	
CARACTERIZACIÓN DEL FLÓCULO	
Forma	Regular
Consistencia	Firme
Estructura	Compacta
Tamaño	Medio (entre 150-500 μm)
Diversidad bacteriana	Alta
Crecimiento disperso	No
Fibras orgánicas	No
Partículas inorgánicas	Pocas
Colonias Zooglea spp.	No
Bacterias helicoidales	No

No se observan diferencias con los datos analizados con las muestras anteriores.

1.6.2. Microorganismos filamentosos

El análisis de filamentosas en la muestra indica que tenemos un lodo con una categoría numérica 3 y un criterio de abundancia “Comunes”.

Los resultados de la observación se detallan en la Tabla 39.

Tabla 39. Microorganismos filamentosos. Análisis 27/02/2015.

MICROORGANISMOS FILAMENTOSOS	
Criterio de abundancia	Comunes
Categoría numérica	3
Descripción	Se observan filamentos en todos los flóculos pero en pequeña cantidad (de 1 a 5 por flóculo)
Filamento dominante	<i>Tipo 021N</i>
Filamento secundario	<i>Tipo 0041</i>
Otros filamentos	<i>Tipo 1851</i> <i>Nostocoida limicola II</i>
Efecto sobre el flóculo	Ninguno

Las bacterias filamentosas presentes son típicas de operación a baja carga másica baja. La filamentososa *Tipo 021N* pasa a ser el filamento dominante.

1.6.3. Grupos funcionales (protozoos y metazoos)

Los grupos funcionales observados se recogen en la Tabla 40.

Tabla 40. Grupos funcionales. Análisis 27/02/2015.

GRUPOS FUNCIONALES (Protozoos y Metazoos)					
	DENSIDAD		UNIDADES TAXONÓMICAS	DENSIDAD	
	Uni. (x10 ⁶)	%		Uni. (x10 ⁶)	%
Ciliados nadadores carnívoros	0,16	2,33	<i>Litonotus sp.</i>	0,16	2,33
Ciliados reptantes móviles de fondo	2,20	31,98	<i>Aspidisca sp.</i>	1,02	14,83
			<i>Chilodonella sp.</i>	0,76	11,05
			<i>Euplotes sp.</i>	0,42	6,10
Ciliados sésiles ó pedunculados	3,06	44,48	<i>Carchesium</i>	0,48	6,98
			<i>Epistylis</i>	1,46	21,22
			<i>V. convallaria</i>	1,12	16,28
Grandes Flagelados	0,12	1,74	<i>Peranema sp.</i>	0,12	1,74
Metazoos rotíferos	0,66	9,59	<i>Lecanus sp.</i>	0,38	5,52
			<i>Philodina sp.</i>	0,28	4,07
Rizópodos	0,68	9,88	<i>Amebas desnudas</i>	0,52	7,56
			<i>T. arcella sp.</i>	0,16	2,33

Dentro de los **protozoos**, los grupos funcionales más numerosos siguen siendo los ciliados sésiles, con un 44,48%.

Con respecto a los **metazoos**, la presencia de rotíferos ha disminuido con respecto a la muestra del día 6 de febrero pasando de 15,73% al 9,59%.

1.6.4. Recuento de la microfauna

Los datos del recuento de la microfauna se recogen en la Tabla 41.

Tabla 41. Recuento de la microfauna. Análisis 27/02/2015.

RECuento DE LA MICROFAUNA	
DENSIDAD TOTAL (n° individuos/L)	6,88x10 ⁶
DIVERSIDAD (n° unidades taxonómicas)	12
PEQUEÑOS FLAGELADOS	<10

Se detecta un rejuvenecimiento del fango, ya que aumenta el porcentaje de protozoos ciliados sésiles y reptantes, y aparecen *Litonotus*, lo que nos indica que han bajado los tiempos de retención del fango activo en el reactor biológico.

Nuestro fango presenta un SBI de 8-10 con una clase del fango de I. Se trata de un fango estable y muy bien colonizado. De manera que el proceso biológico está funcionando adecuadamente. En la Fotografía 11 se observa una colonia de *Epistylis*.



Fotografía 11. Colonia de *Epistylis*. In vivo x100.

1.7. Ensayos de bioindicación con técnicas moleculares

El principal escollo para el estudio de la microbiología de los fangos activos con la microscopía convencional es la dificultad que existe para identificar y cuantificar los organismos presentes. La identificación de bacterias se ha basado durante muchos años en métodos de cultivo y en la observación directa mediante técnicas convencionales de microscopía óptica. Asimismo, los análisis del fango activo mediante microscopía óptica convencional, basados en la combinación de características morfológicas y tinciones específicas, tienen limitaciones.

Las técnicas moleculares, como la hibridación *in situ* con sondas marcadas con fluorocromos (FISH, del inglés *Fluorescence in situ hybridization*), que se unen a secuencias específicas del ARNr 16S, han permitido identificar nuevos organismos con un papel clave en el ciclo del nitrógeno en los fangos activos. Además, estas técnicas permiten conocer con mayor precisión las relaciones filogenéticas existentes entre los diferentes microorganismos.

Las técnicas moleculares son muy esclarecedoras en el estudio microbiológico del fango activo, pero su aplicación rutinaria en las plantas de tratamiento de aguas es difícil por su complejidad y economía, son caras. Para el análisis de parámetros microbiológicos que no pueden ser fácilmente determinados mediante técnicas convencionales se puede recurrir a métodos más sencillos, como la tecnología VIT® (*Vermicon Identification Technology*), una versión simplificada y estandarizada de la técnica FISH que simplifica su integración en el trabajo rutinario del laboratorio de la planta.¹³

¹³ J. A Pérez Alvarez, P. Suárez Corteguera, A. García Alvarez, J. Fernández López, C. Huerta Rodríguez, M. R. Lopez Pacetti. Tecnoaqua N° 21-Septiembre-Octubre 2016.

En los análisis realizados hemos utilizado tanto los procesos convencionales como la microscopía de epifluorescencia con la tecnología VIT®.

La tecnología patentada por la empresa alemana Vermicon AG bajo la denominación VIT® y distribuida en España por Microplanet Laboratorios S.L., es una versión normalizada, simplificada e industrializada de la técnica FISH. Ofrece la posibilidad de identificar los microorganismos sin necesidad de cultivo previo, partiendo directamente de muestras de aguas residuales, fangos activos, fangos estabilizados, etc.

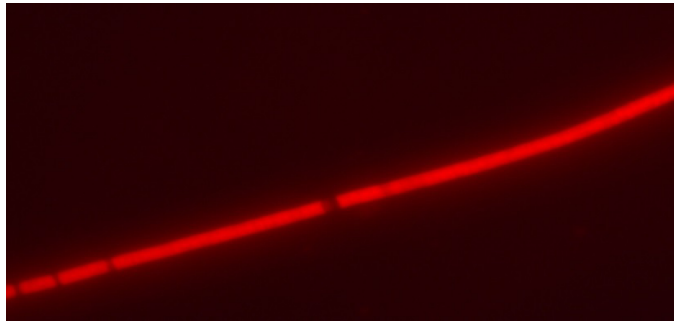
El procedimiento FISH se ha simplificado mediante el desarrollo de kits que permiten su utilización incluso por personal sin conocimientos de biología molecular, y sin necesidad de laboratorios equipados para el desarrollo de técnicas analíticas moleculares convencionales. Vermicon AG ha desarrollado y comercializado varios kits normalizados para la detección, identificación y cuantificación de bacterias filamentosas y otros microorganismos relacionados con el proceso de la depuración biológica. Los kits que se han utilizado en el ensayo han sido: VIT® 021N/Thiothrix, VIT® Nostocoida limicola II, VIT® 1851, VIT® Microthrix y Nitri-VIT®.

Este método, al ser específico del microorganismo que se quiere detectar, corroboró la presencia de las siguientes bacterias filamentosas: *Tipo 021N*, *Thiothrix*, *Nostocoida limícola II*, *Tipo 1851* y *Microthrix*. También permitió comprobar los procesos de nitrificación en el reactor biológico al utilizar el Kit Nitri, ya que identifica las bacterias que están implicadas en el proceso de nitrificación dando una idea de su abundancia.

Los ensayos de epifluorescencia se realizaron en la muestra del día 27 de febrero de 2015. En los ensayos con la microscopía convencional se observó que el filamento dominante era el *Tipo 021N*. Con la

Ensayos Analíticos

epifluorescencia y con el Kit VIT® 021N pudimos identificar los filamentos *Tipo 021N*, tal como se puede observar en la Fotografía 12.



Fotografía 12. Filamento de *Tipo 021N* con epifluorescencia.

2. Conclusiones

Con respecto a los análisis microbiológicos realizados en el reactor biológico, éstos vienen a corroborar la estabilidad existente en el proceso, de manera que se ha mantenido una microfauna adecuada para llevar a cabo los procesos de degradación de la materia orgánica y la eliminación de nitrógeno.

De los datos de los análisis se observa una microfauna que no sufre muchas alteraciones a lo largo del periodo de estudio, se observan cambios en las especies de filamentosas dominantes, pero en general podemos decir que existe un ecosistema altamente estable.

A pesar de la dificultad que existe para identificar y cuantificar los organismos presentes mediante la observación directa de las muestras utilizando la microscopía convencional, ya que requiere personal con gran experiencia y formación, es el método más empleado en los laboratorios de plantas de aguas residuales.

Las técnicas moleculares permiten una tecnificación dentro de los protocolos de análisis, pero su aplicación rutinaria en las plantas de tratamiento de aguas es difícil, ya que son métodos caros y requiere personal muy cualificado en el campo de la biología molecular.

La microscopía convencional sí se puede complementar con métodos más sencillos, como la tecnología VIT® (*Vermicon Identification Technology*), que simplifica enormemente los trabajos en el laboratorio, ya que los ensayos se hacen mediante kits; si bien tienen el inconveniente que su preparación requiere un tiempo mayor que la microscopía convencional.

3. Parte experimental

Para el análisis microscópico es necesario disponer de un microscopio óptico, preferiblemente adaptado para contraste de fases, con objetivos de 10x, 20x, 40x y 100x, así como de un micrómetro ocular. Para la observación de las muestras preparadas mediante la tecnología VIT®, se necesita un microscopio equipado para técnicas de epifluorescencia, con una lámpara de vapor de mercurio o similar y los filtros adecuados.

El microscopio con el que se han realizado los análisis es un microscopio binocular Leica DM750 con cámara digital Leica DFC 450C.

Para la microscopía convencional la identificación de los diferentes microorganismos presentes en las muestras de licor mezcla se realiza a partir de observaciones en vivo usando microscopía óptica de campo claro y de contraste de fases, así como mediante tinciones de Gram y/o Neisser, en los casos en que sean necesarias. El procedimiento operativo que se ha seguido es el siguiente: agitamos la muestra de manera que sea lo más homogénea posible. Se deposita una gota de fango activo sobre el portaobjetos, previamente limpio y adecuadamente desengrasado. A continuación, se coloca un cubreobjetos limpio sobre la gota, evitando la formación de burbujas de aire. Colocamos la preparación en la pletina del microscopio y observamos en campo claro o contraste de fases. Cuando utilizamos un objetivo de inmersión (100x), colocamos una gota de aceite de inmersión sobre el cubre. Con respecto al volumen de muestra trabajamos con 25 µL de muestra cuando se utiliza un cubre de 18x18 mm y 30 µL cuando el cubre es de 20x20 mm. Una vez lista la preparación, se procede al análisis microscópico de la misma, utilizando los distintos objetivos.

Para la observación de las muestras preparadas mediante la tecnología VIT®, se emplea la microscopía de epifluorescencia,

utilizando los kits específicos de los que se dispone: VIT® 021N/Thiothrix, VIT® Nostocoida limicola II, VIT® 1851, VIT® Microthrix y Nitri-VIT®.

A continuación, se describe el protocolo general para la utilización de los kits VIT®.¹⁴

Antes de proceder a la preparación de las muestras, hay que precalentar la incubadora a 46 ± 2 °C.

El proceso de análisis tiene las siguientes etapas.

- Preparación de la muestra.
- Contacto.
- Lavado.
- Análisis microscópico.

En las etapas de preparación y contacto lo que se hace es poner la muestra en contacto con los distintos reactivos suministrados por el fabricante. En la fase de lavado se utiliza una disolución de lavado proporcionado por el fabricante y se realiza un proceso de incubación.

Observamos al microscopio con el objetivo 100x y aceite de inmersión tipo F. Se evalúa el resultado siguiendo la clave “VIT® key” correspondiente.

Se visualizan 20 campos visuales al azar, asignando a cada uno un valor numérico entre 1 y 5, según el parecido con las fotografías numeradas que aparecen en la clave “VIT® key” que corresponde al test. El resultado final será la media aritmética, resultante de dividir la suma

¹⁴ Documentación interna Laboratorio Baiña.

Ensayos Analíticos

de los valores obtenidos para cada campo visual entre el número total de campos observados.

III.C. Análisis microbiológicos

1. Resultados y discusión

El Real Decreto 1620/2007,¹⁵ por el que se establece el régimen jurídico de reutilización de aguas depuradas, limita la presencia de metales, sustancias orgánicas peligrosas, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Legionella spp.*, etc., en las aguas, estableciendo valores máximos admisibles en función del uso concreto que se les vaya a dar (urbano, agrícola, industrial, recreativo o ambiental).

Los coliformes totales pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* y se caracterizan por su capacidad para fermentar la lactosa. Se encuentran en el intestino del hombre y de los animales, pero también en otros ambientes: agua, suelo, plantas, etc. Dentro del grupo de los coliformes totales existe un subgrupo que es el de los coliformes fecales. Los coliformes fecales comprenden principalmente *Escherichia coli* y algunas cepas de *Enterobacter* y *Klebsiella*. Su origen es principalmente fecal y por esos se consideran índices de contaminación fecal. Pero el verdadero índice de contaminación fecal es *Escherichia coli* tipo I, ya que su origen fecal es seguro.

Los microorganismos indicadores de contaminación fecal se caracterizan por tener un comportamiento similar a los patógenos. Sin

¹⁵ Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas, 2007.

Ensayos Analíticos

embargo, pueden ser analizados de manera más rápida, sencilla y económica. *Escherichia coli* es el indicador de contaminación fecal más utilizado en el análisis de muestras de agua y aguas residuales. Este bacilo gram-negativo es uno de los habitantes más comunes en el tracto intestinal de hombres y otros animales de sangre caliente. Su presencia en muestras de agua es casi siempre indicativo de contaminación fecal y de la posible existencia de otros patógenos entéricos como *Salmonella spp.*, *Yersinia spp.*, *Shigella sp.*, etc.¹⁶

Los procesos de oxidación avanzada que se estudian en el proyecto se presentan como una alternativa a la tecnología convencional utilizada con el fin de reducir la presencia de los contaminantes emergentes y microorganismos potencialmente patógenos en las aguas residuales.

En la Fase IV del proyecto se estudiará la eficacia de los tratamientos seleccionados en el estudio, en la eliminación de un indicador de contaminación fecal presente en las aguas residuales urbanas como es *Escherichia coli*.

En el mes de febrero se llevó a cabo una analítica de los parámetros microbiológicos coliformes totales y *Escherichia coli*. Los resultados en el influente (I) y efluente (E) son los siguientes:

¹⁶ J. Rodríguez Chueca, S. Louwen Pérez, R. Mosteo Abad, M. P. Ormad Melero. Estudio de la influencia de variables del tratamiento pseudo-Fenton en la inactivación de indicadores de contaminación fecal. Tecnoaqua Marzo-Abril 2014.

Tabla 42. Análisis microbiológico 23/02/2015 y 23/07/2015.

Parámetro	23/02/2015		23/07/2015	
Coliformes totales ^a	I	205.000 ufc/100 mL	I	4.300.000 ufc/100 mL
	E	20.000 ufc/100 mL	E	14.000 ufc/100 mL
<i>Escherichia coli</i> ^a	I	18.000 ufc/100 mL	I	7.000 ufc/100 mL
	E	7.000 ufc/100 mL	E	300 ufc/100 mL

^a ufc, unidades formadoras de colonias.

En las muestras del mes de febrero se observan que los valores presentan una gran dilución; también hay que destacar que en el momento del estudio la planta no dispone de ningún sistema específico para la eliminación de la contaminación microbiológica.

Para comprobar el efecto de dilución se realizó el mismo análisis en un periodo que no coincidiera con lluvias. El análisis se efectuó en el mes de julio del año 2015. Se observa un incremento considerable en los coliformes totales a la entrada de la planta pero no sucede lo mismo con la *Escherichia coli*, que incluso disminuye.

2. Conclusiones

Se observa un efecto importante de dilución de las muestras tomadas durante el periodo de estudio, lo que obligó a tomar otra muestra puntual en el mes de julio de 2015. A pesar de que la planta no dispone de un tratamiento terciario para la eliminación de la contaminación microbiológica, se observa una disminución entre los valores de entrada y de salida a planta.

3. Parte experimental

Para los análisis microbiológicos se utiliza un equipo Milliflex® Plus. Se trata de un equipo diseñado para el examen microbiológico de soluciones acuosas.

Los equipos y materiales que se utilizan son:

- Bomba Milliflex-Plus MERCK-Millipore.
- Pinzas estériles.
- Embudos estériles de 100 mL con membrana de 0,45 μm color blanco y superficie cuadrículada (Embudos Milliflex-100 desechables).
- Cassettes Milliflex para medios de cultivo líquidos.
- Estufa de incubación.

La técnica de filtración en membrana se basa en filtrar un volumen determinado de muestra a través de una membrana microporosa y estéril, compuesta de ésteres de celulosa, y provista de un tamaño de poro de 0,45 μm de diametro.

De esta manera, todas las bacterias presentes en el agua problema (los virus no son retenidos debido a su menor tamaño) serán retenidas en la superficie de la membrana, e incubando dicha membrana sobre un medio de cultivo selectivo y diferencial, a una determinada temperatura y durante el tiempo que se requiera, se podrá proceder al posterior recuento directo de las colonias sobre la superficie de la membrana.

Cada colonia desarrollada en la superficie de la membrana es realmente un “clon”, esto es, un grupo de células bacterianas idénticas, que proceden de la reproducción de una única bacteria original contenida en la muestra analizada.

Por medio de la técnica de filtración en membrana, las bacterias presentes en la muestra examinada quedan retenidas en la membrana. Esta membrana adherida al embudo de filtración, se coloca en la placa Petri que contienen el medio de cultivo “m-ColiBlue24” específico para coliformes totales y *Escherichia coli*.

Coliformes Totales y *Escherichia coli*

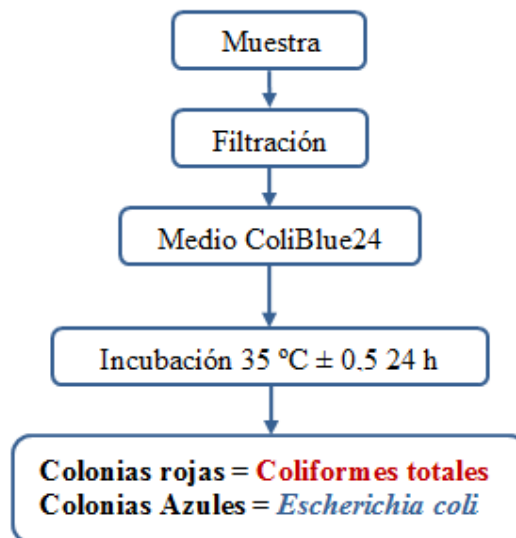


Figura 15. Procedimiento filtración.

Los coliformes totales son bacterias aerobias y anaerobias facultativas, bacilos gram-negativos, no esporulados, que fermentan lactosa produciendo colonias rojas tras 24 h de incubación a 35 °C ± 0,5.

La *Escherichia coli* cultivada a 35 °C ± 0,5 da lugar a colonias de color azul después de un periodo de 24 h. Sólo la presencia de *Escherichia coli* refleja la existencia de contaminación microbiológica de origen fecal.

III.D. Análisis de fármacos

1. Resultados y discusión

1.1. Validación del método de ensayo

La validación de un método de ensayo establece, mediante estudios sistemáticos de laboratorio, que las características técnicas de dicho método cumplen las especificaciones relativas al uso previsto de los resultados analíticos.

Los estudios realizados para determinar las características de funcionamiento han sido:

- **Especificidad.** Se han analizado muestras en blanco para detectar posibles interferencias.
- **Robustez.** El estudio de robustez ha incluido la introducción deliberada de variaciones menores razonables y la observación de sus consecuencias. Se han variado las condiciones cromatográficas, eluyentes, volúmenes de inyección y columnas.
- **Estabilidad.** Se ha comprobado el periodo de estabilidad de los distintos analitos.
- Se han realizado 6 curvas de calibración durante el periodo de validación.

- **Exactitud de medida:** Proximidad entre un valor medido y un valor verdadero de un mensurando. La ISO 5725-4¹⁷ utiliza dos términos “veracidad” y “precisión” para describir la exactitud de un método de medición.

La “veracidad” se refiere al grado de concordancia entre la media aritmética de un gran número de resultados y el valor verdadero o aceptado como referencia. La veracidad sólo puede establecerse mediante material de referencia certificado (MRC). Se calcula de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Exactitud} = \text{Media} / \text{Concentración teórica del patrón}$$

La “precisión” se refiere al grado de concordancia entre los resultados del ensayo obtenidos. Proximidad entre los valores medidos obtenidos en mediciones repetidas bajo condiciones especificadas de repetibilidad y reproducibilidad.

La medida de la precisión se expresa habitualmente en términos de imprecisión y se determina como desviación estándar del conjunto de los resultados obtenidos. Se calcula a partir del coeficiente de variación.

El Coeficiente de Variación (CV) es la magnitud que caracteriza la dispersión de una serie de “n” mediciones de un mismo método analítico, expresada como medida relativa a la media aritmética de los “n” resultados considerados. Su valor se calcula mediante la ecuación:

$$\text{CV (\%)} = (\text{DE} / \text{X}) \times 100$$

Dónde “DE” es la desviación típica de la serie de “n” mediciones y “X” es la media aritmética de los “n” resultados considerados. El CV se

¹⁷ International Standard ISO 5725-1. 1994. First Edition. Páginas 6-8.

expresa en porcentaje. También es conocido como desviación estándar relativa (RSD, del inglés *Relative Standard Deviation*).

En nuestro método hemos considerado la precisión en condiciones de reproducibilidad intralaboratorio.

Para la evaluación de la precisión/exactitud se han empleado adiciones de los patrones, de los fármacos objeto de estudio, sobre muestras de aguas.

Hemos evaluado la exactitud y la precisión empleando un material de referencia certificado alternando concentraciones en el rango de trabajo.

El criterio de aceptación/rechazo es:

- Exactitud entre el 80 y el 120%.
- Precisión en condiciones de reproducibilidad $\leq 20\%$, expresada en términos de coeficiente de variación (CV).

De este modo, para cada uno de los patrones de los fármacos objeto de estudio, hemos determinado la exactitud y la precisión para comprobar que el ensayo es apto para su uso previsto. La Tabla 6 recoge los fármacos a estudiar.

Señalar que en el caso del ácido acetilsalicílico no se encontró, y lo que analizamos es el ácido salicílico. El ácido acetilsalicílico se degrada a ácido salicílico, de manera que el ácido salicílico puede estar presente en las muestras de aguas residuales o proceder de la degradación del ácido acetilsalicílico. Por otra parte, la simvastatina no se considera, ya que en las condiciones normales de la toma de muestra, precipitaba. De este modo, los fármacos que hemos analizado son los que se indican en la Tabla 43.

Tabla 43. Fármacos analizados.

Fármacos
Omeprazol
Acido salicílico
Lorazepam
Acetaminofén
Atorvastatina
Alprazolam
Tramadol en asociación
Ibuprofeno
Bromazepam

A continuación, se detallan los resultados obtenidos de los estudios de precisión y exactitud.

Tabla 44. Ácido salicílico. Exactitud y precisión.

Valor teórico	Concentración (µg/L)								
	0,04	0,1	0,25	0,5	0,75	1	2	5	10
29/06/2015	0,034	0,103	0,224	0,551	0,838		2,113	4,597	10,278
01/07/2015	0,043	0,104	0,251	0,421	0,834	0,932	2,039	4,788	10,336
01/07/2015	0,048	0,082	0,243	0,487	0,732	1,028	2,08	4,873	
31/07/2015	0,051	0,096	0,251	0,46	0,717	0,932	1,79	5,428	10,175
04/08/2015	0,045	0,117	0,255	0,523	0,794	0,994	1,785	4,532	10,595
12/08/2015	0,03	0,111	0,258	0,58	0,787	1,016	1,917	4,431	10,512
Media	0,042	0,102	0,247	0,503	0,779	0,984	1,961	4,807	10,316
DE	0,008	0,011	0,011	0,054	0,048	0,042	0,134	0,339	0,218
CV (%)	18,0	11,0	4,6	10,7	6,1	4,2	6,8	7,0	2,1
Exactitud (%)	103,9	101,9	99,0	100,6	103,8	98,4	98,0	96,1	103,2

Para cada muestra de patrón preparado de ácido salicílico, se calcula la exactitud y la precisión. Para lo cual se calcula la desviación y la media de los valores obtenidos durante los ensayos.

Para dar el ensayo por aceptado la exactitud tiene que estar entre el 80 y el 120% y la precisión en condiciones de reproducibilidad debe de ser $\leq 20\%$, expresada en términos de coeficiente de variación (CV).

Se verifica que para el ácido salicílico la exactitud y la precisión, en todo el rango de concentraciones estudiadas, están dentro de los márgenes establecidos.

Se procede de la misma manera para el resto de fármacos, tal y como se recoge en las Tablas 45-52.

Tabla 45. Ibuprofeno. Exactitud y precisión.

Valor teórico	Concentración ($\mu\text{g/L}$)								
	0,04	0,1	0,25	0,5	0,75	1	2	5	10
29/06/2015	0,027	0,126	0,252	0,512	0,828		2,322	6,794	10,781
01/07/2015	0,039	0,1	0,284	0,546	0,843	0,849	1,899	4,79	10,37
01/07/2015	0,039	0,097	0,232	0,48	0,786	1,119	2,032	5,126	
31/07/2015	0,044	0,093	0,253	0,554	0,751	1,024	1,835	5,376	9,876
04/08/2015	0,046	0,114	0,294	0,483	0,726	1,038	1,98	4,616	10,359
12/08/2015	0,046	0,114	0,294	0,483	0,726	1,038	1,98	4,616	10,359
Media	0,040	0,106	0,266	0,508	0,773	1,011	2,007	5,188	10,291
DE	0,007	0,012	0,025	0,031	0,047	0,089	0,154	0,760	0,320
CV (%)	16,4	11,2	9,3	6,0	6,1	8,8	7,7	14,7	3,1
Exactitud (%)	100,4	106,3	106,2	101,7	103,0	101,1	100,3	103,8	102,9

Tabla 46. Acetaminofén. Exactitud y precisión.

Valor teórico	Concentración (µg/L)									
	0,02	0,04	0,1	0,25	0,5	0,75	1	2	5	10
29/06/2015	0,019	0,041	0,088	0,253	0,51	0,82		2,068	5,213	10,708
01/07/2015	0,025	0,031	0,08	0,268	0,538	0,814	0,901	2,104	4,917	10,23
01/07/2015	0,022	0,051	0,085	0,23	0,438	0,7	1,022	2,115	4,856	10,234
31/07/2015	0,019	0,037	0,098	0,261	0,547	0,84	0,938	1,864	5,527	10,359
04/08/2015	0,019	0,037	0,098	0,261	0,547	0,84	0,938	1,864	5,527	10,359
12/08/2015	0,021	0,053	0,106	0,259	0,537	0,741	1,09	2,011	4,591	10,263
Media	0,021	0,041	0,094	0,255	0,517	0,786	0,982	2,004	5,090	10,308
DE	0,002	0,008	0,009	0,012	0,039	0,056	0,069	0,105	0,351	0,214
CV (%)	10,7	19,1	10,0	4,8	7,6	7,1	7,1	5,2	6,9	2,1
Exactitud (%)	103,6	103,6	93,6	101,8	103,3	104,9	98,2	100,2	101,8	103,1

Tabla 47. Alprazolam. Exactitud y precisión.

Valor teórico	Concentración (µg/L)									
	0,02	0,04	0,1	0,25	0,5	0,75	1	2	5	10
29/06/2015	0,019	0,044	0,081	0,25	0,516	0,827		2,022	5,215	10,633
01/07/2015	0,021	0,04	0,075	0,266	0,55	0,814	0,934	2,123	4,795	10,354
01/07/2015	0,024	0,046	0,089	0,235	0,438	0,678	0,982	2,151	4,957	10,241
31/07/2015	0,019	0,04	0,093	0,257	0,552	0,817	0,956	1,874	5,446	10,294
04/08/2015	0,019	0,04	0,093	0,257	0,552	0,817	0,956	1,874	5,446	10,294
12/08/2015	0,022	0,047	0,104	0,25	0,532	0,716	1,072	2,043	4,513	10,373
Media	0,021	0,042	0,091	0,252	0,520	0,774	0,983	2,012	5,053	10,313
DE	0,002	0,003	0,010	0,010	0,041	0,060	0,049	0,109	0,343	0,188
CV (%)	9,2	7,4	11,2	3,8	7,9	7,7	5,0	5,4	6,8	1,8
Exactitud (%)	102,9	106,1	90,7	100,9	104,0	103,2	98,3	100,6	101,1	103,1

Tabla 48. Atorvastatina. Exactitud y precisión.

Valor teórico	Concentración (µg/L)									
	0,02	0,04	0,1	0,25	0,5	0,75	1	2	5	10
29/06/2015	0,027	0,033	0,083	0,247	0,471	0,798		2,524	5,623	9,846
01/07/2015	0,02	0,043	0,086	0,286	0,531	0,745	0,875	2,039	4,773	10,568
01/07/2015	0,029	0,035	0,08	0,243	0,46	0,68	0,971	2,261	4,89	10,024
31/07/2015	0,018	0,039	0,087	0,269	0,552	0,828	0,976	1,945	5,541	10,1
04/08/2015	0,018	0,039	0,087	0,269	0,552	0,828	0,976	1,945	5,541	10,1
12/08/2015	0,021	0,042	0,096	0,237	0,522	0,653	0,927	1,819	4,664	11,074
Media	0,022	0,039	0,088	0,257	0,513	0,755	0,954	2,076	5,147	10,245
DE	0,004	0,004	0,007	0,018	0,037	0,069	0,045	0,239	0,408	0,429
CV (%)	20,0	9,3	8,0	6,9	7,2	9,2	4,8	11,5	7,9	4,2
Exactitud (%)	109,3	96,8	88,4	102,9	102,5	100,6	95,4	103,8	102,9	102,4

Tabla 49. Bromazepam. Exactitud y precisión.

Valor teórico	Concentración (µg/L)									
	0,02	0,04	0,1	0,25	0,5	0,75	1	2	5	10
29/06/2015	0,023	0,051	0,083	0,283	0,564	0,901		2,173	5,388	10,092
01/07/2015	0,022	0,044	0,066	0,261	0,544	0,795	0,909	2,082	4,857	10,32
01/07/2015	0,025	0,047	0,091	0,228	0,432	0,663	0,969	2,048	4,944	10,437
31/07/2015	0,021	0,042	0,091	0,246	0,538	0,797	0,911	1,82	5,617	10,277
04/08/2015	0,021	0,042	0,091	0,246	0,538	0,797	0,911	1,82	5,617	10,277
12/08/2015	0,02	0,049	0,103	0,247	0,537	0,717	1,049	2,004	4,564	10,381
Media	0,022	0,045	0,089	0,252	0,522	0,774	0,958	1,992	5,141	10,255
DE	0,002	0,004	0,012	0,017	0,044	0,075	0,058	0,131	0,405	0,156
CV (%)	8,3	9,1	13,7	6,7	8,4	9,7	6,1	6,6	7,9	1,5
Exactitud (%)	108,6	112,5	89,3	100,6	104,4	103,2	95,8	99,6	102,8	102,5

Tabla 50. Lorazepam. Exactitud y precisión.

Valor teórico	Concentración (µg/L)									
	0,02	0,04	0,1	0,25	0,5	0,75	1	2	5	10
29/06/2015	0,017	0,047	0,085	0,251	0,522	0,817		2,068	5,211	10,732
01/07/2015	0,02	0,047	0,082	0,248	0,533	0,78	0,902	2,112	4,817	10,437
01/07/2015	0,025	0,039	0,085	0,237	0,457	0,726	1,045	2,174	4,952	10,172
31/07/2015	0,022	0,036	0,091	0,255	0,549	0,8	0,932	1,835	5,537	10,336
04/08/2015	0,022	0,036	0,091	0,255	0,549	0,8	0,932	1,835	5,537	10,336
12/08/2015	0,021	0,051	0,102	0,248	0,537	0,726	1,087	2,041	4,559	10,299
Media	0,021	0,042	0,091	0,249	0,521	0,771	0,983	2,009	5,088	10,330
DE	0,002	0,006	0,008	0,006	0,033	0,037	0,073	0,131	0,365	0,227
CV (%)	11,7	14,2	8,5	2,4	6,3	4,8	7,4	6,5	7,2	2,2
Exactitud (%)	105,0	105,7	90,9	99,7	104,2	102,8	98,3	100,5	101,8	103,3

Tabla 51. Omeprazol. Exactitud y precisión.

Valor teórico	Concentración (µg/L)									
	0,02	0,04	0,1	0,25	0,5	0,75	1	2	5	10
29/06/2015	0,018	0,044	0,083	0,252	0,537	0,854		1,942	5,168	10,486
01/07/2015	0,025	0,037		0,279	0,623	0,842	0,99	2,127	4,871	9,365
01/07/2015	0,021	0,044	0,096	0,245	0,449	0,709	0,979	2,212	5,045	10,169
31/07/2015	0,021	0,038	0,089	0,259	0,565	0,805	0,907	1,839	5,467	10,356
04/08/2015	0,021	0,038	0,089	0,259	0,565	0,805	0,907	1,839	5,467	10,356
12/08/2015	0,022	0,051	0,095	0,249	0,525	0,692	1,033	2,009	4,432	10,564
Media	0,021	0,042	0,092	0,256	0,538	0,780	0,969	1,995	5,064	10,185
DE	0,002	0,005	0,006	0,011	0,055	0,064	0,052	0,139	0,360	0,408
CV (%)	10,0	12,0	6,7	4,4	10,2	8,2	5,3	7,0	7,1	4,0
Exactitud (%)	105,7	104,3	92,0	102,5	107,5	103,9	96,9	99,8	101,3	101,9

Tabla 52. Tramadol. Exactitud y precisión.

Valor teórico	Concentración (µg/L)									
	0,02	0,04	0,1	0,25	0,5	0,75	1	2	5	10
29/06/2015	0,02	0,042	0,084	0,255	0,505	0,82		2,074	5,114	10,762
01/07/2015	0,019	0,041	0,075	0,284	0,534	0,828	0,961	2,13	4,896	10,292
01/07/2015	0,024	0,047	0,086	0,235	0,432	0,666	0,964	2,175	5,122	10,22
31/07/2015	0,016	0,037	0,088	0,271	0,598	0,867	0,976	1,976	5,589	10,027
04/08/2015	0,016	0,037	0,088	0,271	0,598	0,867	0,976	1,976	5,589	10,027
12/08/2015	0,02	0,05	0,109	0,257	0,577	0,763	1,122	2,139	4,629	10,007
Media	0,019	0,042	0,090	0,260	0,535	0,794	1,000	2,067	5,134	10,191
DE	0,003	0,005	0,011	0,016	0,061	0,073	0,061	0,084	0,352	0,277
CV (%)	14,3	11,7	12,4	6,2	11,4	9,2	6,1	4,0	6,9	2,7
Exactitud (%)	96,4	105,0	90,0	104,2	107,0	105,9	100,0	103,4	102,7	101,9

Se ha comprobado que para cada uno de los patrones de los fármacos objeto de análisis, en los rangos seleccionados, la exactitud está entre el 80 y el 120%, y la precisión en condiciones de reproducibilidad es \leq 20%. Es decir, tanto la precisión como la exactitud están dentro de los límites marcados.

Por tanto, el ensayo es apto para su uso previsto.

1.2. Rectas de calibrado

Para cada uno de los compuestos descritos en la Tabla 43 se consideran los siguientes patrones comerciales:

Tabla 53. Patrones utilizados.

Compuesto	Referencia	Estado
Omeprazol	O-021-1ML	Disolución
Acido Acetilsalicílico	PHR1003-1G	Sólido
Lorazepam	L-901-1ML	Disolución
Lorazepam-d ₄	L-902-1ML	Disolución
Acetaminofén	A-064-1ML	Disolución
Acetaminofén-d ₄	P-909-1ML	Disolución
Atorvastatina	A-078-1ML	Disolución
Alprazolam	A-903-1ML	Disolución
Tramadol	T-027-1ML	Disolución
Ibuprofeno	I-009-1ML	Disolución
Bromazepam	B-903-1ML VIS	Disolución

Con los patrones de referencia se hace una muestra global de patrones, a partir de la cual se preparan las distintas concentraciones para hacer las rectas de calibrado. Las concentraciones para establecer las rectas de calibrado se recogen en la Tabla 54.

Tabla 54. Concentraciones para las rectas de calibración.

Concentración (µg/L)	Patrones de referencia (µg/L)	Mezcla de patrones de referencia (µL)	Agua Tipo I (µL)
0,005	1	5	975
0,01	1	10	970
0,02	1	20	960
0,04	1	40	940
0,1	10	10	970
0,25	10	25	965
0,5	100	5	975
0,75	100	7,5	972,5
1	100	10	970
2	100	20	960
5	500	10	970
10	500	20	960

De este modo para la concentración de 0,005 µg/L, partimos de una concentración de 1 µg/L de la muestra global de patrones, de donde tomamos 5 µL, y añadimos 975 µL de agua Tipo I. De la misma manera, realizamos diluciones seriadas del patrón global de patrones.

El rango de calibración para cada fármaco analizado se recoge en la Tabla 55.

*Ensayos Analíticos***Tabla 55.** Rango de Calibración fármacos.

Compuesto	Rango de calibración (µg/L)
Acido salicílico	0,04 - 10
Ibuprofeno	0,04 - 10
Acetaminofén	0,005 - 10
Alprazolam	0,005 - 10
Atorvastatina	0,005 - 10
Bromazepam	0,005 - 10
Lorazepam	0,005 - 10
Omeprazol	0,01 - 10
Tramadol	0,005 - 10

Como patrones internos utilizamos el lorazepam deuterado (lorazepam-d₄) y el acetaminofén deuterado (acetaminofén-d₄). Los dos patrones son en positivo, no hemos considerado patrones en negativo.

Se acepta que la recuperación del patrón interno en cada lote de trabajo no debe de tener una desviación superior al 30%.

El ajuste de la función de calibrado es lineal, aunque con la cantidad de niveles utilizados, se puede realizar un ajuste cuadrático. Los criterios de aceptación/rechazo que hemos utilizado para evaluar la función de calibrado son:

- Coeficiente de regresión : $r^2 \geq 0,99$.¹⁸
- % Bias (exactitud) $\leq 20\%$.

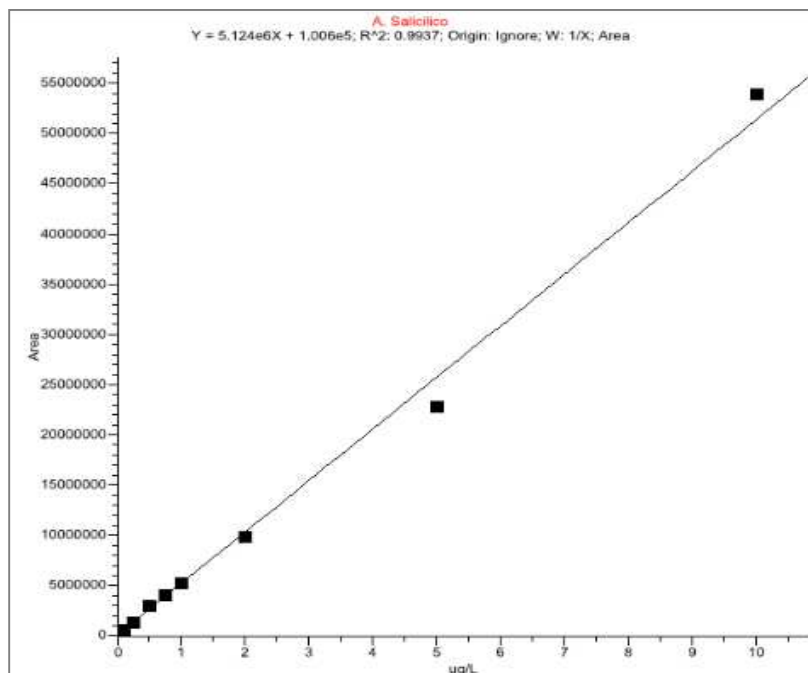
¹⁸ EPA. Method 8000B.Determinative Chromatographic Separations. **1996**. Página 23.

En cada tanda de trabajo se verifica la función de calibrado.

La norma ISO 5725-1¹⁷ considera que el “Bias”, también se denomina “%Diff”, es la diferencia entre el valor calculado y el valor teórico (en valor absoluto), dividido por el valor teórico y multiplicado por cien.

Con respecto a los ensayos en blanco utilizados, el criterio que hemos considerado es que tienen que ser inferiores al límite de cuantificación e idealmente del orden del límite de detección. El criterio que aplica el laboratorio para los blancos es que sean inferiores a 1/3 del límite de cuantificación del ensayo. El blanco se inyecta en cada tanda de trabajo.

En la Gráfica 35, se recoge la curva de calibración del ácido salicílico en el rango de concentraciones estudiado: 0,04-10 µg/L.



Gráfica 35. Curva de calibrado ácido salicílico.

Para cada uno de los fármacos analizados se cumplieron los criterios de la función de calibrado.

1.3. Criterios cromatográficos y espectrales

Los criterios cromatográficos que se han considerado son los siguientes:

- La tolerancia del tiempo de retención para los compuestos por tanda de trabajo es de 0,3 por minuto.
- La relación S/N (señal/ruido) tiene que ser ≥ 10 (límite de cuantificación ≥ 10).

