

Evaluación de la ecotoxicidad y biodegradabilidad aerobia empleando reactores biológicos secuenciales en aguas de proceso obtenidas tras la carbonización hidrotermal de los lodos secundarios, mixtos y digestato provenientes de PTAR

Diana María Bermúdez Jerez e Ibeth Rocío Pineda Rodríguez

Trabajo de Grado para Optar el título de Bióloga

Director (a)

María de los Ángeles de la Rubia Romero

Doctora en Ingeniería Química

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Biología

Bucaramanga

2020

### **Dedicatoria**

¡Dedico este logro con mucha emoción a Dios, a mis padres y a mis hermanos Viena Cristina y Luis Manuel... MI FAMILIA! Porque son ellos quienes vivieron conmigo cada esfuerzo, cada caída, cada resultado positivo y cada alegría en el transcurso de estos cinco años de carrera, ellos son mi motivación diaria y también mi mejor ejemplo de personas luchadoras, dedicadas a sus metas, entregadas a sus trabajos y a sus estudios, pero, sobre todo, las personas más sencillas, amables y generosas que conozco, es por ello que son mi gran orgullo y deseo con la ayuda de Dios dedicarles éste y muchos logros más.

*Ibeth Rocío Pineda Rodríguez*

A mis seres queridos, en especial a mi madre María y a mi abuela Anadelina, por ser mi fuente de inspiración y de quienes he tenido y tendré siempre su apoyo y su confianza incondicional, a Diego mi compañero de lucha, por estar siempre ahí, siendo mi mano derecha y fortaleza inquebrantable durante toda mi etapa universitaria y a todos los seres vivos porque desde el primer momento en que los estudie me cautivaron e inspiraron a continuar por el hermoso mundo de la biología.

Por ellos y para ellos todo mi esfuerzo y dedicación.

*Diana María Bermudez Jerez*

### **Agradecimientos**

En este logro académico y personal de mi vida, quiero agradecer primeramente a Dios por su infinita ayuda y por ser mi guía en la toma de decisiones, a mi madre Elsa Rodríguez y a mi padre Ovidio Pineda porque siempre estuvieron y están dispuestos a brindarme su apoyo incondicional, a expresarme sus consejos y palabras de aliento que me animan a seguir adelante, a trabajar para cumplir mis metas y a educarme de una manera íntegra donde primen los buenos valores.

De manera muy especial expreso mi profundo agradecimiento a la Dra. María de los Ángeles, nuestra tutora en este trabajo y la persona que se ha convertido en todo un ejemplo a seguir, le agradezco por ayudarnos a cumplir el propósito de realizar una movilidad académica y vivir esa experiencia tan enriquecedora para nuestra vida profesional y personal, por compartirnos sus conocimientos y su pasión por la ciencia, por guiarnos durante la estancia en Madrid y seguir haciéndolo hasta culminar el escrito de esta tesis. Agradezco a todos los integrantes del grupo de investigación PROSIAM del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad Autónoma de Madrid por abrirnos gratamente las puertas de sus laboratorios y así llevar a cabo esta investigación de la mano con sus orientaciones.

A todos los docentes de la Escuela de Biología de la Universidad Industrial de Santander, muchas gracias por hacer que ame profundamente mi carrera, al mostrarme la manera tan maravillosa de ver la vida a través de la biología, por impartir sus conocimientos desde los distintos campos biológicos de tal forma que crezca en nosotros sus estudiantes esa pasión por seguir descubriendo la vida a través de la ciencia.

Gracias a mi amiga Diana María, mi compañera en este trabajo y en todos los trabajos realizados desde el primer semestre de la carrera, desde que nos conocimos hemos hecho un buen equipo donde priman la responsabilidad, el esfuerzo, la colaboración, pero sobre todo la alegría y las risas para afrontar los retos. Muchas gracias a mis amigas Karoll y Estefany por hacer parte de este gran equipo y así formar el grupo #amigasybiólogas ¡que deseo dure para siempre!

*Ibeth Rocío Pineda Rodríguez*

Con este paso, cierro un ciclo de mi vida que empezó como una gran ilusión y terminó siendo mucho más que un logro alcanzado. Agradezco primeramente a Dios, por otorgarme la perseverancia necesaria para cumplir con mis metas, a mi familia, de quienes he tenido y siempre tendré apoyo sin condición, a mis compañeros y compañeras, en especial a Ibeth mi colega de tesis, Estefany y Karoll con quienes fortalecí grandes lazos de amistad y compromiso, a la doctora Maria de los Ángeles, quien me otorgó la valiosa oportunidad de descubrir nuevas experiencias sobre la vida y la ciencia; y por supuesto, a mis maestros de academia, de todos ellos he recibido cada una de las enseñanzas que completan mi carrera como Bióloga. Les agradezco haber puesto su interés en brindarme sus conocimientos, sus experiencias, por motivarme en avanzar cada vez más. Agradezco a mi Alma mater, lugar donde me he formado como una profesional íntegra, y con principios, pero sobre todo con pensamiento crítico y reflexivo para desempeñarme en las siguientes etapas de mi vida.

Sinceros agradecimientos.

*Diana María Bermúdez Jerez*

<b>Tabla de contenido</b>	<b>Pág.</b>
Introducción .....	14
1. Objetivos .....	21
1.1 Objetivo General .....	21
1.2 Objetivos Específicos.....	21
2. Cuerpo del Trabajo .....	22
2.1 Marco Referencial.....	22
2.2 Método .....	27
2.2.1 Carbonización Hidrotermal (HTC).....	27
2.2.2 Caracterización Físico-Química de las Aguas de Proceso (AP).....	29
2.2.3 Análisis de Ecotoxicidad con el Método Microtox®.....	33
2.2.4 Fuente de Inóculo.....	33
2.2.5 Biodegradabilidad Rápida.....	35
2.2.6 Biodegradabilidad Inherente .....	36
2.2.7 Biodegradabilidad a Largo Plazo.....	36
2.3 Resultados .....	38
2.3.1 Carbonización Hidrotermal.....	38
2.3.2 Caracterización Físico-Química de las Aguas de Proceso.....	39
2.3.3 Análisis de Ecotoxicidad con el Método Microtox®.....	47
2.3.4 Biodegradabilidad Rápida.....	47
2.3.5 Biodegradabilidad Inherente .....	50

2.3.6 Biodegradabilidad a Largo Plazo.....	51
3.Conclusiones .....	63
Referencias Bibliográficas .....	65
Apéndices.....	75

**Lista de tablas**

	<b>Pág.</b>
Tabla 1 Caracterización de los lodos de partida y de los hidrochar obtenidos por HTC	39
Tabla 2 Caracterización físico-química de las AP .....	40
Tabla 3 Reporte cromatográfico para las tres aguas de proceso .....	45
Tabla 4 Compuestos mayoritarios que difirieron en las aguas de proceso .....	46
Tabla 5 Resultados de la prueba Microtox® para las tres AP .....	47
Tabla 6 Porcentaje de rendimiento en la degradación de la materia orgánica.....	50

**Lista de Figuras**

	<b>Pág.</b>
Figura 1 Etapas del proceso de tratamiento de aguas residuales e una PTAR y producción de lodos residuales .....	16
Figura 2 Proceso de HTC en los lodos residuales.....	19
Figura 3 Reactor empleado para el tratamiento de HTC .....	28
Figura 4 Reactor SBR <sub>madre</sub> de donde se extrae el lodo activo .....	34
Figura 5 Reactores biológicos secuenciales.....	37
Figura 6 Obtención de hidrochar y aguas de proceso .....	38
Figura 7 Representación gráfica de la concentración de los AGV presentes en las tres aguas de proceso, determinados mediante GC-FI.....	42
Figura 8 Cromatogramas para las distintas aguas de proceso.....	44
Figura 9 Representación gráfica de los ensayos de biodegradabilidad rápida.....	49
Figura 10 Biodegradabilidad inherente mediante el método de Zahn Wellens .....	51
Figura 11 DQO y COT (inicial vs final) frente a la glucosa introducidas en los SBRs ...	52
Figura 12 Gráfica de crecimiento del lodo en cada reactor con las diferentes AP en comparación con la glucosa .....	53
Figura 13 DQO y COT inicial de cada una de las AP en comparación con la glucosa....	54
Figura 14 Micrografías tomadas a 10X de la biomasa .....	55

**Lista de apéndices**

	<b>Pág.</b>
Apéndice A. Análisis de ST y SV en las aguas de proceso .....	75
Apéndice B. Proceso para análisis de DQO.....	75
Apéndice C. Proceso para en análisis de COT .....	76
Apéndice D. Kits y equipos Hach para la medición de compuestos químicos.....	76
Apéndice E. Medición de los AGV .....	77
Apéndice F. Medición de ecotoxicidad .....	77
Apéndice G. Ensayo de biodegradabilidad rápida.....	78
Apéndice H. Ensayo de biodegradabilidad Inherente (Zahn – Wellens).....	78
Apéndice I. Observaciones al microscopio.....	79
Apéndice J. Micrografías de la evolución del lodo inóculo.....	79
Apéndice K. Estabilización del SBRmadre .....	80

## Glosario

**AP:** agua de proceso

**APD:** agua de proceso digestato

**APHTC:** agua de proceso de carbonización hidrotermal

**APLM:** agua de proceso de lodo mixto

**APLS:** agua de proceso de lodo secundario

**CE:** contaminantes emergentes

**CIT:** carbono inorgánico total

**CM:** carga másica

**COT:** carbono orgánico total

**CT:** carbono total

**DBO:** demanda biológica de oxígeno

**DQO:** demanda química de oxígeno

**GC/MS:** compuestos mayoritarios mediante cromatografía de gases/masa

**HC:** hidrochar

**HTC:** carbonización hidrotermal

**IC<sub>50</sub>:** concentración de sustancia que produce el 50% de inhibición

**IVL<sub>30</sub>:** índice volumétrico de lodos en 30 min

**MBR:** reactor biológico de membrana

**PTAR:** planta de tratamiento de aguas residuales

**SBR:** reactor biológico secuencial

**SDT:** sólidos disueltos totales

**SST:** sólidos suspendidos totales

**ST:** sólidos totales

**SV:** sólidos volátiles

**UT:** unidades toxicológicas

**VECO:** velocidad de consumo de oxígeno

## Resumen

**Título:** Evaluación de la ecotoxicidad y biodegradabilidad aerobia empleando reactores biológicos secuenciales en aguas de proceso obtenidas tras la carbonización hidrotérmica de los lodos secundarios, mixtos y digestato provenientes de PTAR\*

**Autor:** Diana María Bermúdez Jerez, Ibeth Rocío Pineda Rodríguez\*\*

**Palabras Clave:** Biodegradabilidad inherente, biodegradabilidad rápida, carbonización hidrotérmica, carbono orgánico total, demanda química de oxígeno, digestión aerobia, ecotoxicidad, lodos residuales, reactores biológicos secuenciales. Tratamiento de aguas residuales.

### Descripción:

Las aguas residuales tras ser tratadas y descontaminadas en una planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) generan grandes volúmenes de lodos residuales. Estos lodos se pueden valorizar mediante carbonización hidrotérmica (HTC, por sus siglas en inglés), un proceso termoquímico novedoso que da como resultado: un sólido denominado hidrochar (HC), unas aguas de proceso (AP) caracterizadas por su alto contenido en materia orgánica que podría ser degradada de forma biológica, además de un producto gaseoso minoritario. El objetivo de este trabajo es el tratamiento de las APHTC obtenidas de los lodos de depuración generados en los distintos tratamientos llevados a cabo en la PTAR (secundario, -del tratamiento biológico-, mixto, -mezcla de primario y secundario- y digerido -tras ser estabilizado y deshidratado). Para ello, se han determinado: parámetros físico-químicos, ecotoxicidad por medio del ensayo de Microtox® y biodegradabilidad (rápida en velocidad de consumo de oxígeno (VECO), inherente por medio del método de Zahn Wellens y a largo plazo utilizando reactores biológicos secuenciales (SBR)), con inóculos de lodos activos aerobios. Obteniendo como resultados altos valores de demanda química de oxígeno (DQO) > 35 g/L, carbono orgánico total (COT) > 9 g/L y ecotoxicidad (%IC<sub>50</sub> > 2,1). Se observó mejor biodegradabilidad a corto y largo plazo para cargas másicas (CM) < 0,5. Si bien se determinó que todas las aguas de proceso analizadas pueden ser biodegradadas en lodos activos aerobios, siempre que se utilicen CM inferiores a 0,5 y una biomasa aclimatada al sustrato, el AP del lodo mixto, dado su alto contenido en N, P y ácidos grasos y menor ecotoxicidad en comparación con las otras AP, presentó una mejor adaptación de la biomasa al sustrato y una biodegradabilidad rápida más alta (con eliminaciones de DQO > 20% y COT > 30%).

---

\* Trabajo de Grado

\*\* Facultad de Ciencias. Escuela de Biología. Director: María de los Ángeles de la Rubia Romero. Dra. Ingeniera Química.

### Abstract

**Title:** Evaluation of ecotoxicity and aerobic biodegradability using SBR (sequential batch reactors) in process waters obtained after hydrothermal carbonization of secondary, mixed and digestate sludge from STP (sewage treatment plant)\*

**Author:** Diana María Bermúdez Jerez, Ibeth Rocío Pineda Rodríguez\*\*

**Key Words:** Aerobic digestion, COD, ecotoxicity, fast biodegradability, hydrothermal carbonization, inherent biodegradability, sequential biological reactors, sewage sludge, sewage treatment, TOC.

#### Description:

The sewage after being treated and decontaminated in STP (sewage treatment plant) generates a lot of sludge that can be recovered through HTC (hydrothermal carbonization) a new thermochemical process that results in a solid called hydrochar (HC); a minority gaseous product and process water (PA) characterized by high content of organic matter that could biodegrade.

The objective of this thesis is a study for the treatment of APHTC, obtained from secondary depuration sludge (from biological treatment); mixed (mixture of primary and secondary) and digested (after being stabilized and dehydrated), generated in the different processes developed out in STP. For this, has been determinate a physicochemical parameter, *ecotoxicity* through of the Microtox® test, *fast biodegradability* VECO (speed of oxygen consumption) *inherent biodegradability* through the Zahn Wellens method and *long-term biodegradability* using SBR (sequential biological reactors), with inocula of activated aerobic sludges. Obtaining as results high values of COD (chemical oxygen demand) > 35 g/L, total organic carbon (TOC) > 9 g/L and ecotoxicity (% IC<sub>50</sub> > 2.1).

It was observed a better short and long-term biodegradability for MC (mass loads) < 0.5. Although was determinated it that all the analyzed process waters can be biodegraded into aerobic active sludge, as long as MC lower than 0.5 and a biomass acclimated to the substrate, it is the AP of the mixed sludge, which presented the best adaptation of the biomass to the substrate and a higher rapid biodegradability (with COD removal > 20% and TOC > 30%), for its high content of N, P, fatty acids and lower ecotoxicity compared to the others AP.

---

\* Degree work

\*\* Science Faculty. School of Biology. Director: María de los Ángeles de la Rubia Romero. Dra. Chemical Engineer.

## Introducción

La población urbana del mundo ha crecido rápidamente, se afirma que “para el 2014 en el área urbana vivía un 54% de la población mundial (aproximadamente 3.900 millones de personas) y se espera que esta proporción aumente al 66% para el año 2050” (Jensen & Wu, 2018, sección de introducción, párr.3). Este crecimiento poblacional ha traído consigo varios impactos ambientales, siendo el agua uno de los recursos más afectados en términos de pérdida de disponibilidad y deterioro de la calidad de las aguas superficiales y subterráneas (Peña-Guzmán et al., 2019, sección de Introducción, párr.1).

Con el propósito de mitigar el impacto negativo que las aguas urbanas producen en los seres humanos y en los ecosistemas acuáticos, varios estudios han sugerido diferentes conceptos y herramientas que facilitan su control y manejo; por ejemplo, Fletcher et al. (2015) propuso conceptos que incluyen: mejores prácticas de gestión (BMP), diseño urbano sensible al agua (WSUD), modelo urbano integrado (IUM) y el ciclo urbano del agua (UWC). Con respecto a este último, se trata de una importante técnica que permite la gestión y control de los recursos hídricos, lo que conduce a su conservación tanto en cantidad como calidad y a la búsqueda de procesos que optimicen el agua, reduzcan los impactos ambientales y protejan la salud humana (Peña-Guzmán et al., 2019). Es por ello que, actualmente se pretende enfatizar en esta técnica debido a sus interconexiones y movimiento de caudales, contaminantes y energía donde se involucran diferentes componentes del agua urbana y se prioriza el manejo adecuado de las aguas residuales (Peña-Guzmán et al., 2019).

En las últimas décadas, los estudios sobre la caracterización de las aguas residuales han llamado la atención sobre la ocurrencia ambiental de una variedad de compuestos de origen

antropogénico conocidos como contaminantes emergentes (CE) o microcontaminantes, que presentan un impacto nocivo en las formas de vida acuática y terrestre, así como en la salud humana (Gogoi et al., 2018). Adicionalmente, Peña-Guzmán et al. (2019) mencionan que América Latina ha estado sujeta a impactos ambientales y toxicológicos debido a estos contaminantes.

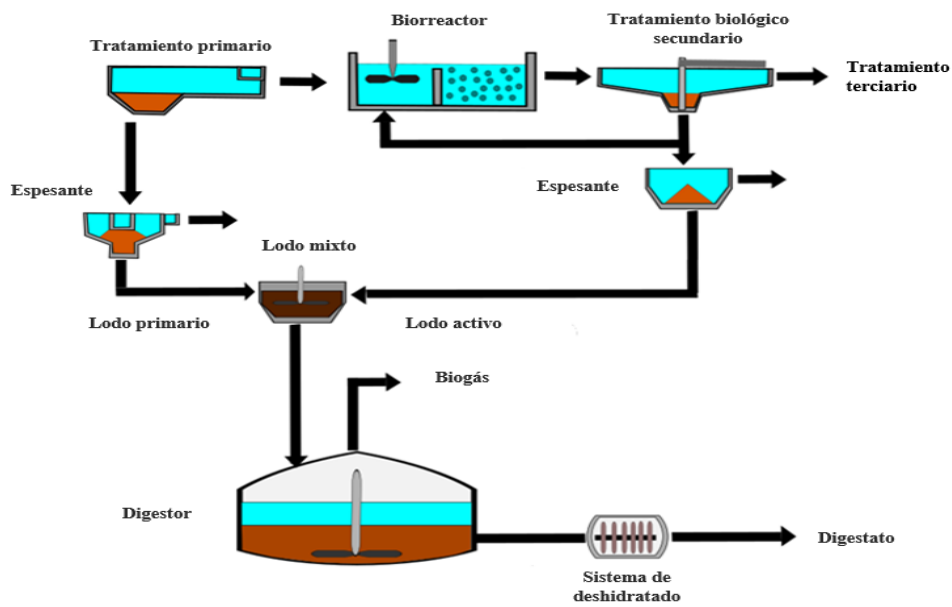
Los productos farmacéuticos, de cuidado personal y compuestos disruptores endocrinos son algunos de los CE que más se han determinado en la caracterización de las aguas residuales (Gogoi et al., 2018). Russell & Yost. (2020) y Rodríguez et al. (2020) estiman que del 30-90% de los antibióticos consumidos ya sea en uso humano o veterinario no se metabolizan en el cuerpo y se excretan llegando a los sistemas de aguas residuales lo que refleja un problema ya que la exposición a estos residuos, incluso por debajo de la concentración mínima que ocurre durante el proceso del tratamiento de aguas residuales puede promover, mantener y acelerar la resistencia de las bacterias. Por otra parte, los disruptores endocrinos que se encuentran dispersos en el agua y otros entornos, pueden afectar los mecanismos de reproducción, metabolismo y transporte de hormonas naturales (andrógenos-estrógenos) del sistema endocrino, lo que afecta el funcionamiento de un organismo (Gogoi et al., 2018; Vilela et al., 2018). En general, los CE inducen efectos fisiológicos en humanos a dosis bajas, efectos adversos en la vida silvestre y su persistencia, bioacumulación y toxicidad son riesgos ambientales que afectan la vida acuática (Peña-Guzmán et al., 2019).

