

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID

Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales



**TRATAMIENTOS AVANZADOS PARA LA
REGENERACIÓN DE AGUAS RESIDUALES**

TESIS DOCTORAL

Sonia Guerra Rodríguez

Ingeniera Química Industrial

Madrid 2022

Departamento de Ingeniería Química Industrial y del
Medioambiente – Escuela Técnica Superior de Ingenieros
Industriales



TRATAMIENTOS AVANZADOS PARA LA REGENERACIÓN DE AGUAS RESIDUALES

TESIS DOCTORAL

Sonia Guerra Rodríguez

Ingeniera Química Industrial

Madrid 2022

CODIRECTORES

M^a Encarnación Rodríguez Hurtado

Doctor Ingeniero Industrial

Jorge Jesús Rodríguez Chueca

Doctor en Ingeniería Química y del
Medioambiente

**TRATAMIENTOS AVANZADOS PARA LA REGENERACIÓN DE AGUAS
RESIDUALES**

Autor:

Sonia Guerra Rodríguez

Codirectores:

María Encarnación Rodríguez Hurtado y Jorge Jesús Rodríguez Chueca

**Tribunal nombrado por el Mgfco. y Excmo. Sr. Rector de la Universidad Politécnica
de Madrid, el día ____ de _____ de 202_.**

Presidente D. _____

Vocal D. _____

Vocal D. _____

Vocal D. _____

Secretario D. _____

Suplente D. _____

Suplente D. _____

**Realizado el acto de defensa y lectura de la Tesis Doctoral el día ____ de _____
del 202_, en la E.T.S.I. Industriales.**

Calificación: _____

EL PRESIDENTE

LOS VOCALES

EL SECRETARIO

Autorización de los directores

Los Doctores, D^a M^a Encarnación Rodríguez Hurtado, catedrática de la Universidad Politécnica de Madrid (UPM), y D. Jorge Jesús Rodríguez Chueca, profesor titular de la Universidad Politécnica de Madrid (UPM),

INFORMAN:

Que el trabajo de investigación recogido en la memoria titulada “Tratamientos avanzados para la regeneración de aguas residuales” ha sido realizado, bajo su dirección, por Sonia Guerra Rodríguez en los laboratorios del Departamento de Ingeniería Química Industrial y del Medio Ambiente (DIQUIMA) perteneciente a la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales (ETSII) de la Universidad Politécnica de Madrid (UPM). Dicho trabajo cumple con los requisitos exigidos de originalidad y rigor metodológico para optar al Título de Doctor, autorizando su presentación en la Universidad Politécnica de Madrid.

Para que así conste a los efectos oportunos, firman la presente autorización.

Madrid, 2 de diciembre de 2022

Dra. M^a Encarnación Rodríguez Hurtado

Dr. Jorge Jesús Rodríguez Chueca

«Non est ad astra mollis e terris via»
(«No hay un camino fácil de la tierra hasta las estrellas»)

Lucio Anneo Séneca

AGRADECIMIENTOS

Llegado el momento de escribir los agradecimientos, nunca es fácil decidir por dónde empezar. Durante los últimos 4 años son muchas las personas que han pasado por mi vida aportando su granito de arena para que este trabajo saliera adelante y, aunque quienes me conocen saben que soy una persona de pocas palabras, hay gente a la que no puedo dejar de agradecer, ya que sin ellas esto no habría sido posible.

Tal vez lo más sensato sea empezar por mis directores. Encarna, muchas gracias por ser la primera persona en la UPM en confiar en mí. No dudaste en decir que sí cuando acudí a ti para la realización del TFM, y has creído en mí durante los siguientes 5 años. Jorge gracias por tratarme siempre como a una igual. Pero más importante, gracias por enseñarme que los malos resultados también son resultados y animarme a seguir cuando he querido rendirme. Finalmente, gracias a ti, Mar; porque, aunque te sumaste a esta aventura en el tramo final, dijiste que sí de inmediato.

Aunque ellos son quienes más de cerca han seguido el desarrollo de esta investigación, ha habido más personas indispensables en este recorrido. David, gracias por abrirme los ojos al análisis de datos y por darme los recursos para sumergirme en el fascinante mundo de la programación y el *Machine Learning*, acompañándome y aprendiendo conmigo en el camino. Patri, Stefanos, gracias por estar siempre dispuestos a echar una mano. Y una mención a todos los estudiantes de Grado y Máster que han pasado por el laboratorio en estos años, pero en especial a Sara y Nerea, cuyo apoyo ha sido imprescindible en el desarrollo de la Tesis.

Por suerte, no solo en Madrid he tenido gente a mi lado. *Obrigado Rita, Rui e Adrián pelo apoio recebido, durante os três meses que estive com você no Porto, mas também depois pela publicação de artigos.* Inma, gracias por no dudar ni un momento en acogerme en la PSA, aunque fuera por un breve periodo de tiempo. Y Chus, gracias por tener la paciencia de sentarte conmigo a diario durante esa semana y confiar en mi capacidad de no liarla haciendo las PCR.

Obviamente, el apoyo en el trabajo ha sido imprescindible, pero más importante aún es el cariño recibido por mi familia, quienes no han dejado de ser nunca mis principales admiradores. En especial, no puedo dejar pasar la oportunidad de dar las gracias a mis padres por criarme para ser una mujer independiente, siempre con la libertad de ser quien yo

quisiera. Este camino lo hemos recorrido a miles de kilómetros de distancia la mayor parte del tiempo, pero ha sido imprescindible para continuar adelante la voz de mi madre recordándome que no pasa nada si alguna vez las cosas no salen como uno espera.

Y llegados a este punto, solo me queda dar las gracias a una persona. Gracias Rubén. Si alguien ha estado a mi lado en todo momento durante esta aventura, ese has sido tú, apoyándome en todas mis decisiones e intentando sacarme una sonrisa en esos días en que solo quería llorar. Gracias por ser mi lugar seguro al que volver al terminar el día.