Los criterios espectrales considerados son:

- Se utiliza como criterio el umbral de intensidad mínima (*Intensity Threshold*) y la tolerancia de masa tiene que ser < 5 mg/L. Usamos un algoritmo de comparación espectral que tiene el software del equipo, y como es un criterio necesita tener un valor de aceptación/rechazo, que en este caso es el *Intensity Threshold*.
- En el caso de los fragmentos se compara con la biblioteca de espectros (generada por nosotros) y se utiliza como algoritmo de comparación la variable *Score Threshold* ($>70\%$). A partir de los patrones, trabajando en modo “PRM” (el equipo realiza un espectro de MS/MS en cada punto), podemos obtener los iones de fragmentación más abundantes.

Para el ácido salicílico e ibuprofeno trabajamos en negativo y para el resto de compuestos en positivo. En la Tabla 56 y en la Tabla 57 se recogen las masas, los tiempos de retención y los iones de fragmentación teóricos para cada uno de los compuestos analizados.

Tabla 56. Masa del aducto y tiempo de retención.

Compuesto	Fórmula	Masa	TR ^a (min)
Acido salicílico	C ₇ H ₆ O ₃	137,0244	4,08
Ibuprofeno	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	205,1234	6,70
Acetaminofén	C ₈ H ₉ NO ₂	152,0706	2,00
Alprazolam	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₄	309,0902	5,43
Atorvastatina	C ₃₃ H ₃₅ FN ₂ O ₅	559,2603	6,57
Bromazepam	C ₁₄ H ₁₀ Br ₃ O	316,0080	4,68
Lorazepam	C ₁₅ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O ₂	321,0192	5,32
Omeprazol	C ₁₇ H ₁₉ N ₃ O ₃ S	346,1220	4,49
Tramadol	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	264,1958	4,03

^a TR, tiempo de retención.**Tabla 57.** Iones de Fragmentación.

Compuesto	Aducto	Polaridad	Fragmento	Fragmento	Fragmento	Fragmento
Acido salicílico	M-H	-	93,0332	65,0382		
Ibuprofeno	M-H	-	159,1170	101,9912	160,1208	
Acetaminofén	M+H	+	110,0602	111,0442	134,0599	92,0499
Alprazolam	M+H	+	281,0709	274,1208	241,0523	165,0212
Atorvastatina	M+H	+	440,2230	441,2266	292,1494	
Bromazepam	M+H	+	182,0836	209,0944	288,0125	261,0016
Lorazepam	M+H	+	275,0132	303,0081	229,0523	163,0055
Omeprazol	M+H	+	198,0583	180,0477	151,0992	137,0758
Tramadol	M+H	+	58,0658			

1.3.1. Cromatogramas y espectros

Los modos típicos de trabajo con un analizador cuadrupolar son:

- Barrido completo o *Full Scan* (FS), en el que se realiza un espectro de masas continuo en un rango definido; se suele usar para detecciones cualitativas.
- Monitorización selectiva de iones ó *Selected Ion Monitoring* (SIM), en donde se selecciona uno o más iones específicos y sólo se miden éstos, habitualmente con fines cuantitativos.
- Monitorización de reacción múltiple o *Parallel Reaction Monitoring* (PRM), en el que se realizan espectros masas/masas (MS/MS) en cada punto; se utilizan con fines cuantitativos.

Se pueden utilizar uno o más modos de trabajo simultáneamente, la limitación más importante es disponer de suficientes números de puntos por pico cromatográfico.

El modo de trabajo utilizado en esta memoria es el de barrido completo o *Full Scan* con experimento de dato dependiente (FS-ddE).

El método de trabajo FS-ddE consiste en la utilización combinada de los métodos de trabajo de FS y de PRM.

El método maestro es el FS y el método dependiente o experimento de dato dependiente es el modo de trabajo PRM.

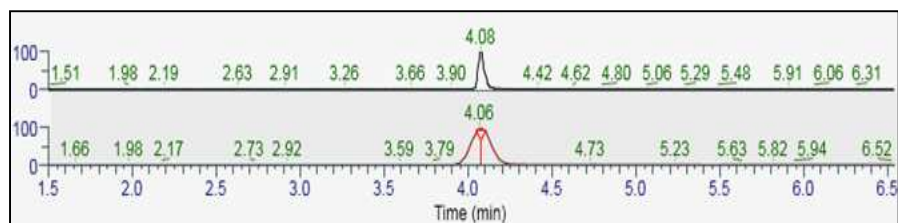
El equipo trabaja en modo FS y en cada espectro obtenido comprueba, mediante un algoritmo de búsqueda, si alguno de los iones que están en la lista de inclusión aparecen en dicho espectro, para que pueda realizar el experimento de dato dependiente. Si el ion cumple con los criterios establecidos entonces realiza un espectro de MS/MS (PRM).

Este método de trabajo permite obtener toda la información de FS, incluida la cuantificación de los compuestos seleccionados, y además, la

confirmación de los mismos mediante un espectro MS/MS, que se identifica mediante la biblioteca.

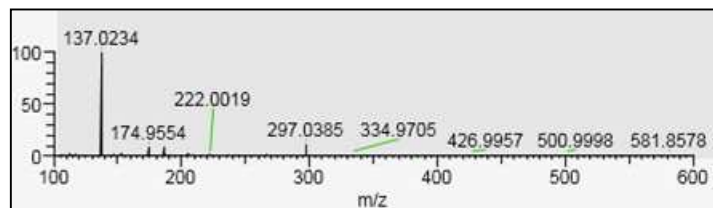
A continuación, se indican para cada compuesto los correspondientes cromatogramas y espectros de masas para la concentración de 0,1 µg/L.

• **Cromatogramas HPLC**

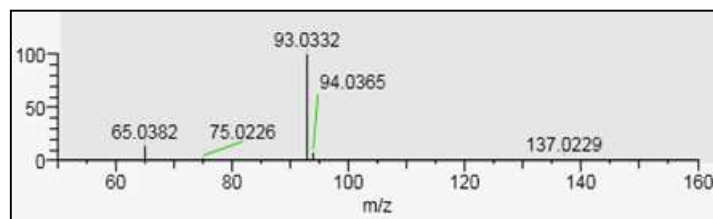


• **Espectros de masas**

Modo FS



Modo MS/MS



	Fórmula	Extracto Masa	Aducto	Polaridad	TR
Acido salicílico	C ₇ H ₆ O ₃	137,0234	M-H	-	4,08
	Fragmento	Fragmento			
	93,0332	65,0382			

Figura 16. Cromatogramas y espectros de referencia para el ácido salicílico a una concentración de 0,1 µg/L.

Fase III

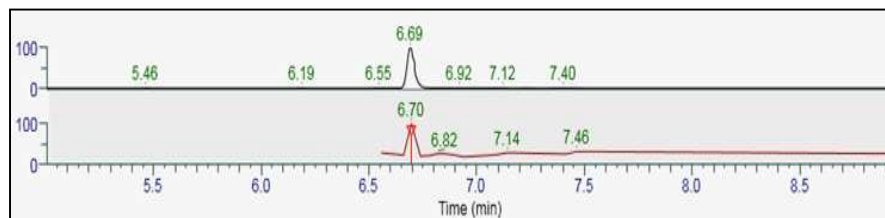
El cromatograma superior de la Figura 16 muestra el cromatograma filtrado con el ion precursor en modo de trabajo FS y en el cromatograma inferior muestra los datos obtenidos en modo FS-ddE (PRM).

El espectro de masas de la parte superior ha sido realizado en modo de barrido completo FS y el espectro de la parte inferior es la fragmentación MS/MS del ion precursor que confirma el compuesto.

Para el ácido salicílico la masa que se obtiene para el ion molecular es de 137,0234, que está en concordancia con el valor teórico de 137,0244 (Tabla 56), ya que está dentro del error admitido. En el caso de los iones de fragmentación los valores experimentales coinciden con los teóricos.

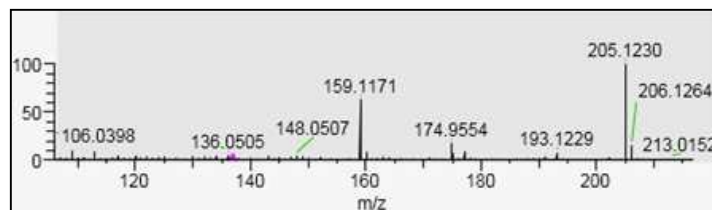
En relación al método de trabajo, en primer lugar hacemos una infusión (inyección directa en el masas) y después una inyección de la muestra haciéndola pasar por el cromatógrafo para obtener los tiempos de retención para cada compuesto. Cuando hablamos de aducto estamos indicando la pérdida o ganancia de un protón y la polaridad indica el modo de trabajo en positivo o negativo.

• **Cromatogramas HPLC**

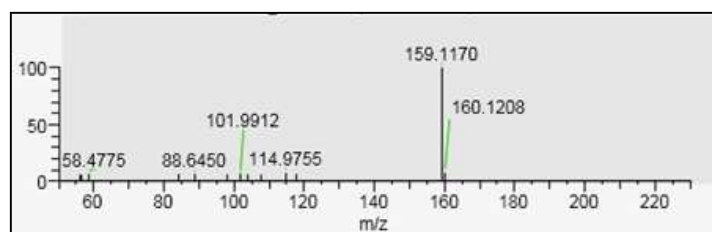


• **Espectros de masas**

Modo FS



Modo MS/MS



	Fórmula	Extracto Masa	Aducto	Polaridad	TR
Ibuprofeno	$C_{13}H_{18}O_2$	205,1230	M-H	-	6,70
	Fragmento	Fragmento	Fragmento		
	159,1170	101,9912	160,1208		

Figura 17. Cromatogramas y espectros de referencia para el ibuprofeno a una concentración de 0,1 µg/L.

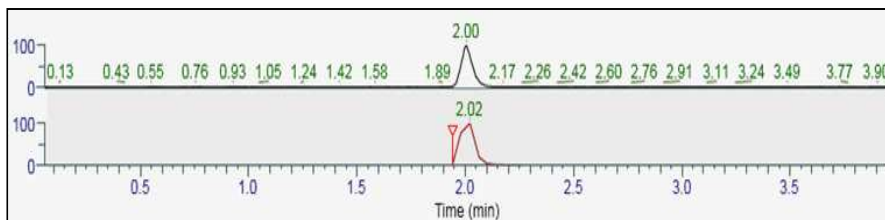
La masa que se obtiene para el ion molecular del ibuprofeno es de 205,1230, que está dentro del error admitido en relación al valor teórico

Fase III

Ensayos Analíticos

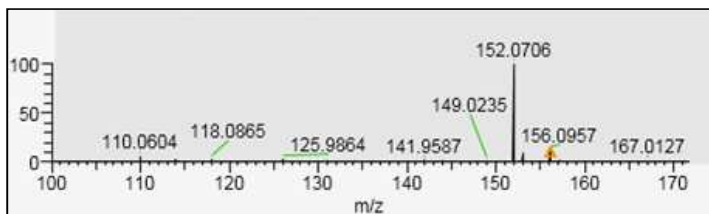
de 205,1234 (Tabla 56). Los iones de fragmentación observados coinciden con los valores teóricos. Con respecto a los iones de fragmentación se coge el 160,1208 y no el 114,9755, ya que cuanto mayor es el ion (m/z) más selectivo es del compuesto y menos ruido de fondo tiene el cromatograma.

• **Cromatogramas HPLC**

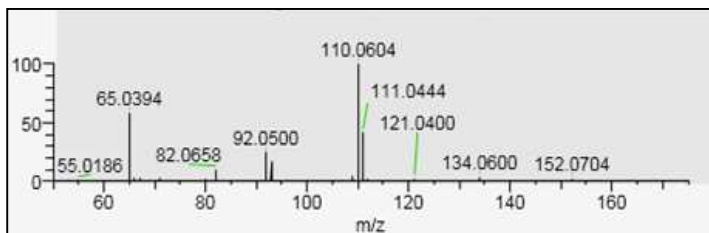


Espectros de masas

Modo FS



Modo MS/MS



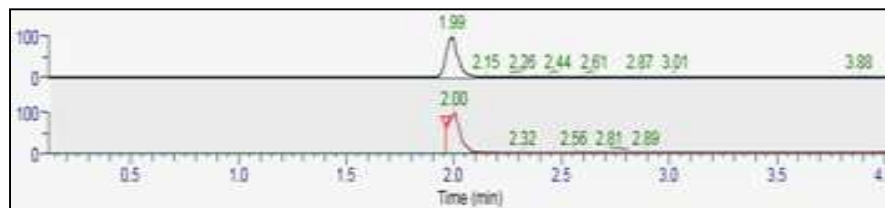
	Fórmula	Extracto Masa	Aducto	Polaridad	TR
Acetaminofén	C ₈ H ₉ NO ₂	152,0706	M+H	+	2,00
	Fragmento	Fragmento	Fragmento	Fragmento	
	110,0604	111,0444	134,0600	92,0500	

Figura 18. Cromatogramas y espectros de referencia para el acetaminofén a una concentración de 0,1 µg/L.

En la Figura 18 se muestran los cromatogramas y espectros de masas para el acetaminofén. El extracto de masa coincide con el teórico. Se obtiene como ion de fragmentación el 110,0604 en vez de 110,0602. Es el mismo ion de fragmentación, la diferencia es el error en el cálculo de masa. Y lo mismo sucede para el resto de iones de fragmentación.

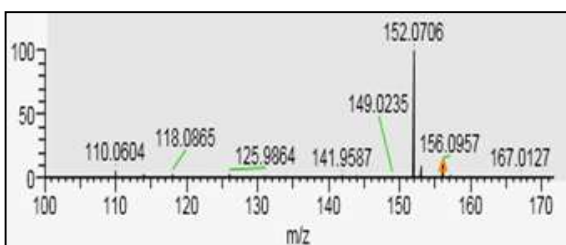
Se elige el ion de fragmentación 134,0600 y no el 82,0658 porque es mejor seleccionar los iones de relación m/z más grande, ya que presentan mayor selectividad. Si bien en ambos casos son malos iones al tener intensidades muy pequeñas comparadas con el 110,0604.

• **Cromatogramas HPLC**



• **Espectros de masas**

Modo FS



Modo MS/MS

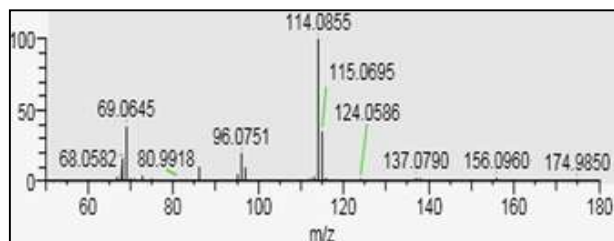


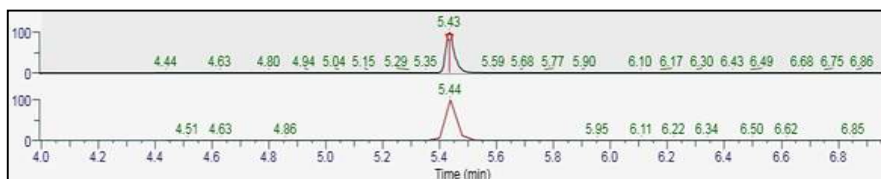
Figura 19. Cromatogramas y espectros de referencia para el acetaminofén-d₄ a una concentración de 0,1 µg/L.

Fase III

En el espectro de masas del acetaminofén-d₄ (Figura 19) se observa el ion molecular correspondiente al compuesto deuterado 156,0957 y sus iones de fragmentación 114,0855, el 115,0695 el 137,0790 y el 96,0751.

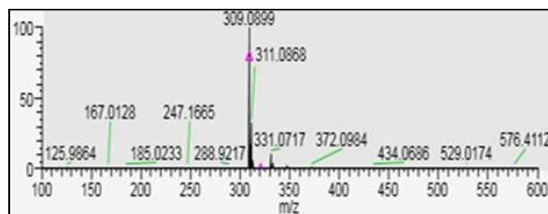
En el caso de los iones de fragmentación se obtiene el 137,0790 y no el 138 (el del acetaminofén 134,0600 con cuatro deuterios), lo que indica que pierde parte de la molécula en la fragmentación.

• **Cromatogramas HPLC**

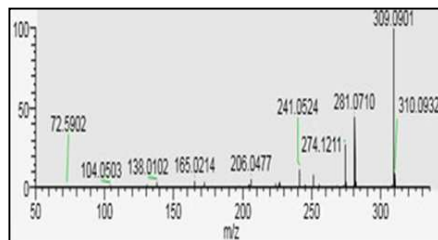


• **Espectros de masas**

Modo FS



Modo MS/MS



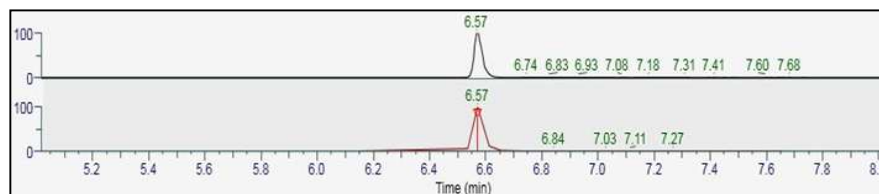
Alprazolam	Fórmula	Extracto Masa	Aducto	Polaridad	RT
	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₄	309,0899	M+H	+	5,43
	Fragmento	Fragmento	Fragmento	Fragmento	
	281,0709	274,1208	241,0523	165,0212	

Figura 20. Cromatogramas y espectros de referencia para el alprazolam a una concentración de 0,1 µg/L.

El extracto de masa que obtenemos para el alprazolam es 309,0899, ligeramente inferior al valor teórico recogido en la Tabla 56 (309,0902), aunque dentro del margen de error en la medida de masas.

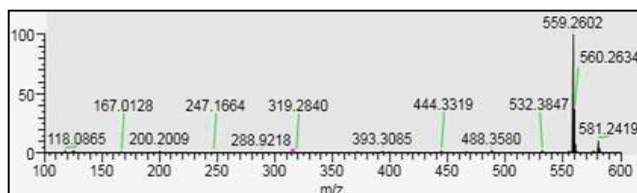
En el espectro MS/MS aparece el fragmento 309,0901. Aún siendo la señal más alta, no se considera de fragmentación. Esto es debido a que al suministrar energía no siempre se rompen completamente todos los iones precursores.

• **Cromatogramas HPLC**

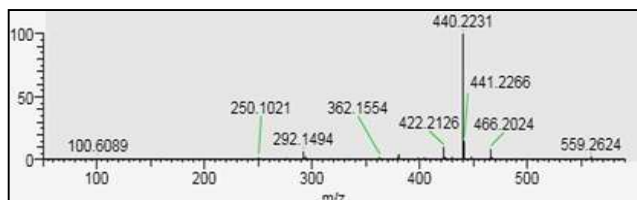


• **Espectros de masas**

Modo FS



Modo MS/MS

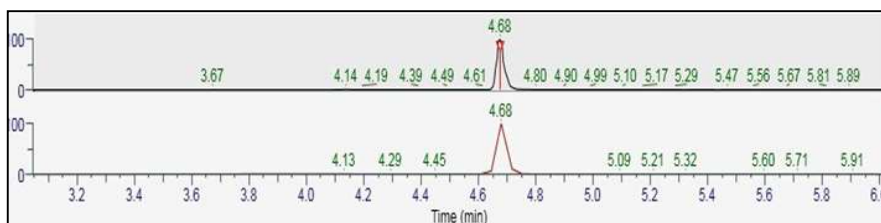


	Fórmula	Extracto Masa	Aducto	Polaridad	RT
Atorvastatina	$C_{33}H_{35}FN_2O_5$	559,2603	M+H	+	6,57
	Fragmento	Fragmento	Fragmento		
	440,2231	441,2266	292,1494		

Figura 21. Cromatogramas y espectros de referencia para la atorvastatina a una concentración de 0,1 µg/L.

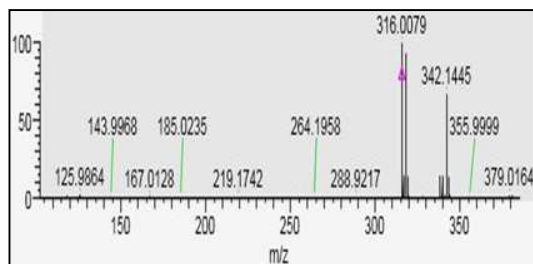
Para la atorvastatina el ion molecular observado coincide con el teórico. Con respecto a los iones de fragmentación se considera el 292,1494 en vez del 422,2126, que tiene mayor intensidad. Es el que se ha seleccionado en Europa y que a priori se ha comprobado (validado).

• **Cromatogramas HPLC**

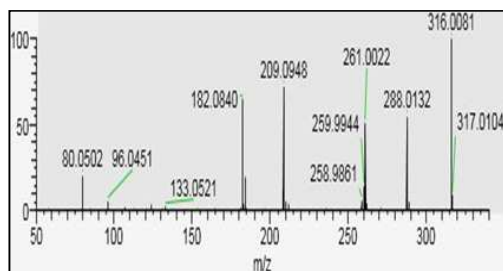


• **Espetros de masas**

Modo FS



Modo MS/MS

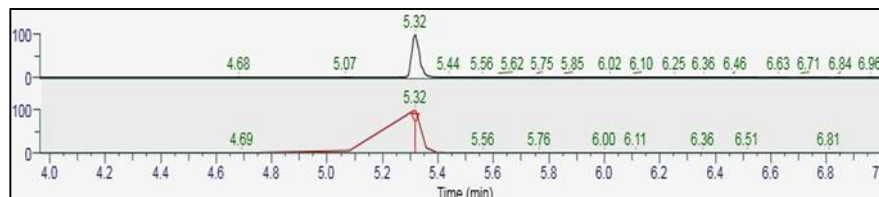


	Fórmula	Extracto Masa	Aducto	Polaridad	RT
Bromazepam	$C_{14}H_{10}BrN_3O$	316,0079	M+H	+	4,68
	Fragmento	Fragmento	Fragmento	Fragmento	
	182,0840	209,0948	288,0132	261,0022	

Figura 22. Cromatogramas y espectros de referencia para el bromazepam a una concentración de 0,1 µg/L.

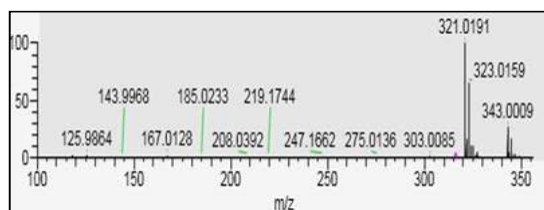
En el caso del bromazepam el extracto de masa observado es 316,0079, frente al 316,0080 teórico. En el espectro MS/MS aparece el 316,0081, que aún siendo el pico más intenso no se considera de fragmentación. El resto de iones de fragmentación coinciden con los teóricos, salvo el error en la medida de masas, que están dentro de los límites aceptados.

• **Cromatogramas HPLC**

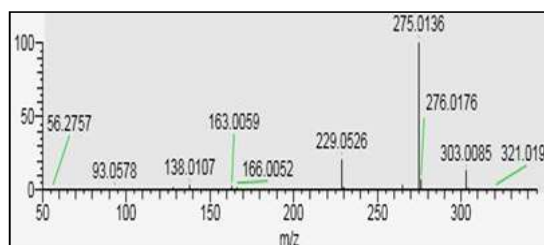


• **Espectros de masas**

Modo FS



Modo MS/MS



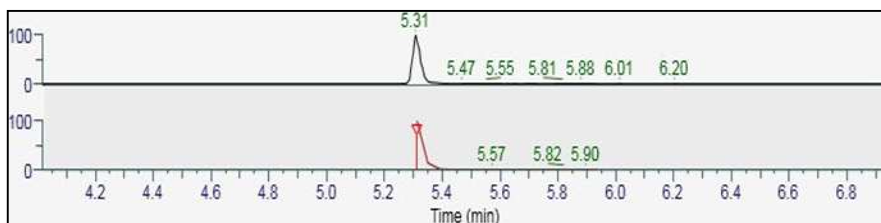
	Fórmula	Extracto Masa	Aducto	Polaridad	RT
Lorazepam	$C_{15}H_{10}Cl_2N_2O_2$	321,0191	M+H	+	5,32
	Fragmento	Fragmento	Fragmento	Fragmento	
	275,0136	303,0085	229,0526	163,0059	

Figura 23. Cromatogramas y espectros de referencia para el lorazepam a una concentración de 0,1 µg/L.

Fase III

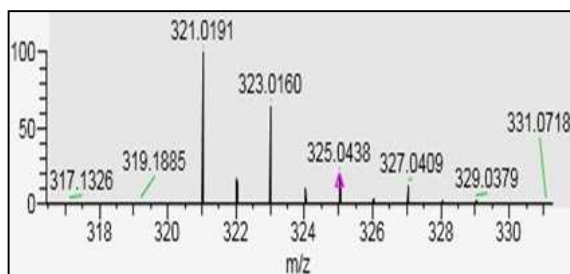
El ion molecular que se obtiene para el lorazepam es 321,0191, frente al 321,0192 teórico. En el espectro MS/MS aparece el ion 321,0192, debido a que al administrar energía no siempre se rompen completamente los iones precursores. O bien pudiera ser una señal de fondo que tiene el mismo ion pero no la misma estructura. El resto de iones de fragmentación coinciden con los teóricos, salvo el error de masas existente.

- **Cromatogramas HPLC**



- **Espectros de masas**

Modo FS



Modo MS/MS

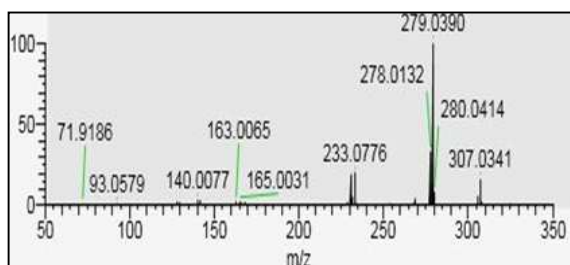
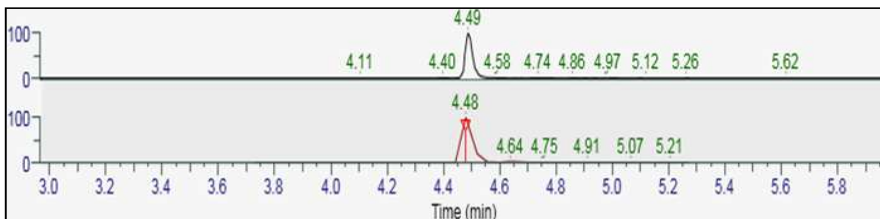


Figura 24. Cromatogramas y espectros de referencia para el lorazepam-d₄ a una concentración de 0,1 µg/L.

Para el lorazepam-d₄ se observa el ion molecular del compuesto deuterado 325,0438, y sus iones de fragmentación 279,0390, el 307,0341, el 233,0776 y el 165,0031.

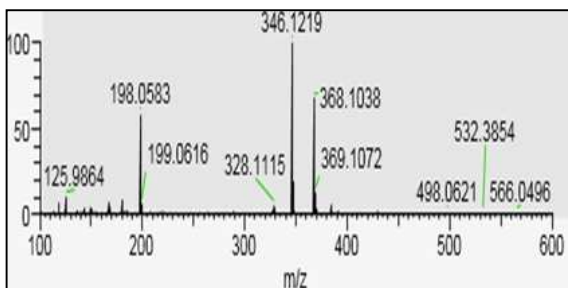
El ion de fragmentación del lorazepam es 163,0059. Podríamos pensar que para el compuesto deuterado se tendría que obtener un ion de fragmentación de masa 167, correspondiente a la sustitución de cuatro hidrógenos por deuterios. Esto se cumple para el ion molecular, pero no así en el caso de los iones de fragmentación, ya que cuando fragmenta el ion precursor y pierde un trozo de la molécula, puede suceder que incluso pierda todos los deuterios.

• **Cromatogramas HPLC**

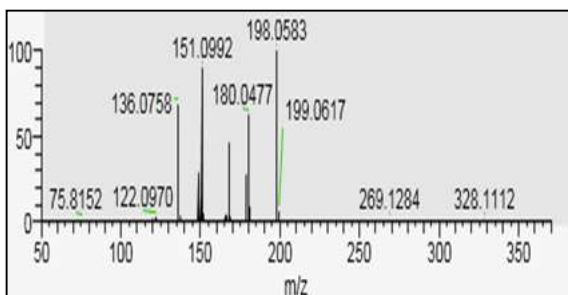


• **Espectros de masas**

Modo FS



Modo MS/MS

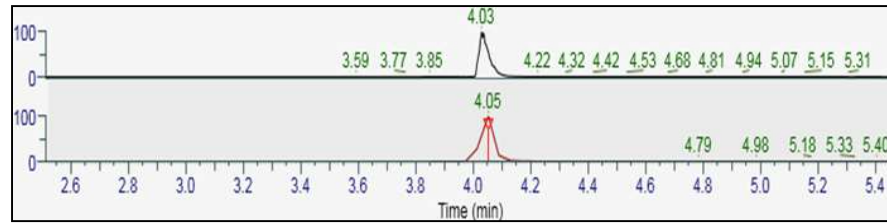


	Fórmula	Extracto Masa	Aducto	Polaridad	RT
Omeprazol	$C_{17}H_{19}N_3O_3S$	346,1219	M+H	+	4,49
	Fragmento	Fragmento	Fragmento	Fragmento	
	198,0583	180,0477	151,0992	136,0758	

Figura 25. Cromatogramas y espectros de referencia para el omeprazol a una concentración de 0,1 µg/L.

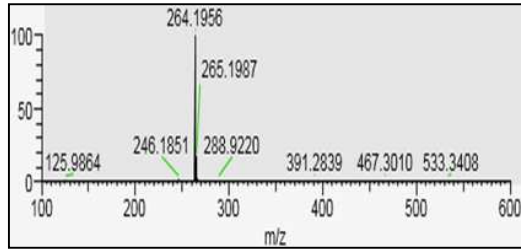
El extracto de masa observado para el omeprazol es 346,1219, frente al 346,1220 teórico. Los iones de fragmentación experimentales coinciden con los teóricos.

• **Cromatogramas HPLC**

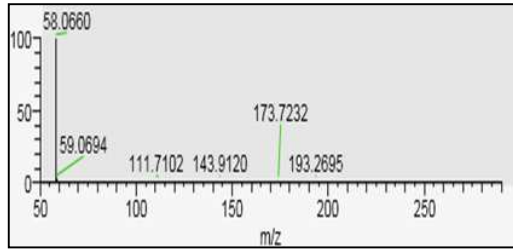


• **Espectros de masas**

Modo FS



Modo MS/MS



	Fórmula	Extracto Masa	Aducto	Polaridad	RT
Tramadol	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	264,1956	M+H	+	4,03
	Fragmento				
	58,0660				

Figura 26. Cromatogramas y espectros de referencia para el tramadol a una concentración de 0,1 µg/L.

Fase III

El extracto de masa observado en el espectro del tramadol es 264,1956, frente al 264,1958 teórico. El ion de fragmentación obtenido es el 58,0660, frente al valor teórico 58,0658.

Se procede de la misma manera para el resto de concentraciones consideradas, y así obtener la biblioteca espectral generada con nuestro equipo.

1.4. Interpretación y expresión de los resultados

Los análisis de los fármacos se cuantificarán por los valores obtenidos en la interpolación de la recta de calibrado, siendo expresados en $\mu\text{g/L}$.

El área es proporcional a la concentración, de modo que al calibrar utilizamos como variables las áreas y las concentraciones.

Las cifras significativas utilizadas en la expresión de resultados son las siguientes:

- Desde 0,005 $\mu\text{g/L}$ hasta $<0,01 \mu\text{g/L}$ se utilizarán cuatro cifras significativas.
- Desde 0,01 $\mu\text{g/L}$ hasta $<0,1 \mu\text{g/L}$ se utilizarán tres cifras significativas.
- Desde 0,1 $\mu\text{g/L}$ hasta $<10 \mu\text{g/L}$ se utilizarán dos cifras significativas.

Si el límite de cuantificación es 0,005 $\mu\text{g/L}$ y el resultado obtenido es inferior a 0,005 $\mu\text{g/L}$ se expresará como “menor de 0,005 $\mu\text{g/L}$ ”.

Las cifras significativas vienen dadas por la incertidumbre declarada.

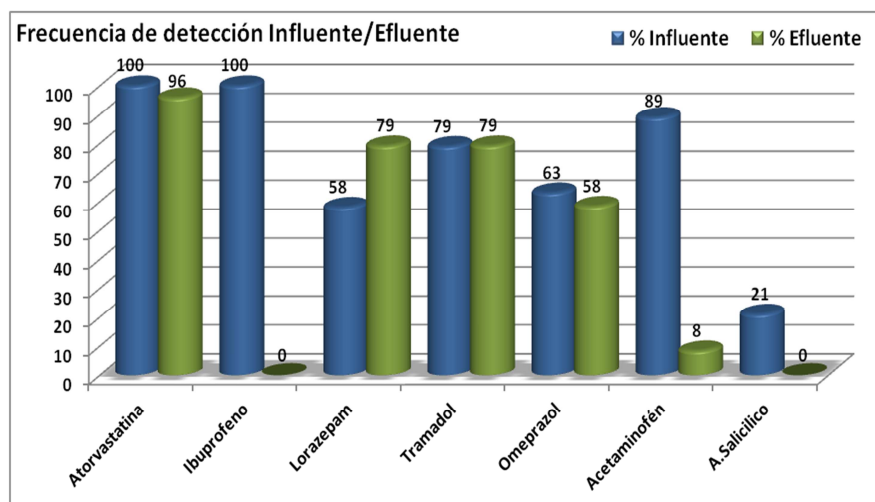
1.5. Resultados obtenidos

Comenzamos realizando los primeros ensayos en el Laboratorio de Calidad Ambiental del Ayuntamiento de Madrid, donde disponían de un cromatógrafo de líquidos acoplado a un masas con un analizador triple

cuadrupolo. Las muestras con las que iniciamos el estudio fueron las del influente. En el transcurso de los análisis, se presentó la oportunidad de trabajar en el laboratorio que el Ministerio de Defensa tiene en Madrid, en el Hospital Gómez Ulla. Allí, disponían de un cromatógrafo de líquidos acoplado a un masas con un analizador de alta resolución, un orbitrap. Ante esta oportunidad, decidimos trabajar con el equipo de alta resolución, aunque nos habíamos quedado sin muestras del influente.

Por este motivo analizamos 24 muestras del efluente y tan sólo 19 del influente para compuestos en positivo y todas (24) para compuestos en negativo.

Para analizar los compuestos que podían ser detectados tanto en la entrada como en la salida de la planta, consideramos la frecuencia de detección. Estos datos se se recogen en la Gráfica 36.



Gráfica 36. Frecuencia de detección influente y efluente planta.

El bromazepam y alprazolam no se detectan, porque siempre dan por debajo de límite de detección.

Ensayos Analíticos

Se detecta más lorazepam y tramadol a la salida que a la entrada; esto es debido al número diferente de muestras que se analizaron del efluente y del influente, teniendo en cuenta que faltan 5 datos del influente. Esto no se observa para el análisis de los compuestos en modo negativo, en el que se analizan el mismo número de muestras. Por ello, a pesar de aportar datos en promedio, parece que el tratamiento en la planta genera lorazepam y tramadol, lo cual no es posible.

Se aprecia que a la entrada los fármacos que más se detectan son los hipolipemiantes (atorvastatina), los antiinflamatorios (ibuprofeno), los analgésicos (acetaminofén, tramadol), los antiulcerosos (omeprazol) y dentro de los ansiolíticos, el lorazepam. En la Gráfica 2, que recogía los principios activos más vendidos en el Area sanitaria VII, el compuesto más vendido era el omeprazol; sin embargo, no es el compuesto que más se detecta a la entrada de la planta.

A la salida de planta, se siguen observando niveles de detección elevados para la atorvastatina, el lorazepam, el tramadol y el omeprazol. Mientras que en el caso del ibuprofeno no se detecta y para el acetaminofén, el nivel de detección ha disminuido considerablemente. Estos compuestos o bien se adsorben o bien se mineralizan durante las diferentes etapas del tratamiento en la planta de Baiña.

1.5.1. Análisis del mes de diciembre de 2014

En Tabla 58 se recogen las concentraciones de los fármacos.

Tabla 58. Valores medios, máximos y mínimos ($\mu\text{g/L}$). Influyente (I) y Efluente (E). Diciembre 2014.

COMPUESTO		Promedio	Máximo	Mínimo
Acido salicílico	I	< 0,040	< 0,040	< 0,040
	E	< 0,040	< 0,040	< 0,040
Ibuprofeno	I	0,761	1,596	0,395
	E	< 0,040	< 0,040	< 0,040
Acetaminofén	I	1,567	3,356	< 0,005
	E	< 0,005	0,007	< 0,005
Lorazepam	I	0,009	0,016	< 0,005
	E	0,012	0,018	0,008
Atorvastatina	I	0,075	0,106	0,055
	E	0,032	0,050	0,016
Omeprazol	I	0,020	0,039	< 0,010
	E	0,013	0,023	< 0,010
Tramadol	I	0,042	0,068	< 0,005
	E	0,038	0,076	< 0,005

A la entrada de la planta las concentraciones más elevadas se registran para el acetaminofén ($1,567 \mu\text{g/L}$) y el ibuprofeno ($0,761 \mu\text{g/L}$). Mientras que a la salida de planta los valores más altos se registran para el tramadol ($0,038 \mu\text{g/L}$) y la atorvastatina ($0,032 \mu\text{g/L}$). En el caso del ácido salicílico las concentraciones están por debajo del límite de cuantificación ($0,040 \mu\text{g/L}$). Es importante destacar que el tratamiento de la planta es efectivo para la eliminación de ibuprofeno y acetaminofén, aún siendo éstos los compuestos con más concentración a la entrada de la planta.

1.5.2. Análisis del mes de enero de 2015

Las concentraciones de los fármacos detectados durante el mes de enero de 2015 se recogen en la Tabla 59.

Tabla 59. Valores medios, máximos y mínimos ($\mu\text{g/L}$). Influyente (I) y Efluente (E). Enero 2015.

COMPUESTO		Promedio	Máximo	Mínimo
Acido salicílico	I	0,223	0,957	< 0,040
	E	< 0,040	< 0,040	< 0,040
Ibuprofeno	I	0,899	1,621	0,285
	E	< 0,040	< 0,040	< 0,040
Acetaminofén	I	4,403	5,993	1,338
	E	< 0,005	0,011	< 0,005
Lorazepam	I	0,011	0,018	< 0,005
	E	0,014	0,027	< 0,005
Atorvastatina	I	0,081	0,125	0,021
	E	0,048	0,088	0,010
Omeprazol	I	0,017	0,051	< 0,010
	E	0,016	0,033	< 0,010
Tramadol	I	0,058	0,090	0,02
	E	0,039	0,111	< 0,005

A la entrada de la planta las concentraciones más elevadas se mantienen para el acetaminofén ($4,403 \mu\text{g/L}$) y el ibuprofeno ($0,899 \mu\text{g/L}$). Destacar el incremento de la concentración del acetaminofén con respecto al mes de diciembre ($1,567 \mu\text{g/L}$). En el mes de enero si se observa ácido salicílico a la entrada de la planta.

A la salida de planta los valores más altos se siguen registrando para el tramadol ($0,039 \mu\text{g/L}$) y la atorvastatina ($0,048 \mu\text{g/L}$).

Es importante destacar que, al igual que en el mes de diciembre, el tratamiento de la planta es efectivo para la eliminación de ibuprofeno y acetaminofén, aún siendo éstos los compuestos con más concentración a la entrada de la planta.

1.5.3. Análisis del mes de febrero de 2015

Las concentraciones de los fármacos detectados durante el mes de febrero de 2015 se encuentran recogidas en la Tabla 60.

Tabla 60. Valores medios, máximos y mínimos ($\mu\text{g/L}$). Influyente (I) y Efluente (E). Febrero 2015.

COMPUESTO		Promedio	Máximo	Mínimo
Acido salicílico	I	0,042	0,257	< 0,040
	E	< 0,040	< 0,040	< 0,040
Ibuprofeno	I	0,188	0,340	0,073
	E	< 0,040	< 0,040	< 0,040
Acetaminofén	I	1,353	2,383	0,392
	E	< 0,005	< 0,005	< 0,005
Lorazepam	I	< 0,005	< 0,005	< 0,005
	E	< 0,005	0,011	< 0,005
Atorvastatina	I	0,021	0,049	0,007
	E	0,014	0,031	0,007
Omeprazol	I	< 0,010	0,014	< 0,010
	E	< 0,010	< 0,010	< 0,010
Tramadol	I	0,008	0,011	< 0,005
	E	0,021	0,039	0,009

A la entrada de la planta las concentraciones más elevadas son para el acetaminofén ($1,353 \mu\text{g/L}$) y el ibuprofeno ($0,188 \mu\text{g/L}$). Si bien la concentración del acetaminofén ha bajado con respecto al mes de enero ($4,403 \mu\text{g/L}$). En este mes también se observa ácido salicílico a la entrada de la planta, al igual que en el mes de enero.

Los valores más altos a la salida de planta son los del tramadol ($0,021 \mu\text{g/L}$) y la atorvastatina ($0,014 \mu\text{g/L}$).

Como en los casos anteriores, el tratamiento de la planta es efectivo para la eliminación de ibuprofeno y acetaminofén.

Se puede observar como las concentraciones de los fármacos en el mes de febrero a la entrada de la planta han disminuido con respecto a los

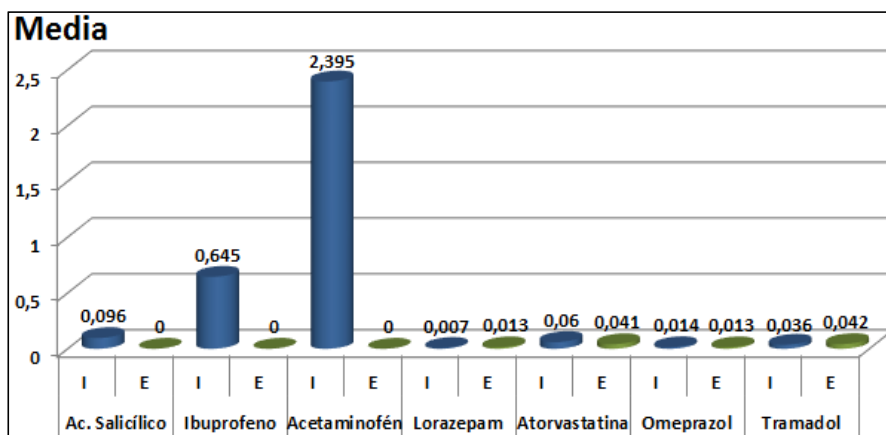
Ensayos Analíticos

meses anteriores, por lo que al igual que pasaba con las otras variables analizadas, se puede pensar en el efecto de dilución acumulativo como consecuencia de las lluvias caídas en el periodo de estudio.