Debido a que estos CE ingresan al ecosistema a través de las aguas residuales urbanas e industriales, se enfatiza que “es completamente necesario tratar estas aguas con el objetivo principal de mitigar el impacto ambiental en los cuerpos de agua receptores a través de la reducción de la contaminación” (Galvis et al., 2018, sección de Introducción, párr.1). En este sentido, las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) son los lugares que cuentan con los métodos y

los equipos requeridos para llevar a cabo el proceso de depuración (Figura 1), el cual consta de un tratamiento físico primario, un tratamiento biológico secundario y un tratamiento terciario o de desinfección (Bollmann et al., 2016).

**Figura 1**

*Etapas del proceso de tratamiento de aguas residuales en una PTAR y producción de lodos residuales.*



Con respecto al tratamiento biológico, se trata un proceso eficiente y rentable que depende de consorcios microbianos aeróbicos/ anaeróbicos para eliminar nutrientes y contaminantes que determinan la función, desempeño y estabilidad del proceso (Wang et al., 2020, p.1). Básicamente, los compuestos orgánicos se hidrolizan anaerómicamente en micromoléculas y luego se degradan progresivamente en materiales inorgánicos en un ambiente aeróbico (Wang et al., 2020).

Estas PTAR se rigen por una serie de parámetros físico-químicos que indican la calidad del agua tratada antes de ser vertida a los cuerpos receptores, un parámetro relevante es la Demanda Química de Oxígeno (DQO) ya que es una forma de expresar la concentración de materia orgánica

de estas aguas. Teniendo en cuenta la normativa vigente para Colombia, según la resolución 631 del 2015 se establece que los valores permisibles de DQO para aguas residuales de tipo industrial y doméstica van desde los 150 a 180 mgO<sub>2</sub>/L (Ley N° 0631, 2015). Por otra parte, así como los análisis físico-químicos identifican y cuantifican las sustancias tóxicas, se hacen necesarios los ensayos de toxicidad, pues a partir de ellos se evalúa el efecto de esas sustancias en los sistemas de tratamiento biológicos y los cuerpos receptores, además, se conocería que tan óptima podría ser la remoción de la materia orgánica (MO) por medio de degradación biológica. (Rodríguez y Cleto, 2010)

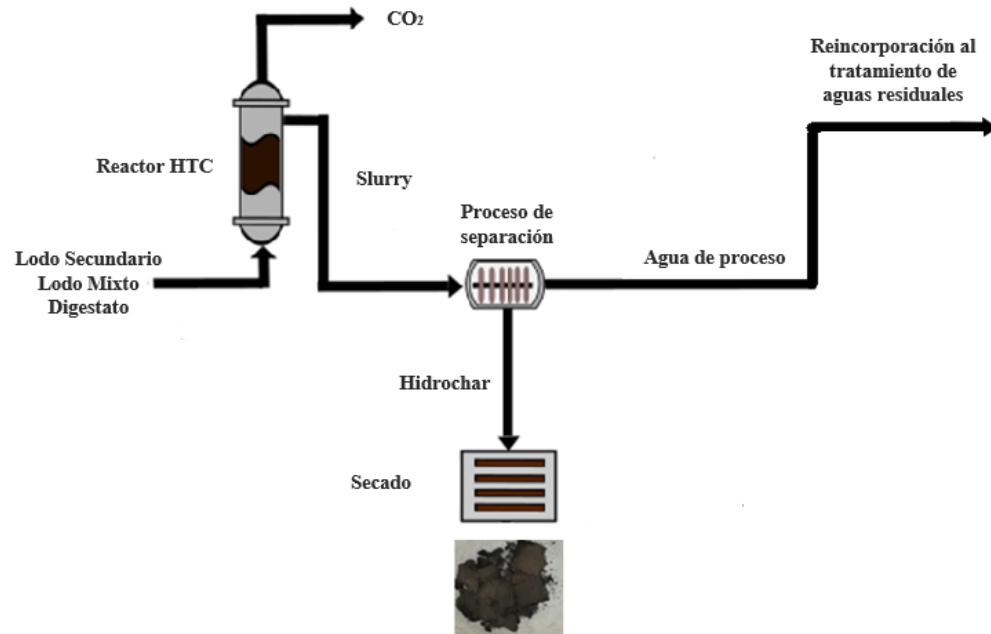
La Resolución Colombiana 0062 de 2007 (Ley N° 0062, 2007) define los protocolos de laboratorio requeridos para desarrollar análisis ambientales, entre ellos los que conciernen la evaluación de toxicidad de aguas, en ella se contemplan como principales protocolos y metodologías la prueba de inmovilización de *Daphnia magna*, inhibición de crecimiento de algas y la prueba de bioluminiscencia bacteriana Microtox® por medio de *Vibrio fischeri*. Según Ali & Sreekrishnan. (2001) dichos ensayos, en bacterias y otros microorganismos, tienen la ventaja de presentar rutas bioquímicas similares a las de los organismos superiores, ciclos de vida cortos y además responden rápidamente a los cambios en el medio ambiente. Teniendo en cuenta la Ley 10/1993 del 26 de octubre, se establece que los niveles permisibles de vertido desde industrias para la Comunidad de Madrid, España son de máximo 25 unidades toxicológicas (UT) (Ley N° 10, 1993).

Como resultado del tratamiento de las aguas residuales, se generan biosólidos o lodos (Figura 1), que son una fuente potencial de contaminación del suelo y el agua debido a los contaminantes emergentes que contiene (Wu et al., 2010). Pero, también son ricos en materia orgánica y de origen microbiano lo que incluye estructuras celulares, como polisacáridos,

proteínas, lípidos y ADN (Pimiento y Rivas, 2019). Por ende, su necesaria gestión puede representar hasta el 50% de los costes operativos de las PTAR (Langdon et al., 2019).

La carbonización hidrotermal (HTC) es una opción muy atractiva para tratar estos lodos y generar un biocarbón denominado hidrochar al mismo tiempo que se genera una fracción líquida o agua de proceso (APHTC) junto con una fracción minoritaria de CO<sub>2</sub> (Marin-Batista et al., 2019) (Figura 2). Dependiendo de las condiciones del proceso de HTC (temperatura y tiempo) estas APHTC pueden contener concentraciones elevadas de compuestos orgánicos tóxicos, representando un riesgo ambiental (Velázquez et al., 2019), alcanzando hasta 15-20% del carbono inicial presente en el sustrato a tratar, principalmente en forma de ácidos fórmico y acético, azúcares, nutrientes y otros compuestos, lo que ofrece un interés potencial en aras de su valorización (de la Rubia et al., 2018a).

Se han propuesto diferentes soluciones para el tratamiento de esta fracción líquida, como la oxidación húmeda que permitió reducir el carbono orgánico total (COT) hasta en un 60% (Reza et al., 2016). Ramke et al. (2009) consiguieron una reducción de la DQO superior al 85% mediante degradación aerobia. La digestión anaerobia de la fracción líquida es también una ruta potencial para optimizar la recuperación de energía (de la Rubia et al., 2018a, 2018b; Villamil et al., 2018a, 2018b). De cualquier modo, la presencia de compuestos reconocidamente inhibitorios aconseja la determinación de la toxicidad de estas aguas generadas en el proceso de HTC, así como de su potencial biodegradabilidad a corto y largo plazo, antes de determinar la tecnología más adecuada para su tratamiento.

**Figura 2***Proceso de HTC en los lodos residuales.*

El uso de reactores biológicos secuenciales (SBR), para el tratamiento de aguas residuales industriales (Abu Hasan et al., 2016; Monsalvo et al., 2009) es hoy en día habitual a escala industrial, debido a su flexibilidad de alimentación, versatilidad y rentabilidad en relación con otras tecnologías biológicas. En los SBR se desarrollan microorganismos tolerantes a compuestos tóxicos y a diferentes condiciones ambientales (aerobio, anóxico), lo que facilita la eliminación de nutrientes (Liu et al., 2018; Monsalvo et al., 2009). Además, las condiciones de operación promueven la adaptación de poblaciones microbianas a contaminantes específicos.

Diferentes estudios han planteado posibles opciones de valorización y biodegradabilidad de las APHTC por vía anaerobia debido al valor agregado de la recuperación de energía en forma de biogás (Marin-Batista et al., 2020). Pero, también resulta interesante determinar la biodegradabilidad y la toxicidad aerobia de estas aguas por si en la planta de tratamiento sólo existe

tratamiento biológico aerobio, además de que han sido pocos los estudios realizados por esta vía, lo que representa una importante oportunidad de avanzar en la investigación de métodos de estudios con el fin de generar nuevas y valiosas alternativas para el tratamiento de estas aguas. Por tanto, es relevante centrarse en análisis de las APHTC de manera aerobia empleando SBR, en los que se desarrollan microorganismos con capacidad de adaptación que faciliten su purificación.

Así pues, el problema a resolver dentro del marco de este proyecto de investigación radica en la potencial ecotoxicidad y carga orgánica presente en los lodos residuales provenientes de PTAR, y a su vez, en las aguas de procesos (AP) obtenidas luego de su tratamiento de carbonización hidrotermal, que debido a los agentes contaminantes retenidos en las AP, verterlas directamente a los cuerpos receptores alteraría de manera crónica diferentes procesos fisiológicos en distintos organismos, por ende, reincorporarlas al tratamiento de las aguas residuales en una PTAR (Figura 2) es una opción viable para depurarlas por digestión biológica y así garantizar valores permisibles tanto en DQO como en ecotoxicidad. En este sentido, existiría la posibilidad de obtener una valoración de estas AP si se procesan mediante tratamientos anaerobios por la producción de biogás, pero, en el caso de que la PTAR solo tenga tratamientos aerobios no existe tal posibilidad, de igual forma, si resultan tolerables a microorganismos aerobios podrían tratarse y así disminuir su MO y toxicidad. En cualquiera de las dos formas, se hace necesario realizar un análisis físico-químico, toxicológico y de biodegradación a estas AP para conocer previamente los valores de estos parámetros y así determinar qué concentración es la adecuada para suministrarle a los tanques de tratamiento sin que se desestabilice el funcionamiento de la microbiota.

## 1. Objetivos

### 1.1 Objetivo general

Determinar la ecotoxicidad y biodegradabilidad a corto y largo plazo, de las aguas de proceso obtenidas tras la carbonización hidrotérmica de lodo secundario, lodo mixto y digestato de PTAR a 210 °C durante 1 hora de reacción.

### 1.2 Objetivos Específicos

Realizar la caracterización físico-química (pH, DQO, COT, N, P, sólidos totales y volátiles -ST, SV-, alcalinidad, ácidos grasos volátiles, compuestos mayoritarios mediante cromatografía de gases/masa (GC/MS)) de las tres APHTC.

Determinar la biodegradabilidad inherente y rápida de las APHTC determinando el porcentaje de biodegradación de COT y DQO.

Determinar el valor de  $IC_{50}$  de las APHTC y compararlos con los determinados para otras aguas residuales industriales.

Determinar la biodegradabilidad a largo plazo de las tres APHTC obtenidas del lodo secundario, lodo mixto y digestato en SBRs.

Determinar el grado de aclimatación del microbiota a las tres APHTC, comparando la evolución de ésta, en los reactores biológicos secuenciales.

## 2. Cuerpo del trabajo

### 2.1 Marco Referencial

El agua es un recurso natural básico para la vida, la seguridad alimentaria y el desarrollo económico sostenible (Teklehaimanot et al., 2015). La disponibilidad de agua dulce es relevante para cualquier actividad socioeconómica, con el consiguiente impacto ambiental, incluyendo el cambio climático (Elliott et al., 2014). El aumento constante de las presiones antropogénicas sobre este recurso natural causadas por el crecimiento de la población humana y la urbanización es alarmante, ya que se generan grandes volúmenes de aguas residuales de tipo industrial y doméstica que requieren un equilibrio urgente entre su descarga y la protección de los cuerpos de agua receptores (Teklehaimanot et al., 2015). La demanda de sistemas de tratamiento de aguas residuales aumenta continuamente, hoy en día la atención se centra en los microcontaminantes que tienen el potencial de causar efectos como disruptores o alteradores endocrinos y pueden acumularse en el ciclo del agua o afectar los ecosistemas.

Estas aguas residuales deben ser depuradas para modificar sus condiciones físicas, químicas y microbiológicas antes de ser vertidas a un cauce debido a que contienen gran cantidad de materia orgánica, ya sea expresada como demanda biológica de oxígeno (DBO) o DQO, presencia de nutrientes (fósforo y nitrógeno), además de sólidos (sólidos disueltos totales (SDT) y sólidos suspendidos totales (SST)) (Sengupta et al., 2020). La creciente concienciación y preocupación por el medio ambiente ha llevado a desarrollar legislaciones donde se exige la depuración de estas aguas, así la Directiva 91/271/CEE exige a los países de la Unión Europea (UE) a depurar las aguas residuales de núcleos de población  $\geq 5000$  habitantes en plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR). En Colombia, a pesar de que cuenta con tecnología

avanzada en la mayoría de las PTAR la cantidad de éstas no es suficiente para tratar los grandes volúmenes de aguas residuales que se generan (Cristancho et al., 2019). Así, Sengupta et al. (2020) menciona que más del 90% de la producción mundial de café ocurre en países en desarrollo como Colombia y Brasil y estas industrias están generando alrededor de  $10 \cdot 10^6$  t de residuos sólidos y una enorme cantidad de aguas residuales, que sumando a ello los productos de las demás industrias junto con las aguas residuales urbanas dan como resultado cantidades enormes de aguas que requieren ser tratadas.

Los procesos de depuración incluyen un tratamiento físico primario, un tratamiento biológico secundario y un tratamiento terciario o de desinfección (Bollmann et al., 2016), este procedimiento genera subproductos como los lodos de depuradora ricos en materia orgánica y de origen microbiano lo que incluye estructuras celulares, como polisacáridos, proteínas, lípidos y ADN (Pimiento y Rivas, 2019). Las estadísticas actuales muestran que la cantidad de lodos producidos a nivel mundial seguirá en aumento. Sólo en los países desarrollados se generan  $30 \cdot 10^6$  t/año (Meng et al., 2019); debido a su alta cantidad de materia orgánica, en Estados Unidos y algunos países de Europa son depositados en vertederos, incinerados o usados como mejoradores de suelos (uso agrícola); sin embargo, hay controversias de tipo ambiental a causa de la posibilidad de contaminar el medio ambiente con metales pesados que vienen incorporados en ellos. En este sentido, el tratamiento térmico para los lodos de depuradora se considera como la mejor manera de tratarlos reduciendo el volumen de residuos, descomponiendo contaminantes orgánicos, reutilizando la energía contenida en ellos y generando subproductos valiosos (Libra et al., 2011).

Las técnicas termoquímicas están categorizadas en: i) tratamientos térmicos (pirólisis o gasificación) que operan bajo atmósfera inerte con la materia prima en condiciones secas lo que requiere un gasto previo de energía para sustratos húmedos, ii) tratamientos hidrotermales que

operan en un sistema presurizado cerrado y bajo condiciones húmedas, en este último se encuentra la carbonización hidrotermal. Esta técnica muestra claras ventajas, frente a otros procesos termoquímicos ya que partiendo de biomasa de bajo valor y ampliamente disponible puede generar variedad de materiales carbonosos que tienen un alto potencial en aplicaciones como precursor de carbones activos mediante activación física o química (Titirici y Antonietti, 2010; Villamil, 2020).

La HTC a diferencia de la pirólisis es un proceso exotérmico capaz de tratar la biomasa húmeda dentro de un rango de temperatura más bajo entre los 180–250 °C y la presión de equilibrio correspondiente (2–10 MPa), el proceso da como resultado un hidrocarbón sólido (hydrochar), un agua de proceso (APHTC) con alta carga orgánica y una fase gaseosa minoritaria compuesta fundamentalmente por CO<sub>2</sub> (Marin-Batista et al., 2019). La carbonización hidrotermal ha evolucionado como una tecnología sostenible, respetuosa con el medio ambiente y energéticamente eficiente, mostrando un rendimiento prometedor como un tratamiento alternativo de los lodos de depuradora (Becker et al., 2019). Además, mejora significativamente la deshidratación del sólido resultante, elimina las sustancias nocivas como disruptores endocrinos, patógenos y otros microorganismos, e incluso Wang et al., (2019) mostró que la HTC promueve la disminución de las fracciones biodisponibles directas de los metales pesados, y la conversión de los contaminantes orgánicos a través de reacciones de carbonización típicas como hidrólisis, descarboxilación, deshidratación, polimerización y condensación.

Las condiciones del proceso (temperatura, tiempo de retención) se pueden gestionar convenientemente para optimizar las propiedades de los hidrocarburos sólidos y la retención de nutrientes (P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> y N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). En estudios llevados a cabo en el grupo de Investigación de la Universidad Autónoma de Madrid se determinó que las condiciones óptimas para la carbonización de lodo son 210 °C y 1h de tiempo de reacción (Villamil, 2019).

El agua de proceso obtenida contiene hasta un 15-20% del carbono inicial, principalmente en forma de ácidos fórmico y acético, azúcares, nutrientes y otros compuestos (de la Rubia et al., 2018a). Además, se forman compuestos recalcitrantes como furfural, fenoles, furano, pirazinas y pirimidinas que pueden tener carácter inhibitorio de procesos biológicos (Villamil, 2018a). Estas APHTC pueden ser tratadas por digestión anaerobia debido al valor agregado de la recuperación de energía en forma de biogás (Marin-Batista et al., 2020) pero también resulta interesante determinar la biodegradabilidad y la toxicidad aerobia de estas aguas por si en la planta de tratamiento sólo existe tratamiento biológico aerobio.

Es bien conocido que la baja toxicidad no está relacionada necesariamente con una alta biodegradabilidad. Por lo tanto, se requiere una evaluación exhaustiva de estas medidas para evitar la posible desestabilización del sistema biológico por la acumulación de compuestos no biodegradables (Gomez-Herrero et al., 2020). Estas pruebas se emplean para evaluar tanto la inhibición de los microorganismos involucrados en el tratamiento como la biodegradabilidad de las aguas de proceso (Mena et al., 2020). Entre los bioensayos para determinar la biodegradabilidad de un contaminante se encuentran dos tipos de pruebas estandarizadas: biodegradabilidad rápida (prueba respirométrica) y biodegradabilidad inherente (prueba de Zahn-Wellens), que se basan en la evaluación de parámetros generales como COT, DQO y DBO.