A todos ustedes, GRACIAS. Porque esto no lo habría logrado si no hubieran creído en mí.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
SUMMARY	5
1. INTRODUCCIÓN.....	11
1.1. Antecedentes	11
1.2. Marco legal.....	18
1.3. Tratamientos convencionales de aguas residuales	21
1.4. Contaminantes en el agua residual tratada	22
1.5. Tratamientos de regeneración de aguas residuales	32
1.6. Procesos de oxidación avanzada basados en radicales sulfato.....	41
1.7. Inteligencia artificial aplicada al sector del agua	57
2. OBJETIVOS Y ESTRUCTURA DE LA TESIS	65
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	71
3.1. Matrices acuosas utilizadas en los tratamientos	71
3.2. Contaminantes objetivo.....	74
3.3. Reactivos	75
3.4. Instalaciones experimentales.....	77
3.5. Procedimientos experimentales.....	87
3.6. Análisis microbiológico	88
3.7. Análisis de contaminantes de preocupación emergente.....	101
3.8. Cálculo del grado de sinergia.....	103
3.9. Análisis de fitotoxicidad.....	103
3.10. Análisis fisicoquímicos	105
3.11. Análisis del Ciclo de Vida.....	108
3.12. Análisis de resultados de desinfección mediante técnicas de <i>Machine Learning</i>	

4.	INACTIVACIÓN DE MICROORGANISMOS A ESCALA LABORATORIO	127
4.1.	Evaluación de la activación fotoquímica del PMS y el H ₂ O ₂ para la inactivación de <i>Enterococcus sp.</i>	127
4.2.	Evaluación del sulfito de sodio como fuente de radicales	146
5.	APLICACIÓN DE TÉCNICAS DE <i>MACHINE LEARNING</i> PARA LA PREDICCIÓN DE RESULTADOS DE DESINFECCIÓN.....	167
5.1.	Preprocesado del conjunto de datos	167
5.2.	Ajuste del proceso de validación cruzada anidada.....	170
5.3.	Optimización de hiperparámetros	175
5.4.	Evaluación de los modelos sobre el conjunto de datos	179
6.	ACTIVACIÓN DE PMS MEDIANTE UV-A (LED) PARA LA ELIMINACIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES A ESCALA DE LABORATORIO.....	187
6.1.	Ensayos para la optimización de la dosis de oxidante	187
6.2.	Importancia de los radicales en la degradación.....	196
6.3.	Experimentos en condiciones reales de concentración	199
6.4.	Análisis de fitotoxicidad.....	201
6.5.	Análisis económico	203
7.	EVALUACIÓN DE PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA A ESCALA PILOTO.....	209
7.1.	Optimización de tratamientos en agua residual simulada	209
7.2.	Análisis del Ciclo de Vida de los tratamientos seleccionados	229
7.3.	Evaluación de tratamientos sobre un efluente secundario real	244
8.	CONCLUSIONES / CONCLUSIONS.....	263
8.1.	Conclusiones y líneas futuras.....	263
8.2.	Conclusions and future work	267
9.	BIBLIOGRAFÍA	273
	ANEXO I: Publicaciones producto de la investigación	309

ANEXO II. Conjunto de experimentos utilizado para el entrenamiento y validación de los modelos de <i>Machine Learning</i>	314
ANEXO III. Resultados de <i>GridSearch</i> mediante validación cruzada anidada	318
1.1. <i>Random Forest</i>	318
1.2. <i>Decission Tress</i>	325
1.3. <i>Gradient Boosted Regression Trees</i>	332
ANEXO IV. Eliminación de contaminantes en agua residual real a escala piloto.....	339

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1. Volumen de agua residual tratada por CCAA ($\text{m}^3 \cdot \text{día}^{-1}$).	15
Figura 1-2. A) Número de EDAR en España por CCAA. B) Porcentaje de EDAR con tratamiento secundario y terciario por CCAA.	16
Figura 1-3. A) Destino de las aguas tratadas por CCAA. B) Usos de las aguas residuales reutilizadas por CCAA..	17
Figura 1-4. Esquema típico de la línea de agua en una EDAR convencional.	22
Figura 1-5. Tratamientos de regeneración propuestos por MITECO (2010).	33
Figura 1-6. Clasificación de los AOP propuesta por Miklos <i>et al.</i> (2018).	40
Figura 1-7. Evolución del número de publicaciones que recogen la aplicación de ML al tratamiento de AR.	60
Figura 3-1. Filtros y bomba de vacío empleados para la filtración de agua residual real. .	73
Figura 3-2. Configuración con reactor <i>batch</i> de 1 L.	78
Figura 3-3. Esquema de reactor tubular con recirculación.	79
Figura 3-4. Planta piloto Photobench LED275-0.8/LED365-16/450-16a (APRIA Systems): vista frontal y posterior.	81
Figura 3-5. Planta piloto Photobench LED275-0.8/LED365-16/450-16a (APRIA Systems): Diagrama P&ID.	82
Figura 3-6. Planta piloto Photobench LED275-0.8/LED365-16/450-16a (APRIA Systems): Armario eléctrico.	83
Figura 3-7. Planta piloto Photobench LED275-0.8/LED365-16/450-16a (APRIA Systems): Modelos en 3D de los reactores fotoquímicos.	84
Figura 3-8. Planta piloto Photobench LED275-0.8/LED365-16/450-16a (APRIA Systems): Sistema de ozonización.	85
Figura 3-9. Planta piloto Photobench LED275-0.8/LED365-16/450-16a (APRIA Systems): Caudalímetros F101, F102 y F103.	86
Figura 3-10. Planta piloto Photobench LED275-0.8/LED365-16/450-16a (APRIA Systems): A) sensor de pH y temperatura y B) transmisor analítico.	87

Figura 3-11. Procedimiento para el aislamiento de cepas salvajes.	91
Figura 3-12. <i>Pellet</i> bacteriano obtenido después de la centrifugación.	93
Figura 3-13. Procedimiento para la realización de diluciones seriadas.....	94
Figura 3-14. Siembra mediante gotas: A) Posible división de una placa y B) resultado obtenido.	95
Figura 3-15. Método de placa difusa: A) perlas de siembra y B) placa de ejemplo.	96
Figura 3-16. Evolución diaria de semillas de <i>Raphanus sativus</i> en un análisis de fitotoxicidad.....	104
Figura 3-17. Recta de calibrado para la detección de PMS disuelto.	106
Figura 3-18. Recta de calibrado para la actinometría de ferrioxalato.	108
Figura 3-19. Diagrama de flujo de las diferentes etapas del ciclo de vida de la planta piloto objeto de estudio.....	110
Figura 3-20. Estructura de generación eléctrica peninsular en 2020.....	112
Figura 3-21. Ejemplo de codificación <i>One-Hot</i>	118
Figura 3-22. Diagrama esquemático de un árbol de decisión (DT).	119
Figura 3-23. Ejemplo de validación cruzada dividiendo los datos en 5 secciones.....	121
Figura 3-24. Procedimiento de validación cruzada anidada.....	124
Figura 4-1. Activación fotoquímica de A) PMS y B) H ₂ O ₂ para la inactivación de <i>Enterococcus sp.</i> en un reactor <i>batch</i> . Condiciones experimentales: pH = natural; matriz = agua destilada; λ = 365 nm. LD: límite de detección.	128
Figura 4-2. Influencia del reactor sobre el tratamiento A) PMS/UV-A y B) H ₂ O ₂ /UV-A para la inactivación de <i>Enterococcus sp.</i> (líneas continuas: reactor tubular; líneas discontinuas: reactor <i>batch</i>). Condiciones experimentales: [PMS] = 0,05 mM; [H ₂ O ₂] = 1,5 mM; pH = natural; Matriz = agua destilada; λ = 365 nm. LD: límite de detección.....	130
Figura 4-3. Variación de la concentración de Fe ²⁺ durante los experimentos de actinometría de ferrioxalato para los reactores <i>batch</i> y tubular.....	132
Figura 4-4. Influencia la matriz sobre el tratamiento A) PMS/UV-A y B) H ₂ O ₂ /UV-A para la inactivación de <i>Enterococcus sp.</i> Condiciones experimentales: [PMS] = 0,05 mM; [H ₂ O ₂]	