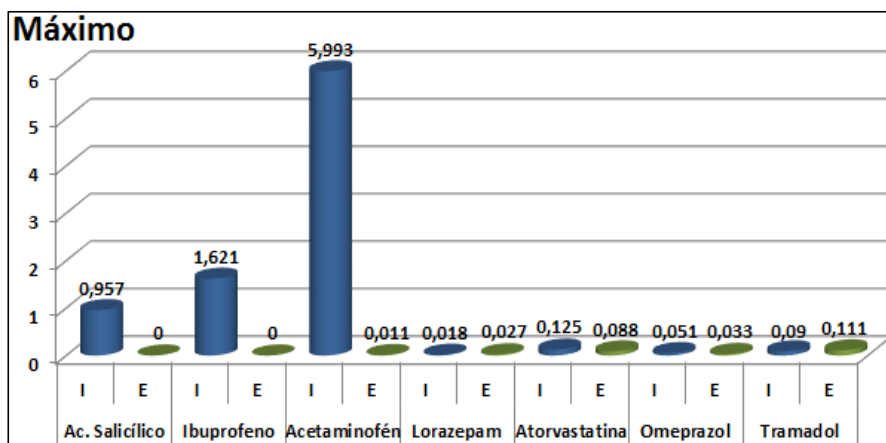
1.5.4. Estudio comparativo de los periodos de recogida de datos

1.5.4.1. Relativo a las concentraciones

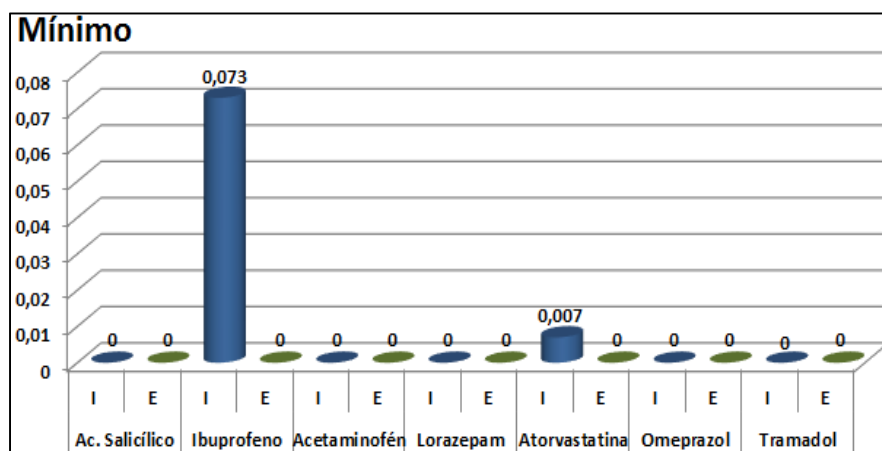
En las Gráficas 37-39 se recogen las concentraciones medias, máximas y mínimas de los fármacos en los tres meses de estudio.



Gráfica 37. Concentración media (µg/L) de los fármacos en el periodo de estudio.



Gráfica 38. Concentración máxima (µg/L) de los fármacos en el periodo de estudio.



Gráfica 39. Concentración mínima ($\mu\text{g/L}$) de los fármacos en el periodo de estudio.

Los compuestos con valores promedios más altos a la entrada de la planta corresponden al acetaminofén ($2,395 \mu\text{g/L}$) e ibuprofeno ($0,645 \mu\text{g/L}$), y los de salida al tramadol ($0,042 \mu\text{g/L}$) y la atorvastatina ($0,041 \mu\text{g/L}$).

Se han comparado los resultados obtenidos con otros datos de la bibliografía,¹⁹ en concreto con los datos de un estudio realizado en Asturias con muestras de un hospital y con plantas de tratamiento de aguas residuales con un tratamiento de fangos activos. Sólo se dispone de datos del acetaminofén y del ibuprofeno, ya que el resto de fármacos no fueron estudiados. En el caso del ibuprofeno, se observa que los datos de entrada son mucho más bajos que los registrados en dicho estudio e incluso que los valores de otras referencias. En cambio, con respecto al acetaminofén, lo que se observa es que nuestros resultados van en línea con los de la bibliografía. No es fácil sacar conclusiones, ya que la

¹⁹ M. Fernández, M. Fernández, A. Laca, A. Laca, M. Díaz. *J. Environ. Chem. Eng.* **2014**, 2, 495–502.

presencia y eliminación de los fármacos depende de muchos factores, entre ellos, de la red de colectores desde el foco de origen hasta la planta de tratamiento de aguas residuales, condiciones operacionales de la planta, condiciones climáticas, etc...

1.5.4.2. Relativo a la estacionalidad

En el estudio también se analizó la estacionalidad en la recogida de muestras, de manera que se comprobase si durante el fin de semana se observaba un incremento en el consumo de fármacos.

En la Tabla 61 se analizan los datos del influente (I) y efluente (E) teniendo en cuenta si las muestras se recogen en días de diario o de fin de semana.

Tabla 61. Valores medios, máximos y mínimos. Semana y Fin de Semana.

COMPUESTO		Promedio	Máximo	Mínimo
Acido salicílico				
Semana	I	0,1705	0,957	< 0,040
	E	< 0,040	0,021	< 0,040
Fin de Semana	I	0,022	0,257	< 0,040
	E	< 0,040	< 0,040	< 0,040
Ibuprofeno				
Semana	I	0,761	1,621	0,073
	E	< 0,040	< 0,040	< 0,040
Fin de Semana	I	0,550	1,481	0,081
	E	< 0,040	< 0,040	< 0,040
Acetaminofén				
Semana	I	1,567	5,993	0,176
	E	< 0,005	0,007	< 0,005
Fin de Semana	I	2,122	5,897	0,945
	E	< 0,005	0,011	< 0,005

Tabla 61. (Continuación).

COMPUESTO		Promedio	Máximo	Mínimo
Lorazepam				
Semana	I	0,009	0,013	< 0,005
	E	0,011	0,018	< 0,005
Fin de Semana	I	0,007	0,018	< 0,005
	E	0,011	0,027	< 0,005
Atorvastatina				
Semana	I	0,075	0,106	0,007
	E	0,030	0,065	< 0,005
Fin de Semana	I	0,056	0,125	0,011
	E	0,035	0,088	0,007
Omeprazol				
Semana	I	0,020	0,022	< 0,010
	E	0,013	0,023	< 0,010
Fin de Semana	I	0,018	0,051	< 0,010
	E	0,011	0,033	< 0,010
Tramadol				
Semana	I	0,042	0,064	< 0,005
	E	0,033	0,076	< 0,005
Fin de Semana	I	0,038	0,075	< 0,005
	E	0,034	0,111	< 0,005

Analizando los datos no se aprecian diferencias significativas, entre las muestras semanales y las muestras del fin de semana.

1.5.4.3. Relativo a la reducción debido al tratamiento

Si consideramos las concentraciones medias durante el periodo de estudio y calculamos los porcentajes de reducción como consecuencia del tratamiento que experimentan las aguas residuales en la planta de Baiña, observamos que existen compuestos con una reducción escasa y otros con una eliminación total (Tabla 62).

Tabla 62. Rendimiento de eliminación en la planta de Baiña, valores promedio de los tres meses de estudio.

COMPUESTO	INFLUENTE	EFLUENTE	REDUCCIÓN (%)
Acido salicílico	0,096	0,000	100
Ibuprofeno	0,645	0,000	100
Acetaminofén	2,395	0,001	100
Atorvastatina	0,060	0,041	31
Omeprazol	0,014	0,013	9

En la Tabla 63 se recogen los rendimientos de eliminación de los compuestos agrupados por familias.

- **Antiulcerosos:** Omeprazol.
- **Analgésicos:** Acetaminofén.
- **Antiinflamatorios:** Acido salicílico e ibuprofeno.
- **Hipolipemiantes:** Atorvastatina.

Tabla 63. Rendimientos de eliminación en la planta de Baiña.

FAMILIA	INFLUENTE	EFLUENTE	REDUCCIÓN (%)
Antiulcerosos	0,014	0,013	9
Analgésicos	2,431	0,043	98
Antiinflamatorios	0,741	0,000	100
Hipolipemiantes	0,060	0,041	31

Se observa que el tratamiento existente en la planta es capaz de reducir el 100% de los antiinflamatorios y el 98% de los analgésicos. Si

bien no es tan efectivo a la hora de eliminar los hipolipemiantes y, en menor medida, los antiulcerosos. En el caso de los compuestos eliminados se puede suponer que ocurre un proceso de adsorción de los compuestos en los flóculos de los fangos activos o bien que es debido a procesos de degradación de los mismos. Se debe tener presente que estos compuestos pueden desaparecer de la matriz agua pero estar presentes en la matriz biosólidos.

2. Conclusiones

Los datos se han obtenido en un periodo de tiempo suficiente como para tener la dispersión necesaria y coherente a la técnica analítica instrumental de ensayo.

Después de la evaluación de la validación se considera que el ensayo es apto para su uso previsto.

- El haber utilizado un analizador como el orbitrap, frente al triple cuadrupolo, nos ha permitido:
 - Mayor resolución de masas, lo que significa mayor especificidad. Es difícil tener interferencias en el orbitrap, mientras que en el triple cuadrupolo es posible.
 - Gracias a la alta resolución del orbitrap se puede trabajar en modo *Full Scan* (no MS/MS) y en el triple cuadrupolo no; consecuentemente, se puede volver sobre los cromatogramas y buscar otros compuestos que, a priori, no se habían buscado. Esto nos permite dejar abierto el estudio para futuras investigaciones.
 - El orbitrap, trabajando en modo MS/MS (PRM), siempre funciona en modo FS de iones producto y se puede hacer la comparación espectral con bibliotecas de espectros de alta resolución, mucho mejor que comparar las áreas de las transiciones, que es como se cualifica espectralmente en el equipo de triple cuadrupolo (este tipo de cualificación falla con razonable facilidad en los límites bajos).
- La caracterización de las aguas residuales de la planta de Baña muestra la presencia de los fármacos seleccionados en el estudio tanto a la entrada de planta como en el vertido de la misma. En los vertidos se detectan antiulcerosos (omeprazol) e hipolipemiantes (atorvastatina). El tratamiento que se lleva a cabo en la planta ha sido capaz de eliminar completamente los antiinflamatorios (ibuprofeno y

ácido salicílico) y en un 98% los analgésicos (acetaminofén). Dentro de las plantas de tratamiento de aguas residuales los fármacos pueden degradarse y mineralizarse rápidamente, o bien permanecer inalterables. Pueden permanecer disueltos en la fase acuosa o pueden adsorberse en los fangos.

- No se han observado correlaciones entre los rendimientos de eliminación de los fármacos con las variables operacionales de la planta, ya que los cambios en las variables de proceso, más allá del efecto de dilución como consecuencia de las lluvias, no han sido significativos.
- En relación con el funcionamiento de la planta de Baiña, en los análisis realizados se han podido contrastar rendimientos en los parámetros básicos (DBO₅ y sólidos en suspensión) superiores al 90%, con lo que no puede haber afectado al estudio objeto de esta investigación una situación de inestabilidad en la planta. La planta durante el periodo de estudio ha operado de manera satisfactoria. Dicha conclusión fue corroborada por los análisis microbiológicos que se realizaron en el periodo de estudio.
- El estudio realizado muestra la necesidad de seguir investigando la presencia de los fármacos en las plantas de tratamiento de aguas residuales y extenderlo al resto de contaminantes emergentes. Es necesario la mejora de los métodos de análisis de detección a un precio razonable. Hay que seguir investigando en los impactos que los fármacos tienen sobre el medio ambiente y los ecosistemas.
- No se debería tener que actuar en las plantas de tratamiento de aguas residuales sino en los focos de emisión.
- Se debe concienciar a la sociedad a la hora de la eliminación de los fármacos y a la administración de estudiar la eliminación de los vertidos de fármacos en los focos emisores con la implantación de las

tecnologías adecuadas. Estos compuestos no están sujetos a evaluación ambiental antes de ser puestos en el mercado y se desconoce su impacto sobre el medio ambiente.

- La Directiva 2013/39/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 12 de agosto de 2013, establece que, antes de septiembre del 2017, se debe de tener una disposición específica para los fármacos, con medidas a escala de la Unión y/o de los Estados miembros, según corresponda, para tratar las posibles consecuencias medioambientales de las sustancias farmacéuticas, y reducir sus descargas, emisiones y pérdidas en el medio acuático.

3. Parte experimental

3.1. Equipos utilizados

Trabajamos con un equipo LC-Q-Exactive, formado por un equipo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), marca Thermo Dionex modelo Ultimate 3000, donde se realiza la separación cromatográfica, y su posterior detección con el equipo de espectrometría de masas de alta resolución (HRMS) de la marca Thermo modelo Q Exactive.

El equipo de HPLC está compuesto por los siguientes módulos: desgasificador en línea, sistema de bombeo binario de doble cabezal, muestreador automático y horno de columnas. El equipo que utilizamos para la espectrometría de masas está formado por la fuente electrospray (ESI), un analizador compuesto por un cuadrupolo (Q1), una trampa (C-Trap), una celda de colisión y un orbitrap.

3.2. Preparación de los patrones

Los patrones internos utilizados son el lorazepam deuterado y el acetaminofén deuterado. Los dos patrones son en positivo, no hemos usado patrón en negativo.

Se prepara un patrón con los dos compuestos deuterados de concentración 5 mg/L. La caducidad de este patrón es de 1 mes y se conserva en el congelador (< -20°C).

En cada tanda de trabajo se prepara previamente un patrón de 50 µg/L; para ello, se cogen 10 µL del patrón de 5 mg/L y se le añaden 990 µL de acetonitrilo de calidad LC-MS. La caducidad de este patrón es de una semana y se conserva en congelación.

Se añade en todos los niveles y en todas las muestras (muestra de agua de Baño, entrada y salida de la planta), la misma cantidad de patrón

interno. Consideramos una concentración de 1 µg/L, que se añade en los viales de 2 mL.

3.3. Condiciones de aceptación/rechazo de las muestras

Las condiciones de aceptación y rechazo de las muestras son:

- La muestra tiene que venir congelada.
- El espacio en cabeza de la muestra tiene que ser mínimo.
- El volumen mínimo de la muestra que se necesita para la realización del ensayo es 50 mL.

3.4. Preparación de muestras

Se agita la muestra hasta garantizar su homogeneidad, se toma una alícuota de aproximadamente 1,5 mL y se introduce en un tubo eppendorf, que se centrifuga a 16.873 x g. Una vez centrifugada la muestra, se coge con una micropipeta una alícuota de 980 µL y se le añaden 20 µL de patrón interno.

Se introducen en el muestreador automático, que está refrigerado a 6 °C, hasta su inyección.

3.5. Condiciones cromatográficas

Las condiciones de trabajo fueron las siguientes:

Tabla 64. Condiciones cromatográficas.

Temperatura	40 °C	Eluyente A	0,1% HCO ₂ H/H ₂ O
Flujo	0,5 mL/min	Eluyente B	Acetonitrilo
Volumen inyección	20 µL	Gradiente eluyentes	5-100% B/A

Se utilizó una columna cromatográfica ACE Excel 2 C18-PFP, de dimensiones 100 x 2.1 mm id.

FASE IV.
Procesos de oxidación avanzada

IV.A. Objetivos

El objetivo de este capítulo es realizar un estudio de viabilidad del empleo de procesos de oxidación avanzada para la eliminación de fármacos en el influente de la EDAR de Baiña y el desarrollo de sistemas de tratamiento de agua mediante los mismos.

En la cuantificación de los fármacos que se encuentran en el influente de la planta de tratamiento de aguas residuales, se observa que los fármacos con mayor concentración son el ibuprofeno y el acetaminofén. El trabajo se centrará en determinar el método de oxidación avanzado más efectivo para reducir la presencia de estos fármacos en el influente de la planta.

Se emplearán dos tipos de procesos avanzados de oxidación para la eliminación de los contaminantes emergentes:

- *Estudio de la fotocatalisis heterogénea, mediante el uso de nanopartículas de TiO_2 dispersas en la disolución.*
- *Oxidación avanzada del agua mediante el proceso foto-Fenton homogéneo basado en la adición de H_2O_2 y una sal de hierro a pH ácido.*

El procedimiento de trabajo consistirá en optimizar estos procesos a escala pequeña (100 mL de muestra) y comprobar su eficiencia para esta aplicación, para posteriormente ensayar las condiciones óptimas en un volumen de muestra de 5 L.

IV.B. Procesos de oxidación avanzada

Los procesos de oxidación avanzada (POA) pueden definirse como procesos que implican la formación de radicales hidroxilo ($\text{HO}\bullet$) altamente reactivos, ya que presentan un elevado potencial de oxidación ($E^\circ = 2.8 \text{ V}$). Esta característica hace que sean de gran efectividad para el proceso de oxidación de compuestos orgánicos, principalmente, por abstracción de hidrógeno.²⁰

Las ventajas de los POA son:²¹

- Capacidad potencial para llevar a cabo una profunda mineralización de los contaminantes orgánicos y oxidación de los compuestos inorgánicos hasta dióxido de carbono e iones (cloruros, nitratos).
- Reactividad con la mayoría de compuestos orgánicos, hecho principalmente interesante si se quiere evitar la presencia de subproductos potencialmente tóxicos presentes en los contaminantes originales que pueden crearse mediante otros métodos.

²⁰ G. Liu, X. Li, J. Zhao, H. Hidaka, N. Serpone. Photooxidation pathway of sulforhodamine-B. Dependence on the adsorption mode on TiO_2 exposed to visible light radiation. *Environ. Sci. Technol.* **2000**, *34*, 3982-3990.

²¹ C. Berberidou, V. Kitsiou, D. A. Lambropoulou, A. Antoniadis, E. Ntonou, G. C. Zalidis, I. Poullos. *J. Environ. Manage.* **2016**, 1-7.

Procesos de oxidación avanzada

- Descomposición de los reactivos utilizados como oxidantes en productos inocuos.

En la Tabla 65²² se presenta una clasificación de los POAs en dos grandes bloques: los procesos fotoquímicos, que emplean la radiación para generar los radicales hidroxilo; y los POAs no fotoquímicos, donde los radicales hidroxilo se generan a través de la transformación de especies químicas o mediante la utilización de otras fuentes de energía distintas de la luz.

Tabla 65. Clasificación de los procesos de oxidación avanzada.

No Fotoquímicos	Fotoquímicos
Ozonización en medio alcalino [O ₃ /HO•]	Fotólisis con radiación ultravioleta [UV]
Ozonización con peróxido de hidrógeno [O ₃ /H ₂ O ₂]	Peróxido de hidrógeno con radiación ultravioleta [H ₂ O ₂ /UV]
Ozonización catalítica [O ₃ /catalizador]	Ozono y radiación ultravioleta [O ₃ /UV]
Oxidación electroquímica / electrocatalítica	Foto-Fenton y relacionados [Fe ²⁺ /H ₂ O ₂ /UV] ó [Catalizador/H ₂ O ₂ /UV]
Radiólisis y tratamiento con haces de electrones	Fotocatálisis heterogénea [Catalizador/O ₂ /UV]
Ultrasonidos	

²² J. Carbajo. Aplicación de la fotocatalisis solar a la degradación de contaminantes orgánicos en fase acuosa con catalizadores nanoestructurados de TiO₂. Universidad Autónoma de Madrid, **2013**. Tesis Doctoral.

Los POAs utilizados en este proyecto para la eliminación de fármacos son: la fotocatalisis heterogenea, el foto-Fenton o bien la combinación de ambos.

1. Fotocatálisis heterogénea

A pesar de que han sido descritos varios semiconductores (ZnO, ZrO₂, SnO₂, CdS, WO₃...) en la degradación fotocatalítica de compuestos orgánicos, ha sido el dióxido de titanio (TiO₂) el semiconductor que ha recibido mayor interés para su aplicación en fotocatalisis heterogénea. En este sentido, el TiO₂ presenta, entre otras ventajas deseables, un coste moderado o bajo, debido a que el titanio es un elemento abundante en la corteza terrestre (0,44% de la corteza terrestre). Además, posee una actividad fotocatalítica relativamente alta, estabilidad frente a la foto-corrosión (estabilidad fotoquímica), es inerte químicamente y su toxicidad es baja. Por otro lado, posee el inconveniente de que la anchura de banda prohibida corresponde a la región del espectro electromagnético del ultravioleta cercano, de manera que absorbe sólo una pequeña parte del espectro solar. Aunque otros semiconductores, como el CdS, son activos en la región visible del espectro solar, carecen sin embargo de la suficiente resistencia mecánica para una posible aplicación real, dado que sufren foto-corrosión en ciclos consecutivos.

El proceso fotocatalítico heterogéneo está basado en la excitación de un sólido-catalítico, normalmente un semiconductor de banda ancha como el TiO₂, mediante la absorción de luz de distintas longitudes de onda.

En la Figura 27 se representa el diagrama de energía de la banda de valencia (BV) y de la banda de conducción (BC) durante el proceso de excitación de un semiconductor bajo irradiación UV. Asimismo, se puede observar el mecanismo global del proceso fotocatalítico heterogéneo que

tiene lugar en una partícula de TiO_2 suspendida en una fase acuosa con un contaminante orgánico, empleando oxígeno como agente oxidante.

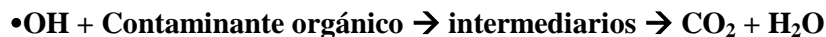
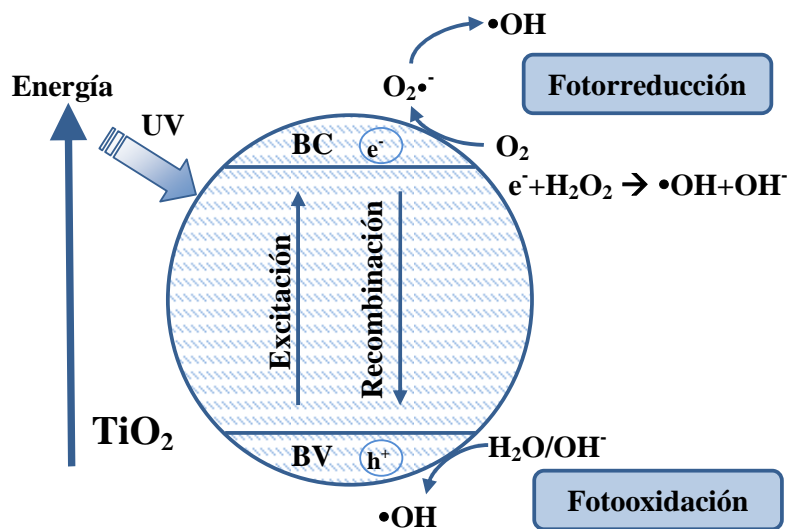


Figura 27. Esquema proceso fotocatalítico.²³

El proceso fotocatalítico tiene lugar a partir de la irradiación del TiO_2 con luz UV de una energía suficiente como para igualar o superar la banda prohibida del semiconductor produciendo la excitación de un electrón de la banda de valencia (BV) a la banda de conducción (BC). De este modo, se crean pares electrón-hueco (e^-/h^+) (Ecuación 1, Tabla 66),²⁴ que pueden migrar a la superficie del catalizador, quedando atrapados en sitios superficiales (Ecuaciones 2 y 3, Tabla 66)²⁴ y reaccionando con las especies adsorbidas (Ecuaciones 4 y 5, Tabla 66).²⁴ Los huecos (estados

²³ S. Ahmed, M. G. Rasul, R. Brown, M. A. Hashib. *J. Environ. Manage.* **2011**, 92, 311-330.

²⁴ S. Malato, P. Fernández-Ibáñez, M.I. Maldonado, J. Blanco, W. Gernjak. *Catalysis Today* **2009**, 147, 1-59.

vacíos) que se forman en la banda de valencia del sólido, reaccionan con especies dadoras de electrones, como moléculas de agua o iones hidroxilos unidos a la superficie del catalizador, generando los radicales hidroxilo, principales responsables de la degradación de la materia orgánica. A su vez, los electrones que llegan a la banda de conducción, pueden reaccionar con una especie aceptora como el O₂, dando lugar a radicales superóxido (O₂^{-•}) y peróxido de hidrógeno, que participan adicionalmente en la oxidación de la materia orgánica, por formación de radicales hidroxilo. No obstante, en competencia con los procesos de transferencia de carga, tienen lugar los procesos de recombinación (Ecuaciones 6 y 7, Tabla 66),²⁴ en los que el par electrón-hueco se recombina antes de reaccionar con las especies adsorbidas en la superficie catalítica. Por tanto, la eficiencia final de la reacción fotocatalítica depende de muy diversos factores que determinan en definitiva el grado de oxidación total de la materia orgánica.

La probabilidad de la recombinación del par electrón-hueco en el seno o en la superficie del semiconductor resulta un proceso crítico, debido a que no hay una separación física entre los sitios de las reacciones anódicas (oxidación por huecos) y catódicas (reducción por electrones).

Tabla 66. Ecuaciones proceso fotocatalítico.²⁴

Nº de ecuación	Ecuación
1	$\text{TiO}_2 + h\nu \rightarrow e^-_{\text{BC}} + h^+_{\text{BV}}$
2	$h^+_{\text{BV}} + (\text{Ti}^{\text{IV}}\text{OH}) \rightarrow [\text{Ti}^{\text{IV}}\text{OH}\bullet]^+$
3	$e^-_{\text{BC}} + (\text{Ti}^{\text{IV}}\text{OH}) \rightarrow [\text{Ti}^{\text{III}}\text{OH}\bullet]$
4	$[\text{Ti}^{\text{IV}}\text{OH}\bullet]^+ + \text{Red} \rightarrow \text{Ti}^{\text{IV}}\text{OH} + \text{Red}\bullet^+$
5	$e^-_{\text{BC}} + \text{Ox} \rightarrow \text{Ti}^{\text{IV}}\text{OH} + \text{Ox}\bullet^-$
6	$e^-_{\text{BC}} + [\text{Ti}^{\text{IV}}\text{OH}\bullet]^+ \rightarrow \text{Ti}^{\text{IV}}\text{OH}$
7	$h^+_{\text{BV}} + [\text{Ti}^{\text{III}}\text{OH}] \rightarrow \text{Ti}^{\text{IV}}\text{OH}$

La distancia de penetración de los fotones dentro de la partícula de TiO_2 es más corta cuanto menor es la longitud de onda, ya que son absorbidos por las moléculas del semiconductor con más fuerza. Debido a esto, el empleo de longitudes de onda más cortas, ultravioleta de onda corta (UV-C, 210-230 nm), generan los pares electrón-hueco más cerca de la superficie, siendo menor el tiempo empleado para la migración de estos pares electrón-hueco hasta la superficie de la partícula y, por tanto, menor la posibilidad de que ocurra la recombinación de los mismos antes de que se produzcan en la superficie de la partícula las reacciones con las especies químicas presentes en el agua. En conclusión, el aprovechamiento de la energía absorbida es mayor cuanto menor es la longitud de onda empleada.

2. Foto-Fenton homogéneo

El proceso Fenton es una alternativa especialmente relevante en el tratamiento de aguas residuales. Son procesos químicos basados, principalmente, en la generación de radicales hidroxilo que transforman los contaminantes orgánicos en compuestos inocuos, tales como el dióxido de carbono y agua, mediante un proceso de oxidación. Este tipo de procesos son recomendables en aguas residuales resistentes a la biodegradación, por lo que su utilización podría contribuir en la solución de los problemas derivados de vertidos provenientes del sector industrial. Otra de las ventajas de este tipo de procesos es que cumple las pautas establecidas por los principios de la Química Verde, es decir, procesos de bajo impacto ambiental, que consigan una disminución de la utilización de energía y fomenten la utilización de catalizadores.

Existen dos tipos de procesos: Fenton y foto-Fenton. Las reacciones que se dan se muestran a continuación.²⁵



Como puede observarse, el proceso supone la adición de una sal de Fe(II) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al agua a tratar. Este tratamiento requiere de un pH ácido para que el Fe(II) añadido se mantenga en disolución y no se oxide a Fe(III). Los radicales hidroxilo generados durante la reacción son altamente oxidativos y no-selectivos, por lo que son capaces de descomponer una gran variedad de compuestos orgánicos. Cuando el tratamiento se realiza en la oscuridad se denomina proceso Fenton y cuando se realiza en presencia de luz se denomina foto-Fenton.

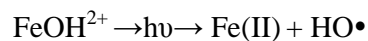
El ión férrico que se forma puede reducirse por reacción con el peróxido y formar de nuevo el ión ferroso y radicales perhidroxilo (HO₂•). El mecanismo global resulta de carácter catalítico. Para ello, es necesario que el peróxido se encuentre en exceso respecto a la cantidad de hierro añadida.²⁵



Quando la reacción se realiza en presencia de una fuente de luz, aumenta la velocidad de degradación de los contaminantes, ya que se genera una dosis extra de radicales hidroxilo. El esquema de la reacción se muestra a continuación, y en este caso, el reciclaje de Fe(III) es posible a través de un proceso fotorreductor que requiere radiaciones de hasta 410 nm. Por tanto, ofrece la posibilidad de trabajar bajo luz solar en un proceso más económico y ambientalmente sostenible.²⁵

²⁵ G. Centi, S. Perathoner, T. Torre, M. G. Verduna. *Catalysis Today* **2000**, 55, 61-69.

Procesos de oxidación avanzada



El reactivo de Fenton es considerado químicamente benigno, ya que una vez finalizado el tratamiento se lleva a cabo la eliminación del hierro, mediante precipitación, volviendo a incrementar el pH del medio. Por otro lado, el H_2O_2 que queda en la reacción se descompone a O_2 y H_2O , dejando el efluente final libre de residuos.

El proceso Fenton descrito se desarrolla en fase homogénea, ya que los reactivos utilizados en el proceso (sal de hierro y agua oxigenada) se añaden directamente al agua a depurar sin la utilización de ningún soporte.

IV.C. Resultados y discusión

1. Sensibilidad del método

Las analíticas realizadas en el influente de la planta de Baiña determinan que los fármacos con más presencia en la misma son el ibuprofeno y el acetaminofén. Nuestro proyecto se ha centrado en estudiar el comportamiento del ibuprofeno al someterlo a procesos de degradación. No se ha estudiado el acetaminofén, ya que la muestra no se disuelve, por lo que no podemos hacer las medidas de absorbancia. Los análisis se han realizado en las instalaciones de Tekniker, en Eibar, donde se dispone de la instrumentación necesaria para llevar a cabo el estudio.

Mediante espectrofotometría UV/Vis (Perkin Elmer Lambda 950) se va a monitorizar el contenido de ibuprofeno tras someter la muestra a tratamientos de fotocatalisis con nanopartículas de TiO₂ (Aeroxide P25) y tratamientos de oxidación avanzada mediante un proceso de foto-Fenton homogéneo. La espectrofotometría UV-Vis estudia las interacciones entre la muestra y la radiación en el rango UV, que es donde absorben la energía la mayoría de los contaminantes emergentes y, concretamente, el ibuprofeno (IB) da señal en una longitud de onda de ~220 nm. En este sentido, los espectros muestran la absorbancia de energía a lo largo de las longitudes de onda del rango UV.

Dada la inestabilidad de la muestra real y el bajo contenido en IB de la misma, previamente se va a proceder a optimizar el método de medida de espectrofotometría con una muestra ideal de agua ultrapura (UP) preparada con diferentes concentraciones de IB. De esta manera, la señal

de IB, que aparece a 222 nm de longitud de onda aproximadamente, no tendrá ningún otro contaminante emergente que pueda interferir en su banda. Asimismo, se estimará cual es la sensibilidad (concentración mínima en $\mu\text{g/L}$) del equipo durante los procesos de tratamiento de aguas en función del paso óptico de la celda que se use para contener la muestra dentro del equipo. Cuanto mayor es el paso óptico de la celda, mayor volumen de muestra se analiza y, por lo tanto, se pueden determinar menores concentraciones de IB, llegando hasta unidades de $\mu\text{g/L}$. Sin embargo, cuando el paso óptico es elevado, al analizar la muestra real, que tiene alto contenido en materia orgánica la señal se satura haciendo imposible la lectura de la medida. En la Tabla 67 se resumen las concentraciones máximas y mínimas de IB que se pueden medir en cada una de las celdas con agua ultrapura y con el influente de la planta de Baiña.

Tabla 67. Concentraciones límite de detección del espectrofotómetro en función del paso óptico.

Paso óptico celda	Agua ultrapura		Influente planta Baiña	
	[IB] _{max} (mg/L)	[IB] _{min} (mg/L)	[IB] _{max} (mg/L)	[IB] _{min} (mg/L)
100 mm	10	0,07	Satura	Satura
10 mm	100	0,1	100	0,5
0,5 mm	1000	1	1000	1

2. Tratamiento del agua mediante fotocátalisis heterogénea

Este proceso se basa en la generación de radicales hidroxilo en la superficie de un fotocatalizador, en nuestro caso el óxido de titanio cuando es irradiado con luz ultravioleta. Hemos considerado tres concentraciones distintas (10, 50 y 100 mg/L) de nanopartículas de TiO₂ comerciales (Aeroxide P25) para la eliminación del IB y tres pHs diferentes (3, 6 y 9). El proceso a nivel de laboratorio ha sido asistido por

dos lámparas UV que emiten a 365 nm, las cuales tienen una potencia de 6 W cada una. Se ha estudiado también la duración del proceso con un tiempo de exposición máximo de 24 h.

Los análisis se inician con muestras ideales de una concentración conocida del fármaco en agua UP, con el objetivo de estudiar el comportamiento del IB cuando es expuesto a una reacción de fotocátalisis con diferentes concentraciones de catalizador y, del mismo modo, determinar si mediante espectrofotometría se puede monitorizar dicha reacción y definir el alcance de la técnica. Posteriormente, este mismo ensayo se realizará con el influente de la planta de Baiña.

Los primeros ensayos de fotocátalisis se han realizado con una disolución de **20 mg/L** de IB. Se ha seleccionado esta concentración porque su banda de absorción es suficientemente significativa para poder analizar las muestras a medida que el IB se va eliminando y apreciar su contenido mediante espectrofotometría.

Como catalizador se han utilizado nanopartículas comerciales de TiO₂ (Aeroxide P25) en suspensión, las cuales han sido eliminadas mediante filtración (0,22 μm) previamente al análisis espectrofotométrico.

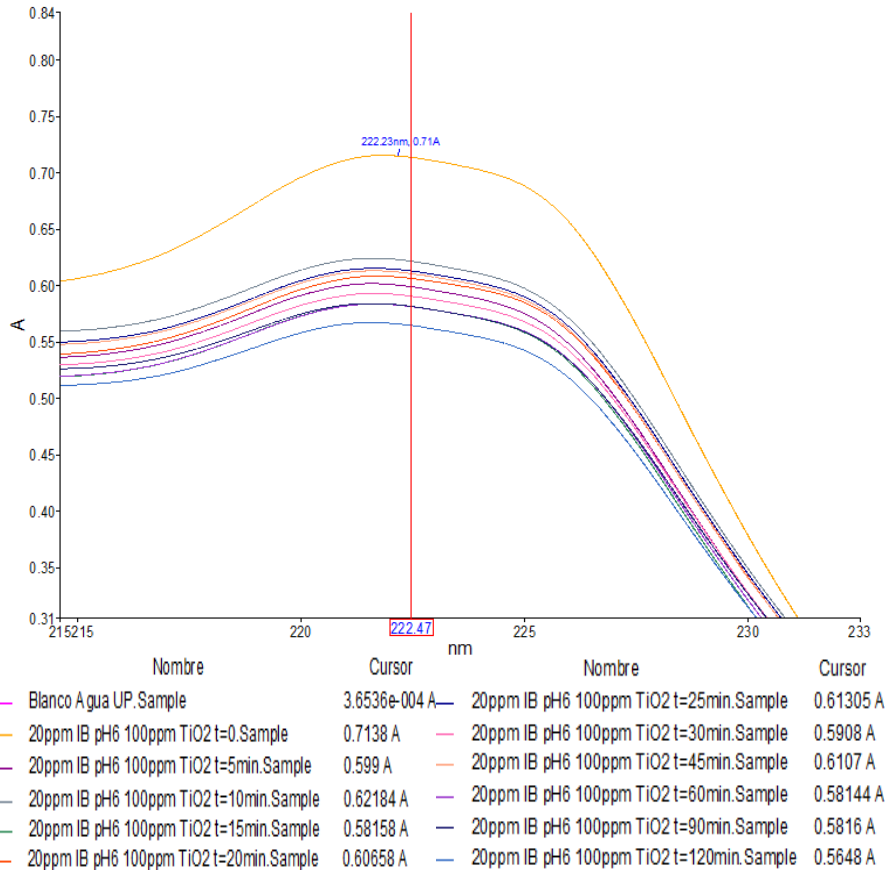
Las concentraciones de catalizador estudiadas han sido **10 , 50 y 100 mg/L**. En principio, cuanto mayor sea la concentración de TiO₂, mayor será la eficiencia fotocatalítica obtenida. Sin embargo, puede darse el caso de que la elevada concentración de fotocatalizador impida la correcta penetración de la radiación UV en la disolución, disminuyendo la eficiencia del proceso.

2.1. Estudio de adsorción del ibuprofeno en el catalizador

Previamente a la reacción de fotocátalisis, se ha realizado un estudio de adsorción del IB en el catalizador, puesto que el fármaco puede quedar adsorbido sobre el fotocatalizador al entrar en contacto con el TiO₂ antes

de que las lámparas UV se enciendan. Este ensayo se ha realizado para una disolución de **20 mg/L** de IB en contacto con **100 mg/L** de TiO₂ a pH 6. Como se aprecia en la Gráfica 40, tras los 5 min de contacto la absorbancia se estabiliza y prácticamente no cambia, ya que en el pico de absorción del IB (222 nm) la absorbancia varía un $\pm 0,2$.

De este ensayo se puede concluir, que pasados 5 min desde que el IB entra en contacto con el TiO₂ las lámparas pueden ser encendidas.



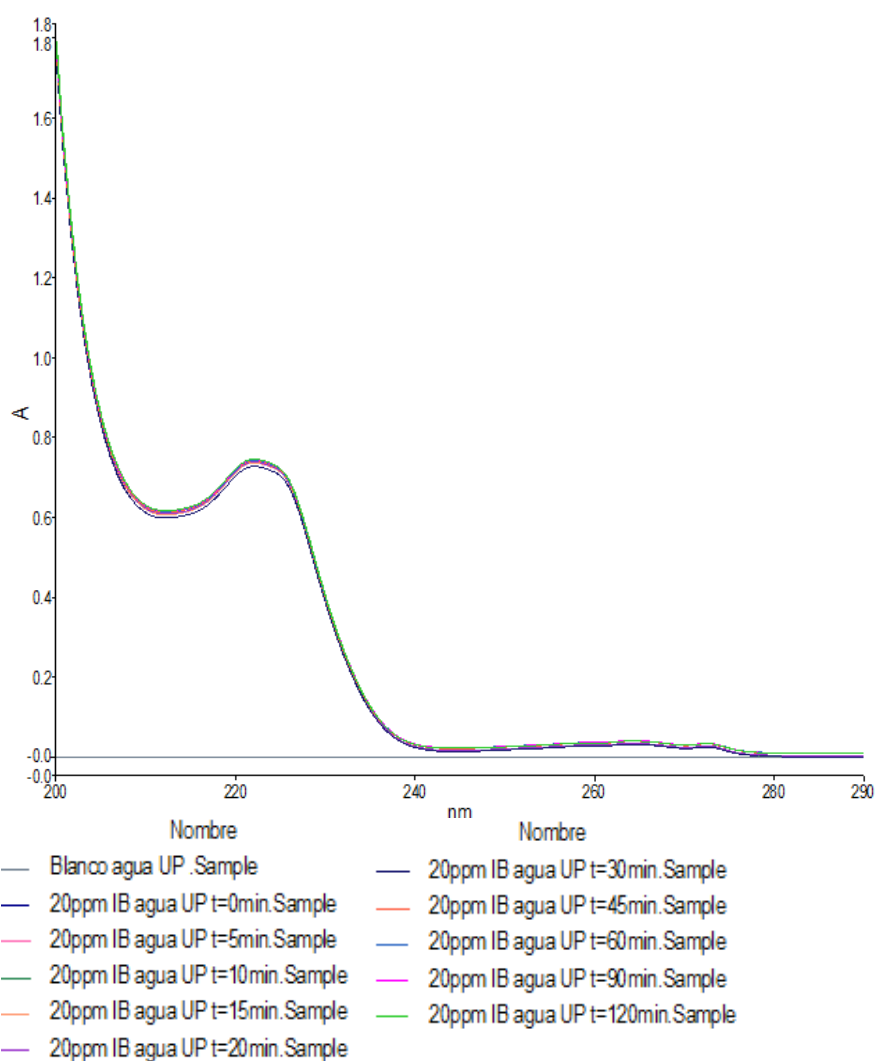
Gráfica 40. Monitorización de la adsorción del IB (20 mg/L) en el TiO₂ (100 mg/L) antes de ser irradiado con luz UV.

2.2. Estudio de la fotólisis del ibuprofeno

Otro ensayo previo a la fotocatalisis con TiO_2 es estudiar la fotólisis del IB, que consiste en someter a la propia disolución de 20 mg/L de IB a la radiación UV antes de añadir las nanopartículas de TiO_2 , puesto que la propia radiación puede ayudar en la descomposición de contaminantes.

Los métodos fotolíticos para la degradación de contaminantes disueltos en el agua se basan en proporcionar energía a los compuestos químicos en forma de radiación UV, que es absorbida por las distintas moléculas para alcanzar estados excitados en el tiempo necesario para experimentar reacciones. En presencia de radiación ultravioleta se produce la fotólisis de un gran número de compuestos orgánicos. El proceso tiene lugar en el dominio del ultravioleta de onda corta de 210-230 nm y se basa en la formación de radicales libres. La eficiencia del proceso depende principalmente de la capacidad de absorción de radiación y de la presencia de otros compuestos que absorben la misma longitud de onda.