La prueba respirométrica presenta las condiciones operativas más restrictivas ya que se utiliza para determinar la degradación de un determinado compuesto en el medio ambiente, proporcionando una evaluación rápida de la biodegradabilidad de un compuesto xenobiótico que ingresa a un biorreactor midiendo la tasa de absorción de oxígeno del lodo activado tras la exposición al compuesto objetivo durante 24 h pues, la tasa de absorción de oxígeno está directamente relacionada con la degradación del sustrato. Por otro lado, la prueba Zahn- Wellens

dura 28 d y es menos restrictiva, debido a que se usa comúnmente para estudiar la eficiencia de un tratamiento biológico en las PTAR (Sanchis et al., 2014).

Se han desarrollado diferentes bioensayos para estudiar el efecto tóxico de los contaminantes seleccionando el tipo apropiado de microorganismo, la proporción de biomasa a sustrato o las herramientas propuestas para determinar los efectos tóxicos (Gomez-Herrero et al., 2018), el ensayo Microtox, basado en la actividad de *Vibrio fischeri*, es una de las pruebas de toxicidad aguda más utilizadas debido a su simplicidad, reproducibilidad y respuesta rápida que permite obtener el valor  $EC_{50}$ , definido como la concentración del APHTC ( $\mu\text{M}$ ) que causa una disminución del 50% en la luminiscencia de *Vibrio fischeri* (Gomez-Herrero et al., 2020). Con estas pruebas se evalúa el impacto potencial de las APHTC en el medio ambiente y la idoneidad de un tratamiento biológico.

Finalmente, para el tratamiento de biodegradabilidad a largo plazo resulta muy adecuado el empleo de SBRs, los cuales son sistemas de depuración biológica aerobia, donde se emplean fangos activos constituidos por bacterias, hongos, algas, protozoos y metazoos, encargados de la degradación de compuestos biológicamente degradables. La diferencia con otros sistemas de tratamiento biológico como los lodos activos, que requieren de una balsa y un decantador, es que en el SBR todas las operaciones (anoxia, aireación, sedimentación y vaciado) se realizan en un solo tanque, temporizando las secuencias. Básicamente en los SBR tras agregar el fango activo, que actuará como inóculo, el proceso de depuración se lleva a cabo en cuatro etapas: i) El llenado, donde se introduce el “alimento” elaborado a base de nutrientes y el agua de proceso que se desea analizar, el llenado se realiza con o sin agitación y puede ser anóxico o con oxígeno, en función de lo que se quiera conseguir. ii) La reacción, se inyecta aire al sistema y la biomasa microbiana

se mezcla con el APHTC permitiendo que se produzca la eliminación de materia orgánica por oxidación aerobia, básicamente ocurre la siguiente reacción:



iii) La sedimentación, eliminando el aire y la agitación se consigue que el fango activo del licor mezcla decante por gravedad y el sobrenadante superficial es el agua tratada. iv) El vaciado, es donde se retira del reactor el agua tratada y se purga, si es necesario, el fango concentrado en el fondo controlando la concentración de microorganismos que permanece en el reactor.

Las ventajas que presenta la tecnología SBR frente a los reactores biológicos convencionales son: que requiere menor espacio, menor inversión y menores costes de mantenimiento. Además, el proceso está totalmente automatizado, y proporciona gran flexibilidad operativa en función de la duración de los ciclos y el modo de operación de cada ciclo.

## 2.2 Método

### 2.2.1 Carbonización hidrotérmal (HTC)

En un reactor de acero inoxidable de 4 L (Zipperclave) con 127 mm de diámetro interior y 312 mm de longitud interior, con impulsor Rushton (diámetro: 50,8 mm), válvula de descarga en el fondo, sello con junta tórica en material de vitón, controlador Iberfluid (IB62) de temperatura y velocidad de agitación y un enfriador de serpentina ubicado en el centro del reactor (Figura 3); se llevaron a cabo ensayos de carbonización utilizando 1,5 kg de lodo secundario, lodo mixto o digestato respectivamente procedentes de una PTAR de la Comunidad de Madrid (España). La caracterización del lodo secundario fue 4,6% ST y 3,8% SV, 5,1% ST y 4,3% SV para el mixto y 20 y 19,2% ST y SV para el digestato, respectivamente. La reacción se realizó bajo una temperatura de 210 °C durante 1 h. El sistema se calentó usando una rampa de 2 °C /min y agitando a 150 rpm, las reacciones se detuvieron con agua de grifo usando el enfriador de serpentina. La

mezcla de hidrochar y fracción líquida se separó mediante centrifugación a 750 rpm durante 10 min mediante una centrífuga SIGMA 3-16KL y filtración al vacío con un filtro de 0,45 mm. El hidrochar seco se trituró, se tamizó y guardó, el agua de proceso o fracción líquida se caracterizó como se detalla a continuación.

### Figura 3

*Reactor empleado para el tratamiento de HTC*



A las muestras sólidas tanto de materia prima (lodos) como de hidrochar se les analizó la composición elemental (C, H, N, y S) la cual se determinó en un analizador CHNS (LECO CHNS-932) utilizando el procedimiento estándar del fabricante.

### 2.2.2 Caracterización físico-química de las aguas de proceso (AP)

Las tres aguas de proceso se caracterizaron mediante la determinación de sólidos totales y volátiles, pH, alcalinidad, conductividad, DQO, COT, formiato, acetato, N-NH<sub>4</sub>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub>, Nitrógeno Total, P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, P Total, ácidos grasos volátiles (AGV) y cromatografía de gases masa (GC-MS).

**Sólidos totales (ST).** Los sólidos se determinaron en función del peso de la muestra que queda después de la evaporación y secado en estufa (Apéndice A). Para ello, se utilizaron cápsulas que inicialmente se introdujeron en una estufa a 105 °C durante 1 h, enseguida se colocaron en un desecador durante 30 min y se tararon; posteriormente, se agitaron cada una de las fracciones líquidas y se obtuvo una muestra homogénea para cada una de ellas, de las cuales se pesaron 20 g (equivalentes a 2 mL) dentro de la cápsula y se introdujeron en la estufa a 105 °C durante 24 h. Finalmente se dejaron enfriar en el desecador y se pesaron las cápsulas con la muestra seca, obteniendo así los valores necesarios para calcular los sólidos totales por medio de la siguiente ecuación:

$$ST = [(A - B) \cdot 1000] / V$$

Donde A es el peso final de la cápsula con el residuo seco, en gramos, B es el peso inicial de la cápsula tarada en gramos y V es el volumen de muestra sometida a secado (2 mL).

**Sólidos volátiles (SV):** Se obtuvieron tras la pérdida de sólidos totales, suspendidos o disueltos después del proceso de ignición de la muestra durante un tiempo y temperatura específico. La cuantificación de los SV se realizó utilizando la muestra seca dentro de la cápsula con la que se determinaron los ST, introduciéndola en un horno mufla a 950 °C durante 6 h

obteniendo las cenizas (Apéndice A). Posteriormente se dejó enfriar en un desecador antes de ser pesada para calcular el contenido en SV, según la siguiente ecuación:

$$SV = [(C - D) \cdot 1000] / V$$

Donde C se refiere al peso de la muestra seca en gramos, D es el peso en gramos de la muestra después de la calcinación (cenizas) y V es el volumen de muestra desecada (2 mL).

**pH:** Esta medida se realizó con un pHmetro Crison 20 (Instrumentos Crison, España) según el método estándar 4500H (APHA 1998). El equipo se calibró con unas soluciones estándar de pH 4, 7 y 9.

**Alcalinidad total:** Se midió por medio de titulación a pH 4,3. El proceso de titulación se realizó mediante un Titulador Titromatic 2S (Instrumentos Crison, España) con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,02 N. Se calibró con soluciones estándar de pH 4 y 9 antes de las mediciones. La alcalinidad total se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Alcalinidad total} = (VA \cdot N \cdot 50000) / V$$

Donde VA es el volumen de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> necesario para alcanzar pH 4,3, N es la normalidad de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,02 N) y V es el volumen de la muestra (2 mL).

**Conductividad:** Definida como la propiedad de conducir la corriente eléctrica que poseen las soluciones acuosas. Esta medida se tomó con un conductímetro GLP 31 (Instrumentos Crison, España), calibrado con patrones de conductividad de 147 y 1413 mS / cm, respectivamente.

**Demanda química de oxígeno (DQO):** Se define como la cantidad de un oxidante específico, en este caso dicromato de potasio, que reacciona con la muestra en condiciones controladas. La cantidad de oxidante consumida se expresa en términos de su equivalencia de oxígeno. El ion dicromato ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ) se reduce al ion crómico ( $\text{Cr}^{3+}$ ). Tanto los componentes orgánicos como los inorgánicos de una muestra están sujetos a oxidación, pero en la mayoría de los casos el componente orgánico predomina y es de mayor interés. Esta determinación se llevó a cabo siguiendo el método 5220D (APHA 1998). Se colocaron 2,5 mL de muestra en un tubo de ensayo, añadiéndole 1,5 mL de dicromato de potasio y 3,5 mL de ácido sulfúrico-sulfato de plata este último, actuó como catalizador en el medio ácido. Después de mezclar, se depositó en un termorreactor Velp ECO-16 (Velp Scientifica, Italia) a 150 °C durante 2 h (Apéndice B). Finalmente, la muestra se enfrió a temperatura ambiente, enseguida se midió la absorbancia de cada muestra, iniciando por la muestra en blanco a una longitud de 560 nm en un espectrofotómetro UV-6000PC (Jinan Precision Testing Equipment, China), determinando de esta manera la concentración de DQO.

**Carbono orgánico total (COT):** Se basa en la combustión por oxidación catalítica completa a temperaturas altas (aprox. 720 °C) para convertir el carbono orgánico en  $\text{CO}_2$ . Inicialmente se filtró la muestra haciendo uso de un filtro de microfibras de vidrio de 0,45  $\mu\text{m}$  que se introdujo a un analizador automático TOC-VCPN (Shimadzu) (Apéndice C), realizando la combustión de la muestra, donde el gas generado se analiza con un sensor de infrarrojos no dispersivo (NDIR), obteniendo el COT por la diferencia entre el carbono total (CT) y el carbono inorgánico total (CIT).

**Cromatografía iónica.** Siguiendo la metodología descrita en el artículo de Mena, et al., (2019) las concentraciones de formiato y acetato se determinaron en un cromatógrafo de iones DIONEX ICS-900 con supresión química, utilizando una columna Dionex IonPac AS22 de  $4 \times 250$  mm como fase estacionaria y una solución de  $1,4 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{NaHCO}_3$  /  $4,5 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a  $1 \text{ ml/min}$  como fase móvil. El volumen de la muestra inyectada fue de  $25 \mu\text{l}$ .

**Ácidos Grasos Volátiles (AGV).** Se cuantificaron con el cromatógrafo de gases GC-FID Varian 430 (Apéndice E), se usó helio como gas inerte durante la fase móvil que transportó la muestra volatilizada en el inyector a través de la columna cromatográfica. Se utilizó una columna con fase de Nukol (polietilenglicol modificado con ácido nitrotereftálico) de 30 metros de longitud,  $0,25 \text{ mm}$  de diámetro interno y un grosor de  $0,25 \mu\text{m}$ . Los compuestos se separaron en función de su grado de volatilidad y su afinidad por la fase estacionaria. Como detector se utilizó el detector FID (ionización de llama) el cual dispone de un elevado rango de detección de compuestos. Para la preparación de la muestra fueron mezclados  $900 \mu\text{L}$  de la muestra previamente filtrada en un vial de  $1500 \mu\text{L}$  con  $150 \mu\text{L}$  de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  para ajustar el pH por debajo de 2, y  $150 \mu\text{L}$  de una solución de ácido crotónico ( $2000 \text{ mg/L}$ ) como patrón interno.

**Cromatografía de gases masa (GC-MS).** El análisis de componentes mayoritarios se realizó filtrando una muestra por cada APHTC de la cual se usó una alícuota de  $1 \mu\text{l}$ . Se empleó el equipo GC/MS EVOQ-TQ con modo de inyección SPME\_Fibra PDMS. El método cromatográfico consistió en una  $T^a$  inicial horno  $70 \text{ }^\circ\text{C}$  (hold 2 min) hasta  $250 \text{ }^\circ\text{C}$  con una rampa de calentamiento de  $7 \text{ }^\circ\text{C/min}$  (hold a  $250 \text{ }^\circ\text{C}$  20min), se utilizó helio (He) como gas transportador con un flujo de  $1 \text{ mL/min}$  y una energía electrónica de  $70\text{eV}$ .

Las demás caracterizaciones de las aguas se determinaron empleando los kits de Hach (Apéndice D) Lange: Para amonio ( $\text{N-NH}_4$ ) se utilizó el LKC 302 47-130 mg/L, para nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) LCK 341 0,15-0,600 mg/L, para nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) LCK 339 0,23-13,50 mg/L, para Nitrógeno total LCK 138 1-16 mg/L, para Fosfato ( $\text{P - PO}_4^{3-}$ ) y Fosforo total LCK 350 de 2-20 mg/L y 6-60 mg/L respectivamente, siguiendo las metodologías planteadas en los kits para cada una de las aguas de proceso y tomando sus respectivas lecturas por medio del equipo Hach Lange 3900DR (Instrumentos Hach, Estados Unidos).

### **2.2.3 Análisis de Ecotoxicidad con el Método Microtox®**

La ecotoxicidad se estableció mediante la medición metabólica de la bacteria bioluminiscente *Vibrio fischeri* (*Photobacterium phosphoreum*) al estar en contacto con las AP, este ensayo se realizó de acuerdo con el procedimiento de prueba estándar Microtox® (ISO 11348, 2007), basado en la disminución de la emisión de luz por parte de la bacteria marina después de estar 15 min en contacto con la muestra a pH de 6-8, usando para la medición un analizador Microtox M500 (Azur Ambiental). Los resultados se expresaron en términos de  $\text{IC}_{50}$ , definida como la concentración eficaz de AP que provoca un efecto inhibitor del 50% de los microorganismos. Los resultados informados fueron el promedio de las mediciones llevadas a cabo por triplicado, con una medida estándar menor al 10%.

### **2.2.4 Fuente de Inóculo**

El lodo activado proveniente de un biorreactor de membrana (MBR) de una fábrica de cosméticos en Madrid (España) se depositó en un SBR para estabilizarlo (Figura 4), con una tasa de carga orgánica (sodio acetato y glucosa) de 0,4 mg DQO/mg VSS operado a temperatura ambiente, utilizando como fuente de alimentación nitrógeno y fósforo, sulfato de amonio y ácido

fosfórico respectivamente. Se fijó una DQO: N: P de 100: 5: 1 (p/p) y sales minerales ( $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{KCl}$  y  $\text{MgCl}_2$ ) se agregaron como suministro de micronutrientes en la relación DQO: micronutrientes (Fe, Ca, K y Mg) de 100: 0,05 (p/p).

A este lodo se le realizó un control diario de solidos suspendidos totales (SST), índice volumétrico de lodos en 30 min ( $\text{IVL}_{30}$ ) y observación al microscopio (Apéndice I, J, K).

#### **Figura 4**

*Reactor  $\text{SBR}_{\text{madre}}$  de donde se extrae el lodo activado*



El proceso para la determinación de los SST se realizó siguiendo la Norma 2540D (APHA 1998), filtrando una muestra homogenizada a través de un filtro de fibra de vidrio estándar pesado y el residuo retenido en el filtro se secó a una temperatura de 105 °C por 1 h. El aumento de peso del filtro representa el total de sólidos en suspensión. La concentración de sólidos suspendidos totales se calculó de la siguiente manera:

$$\text{SST} = (\text{P}_d - \text{P}_f) / \text{V}_f$$

donde  $P_d$  es el peso de la muestra seca,  $P_f$  es el peso del filtro y  $V_f$  es el volumen de muestra que se filtró.

Para el  $IVL_{30}$  que es el volumen de un lodo en mL ocupado por un gramo de fango activo después de 30 min de decantación, se realizó tomando 1000 mL de lodo activo homogenizado que se introdujeron en una probeta dejándolo en reposo por 30 min y anotando los mL sedimentados, para la determinación del valor de IVL se empleó la siguiente ecuación:

$$IVL_{30} = (1000 \cdot \text{mL de sedimentación}) / SST$$

En cuanto a la observación al microscopio, se utilizó un microscopio vertical Nikon con analizador de imágenes Eclipse Ci-S / Ci-L, equipado con una cámara digital DS-Fi2 y una unidad de control DS-U3 marcas Nikon (Apéndice I), que se emplearon para diariamente obtener micrografías y de esa forma controlar los microorganismos y la cantidad de ellos presentes en el lodo.

Este lodo estabilizado se utilizó como inóculo para los ensayos de biodegradabilidad a corto plazo (biodegradabilidad inherente, biodegradabilidad rápida) y los ensayos de biodegradabilidad a largo plazo en reactores biológicos secuenciales.

### ***2.2.5 Biodegradabilidad Rápida***

La biodegradabilidad rápida de las aguas de proceso se evaluó en un respirómetro discontinuo de medida en fase líquida (LSS), utilizando lodos no aclimatados (350 mg VSS/L) en presencia de un sustrato fácilmente biodegradable (acetato de sodio) junto con diferentes concentraciones de las AP (CM 0,1 y 0,4). El equipo utilizado constó de dos reactores independientes de 1 L, cerrados herméticamente para descartar la transferencia de oxígeno del aire a la fase líquida, conteniendo en su interior las sondas de oxígeno y las conducciones de aire, ambas controladas mediante una interfase que registra la concentración de oxígeno a tiempo real

y un agitador magnético para homogenizar el medio de reacción. El ensayo se realizó a una temperatura de 25 °C controlada por un baño termostatzado (Apéndice G). La tasa de absorción de oxígeno específico y la evolución del COT fueron medidos a lo largo de 72 h. Estos reactores operaron de manera simultánea garantizando así la reproducibilidad de los resultados a través de ensayos por duplicado.

### ***2.2.6 Biodegradabilidad Inherente***

La prueba de Zahn-Wellens se realizó de acuerdo con las directrices de la OECD 302 B (OECD 1992). En una botella de vidrio ámbar (0,5 L) se mezcló lodo activado, AP (en relación de contenido de carbono de las AP, el inóculo (peso seco) fue de 1:4) en medio mineral acuoso (tampón fosfato con  $\text{CaCl}_2$  (27,5 mg/L),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (22,5 mg/L) y  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0,25 mg/L/)) que se agitó y aireó a temperatura ambiente durante 28 d (Apéndice H). Se tomaron muestras periódicamente para el análisis de COT y DQO a lo largo del ensayo. Cada compuesto se probó en paralelo en dos botellas diferentes para garantizar la reproducibilidad y para verificar la actividad del lodo, también se realizó una prueba de control usando etilenglicol como compuesto de referencia.

### ***2.2.7 Biodegradabilidad a largo plazo***

La evaluación de la biodegradabilidad en ensayos de larga duración se llevó a cabo en tres reactores SBR termostatzados de 2,5 L, equipados con sondas para la medida de oxígeno disuelto y pH; bombas peristálticas para la alimentación y descarga, así como para la adición de NaOH asegurando un pH adecuado. La aireación fue suministrada por un compresor de flujo a través de un difusor cerámico utilizando un caudal de 5 L/min asegurando una concentración adecuada de oxígeno disuelto. Los experimentos se realizaron a una temperatura de 25 °C y una velocidad de agitación de 300 rpm, utilizando un tiempo de retención hidráulico de 7 d, una concentración de

microorganismos aerobios de 3000 mg SVS/L y un tiempo de residencia celular de 25 d. El ciclo de operación de los SBRs constó de 8 h: incluyendo llenado anóxico (0,25 h), reacción aireada (7,0 h), sedimentación (0,5 h) y vaciado (0,25 h) (Figura 5).