= 1,5 mM; pH = natural; Reactor = reactor tubular; λ = 365 nm. LD: límite de detección.
..... 134

Figura 4-5. Influencia de la presencia de aniones inorgánicos sobre el tratamiento A) PMS/UV-A y B) H_2O_2 /UV-A para la inactivación de *Enterococcus sp.* Condiciones experimentales: [PMS] = 0,05 mM; [H_2O_2] = 1,5 mM; pH = natural; Matriz = agua destilada; Reactor = reactor tubular; λ = 365 nm. LD: límite de detección..... 138

Figura 4-6. Influencia de los *scavengers* en la inactivación de *Enterococcus sp.* mediante PMS/UV-A en A) agua destilada y B) solución salina. Condiciones experimentales: pH = natural; [PMS] = 0,05 mM; [PMS]: [*Scavenger*] = 1:20; λ = 365 nm; Reactor = tubular. LD: límite de detección..... 142

Figura 4-7. Influencia de los *scavengers* en la inactivación de *Enterococcus sp.* mediante H_2O_2 /UV-A en A) agua destilada y B) solución salina. Condiciones experimentales: [H_2O_2] = 1,5 mM; [H_2O_2]: [*Scavenger*] = 1:20; pH = natural; λ = 365 nm.; Reactor = tubular. LD: límite de detección..... 143

Figura 4-8. Mecanismos propuestos para la inactivación de *Enterococcus sp.* mediante los tratamientos estudiados. 144

Figura 4-9. Espectro de absorbancia del sulfito de sodio en el rango UV. 148

Figura 4-10. Activación de SO_3^{2-} mediante UV-A y US para la inactivación de *Enterococcus sp.* Condiciones experimentales: [SO_3^{2-}] = 1 mM; pH = 6; Matriz = ARS. LD: límite de detección..... 150

Figura 4-11. Activación fotoquímica de SO_3^{2-} para la inactivación de *Enterococcus sp.* Condiciones experimentales: pH = 6; Matriz = ARS; λ = 365 nm. LD: límite de detección.
..... 151

Figura 4-12. Activación fotocatalítica de SO_3^{2-} utilizando A) Fe^{2+} y B) Fe(III)-Cit como catalizador para la inactivación de *Enterococcus sp.* Condiciones experimentales: [SO_3^{2-}] = 1 mM; pH = 6; Matriz = ARS; λ = 365 nm. LD: límite de detección. 153

Figura 4-13. Influencia de los *scavengers* en la inactivación de *Enterococcus sp.* mediante el sistema $\text{SO}_3^{2-}/\text{Fe}^{2+}$ /UV-A. Condiciones experimentales: [SO_3^{2-}] = 1 mM; [Fe^{2+}] = 0,5 mM; [MeOH] o [TBA] = 10mM; pH = 6; Matriz = ARS; λ = 365 nm. LD: límite de detección..... 156

Figura 4-14. Influencia de los <i>scavengers</i> en la inactivación de <i>Enterococcus sp.</i> mediante el sistema $\text{SO}_3^{2-}/\text{Fe(III)-Cit}/\text{UV-A}$. Condiciones experimentales: $[\text{SO}_3^{2-}] = 1 \text{ mM}$; $[\text{Fe(III)-Cit}] = 1 \text{ mM}$; $[\text{MeOH}]$ o $[\text{TBA}] = 10\text{mM}$; $\text{pH} = 6$; Matriz = ARS; $\lambda = 365 \text{ nm}$. LD: límite de detección.....	157
Figura 4-15. Mecanismo de reacción propuesto para la activación de SO_3^{2-} . Obsérvese la correspondencia de los números de reacción con los presentados en la Tabla 4-3.	161
Figura 4-16. Influencia de la matriz acuosa en la inactivación de <i>Enterococcus sp.</i> mediante el sistema $\text{SO}_3^{2-}/\text{Fe}^{n+}/\text{UV-A}$. Condiciones experimentales: $[\text{SO}_3^{2-}] = 1 \text{ mM}$; $[\text{Fe}^{2+}] = 0,5 \text{ mM}$; $[\text{Fe(III)-Cit}] = 1\text{mM}$; $\text{pH} = 6$; $\lambda = 365 \text{ nm}$. LD: límite de detección.	163
Figura 4-17. Influencia de la presencia de <i>Escherichia coli</i> en la inactivación de <i>Enterococcus sp.</i> mediante el sistema $\text{SO}_3^{2-}/\text{Fe}^{n+}/\text{UV-A}$. Condiciones experimentales: $[\text{SO}_3^{2-}] = 1 \text{ mM}$; $[\text{Fe}^{2+}] = 0,5 \text{ mM}$; $[\text{Fe(III)-Cit}] = 1\text{mM}$; $\text{pH} = 6$; $\lambda = 365 \text{ nm}$. LD: límite de detección.....	164
Figura 5-1. Mapa de calor: precisión de los modelos tras el ajuste de los hiperparámetros.	180
Figura 5-2. Predicciones de la tasa de desinfección obtenidas con los modelos óptimos.	182
Figura 6-1. Efecto de la concentración de PMS sobre la eliminación (%) de los 20 CPE objetivo. Condiciones experimentales: Matriz = AR; $[\text{CPE}]_0 = 100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; radiación = UV-A (LED); tiempo de reacción = 60 min.	188
Figura 6-2. Determinación de los efectos sinérgicos entre el PMS y la radiación UV-A en la degradación de los 20 CPE multiclase objetivo: A) Eliminación por PMS/UV-A, PMS o UV-A (%) B) Grado de sinergia en el tratamiento PMS/UV-A (estimado para aquellos CPE marcados con un asterisco). Condiciones experimentales: Matriz = AR; $[\text{CPE}]_0 = 100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; $[\text{PMS}] = 0,1 \text{ mM}$; irradiación = UV-A (LED); tiempo de reacción = 60 min.	190
Figura 6-3. Eliminación de a) Antibióticos; b) Betabloqueantes; c) Otros productos farmacéuticos; d) Herbicidas; y e) Insecticidas. Condiciones experimentales: Matriz = AR; $[\text{CPE}]_0 = 100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; $[\text{PMS}] = 0,1 \text{ mM}$; radiación = UV-A (LED).	194
Figura 6-4. Consumo de PMS durante el tratamiento con PMS/UV-A. Condiciones experimentales: Matriz = AR; $[\text{CPE}]_0 = 100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; $[\text{PMS}] = 0,1 \text{ mM}$; radiación = UV-A (LED).	195