El resultado de dicho ensayo se resume en la Gráfica 41, en la que se recogen los espectros de absorbancia de la muestra a diferentes tiempos de exposición UV. El espectro es exactamente igual, por lo que parece que el IB no se elimina sin la presencia de un fotocatalizador. También puede ocurrir que la longitud de onda máxima de las lámparas utilizadas (365 nm) no tenga suficiente energía para la ruptura de los enlaces de los compuestos orgánicos. En muchos casos, se utilizan lámparas de mercurio de baja presión (254 nm) que llevan asociadas una mayor energía.



Gráfica 41. Monitorización del IB (20 mg/L) durante el ensayo de fotólisis bajo radiación UV.

2.3. Degradación fotocatalítica del ibuprofeno en agua ultrapura

En primer lugar, se ha llevado a cabo el ensayo de fotocátalisis en una muestra de agua ultrapura dopada con una concentración de IB conocida y apreciable por espectrofotometría.

El ensayo de fotocátalisis ha consistido en preparar 100 mL de una disolución de 20 mg/L de ibuprofeno sódico en agua UP y añadir la cantidad de nanopartículas de TiO₂ necesaria para obtener 10, 50 y 100 mg/L de catalizador en la disolución. Las nanopartículas se mantienen en suspensión mediante agitación magnética. Tras 5 min de contacto entre ellas, que es el tiempo de adsorción que se ha definido previamente, se encienden las dos lámparas UV (6 W, 365 nm). El ensayo debe realizarse en la oscuridad para que no interfieran otras radiaciones, por lo que las lámparas y la disolución se mantienen dentro de una caja oscura.

Asimismo, se ha estudiado el comportamiento de la reacción al trabajar a diferentes pHs, concretamente a pH 3, 6 y 9. El pH se ha ajustado sobre el agua UP, previamente a la preparación de la disolución de IB, con HCl (37%) en el caso del pH ácido y con NaOH (50%) en el caso del pH básico.

Cada 5-10 min se extrae una muestra, que se filtra con un filtro de jeringa de 0,22 µm, previamente a la medida de absorbancia por espectrofotometría. El filtro no se reutiliza, puesto que se satura. La medida de absorbancia se realiza con la celda de 10 mm, que es la que permite observar la disminución de la concentración en el rango deseado.

Paralelamente se ha realizado un seguimiento de la concentración de carbono orgánico total (TOC) para verificar mediante otra técnica complementaria la eliminación completa del IB.

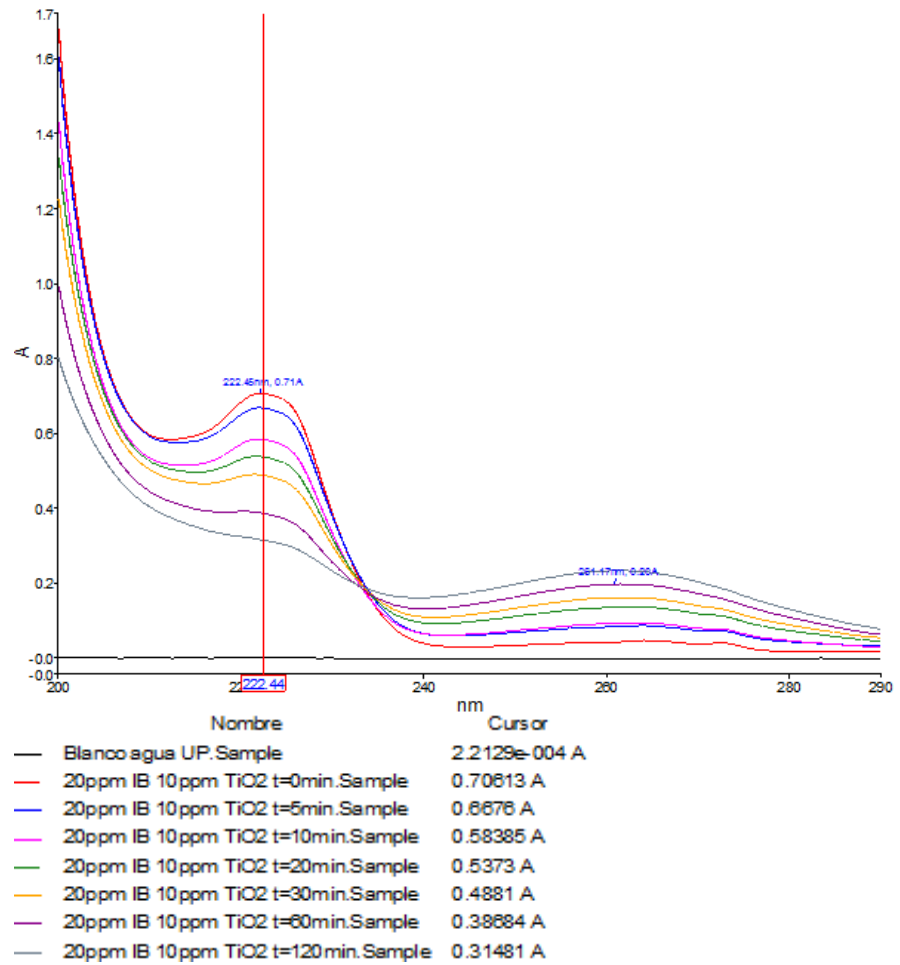
2.3.1. Influencia de la concentración del catalizador en la eliminación del ibuprofeno

En primer lugar, se ha trabajado a pH 6, que es el que tiene la disolución inicial, con diferentes concentraciones de TiO_2 (10, 50 y 100 mg/L). En la Gráfica 42, Gráfica 43 y Gráfica 44 se recogen los resultados del ensayo en lo que a espectros de absorbancia se refiere para 10, 50 y 100 mg/L de IB, respectivamente. Se observa claramente como la banda del IB, que aparece a 222 nm, va disminuyendo principalmente en los primeros minutos del ensayo. Sin embargo, a medida que la señal del IB disminuye comienza a aparecer otra a 260 nm que va aumentando con el tiempo. Esto indica que puedan estar formándose otros compuestos a medida que el IB desaparece.

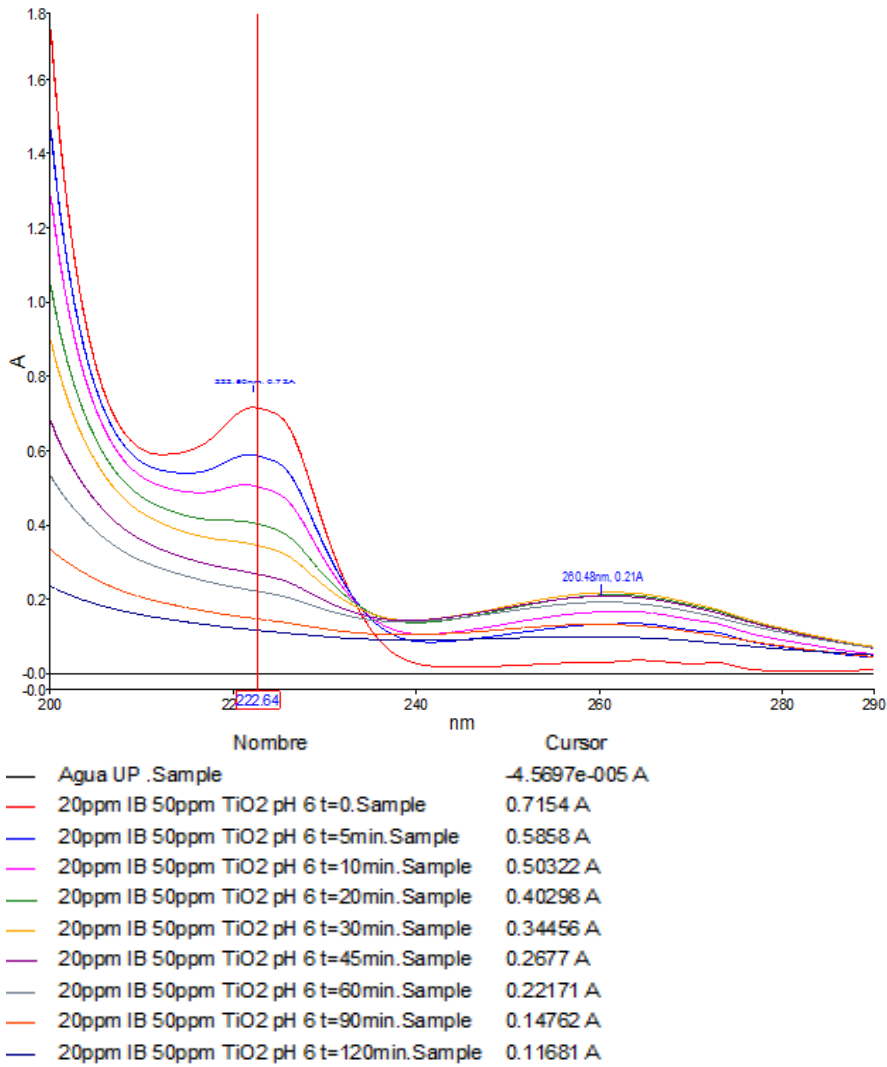
Para concentraciones de 100 mg/L de TiO_2 , a los 60 min de ensayo el pico de IB deja de apreciarse y a los 120 min el espectro es similar al del agua UP, lo que indica que el IB se ha eliminado completamente del agua. Asimismo, los compuestos que aparecen a 260 nm desaparecen a medida que pasa el tiempo llegando a ser inapreciables a los 120 min.

Sin embargo, para una concentración de catalizador de 10 mg/L, tras 120 min de ensayo el IB no termina de descomponerse, ya que el espectro no se asemeja al del agua como ocurría con el de 100 mg/L y, del mismo modo, la banda a 260 nm sigue en aumento tras finalizar el ensayo.

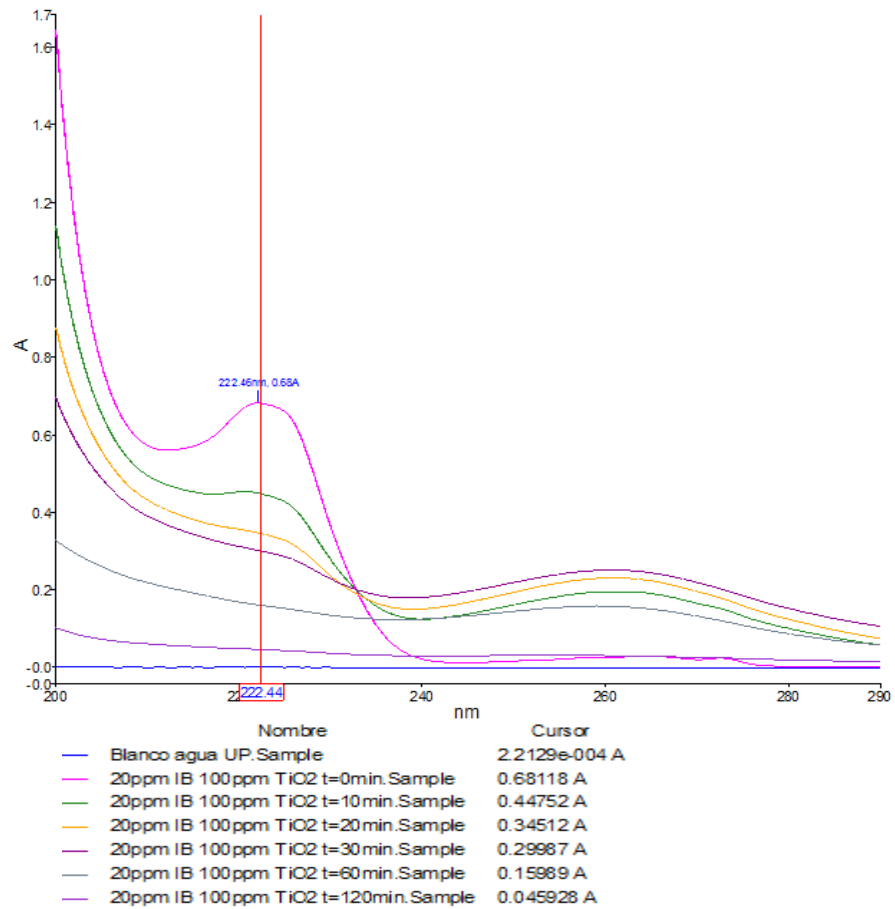
La principal conclusión que se obtiene es que al disminuir la concentración de catalizador se requiere más tiempo de ensayo para la completa eliminación de los contaminantes.



Gráfica 42. Espectros de absorbancia de la degradación fotocatalítica de 20 mg/L de IB en agua UP con 10 mg/L de TiO₂ a pH 6.



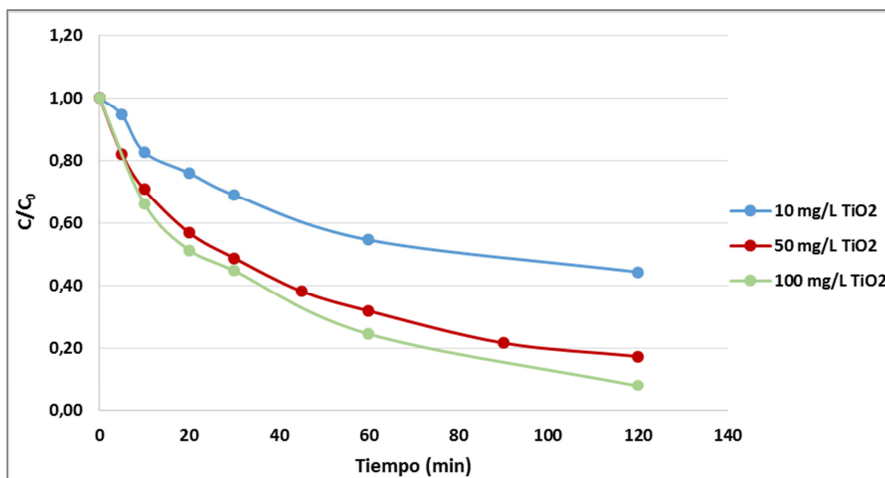
Gráfica 43. Espectros de absorbancia de la degradación fotocatalítica de 20 mg/L de IB en agua UP con 50 mg/L de TiO₂ a pH 6.



Gráfica 44. Espectros de absorbancia de la degradación fotocatalítica de 20 mg/L de IB en agua UP con 100 mg/L de TiO_2 a pH 6.

Con la ayuda de la recta de calibrado realizada con diferentes concentraciones de IB en agua UP y la celda de paso óptico de 10 mm, (ver Capítulo IV.E, punto 1.1) se han extrapolado los valores de absorbancia obtenidos a 222 nm a concentraciones de IB. De esta manera, y tal como se observa en la Gráfica 45, se puede visualizar la cinética de degradación del IB con diferentes concentraciones de TiO_2 . Se aprecia claramente que al aumentar la concentración de catalizador la

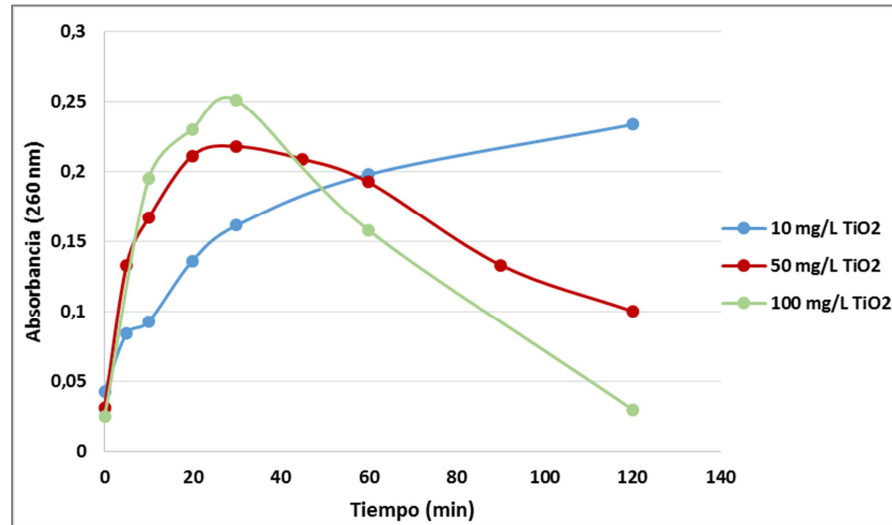
cinética de degradación es más rápida, de forma que si bien para 100 mg/L de TiO₂ a los 120 min de ensayo el IB se ha eliminado completamente, para 10 mg/L de TiO₂ este tiempo es insuficiente, habiendo transformado en otras especies únicamente el 50% de la concentración inicial de IB.



Gráfica 45. Degradación de 20 mg/L IB en agua UP con diferentes concentraciones de catalizador de TiO₂ a pH 6.

Del mismo modo, se ha realizado el seguimiento de la señal que aparece a 260 nm referente a nuevas especies que se forman durante la fotocatalisis. Tal y como se representa en la Gráfica 46, para concentraciones bajas de catalizador (10 mg/L) la intensidad continua aumentando tras 120 min de ensayo. Sin embargo, para concentraciones superiores a 50 mg/L de TiO₂, hay tiempo suficiente durante la irradiación para la formación y eliminación completa de estos nuevos compuestos.

Se puede concluir que en agua UP a pH 6 con 100 mg/L de TiO₂ se pueden eliminar 20 mg/L de IB en un tiempo de ensayo de 120 min sin que aparezca ningún otro compuesto secundario.



Gráfica 46. Evolución de la absorbancia de los compuestos presentes a 260 nm con diferentes concentraciones de TiO₂ a pH 6.

Tras estudiar la influencia de la concentración de catalizador de TiO₂ en el ensayo de fotocátalisis se determina que para una misma concentración de IB, cuanto mayor es la concentración de TiO₂ más rápida es la velocidad de degradación del IB.

2.3.2. Influencia del pH en la eliminación del ibuprofeno

La variación del pH de la suspensión de nanopartículas introduce cambios significativos en la superficie catalítica del TiO₂ que afectan a la carga superficial de las partículas y, por tanto, al tamaño de los agregados formados, influyendo en la interacción del contaminante con la superficie del TiO₂. Para analizar este efecto se ha realizado el ensayo a pH 3 y pH 9, además del pH 6 cuyos resultados han sido mostrados previamente.

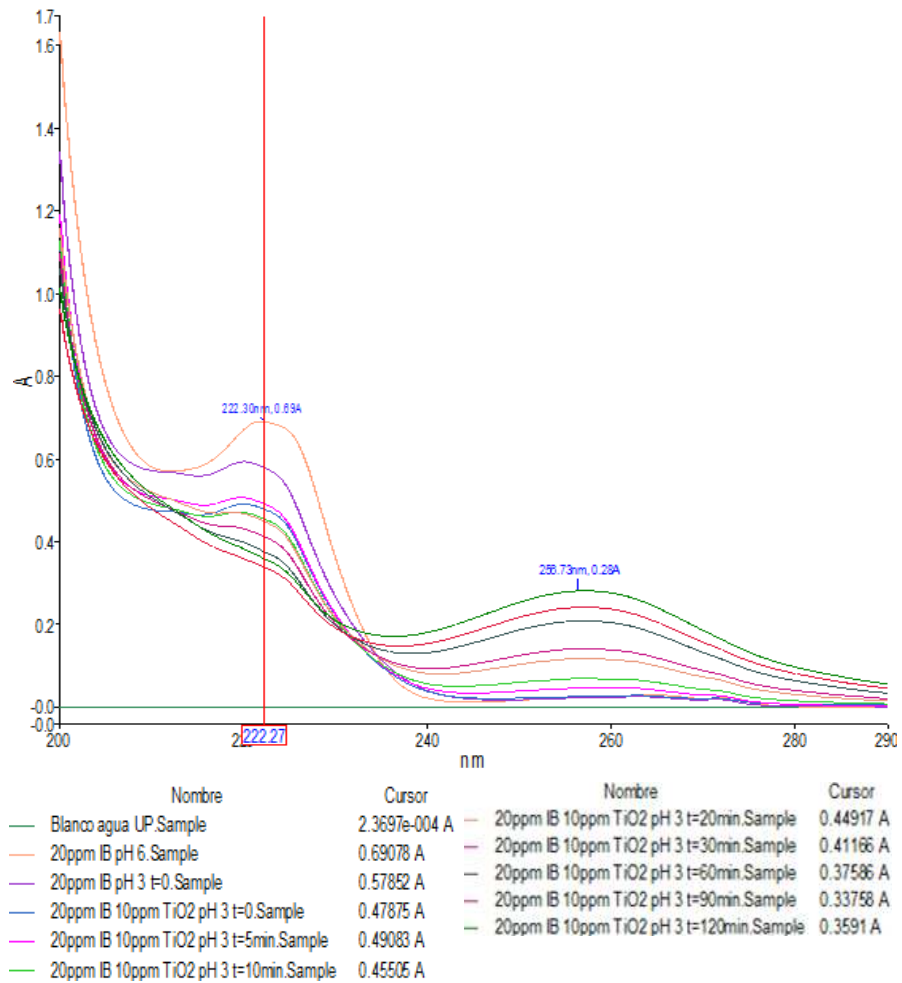
2.3.2.1. Fotocatálisis a pH 3

Al igual que en el caso anterior, se ha realizado el ensayo de fotocatalisis con tres concentraciones de catalizador de TiO₂ (10, 50 y 100 mg/L), monitorizando la absorbancia del IB (20 mg/L de concentración inicial) en el rango UV.

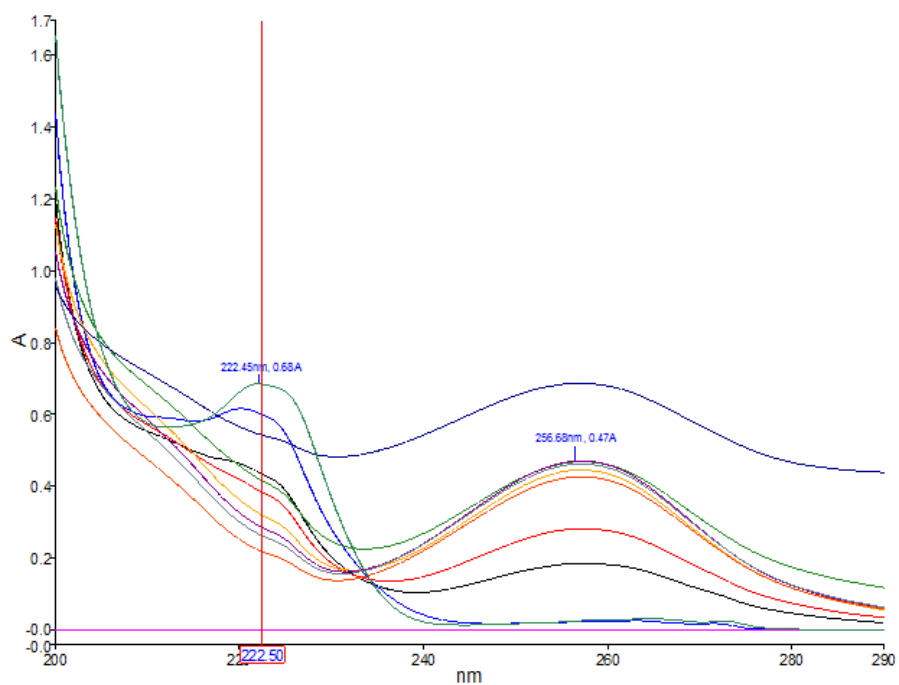
En la Gráfica 47, Gráfica 48 y Gráfica 49 se recogen los espectros de absorbancia para el ensayo a pH 3 con 10, 50 y 100 mg/L de catalizador, respectivamente.

Se observa que la señal del IB aparece (a 222 nm) disminuye con el tiempo, aunque tras 120 min de ensayo en ningún caso llega a desaparecer, ni siquiera para concentraciones de 100 mg/L de TiO₂ como ocurría a pH 6.

Asimismo, la banda que aparecía a 260 nm se desplaza hasta 256 nm, y va en aumento hasta los 120 min que dura el ensayo. No se observa que alcance un valor de absorbancia máximo y posteriormente comience a disminuir como ocurría para pH 6.



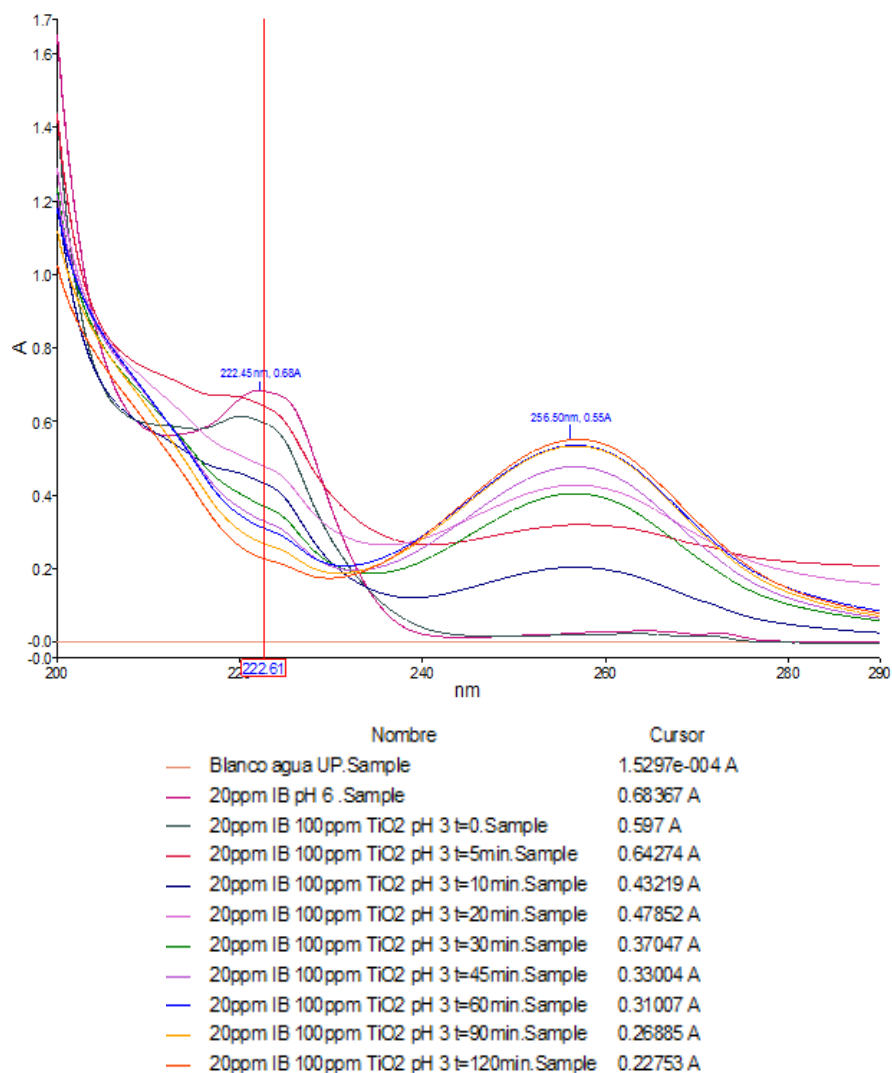
Gráfica 47. Espectros de absorción de la degradación fotocatalítica de 20 mg/L de IB en agua UP con 10 mg/L de TiO₂ a pH 3.



Nombre	Cursor
Blanco agua UP.Sample	1.6451e-004 A
20ppm IB pH 6 .Sample	0.68414 A
20ppm IB 50ppm TiO2 pH 3 t=0 .Sample	0.5994 A
20ppm IB 50ppm TiO2 pH 3 t=5min .Sample	0.43306 A
20ppm IB 50ppm TiO2 pH 3 t=10min .Sample	0.38208 A
20ppm IB 50ppm TiO2 pH 3 t=20min .Sample	0.41412 A
20ppm IB 50ppm TiO2 pH 3 t=30min .Sample	0.31898 A
20ppm IB 50ppm TiO2 pH 3 t=45min .Sample	0.28442 A
20ppm IB 50ppm TiO2 pH 3 t=60min .Sample	0.26131 A
20ppm IB 50ppm TiO2 pH 3 t=90min .Sample	0.21777 A
20ppm IB 50ppm TiO2 pH 3 t=120min .Sample	0.54197 A

Gráfica 48. Espectros de absorción de la degradación fotocatalítica de 20 mg/L de IB en agua UP con 50 mg/L de TiO₂ a pH 3.

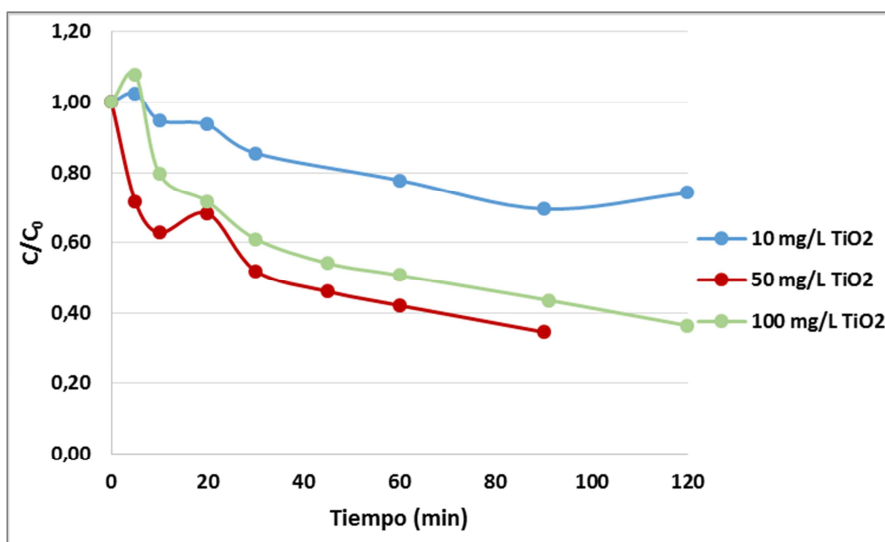
Fase IV



Gráfica 49. Espectros de absorción de la degradación fotocatalítica de 20 mg/L de IB en agua UP con 100 mg/L de TiO_2 a pH 3.

La concentración de ibuprofeno de la muestra en cada toma realizada durante el ensayo se ha calculado con la recta de calibrado, realizada con diferentes concentraciones de IB en agua UP a pH 3 (acidificada con HCl al 37%) y la celda de paso óptico de 10 mm (ver Capítulo IV.E, punto 1.2).

Tras calcular la concentración de IB en cada momento del ensayo y para cada una de las concentraciones de catalizador, se han representado en la Gráfica 50 dichos valores y así observar la tendencia de degradación del ibuprofeno a pH 3.

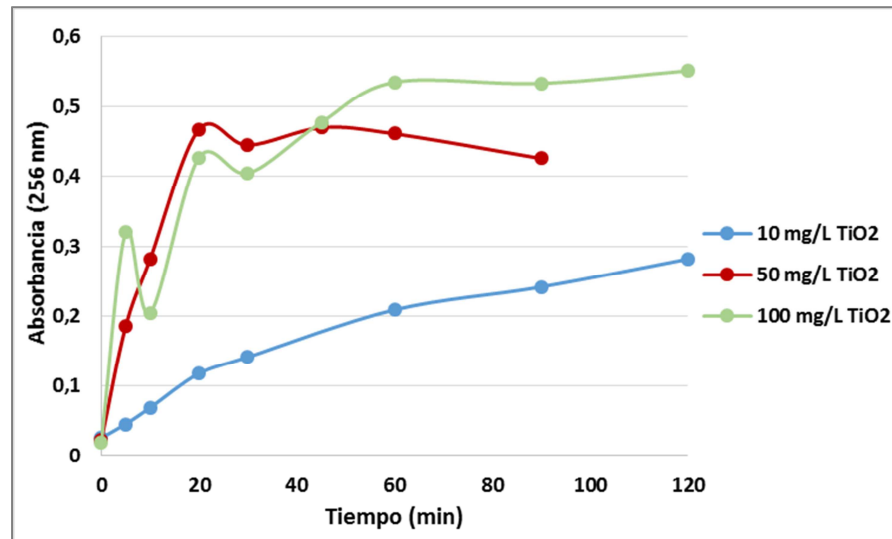


Gráfica 50. Degradación de 20 mg/L IB en agua UP con diferentes concentraciones de catalizador de TiO₂ a pH 3.

En comparación con las curvas que se obtenían para pH 6, en este caso no hay una tendencia de velocidad de degradación tan clara. Hasta los 30 min de ensayo los resultados son variables y la reacción no se estabiliza. Pasado este tiempo el IB comienza a eliminarse; sin embargo, tras 2 h tan solo, en el mejor de los casos, se elimina el 70% de la concentración inicial. Tampoco se aprecia una velocidad de degradación superior cuando se aumenta la concentración de catalizador de 50 a 100 mg/L. Puede ocurrir que a pH 3 las nanopartículas de TiO₂ se agreguen y no se aprecie diferencia en la superficie activa entre ambas concentraciones. La conclusión a la que se llega es que la reacción de fotocátalisis es más lenta e inestable a pH 3 que a pH 6, descartando este

pH para trabajar sobre la muestra real. Además, presenta la ventaja adicional de que no es necesario modificar el pH original de la disolución.

Se ha realizado un seguimiento de la señal de nuevos compuestos que aparece a 256 nm, y se ha representado para las tres concentraciones de catalizador. Los resultados se muestran en la Gráfica 51, donde se comprueba que la reacción es inestable hasta los 30 min aproximadamente de ensayo, y tras este tiempo la señal sigue en aumento sin alcanzar un valor máximo. De hecho, cuando mayor es la concentración de catalizador mayor es la absorbancia.



Gráfica 51. Evolución de la absorbancia de los compuestos presentes a 256 nm con diferentes concentraciones de TiO₂ a pH 3.

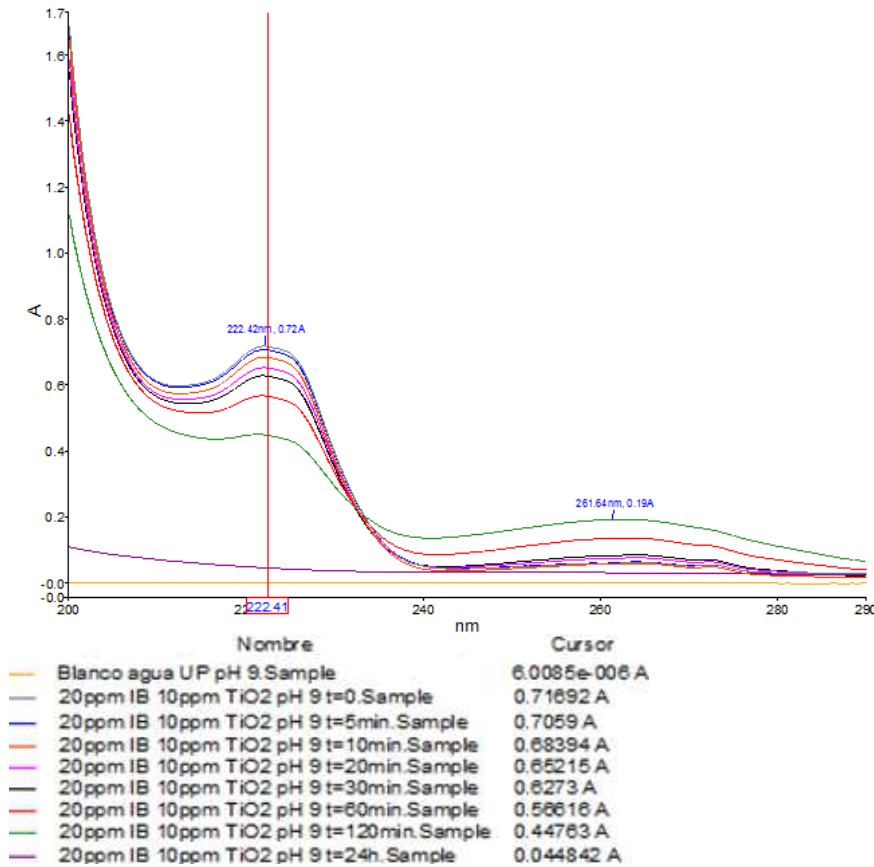
2.3.2.2. Fotocatálisis a pH 9

El procedimiento experimental seguido anteriormente se ha repetido para pH 9. En este caso, el agua UP se ha basificado con NaOH (50%) previamente a la adición de la sal de IB y de las nanopartículas de TiO₂. Los espectros de absorbancias derivados del proceso fotocatalítico se

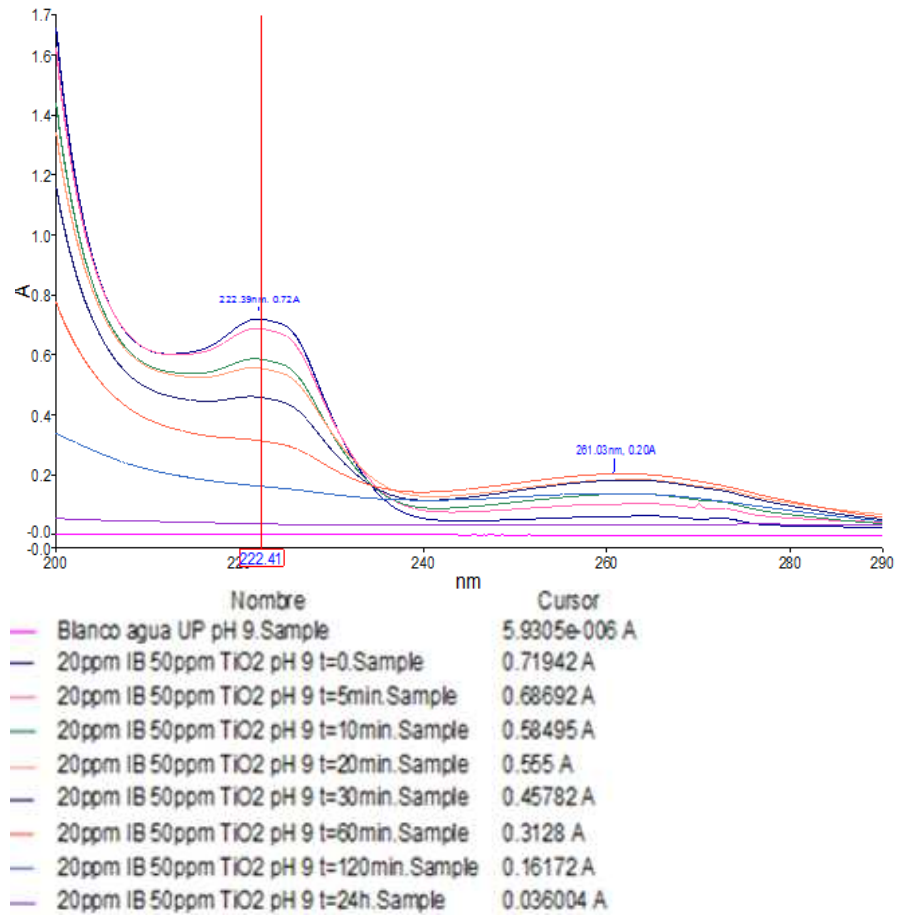
representan en la Gráfica 52, Gráfica 53 y Gráfica 54, para concentraciones de 10, 50 y 100 mg/L de TiO₂, respectivamente.

En estas gráficas se aprecia como la señal de IB sigue apareciendo a 222 nm y va eliminándose a medida que el ensayo progresa. Sin embargo, la señal de los nuevos compuestos, cuyo valor máximo se encontraba a 260 nm a pH 6, se desplaza a 261 nm. Los valores de absorbancia son menores que para pH 3, por lo que se puede concluir que se generan menor concentración de nuevos productos que emiten en el UV. Comparando estos resultados con los de pH 6 la intensidad de la señal es similar.

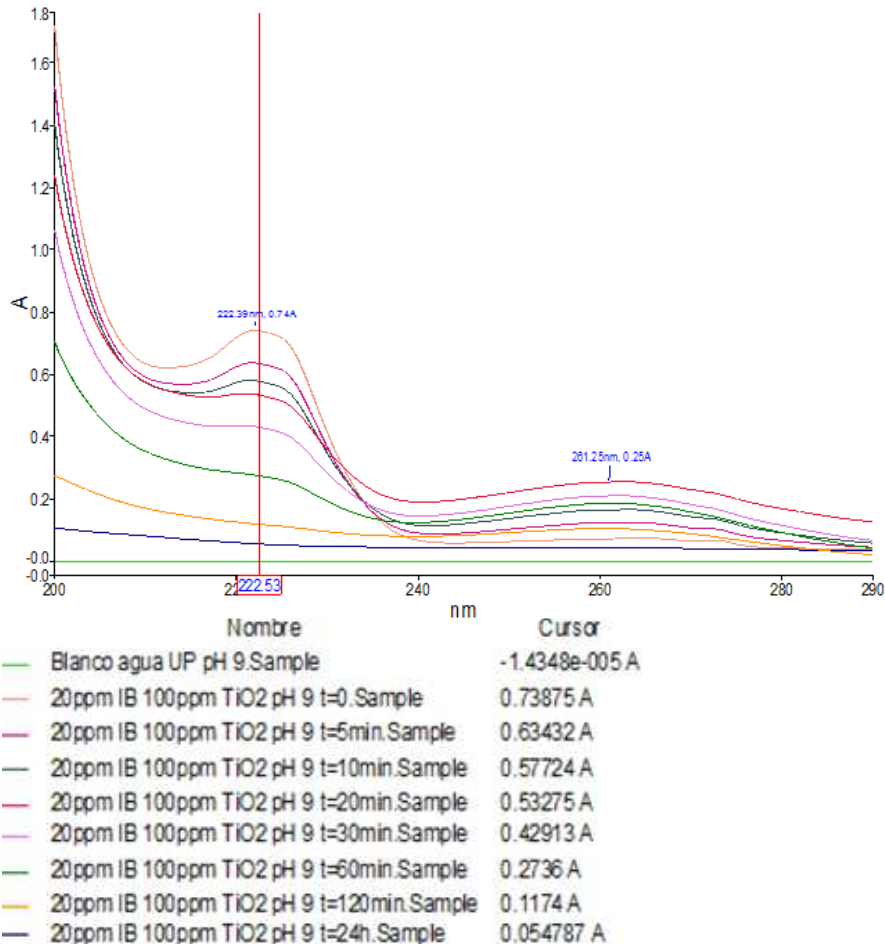
Fase IV



Gráfica 52. Espectros de absorbancia de la degradación fotocatalítica de 20 mg/L de IB en agua UP con 10 mg/L de TiO₂ a pH 9.