Se determinó la evolución de la concentración de COT y DQO extrayendo muestras líquidas (20 mL) de cada reactor con una jeringa, que luego fueron filtradas con un filtro de PTFE (tamaño de poro de 0,22  $\mu\text{m}$ ), aumentando cada semana la concentración de las AP. Una vez por semana se tomaron 10 muestras en diferentes etapas del ciclo para monitorear el proceso de biodegradación en cada uno de los tres SBRs.

### Figura 5

#### *Reactores biológicos secuenciales*



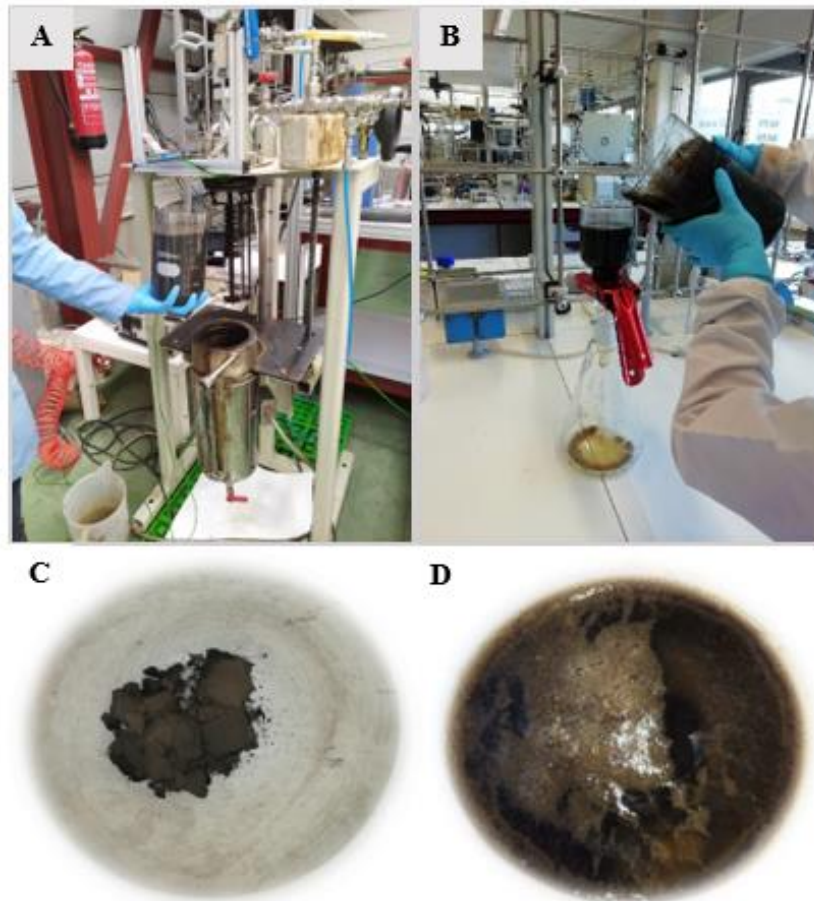
## 2.3 Resultados

### 2.3.1 Carbonización Hidrotermal

Los lodos secundarios, mixto y digestato, luego de ser sometidos al tratamiento de carbonización hidrotermal dieron como resultado el hidrochar y el agua de proceso que, en un principio se encontraban mezcladas en una especie de slurry (Figura 6A) y por medio de filtración al vacío (Figura 6B) se obtuvieron las dos fracciones por separado (Figura 6C, D).

#### Figura 6

*Obtención de hidrochar y agua de proceso*



*Nota.* A) Producto luego de la HTC. B) Separación de las fracciones por medio de filtración al vacío. C) Hidrochar. D) Agua de proceso.

Tanto los lodos como los hidrochar obtenidos se sometieron a un análisis elemental (CHNS) para determinar su contenido en carbono y su poder calorífico (PC) (Tabla 1), donde se observó que el hidrochar con mayor PC fue procedente del lodo mixto con un valor de 20,35 MJ/kg, seguido por el HC210 del lodo secundario con 19,50 MJ/kg.

**Tabla 1**

*Caracterización de los lodos de partida y de los hidrochar obtenidos por HTC.*

	Contenido sólido	C	H	N	S	O	Cenizas	Materia volátil	Carbono fijo	PC
	b.s %	b.s %	b.s %	b.s %	b.s %	b.s %	b.s %	b.s %	b.s %	MJ/kg
<b>(LS)</b>	4,6	38,5	5,4	7,2	0,7	25,4	22,8	63,6	13,6	16,66
<b>(LM)</b>	5,1	42,5	5,9	6,4	0,8	17,6	26,8	62,4	10,8	19,38
<b>(LD)</b>	19,9	30,9	4,6	4,7	1,5	33,1	25,2	69,7	5,1	12,33
<b>HC210_LS</b>	-	42,5	5,9	4,3	0,8	16,7	29,8	60,6	9,7	19,50
<b>HC210_LM</b>	-	44,3	6,1	2,1	0,2	15,7	31,7	55,9	12,4	20,35
<b>HC210_LD</b>	-	40,0	5,6	6,4	0,9	18,4	28,9	65,3	5,8	17,98

Nota: LS: Lodo secundario, LM: Lodo mixto, LD: Lodo digerido, HC210: Hidrochar de 210 °C, b.s: Base seca, PC: Poder calorífico.

### 2.3.2 Caracterización físico-química de las aguas de proceso

Las AP obtenidas de cada lodo, se analizaron determinando sus características físico-químicas comprendiendo parámetros que incluyeron desde el pH hasta el P Total como se muestra de manera ordenada en la Tabla 2; de tal forma que se pudo observar que el AP de digestato (APD) fue la que obtuvo los valores más altos en prácticamente todos los parámetros analizados.

**Tabla 2***Caracterización físico-química de las AP*

	<b>APLS</b>	<b>APLM</b>	<b>APD</b>
<b>pH</b>	5,7 ± 0,1	5,0 ± 0,1	6,6 ± 0,1
<b>Alcalinidad total (g CaCO<sub>3</sub>/L)</b>	2,7 ± 0,1	3,2 ± 0,1	7,3 ± 0,1
<b>Conductividad (mS/cm)</b>	6,5 ± 0,1	6,6 ± 0,1	9,9 ± 0,1
<b>ST (g/L)</b>	20,3 ± 3,5	18,4 ± 3,5	51,9 ± 3,5
<b>SV (g/L)</b>	18,2 ± 2,5	16,8 ± 2,5	50,2 ± 2,5
<b>DQO (g O<sub>2</sub>/L)</b>	35,5 ± 0,2	35,2 ± 0,2	62,3 ± 0,2
<b>COT (g/L)</b>	11,3 ± 0,2	9,3 ± 0,2	29,1 ± 0,2
<b>Formiato (mg/L)</b>	338 ± 0,1	330 ± 0,1	863 ± 0,1
<b>Acetato (mg/L)</b>	2373 ± 0,1	4466 ± 0,1	4497 ± 0,1
<b>N-NH<sub>4</sub> (mg/L)</b>	1120 ± 0,2	1316 ± 0,2	3472, ± 0,2
<b>NO<sup>2-</sup> (mg/L)</b>	n. d	n. d	n. d
<b>NO<sub>3</sub>. (mg/L)</b>	n. d	0,6 ± 0,1	3,1 ± 0,1
<b>Nitrógeno Total (mg/L)</b>	2875 ± 0,1	4675 ± 0,1	9750 ± 0,1
<b>P-P<sub>0</sub><sub>4</sub><sup>3-</sup> (mg/L)</b>	24,1 ± 0,1	44,7 ± 0,1	47,2 ± 0,1
<b>P Total (mg/L)</b>	43,5 ± 0,1	64,5 ± 0,1	70,8 ± 0,1

Nota: APLS (Agua de proceso lodo secundario), APLM (Agua de proceso lodo mixto), APD (Agua de proceso digestato), n. d (Compuesto no detectado).

Con respecto a los valores de pH, las tres AP son ácidas, siendo APLM el agua más ácida con un valor en torno a 5,0, seguida por el APLS con 5,7 y finalmente el APD con 6,6. La alcalinidad total más alta la presentó el APD con 7,3 g CaCO<sub>3</sub>/L igual que la conductividad con 9,9 mS/cm, los valores más bajos en estos dos parámetros los presentó el APLS con 2,7 g CaCO<sub>3</sub>/L y 6,5 mS/cm respectivamente. En términos de alcalinidad los valores para el APLS y APLM fueron cercanos entre ellos, pero bastante lejanos al valor mostrado por el APD con una diferencia de 4,35 g CaCO<sub>3</sub>/L.

Los ST y SV para las APLS y APLM fueron próximos entre ellos, tomando valores dentro del rango de 16,8 g/L y 20,3 g/L siendo el APLM el agua que representó los valores más bajos.

Por el contrario, el APD mostró valores elevados casi de manera duplicada en comparación con las otras dos aguas, siendo 51,9 g/L la cantidad de ST y 50,2 g/L de SV caracterizándola como el AP con mayor cantidad de materia orgánica disuelta y suspendida, esto también queda patente en los valores de DQO y COT con 62,3 g O<sub>2</sub>/L y 29,1 g/L para esta agua, mientras que para las APLS y APLM los valores en estos dos parámetros estuvieron por debajo de los 36 gO<sub>2</sub>/L y 12 g/L, respectivamente, estando muy cercanos entre ellos y manteniéndose el APLM con los valores más bajos (Tabla 2).

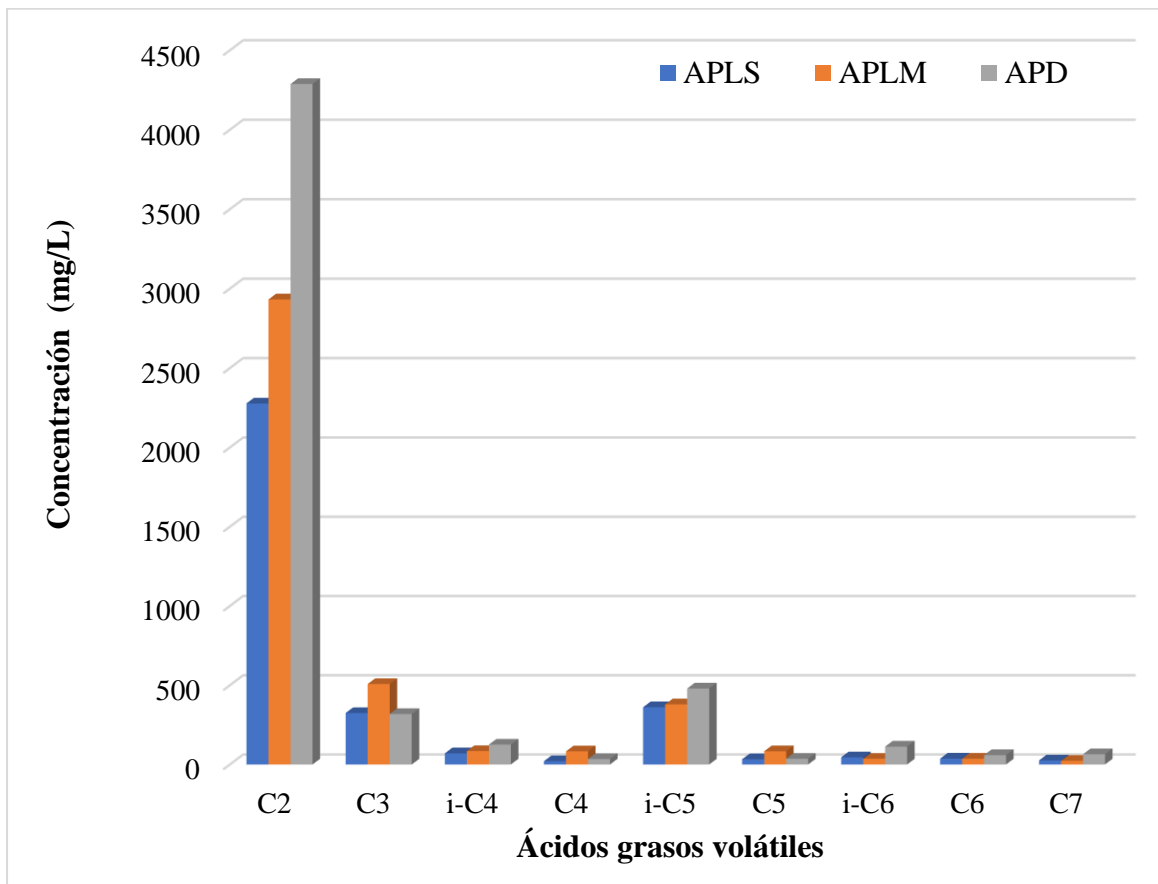
En cuanto a los compuestos químicos cuantificados, en el caso del formiato y el N-NH<sub>4</sub> para las APLS y APLM tomaron valores con diferencias bajas entre ellos, sin embargo, para el APD los valores de estos compuestos duplicaron a los de las otras aguas; en el caso de los demás compuestos se presentaron variaciones altas entre las distintas AP. Aunque, es importante resaltar que el Nitrógeno total y el acetato fueron los que se presentaron en una mayor concentración con respecto a los demás compuestos en las tres aguas de proceso, básicamente se obtuvieron valores de Nitrógeno total de 2875, 4675 y 9750 mg/L para el APLS, APLM y APD respectivamente, en cuanto al acetato las concentraciones fueron de 2372,5, 4465,8 y 4497,1 mg/L para el APLS, APLM y APD respectivamente. Por el contrario, no se detectó la presencia de Nitrito (NO<sup>2-</sup>) en ninguna de las tres AP, de igual forma que el Nitrato (NO<sub>3</sub>-) para el APLS y en bajas concentraciones en el APLM y APD.

En cuanto a los ácidos grasos volátiles (AGV) conocidos como ácidos grasos de cadena corta que van desde C2 a C7 y se clasifican en: ácido acético (C2), ácido propiónico (C3), ácido isobutírico (iC4), ácido butírico (C4), ácido isovalérico (iC5), ácido valérico (C5), ácido isocaproico (iC6), ácido caproico (C6) y ácido heptanoico (C7), también se incluyeron en la

caracterización de las aguas de proceso para obtener información acerca de la contaminación y presencia de biomasa en ellas (Figura 7).

**Figura 7**

*Representación gráfica de la concentración de los AGV presentes en las tres aguas de proceso, determinados mediante GC-FI).*



*Nota.* En el eje X se encuentran los AGV en sus representaciones. APLS (Agua de proceso lodo secundario), APLM (Agua de proceso lodo mixto), APD (Agua de proceso digestato).

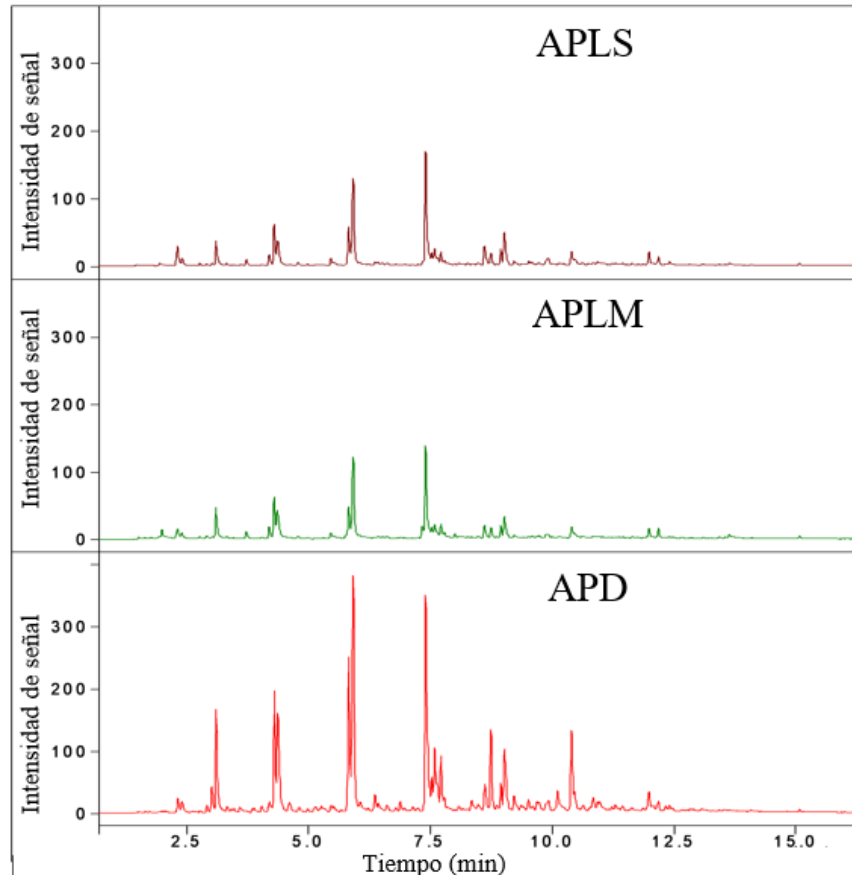
Tras este análisis se logró observar que el ácido graso con mayor concentración presente en las tres AP fue el C2 haciendo referencia al ácido acético (Figura 7) lo que se puede relacionar con las altas concentraciones de acetato mostradas en la Tabla 2. De manera más detallada, para el APLS los AGV más abundantes fueron el C2 con una concentración de 2277,4 mg/L equivalente

al 71,3% de los AGV totales presentes en esta muestra, seguido por el C3 con 364,3 mg/L (8,5%) y por último el iC5 con 321, 5 mg/L (5%), de igual manera para el APLM se mantuvo el C2 con 2932, 1 mg/L (70,4%), el C3 con 507,5 mg/L (12,2%) y el iC5 con 379,2 mg/L (9,1%), finalmente para el APD se presentaron el C2 con 4287, 8 mg/L (77,7%), el iC5 con 479,2 mg/L (8,7%) y el C3 con 318,3 mg/L (5,8%). Los demás AGV en las tres aguas de proceso mostraron concentraciones bajas que se representaron con porcentajes que van desde los 0,3% y no superan el 2% del total de los AGV.

La cromatografía de gases-masa (GC-MS) dio como resultado tres cromatogramas, uno para cada AP (Figura 8) y un reporte cromatográfico acerca de los componentes mayoritarios presentes en las muestras (Tabla 3). Con los cromatogramas (Figura 8), se logró inferir que el patrón de comportamiento en los picos los cuales indican las sustancias que van llegando al detector son muy similares para las APLS y APLM en cuanto a la intensidad de señales como al tiempo de retención (TR) en la columna cromatográfica, por otro lado, en el APD a pesar de que sus picos se produjeron en el mismo TR en comparación con las otras AP, la intensidad de las señales fueron más altas, lo que indica que en esta agua de proceso los analitos detectados se encontraron en concentraciones mayores (Tabla 3).

**Figura 8**

*Cromatogramas para las distintas aguas de proceso*



*Nota.* APLS (Agua de proceso lodo secundario), APLM (Agua de proceso lodo mixto) y APD (Agua de proceso digestato).

El reporte cromatográfico se obtuvo mediante la integración de los picos de los cromatogramas a través del programa MS Workstation (Versión 6; Varian:2010), donde se reporta el TR (min) en el que fue detectado el componente por parte del polímero que recubre las paredes internas de la columna cromatográfica, lugar donde se separan las distintas sustancias de la muestra dependiendo de su polaridad y punto de ebullición, el área del pico, la concentración del componente detectado y el nombre del compuesto para las tres AP analizadas (Tabla 3).