Figura 6-5. Eliminación (%) de CPE por PMS/UV-A, PMS y PMS/UV-A en presencia de etanol residual (0,1%): efecto de la presencia de etanol (EtOH). Condiciones experimentales: Matriz = AR; $[CPE]_0 = 100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; $[PMS] = 0,1 \text{ mM}$; $[\text{EtOH}] = 1 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$; radiación = UV-A (LED).	199
Figura 6-6. Aumento de la longitud (%) de las raíces y los tallos de tres especies (<i>Sorghum saccharatum</i> , <i>Sinapis alba</i> y <i>Lepidium sativum</i>) alimentadas con aguas residuales tratadas con PMS/UV-A, en comparación con las aguas residuales no tratadas.	202
Figura 7-1. Influencia de la concentración de PMS en la inactivación de <i>E. faecalis</i> a escala piloto. Condiciones experimentales: Matriz = ARS; $\text{pH} \approx 7$. LD: Límite de detección. ..	210
Figura 7-2. Influencia de la intensidad de la radiación UV-A en la inactivación de <i>E. faecalis</i> a escala piloto. Condiciones experimentales: Matriz = ARS; $\text{pH} \approx 7$. LD: Límite de detección.	211
Figura 7-3. Flujo de radiación incidente (energía frente al tiempo) durante los tratamientos a escala piloto. Condiciones experimentales: Matriz = ARS; Intensidad de radiación = $1.900 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$	212
Figura 7-4. Influencia de la concentración de PMS en la inactivación de <i>E. faecalis</i> mediante el sistema PMS/UV-A aplicado a escala piloto. Condiciones experimentales: Matriz = ARS; $\text{pH} \approx 7$; Intensidad de radiación = $1.900 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$. LD: Límite de detección.	213
Figura 7-5. Inactivación de <i>E. faecalis</i> mediante la combinación de PMS, H_2O_2 y radiación UV-A a escala piloto. Condiciones experimentales: $[PMS] = [\text{H}_2\text{O}_2] = 1,5 \text{ mM}$; Matriz = ARS; $\text{pH} \approx 7$; Intensidad de radiación = $1.900 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$. LD: Límite de detección.	214
Figura 7-6 Influencia de la concentración de PMS en la inactivación de <i>E. faecalis</i> mediante el sistema PMS/ H_2O_2 /UV-A aplicado a escala piloto. Condiciones experimentales: $[\text{H}_2\text{O}_2] = 1,5 \text{ mM}$; $\text{pH} \approx 7$; Matriz = ARS; $\lambda = 365 \text{ nm}$; Intensidad de radiación = $1.900 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$. LD: Límite de detección.	215
Figura 7-7. Inactivación de <i>E. faecalis</i> mediante la inyección de diferentes caudales de O_3 . Condiciones experimentales: Matriz = ARS; $\text{pH} \approx 7$. LD: Límite de detección.	217
Figura 7-8. Evolución de la concentración de O_3 disuelto en el agua durante un tratamiento. Condiciones experimentales: $\text{O}_3 = 0,25 \text{ g}\cdot\text{h}^{-1}$	217

Figura 7-9. Inactivación de <i>E. faecalis</i> mediante el sistema PMS/O ₃ /UV-A aplicado a escala piloto. Condiciones experimentales: Matriz: = ARS; pH $\approx$ 7; O ₃ : 0,25 g·h ⁻¹ . LD: Límite de detección.....	218
Figura 7-10. Influencia de los <i>scavengers</i> en la inactivación de <i>E. faecalis</i> mediante el sistema PMS/UV-A aplicado a escala piloto. Condiciones experimentales: [PMS] = 1,5 mM; [MeOH] = [TBA] = 30 mM; Matriz = ARS; pH $\approx$ 7; Intensidad de radiación = 1.900 W·m ⁻² . LD: Límite de detección.....	220
Figura 7-11. Influencia de los <i>scavengers</i> en la inactivación de <i>E. faecalis</i> mediante el sistema PMS/H ₂ O ₂ /UV-A aplicado a escala piloto. Condiciones experimentales: [PMS] = [H ₂ O ₂] = 1,5 mM; [MeOH] = [TBA] = 30 mM; Matriz = ARS; pH $\approx$ 7; Intensidad de radiación = 1.900 W·m ⁻² . LD: Límite de detección.	221
Figura 7-12. Influencia de los <i>scavengers</i> en la inactivación de <i>E. faecalis</i> mediante el sistema PMS/H ₂ O ₂ /UV-A aplicado a escala piloto. Condiciones experimentales: [PMS] = 0,5 mM; [H ₂ O ₂] = 1,5mM; [MeOH] = [TBA] = 30 mM; Matriz= ARS; pH $\approx$ 7; Intensidad de radiación = 1.900 W·m ⁻² . LD: Límite de detección.....	222
Figura 7-13. Influencia de los <i>scavengers</i> en la inactivación de <i>E. faecalis</i> mediante el sistema PMS/O ₃ aplicado a escala piloto. Condiciones experimentales: [PMS] = 0,5 mM; O ₃ : 0,25 g·h ⁻¹ ; [MeOH] = [TBA] = 10 mM; Matriz= ARS; pH $\approx$ 7. LD: Límite de detección.	224
Figura 7-14. Eliminación simultánea de <i>E. coli</i> , <i>E. faecalis</i> y <i>S. aureus</i> mediante el sistema A) PMS/UVA; B) PMS (1,5 mM)/H ₂ O ₂ /UV-A; C) PMS (0,5 mM)/H ₂ O ₂ /UV-A. Condiciones experimentales: [H ₂ O ₂] = 1,5 mM; Matriz = ARS; pH $\approx$ 7; Intensidad de radiación = 1.900 W·m ⁻² . LD: Límite de detección.	226
Figura 7-15. Eliminación simultánea de <i>E. coli</i> , <i>E. faecalis</i> y <i>S. aureus</i> mediante el sistema PMS/O ₃ . Condiciones experimentales: [PMS] = 0,5 mM; O ₃ : 0,25 g·h ⁻¹ ; Matriz = ARS; pH $\approx$ 7. LD: Límite de detección.....	227
Figura 7-16. Degradación 5 mg·L ⁻¹ de tetraciclina y diclofenaco mediante los sistemas A) PMS (1,5 mM)/UV-A B) PMS (1,5 mM)/H ₂ O ₂ /UV-A C) PMS (0,5 mM)/H ₂ O ₂ /UV-A y D) PMS (0,5 mM)/O ₃ . Condiciones experimentales: [H ₂ O ₂] = 1,5 mM; Matriz= ARS; pH $\approx$ 7; λ = 365 nm; Intensidad de radiación = 1.900 W·m ⁻² ; O ₃ : 0,25 g·h ⁻¹	228