Gráfica 53. Espectros de absorbancia de la degradación fotocatalítica de 20 mg/L de IB en agua UP con 50 mg/L de TiO₂ a pH 9.

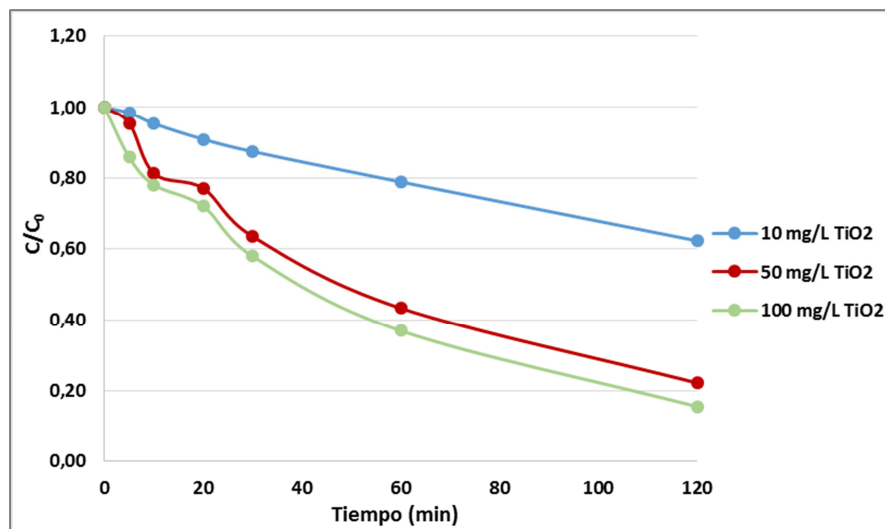


Gráfica 54. Espectros de absorbanza de la degradación fotocatalítica de 20 mg/L de IB en agua UP con 100 mg/L de TiO₂ a pH 9.

Para tener una representación cuantitativa de la concentración de IB que va eliminándose durante el ensayo, se han transformado estos valores de absorbanza en concentraciones con la recta de calibración que se ha realizado a pH 9 para diferentes concentraciones de IB en agua UP (ver Capítulo IV.E, punto 1.3).

La Gráfica 55 muestra la concentración de IB que va eliminándose respecto a la inicial de 20 mg/L durante el tiempo que dura el ensayo de fotocatalisis y con diferentes concentraciones de catalizador. Al igual que ocurría en el ensayo a pH 3, y más claramente en el ensayo a pH 6, el IB comienza a eliminarse desde el primer momento que es irradiado por la luz UV. La cinética de degradación es más rápida cuanto mayor es la concentración de catalizador utilizada, de manera que transcurridos 120 min de ensayo para concentraciones de 50 y 100 mg/L de TiO₂ se ha eliminado el 80% de IB presente en la muestra, mientras que para 10 mg/L se consigue aproximadamente el 40% de eliminación.

Cabe mencionar que cuando la reacción se lleva hasta 24 h, en los tres casos se elimina el 100% del IB.

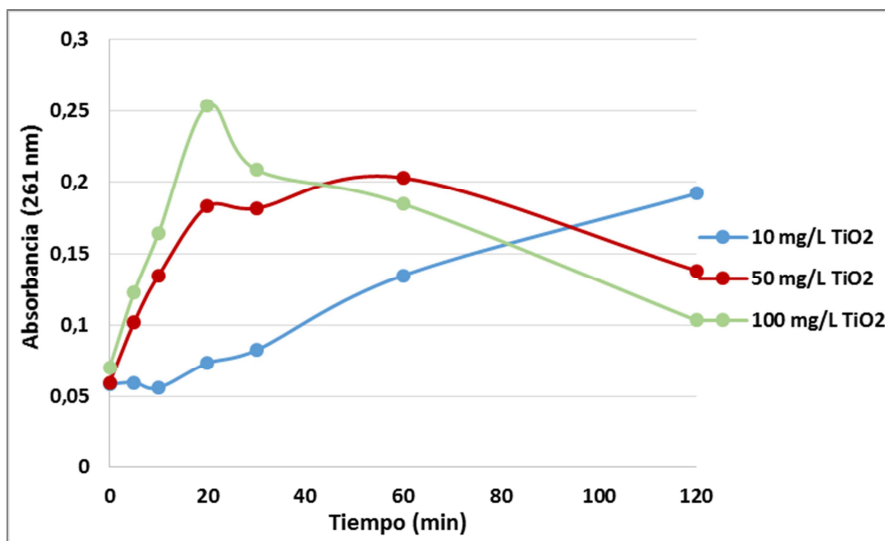


Gráfica 55. Degradación de 20 mg/L IB en agua UP con diferentes concentraciones de catalizador de TiO₂ a pH 9.

Del mismo modo, se ha prestado atención a la señal de los nuevos componentes que aparece a 261 nm y cuya evolución de la absorbancia con el tiempo se recoge en la Gráfica 56. La tendencia es muy similar a

Fase IV

la del ensayo a pH 6, donde se aprecia como a 50 y 100 mg/L de TiO_2 la absorbancia aumenta hasta alcanzar un máximo en torno a los 30-60 min para comenzar a eliminarse hasta casi su completa eliminación. En el caso de 10 mg/L de TiO_2 , como se ha venido observando en el resto de ensayos, la cinética es mucho más lenta, por lo que a los 120 min todavía no ha alcanzado su máximo. En este caso, también se han continuado las reacciones hasta las 24 h y se ha comprobado que para las tres concentraciones de catalizador la señal a 261 nm desaparece completamente.



Gráfica 56. Evolución de la absorbancia de los compuestos presentes a 256 nm con diferentes concentraciones de TiO_2 a pH 9.

En comparación con el ensayo a pH 6, la eliminación de IB al cabo de 2 h es ligeramente mayor a pH 6. Respecto a la señal que tiene su máximo en 261 nm, el comportamiento a pH 6 y pH 9 es exactamente el mismo, con valores de absorbancia muy similares a lo largo de la reacción.

En conclusión, tras analizar la influencia del pH se puede seleccionar el valor de pH 6 como el óptimo de trabajo, puesto que la eficiencia del

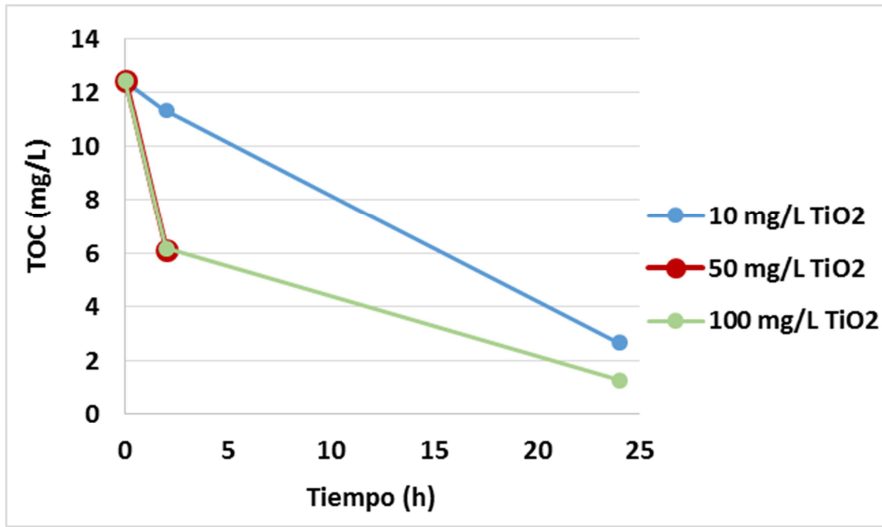
proceso de fotocátalisis es mayor. Además, el ensayo es más sencillo de llevar a cabo por no necesitar ningún ajuste de pH ni la adición de ácidos o bases que puedan generar otros compuestos desconocidos. Por otra parte el objetivo del proyecto es proporcionar unas condiciones que se asimilen a las condiciones reales de operación de la planta de tratamiento de aguas residuales, donde los pHs de entrada están próximos a 7.

2.3.3. Seguimiento del carbono orgánico total

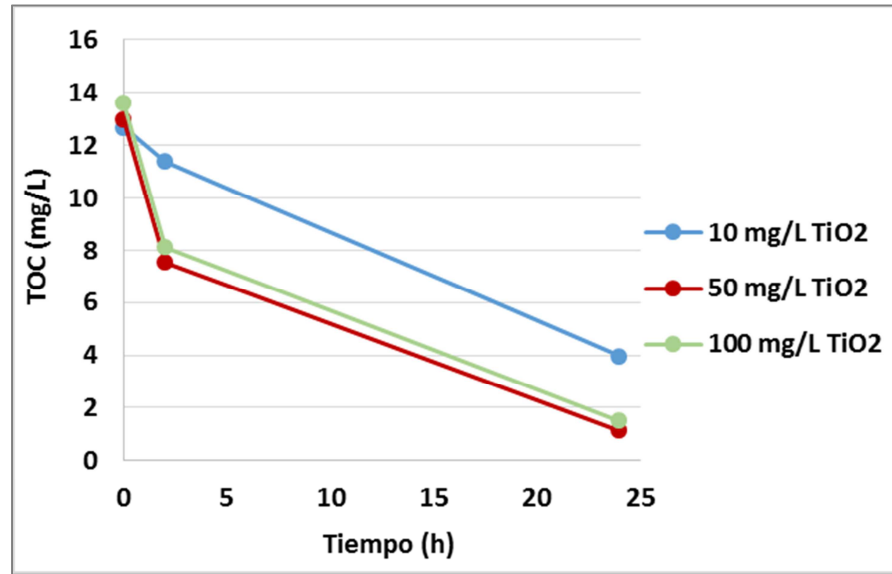
La concentración de carbono orgánico total (*Total Organic Carbon*, TOC) en disolución ha sido determinada mediante un Analizador de carbono orgánico total (TOC-L CSH Shimadzu), cuya medida se basa en el método de oxidación catalítica por combustión de la muestra a 680 °C. Este método hace posible oxidar eficientemente no sólo los compuestos de bajo peso molecular, que se descomponen fácilmente, sino también los compuestos orgánicos insolubles y macromoleculares.

Paralelamente, se ha utilizado la técnica del TOC para comprobar la efectividad del proceso de oxidación no sólo en la descomposición de contaminantes emergentes concretos, sino también en la eliminación del resto de materia orgánica que contiene la muestra o aparece durante los procesos de oxidación avanzada. De esta forma, se ha realizado un seguimiento del TOC a la muestra de agua UP dopada con 20 mg/L de IB a los tres pHs de estudio (3, 6 y 9) y con las tres concentraciones de catalizador de TiO₂ utilizadas hasta el momento (10, 50 y 100 mg/L). El ensayo de fotocátalisis en este caso se ha seguido hasta las 24 h. En la Gráfica 57, Gráfica 58 y Gráfica 59 se muestran los resultados del estudio. Analizando los datos, se observa una tendencia de eliminación similar independientemente del pH. En lo que a la concentración del catalizador se refiere, se observa como con 10 mg/L de TiO₂ la velocidad de degradación es más lenta y no llegan a eliminarse completamente los compuestos emergentes transcurridas las 24 h de irradiación.

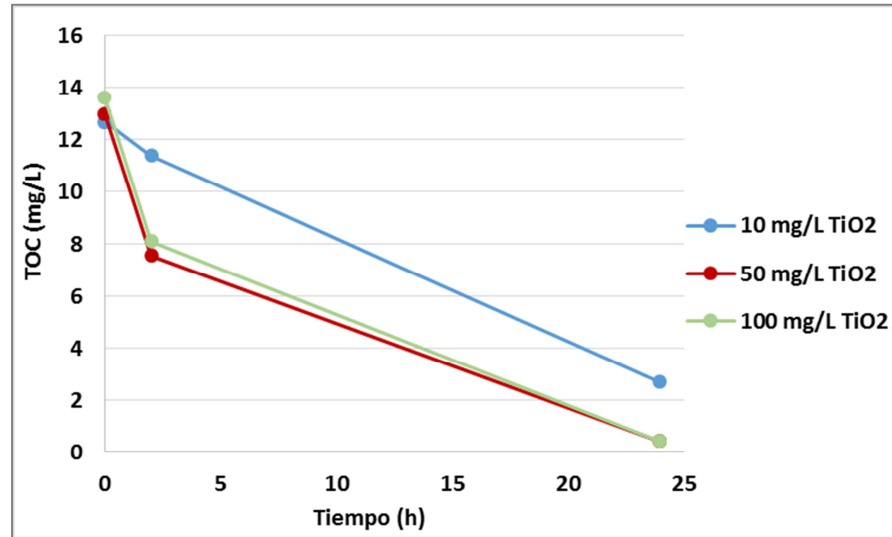
Sin embargo, para 50 y 100 mg/L de TiO_2 el comportamiento es exactamente el mismo, no habiendo diferencias significativas y llegando a eliminar prácticamente todo el contenido orgánico pasadas las 24 h. Se observa una mínima diferencia a pH 9 donde se consigue eliminar más TOC que a pH 6 (Gráfica 58 frente a Gráfica 59).



Gráfica 57. Seguimiento del TOC durante el ensayo de fotocatalisis de 20 mg/L de IB en agua UP a pH 3 con diferentes concentraciones de catalizador.



Gráfica 58. Seguimiento del TOC durante el ensayo de fotocatalisis de 20 mg/L de IB en agua UP a pH 6 con diferentes concentraciones de catalizador.



Gráfica 59. Seguimiento del TOC durante el ensayo de fotocatalisis de 20 mg/L de IB en agua UP a pH 9 con diferentes concentraciones de catalizador.

Comparando dichos resultados con los que se obtenían mediante espectrofotometría se observa que en el caso del TOC la velocidad de

degradación del IB es más lenta que lo que mostraban los espectros de absorbancia. Lo que ocurría es que al aparecer la nueva banda a 256 nm, en lugar de eliminarse el IB se estaban formando otros nuevos compuestos orgánicos que se aprecian por el TOC.

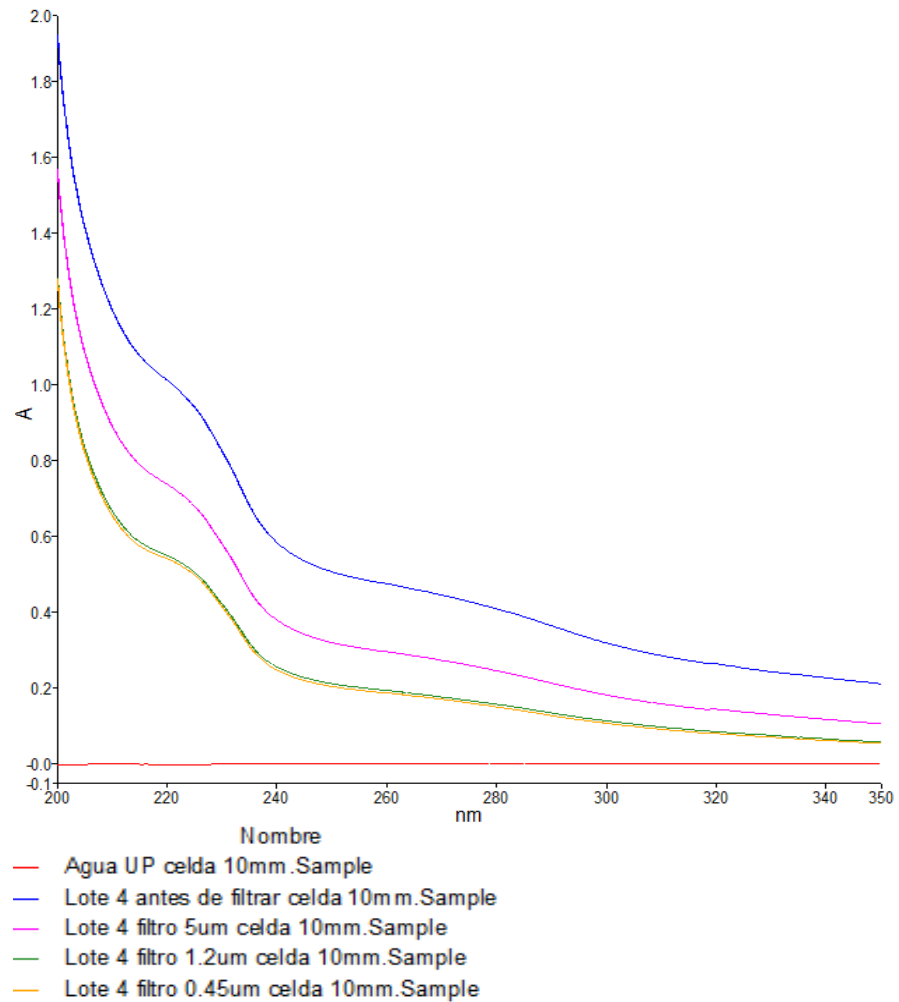
2.4. Degradación fotocatalítica del ibuprofeno en el influente de la planta de Baiña

Una vez conocido el comportamiento de la reacción de fotocátalisis en la eliminación de una concentración conocida de IB en una situación ideal con agua UP, se ha procedido a realizar el mismo ensayo con el influente de la planta de Baiña. Dado que la concentración de IB que contiene la muestra real es imperceptible por la técnica de espectrofotometría, se ha dopado dicha muestra con 20 mg/L de IB para comprobar si el comportamiento con una muestra real es similar al obtenido con la muestra ideal. Se ha trabajado con el pH 6 y las concentraciones de catalizador estudiadas han sido las mismas que las empleadas en los ensayos con agua UP: 10, 50 y 100 mg/L de TiO₂.

La muestra real se ha mantenido congelada en lotes de 500 mL para no alterar su estado hasta que va a ser utilizada. Para su descongelación, se saca 24 h antes de su uso del congelador y se mantiene a temperatura ambiente. Para asegurar la repetitividad de los resultados, utilizamos la muestra el mismo día de ser descongelada, puesto que a medida que pasan los días la muestra va descomponiéndose en otros compuestos y formando flóculos de mayor tamaño.

El principal problema que tiene la muestra original es que presenta sólidos en suspensión y flóculos que pueden interferir en las medidas espectrofotométricas, por lo que se decide filtrarla hasta eliminarlos, es decir, hasta que la señal no cambia. De este modo la muestra se hace pasar por filtros de 5 µm, 1,2 µm y 0,45 µm. Como se observa en la Gráfica 60 la mayoría de los compuestos particulados se eliminan con el filtro de 1,2 µm, ya que el espectro es exactamente igual que tras el

filtrado con el de 0,45 μm . Hay que mencionar que todas las medidas están hechas con la misma muestra que es sometida a sucesivos filtrados en serie.

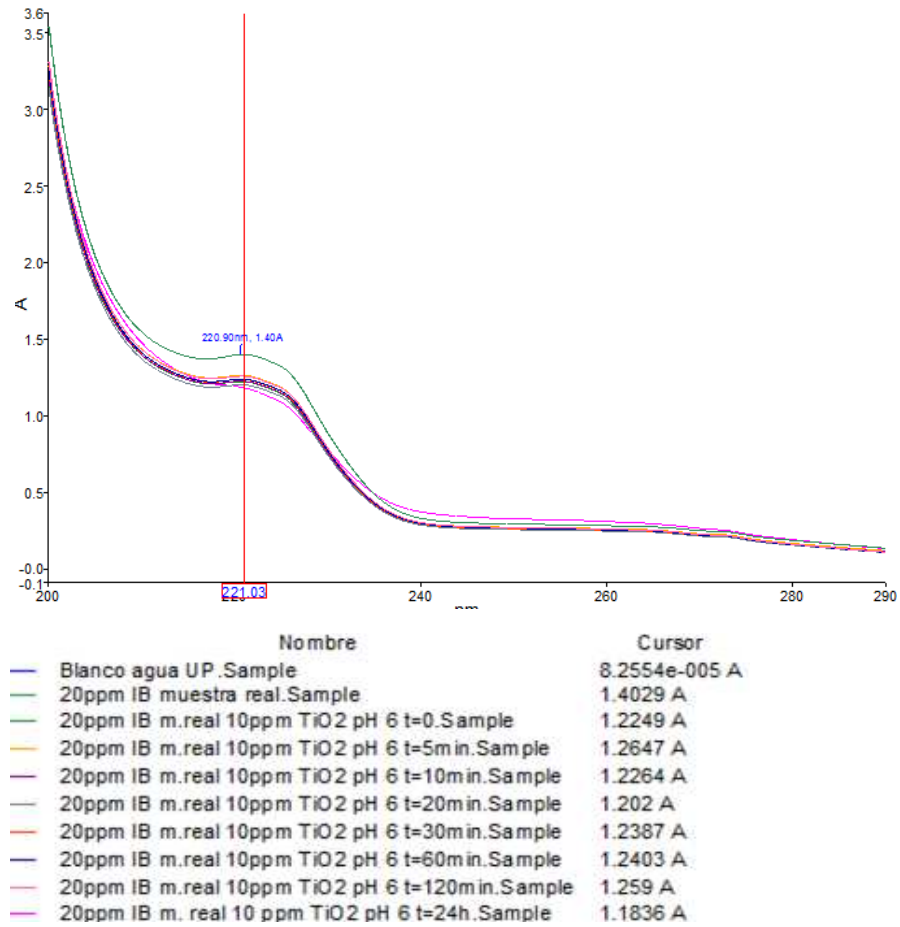


Gráfica 60. Espectro de absorbancia de la muestra real tras ser filtrada.

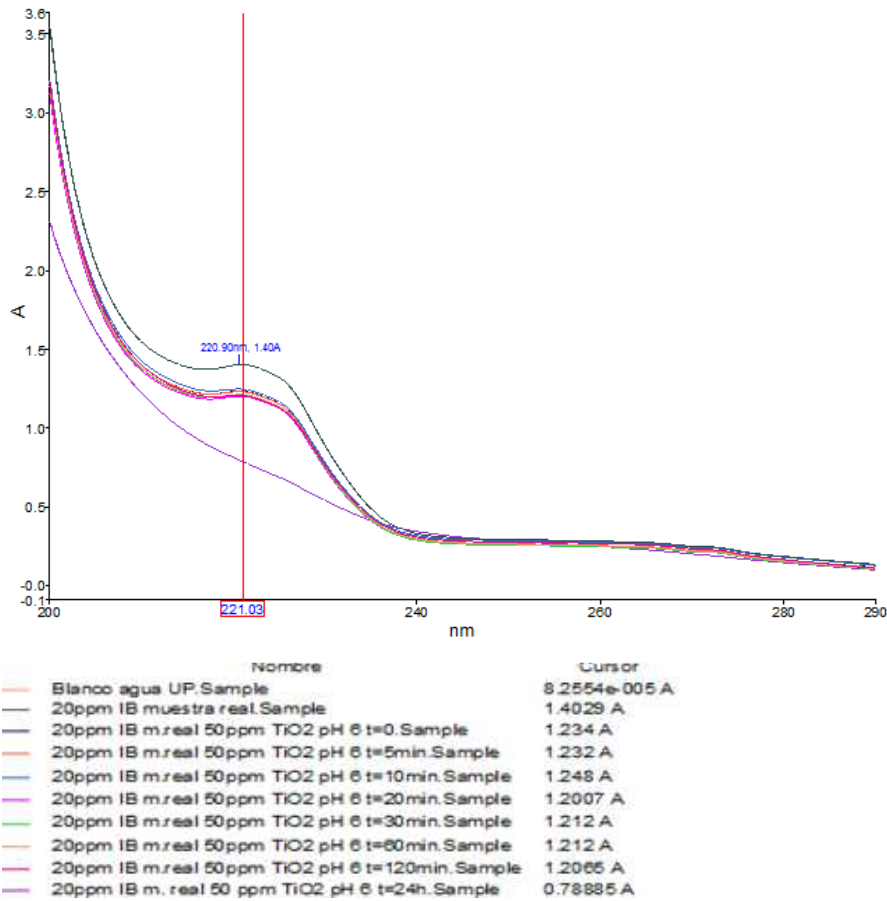
Tras ser filtrada se añaden los 20 mg/L de IB y las nanopartículas de TiO_2 correspondientes y se da comienzo al ensayo de fotocatalisis. La toma de muestra inicialmente se hace cada 10 min y luego se van espaciando las medidas hasta las 24 h.

Los espectros de absorbancia que se obtienen para cada una de las concentraciones se muestran en la Gráfica 61, Gráfica 62 y Gráfica 63. La señal del IB aparece a 220 nm y va disminuyendo con el tiempo de ensayo. En los tres casos, durante las dos primeras horas no hay una disminución significativa en la absorbancia, como ocurría con el agua UP. Esto se debe a que la fotocatalisis no es un proceso selectivo, y además de eliminar el IB también está degradando otros compuestos minoritarios cuya banda de absorción no es apreciable por espectrofotometría o no aparece en el rango analizado.

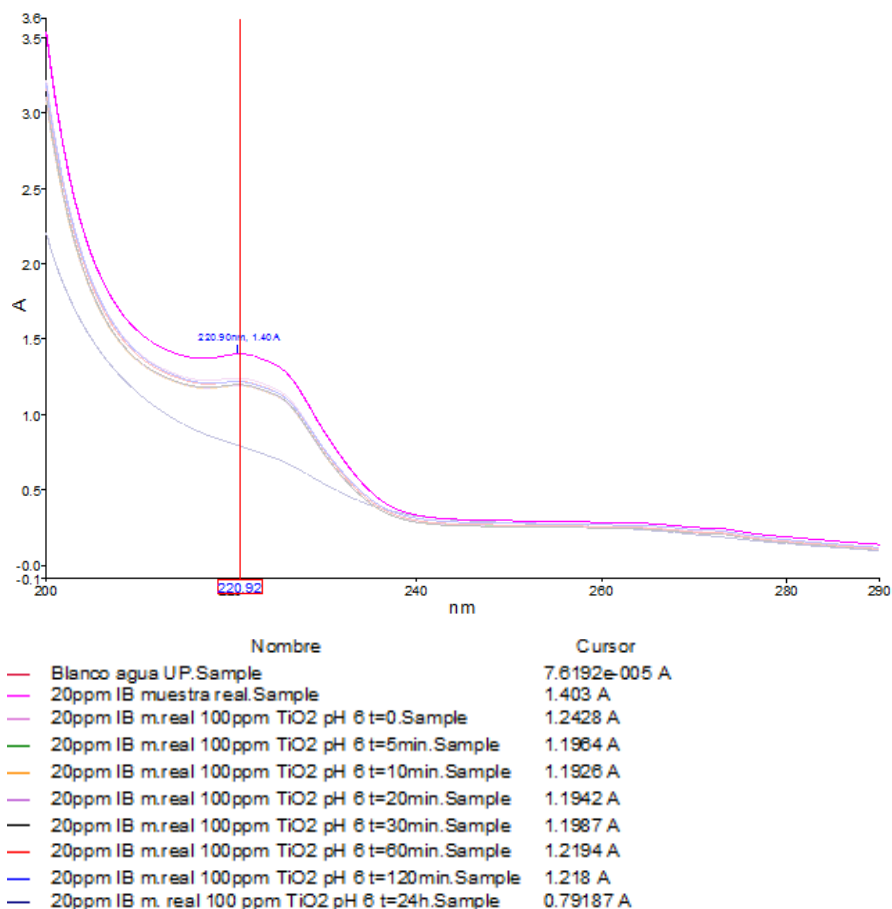
Para concentraciones de 50 y 100 mg/L de TiO_2 a las 24 h se observa la desaparición de la señal de IB (Gráfica 62, Gráfica 63) sin embargo, para 10 mg/L no se aprecia este efecto (Gráfica 61), puesto que la reacción de fotocatalisis es demasiado lenta. Cabe mencionar que no aparecen nuevas especies en torno a 260 nm como ocurría con el agua UP.



Gráfica 61. Espectros de absorbancia de la degradación fotocatalítica del influente de Bañia a la que se ha añadido 20 mg/L de IB y 10 mg/L de TiO₂.



Gráfica 62. Espectros de absorbanza de la degradación fotocatalítica del influente de Baña a la que se ha añadido 20 mg/L de IB y 50 mg/L de TiO₂.

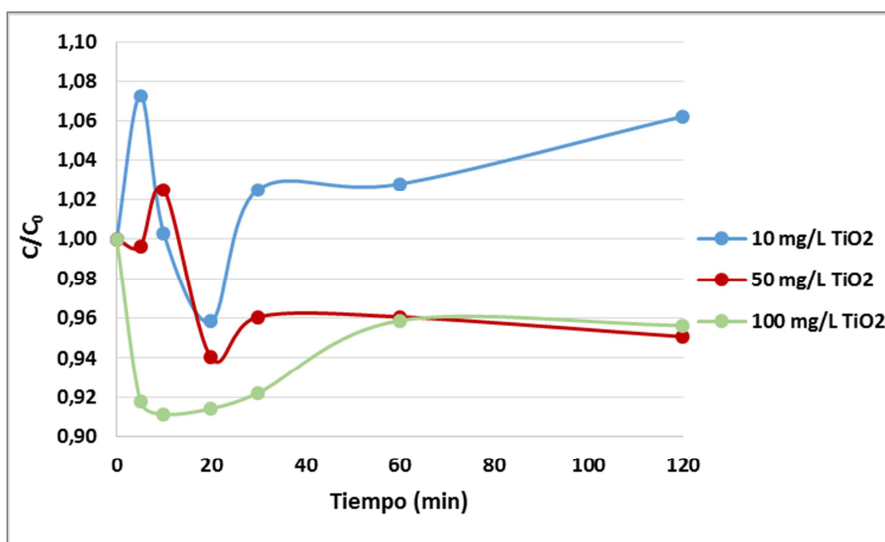


Gráfica 63. Espectros de absorbancia de la degradación fotocatalítica del influente de Baiña a la que se ha añadido 20 mg/L de IB y 100 mg/L de TiO₂.

Para poder convertir los resultados de absorbancia en concentraciones se ha construido una recta de calibrado con el influente de la planta de Baiña (ver Capítulo IV.E, punto 2.1).

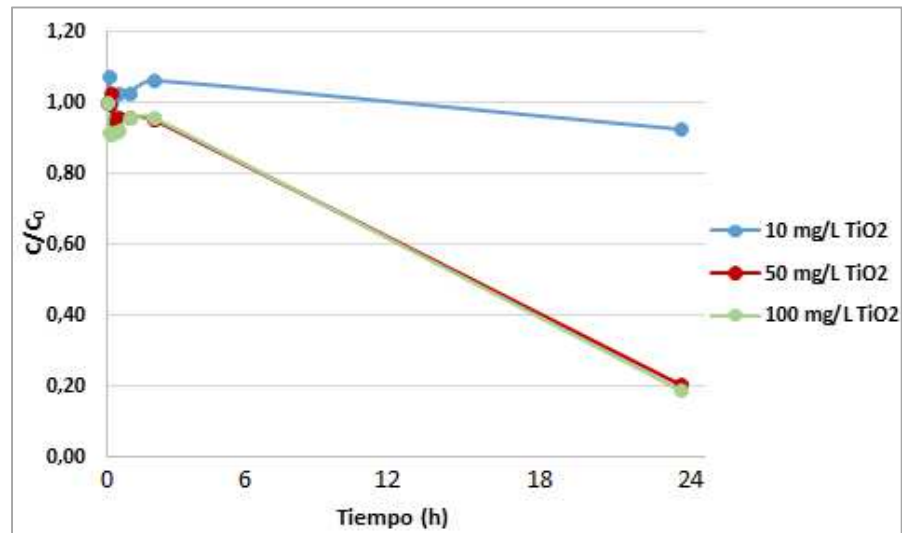
En la Gráfica 64 se muestra la degradación del IB durante las 2 primeras horas de ensayo. Parece que la reacción es bastante inestable hasta transcurridos 30 min de ensayo. Puede ocurrir que en este periodo los contaminantes estén adsorbiéndose en el TiO₂ y los valores de concentración obtenidos sean variables en este periodo. No obstante, tras 120 min de ensayo se ha eliminado menos del 5% del IB incluso para

concentraciones de 50 y 100 mg/L de TiO_2 . Por tanto, la muestra real requiere mayor tiempo de reacción de fotocátalisis para eliminar la misma concentración de IB que con agua UP, o bien mayores concentraciones de catalizador que las empleadas en este estudio.



Gráfica 64. Degradación de una muestra del influente de Bañia a la que se ha añadido 20 mg/L de IB con diferentes concentraciones de TiO_2 para una reacción de 2 h.

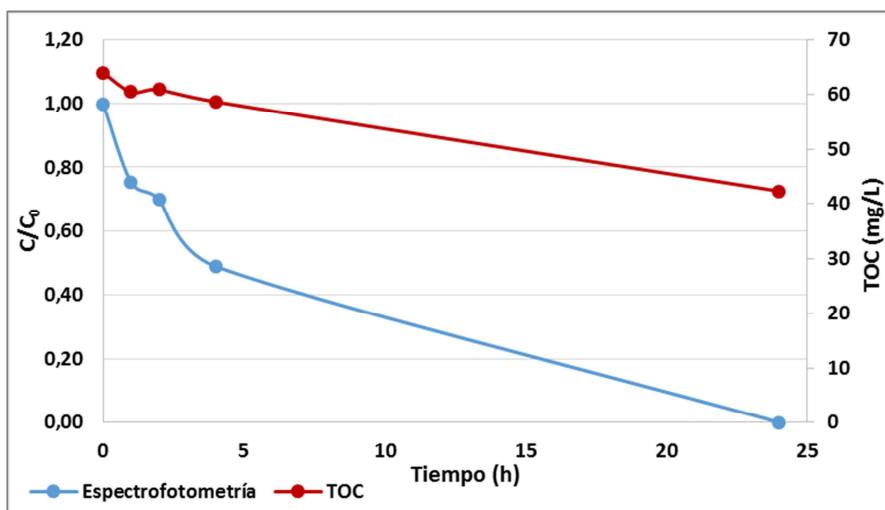
Ha sido necesario prolongar la reacción hasta las 24 h para comparar la eficiencia de las diferentes concentraciones de catalizador. El estudio se muestra en la Gráfica 65, en la que se observa que para una concentración de 10 mg/L de TiO_2 hay demasiados compuestos que descomponer en la muestra real como para completar la degradación del IB, no llegando a eliminar ni el 10% de IB presente en la muestra. Sin embargo, el comportamiento con 50 y 100 mg/L es similar; así, transcurridas 24 h se ha eliminado el 80% de IB con una cinética de degradación similar.



Gráfica 65. Degradación de 20 mg/L de IB en el influente de la planta de Baiña con diferentes concentraciones de TiO₂ para un ensayo de 24 h.

El influente de la planta de Baiña que se ha ensayado, además de IB, contiene otros muchos compuestos orgánicos. Mediante espectrofotometría únicamente se realiza el seguimiento de la degradación de IB, por lo que se ha recurrido al TOC para comprobar si además de IB se consiguen eliminar el resto de componentes orgánicos durante las 24 h de reacción. En la Gráfica 66 se representa simultáneamente la concentración de IB y el TOC de la muestra. Este ensayo se ha realizado con 100 mg/L de TiO₂. A pesar de que la fotocatalisis consigue eliminar completamente el IB que hay en la muestra, el TOC indica que solamente se ha eliminado el 40% de compuestos orgánicos que contenía la muestra inicial dopada con 20 mg/L de IB.

Esto indica que para eliminar completamente los compuestos orgánicos se requiere más tiempo de reacción o mayor cantidad de catalizador.



Gráfica 66. Seguimiento del TOC durante 24 h de ensayo de fotocatalisis en el influente de Baiña a la que se ha añadido 20 mg/L de IB y 100 mg/L de TiO₂.

3. Tratamiento del agua mediante foto-Fenton homogéneo

El proceso foto-Fenton es altamente eficaz para la eliminación de compuestos orgánicos. Requiere la adición de una sal de hierro y peróxido de hidrógeno en un medio ácido (pH 3). Durante el proceso se generan radicales hidroxilos que degradan la materia orgánica. Este proceso se ve potenciado por la radiación UV, por eso el proceso será asistido por dos lámparas UV que emiten a 365 nm, las cuales tienen una potencia de 6 W cada una.

En esta tarea se optimizarán las diversas variables del proceso, principalmente la concentración de hierro y peróxido de hidrógeno para conseguir la mayor degradación de IB. Los rangos de las variables estudiadas en este proceso son:

- Concentración de Fe(II): 5, 25 y 50 mg/L
- Relación Fe(II)/H₂O₂: 1:10, 1:20 y 1:30

En este caso, la celda utilizada para las medidas de espectrofotometría ha sido la de paso óptico 0,5 mm, puesto que con la de 10 mm la señal se saturaba al añadir el H₂O₂. El uso de esta celda ha hecho necesario incrementar la concentración de IB hasta 100 mg/L para poder realizar un seguimiento del ensayo de oxidación avanzada. El tiempo de la reacción, al igual que para la fotocatalisis, ha sido de 2 h.

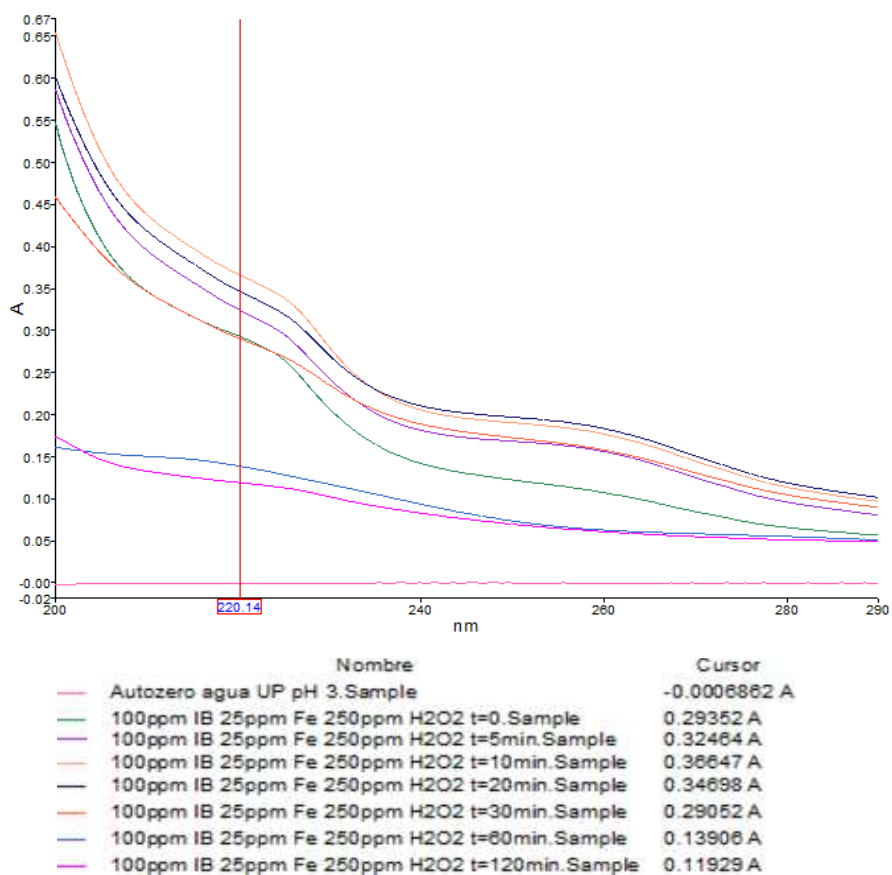
3.1. Degradación de ibuprofeno en agua ultrapura mediante foto-Fenton homogéneo

El ensayo se lleva a cabo en una muestra de agua ultrapura dopada con una concentración de IB conocida y apreciable por espectrofotometría, 100 mg/L.

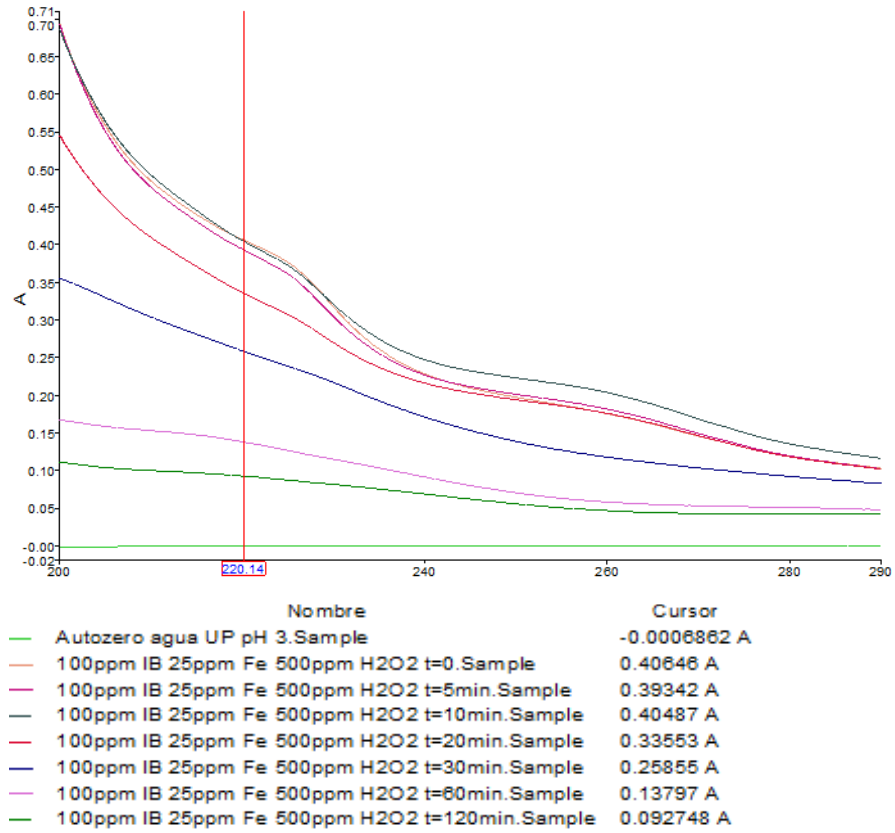
El procedimiento experimental consiste en preparar 100 mL de una disolución de 100 mg/L de ibuprofeno sódico en agua UP previamente acidificada a pH 3 con H₂SO₄ (98%). A continuación, se añade la sal de hierro (FeSO₄·7H₂O) y finalmente el H₂O₂ (30%). En este instante da comienzo la reacción Fenton y mediante activación de las lámparas UV comienza la reacción foto-Fenton.