**Tabla 3***Reporte cromatográfico para las tres aguas de proceso*

AP lodo secundario			AP lodo mixto			AP digestato			
TR (min)	Área	C (%)	Compuesto	Área	C (%)	Compuesto	Área	C (%)	Compuesto
3,1	1,23E+08	3,32	4- metilpirimidina	1,63E+08	5,36	4-metilpirimidina	4,95E+08	4,99	4- metilpirimidina
4,3	1,43E+08	3,90	2,5- dimetilpirazina	1,45E+08	4,77	2,5-dimetilpirazina	4,30E+08	4,34	2,5- dimetilpirazina
4,4	1,67E+08	4,51	1,4- Benzenediamina	1,60E+08	5,25	2,5- dimetilpirazina*	5,97E+08	6,02	1,4- Benzenediamina
5,8	1,63E+08	4,40	2-etil-5- metilpirazina	1,31E+08	4,3	2-etil-5- metilpirazina	6,34E+08	6,40	2-etil-5- metilpirazina
5,9	5,43E+08	14,6	2-etil-5- metilpirazina	4,03E+08	13,2	2-etil-5- metilpirazina	1,24E+09	12,5	2-etil-5- metilpirazina
7,4	4,98E+08	13,4	2,3- Dietilpirazina	4,09E+08	13,6	2,3-Dietilpirazina	1,04E+09	10,5	2,3- Dietilpirazina
7,6	6,84E+07	1,84	2,3- Dietilpirazina	8,60E+07	2,86	4,5-dimetil-o- fenilendiamina*	2,71E+08	2,74	2,3- Dietilpirazina
9,0	1,69E+08	4,50	2,3,5,6- tetrametil- Fenol*	1,21E+08	3,96	Ácido 4- formilbenzoico	3,93E+08	3,97	Ácido 4- formilbenzoico


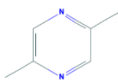

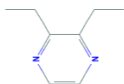
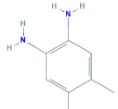
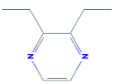
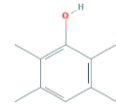
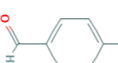
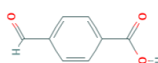
Nota: C (concentración). \*Compuesto de un AP que difiere respecto a las otras dentro del mismo TR.

Se integraron los picos presentes en el transcurso de los 15 min, en el caso del APLS se analizaron 80 picos, en el APLM 33 y en el APD 50, donde se reflejaron distintos tipos de compuestos, los nitrogenados fueron los más predominantes en las tres AP; exactamente en el

APLS representaron el 45,25%, en el APLM el 61% y en el APD el 67% el porcentaje faltante se distribuyó entre compuestos fenólicos, compuestos de silicio e hidrocarburos aromáticos.

**Tabla 4**

*Compuestos mayoritarios que difirieron entre las aguas de proceso.*

AP secundario				AP mixto			AP digestato		
Tr (min)	C (%)	Compuesto	Estructura	C (%)	Compuesto	Estructura	C (%)	Compuesto	Estructura
4,4	4,51	1,4-Benzenediamina		5,25	2,5-dimetilpirazina		6,02	1,4-Benzenediamina	
7,6	1,84	2,3-Dietilpirazina		2,86	4,5-dimetil-o-fenilendiamina		2,74	2,3-Dietilpirazina	
9,0	4,50	2,3,5,6-tetrametil-Fenol		3,96	Ácido 4-formilbenzoico		3,97	Ácido 4-formilbenzoico	

En la Tabla 3 se muestran solo los compuestos en el tiempo comprendido entre los 3,1 min y los 9,0 min debido a que en ese rango los picos mostraron mayor intensidad (Figura 8) y mayor área teniendo en cuenta que entre mayores sean los valores de estos dos parámetros mayor es la concentración del compuesto detectado, se conoció que para los mismo TR en cada una de las AP, el pico producido en ese tiempo representó el mismo componente, excepto para los TR 4,4 min, 7,6 min donde fue distinto el componente en el AP del lodo mixto y para el TR en 9,0 min difirió el AP del digestato (Tabla 4). También se pudo observar que, a los 5,9 y 7,4 min, respectivamente se detectaron las mayores concentraciones de los componentes con valores alrededor de los 10,5 y 14,5% cuyas sustancias hacen parte de compuestos de tipo nitrogenados.

### 2.3.3 Análisis de Ecotoxicidad con el método Microtox®

Con el análisis de ecotoxicidad por medio de la prueba estándar de Microtox® se obtuvieron los valores de IC<sub>50</sub> y la cantidad de unidades toxicológicas (UT) para cada una de las AP (Tabla 5). Teniendo en cuenta que la IC<sub>50</sub> y las UT son parámetros que se relacionan de manera inversamente proporcional, es decir, entre menor sea el porcentaje de IC<sub>50</sub> mayores son las unidades toxicológicas y por ende mayor es la toxicidad de la muestra; se conoció que el AP con mayor toxicidad es la proveniente del digestato con una IC<sub>50</sub> de 0,7%, seguida por la del lodo secundario con 1,9% y finalmente la menos tóxica fue la del lodo mixto con 2,2%.

**Tabla 5**

*Resultados de la prueba Microtox® para las tres AP*

	IC <sub>50</sub> (%)	IC <sub>50</sub> mg/L	UT*
<b>AP lodo secundario</b>	1,9	19,0	52,6
<b>AP lodo mixto</b>	2,2	21,8	45,8
<b>AP digesto</b>	0,7	7,1	138,9

Nota: \*Unidades de toxicidad o Equitox, referente de toxicidad de cara a la legislación.

### 2.3.4 Biodegradabilidad Rápida

La evaluación de la biodegradabilidad rápida se llevó a cabo mediante ensayos respirométricos, con el fin de observar la actividad de la biomasa al ser sometida a distintas concentraciones de las AP, se realizaron ensayos con dos cargas másicas (0,1 y 0,4, respectivamente) para cada una de ellas. En el caso de los ensayos con CM 0,1, todas las AP mostraron rendimientos positivos en la degradación de la materia orgánica siendo el AP del lodo mixto la que mostró un rendimiento mayor en términos de COT con un 51% y el AP de lodo

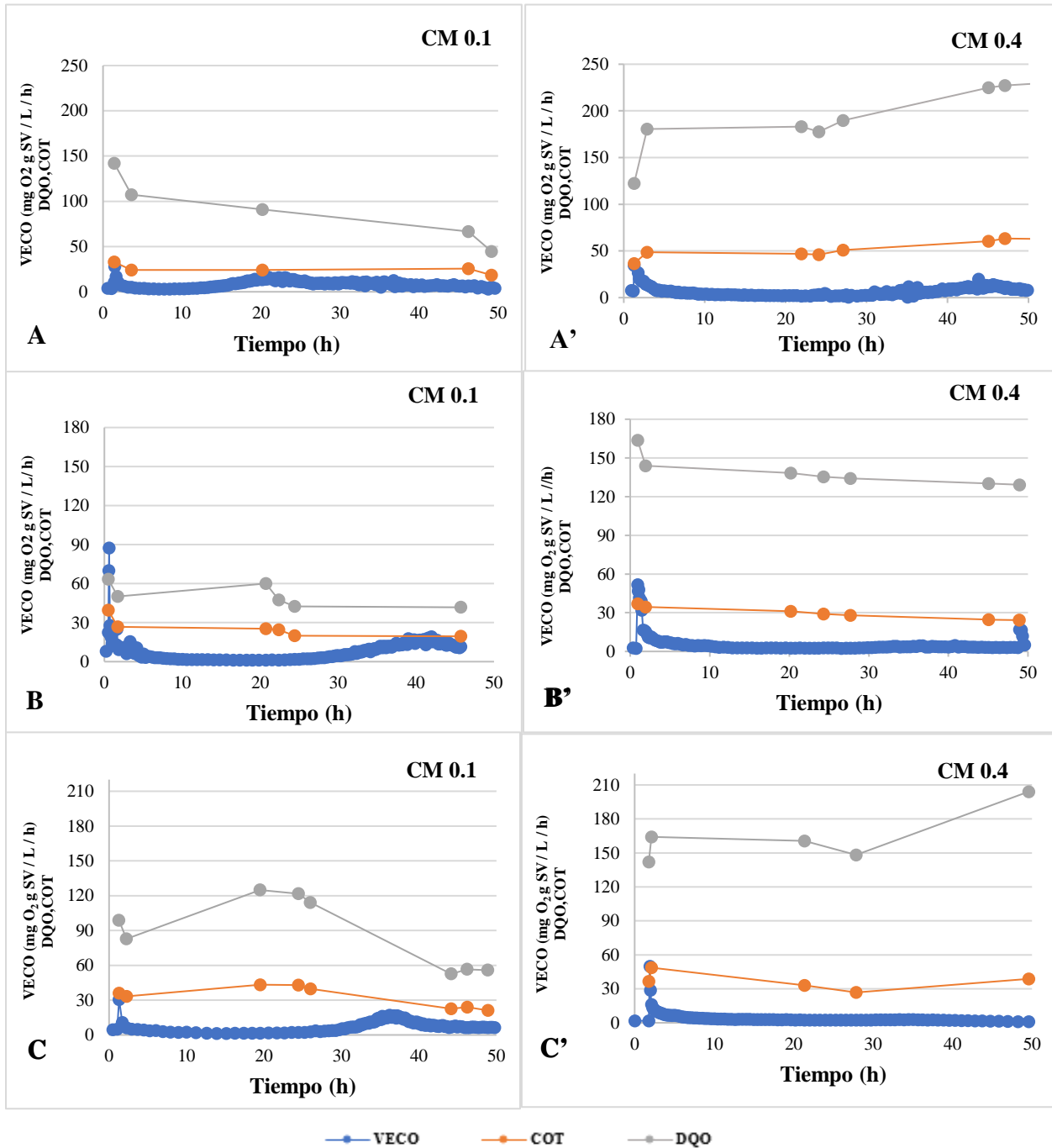
secundario en términos de DQO con un 69%. En cuanto a la CM 0,4 el AP de lodo mixto fue la única muestra que indicó valores positivos de eliminación 35% en COT y 21,1 % en DQO, mientras que las AP de los lodos secundario y digestato mostraron porcentajes negativos bastante elevados sobre todo en términos de DQO donde el AP de secundario obtuvo un -35% y el AP de digestato un -44% (Tabla 6).

La degradación de la materia orgánica biodegradable mediante digestión aerobia mostró tendencias similares en cuanto a los parámetros de COT, DQO y VECO para las tres AP con la misma CM, pero, distintas tendencias entre cargas excepto para el AP de lodo mixto, la cual tanto con CM 0,1 como 0,4 mostró tendencias similares (Figura 9).

Para las tres AP con CM 0,1 se observó una degradación al comienzo del ensayo teniendo en cuenta la disminución del COT y la DQO acompañada de un aumento gradual de la VECO, lo que indica un consumo de oxígeno por parte de los microorganismos para llevar a cabo su metabolismo, en el AP de lodo secundario la disminución del COT y DQO siguió progresando a lo largo del ensayo mientras que para el AP de lodo mixto y digestato a partir de las 2 h se presentó un aumento en estos parámetros que se prolongó hasta las 20 h, sin embargo, a partir de este tiempo empezaron nuevamente a disminuir observándose un incremento en los valores de VECO hasta las 50 h (Figura 9ABC) lo que indicó degradación así como también lo reflejaron los datos de la Tabla 6.

**Figura 9**

*Representación gráfica de los ensayos de biodegradabilidad rápida*



Nota. A-A') AP de lodo secundario. B-B') AP de lodo mixto. C-C') AP digestato.

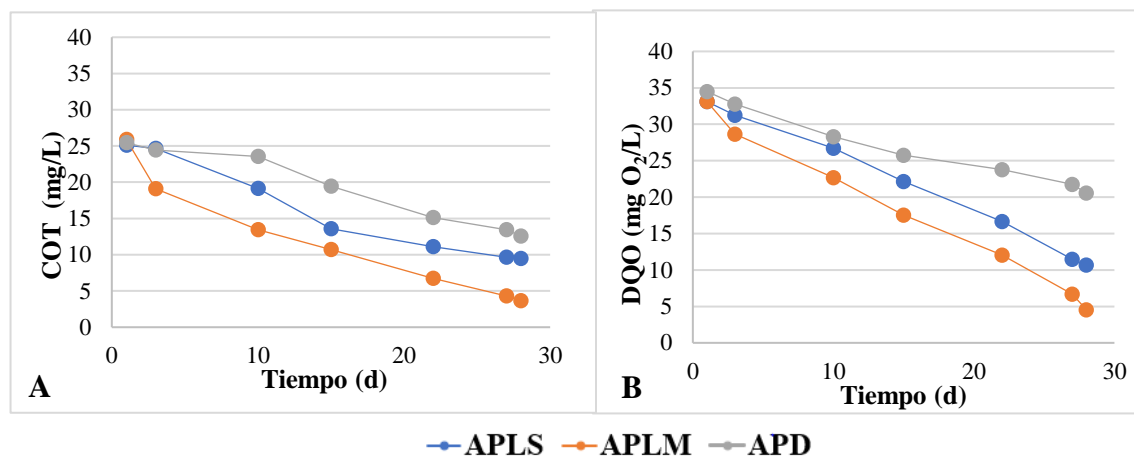
**Tabla 6***Porcentaje de rendimiento en la degradación de la materia orgánica*

	CM 0,1		CM 0,4	
	COT (%)	DQO (%)	COT (%)	DQO (%)
AP lodo secundario	44	69	-28	-35
AP lodo mixto	51	34,1	35	21,1
AP digestato	41,4	43,4	-5,4	-44

Cuando se aumentó la CM, las AP de los lodos secundario y digestato no mostraron una disminución en los valores de COT y DQO a lo largo del ensayo, por el contrario aumentaron (Figura 9A'C'), a diferencia de lo ocurrido para el AP de lodo mixto, cuya tendencia mostró una degradación de la materia orgánica con la disminución del COT y DQO desde las 2 hasta las 50 h siendo la única AP con CM 0,4 que mostró rendimientos positivos de degradación (Tabla 6).

### **2.3.5 Biodegradabilidad Inherente**

Según los resultados de este ensayo (Figura 10) se pudo observar que en el transcurso de los 28 d todas las aguas de proceso evidenciaron un patrón de disminución del COT y la DQO mostrando ser biodegradables; con respecto al COT (Figura 10A), se partió de una concentración inicial para todas las AP alrededor de los 25 mg/L y al término de los 28 d, el AP de lodo secundario arrojó una concentración de 9,56 mg/L lo que indica un porcentaje de rendimiento del 62%, el AP de lodo mixto finalizó con 3,65 mg/L equivalente a un 86% de rendimiento y el AP de digestato fue la que terminó con la concentración más elevada de 12,6 mg/L y el rendimiento más bajo con 40,6% respectivamente.

**Figura 10***Biodegradabilidad Inherente mediante el método de Zahn Wellens*

**Figura 10.** Biodegradabilidad inherente mediante el método de Zahn Wellens. A) Análisis en términos de COT. B) Análisis en términos de DQO.

En términos de DQO (Figura 10B) se observó una tendencia similar a la de COT, se inició con una concentración de 34 mgO<sub>2</sub>/L también para las tres AP donde la AP de lodo secundario finalizó con 10,7 mgO<sub>2</sub>/L, la de lodo mixto con 4,6 mgO<sub>2</sub>/L y la de digestato con 12,6 mgO<sub>2</sub>/L, en ese mismo orden se obtuvieron rendimientos en la degradación de materia orgánica biodegradable del 68, 86 y 40%, respectivamente. En términos generales, así como los ensayos de respirometría, el método de Zahn-Wellens demostró que el AP de lodo mixto es la muestra más biodegradable, seguida por el AP de lodo secundario y finalmente el AP de digestato.

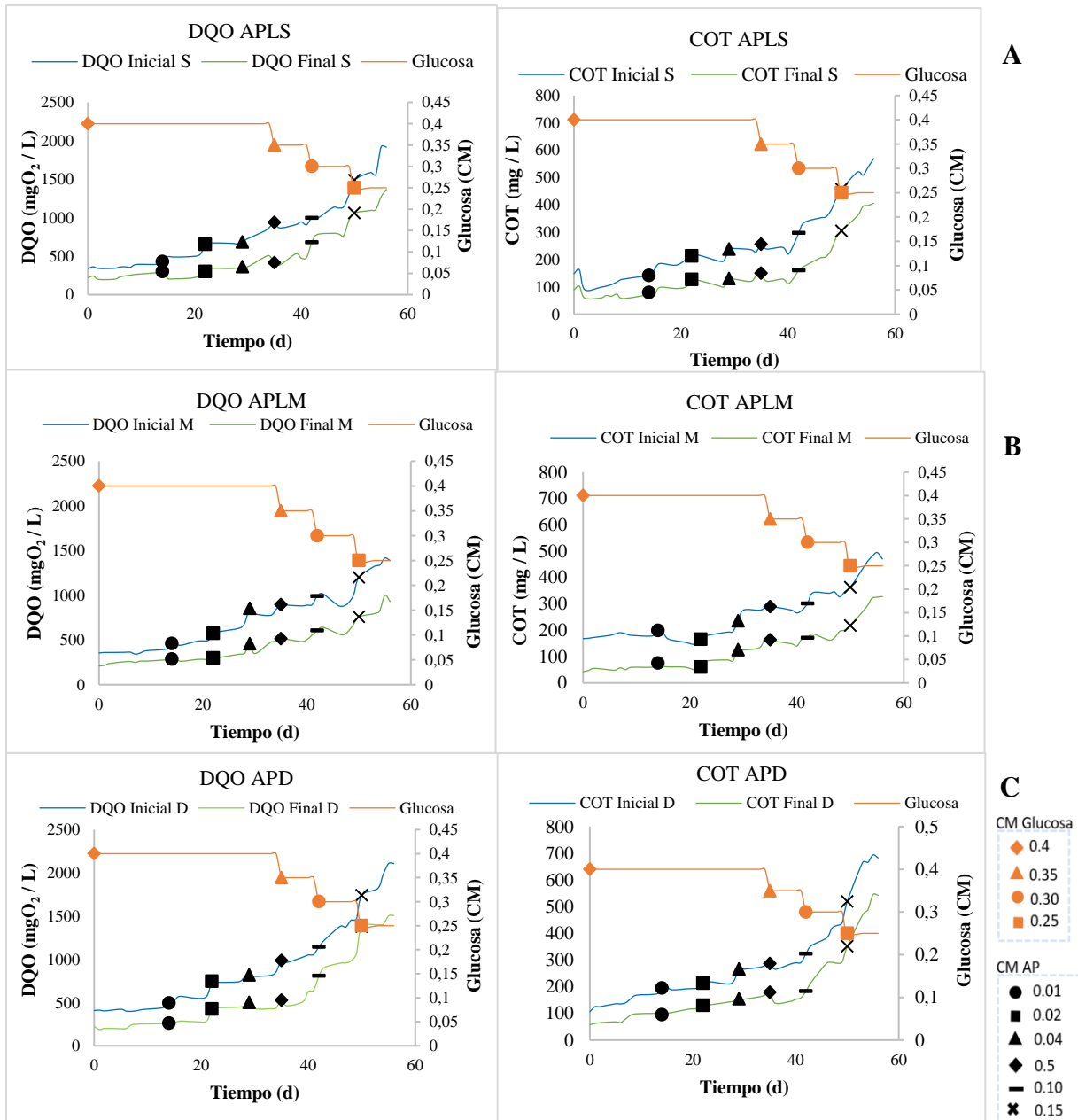
### 2.3.6 Biodegradabilidad a Largo Plazo

Como resultados en la biodegradabilidad a largo plazo en los SBRs, se hizo la comparación de DQO y COT (inicial vs final) de cada reactor con las diferentes AP agregadas, donde inicialmente se adicionó una CM de glucosa de 0,4 que se mantuvo hasta el día 34 para asegurar que los reactores tuvieran un buen funcionamiento y condiciones similares, aumentando la carga másica de la AP a partir del día 14, y disminuyendo la glucosa a partir del día 35 cada semana

(Figura 11), donde se observó que con el aumento de CM de AP aumenta la concentración de DQO y COT en los reactores, sin importar que se disminuya la CM de glucosa.