Figura 7-17. Cuantificación de los impactos asociados a cada escenario: A) En términos de caracterización B) Valores normalizados.	234
Figura 7-18. Impacto global de cada escenario (puntuación única) y contribución de cada una de las categorías.	236
Figura 7-19. ACV de la planta piloto: contribución de los componentes principales a las diferentes categorías de impacto. La longitud total de la barra representa el 100% del impacto dentro de cada categoría.	239
Figura 7-20. Cuantificación de los impactos asociados a cada escenario (en términos de caracterización) teniendo en cuenta el impacto asociado a la fabricación de la planta piloto.	240
Figura 7-21. Influencia del mix energético sobre el impacto global de cada escenario... 243	
Figura 7-22. Inactivación de A) <i>Escherichia coli</i> ; B) Microorganismos aerobios totales presentes en un efluente secundario real. Condiciones experimentales: $[H_2O_2] = 1,5 \text{ mM}$; $\text{pH} \approx 7$; Intensidad de radiación = $1.900 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$. LD: Límite de detección.....	246
Figura 7-23. Inactivación de los microorganismos presentes en un efluente secundario real mediante el sistema PMS/O ₃ . Línea de puntos: <i>Escherichia coli</i> ; Línea continua: microorganismos aerobios totales. Condiciones experimentales: $[PMS] = 0,5 \text{ mM}$; O ₃ : $0,25 \text{ g} \cdot \text{h}^{-1}$; $\text{pH} \approx 7$. LD: Límite de detección.	247
Figura 7-24. Abundancia relativa de los ARG antes y después de los tratamientos. 1. UV-A; 2. PMS (1,5 mM); 3. PMS (1,5 mM)/UV-A; 4. PMS (1,5 mM)/H ₂ O ₂ /UV-A; 5. PMS (0,5 mM)/H ₂ O ₂ /UV-A. Condiciones experimentales: $[H_2O_2] = 1,5 \text{ mM}$; O ₃ : $0,25 \text{ g} \cdot \text{h}^{-1}$; $\text{pH} \approx 7$; Intensidad de radiación = $1.900 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$. LD: Límite de detección.	249
Figura 7-25. Abundancia relativa de los ARG antes y después del tratamiento de un efluente secundario real mediante el sistema PMS/O ₃ . Condiciones experimentales: $[PMS] = 0,5 \text{ mM}$; O ₃ : $0,25 \text{ g} \cdot \text{h}^{-1}$; $\text{pH} \approx 7$	252
Figura 7-26. Eliminación global de CPE mediante los diferentes tratamientos evaluados a escala piloto. 1. UV-A; 2. PMS (1,5 mM); 3. PMS (1,5 mM)/UV-A; 4. PMS (1,5 mM)/H ₂ O ₂ /UV-A; 5. PMS (0,5 mM)/H ₂ O ₂ /UV-A; 6. O ₃ ; 7. PMS/O ₃ (0,5 mM). Condiciones experimentales: $[H_2O_2] = 1,5 \text{ mM}$; O ₃ : $0,25 \text{ g} \cdot \text{h}^{-1}$; $\text{pH} \approx 7$	254
Figura 7-27. Espectro de absorbancia del H ₂ O ₂	255

Figura 7-28. Variación en el crecimiento de los brotes alimentados con agua tratada y sin tratar. **1.** UV-A; **2.** PMS (1,5 mM) **3.** PMS (1,5 mM)/UV-A; **4.** PMS (1,5 mM)/H₂O₂/UV-A; **5.** PMS (0,5 mM)/H₂O₂/UV-A; **6.** O₃; **7.** PMS/O₃ (0,5 mM). Condiciones experimentales: [H₂O₂] = 1,5 mM; O₃: 0,25 g·h⁻¹; pH ≈ 7..... 258

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1. Principales patógenos transmitidos por el agua.	24
Tabla 1-2. Sustancias incluidas en las listas de observación a efectos de seguimiento, a nivel de la Unión Europea.	31
Tabla 1-3. Principales características de los tratamientos de desinfección convencionales.	38
Tabla 1-4. Propiedades químicas del PMS y el PS.....	42
Tabla 1-5. Estudios que aplican SR-AOP a la inactivación de patógenos.	49
Tabla 1-6. Estudios sobre la eliminación simultánea de CPE y microorganismos mediante SR-AOP.....	53
Tabla 1-7. Estudios que aplican SR-AOP a la inactivación de ARB y ARG.....	54
Tabla 1-8. Ejemplos del uso de ML en la predicción de eficiencia de tratamientos de AR.	61
Tabla 3-1. Composición del agua residual simulada.	72
Tabla 3-2. Caracterización del efluente secundario recogido en una EDAR del norte de Portugal.....	72
Tabla 3-3. Caracterización del agua efluente secundario recogido en una EDAR del centro de España.....	73
Tabla 3-4. Clasificación de los contaminantes emergentes objeto de estudio.....	74
Tabla 3-5. Medios de cultivo empleados.....	89
Tabla 3-6. Tiempo de incubación recomendado para cada especie de microorganismo....	95
Tabla 3-7. Condiciones de operación utilizadas en los análisis PCR en tiempo real.	100
Tabla 3-8. Indicadores de la calidad de los datos incluidos en el análisis de inventario..	113
Tabla 3-9. Categorías de impacto empleadas en la metodología PEF.....	114
Tabla 3-10. Hiperparámetros optimizados en función del algoritmo de ML evaluado....	122
Tabla 4-1. Constantes cinéticas y grado de sinergia calculados para los sistemas PMS/UV-A y H ₂ O ₂ /UV-A.....	131

Tabla 4-2. Cuantificación del grado de sinergia en los sistemas $\text{SO}_3^{2-}/\text{Fe}^{n+}/\text{UV-A}$. $[\text{Fe}^{2+}] = 0,5 \text{ mM}$; $[\text{Fe(III)-Cit}] = [\text{SO}_3^{2-}] = 1 \text{ mM}$; duración de los tratamientos: 120 min.	155
Tabla 4-3. Mecanismo de reacción propuesto para la activación de SO_3^{2-} (numeración de las ecuaciones correspondiente a las reacciones presentadas en la figura 4. 15).	159
Tabla 5-1. R^2 obtenido al preprocesar los datos usando diferentes métodos de codificación de variables.	168
Tabla 5-2. Resultados obtenidos mediante VCA. Bucle exterior: $KFold(n_splits = 10, shuffle = \text{False}, random_state = 42)$; Bucle exterior: $KFold(n_splits = 3, shuffle = \text{False}, random_state = 42)$	171
Tabla 5-3. Resultados obtenidos mediante VCA. Bucle exterior: $KFold(n_splits = 5, shuffle = \text{False}, random_state = \text{None})$; Bucle exterior: $KFold(n_splits = 3, shuffle = \text{False}, random_state = \text{None})$	172
Tabla 5-4. Resultados obtenidos mediante VCA. Bucle exterior: $KFold(n_splits = 10, shuffle = \text{True}, random_state = 42)$; Bucle exterior: $KFold(n_splits = 3, shuffle = \text{False}, random_state = \text{None})$	173
Tabla 5-5. Resultados obtenidos mediante VCA. Bucle exterior: $KFold(n_splits = 5, shuffle = \text{True}, random_state = 42)$; Bucle exterior: $KFold(n_splits = 3, shuffle = \text{False}, random_state = \text{None})$	173
Tabla 5-6. Resultados obtenidos mediante VCA. Bucle exterior: $KFold(n_splits = 10, shuffle = \text{True}, random_state = 42)$; Bucle exterior: $KFold(n_splits = 3, shuffle = \text{True}, random_state = 42)$	174
Tabla 5-7. Resultados obtenidos mediante VCA. Bucle exterior: $KFold(n_splits = 5, shuffle = \text{True}, random_state = 42)$; Bucle exterior: $KFold(n_splits = 3, shuffle = \text{True}, random_state = 42)$	174
Tabla 5-8. Resultados obtenidos mediante VCA. Bucle exterior: $KFold(n_splits = 10, shuffle = \text{True}, random_state = 42)$; Bucle exterior: $KFold(n_splits = 10, shuffle = \text{True}, random_state = 42)$	175
Tabla 5-9. Parámetros que definen los modelos óptimos en cada escenario.	178
Tabla 5-10. Evaluación de los modelos de ML tras el ajuste de los hiperparámetros.	179