3.1.1. Influencia de la concentración de peróxido de hidrógeno en la eliminación del ibuprofeno

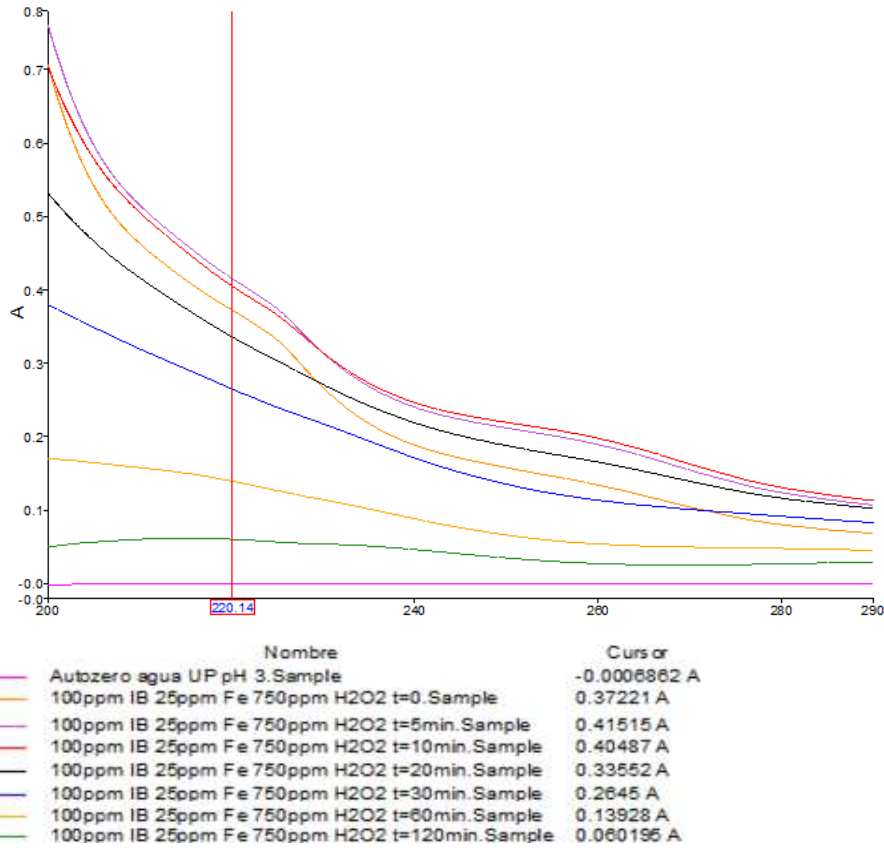
En primer lugar, se ha trabajado con una concentración fija de Fe(II), de 25 mg/L, y se ha estudiado cómo afecta la concentración de H₂O₂ en la reacción de foto-Fenton a la hora de eliminar los 100 mg/L de IB que contiene la muestra de agua UP, a pH 3. Se utiliza una relación Fe(II)/H₂O₂ de 1:10, 1:20 y 1:30, lo que se traduce en 250, 500 y 750 mg/L de H₂O₂, respectivamente. La monitorización de la absorbancia durante las 2 h de reacción se recoge en la Gráfica 67, Gráfica 68 y Gráfica 69.



Gráfica 67. Monitorización de la eliminación de 100 mg/L de IB en agua UP mediante reacción foto-Fenton con 25 mg/L de Fe(II) y 250 mg/L de H₂O₂.



Gráfica 68. Monitorización de la eliminación de 100 mg/L de IB en agua UP mediante reacción foto-Fenton con 25 mg/L de Fe(II) y 500 mg/L de H₂O₂.



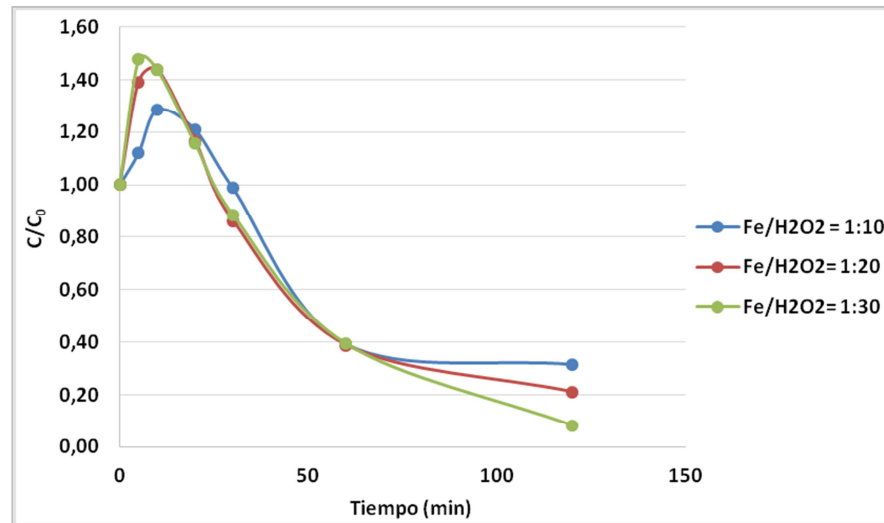
Gráfica 69. Monitorización de la eliminación de 100 mg/L de IB en agua UP mediante reacción foto-Fenton con 25 mg/L de Fe (II) y 750 mg/L de H₂O₂.

En la reacción foto-Fenton al haber más compuestos involucrados que en la fotocatalisis no se aprecia una señal clara del IB. Se observa un hombro que a medida que transcurre el ensayo va desapareciendo. En los tres casos el comportamiento es exactamente igual.

Asimismo, la señal que aparecía en la fotocatalisis en forma de señal ancha a ~260 nm, no se aprecia tan claramente, aunque sí que aparece un ligero hombro que transcurrido el tiempo de ensayo también desaparece.

Para cuantificar la concentración de IB y hacer una comparación entre las tres concentraciones de H_2O_2 utilizadas se transforman los valores de absorbancia a 220 nm a concentraciones mediante la recta de calibrado, realizada a diferentes concentraciones de IB en agua UP a pH 3 y con celda de 0,5 mm de paso óptico (ver Capítulo IV.E, punto 1.5).

En la Gráfica 70 se muestra la evolución del ensayo de foto-Fenton durante 2 h, observándose que al comienzo los valores de concentración son algo inestables hasta los 20 min; se aprecian valores superiores a la concentración inicial de IB. Esto se debe a que el IB está reaccionando enérgicamente con los compuestos involucrados en la reacción de foto-Fenton y no es hasta los 30 min cuando comienza a estabilizarse y eliminarse. Para las tres concentraciones de H_2O_2 a 60 min de ensayo hay un punto de inflexión donde ya se ha eliminado el 60% de IB. A partir de este momento, es cuando se observa como la reacción con mayor contenido en H_2O_2 consigue eliminar más rápidamente el 40% de IB restante, llegando a degradarlo completamente al final del ensayo.



Gráfica 70. Degradación de 100 mg/L IB en agua UP mediante foto-Fenton con 25 mg/L de Fe (II) y diferentes concentraciones de H_2O_2 .

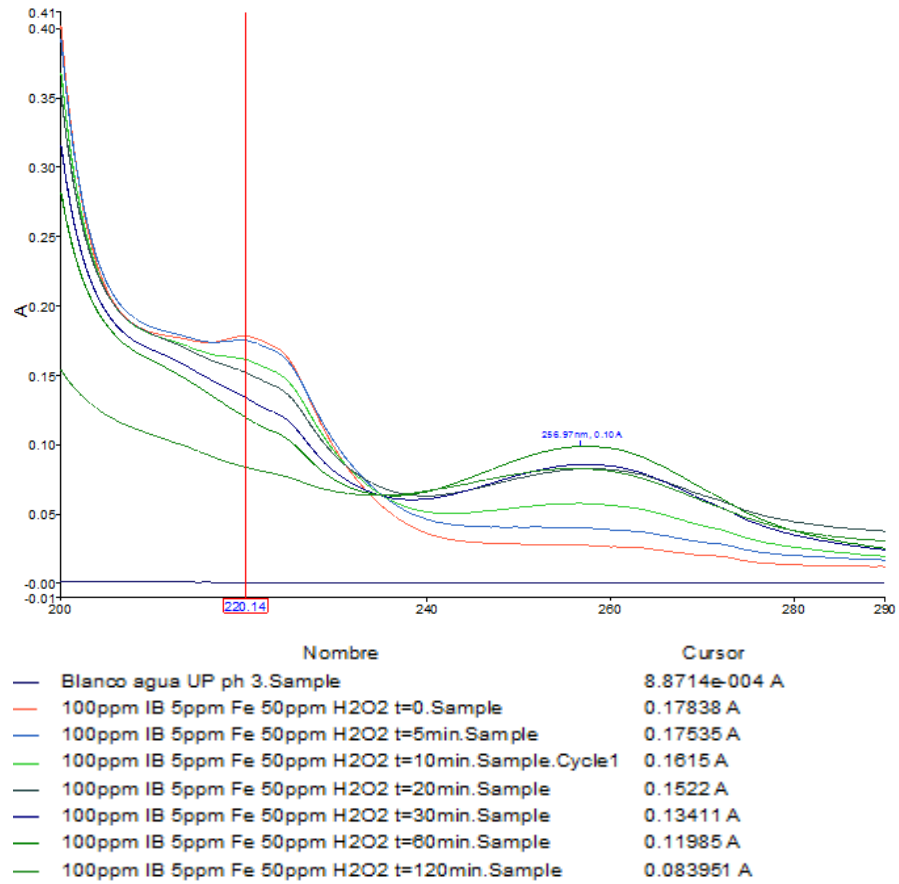
3.1.2. Influencia de la concentración de Fe(II) en la eliminación del ibuprofeno

En este estudio se utilizan las tres relaciones de H₂O₂ que se han usado en el ensayo anterior variando también la concentración de Fe(II): 5 y 50 mg/L. De esta forma, se analizará cómo influye la concentración de hierro en la reacción para eliminar la misma concentración de IB.

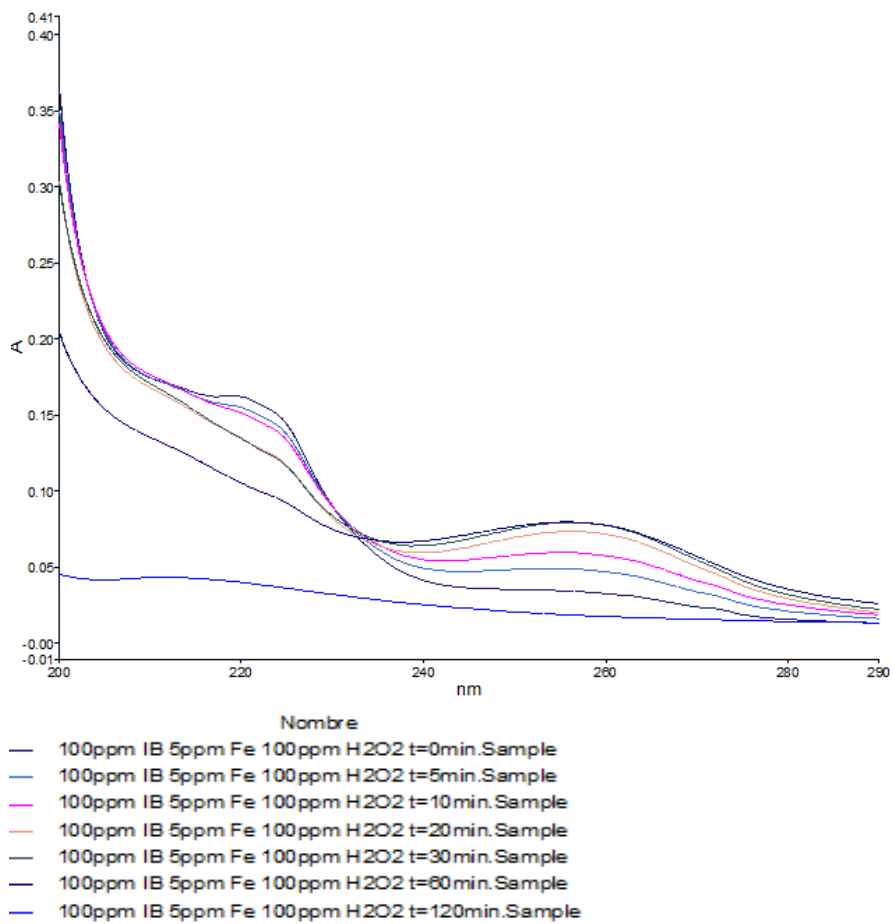
3.1.2.1. Reacción foto-Fenton con 5 mg/L Fe(II)

Los espectros de absorbancia obtenidos durante la reacción se recogen en la Gráfica 71, Gráfica 72 y Gráfica 73 para concentraciones de H₂O₂ de 50, 100 y 150 mg/L, respectivamente. En estos experimentos, la señal del IB se aprecia más claramente durante el proceso de oxidación, aunque la cinética es más lenta en comparación con el ensayo con 25 mg/L de Fe(II).

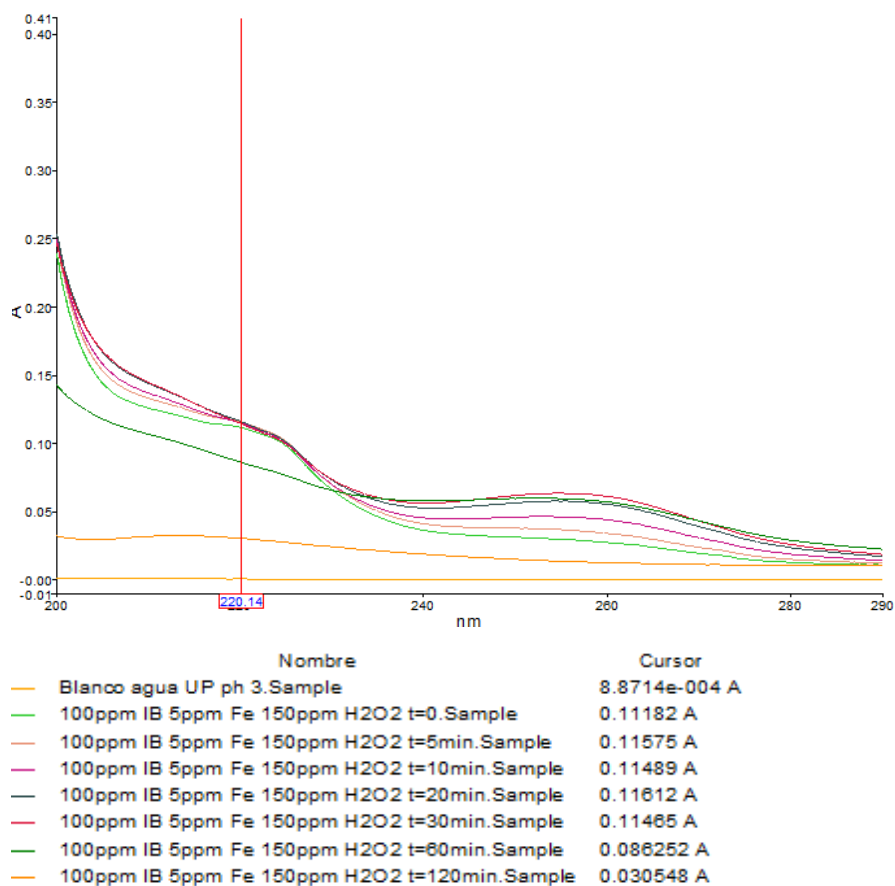
Cabe mencionar que en este experimento aparece la banda a 256 nm que se visualizaba en la fotocatalisis, siendo la señal más intensa a concentraciones menores de H₂O₂, ya que la reacción de degradación es más lenta.



Gráfica 71. Monitorización de la eliminación de 100 mg/L de IB en agua UP mediante reacción foto-Fenton con 5 mg/L de Fe(II) y 50 mg/L de H₂O₂.



Gráfica 72. Monitorización de la eliminación de 100 mg/L de IB en agua UP mediante reacción foto-Fenton con 5 mg/L de Fe(II) y 100 mg/L de H₂O₂.



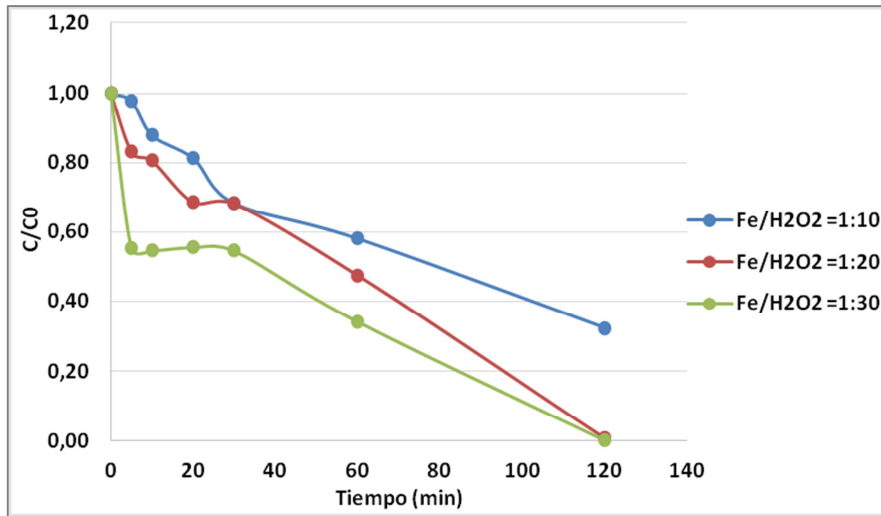
Gráfica 73. Monitorización de la eliminación de 100 mg/L de IB en agua UP mediante reacción foto-Fenton con 5 mg/L de Fe(II) y 150 mg/L de H₂O₂.

Del mismo modo, se han convertido los valores de absorbancia a 220 nm en concentraciones mediante la recta de calibrado (ver Capítulo IV.E, punto 1.5). La representación de dichos datos se muestra en la Gráfica 74. En este caso, la reacción se estabiliza mucho más rápido que para 25 mg/L de Fe(II) y se observa cómo el IB se va eliminando desde el primer momento, siendo la velocidad de degradación mayor cuanto mayor es la concentración de H₂O₂. De hecho, para concentraciones de H₂O₂ de 100 y 150 mg/L [Fe(II)/H₂O₂; 1:20 y 1:30, respectivamente], el IB se elimina

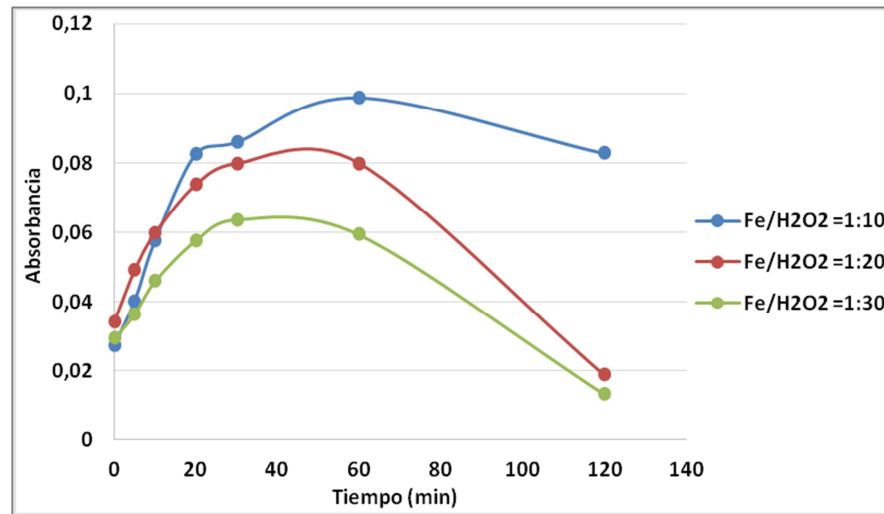
completamente transcurridos los 120 min de ensayo, mientras que para concentraciones de H_2O_2 de 50 mg/L [Fe(II)/ H_2O_2 ; 1:10] solamente se degrada el 70%.

En lo que respecta a la señal que aparece a 256 nm, al representar los valores de absorbancia (Gráfica 75), se aprecia cómo la curva alcanza un máximo en torno a los 40-60 min de ensayo y posteriormente las nuevas especies se descomponen y eliminan a los 120 min de ensayo para concentraciones de H_2O_2 de 100 y 150 mg/L, mientras que no se consigue para concentraciones de H_2O_2 de 50 mg/L.

Estos resultados llevan a la conclusión de que para trabajar con 5 mg/L de Fe(II) se necesitan relaciones Fe(II)/ H_2O_2 de 1:20 como mínimo para conseguir eliminar 100 mg/L de IB en agua UP en 2 h.



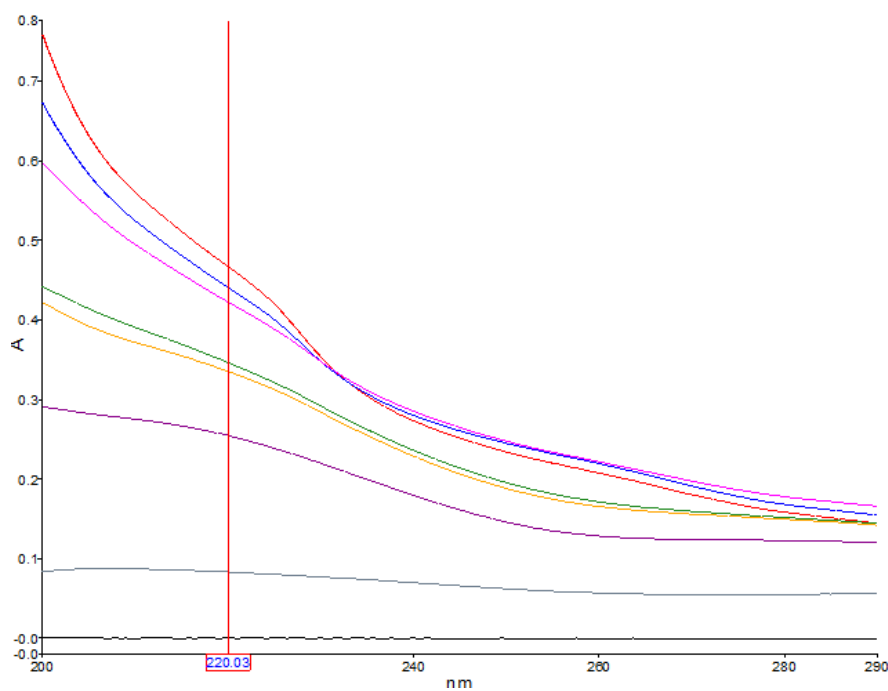
Gráfica 74. Degradación de 100 mg/L IB en agua UP mediante foto-Fenton con 5 mg/L de Fe(II) y diferentes concentraciones de H_2O_2 .



Gráfica 75. Evolución de la absorbancia de los compuestos presentes a 256 nm con 5 mg/L de Fe(II) y diferentes concentraciones de H₂O₂.

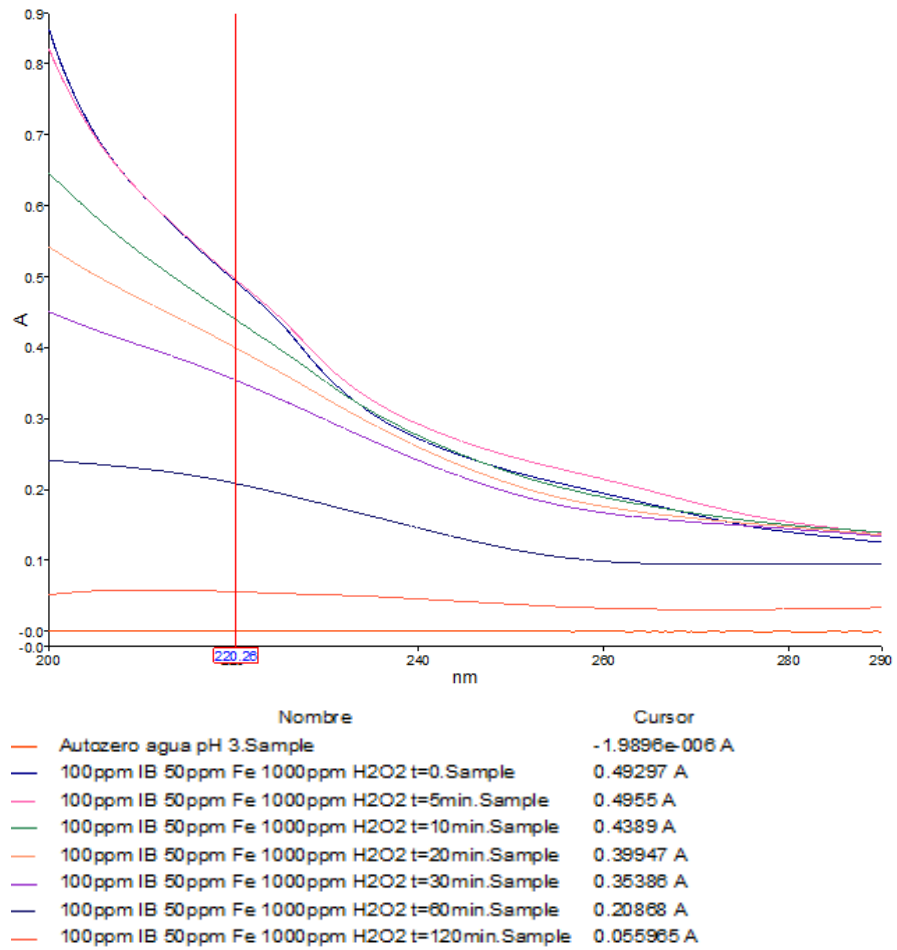
3.1.2.2. Ensayo de foto-Fenton con 50 mg/L Fe(II)

El último ensayo ha consistido en aumentar la concentración de Fe(II) hasta 50 mg/L manteniendo las relaciones Fe(II)/H₂O₂ utilizadas anteriormente (1:10, 1:20 y 1:30). El procedimiento experimental ha sido exactamente el mismo y los espectros de absorbancia obtenidos se muestran en la Gráfica 76, Gráfica 77 y Gráfica 78. Como era de esperar, al aumentar la concentración de Fe(II) y, por lo tanto, de H₂O₂ tanto la señal de IB a 220 nm como la de 256 nm prácticamente desaparecen, intuyéndose un hombro al final de la reacción.

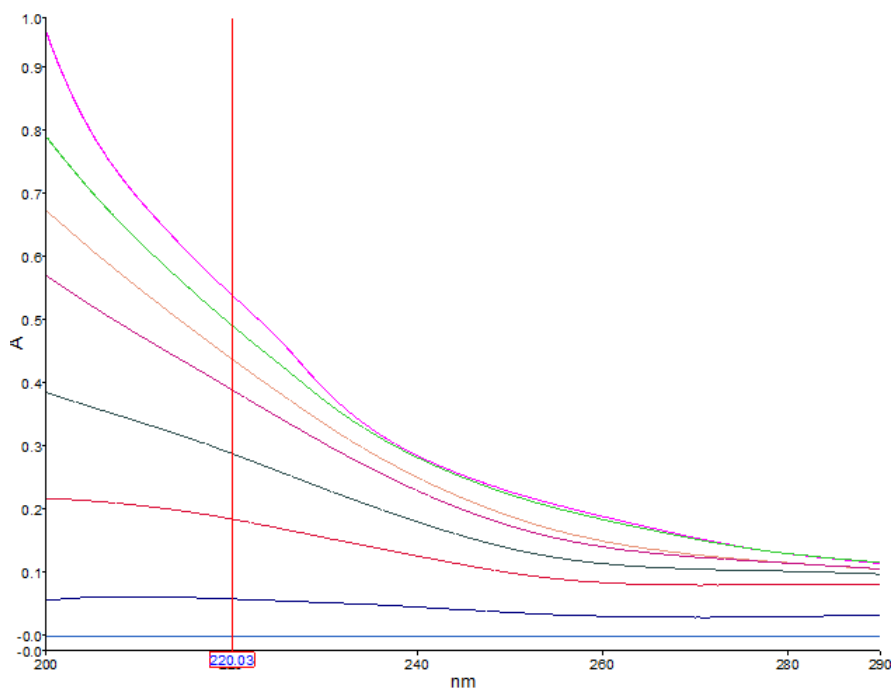


Nombre	Cursor
Autozero agua pH 3.Sample	1.2852e-006 A
100ppm IB 50ppm Fe 500ppm H2O2 t=0.Sample	0.48693 A
100ppm IB 50ppm Fe 500ppm H2O2 t=5min.Sample	0.4405 A
100ppm IB 50ppm Fe 500ppm H2O2 t=10min.Sample	0.4221 A
100ppm IB 50ppm Fe 500ppm H2O2 t=20min.Sample	0.3463 A
100ppm IB 50ppm Fe 500ppm H2O2 t=30min.Sample	0.33532 A
100ppm IB 50ppm Fe 500ppm H2O2 t=60min.Sample	0.25457 A
100ppm IB 50ppm Fe 500ppm H2O2 t=120min.Sample	0.083382 A

Gráfica 76. Monitorización de la eliminación de 100 mg/L de IB en agua UP mediante reacción foto-Fenton con 50 mg/L de Fe(II) y 500 mg/L de H₂O₂.



Gráfica 77. Monitorización de la eliminación de 100 mg/L de IB en agua UP mediante reacción foto-Fenton con 50 mg/L de Fe (II) y 1000 mg/L de H₂O₂.



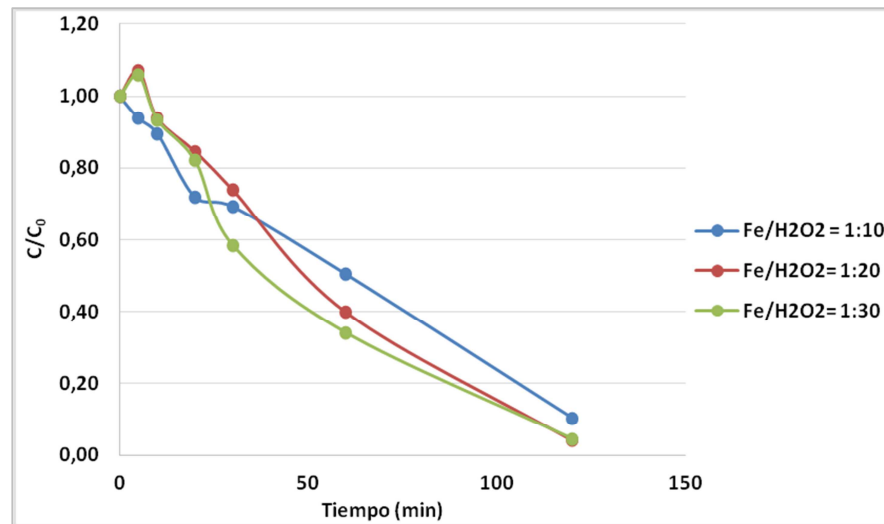
Nombre	Cursor
Autozero agua pH 3.Sample	1.2852e-006 A
100ppm IB 50ppm Fe 1500ppm H2O2 t=0.Sample	0.53955 A
100ppm IB 50ppm Fe 1500ppm H2O2 t=5min.Sample	0.4913 A
100ppm IB 50ppm Fe 1500ppm H2O2 t=10min.Sample	0.43809 A
100ppm IB 50ppm Fe 1500ppm H2O2 t=20min.Sample	0.38946 A
100ppm IB 50ppm Fe 1500ppm H2O2 t=30min.Sample	0.28852 A
100ppm IB 50ppm Fe 1500ppm H2O2 t=60min.Sample	0.18454 A
100ppm IB 50ppm Fe 1500ppm H2O2 t=120min.Sample	0.058242 A

Gráfica 78. Monitorización de la eliminación de 100 mg/L de IB en agua UP mediante reacción foto-Fenton con 50 mg/L de Fe(II) y 1500 mg/L de H₂O₂.

Como en ocasiones anteriores, se han transformado los espectros de absorbancia a 220 nm en concentraciones con la recta de calibrado (ver Capítulo IV.E, punto 1.5) y se han representado la evolución de las reacciones a lo largo del tiempo. Como se observa en la Gráfica 79, la reacción foto-Fenton se estabiliza rápidamente a los 10 min de ensayo y el IB comienza a degradarse. Se aprecia que la pendiente de las curvas es

muy pronunciada, de manera que el IB se elimina casi totalmente al finalizar el experimento.

Tras analizar las diferentes concentraciones de Fe(II) y de H₂O₂ se puede concluir que al aumentar la concentración de Fe(II) se acelera la reacción de degradación del IB, de manera más rápida cuanto mayor es la relación Fe(II)/H₂O₂. Sin embargo, para concentraciones de 5 mg/L de Fe(II) una relación Fe(II)/H₂O₂ de 1:10 es insuficiente para eliminar completamente el IB en 2 h de ensayo.



Gráfica 79. Degradación de 100 mg/L IB en agua UP mediante foto-Fenton con 50 mg/L de Fe(II) y diferentes concentraciones de H₂O₂.

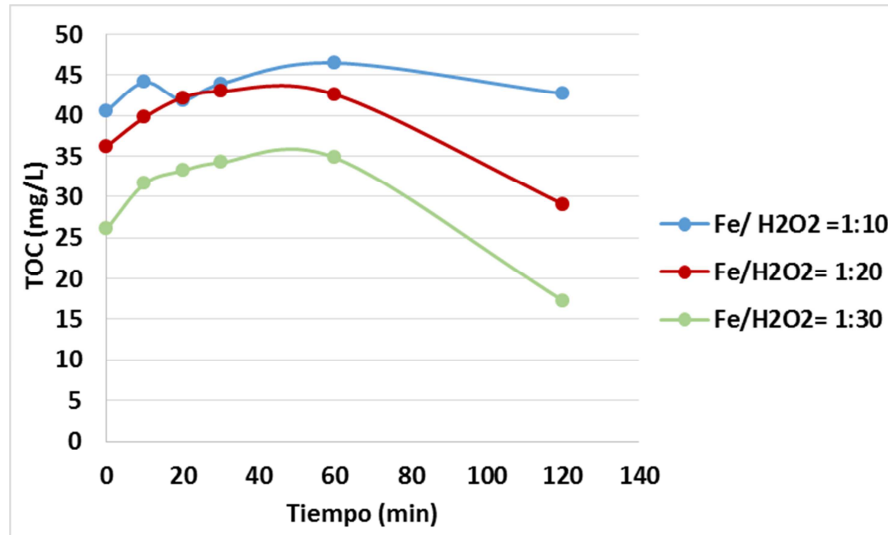
3.1.3. Seguimiento del carbono orgánico total

Con el objetivo de corroborar los resultados de eliminación de IB mediante otra técnica y, asimismo, comprobar si se generan otros compuestos orgánicos durante la reacción de foto-Fenton se ha realizado el seguimiento de la reacción por TOC. De esta forma, en cada toma de muestra de agua UP dopada con 100 mg/L de IB a pH 3 y con

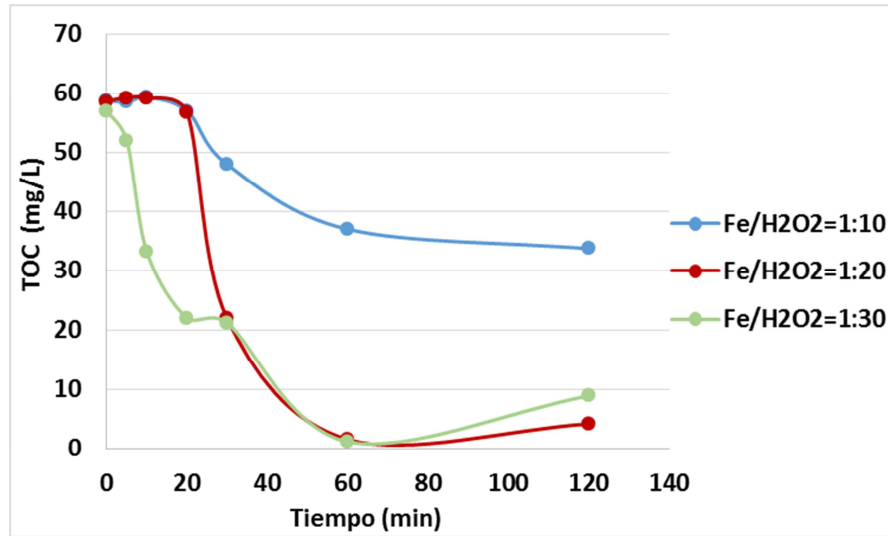
concentraciones de Fe(II) de 5 mg/L (Gráfica 80) y 25 mg/L (Gráfica 81) se ha determinado el TOC.

Al utilizar concentraciones bajas de Fe(II) como son 5 mg/L, independientemente de la relación Fe(II)/H₂O₂, no se consigue degradar todo el IB presente en la muestra al cabo de 120 min. De hecho, hasta los 60 min se están formando nuevos compuestos orgánicos, y a partir de este momento comienza la eliminación de contaminantes, aunque de manera muy lenta, sobre todo para la relación Fe(II)/H₂O₂ de 1:10 donde el descenso de la curva es inapreciable.

Cuando se utilizan concentraciones de Fe(II) de 25 mg/L en relaciones de Fe(II)/H₂O₂ de 1:10 y 1:20, el TOC permanece constante hasta los 30 min para luego eliminarse drásticamente; sobre todo en la relación 1:20, donde a los 60 min se han descompuesto los contaminantes orgánicos. Cuando se utiliza una relación Fe(II)/H₂O₂ de 1:30 la eliminación de los compuestos orgánicos se da desde el primer momento y finaliza también a los 60 min. Se aprecia un ligero aumento del TOC en las muestras tomadas al final de los experimentos, lo que indica que puedan estar formándose nuevos compuestos orgánicos.



Gráfica 80. Seguimiento del TOC durante el ensayo de foto-Fenton de 100 mg/L de IB en agua UP a pH 3 y 5 mg/L de Fe(II) con diferentes concentraciones de H₂O₂.



Gráfica 81. Seguimiento del TOC durante el ensayo de foto-Fenton de 100 mg/L de IB en agua UP a pH 3 y 25 mg/L de Fe(II) con diferentes concentraciones de H₂O₂.

De los ensayos realizados con el proceso foto-Fenton se puede concluir que con una concentración de Fe(II) de 25 mg/L y una relación Fe(II)/H₂O₂ de 1:30 se pueden eliminar 100 mg/L de IB en agua UP en un tiempo de exposición a la radiación UV de 2 h. En caso de que se desee disminuir este tiempo de reacción bastaría con aumentar la concentración de Fe(II) a 50 mg/L y, por lo tanto, de aumentar la concentración de H₂O₂.

3.2. Degradación de ibuprofeno en el influente de la planta de Baiña mediante foto-Fenton homogéneo

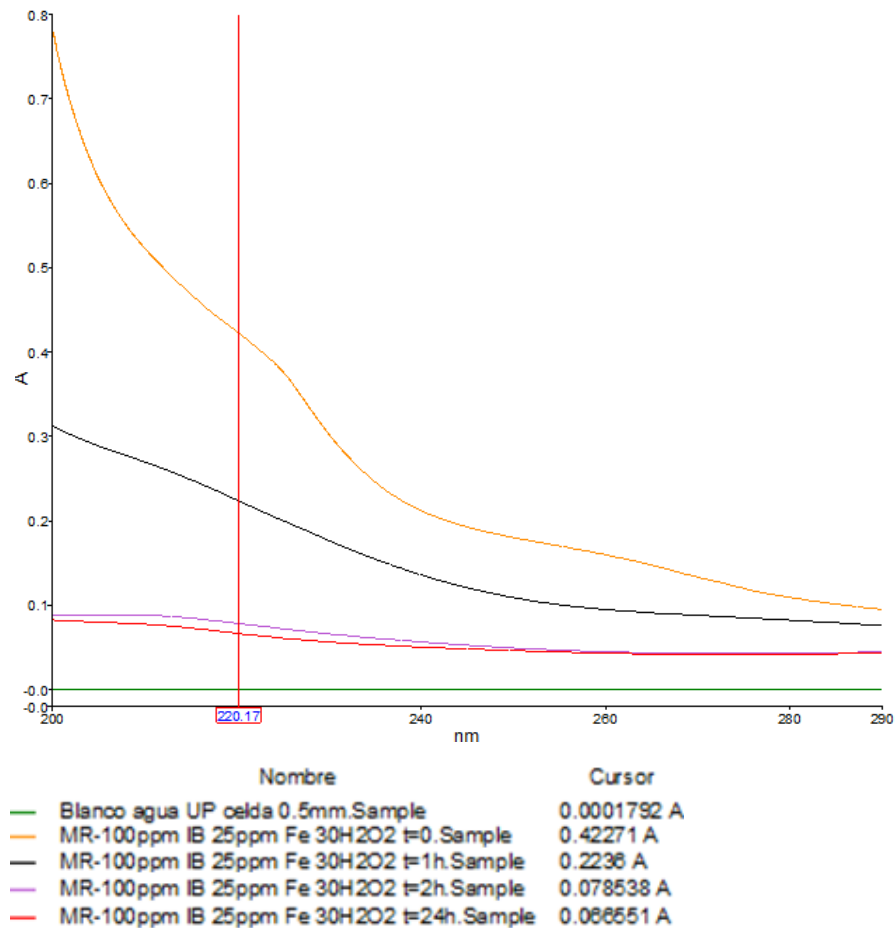
Una vez conocido el comportamiento de una muestra ideal de 100 mg/L de IB en agua UP cuando se somete a un procedimiento de oxidación avanzada mediante foto-Fenton, se ha realizado el mismo ensayo con el influente de la planta de Baiña.

El procedimiento seguido con la muestra real antes de someterla al dopaje con IB y su posterior ensayo de foto-Fenton ha sido el mismo que el descrito para el ensayo de fotocatalisis; es decir, la muestra ha sido descongelada de la misma forma y filtrada por una serie de filtros hasta el último filtrado con un filtro de 0,45 µm.