**Figura 11**

*DQO y COT (inical vs final) frente a la glucosa introducidas en los SBRs*

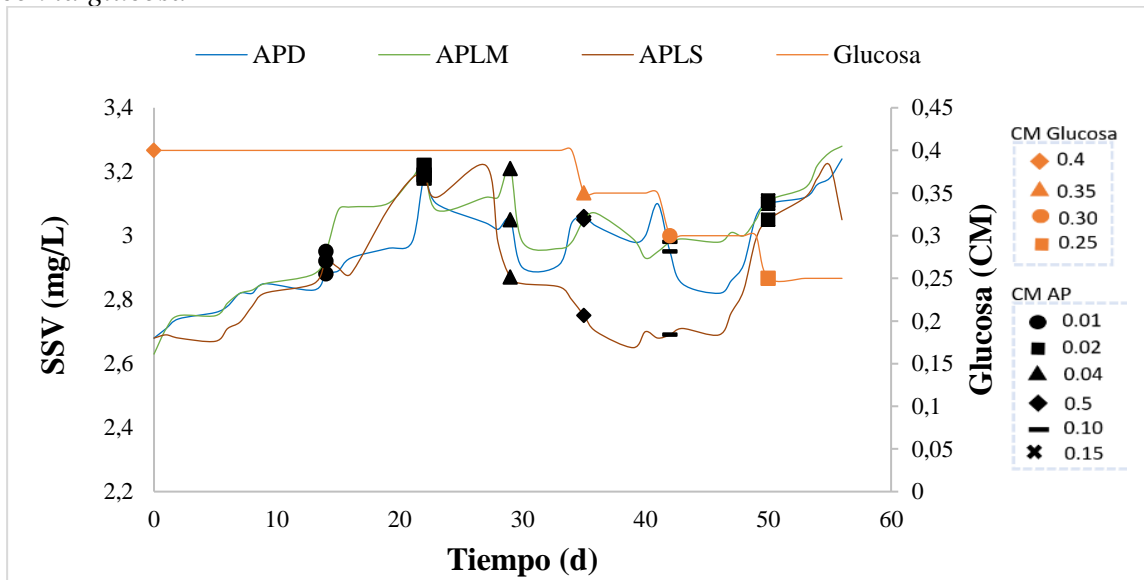


Nota. A) Reactor con APLS, B) reactor con APLM y C) reactor con APD.

A pesar de que la cantidad de COT y DQO aumentaba, la biomasa en los reactores no disminuía (Figura 12), siendo necesario realizar en varias ocasiones la purga del lodo para disminuir los SSV y mantenerlo en un promedio de 3000 mg/L.

**Figura 12**

*Gráfica de crecimiento del lodo en cada reactor con las diferentes AP en comparación con la glucosa*



*Nota.* Se comparan las AP con la glucosa que a partir del día 35 se empezó a disminuir su CM 0,5 cada semana.

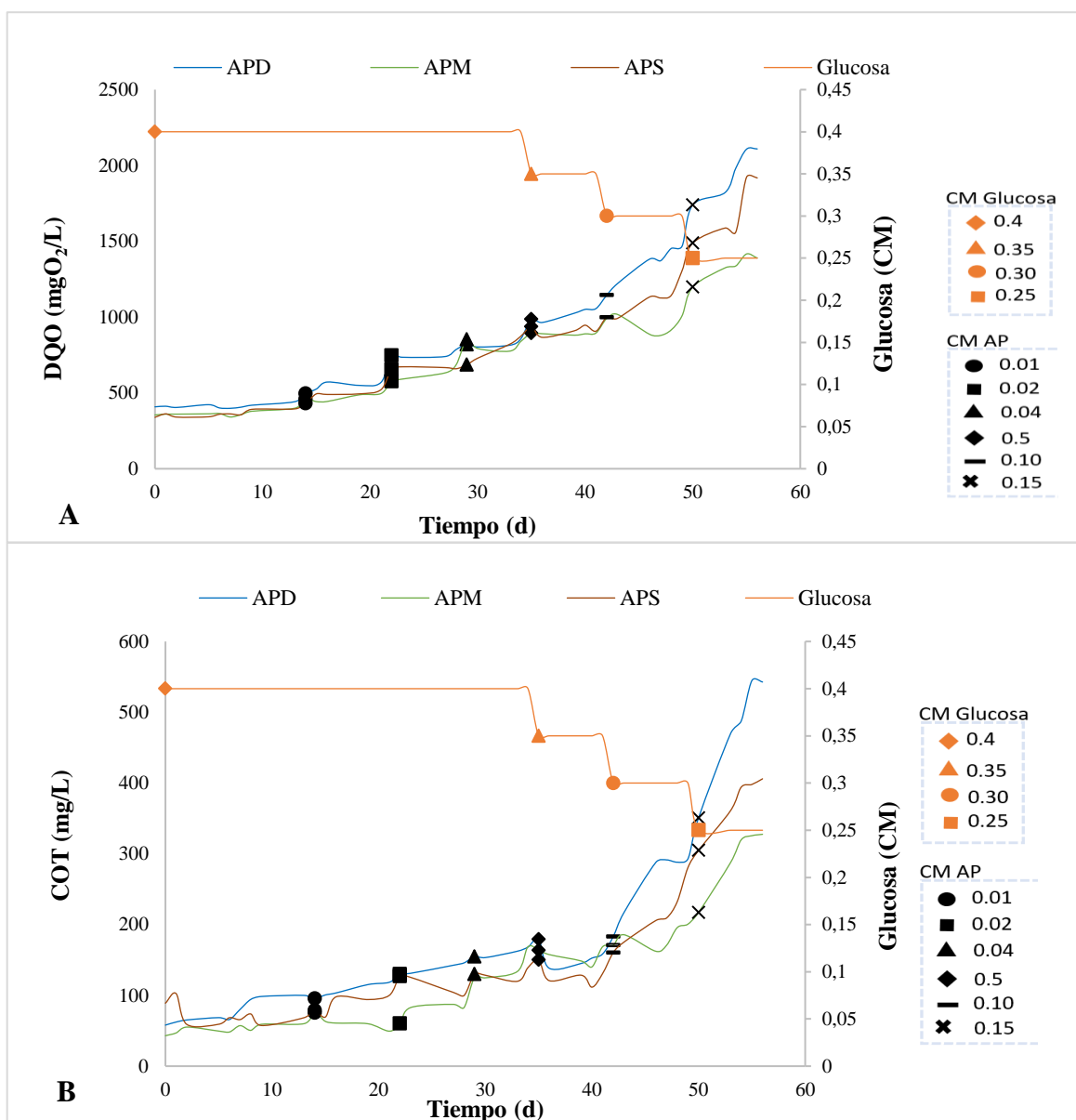
Para comparar cuál de los reactores obtuvo el mejor rendimiento en cuanto a la biodegradabilidad se tomaron los datos de DQO y COT inicial de los tres reactores con las diferentes AP y como se observa en la Figura 13 el reactor con el APLM fue el que presentó un menor aumento en la concentración de DQO y COT, mientras que el reactor con mayor acumulación fue el del APD.

Finalmente para observar cómo se comportaba la biomasa a lo largo de ensayo, se realizaron observaciones al microscopio de los tres SBRs (Figura 14), donde se detalló cómo todos los lodos en los primeros días de ensayo sin AP presentaron una morfología irregular y dispersa; sin embargo, con el transcurso del tiempo, se empezaron a formar flóculos de aproximadamente

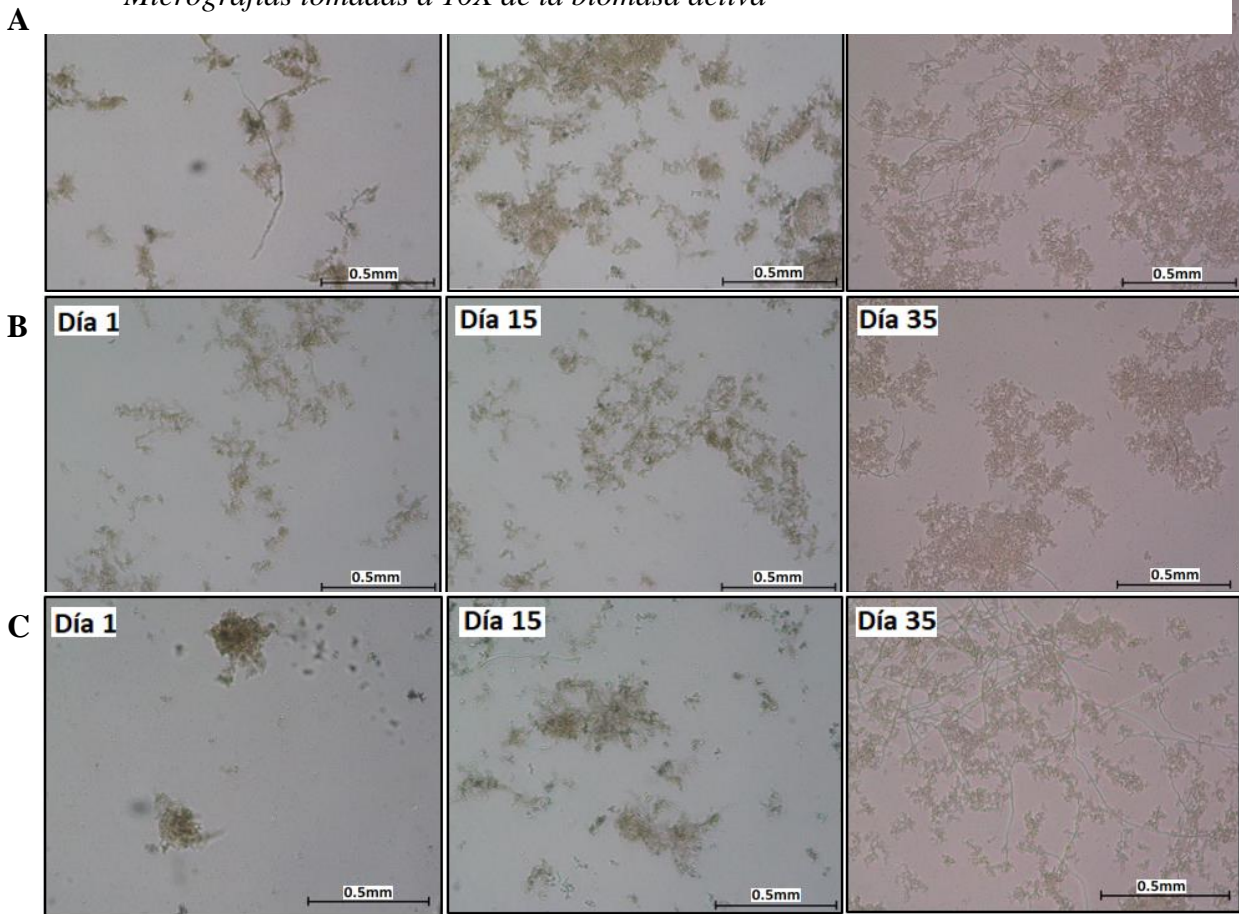
1mm que siguieron aumentando a medida que se incrementó la CM de AP hasta llegar a la formación de flóculos de alrededor de 3 mm de diámetro, lo que indicó que el lodo reaccionó a la concentración de AP.

**Figura 13**

*DQO y COT inicial de cada una de las AP en comparación con la glucosa*



Nota. A) DQO de reactores con las diferentes AP y B) COT de reactores con las diferentes AP.

**Figura 14***Micrografías tomadas a 10X de la biomasa activa*

*Nota.* Las fotografías fueron tomadas en diferentes momentos durante la biodegradabilidad a largo plazo en los SBRs. A) Micrografía del SBR con APLS, B) Micrografías del SBR con APLM, C) micrografía del SBR con APD.

## 2.4 Discusión

De manera general, se observó que las aguas del lodo secundario y mixto fueron las que mostraron valores relativamente cercanos entre ellas en la mayoría de parámetros analizados (Tabla 2), esto se debe a la similitud en la composición de cada lodo ya que, el lodo mixto es la mezcla entre el lodo primario y secundario, pero que al compararlas con los resultados del APD, existe una marcada diferencia, pues esta AP proviene de un lodo que ha sido espesado, digerido y deshidratado, lo que hace que todos sus compuestos se encuentren más concentrados.

En esta caracterización se observó que la DQO presenta valores muy elevados para las tres AP (APLS 35,5 g O<sub>2</sub>/L, APLM 35,2 g O<sub>2</sub>/L y APD 138 g O<sub>2</sub>/L) comparada con los valores permisibles según la normativa vigente de Colombia, la resolución 631 del 2015, la cual establece que los valores máximos de DQO para el vertido de aguas residuales una vez depuradas va desde 150 a 180 mgO<sub>2</sub>/L y para España según el Real decreto 509 de 1996 es de 125 mg O<sub>2</sub>/ L (Ley N° 5090, 1996). Y que si se comparan con aguas residuales producto de diferentes industrias colombianas siguen siendo valores muy altos, como por ejemplo aguas residuales hospitalarias que reportan un valor de 310 mg O<sub>2</sub>/L (Grisales, et al. 2012. p.112), aguas residuales de curtiembre con DQO de 1.132 mg O<sub>2</sub>/L (Mayta, R., y Mayta, J. 2017 p. 335) o aguas residuales de fábricas de Rallandería con valores de 4.000 – 7.000 mgO<sub>2</sub>/L (Núñez, H. 2011 p.19).

Esta DQO se origina de diferentes compuestos presentes en las aguas residuales, como por ejemplo, en las aguas procedentes de fábricas de papel, estas contienen grandes cantidades de taninos, compuestos poliméricos de tipo fenólicos que contribuyen hasta con un 50% de la DQO de sus aguas industriales (Ali & Sreekrishnan, 2001), lo que hace necesario su proceso de estabilización y biodegradación, antes de ser introducidas a un cuerpo de agua receptor como un río o lago, ya que al contener valores tan altos afectaría directamente a la biota, dado que, i) la materia orgánica es degradada por los microorganismos, ocasionando el consumo del oxígeno y matando a la fauna acuática y ii) la contaminación presente en las aguas residuales pueden ocasionar cambios fisiológicos en el metabolismo y alteraciones hormonales tan severos como lo son trastornos en la masculinización, retraso en la madurez sexual, comportamiento reproductivo anormal, alteraciones en la fecundidad, incubabilidad de huevos e incluso ocurren variaciones en la proporción de sexos de los embriones. Sin embargo, los impactos

de los efluentes sobre los animales terrestres, que beben de estas aguas, no han recibido mucha atención (Rana, T. et al. 2004, p.3).

La contaminación por altos niveles de DQO desde un punto de vista sanitario, se presenta porque la materia orgánica ayuda a que proliferen los organismos patógenos que ya suele contener el agua residual, de manera que cuanto más contaminada, mayor es el tiempo y el peligro que representan como foco de infección, por tanto, es preciso un proceso de estabilización biológica como el aerobio, el cual es utilizado con mayor frecuencia en los tratamiento a gran escala dentro de la PTAR para muchos efluentes como por ejemplo, Ali & Sreekrishnan (2001) mencionan que los provenientes de las fábricas de pulpa y papel dentro de las PTAR fueron tratados con biomasa aeróbica de lodo activo no aclimatado, cuyo tratamiento eliminó el 96% de ácidos afluentes y otros compuestos fácilmente biodegradables a niveles no detectables en condiciones de lote en 2 a 3 días.

En la caracterización de estas AP también estuvieron presentes nutrientes como fósforo y nitrógeno, cuyas cantidades fueron las más elevadas en comparación con los demás elementos (Tabla 2), estos proceden de distintas fuentes, en el caso del nitrógeno, de las conversiones metabólicas de los compuestos derivados de excrementos (urea y proteínas) y el fósforo, según Murcia, (2013) “procede en su mayor parte de los detergentes (polifosfatos)” (p.55). Su retención ocurre en mayor porcentaje durante las primeras etapas de depuración, con un 2 - 5% en nitrógeno para el lodo primario y 1 - 6% para el secundario en forma de sólidos suspendidos (García, 2006, p.62). Lo anterior favorece el enriquecimiento de nutrientes que la biomasa utiliza para sus procesos de crecimiento biológico, asimilando el fósforo en forma de fosfatos y el nitrógeno en forma de amoníaco y/o nitrato según sea el organismo (Deza, 2019).

El N y P los podemos encontrar en distintas formas o estados de oxidación en las aguas residuales y por tanto en los lodos la forma más común son los Fosfatos ( $P-PO_4^{3-}$ ) y el Amonio ( $N-NH_4^+$ ), cuyas diferencias se les atribuyen a las características de los lodos y al proceso de estabilización y deshidratado en el caso del digestato que durante la digestión anaerobia se produce una conversión de nitrógeno orgánico en nitrógeno amoniacal y de ahí su aumento de amonio.

En los resultados del ensayo de AGV, se pudo observar altas concentraciones de los ácidos para las tres AP, en particular de los ácidos acético, isovalerico y butírico (Figura 7), que constituyen la principal fuente de carbono fácilmente biodegradable para la biomasa, siendo considerados como el principal sustrato de los organismos aerobios acumuladores de fósforo (Fuhs y Chen, 1975; Wentzel et al., 1991) al ser compuestos de pequeño peso molecular que pueden ser absorbidos directamente por la célula para ser metabolizados posteriormente; estos ácidos son el resultado de la materia orgánica compleja en general, así como de las grasas y jabones presentes en las aguas residuales (Barajas, O. 2002 p.8), que tras la carbonización hidrotermal son concentrados en la fracción líquida, lo que facilita la biodegradabilidad y crecimiento de la biomasa. El hecho de que el APD mostrara la mayor concentración de ácido acético se debe a que la digestión anaerobia permite la acidificación de la materia orgánica en forma de AGVm especialmente en acético.