Tabla 6-1. Constantes cinéticas de pseudo-primer orden para los CPE objetivo.	192
Tabla 6-2. Reactividad de los contaminantes objetivo respecto a $\text{SO}_4^{\cdot-}$ y $\text{HO}^{\cdot}$	197
Tabla 6-3. Concentraciones iniciales de los CPE detectados en la muestra de aguas residuales no alteradas y su eliminación mediante el sistema PMS-UV-A. $t = 30$ min; $[\text{PMS}] = 0,1$ mM.	200
Tabla 6-4. Número de semillas germinadas de cada especie en la prueba de fitotoxicidad.	201
Tabla 6-5. Análisis económico del tratamiento propuesto (Tiempo de contacto = 30 min; $[\text{PMS}] = 0,1$ mM).	205
Tabla 7-1. Descripción de los escenarios evaluados mediante ACV. Condiciones experimentales: $[\text{H}_2\text{O}_2] = 1,5$ mM; O_3 : $0,25 \text{ g}\cdot\text{h}^{-1}$	229
Tabla 7-2. Inventario de ciclo de vida: reactivos y energía utilizados en los diferentes escenarios.	230
Tabla 7-3. Inventario de ciclo de vida: componentes de la planta piloto.	231
Tabla 7-4. Contribución de los elementos involucrados en los tratamientos al impacto global de cada escenario.	237
Tabla 7-5. Número de tratamientos realizados en 10 años de funcionamiento de la planta piloto.	240
Tabla 7-6. Influencia del mix energético: variación de las diferentes categorías de impacto respecto a la puntuación obtenida en el caso base (mix energético 2020).	242
Tabla 7-7. Concentración de microorganismos en las muestras de efluente secundario real.	245
Tabla 7-8. Abundancia relativa de los ARG detectados en el estudio: promedio y desviación estándar. Condiciones experimentales: $[\text{H}_2\text{O}_2] = 1,5$ mM; O_3 : $0,25 \text{ g}\cdot\text{h}^{-1}$; $\text{pH} \approx 7$; Intensidad de radiación = $1.900 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$	250
Tabla 7-9. Número de semillas germinadas en los análisis de fitotoxicidad realizados tras la aplicación de diferentes AOP sobre un efluente secundario real. Condiciones experimentales: $[\text{H}_2\text{O}_2] = 1,5$ mM; O_3 : $0,25 \text{ g}\cdot\text{h}^{-1}$; $\text{pH} \approx 7$	257

ABREVIATURAS

ACV	Análisis de ciclo de vida
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ANN	Redes neuronales artificiales (<i>Artificial Neural Networks</i>)
AOP	Procesos de oxidación avanzada (<i>Advanced Oxidation Processes</i>)
AP	Potencial de acidificación (<i>Acidification Potential</i>)
AR	Agua residual
ARB	Bacterias resistentes a antibióticos (<i>Antibiotic Resistant Bacteria</i>)
ARG	Genes de resistencia a antibióticos (<i>Antibiotic Resistance Genes</i>)
ARS	Agua residual simulada
CE	Comisión Europea
CEE	Comunidad Económica Europea
COD	Carbono orgánico disuelto
CPE	Contaminantes de preocupación emergente
Ct	Valor umbral de ciclo
DBO	Demanda biológica de oxígeno
DCF	Diclofenaco
DPD	N,N-dietil-p-fenilendiamina
DQO	Demanda Química de Oxígeno
DT	Árbol de decisión (<i>Decision Tree</i>)
EDAR	Estación depuradora de aguas residuales
EEO	Energía eléctrica por orden
EtOH	Etanol
Fe(III)-Cit	Citrato de hierro (III)
FETP	Potencial de ecotoxicidad en agua dulce (<i>Freshwater Ecotoxicity Potential</i>)
FEUP	<i>Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto</i>
FFA	Ácido Furfurílico
F-RD	Agotamiento de recursos fósiles (<i>Fossil resources depletion</i>)
GBRT	<i>Gradient boosted regression trees</i>
GWP	Cambio climático (<i>Global Warming Potential</i>)
HAAs	Ácidos haloacéticos
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficiencia (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
HTP-C	Potencial de toxicidad humana - efectos cancerígenos. (<i>Human Toxicity Potential – Carcinogenic</i>)
HTP-NC	Potencial de toxicidad humana - efectos no cancerígenos. (<i>Human Toxicity Potential – Noncarcinogenic</i>)
IRP	Potencial de radiación ionizante (<i>Ionising Radiation Potential</i>)
LCMS	Cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas (<i>Liquid Chromatography – Mass Spectrometry</i>)
LD	Límite de detección
LE	Codificación Ordinal (<i>Label Encoding</i>)
LED	Diodo emisor de luz (<i>Light Emitting Diode</i>)
LU	Uso de terreno (<i>Land Use</i>)
MeOH	Metanol
M-EP	Potencial de eutrofización marina (<i>Marine Eutrophication Potential</i>)
ML	Aprendizaje automático (<i>Machine Learning</i>)