Tras ser filtrada, se ajusta el pH a 3 con H₂SO₄ (98%) y a continuación se añade la sal de Fe(II) y el H₂O₂ mientras se agita la disolución. Inmediatamente después, se encienden las lámparas UV y se mantiene la reacción aislada de la luz natural durante las siguientes 2 h. Se ha realizado el seguimiento de las condiciones óptimas en agua UP, es decir, 25 mg/L de Fe(II) y una relación Fe(II)/H₂O₂ de 1:30.

En la Gráfica 82 se muestran los espectros de absorbancia a lo largo del ensayo, centrandó la atención en 220 nm donde aparece la señal del IB. Como ya ocurría con agua UP, en lugar de una señal se aprecia un hombro que va desapareciendo con el tiempo. A las 2 h el hombro parece haber desaparecido. No obstante, se decide prolongar la reacción hasta

las 24 h para comprobar si realmente la eliminación del IB se ha completado. Efectivamente, se comprueba que el espectro de absorbancia a las 24 h es exactamente igual que a las 2 h.



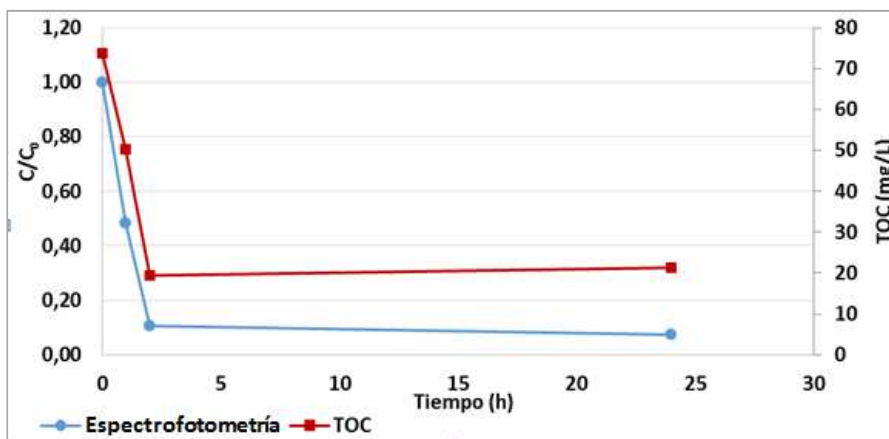
Gráfica 82. Espectros de absorbancia de la degradación fotocatalítica de una muestra del influente de Bañia a la que se ha añadido 100 mg/L de IB, 25 mg/L de Fe(II) y 750 mg/L de H₂O₂.

Para cuantificar la efectividad del proceso se ha realizado una recta de calibración con las muestras reales a pH 3 dopada con diferentes concentraciones de IB y una celda de 0,5 mm de paso óptico. La

construcción de la curva de calibración se detalla en el Capítulo IV.E, punto 2.2.

Al representar los valores de concentración de IB en las diferentes tomas de muestra realizadas a lo largo del tiempo (Gráfica 83), se comprueba que en la muestra de agua real al cabo de 2 h ya se ha eliminado el 90% de IB inicial y que transcurridas las 24 h queda un IB residual del 7%, por lo que se puede decir que a las 2 h el ensayo puede darse por finalizado.

En la misma gráfica se ha representado la evolución del TOC para comprobar si se están generando otros compuestos orgánicos y si el proceso foto-Fenton es capaz de eliminarlos. Como se puede observar la tendencia de la curva es similar a la obtenida por espectrofotometría, es decir, el TOC disminuye drásticamente en las 2 primeras horas y luego permanece constante hasta las 24 h, quedando un TOC de 20 mg/L que no consigue eliminar este proceso de oxidación.



Gráfica 83. Seguimiento mediante espectrofotometría y TOC de la degradación por foto-Fenton de una muestra del influente de Bañía a la que se ha añadido 100 mg/L de IB, 25 mg/L de Fe(II) y 750 mg/L de H₂O₂.

4. Tratamiento del influente de la planta de Baiña mediante combinación de fotocatalisis heterogénea y foto-Fenton homogéneo

La combinación de tratamientos es en algunas ocasiones la mejor alternativa para el tratamiento de aguas residuales. Por este motivo, se ha decidido combinar el proceso de fotocatalisis heterogénea con el de foto-Fenton homogéneo utilizando las condiciones óptimas obtenidas del estudio de ambos procesos por separado, es decir:

- Fotocatalisis: Se ha utilizado una concentración de TiO_2 de 100 mg/L
- Foto-Fenton: Se ha utilizado 25 mg/L de Fe(II) y una relación Fe(II)/ H_2O_2 de 1:30

Dado que el proceso foto-Fenton requiere de un pH ácido para llevarlo a cabo, se ha trabajado a pH 3 ajustado con H_2SO_4 . Del mismo modo, puesto que los compuestos que intervienen en la reacción de foto-Fenton intensifican la señal de absorbancia en el espectrofotómetro para poder realizar el seguimiento del proceso se dopará el agua del influente de la planta de Baiña con 100 mg/L de IB y se utilizará la celda de 0,5 mm de paso óptico.

La reacción se ha llevado a cabo, en primer lugar, con una muestra de 100 mL a escala laboratorio, para posteriormente escalar el proceso e introducirlo en un fotorreactor, que permite trabajar con 5 L de muestra real.

4.1. Combinación del tratamiento a pequeña escala

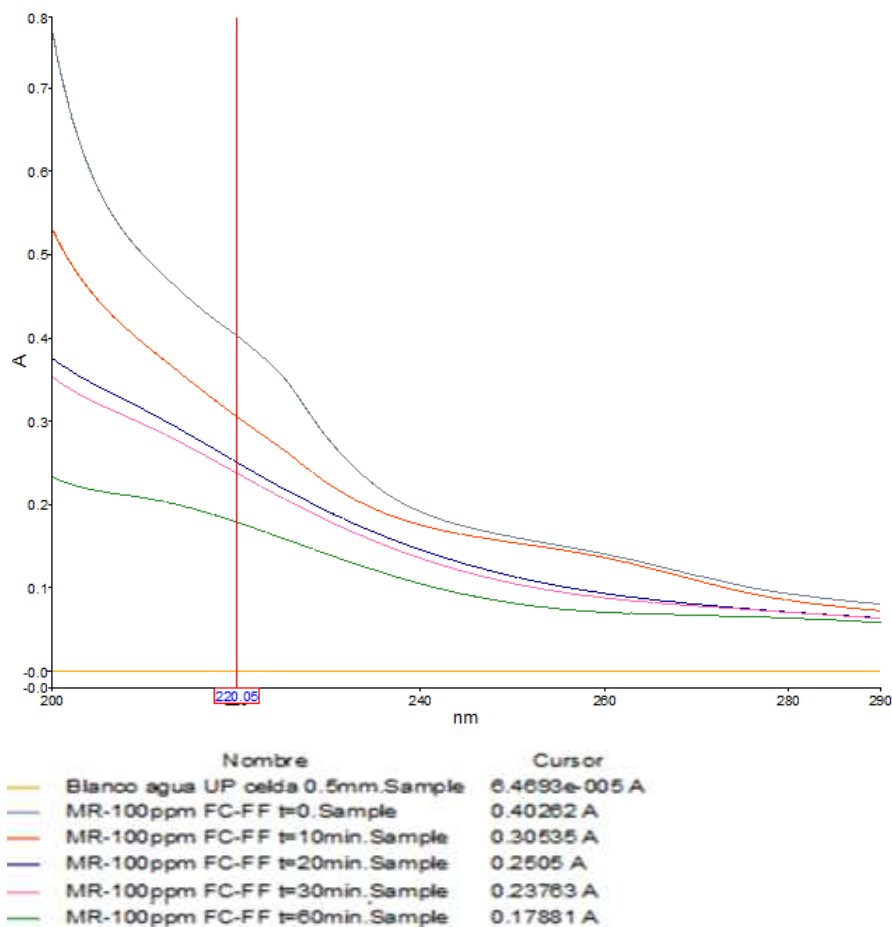
La muestra del influente de la planta de Baiña se descongela y filtra como se ha explicado en ensayos anteriores. A continuación, se acidifica hasta pH 3 y se toman 100 mL de muestra, a los que se añaden 25 mg/L de Fe(II) e inmediatamente después, con agitación, se adicionan 750

mg/L de H₂O₂. Finalmente, se añaden 100 mg/L de nanopartículas de TiO₂ y se encienden las dos lámparas UV. En este momento comienza la reacción de fotocátalisis y de foto-Fenton.

El ensayo se ha mantenido durante 2 h y se han ido tomando muestras inicialmente cada 10 min y luego se han espaciado las medidas hasta los 120 min. Cada muestra, antes de medirla por espectrofotometría, ha sido filtrada con un filtro de 0,22 μm para eliminar las nanopartículas de TiO₂.

Los espectros de absorbancia obtenidos durante la reacción se muestran en la Gráfica 84, donde se puede observar que la eliminación del IB a 220 nm tiene lugar rápidamente y a los 10 min ya se aprecia una caída considerable en la señal de absorbancia.

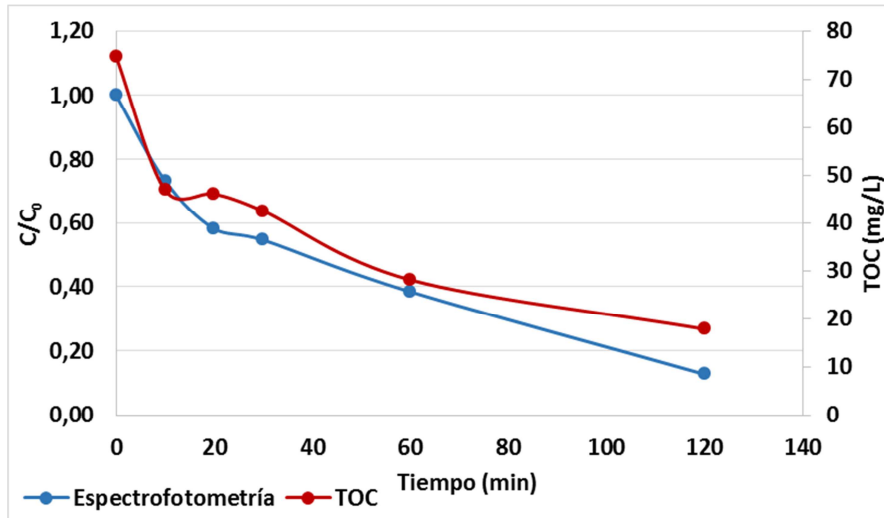
La combinación de ambos procesos de oxidación acelera de manera importante la degradación de contaminantes.



Gráfica 84. Espectros de absorbancia de la degradación mediante combinación de fotocatalisis y foto-Fenton de una muestra del influente de Bañia a la que se ha añadido 100 mg/L de IB.

Para comprobar este hecho se han transformado los resultados de espectrofotometría en concentraciones (Capítulo IV.E, punto 2.2), y se han representado en la Gráfica 85. Se aprecia claramente que la velocidad de eliminación de IB es superior a la que se obtenía en los procesos de fotocatalisis y foto-Fenton por separado. De hecho a los 30 min se ha eliminado el 50% del IB inicial y a los 120 min se ha eliminado el 90%.

Paralelamente y en la misma Gráfica se han representado los datos de TOC que se han ido analizando en cada toma de muestra. La tendencia de la curva de TOC es similar a la obtenida por espectrofotometría, por lo que la combinación de ambos procesos degrada no solo el IB sino también el resto de componentes orgánicos que presenta la muestra de agua real procedente del influente de la planta. Aun así, al finalizar el ensayo siguen quedando unos 17 mg/L de componente orgánico en la muestra, es decir, se requeriría más tiempo para su completa desaparición.



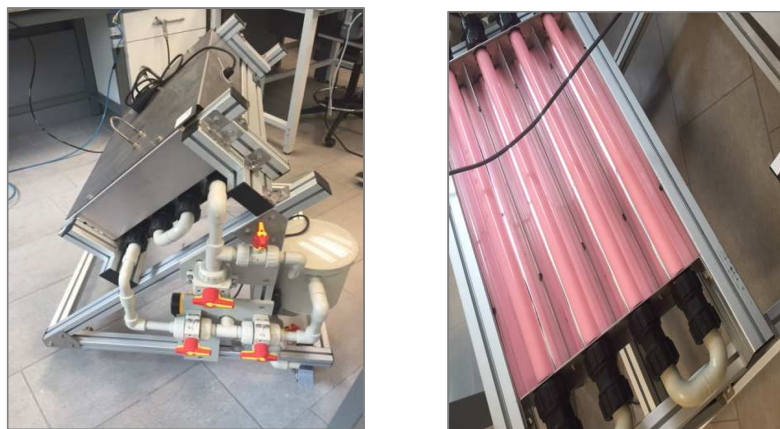
Gráfica 85. Seguimiento mediante espectrofotometría y TOC de la degradación por combinación de fotocatalisis y foto-Fenton de una muestra del influente de Bañia a la que se ha añadido 100 mg/L.

4.2. Combinación del tratamiento a escala intermedia con un fotorreactor

Una vez comprobada la eficiencia de la combinación de ambos procesos de oxidación para acelerar la eliminación de contaminantes emergentes, se ha extrapolado este proceso a una escala intermedia utilizando un volumen de muestra de 5 L. El procedimiento experimental

seguido en la preparación de la muestra ha sido exactamente el mismo que el descrito en el apartado anterior para el ensayo a escala de laboratorio.

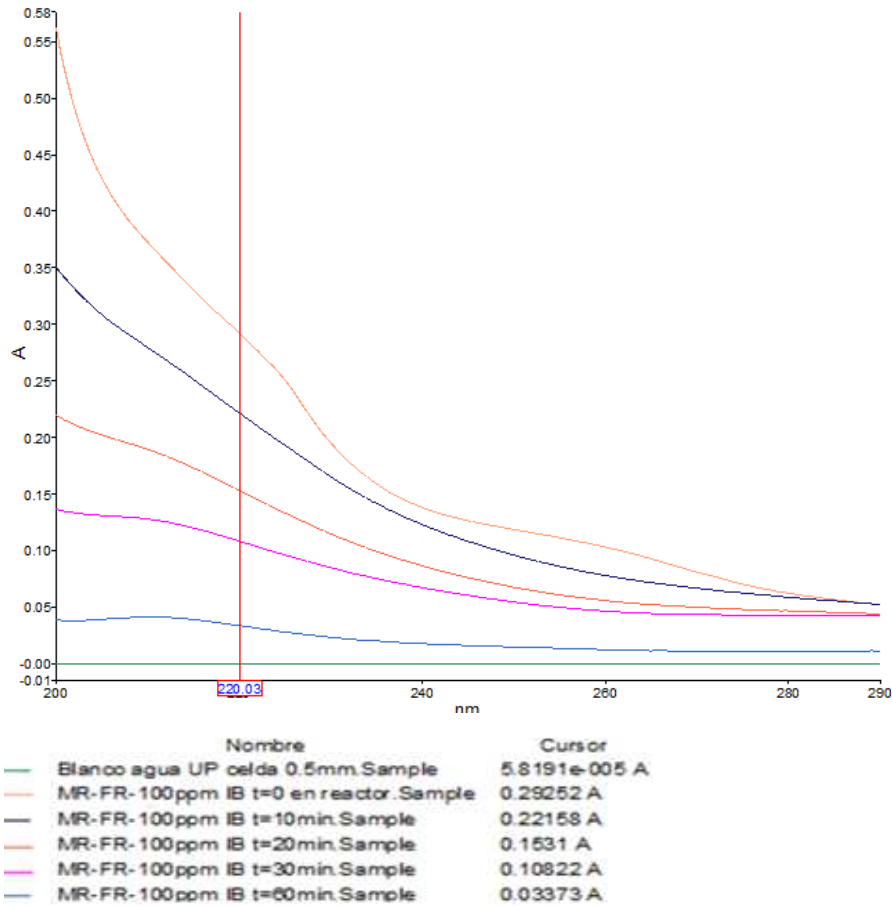
El fotorreactor utilizado para el ensayo es el que se muestra en la Fotografía 13. El reactor está conformado por 4 tubos de borosilicato de 32 mm de diámetro y 750 mm de largo. Se encuentra fijo a una inclinación de 45°. Trabaja como reactor en flujo pistón y los 4 tubos están conectados en serie. El líquido a tratar se aloja en un tanque de polipropileno de 6,6 L que actúa como tanque agitado continuo. El llenado de los tubos se realiza con una bomba y una serie de válvulas que permiten regular el caudal. La radiación UV es emitida por 4 lámparas de 8,5 W de potencia que iluminan 0,25 m² de superficie.



Fotografía 13. Fotorreactor.

Tras cargar el fotorreactor con la muestra, se encienden las lámparas UV y se da comienzo al ensayo. Cada 10 min se coge una muestra del tanque en el que se está recirculando la muestra y tras ser filtrada con un filtro de 0,22 μm se mide la absorbancia por espectrofotometría. Los espectros se recogen en la Gráfica 86, donde se aprecia como el hombro del IB que aparece a 220 nm va desapareciendo a medida que transcurre

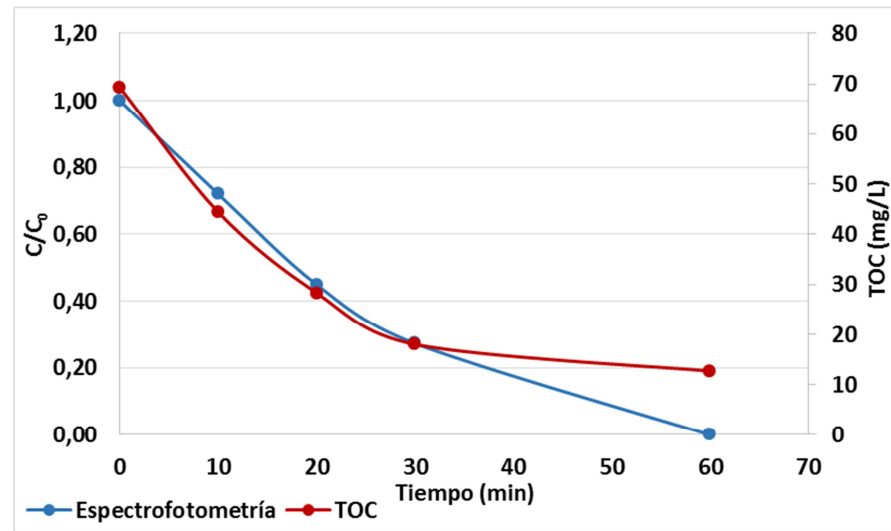
el ensayo. A los 60 min el espectro es similar al del agua utilizada para hacer el blanco, por lo que se podría decir que se ha eliminado el IB por completo.



Gráfica 86. Espectros de absorbancia de la degradación de 5 L de una muestra del influente de Baiña dopada con 100 mg/L de IB mediante de combinación de fotocátalisis y foto-Fenton.

Como se ha venido haciendo en todos los ensayos mediante la curva de calibrado (Capítulo IV.E, punto 2), se extrapolan los valores de absorbancia a concentraciones y se recogen en la Gráfica 87. Del mismo modo, a cada muestra medida por espectrofotometría se ha realizado un

TOC cuyo seguimiento también aparece representado. En ambos casos, al inicio del proceso la pendiente de la curva es la misma, por lo que se concluye que la velocidad de eliminación del IB y del resto de componentes orgánicos es muy rápida. Así a los 60 min de ensayo ya se ha eliminado totalmente el IB, mientras que el TOC tiene un valor de 12 mg/L. El hecho de que en el fotorreactor el IB de la muestra se elimine más rápidamente puede deberse a que la potencia de la lámparas UV es mayor que en el proceso a escala pequeña, lo que acelera la descomposición de contaminantes.



Gráfica 87. Seguimiento mediante espectrofotometría y TOC de la degradación 5 L de una muestra del influente de Bañia dopada con 100 mg/L de IB por combinación de fotocatalisis y foto-Fenton.

5. Contaminantes microbiológicos

Como consecuencia de que sólo se han realizado los análisis de oxidación avanzada con las muestras del influente de la planta, no se han podido analizar los efectos que los procesos de oxidación avanzada producen en los parámetros microbiológicos.

Fase IV

IV.D. Conclusiones

Las principales conclusiones que se obtienen de los dos procesos avanzados de oxidación utilizados para la eliminación de contaminantes emergentes y, concretamente, de ibuprofeno en el influente de la planta de Baiña son las siguientes:

- La espectrofotometría es una técnica adecuada para la monitorización de los procesos de eliminación de contaminantes emergentes como son la fotocatalisis heterogénea y el foto-Fenton homogéneo.
- La mínima concentración de ibuprofeno detectable por el espectrofotómetro es de 0,5 mg/L en la muestra y con celda de 10 mm de paso óptico para la fotocatalisis y de 1 mg/L en la muestra del influente de Baiña y con celda de 0,5 mm de paso óptico para el foto-Fenton.
- En el caso de la fotocatalisis heterogénea utilizando nanopartículas de TiO_2 como catalizador, el ibuprofeno se elimina más rápidamente al aumentar la concentración de catalizador. No obstante, transcurridas 24 h con una concentración de 10 mg/L de TiO_2 no se consigue descomponer ni el 10% del ibuprofeno inicial de la muestra. Para la completa eliminación del ibuprofeno en 24 h se requieren como mínimo 50 mg/L de TiO_2 para una concentración inicial de 20 mg/L de ibuprofeno.

- El seguimiento del proceso de fotocátalisis heterogénea en una muestra del influente de Baiña dopada con 20 mg/L de ibuprofeno indica que a pesar de que se consigue eliminar completamente el ibuprofeno en 24 h, el TOC pone de manifiesto que solamente se descompone el 40% de compuestos orgánicos que contenía la muestra inicial. Por tanto, para eliminar completamente los compuestos orgánicos se requiere más tiempo o mayor concentración de catalizador (>100 mg/L).
- El pH óptimo para la reacción de fotocátalisis es el pH original de la muestra sin modificar, aproximadamente de 6-7; la eficiencia del proceso de fotocátalisis es mayor que con pH ácido (pH 3) o básico (pH 9). Además, es más sencillo de llevar a cabo al no necesitar ningún ajuste de pH que pueda generar otros compuestos desconocidos.
- En el proceso de oxidación avanzada mediante foto-Fenton homogéneo, al aumentar la concentración de Fe(II) se acelera la reacción de degradación del ibuprofeno, y de manera más rápida cuanto mayor es la relación Fe(II)/H₂O₂. De hecho, con una concentración de Fe(II) de 25 mg/L y una relación Fe(II)/H₂O₂ de 1:30 se pueden eliminar 100 mg/L de ibuprofeno en agua UP en un tiempo de exposición a la radiación UV de 2 h. Para disminuir este tiempo bastaría con aumentar la concentración de Fe(II) a 50 mg/L y, por lo tanto, de aumentar la concentración de H₂O₂.
- Los resultados del TOC para el proceso foto-Fenton revelan que a pesar de que la tendencia de la curva es similar a la obtenida por espectrofotometría, el TOC disminuye drásticamente en las 2 primeras horas de ensayo y luego permanece constante hasta el final del ensayo (24 h), quedando un TOC de 20 mg/L que no se consigue eliminar. Puede haber ocurrido que el H₂O₂ haya

reaccionado completamente y la concentración sea insuficiente para eliminar completamente los compuestos orgánicos.

- La combinación de los dos procesos de oxidación estudiados (fotocatálisis y foto-Fenton) a escala de laboratorio muestran que la velocidad de eliminación de ibuprofeno es superior a la que se obtiene en los procesos por separado. De hecho, a los 120 min se degrada el 90% del ibuprofeno inicial. Con el TOC la tendencia es la misma, y al finalizar el ensayo siguen quedando unos 17 mg/L de componente orgánico en la muestra. Esto se conseguiría eliminar ampliando el tiempo de ensayo.
- Se ha escalado la combinación de ambos procesos en un fotorreactor de 5 L, eliminándose completamente el ibuprofeno inicial de una muestra del influente de Baña (dopada con 100 mg/L de ibuprofeno) en tan sólo 60 min.

IV.E. Parte experimental

Mediante espectrofotometría UV/Vis (Perkin Elmer Lambda 950) se va a monitorizar el contenido de ibuprofeno tras someter la muestra a tratamientos de fotocatalisis con nanopartículas de TiO₂ (Aeroxide P25) y tratamientos de oxidación avanzada mediante proceso de foto-Fenton homogéneo.

Para poder relacionar los valores de absorbancia obtenidos con concentraciones de ibuprofeno es necesario construir rectas de calibrado en las mismas condiciones en las que se van a realizar las reacciones.

En el caso del agua ultrapura se han calculado las rectas de calibración a diferentes pHs (3, 6 y 9), siendo en todos los casos la concentración independiente del pH. En el caso del influente de la planta de Baiña se realizarón las curvas de calibración a pH 3 con celda de 0,5 mm y pH 6 con celda de 10 mm.

1. Recta de calibrado del ibuprofeno en agua ultrapura

El procedimiento experimental seguido ha consistido en preparar una disolución inicial de 100 mg/L de ibuprofeno sódico e ir haciendo diluciones de la misma hasta la concentración mínima que el equipo pueda medir.

El rango de longitud de onda a estudiar es de 200-290 nm, puesto que tras realizar una revisión bibliográfica se estima que la banda de absorción de ibuprofeno aparece a 222 nm.

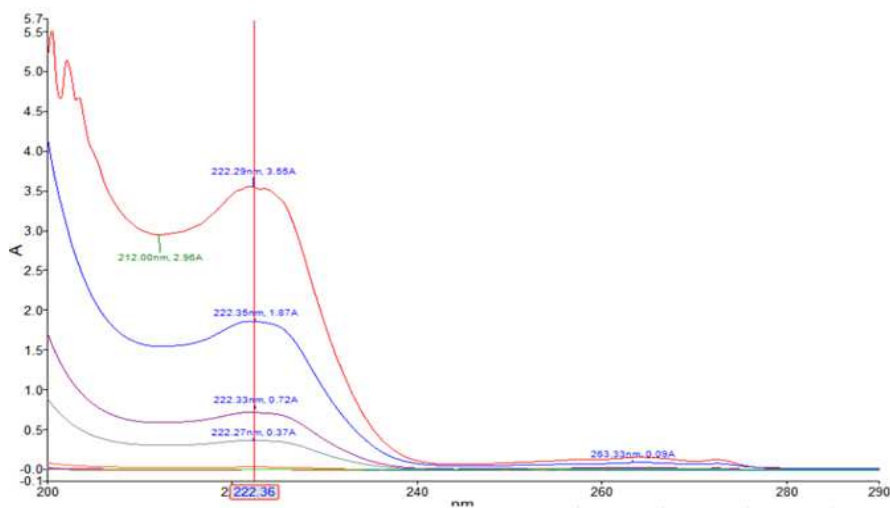
1.1. Recta de calibrado del ibuprofeno en agua ultrapura con celda de 10 mm a pH 6

La celda seleccionada para medir la muestra de agua es una celda de cuarzo (material que no absorbe en el UV/Vis) de 10 mm de paso óptico. Estas son las celdas habituales utilizadas para medidas de líquidos transparentes. El scan de medida (ancho de banda espectral) es de 0,5 nm con un slit (apertura, anchura del haz de luz) de 1,5 nm.

En la Gráfica 88 se resumen los espectros obtenidos a diferentes concentraciones de IB partiendo de 100 mg/L y llegando a 50 µg/L. Tal y como se esperaba, el IB presenta una banda de absorción a 222 nm.

Como se puede apreciar a 100 mg/L la señal cerca de los 200 nm ya empieza a saturarse, por lo que para trabajar a concentraciones más elevadas debería utilizarse una celda con un paso óptico menor.

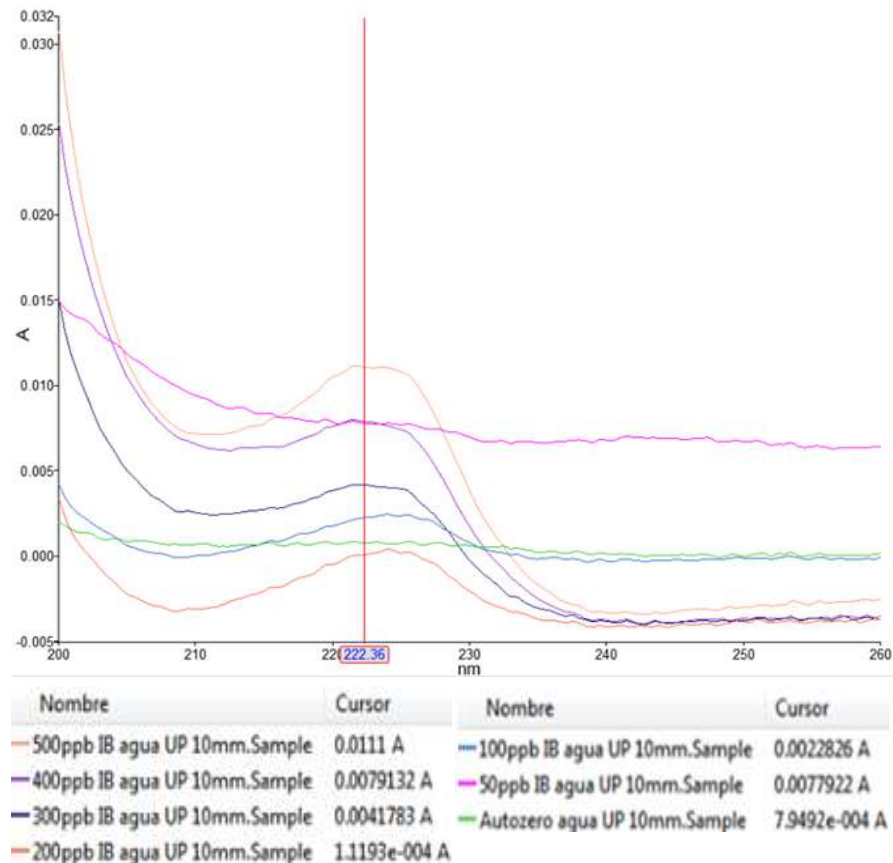
Fase IV



Nombre	Cursor	Nombre	Cursor
100ppm IB agua UP 10mm.Sample	3.5506 A	400ppb IB agua UP 10mm.Sample	0.0079132 A
50ppm IB agua UP 10mm.Sample	1.8656 A	300ppb IB agua UP 10mm.Sample	0.0041783 A
20ppm IB agua UP 10mm.Sample	0.7207 A	200ppb IB agua UP 10mm.Sample	1.1193e-004 A
10ppm IB agua UP 10mm.Sample	0.37062 A	100ppb IB agua UP 10mm.Sample	0.0022826 A
1ppm IB agua UP 10mm.Sample	0.03453 A	50ppb IB agua UP 10mm.Sample	0.0077922 A
500ppb IB agua UP 10mm.Sample	0.0111 A	Autozero agua UP 10mm.Sample	7.9492e-004 A

Gráfica 88. Estudio de la absorbancia a diferentes concentraciones de ibuprofeno a pH 6 con una celda de 10 mm.

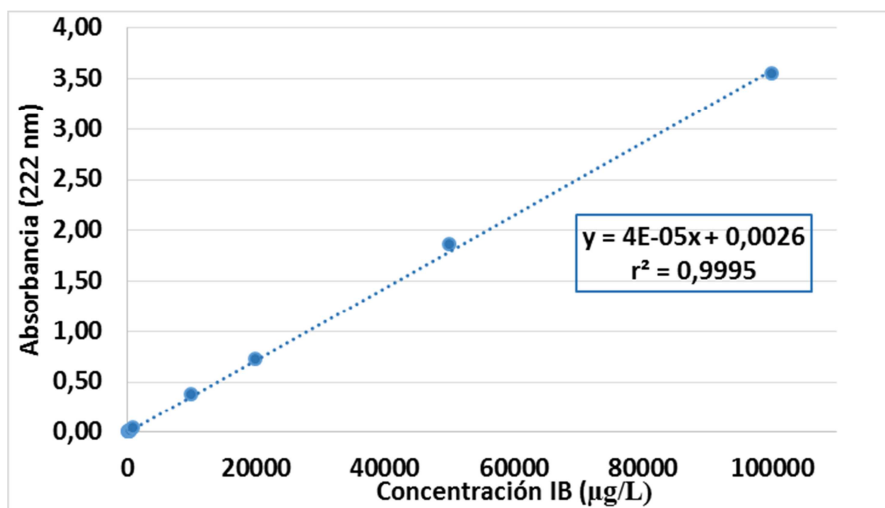
Del mismo modo, se ha estudiado cual es la concentración mínima de IB que se puede determinar con esta técnica. Si se analiza la Gráfica 89 se puede apreciar que para concentraciones inferiores a 100 $\mu\text{g/L}$ las medidas dejan de ser fiables, puesto que dejan de perder la tendencia que tenían en lo que a la señal de IB a 222 nm se refiere y empiezan a adquirir el mismo aspecto de línea sin curva del agua UP. En algún caso, como es en 50 $\mu\text{g/L}$, la curva queda por debajo del espectro del agua UP, incluso llega a alcanzar valores negativos. Estos resultados llevan a concluir que la concentración mínima que se puede determinar mediante este método y con esta celda de 10 mm de paso óptico es 100 $\mu\text{g/L}$.



Gráfica 89. Estudio de la absorbancia a diferentes concentraciones de ibuprofeno a pH 6 con una celda de 10 mm a escala de $\mu\text{g/L}$.

Fase IV

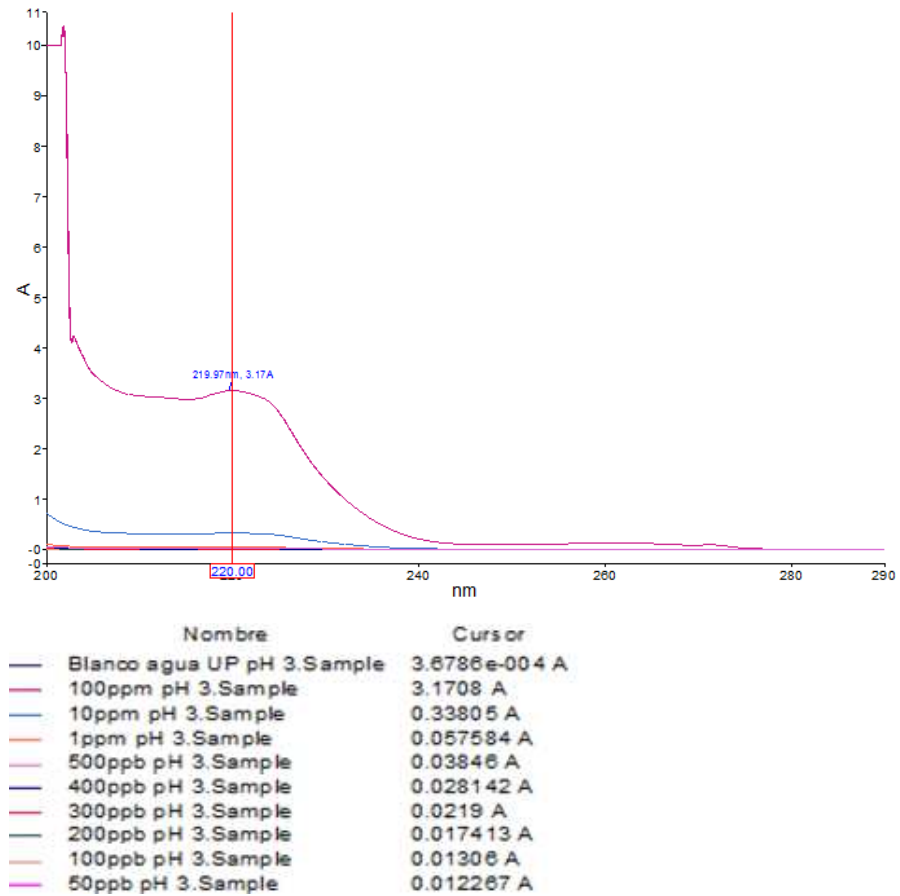
La Gráfica 90 muestra dicha recta de calibrado, cuya tendencia es claramente lineal ($r^2=0.9995$) tal y como se podía apreciar en los espectros.



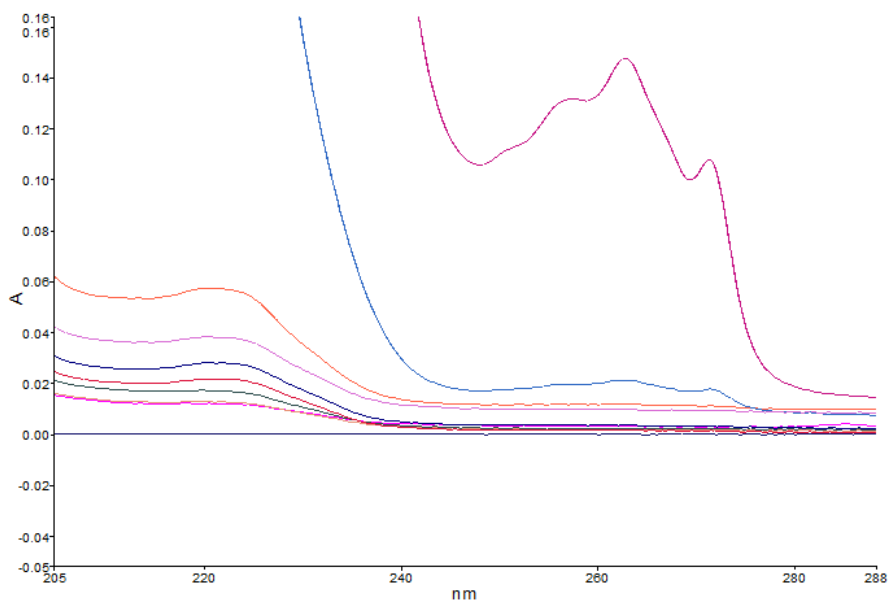
Gráfica 90. Recta de calibración del IB en agua UP con una celda de 10 mm a pH 6.

1.2. Recta de calibrado del ibuprofeno en agua ultrapura con celda de 10 mm a pH 3

A lo largo del proyecto se va a trabajar con muestras de agua UP a pH 3, por lo que es necesario realizar una recta de calibrado con diferentes concentraciones de IB en estas condiciones. En la Gráfica 91 se observan los espectros obtenidos a diferentes concentraciones de IB y en la Gráfica 92 se recoge una ampliación de la figura anterior para poder visualizar los espectros a escala µg/L. Se han realizado medidas desde 100 mg/L a 50 µg/L.



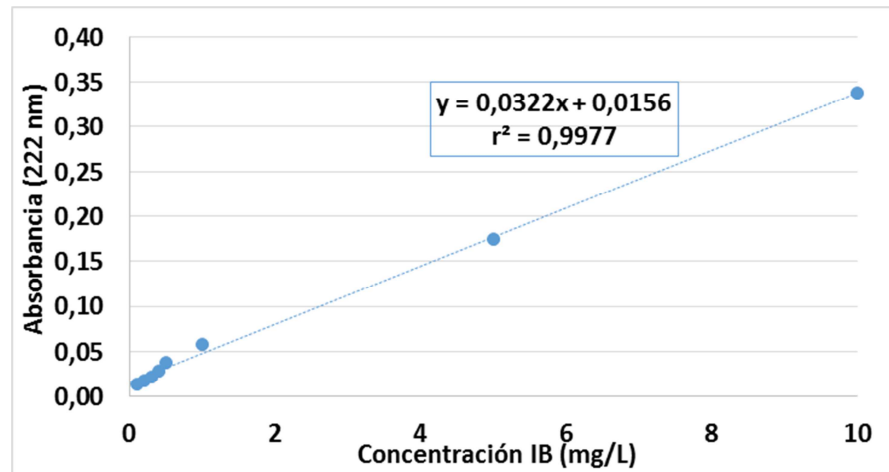
Gráfica 91. Estudio de la absorbancia a diferentes concentraciones de ibuprofeno a pH 3 con una celda de 10 mm.



Nombre	Cursor
Blanco agua UP pH 3.Sample	3.6786e-004 A
100ppm pH 3.Sample	3.1708 A
10ppm pH 3.Sample	0.33805 A
1ppm pH 3.Sample	0.057584 A
500ppb pH 3.Sample	0.03846 A
400ppb pH 3.Sample	0.028142 A
300ppb pH 3.Sample	0.0219 A
200ppb pH 3.Sample	0.017413 A
100ppb pH 3.Sample	0.01306 A
50ppb pH 3.Sample	0.012267 A

Gráfica 92. Estudio de la absorbancia a diferentes concentraciones de ibuprofeno a escala de $\mu\text{g/L}$ a pH 3 con una celda de 10 mm (escala ampliada).

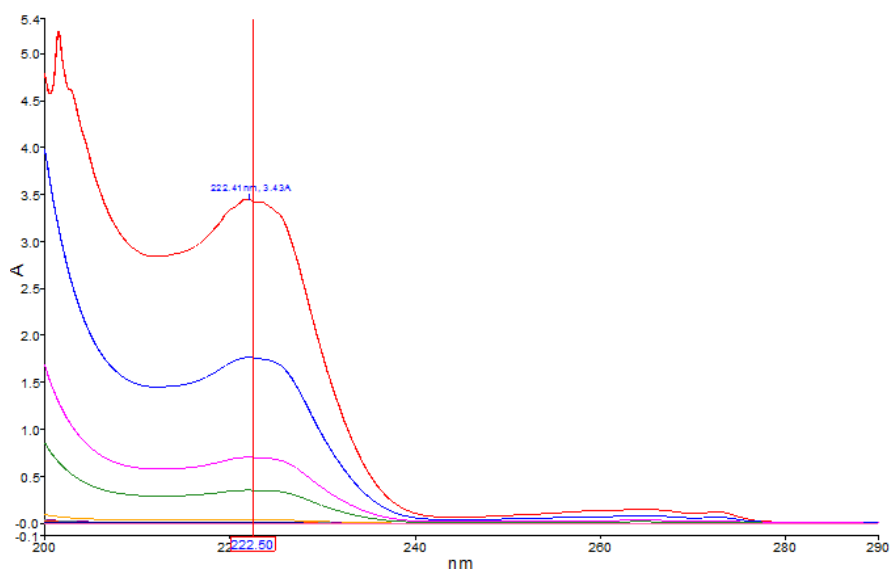
Representando los valores de absorbancia a 222 nm, que es cuando aparece la señal del IB para cada una de las concentraciones de IB analizadas, se obtiene la recta de calibración de la Gráfica 93.