Los resultados presentes en la Tabla 3 relacionados con la cromatografía de gases-masas para las tres aguas de proceso mostraron que el APLS presentó compuestos de hidrocarburos y fenoles con porcentaje de concentración alta (4,51% para 1,4-Benzenediamina del 7,48 % total de hidrocarburos y 4,50% para 2,3,5,6-tetrametil-Fenol del 12,81% del total de fenoles), al igual que el APD con dos compuestos de hidrocarburos (6,2% de 1,4-Benzenediamina y 3,97% de Ácido 4-formilbenzoico del 10,04% del total de hidrocarburos) lo que indica que estas AP son altamente

tóxicas, resultado que es respaldado por el presentado en el ensayo de Microtox con la bacteria *Vibrio fischeri*, (Tabla 5) que mostró que de las tres AP las más tóxicas son el APD (138,91 UT), seguida del APLS (52,57 UT) y por último el APLM (42,80 UT), todas con un alto grado de toxicidad comparado con las 25 UT máximas establecidas por la ley 10 de 1993 en la comunidad de Madrid, España (Ley N° 10, 1993) para el vertido de aguas residuales industriales a la red de saneamiento general; esta toxicidad, en cierta medida es causada por la presencia de fenoles e hidrocarburos (Tabla 3) ya que estos compuestos aportan una IC<sub>50</sub> de 18 mg/L y 75 mg/L respectivamente (Blum, D., y Speece, R. 1991 p, 200) a la total del AP, su presencia en el medio ambiente representa un riesgo importante para la biota acuática, siendo el fenol un compuesto muy persistente y letal a bajas concentraciones (5 - 25 mg / L), lo que representa un peligro para la salud humana (Pardo, S. 2017 p.686). Del mismo modo sucede con los hidrocarburos, pues representan efectos nocivos ya que son potenciadores de trastornos genéticos, cancerígenos y causan efectos biológicos a largo plazo debido a que su toxicidad en los organismos acuáticos aumenta con la exposición a la radiación solar debido a la fotoactivación de moléculas. (Zambrano et al., 2010)

La toxicidad del fenol está relacionada con la formación de radicales libres y su hidrofobicidad, la cual afecta la solubilidad de este compuesto en la fracción celular y, por tanto, su posibilidad de interacción con las células (Pardo, S. 2017 p.686). Por ende, cuando los fenoles ingresan en ellas, sufren una transformación activa, principalmente por oxidasas del citocromo P450. Los procesos de transformación pueden conducir al aumento de la toxicidad por la formación de metabolitos electrófilos que afectan al ADN y las enzimas (Michałowicz y Duda, 2007 p.347). Un ejemplo de ello, es la disminución de la bioluminiscencia en la bacteria *Vibrio fischeri* ocasionada por alteraciones en su respiración celular, ya que esta se da por el sistema de

transporte de electrones y es indicativa del estado metabólico de la célula, los contaminantes físicos, químicos y biológicos afectan esta respiración celular perturbando el porcentaje de síntesis de proteínas y lípidos (Solano, 2005, p.237)

Al someter estas AP a ensayos de biodegradabilidad (Tabla 6), se observó que la biodegradabilidad rápida con CM 0,1 presentó un porcentaje de degradación de 69% para el APLS, pero que a una CM mayor de 0,4 es el APLM la que mejores resultados obtuvo, con un porcentaje de 21,1%, que al compararlos con los obtenidos por aguas residuales urbanas en una PTAR convencional este porcentaje es muy bajo, pues el rendimiento de disminución de DQO tras pasar el tratamiento biológico secundario en PTAR es del 70-90% (Quintana, D. 2010 p.98).

Este bajo rendimiento en la biodegradabilidad rápida es causado por la falta de aclimatación del lodo inóculo a estas AP, también al poco tiempo de exposición (48h) y a esto se suman los altos niveles de toxicidad y compuestos recalcitrantes representados por los fenoles, que son producto de su utilización como componentes de tintes, polímeros, fármacos y otras sustancias orgánicas o también está relacionada con la producción y degradación de numerosos plaguicidas y la generación de aguas residuales industriales y municipales (Michałowicz y Duda, 2007 p.347).

En todos los ensayos de biodegradabilidad rápida la actividad de la biomasa se concentró en las primeras dos horas, donde se presenta un aumento en las VECO por el consumo de los compuestos fácilmente biodegradables presentes en las AP, disminuyendo por tanto su concentración en el medio de reacción (en forma de COT y DQO), que se aprecia mejor a medida que el AP estuvo más diluida, debido a una reducción del efecto inhibitorio sobre el fango activo; ya que como se describe en el modelo Haldane en ausencia de inhibición, la velocidad específica

de crecimiento aumenta con la concentración de sustrato hasta llegar a un valor máximo constante. Cuando el sustrato es inhibitorio, la velocidad específica de crecimiento aumenta con la concentración de sustrato hasta alcanzar un umbral por encima del cual una mayor concentración de sustrato disminuye la velocidad de crecimiento (Sanchis, S. 2012 pp.20, 83).

En el caso de la biodegradabilidad inherente se ve que los microorganismos se adaptan mejor al sustrato con el tiempo y pueden llegar a disminuir la DQO hasta un 86% en el caso del APLM comparable con los resultados obtenidos para los SBRs con las diferentes concentraciones de AP (Figura 11), donde se pudo observar que el reactor que presentó menor concentración de DQO y COT fue el que operó con el APLM (Figura 11B) esto puede explicarse porque: i) esta AP como mostró el ensayo de ecotoxicidad (Tabla 5) presenta un porcentaje de toxicidad bajo en comparación al que se tiene en las AP del secundario y digestato, lo que indica que esta AP es menos agresiva con la biomasa y ii) presenta un mayor porcentaje de fósforo y nitrógeno, que como se planteó anteriormente pudo permitir a la biomasa un mejor crecimiento (Figura 12) y adaptación al sustrato, además de tener un porcentaje de AGV alto logrando ser fácilmente biodegradable para el lodo activo, presentando un promedio de degradación del 40% para las diferentes CM, obteniendo un mejor rendimiento con la CM más alta (0,15) con un 37% frente a un 29% para el APLS y 20% para el APD.

Todas estas AP pudieron ser degradadas gracias a que la microbiota se aclimató, aunque la DQO continuó siendo muy alta, pues se presentaron valores de DQO de salida de 750 mg O<sub>2</sub>/ L para el APLS con la CM de 0,15 al final de la reacción en los SBRs, que al compararla con la obtenida tras el tratamiento biológico secundario en una PTAR (40-121 mg O<sub>2</sub>/L(Quintana, D. 2010 p.98), sigue siendo un valor bastante elevado, por tanto es recomendable utilizar CM inferiores y estables para los lodos biológicos.

En cuanto al crecimiento y observación de las bacterias al microscopio (Figura 14) se observó el aumento del tamaño de los flóculos en los reactores producto de la secreción de sustancias poliméricas extracelulares de los rotíferos (Barajas, M. 2002 p.14), facilitando el arrastre y retención de biomasa en el SBR (Nancharaiah y Kiran Kumar Reddy, 2018 p.1129) y esta floculación puede darse para la protección ante compuestos tóxicos y cuando los microorganismos se encuentran en presencia de un sustrato fácilmente biodegradable (Duque et al., 2011 p.1130).

Dentro de estos microorganismos se pueden encontrar virus, bacterias, hongos y protozoos, pues no existe un único organismo capaz de utilizar todos los compuestos orgánicos presentes en las aguas residuales, además, el tipo de organismo presente depende de la disponibilidad de O<sub>2</sub>, del pH y de las condiciones de mezcla, aunque son las bacterias saprofitas las más predominantes, responsables de la degradación y mineralización de los compuestos orgánicos, y pertenecen en su mayoría a géneros aerobios gram-negativos (Barajas, M. 2002 p.13).

La presencia de ciertas bacterias también puede tener efectos desfavorables sobre los fangos activados. El desarrollo incontrolado de muchas bacterias de tipo filamentoso impide una sedimentación eficaz de los fangos y produce el fenómeno de bulking o fangos voluminosos o esponjosos, que reprimen la sedimentación adecuada del lodo y son poco funcionales en un SBR, como ocurrió al inicio de la adecuación del lodo inóculo donde estas bacterias no sedimentaron y tardó varios meses su aclimatación hasta obtener una óptima IVL<sub>30</sub> (Apéndice k).

### 3.Conclusiones

La carbonización hidrotermal de lodos residuales secundario, mixto y digerido, resultan una opción viable como método de valorización para la producción de hidrochar y agua de proceso, pudiendo esta última someterse a un proceso de biodegradación en este caso aerobia con aumentos en la CM de manera gradual; puesto que, con la caracterización físico-química las AP mostraron un alto contenido de materia orgánica expresada en DQO ( $>35$  g/L) y COT ( $> 9$  g/L ), así como de nitrógeno total ( $>2,8$  g N/L) y, en especial en el ADP se detectaron concentraciones considerables de compuestos tóxicos de tipo fenólicos e hidrocarburos aromáticos.

En general, la ecotoxicidad en las tres aguas de proceso de acuerdo con la Ley 10 de 1993 que rige en la Comunidad de Madrid, España, mostraron valores de UT superiores a las 25 decretado como valores máximos permisibles para el vertido de aguas residuales industriales al sistema general de saneamiento, el AP de lodo secundario y en especial el lodo digerido, presentaron un notable comportamiento inhibitorio con un grado de ecotoxicidad con 52,57 y 138,91 UT, respectivamente. Sin embargo, en concentraciones de CM 0,1 fue posible una eliminación de DQO y COT mayores al 40% en procesos convencionales de fangos activos. El método respirométrico para la determinación de biodegradabilidad rápida, permitió realizar una evaluación sencilla y realista de la viabilidad del tratamiento de APHTC mediante procesos de lodos activos, con un resultado similar al presentado por la biodegradabilidad inherente.

Por otra parte, estas APHTC con CM mayores a 0,4 podrían degradar parte de esta materia orgánica utilizando biomasa aclimatada y así, la degradación biológica aerobia resulta siendo una elección viable, haciendo posible su recirculación a los tanques biológicos en la PTAR en

concentración de CM  $<0,5$ ; siendo el APLM la más adecuada para este proceso por su diferentes propiedades y menor toxicidad.

El agua de proceso de lodo mixto fue la que obtuvo mejores resultados en cada uno de los ensayos relacionados a su baja ecotoxicidad respecto a las otras dos AP, pero con una ecotoxicidad aún muy elevada frente a las normativas establecidas para aguas residuales industriales, asimismo en los ensayos de biodegradabilidad tanto a corto como a largo plazo, fue la que menor concentración de DQO y COT respecto a las demás APHTC obtuvo, mostrando una biomasa mejor adaptada al sustrato.

En general, se concluye que todas las aguas estudiadas, en especial el APLS Y APD necesitan una proporción baja de CM y una aclimatación previa del inóculo aerobio para lograr la obtención de resultados favorables en biodegradación de materia orgánica. En el caso del lodo mixto, al ser sometido a carbonización hidrotermal, no sería necesario el paso final de estabilización en una PTAR, ya que sus AP mostraron ser las más biodegradables y menos tóxica, esto supondría para la PTAR desde el punto de vista de inversión, una disminución en los costos para la construcción de digestores de lodos y en el tratamiento de los lodos en esos digestores.

### Referencias Bibliográficas

Abu Hasan, H., Sheikh Abdullah, S.R., Al-Attabi, A.W.N., Nash, D.A.H., Anuar, N., Abd. Rahman, N., Sulistiyaning Titah, H. (2016). Removal of ibuprofen, ketoprofen, COD and nitrogen compounds from pharmaceutical wastewater using aerobic suspension-sequencing batch reactor (ASSBR). *Sep. Purif. Technol.* 157, 215–221.

Ali, M., & Sreekrishnan, T. R. (2001). Aquatic toxicity from pulp and paper mill effluents: A review. *Advances in Environmental Research*, 5(2), 175–196. [https://doi.org/10.1016/S1093-0191\(00\)00055-1](https://doi.org/10.1016/S1093-0191(00)00055-1)

American Public Health Association, & Federation, W. E. (1998). Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association (APHA): Washington, DC, USA.

Barajas, M. G. (2002). Eliminación biológica de nutrientes en un reactor biológico secuencial. Caracterización y estimulación de las fuentes de carbono del agua residual urbana. Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Cataluña, España.

Becker, G. C., Wüst, D., Köhler, H., Lautenbach, A., Kruse, A. (2019). Novel approach of phosphate-reclamation as struvite from sewage sludge by utilising hydrothermal carbonization. *Journal of Environmental Management*, 238(August 2018), 119–125.

Bollmann, A. F., Seitz, W., Prasse, C., Lucke, T., Schulz, W., Ternes, T. (2016). Occurrence and fate of amisulpride, sulpiride, and lamotrigine in municipal wastewater treatment plants with biological treatment and ozonation. *Journal of Hazardous Materials*, 320, 204–215.

Cristancho, D., Gámez, W., Guerra, J., Dueñas, M. F. (2019). Estimación de los gases efecto invernadero generados por las plantas de tratamiento de aguas residuales ubicadas en la cuenca del río Bogotá. *Revista Ingenierías Universidad de Medellín*, 18(34), 25–44.

De la Rubia, M.A., Villamil, J.A., Rodríguez, J.J., Mohedano, A. F. (2018a) Effect of inoculum source and initial concentration on the anaerobic digestion of the liquid fraction from hydrothermal carbonisation of sewage sludge. *Renew. Energ.* 127, 697-704.

De la Rubia, M.A, Villamil, J.A., Rodriguez, J.J. Borja, R. Mohedano, A. (2018b) Mesophilic anaerobic co-digestion of the organic fraction of municipal solid waste with the liquid fraction from hydrothermal carbonization of sewage sludge, *Waste Manag.* 76, 315–322.

DEL ESTADO, B. O. (1993). Ley 10/1993, de 26 de octubre, sobre vertidos líquidos industriales al Sistema Integral de saneamiento de la Comunidad de Madrid, 1993. N.º, 312, 30-12.

Deza Turpo, R. (2019). Eficiencia del Berro (*nasturtium officinale*) para la Remoción de Nitratos y Fosfatos en aguas Residuales Domesticas–San Antón 2018.

Duque, A.F., Bessa, V.S., Carvalho, M.F., de Kreuk, M.K., van Loosdrecht, M.C.M., Castro, P.M.L., 2011. 2-Fluorophenol degradation by aerobic granular sludge in a sequencing batch reactor. *Water Res.* 45, 6745–6752.

Elliott, J., Deryng, D., Müller, C., Frieler, K., Konzmann, M., Gerten, D., Glotter, M., Flörke, M., Wada, Y., Best, N., Eisner, S., Fekete, B. M., Folberth, C., Foster, I., Gosling, S. N., Haddeland, I., Khabarov, N., Ludwig, F., Masaki, Y., ... Wisser, D. (2014). Constraints and potentials of future irrigation water availability on agricultural production under climate change. *Environment Sciences*, 111(9), 3239–3244

Fletcher, T. D., Shuster, W., Hunt, W. F., Ashley, R., Butler, D., Arthur, S., Trowsdale, S., Barraud, S., Semadeni-Davies, A., Bertrand-Krajewski, J. L., Mikkelsen, P. S., Rivard, G., Uhl,

M., Dagenais, D., & Viklander, M. (2015). SUDS, LID, BMPs, WSUD and more – The evolution and application of terminology surrounding urban drainage. *Urban Water Journal*, 12(7), 525–542. <https://doi.org/10.1080/1573062X.2014.916314>

Fuhs, GW y Chen, M. (1975). Bases microbiológicas de la eliminación de fosfatos en el proceso de fangos activados para el tratamiento de aguas residuales. *Ecología microbiana*, 2 (2), 119-138.

Galvis, A., Jaramillo, M. F., van der Steen, P., & Gijzen, H. J. (2018). Financial aspects of reclaimed wastewater irrigation in three sugarcane production areas in the Upper Cauca river Basin, Colombia. *Agricultural Water Management*, 209(July), 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.07.019>

García, O. N. (2006). Lodos residuales: estabilización y manejo. *Caos conciencia*, 1(1), 51-58.

Gogoi, A., Mazumder, P., Tyagi, V. K., Tushara Chaminda, G. G., An, A. K., & Kumar, M. (2018). Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: A review. *Groundwater for Sustainable Development*, 6(January), 169–180. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2017.12.009>

Gomez-Herrero, E., Tobajas, M., Polo, A., Rodriguez, J. J., Mohedano, A. F. (2018). Removal of imidazolium- and pyridinium-based ionic liquids by Fenton oxidation. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(35), 34930–34937.

Gomez-Herrero, E., Tobajas, M., Polo, A., Rodriguez, J. J., Mohedano, A. F. (2020). Toxicity and inhibition assessment of ionic liquids by activated sludge. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 187(August 2019), 109836.

Grisales Penagos, D. K., Ortega López, L. J., & Rodríguez Chaparro, T. (2012). Remoción de la materia orgánica y toxicidad en aguas residuales hospitalarias aplicando ozono. *Dyna*; Vol. 79, núm. 173 (2012); 109-115 DYNA; Vol. 79, núm. 173 (2012); 109-115 2346-2183 0012-7353.

Hedo, E. B. (2012). Real Decreto 1290/2012, de 7 de septiembre, por el que se modifica el Reglamento del Dominio Público Hidráulico, aprobado por el Real Decreto 849/1986, de 11 de abril, y el Real Decreto 509/1996, de 15 de marzo, de desarrollo del Real Decreto-ley 11/1995, de 28 de diciembre, por el que se establecen las normas aplicables al tratamiento de las aguas residuales urbanas. (BOE núm. 227, de 20 de septiembre de 2012). *Actualidad Jurídica Ambiental*, (17), 16-18.

Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales. IDEAM (2007). Resolución 0062 de 2007. Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. República de Colombia. p. 106

ISO 11348-3, 1998. Water quality – determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) – Part 3: method using freeze-dried bacteria, 1998.

Jensen, O., & Wu, H. (2018). Urban water security indicators: Development and pilot. *Environmental Science and Policy*, 83(February), 33–45. <https://doi.org/10.1016/j.envsci.2018.02.003>

Langdon, p. N., silva, c. O., schwencke, a. S., lanyon, f. R., & neira, p. D. (2019). Aspectos tecnológicos y de gestión de la codigestión anaerobia de lodos de depuradora con desechos orgánicos y de vegetales. *Dyna*, 94(5), 574-578.

Libra, J. A., Ro, K. S., Kammann, C., Funke, A., Berge, N. D., Neubauer, Y., Titirici, M. M., Fühner, C., Bens, O., Kern, J., Emmerich, K. H. (2011). Hydrothermal carbonization of

biomass residuals: A comparative review of the chemistry, processes and applications of wet and dry pyrolysis. *Biofuels*, 2(1), 71–106.

Liu, Y., Li, J., Guo, W., Ngo, H.H., Hu, J., Gao, M.T. (2018). Use of magnetic powder to effectively improve the performance of sequencing batch reactors (SBRs) in municipal wastewater treatment. *Bioresour. Technol.* 248, 135–139.

Marin-Batista, J. D., Mohedano, A. F., Rodríguez, J. J., de la Rubia, M. A. (2020). Energy and phosphorous recovery through hydrothermal carbonization of digested sewage sludge. *Waste Management*, 105, 566–574.

Marin-Batista, J. D., Villamil, J. A., Rodriguez, J. J., Mohedano, A. F., de la Rubia, M. A. (2019). Valorization of microalgal biomass by hydrothermal carbonization and anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 274(December 2018), 395–402.

Mayta, R., & Mayta, J. (2017). Remoción de cromo y demanda química de oxígeno de aguas residuales de curtiembre por electrocoagulación. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 83(3), 331-340.

Mena, I. F., Diaz, E., Rodriguez, J. J., & Mohedano, A. F. (2019). Biological oxidation of choline-based ionic liquids in sequencing batch reactors. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, December 2018. <https://doi.org/10.1002/jctb.5954>

Mena, I. F., Diaz, E., Palomar, J., Rodriguez, J. J., Mohedano, A. F. (2020). Cation and anion effect on the biodegradability and toxicity of imidazolium– and choline–based ionic liquids. *Chemosphere*, 240, 124947.

Meng, X., Huang, Q., Xu, J., Gao, H., Yan, J. (2019). A review of phosphorus recovery from different thermal treatment products of sewage sludge. *Waste Disposal & Sustainable Energy*, 1(2), 99–115.