M-RD	Agotamiento de recursos minerales (<i>Mineral Resources Depletion</i>)
ODP	Agotamiento de ozono (<i>Ozone Depletion Potential</i>)
ODS	Objetivos de Desarrollo Sostenible
OHE	Codificación <i>One-Hot</i> (<i>One-Hot Encoding</i>)
OI	Ósmosis inversa
OMS	Organización mundial de la salud
ONU	Organización de las Naciones Unidas
P&ID	Diagrama de tuberías e instrumentación (<i>Piping and instrumentation diagram</i>)
PCA	<i>Plate Count Agar</i>
PCOF	Formación de ozono fotoquímico (<i>Photochemical Ozone Formation</i>)
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)
PEF	<i>Product Environmental Footprint</i>
PLC	Controlador lógico programable (<i>Programmable Logic Controller</i>)
PMF	Formación de material particulado (<i>Particulate Matter Formation</i>)
PMS	Peroximonosulfato
PS	Persulfato
R ²	Coefficiente de determinación
RD	Real Decreto
RF	<i>Random Forest</i>
S	Grado de sinergia
SPDs	Subproductos de desinfección
SPE	Extracción sólido líquido (<i>Solid Phase Extraction</i>)
SR-AOP	Procesos de oxidación avanzada basados en radicales sulfato (<i>Sulfate Radical Bases Advanced Oxidation Processes</i>)
SS	Solución salina
SVM	Máquinas de vectores de soporte (<i>Support-vector Machines</i>)
TBA	Tertbutanol
TC	Tetraciclina
T-EP	Potencial de eutrofización terrestre (<i>Terrestrial Eutrophication Potential</i>)
THM	Trihalometanos
UE	Unión Europea
UF	Ultrafiltración
UFC	Unidades formadoras de colonia
UHPLC	Cromatografía líquida de ultra alta resolución (<i>Ultra-High Performance Liquid Chromatography</i>)
UPM	Universidad Politécnica de Madrid
US	Ultrasonidos
UV	Ultravioleta
VC	Validación cruzada
VCA	Validación cruzada anidada
Vis	Radiación visible
W-RD	Agotamiento de recursos – Agua (<i>Water Resources Depletion</i>)
ZVI	Hierro cerovalente (<i>Zeravalent Iron</i>)
λ	Longitud de onda

RESUMEN

La crisis hídrica actual ha hecho que el interés por la búsqueda de recursos no convencionales se esté incrementado en los últimos años, con el objetivo de reducir el estrés al que se encuentran sometidas las masas de agua dulce. En este contexto, la reutilización de agua residual regenerada se contempla como una alternativa eficaz para aumentar, de forma significativa, el volumen de agua disponible, a la vez que se fomenta la economía circular en el sector. Sin embargo, diversos estudios han comprobado la presencia de contaminantes en los efluentes de estaciones depuradoras convencionales, lo cual podría suponer un hándicap para su reutilización. Entre los compuestos detectados se encuentran numerosos contaminantes de preocupación emergente (CPE) y contaminantes biológicos (microorganismos y genes de resistencia a antibióticos).

Con el objetivo de obtener un agua de una mayor calidad, es frecuente el uso de tratamientos terciarios, siendo la cloración uno de los más utilizados. No obstante, esta tecnología presenta un importante inconveniente: la generación de subproductos de desinfección potencialmente dañinos. Los tratamientos terciarios no convencionales se han desarrollado como respuesta a este problema, destacando entre ellos los procesos de oxidación avanzada que generan especies altamente reactivas capaces de degradar contaminantes orgánicos y, de forma simultánea, inactivar microorganismos. En general, la especie reactiva a generar son radicales hidroxilo. Sin embargo, los radicales sulfato tienen también un alto potencial de oxidación, lo que hace que los procesos de oxidación avanzada basados en radicales sulfato (SR-AOP) sean una alternativa de creciente interés.

Con el objetivo de obtener el máximo potencial de los SR-AOP, es necesario establecer las condiciones óptimas de operación y los métodos de activación de radicales más eficientes. Por ello, el objetivo principal de esta investigación es evaluar la eliminación de microorganismos patógenos y contaminantes de preocupación emergente mediante la aplicación de SR-AOP. Como fuente de radicales sulfato se ha utilizado, de forma general, el peroximonosulfato (PMS) en concentraciones de 0,05 mM a 1,5 mM.

En primer lugar, se evaluó el efecto de diferentes tratamientos a escala de laboratorio empleando *Enterococcus sp.* como contaminante objetivo, presente en 3 matrices acuosas diferentes (agua destilada, solución salina y agua residual simulada). Además, se estudió el efecto de la presencia de 5 aniones inorgánicos (F^- , Br^- , NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-}) en

concentración de 5 mM. La composición de la matriz acuosa demostró ser clave a la hora de determinar la eficacia de los tratamientos, por lo que resulta imprescindible optimizar los procesos sobre una matriz lo más similar posible al agua final a tratar. Del mismo modo, la presencia de F^- (estudiada por primera vez en este trabajo) resultó ser contraproducente para la inactivación de *Enterococcus sp.* al emplear el sistema PMS/UV-A, mientras que no tuvo una influencia relevante en el sistema H_2O_2 /UV-A.

A continuación, como fuente alternativa de radicales, se evaluó el sulfito de sodio, compuesto con conocidas capacidades desinfectantes, empleando como métodos de activación diferentes fuentes de radicación y especies de hierro. Al hacerlo, se observaron sinergias en la combinación de sulfito de sodio con radiación UV-A y diferentes especies de hierro, consiguiendo la inactivación de 10^6 UFC·mL⁻¹ de *Enterococcus sp.* en agua residual simulada tras 90 minutos de tratamiento al utilizar citrato de hierro (III)/UV-A.

Además de evaluar los SR-AOP en la inactivación de microorganismos, el proceso PMS/UV-A también se utilizó para evaluar la eliminación de 20 CPE adicionados, de forma simultánea, a un efluente secundario real, utilizando una concentración de 100 µg·L⁻¹ para cada uno de ellos. En estas condiciones, a escala laboratorio, se alcanzó una degradación promedio del 87,4%.

Finalmente, con el objetivo de poder ponderar la viabilidad de la transferencia de resultados a escalas de tratamiento de mayor capacidad, se evaluaron diferentes SR-AOP a escala piloto, empleado para ello agua residual, tanto simulada como real. Todos los tratamientos aplicados utilizaron PMS como oxidante, empleando varios métodos de activación, como son la radiación UV-A o la combinación con peróxido de hidrógeno u ozono. En primer lugar, los distintos procesos fueron optimizados para la inactivación de 10^6 UFC·mL⁻¹ de *Enterococcus faecalis* en agua residual simulada. Con 4 de los tratamientos empleados se consiguió inactivar estas bacterias en menos de 120 minutos, siendo la combinación de PMS (0,5 mM) y O_3 (0,25 g·h⁻¹) la más rápida (< 45 min) y la única capaz de degradar contaminantes emergentes (5 mg·L⁻¹ de diclofenaco). Al aplicar los mismos tratamientos sobre un efluente secundario real, el sistema PMS/ O_3 fue capaz de inactivar los microorganismos aerobios totales presentes en un efluente secundario real en menos de 10 minutos. Al mismo tiempo, se consiguió la eliminación por debajo del límite de detección de 6 de los 8 genes de resistencia a antibióticos evaluados, reduciendo la concentración del 16S rRNA en un 40%. Por el contrario, ninguno de los sistemas PMS/ H_2O_2 /UV-A fue capaz

de eliminar ARG de forma significativa. Además, también el sistema PMS/O₃ fue el que logró una mayor eliminación de CPE, con un promedio del 94%.