Gráfica 93. Recta de calibración del ibuprofeno en agua UP con una celda de 10 mm a pH 3.

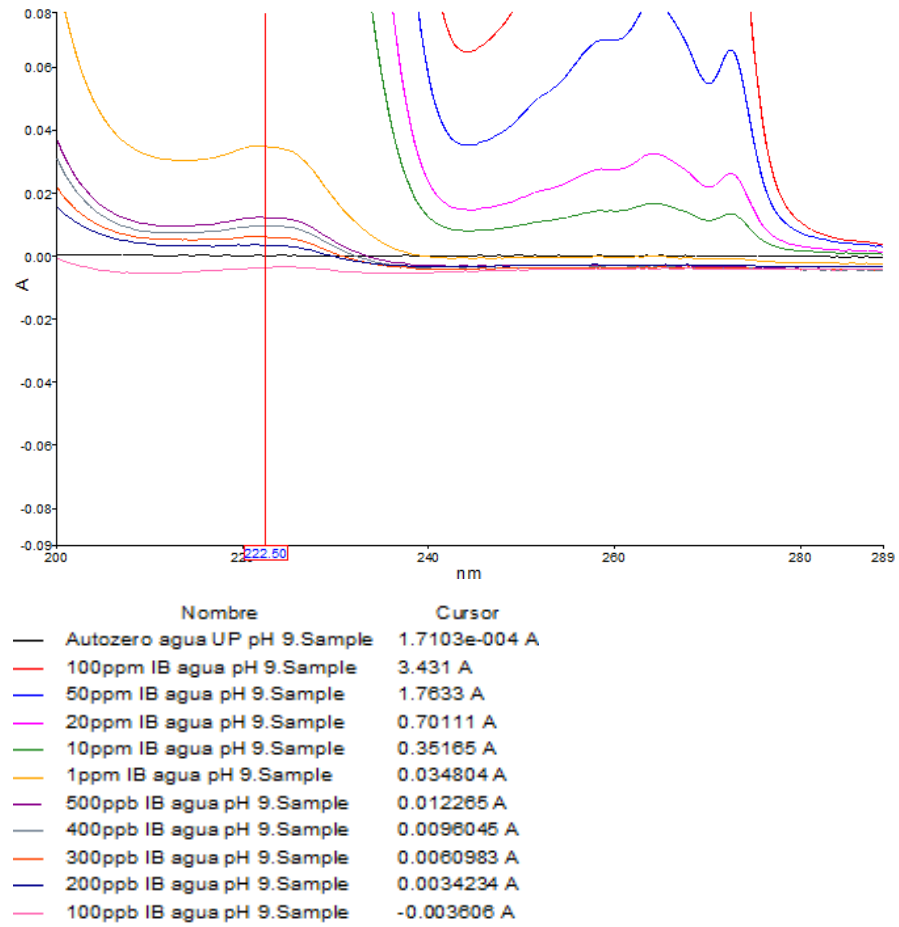
1.3. Recta de calibrado del ibuprofeno en agua ultrapura con celda de 10 mm a pH 9

Para realizar la recta de calibrado a pH 9 el procedimiento ha sido el mismo, pero utilizando agua UP basificada con NaOH (50%) hasta llegar a pH 9. Posteriormente, se han adicionado 100 mg/L de IB y se han realizado diluciones de esa disolución inicial para obtener las diferentes concentraciones de estudio. Los espectros de absorbancia obtenidos se muestran en la Gráfica 94 y Gráfica 95. Se observa que por debajo de 200 $\mu\text{g/L}$ la medida se hace imposible, ya que, por ejemplo, el espectro de 100 $\mu\text{g/L}$ de IB queda por debajo de la línea del blanco de agua UP.



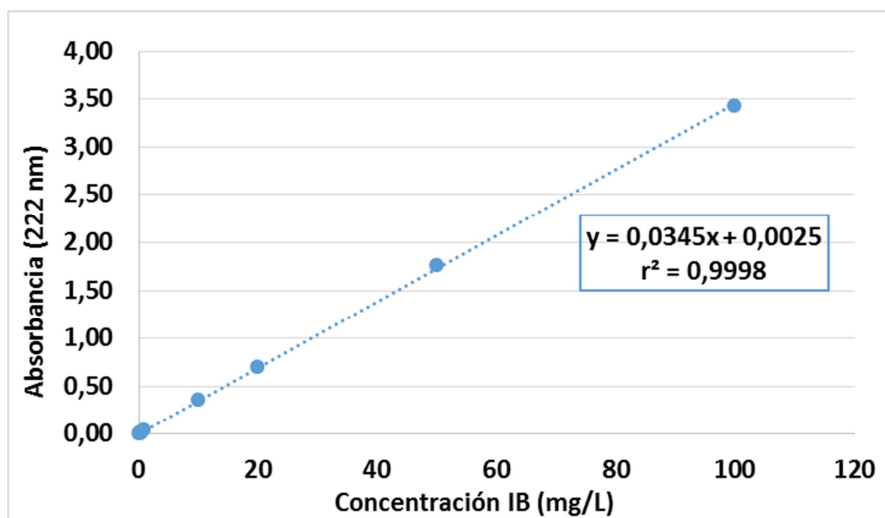
Nombre	Cursor
Autozero agua UP pH 9.Sample	1.7103e-004 A
100ppm IB agua pH 9.Sample	3.431 A
50ppm IB agua pH 9.Sample	1.7633 A
20ppm IB agua pH 9.Sample	0.70111 A
10ppm IB agua pH 9.Sample	0.35165 A
1ppm IB agua pH 9.Sample	0.034804 A
500ppb IB agua pH 9.Sample	0.012265 A
400ppb IB agua pH 9.Sample	0.0096045 A
300ppb IB agua pH 9.Sample	0.0060983 A
200ppb IB agua pH 9.Sample	0.0034234 A
100ppb IB agua pH 9.Sample	-0.003606 A

Gráfica 94. Estudio de la absorbancia a diferentes concentraciones de ibuprofeno a pH 9 con una celda de 10 mm.



Gráfica 95. Estudio de la absorbancia a diferentes concentraciones de ibuprofeno a escala de $\mu\text{g/L}$ a pH 9 con una celda de 10 mm (escala ampliada).

Con los valores de absorbancia a 222 nm se obtiene la recta de calibrado para pH 9 (Gráfica 96).



Gráfica 96. Recta de calibración del ibuprofeno en agua UP con una celda de 10 mm a pH 9.

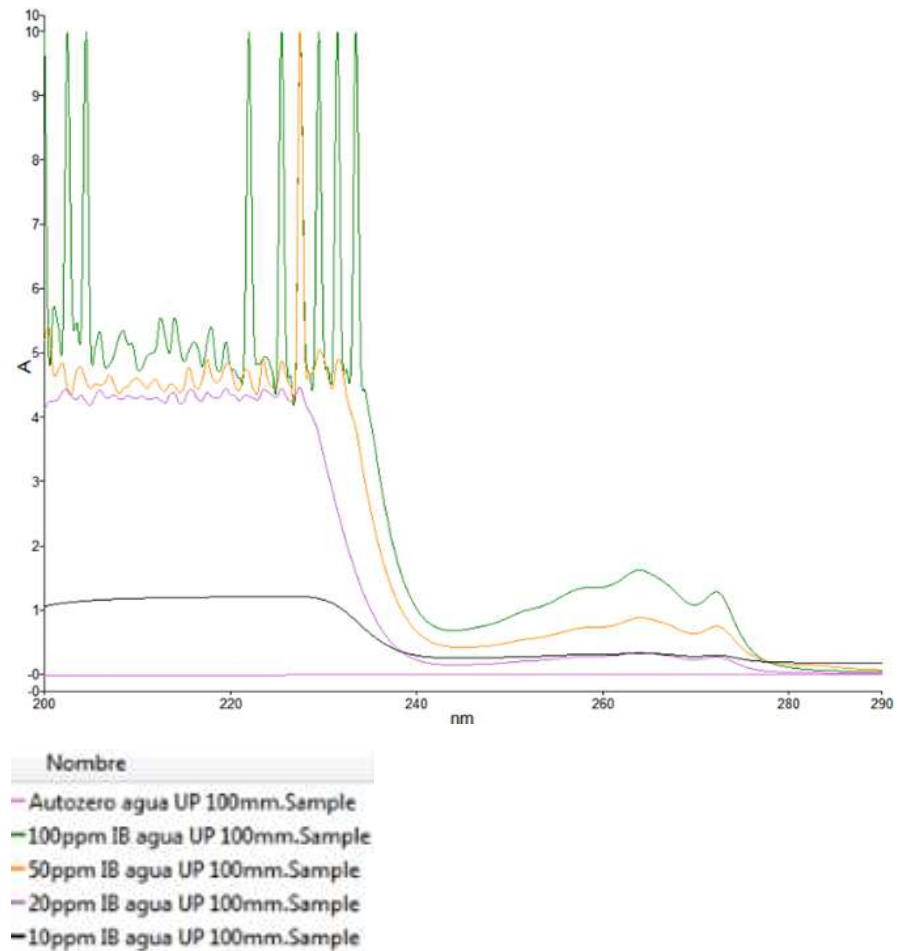
1.4. Recta de calibrado del ibuprofeno en agua ultrapura con celda de 100 mm a pH 6

Conocidas las limitaciones de la celda de 10 mm en cuanto a la mínima concentración que se puede determinar con ella (que es de 100 $\mu\text{g/L}$) y, dado que la muestra real contiene mucho menos cantidad de IB, se ha decidido repetir la recta de calibración con una celda que posea un paso óptico mayor, concretamente de 100 mm. De esta forma se prevé poder llegar a analizar muestras con menor contenido en IB.

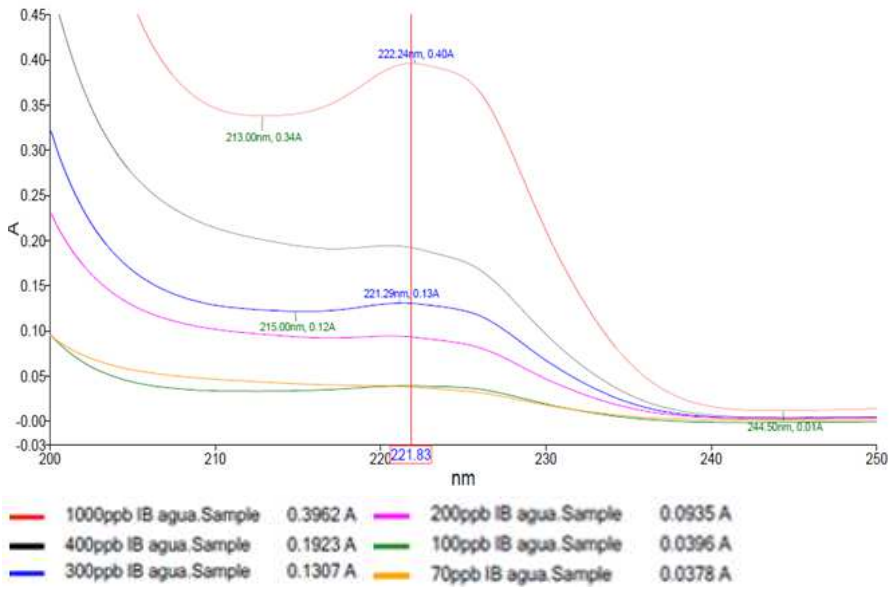
En lo que respecta a la máxima concentración que se puede determinar, tal y como se observa en la Gráfica 97, para concentraciones superiores a 10 mg/L la señal se satura y la banda de absorción del IB no se identifica.

Por otro lado, esta celda permite llegar a apreciar concentraciones más bajas de IB como se recoge en la Gráfica 98, donde se observa cómo la banda del IB a 222 nm va disminuyendo a medida que la

concentración disminuye. Sin embargo, para concentraciones por debajo de 70 $\mu\text{g/L}$ los espectros se sitúan por debajo del espectro del agua UP (Gráfica 99), mostrando valores negativos, por lo que se puede concluir que la celda de 100 mm no permite determinar concentraciones menores de 70 $\mu\text{g/L}$ de IB en agua UP.

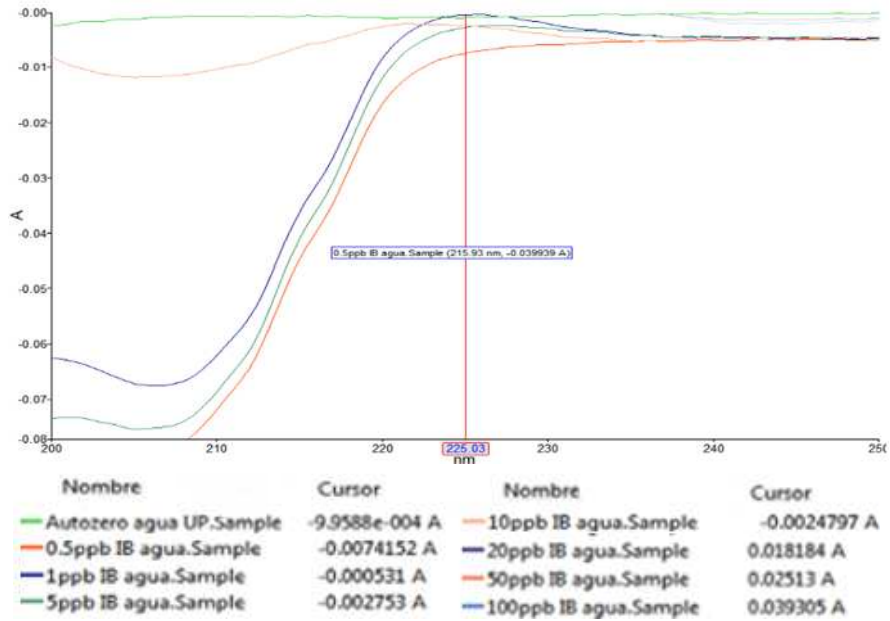


Gráfica 97. Espectro de absorción del IB para concentraciones entre 10-100 mg/L a pH 6 con una celda de 10 mm.



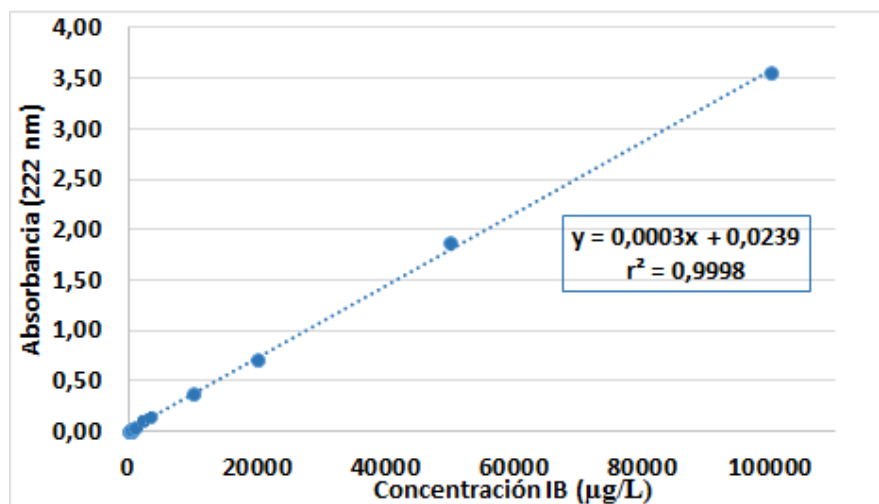
Gráfica 98. Espectros de absorción del ibuprofeno para concentraciones entre 70-400 µg/L a pH 6 con una celda de 100 mm.

Fase IV



Gráfica 99 Espectros de absorción del ibuprofeno para concentraciones entre 0,5-10 µg/L a pH 6 con una celda de 100 mm.

Del mismo modo que para la celda de 10 mm, se ha realizado una recta de calibración con los valores de altura de la señal a 222 nm de cada uno de los espectros obtenidos (Gráfica 100). La tendencia de la misma, igual que en el caso anterior, es totalmente lineal.

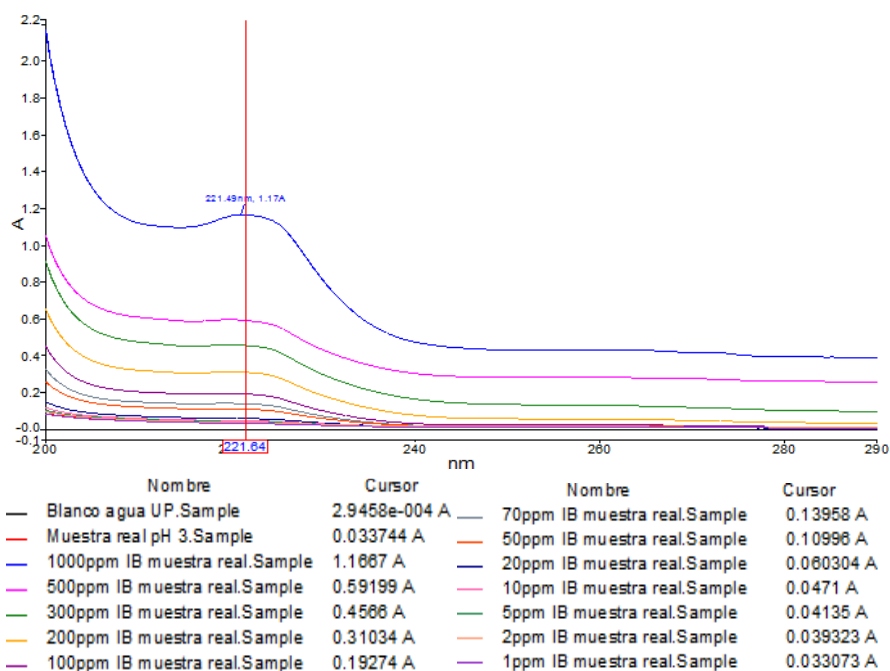


Gráfica 100. Recta de calibración del ibuprofeno en agua UP con una celda de 100 mm a pH 6.

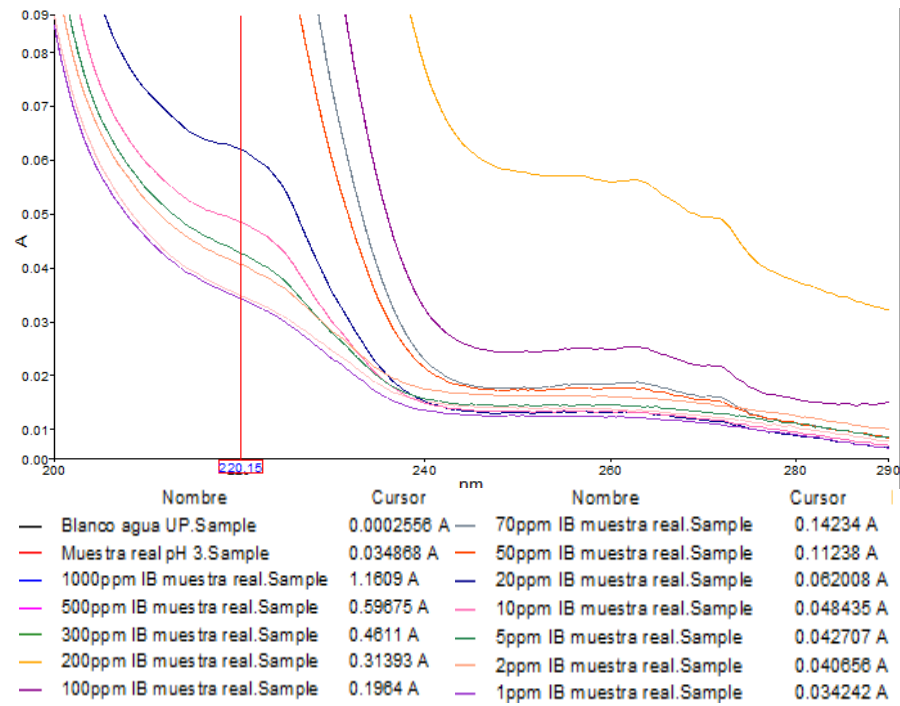
1.5. Recta de calibrado del ibuprofeno en agua ultrapura con celda de 0,5 mm a pH 3

El proceso foto-Fenton requiere de una celda de paso óptico de 0,5 mm para poder visualizar la señal del IB. Es por ello que se hace una nueva recta de calibrado con esta celda y se estudian las concentraciones de IB máximas y mínimas que puede detectar el espectrofotómetro en estas condiciones. Solamente se va a realizar a pH 3, puesto que es el pH en el que tiene lugar la reacción de foto-Fenton. En la Gráfica 101 y Gráfica 102 (ampliación) se muestran los espectros de absorción desde 1000 mg/L a 1 mg/L, ya que esta celda no permite llegar a valores de escala µg/L.

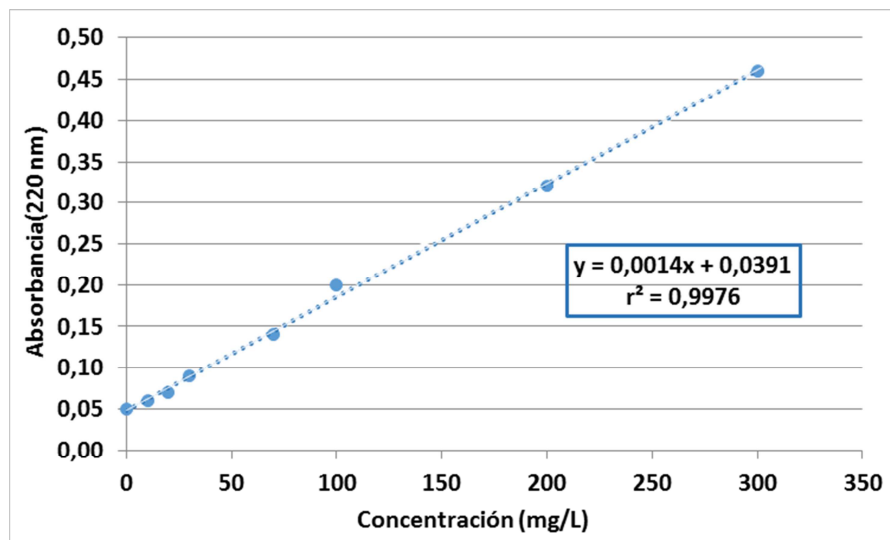
Del mismo modo, en la Gráfica 103 se muestra la recta de calibrado, que se ajusta perfectamente a una línea recta.



Gráfica 101. Espectros de absorción a diferentes concentraciones de ibuprofeno con celda de 0,5 mm a pH 3.



Gráfica 102. Espectros de absorción a diferentes concentraciones de ibuprofeno con celda de 0,5 mm a pH 3 (escala ampliada).



Gráfica 103. Recta de calibración del ibuprofeno en agua UP con una celda de 0,5 mm a pH 3.

2. Recta de calibrado del ibuprofeno en el influente de Baña

La muestra real se mantiene congelada en lotes de 500 mL para no alterar su estado hasta que va a ser utilizada. Para su descongelación, se saca 24 h antes de su uso del congelador y se mantiene a temperatura ambiente. Es muy importante para la repetitividad de los resultados que la muestra se utilice el mismo día de ser descongelada, puesto que a medida que pasan los días la muestra va descomponiéndose en otros compuestos y formando flóculos de mayor tamaño.

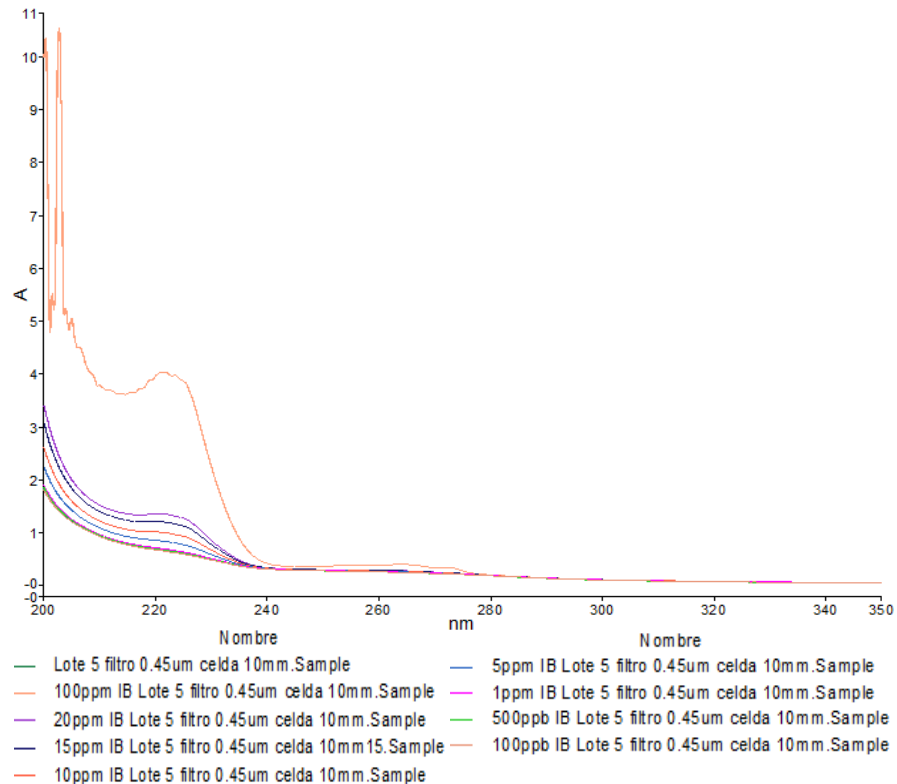
Posteriormente se analiza la muestra por espectrofotometría utilizando como blanco para el calibrado del equipo agua UP. En un primer momento se utilizó la celda de 100 mm, puesto que ésta nos permite analizar concentraciones más bajas de IB. Sin embargo, la señal se saturaba, resultando imposible sacar ninguna conclusión, por lo que se realizó el mismo ensayo con la celda de 10 mm, comprobando que la señal no se saturaba.

2.1. Recta de calibrado del ibuprofeno en el influente de la planta de Baña con celda de 10 mm a pH 6

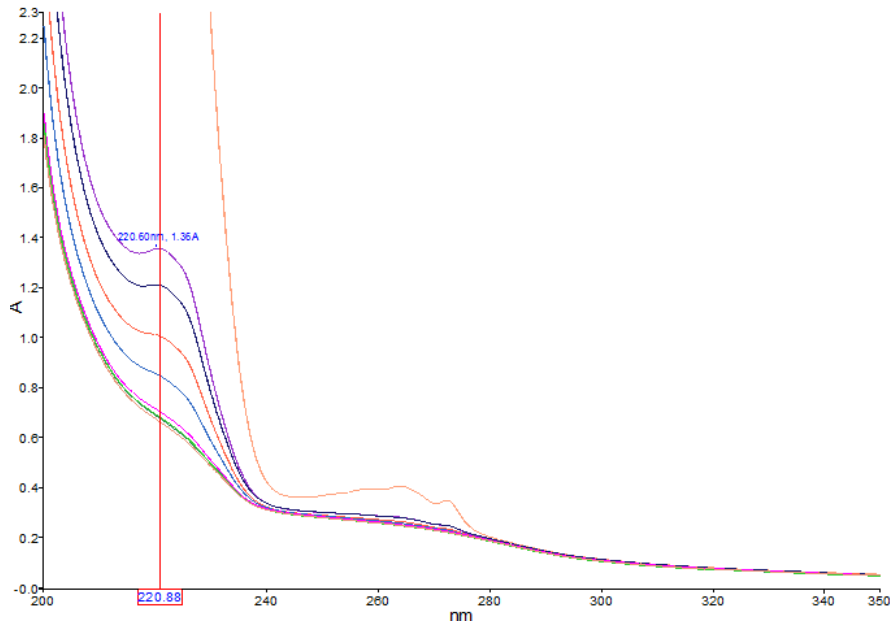
El principal problema que tiene la muestra original es que presenta sólidos en suspensión y flóculos que pueden interferir en las medidas espectrofotométricas, por lo que se decide filtrarla hasta eliminarlos, es decir, hasta que la señal no cambia. Como habíamos visto en la Gráfica 60, la mayoría de los compuestos particulados se eliminan con el filtro de 1,2 μm , ya que el espectro es exactamente igual que tras el filtrado con el de 0,45 μm . Hay que mencionar que todas las medidas están hechas con la misma muestra, que es sometida a sucesivos filtrados en serie. Se observaba un pequeño hombro a 222 nm, que corresponde al IB, pero también puede tratarse de otros contaminantes emergentes que aparecen a longitudes de onda próximas o similares, ya que con la celda de 10 mm se ha comprobado que no pueden determinarse concentraciones de menos

de 100 µg/L y las analíticas mostraban que la concentración del IB es muy inferior.

Dado que la concentración de IB que hay en el influente de la planta de Baiña no va a poder ser visualizada en los espectros, se ha decido hacer una recta de calibración utilizando la muestra del influente filtrada con filtro de 0,45 µm a la que se añaden concentraciones de IB conocidas (de 100 µg/L a 100 mg/L). En la Gráfica 104 y Gráfica 105 se muestran dichos espectros. En todos ellos se aprecia la banda de IB a 222 nm. Para concentraciones de 100 mg/L la muestra comienza a saturarse.



Gráfica 104. Espectros de absorción del influente de la planta de Baiña con diferentes concentraciones de ibuprofeno a pH 6 con una celda de 10 mm.

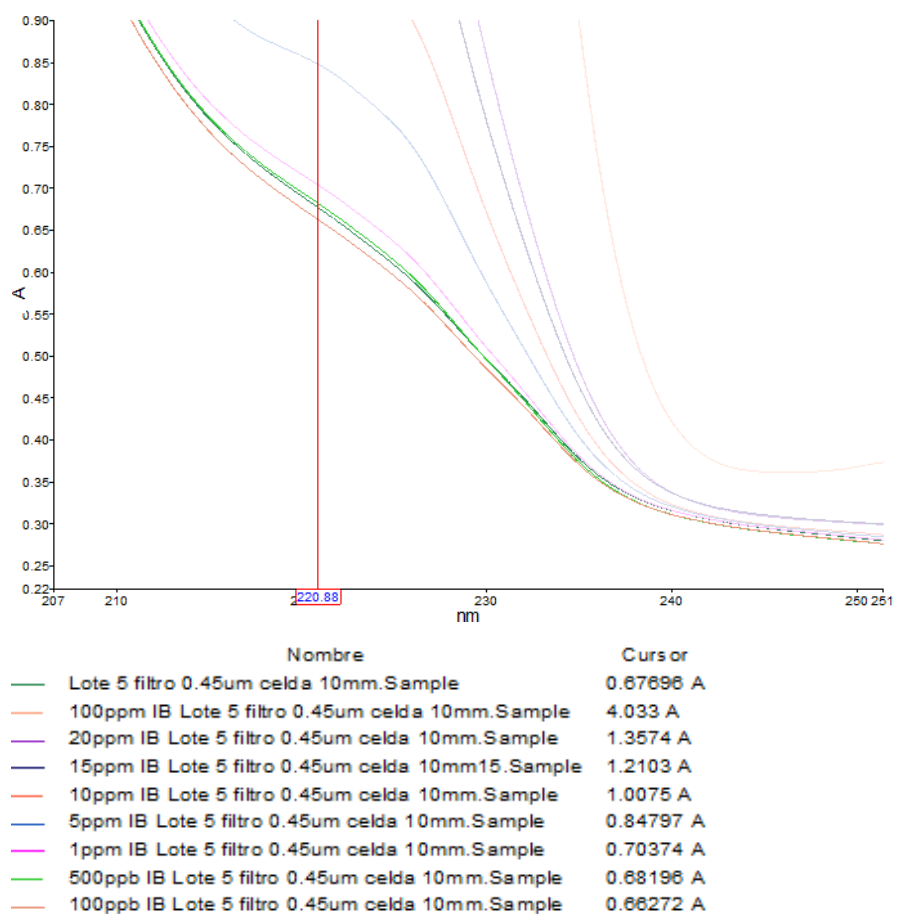


Nombre	Cursor
Lote 5 filtro 0.45um celda 10mm.Sample	0.67696 A
100ppm IB Lote 5 filtro 0.45um celda 10mm.Sample	4.033 A
20ppm IB Lote 5 filtro 0.45um celda 10mm.Sample	1.3574 A
15ppm IB Lote 5 filtro 0.45um celda 10mm15.Sample	1.2103 A
10ppm IB Lote 5 filtro 0.45um celda 10mm.Sample	1.0075 A
5ppm IB Lote 5 filtro 0.45um celda 10mm.Sample	0.84797 A
1ppm IB Lote 5 filtro 0.45um celda 10mm.Sample	0.70374 A
500ppb IB Lote 5 filtro 0.45um celda 10mm.Sample	0.68196 A
100ppb IB Lote 5 filtro 0.45um celda 10mm.Sample	0.66272 A

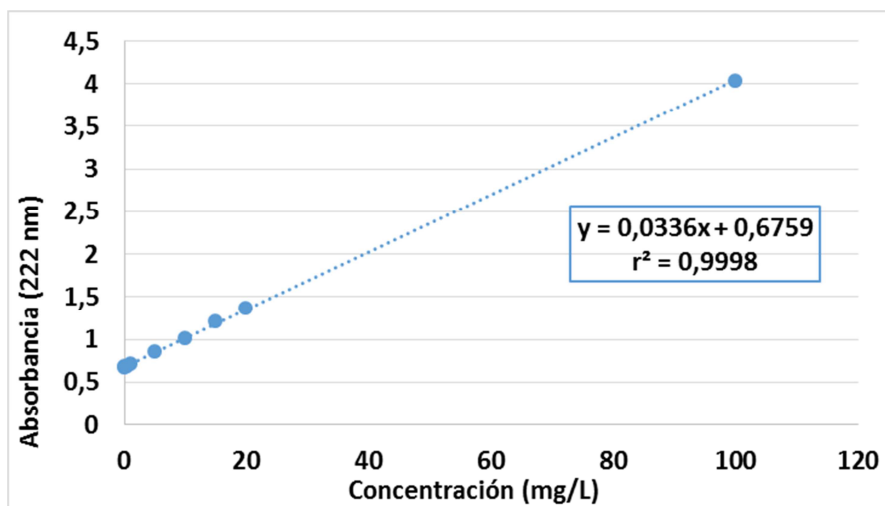
Gráfica 105. Espectros de absorción del influente de la planta de Baiña con diferentes concentraciones de ibuprofeno a pH 6 con una celda de 10 mm (escala ampliada).

Asimismo, si se centra la atención en el límite inferior de la Gráfica 106, el espectro de 500 $\mu\text{g/L}$ coincide prácticamente con el de la muestra del influente de Baiña, sin aditivación de IB, y la de 100 $\mu\text{g/L}$ aparece por debajo de ésta, por lo que para valores inferiores a 500 $\mu\text{g/L}$ no es posible determinar visualmente en los espectros la concentración de IB. Para poder hacer una extrapolación a estas concentraciones tan bajas se ha realizado la recta de calibración con los valores de altura de pico

extraídas de cada uno de los espectros a diferentes concentraciones de IB. Estos datos se recogen en la Gráfica 107, donde se comprueba el comportamiento lineal con un ajuste perfecto de la recta, como ocurría en las rectas de calibración realizadas anteriormente con el agua UP.



Gráfica 106. Espectros de absorción del influente de Baiña con diferentes concentraciones de ibuprofeno a pH 6 con celda de 10 mm (escala ampliada).

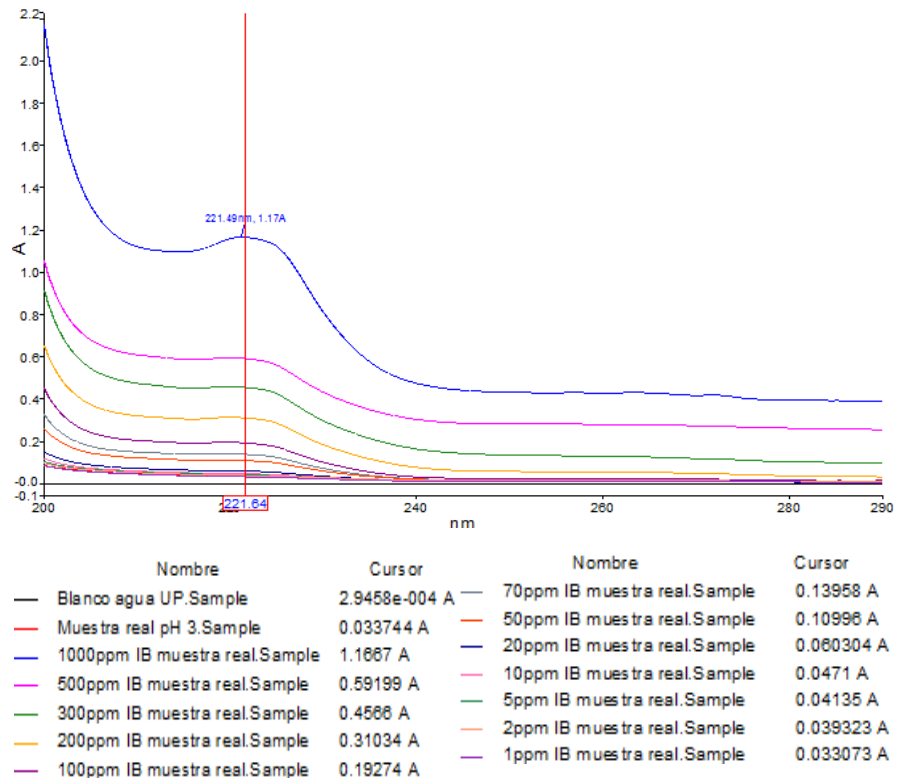


Gráfica 107. Recta de calibración del ibuprofeno en el influente de Baiña con una celda de 10 mm a pH 6.

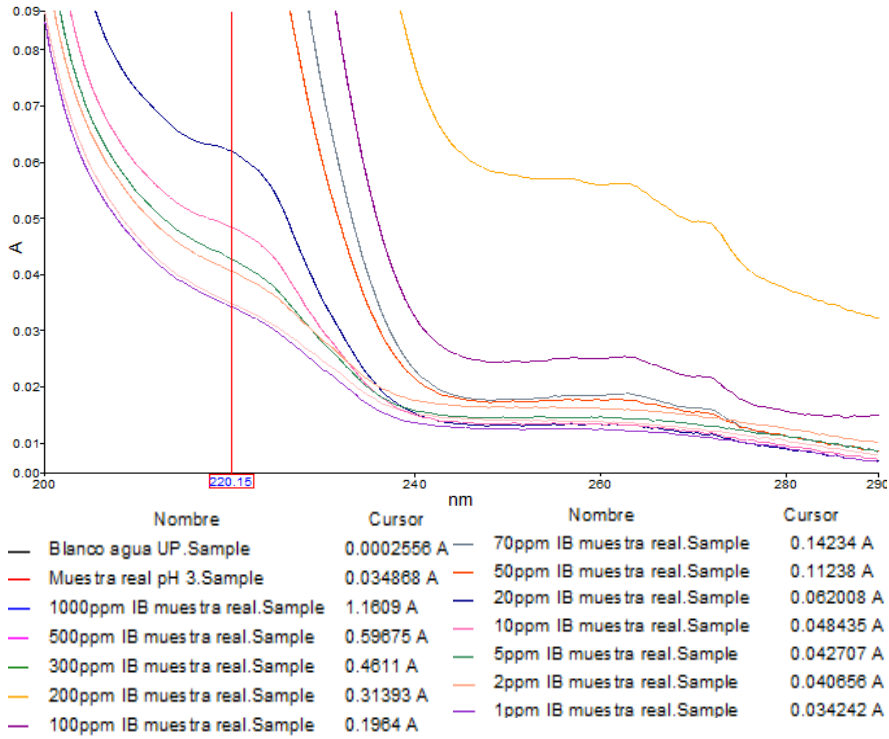
2.2. Recta de calibrado del ibuprofeno en el influente de la planta de Baiña con celda de 0,5 mm a pH 3

De igual manera que con la celda de 10 mm se ha realizado la recta de calibración con la de 0,5 mm y únicamente a pH 3, por ser las condiciones utilizadas en el método foto-Fenton. Los espectros de absorbancia se muestran en la Gráfica 108 y Gráfica 109, donde se observan los espectros de absorción desde 1000 mg/L a 1 mg/L, ya que ni el influente de Baiña ni la celda de 0,5 mm permiten llegar hasta valores a escala $\mu\text{g/L}$.

La Gráfica 110 recoge la recta de calibración para el influente de Baiña, acidificada a pH 3, con una celda de 0,5 mm.

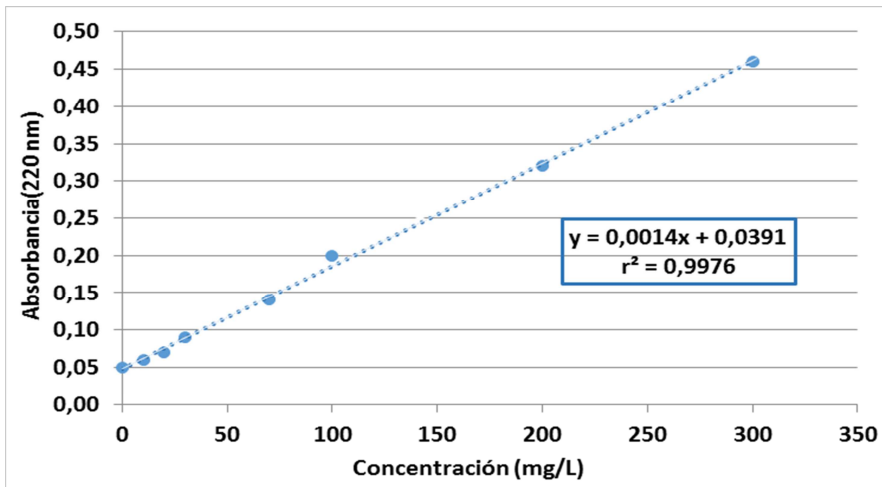


Gráfica 108. Espectros de absorción del influente de Bañia con diferentes concentraciones de ibuprofeno con una celda de 0,5 mm a pH 3.



Gráfica 109. Espectros de absorción del influente de Bañia con diferentes concentraciones de ibuprofeno con una celda de 0,5 mm a pH 3 (escala ampliada).

Fase IV



Gráfica 110. Recta de calibración del ibuprofeno en el influente de Bañia con una celda de 0,5 mm a pH 3.