Michałowicz, J., & Duda, W. (2007). Phenols--Sources and Toxicity. *Polish Journal of Environmental Studies*, 16(3).

Monsalvo, V.M., Mohedano, A.F., Casas, J.A., Rodríguez, J.J. (2009) Cometabolic biodegradation of 4-chlorophenol by sequencing batch reactors at different temperatures. *Bioresour. Technol.* 100, 4572–4578.

Murcia Navarro, F. J. (2014). Lodos de depuradora: una visión integral para su posible aplicación a suelos desde una perspectiva agrícola. Proyecto de investigación: Tesis doctoral Universidad de Murcia.

Nancharaiah, Y. V., Kiran Kumar Reddy, G., 2018. Aerobic granular sludge technology: Mechanisms of granulation and biotechnological applications. *Bioresour. Technol.* 247, 1128–1143.

Núñez, H. S. (2011). Contaminación y toxicidad de las aguas residuales de las rallanderías del Norte del Cauca, Colombia. Universidad Complutense de Madrid, Servicio de Publicaciones.

OECD 302 B. (1992). Zahn-Wellens\EMPTA Test. OECD Guidelines for testing chemicals.

Pardo-Díaz, S., Rojas-Tapias, D., Roldan, F., Brandão, P., & Almansa-Manrique, E. (2017). Biodegradación de fenol en aguas tratadas de la industria petrolera para re-uso en cultivos agrícolas. *Revista de Biología Tropical*, 65(2), 685-699.

Passino, D. R. M., & Smith, S. B. (1987). Acute bioassays and hazard evaluation of representative contaminants detected in Great Lakes fish. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 6(11), 901-907.

Peña-Guzmán, C., Ulloa-Sánchez, S., Mora, K., Helena-Bustos, R., Lopez-Barrera, E., Alvarez, J., & Rodriguez-Pinzón, M. (2019). Emerging pollutants in the urban water cycle in Latin

America: A review of the current literature. *Journal of Environmental Management*, 237(February), 408–423. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.02.100>

Pimiento, N. N., Rivas, L. E. (2019). Plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR): Impacto ambiental esperado e impacto ambiental provocado. *Revista Caribeña de Ciencias Sociales*.

Quintana, F. D. (2010). Análisis estadístico de los parámetros DQO, DBO5 y SS de las aguas residuales urbanas en el ensuciamiento de las membranas de ósmosis inversa (Doctoral dissertation, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria).

Ramke, H.G. Blöhse, D. Lehmann, H.J. Fettig J. (2009) Hydrothermal carbonization of organic waste, in Twelfth International Waste Management and Landfill Symposium, Proceedings Sardinia 2009, Italy, ed by Cossu R, Diaz LF and Stegmann R. CISA Publisher.

Rana, T., Gupta, S., Kumar, D., Sharma, S., Rana, M., Rathore, V. S., & Pereira, B. M. (2004). Toxic effects of pulp and paper-mill effluents on male reproductive organs and some systemic parameters in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 18(1), 1-7.

Resolución 631. (17 de marzo de 2015). Por la cual se establecen los parámetros y los valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a los sistemas de alcantarillado público y se dictan otras disposiciones. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. Obtenido de <http://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=70346>

Reza, M.T. Freitas, A. Yang, X. Coronella, C.J. (2016) Wet air oxidation of hydrothermal carbonization (HTC) process liquid. *ACS Sustainable Chem Eng* 4, 3250–3254.

Rodríguez, T., & Cleto, E. (2010). Toxicity evaluation as a tool to asses the performance of an anaerobic immobilized biomass reactor. *Dyna*, 77(164), 284–291.

Sanchis, S., Polo, A., Tobajas, M., Rodríguez, J. J., & Mohedano, A. F. (2012). Eliminación de compuestos emergentes mediante sistemas biológicos y su acoplamiento con procesos de oxidación avanzada (Doctoral dissertation, Disertación Doctoral). Recuperado del repositorio digital de la Universidad Autónoma de Madrid. Madrid, España (Handle 10486/11349)).

Sanchis, S., Polo, A. M., Tobajas, M., Rodríguez, J. J., Mohedano, A. F. (2014). Strategies to evaluate biodegradability: Application to chlorinated herbicides. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(16), 9445–9452.

Sengupta, B., Priyadarshinee, R., Roy, A., Banerjee, A., Malaviya, A., Singha, S., Mandal, T., Kumar, A. (2020). Toward sustainable and eco-friendly production of coffee: abatement of wastewater and evaluation of its potential valorization. *Clean Technologies and Environmental Policy*.

Teklehaimanot, G. Z., Kamika, I., Coetzee, M. A. A., Momba, M. N. B. (2015). Population Growth and Its Impact on the Design Capacity and Performance of the Wastewater Treatment Plants in Sedibeng and Soshanguve, South Africa. *Environmental Management*, 56(4), 984–997.

Rodríguez, E. A., Garzón, L. M., Gómez, I. D., & Jiménez, J. N. (2020). Multidrug resistance and diversity of resistance profiles in carbapenem-resistant Gram-negative bacilli throughout a wastewater treatment plant in Colombia. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 22, 358–366. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.02.033>

Russell, J. N., & Yost, C. K. (2020). Alternative, Environmentally Conscious Approaches for Removing Antibiotics from Wastewater Treatment Systems. *Journal of the Neurological Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2019.116544>

Solano, A. M. (2005). Movilización de metales pesados en residuos y suelos industriales afectados por la hidrometalurgia del cinc (p. 267).

Titirici, M. M., Antonietti, M. (2010). Chemistry and materials options of sustainable carbon materials made by hydrothermal carbonization. *Chemical Society Reviews*, 39(1), 103–116.

Velázquez Machuca, M. A., Equihua Soriano, J. R., Venegas González, J., Montañez Soto, J. L., Pimentel Equihua, J. L., & Muñoz Navia, M. (2019). Caracterización física y química de biochar de lodos residuales. *Terra Latinoamericana*, 37(3), 243-251.

Villamil, J. A. (2019). Valorization of secondary sludge by hydrothermal carbonization coupled with anaerobic digestion. Doctoral Thesis (2019). Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, Spain.

Villamil, J.A., Mohedano, A., Rodriguez, J.J., de la Rubia, M.A. (2018a) Valorisation of the liquid fraction from hydrothermal carbonisation of sewage sludge by anaerobic digestion. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 98, 450-456.

Villamil, J.A., Mohedano, A., Rodriguez, J.J. Borja, R., de la Rubia, M.A. (2018b) Anaerobic co-digestion of the organic fraction of municipal solid waste and the liquid fraction from the hydrothermal carbonization of industrial sewage sludge under thermophilic conditions, *Front. Sustain. Food Syst.* 2:17, 1–7.

Villamil, J. A., Mohedano, A. F., Rodriguez, J. J., De la Rubia, M. A. (2019). Anaerobic co-digestion of the aqueous phase from hydrothermally treated waste activated sludge with primary sewage sludge. A kinetic study. *Journal of Environmental Management*, 231(May 2018), 726–733.

Villamil, J. A., Diaz, E., de la Rubia, M. A., & Mohedano, A. F. (2020). Potential use of waste activated sludge hydrothermally treated as a renewable fuel or activated carbon precursor. *Molecules*, 25(15). <https://doi.org/10.3390/molecules25153534>

Vilela, C. L. S., Bassin, J. P., & Peixoto, R. S. (2018). Water contamination by endocrine disruptors: Impacts, microbiological aspects and trends for environmental protection. *Environmental Pollution*, 235, 546–559. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.098>

Wang, L., Chang, Y., Liu, Q. (2019). Fate and distribution of nutrients and heavy metals during hydrothermal carbonization of sewage sludge with implication to land application. *Journal of Cleaner Production*, 225, 972–983.

Wang, Q., Liang, J., Zhang, S., Yoza, B. A., Li, Q. X., Zhan, Y., Ye, H., Zhao, P., & Chen, C. (2020). Characteristics of bacterial populations in an industrial scale petrochemical wastewater treatment plant: Composition, function and their association with environmental factors. *Environmental Research*, 189(July), 109939. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109939>

Wentzel, MC, Lötter, LH, Ekama, GA, Loewenthal, RE y Marais, GVR (1991). Evaluación de modelos bioquímicos para la eliminación biológica de fósforo en exceso. *Ciencia y tecnología del agua*, 23 (4-6), 567-576.

Wirth, B., Reza, T. and Mumme, J. (2015) Influence of digestion temperature and organic loading rate on the continuous anaerobic treatment of process liquor from hydrothermal carbonization of sewage sludge. *Bioresour. Technol.* 198, 215-222.

Wu, C., Spongberg, A. L., Witter, J. D., Fang, M., Ames, A., & Czajkowski, K. P. (2010). Detection of pharmaceuticals and personal care products in agricultural soils receiving biosolids application. *Clean - Soil, Air, Water*, 38(3), 230–237. <https://doi.org/10.1002/clen.200900263>

Zambrano, M., Casanova, R., Carballo, A., & Vidal, A. (2010). Bioacumulación y toxicidad de hidrocarburos aromáticos policíclicos en moluscos bivalvos del Pacífico colombiano. *226(28)*, 204–226.

## Apéndices

### Apéndice A

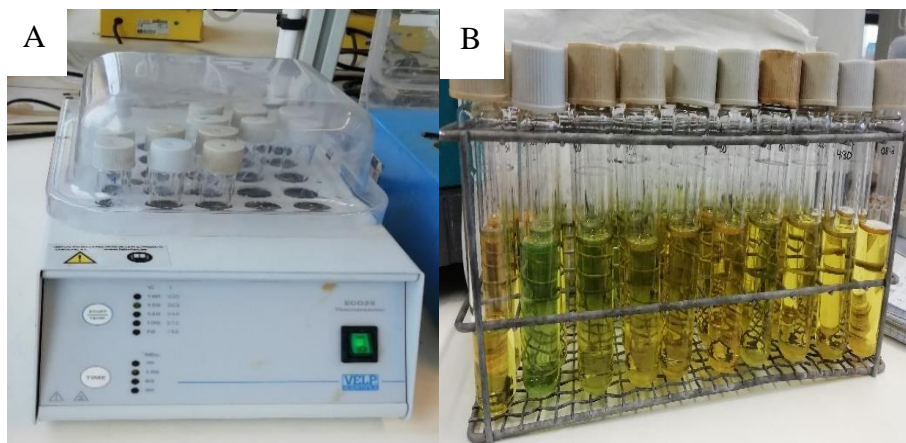
#### *Análisis de ST y SV en las aguas de proceso*



*Nota.* Cápsulas con muestra de aguas de proceso, sometidas a temperatura de 105°C para ST y posteriormente introducidas a una mufla a 950 °C, para determinar los SV.

### Apéndice B

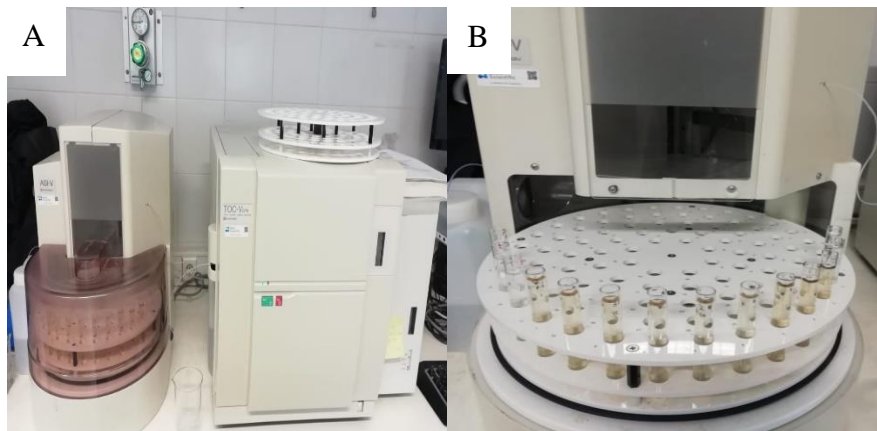
#### *Proceso para el análisis de DQO*



*Nota.* A) Muestras de DQO ubicadas dentro del termorreactor Velp a 150 °C / 2h. B) Muestras listas para la medición de absorbancia.

## Apéndice C

### *Proceso para el análisis de COT*



*Nota.* A) Equipo analizador automático TOC-VCPN. B) Incorporación de las muestras en tubos de ensayo dentro del platón del equipo.

## Apéndice D

### *Kits y equipos Hach para la medición de compuestos químicos*



*Nota.* A) Los distintos kits para la medición de amonio, nitrito, nitrato, fosfato, nitrógeno y fósforo totales. BC) Equipos Hach para la toma de valores.

## Apéndice E

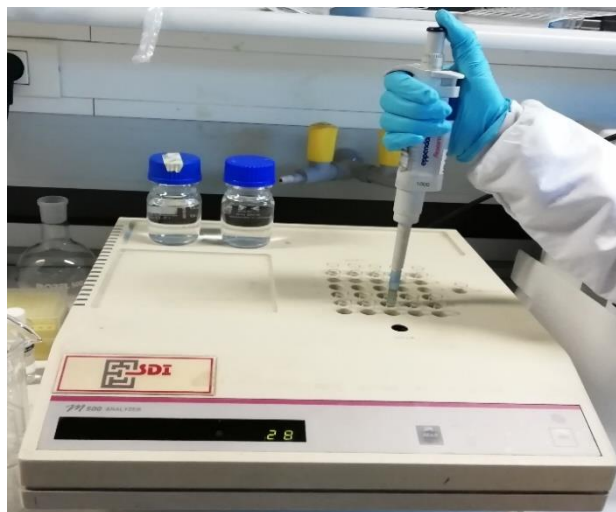
### *Medición de los AGV*



*Nota.* Equipo cromatógrafo de gases GC-FID para la medición de AGV y ubicación de las respectivas muestras.

## Apéndice F

### *Medición de Ecotoxicidad*



*Nota.* Analizador Microtox M500 (Azur Ambiental) donde se mide la intensidad de luz por parte de *Vibrio fischeri*

## Apéndice G

### *Ensayo de biodegradabilidad rápida*



*Nota.* Montaje correspondiente para la toma de datos de VECO, COT y DQO por medio de respirometría rápida en un ensayo durante 72 h.

## Apéndice H

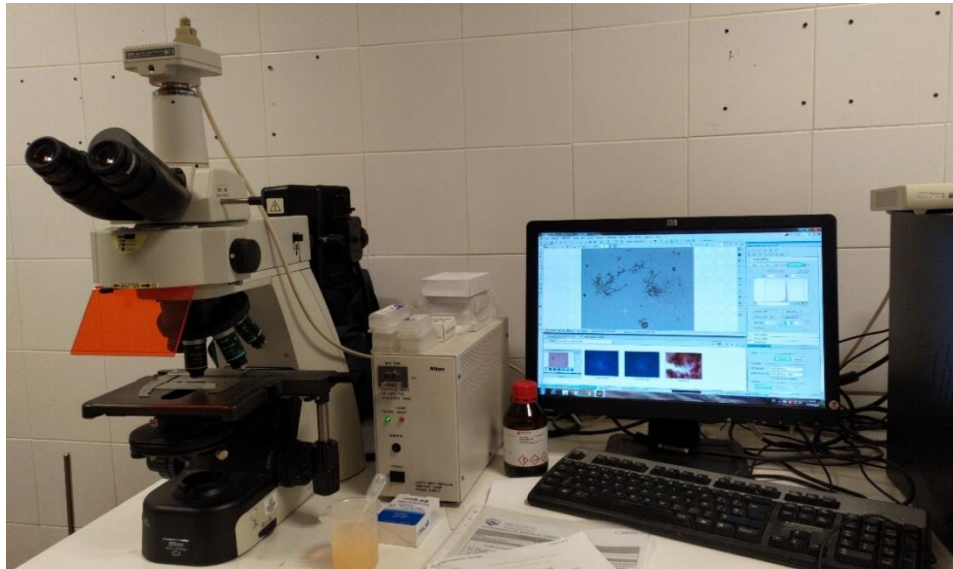
### *Ensayo de biodegradabilidad Inherente (Zahn-Wellens)*



*Nota.* Respectivo montaje para el método de Zahn Wellens, frascos ámbar aireados durante 28 días.

## Apéndice I

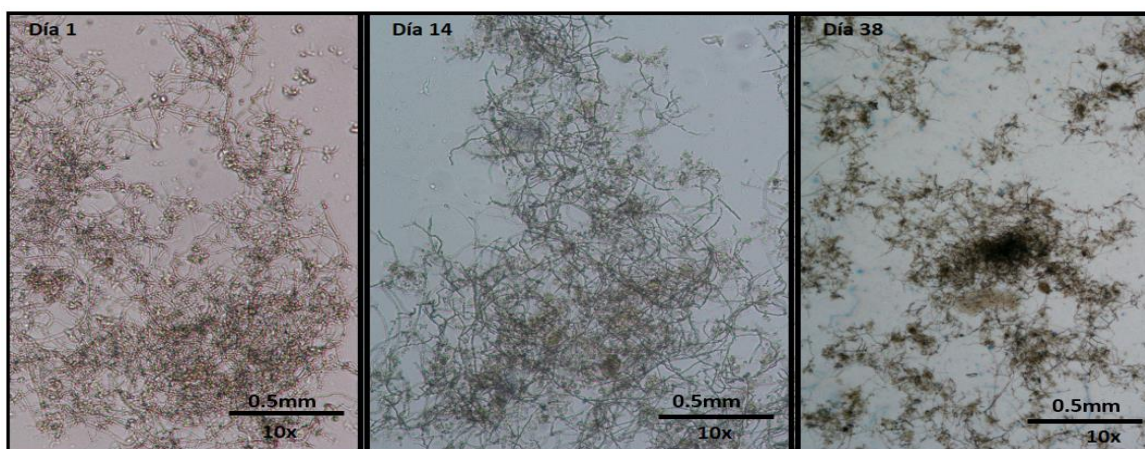
### *Observaciones al microscopio*



*Nota.* Observación al microscopio del lodo de inóculo y aguas de proceso por medio de un microscopio vertical Nikon con analizador de imágenes Eclipse Ci-S / Ci-L, equipado con una cámara digital DS-Fi2.

## Apéndice J

### *Micrografías de la evolución del lodo inóculo*



*Nota.* Observaciones a 10X detallando los flóculos o aglomeraciones de bacterias filamentosas durante el transcurso del tiempo.

**Apéndice K***Estabilización del SBRmadre.*

<b>Evolución del lodo de inóculo</b>			
<b>Tiempo (d)</b>	<b>SST (mg/L)</b>	<b>IVL (L/g)</b>	<b>V<sub>30</sub> (mL)</b>
<b>1</b>	4040	258	960
<b>3</b>	3720	237	960
<b>4</b>	4160	320	970
<b>5</b>	3620	271	980
<b>6</b>	3520	276	970
<b>7</b>	3520	276	970
<b>10</b>	3560	272	970
<b>11</b>	3220	298	960
<b>12</b>	3520	273	960
<b>13</b>	3040	320	970
<b>14</b>	3120	311	970
<b>17</b>	4920	61	300
<b>24</b>	5340	182	970
<b>25</b>	3660	260	950
<b>27</b>	2800	239	950
<b>32</b>	2520	381	960
<b>35</b>	4160	238	990
<b>38</b>	3600	269	970
<b>46</b>	3000	240	720
<b>48</b>	2040	275	650
<b>52</b>	2400	50	120
<b>55</b>	2020	54,5	110
<b>58</b>	2060	52,4	120

*Nota.* Se evaluaron parámetros como SST e IVL<sub>30</sub>