Adicionalmente, para tener una visión más global de los tratamientos, a escala piloto, se ha estudiado la sostenibilidad ambiental de los procesos escogidos, realizando para ello un Análisis del Ciclo de Vida empleando el método de análisis de impactos *Product Environmental Footprint*. Este estudio permitió confirmar que la combinación de PMS y O₃ es, no solo la más eficiente, sino la más sostenible debido al bajo consumo de reactivos y electricidad.

El número de experimentos a realizar para determinar las condiciones de óptimas de operación es elevado como consecuencia del gran número de variables que influyen en los tratamientos. Por ello, la obtención de modelos capaces de predecir el resultado de la desinfección en unas condiciones de operación determinadas permitiría reducir el número de ensayos necesarios y el tiempo invertido en ellos. Con este fin, se aplicaron en este trabajo diferentes técnicas de *Machine Learning* (ML) empleando como datos de entrada los resultados experimentales de desinfección obtenidos a escala laboratorio. Fueron tres los algoritmos evaluados (árbol de decisión, *Radom Forest* y *Gradient Boosting Regression Trees*) y, tras un proceso de ajuste de parámetros, se obtuvieron dos modelos capaces de predecir, con una precisión superior al 85%, los resultados de inactivación de *Enterococcus sp.* La estrategia utilizada en el pretratamiento de los datos resultó ser crítica a la hora de determinar el modelo de ML que proporciona el mejor ajuste, siendo importantes, tanto la forma de ordenar la información que se proporciona al algoritmo como la elección de un método de codificación de variables categóricas adecuado. En este contexto, la codificación *One-Hot* permitió, de forma general, obtener mejores resultados al ser comparada con codificación ordinal.

Así pues, a través de la experimentación (tanto a escala de laboratorio como de planta piloto) se ha demostrado la viabilidad de diferentes tratamientos SR-AOP para la reducción total o parcial contaminación microbiológica, contaminantes de preocupación emergente e, incluso, genes de resistencia antibióticos en agua residual (simulada o real). Al mismo tiempo, se ha introducido de forma exitosa el análisis de los resultados experimentales mediante técnicas de *Machine Learning* para la predicción de resultados de desinfección, lo cual abre la puerta a un ahorro significativo en tiempo y recursos en las fases de desarrollo de nuevo tratamientos.

Palabras clave: Tratamiento de aguas residuales; Procesos de oxidación avanzada (AOP); Peroximonosulfato; Evaluación a escala piloto; *Machine Learning*.

SUMMARY

The current water crisis has led to an increased interest in the search for non-conventional resources in recent years, with the aim of reducing the stress to which freshwater bodies are subjected. In this context, the reuse of reclaimed wastewater is seen as an effective alternative to significantly increase the volume of water available, while promoting the circular economy in the sector. However, several studies have detected the presence of pollutants in the effluents of conventional wastewater treatment plants, which could be a handicap for their reuse. Among the undesirable compounds detected are numerous contaminants of emerging concern and biological contaminants (microorganisms and antibiotic resistance genes).

To obtain higher quality water, tertiary treatments are frequently used, with chlorination being one of the most used techniques. However, this technology has a major drawback: the generation of potentially harmful disinfection by-products. In response to this problem, many non-conventional tertiary treatments have been developed, including advanced oxidation processes that generate highly reactive species capable of degrading organic pollutants and simultaneously inactivating microorganisms. In general, the reactive species to be generated are hydroxyl radicals. However, sulphate radicals also have a high oxidation potential, which makes sulphate radical-based advanced oxidation processes (SR-AOP) an alternative of growing interest.

In order to obtain the maximum potential of SR-AOPs, it is necessary to establish the optimal operating conditions and the most efficient radical activation methods. Therefore, the main objective of this research is to evaluate the removal of pathogenic microorganisms and contaminants of emerging concern by the application of SR-AOPs. As a source of sulphate radicals, peroxymonosulfate (PMS) in concentrations from 0.05 mM to 1.5 mM has been generally used.

Firstly, the effect of different treatments was evaluated at laboratory scale using *Enterococcus* sp. as target contaminant, present in 3 different aqueous matrices (distilled water, saline solution and simulated wastewater). In addition, the effect of the presence of 5 inorganic anions (F^- , Br^- , NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-}) at 5 mM concentration was studied. The composition of the aqueous matrix proved to be key in determining the effectiveness of the treatments, so it is essential to optimise the processes on a matrix as similar as possible to

the final water to be treated. Similarly, the presence of F^- (studied for the first time in this work) proved to be counterproductive for the inactivation of *Enterococcus sp.* when using the PMS/UV-A system, while it did not have a relevant influence in the H_2O_2 /UV-A system.

Then, as an alternative source of radicals, sodium sulfite, a compound with known disinfectant capabilities, was evaluated using different sources of radicals and iron species as activation methods. In doing so, synergies were observed in the combination of sodium sulfite with UV-A radiation and different iron species, achieving the inactivation of 10^6 CFU·mL⁻¹ of *Enterococcus sp.* in simulated wastewater after 90 minutes of treatment when using iron (III)-citrate/UV-A.

In addition to evaluating SR-AOPs in the inactivation of microorganisms, the PMS/UV-A process was also used to evaluate the removal of 20 micropollutants simultaneously added to a real secondary effluent in a concentration of 100 µg·L⁻¹ each. Under these conditions, at laboratory scale, an average degradation of 87.4% was achieved.

Finally, to assess the feasibility of transferring the results to larger treatment scales, different SR-AOPs were evaluated at pilot scale, using both simulated and real wastewater. All applied treatments used PMS as oxidant, employing various activation methods, such as UV-A radiation or the combination with hydrogen peroxide or ozone. First, the different processes were optimised for the inactivation of 10^6 CFU·mL⁻¹ of *Enterococcus faecalis* in simulated wastewater. Four treatments were able to inactivate the bacteria in less than 120 min, with the combination of PMS (0.5 mM) and O_3 (0.25 g·h⁻¹) being the fastest (< 45 min) and the only one capable of degrading emerging contaminants (5 mg·L⁻¹ diclofenac). When applying the same treatments on a real secondary effluent, the PMS/ O_3 system was able to inactivate the total aerobic microorganisms present in a real secondary effluent in less than 10 minutes. At the same time, 6 of the 8 antibiotic resistance genes tested were eliminated below the detection limit, reducing the concentration of 16S rRNA by 40%. In contrast, none of the other systems was able to significantly remove ARG. Moreover, the PMS/ O_3 system also achieved the highest CPE removal, with an average of 94%.

Additionally, a Life Cycle Assessment was carried out, using the Product Environmental Footprint impact analysis method, in order to evaluate the environmental sustainability of the chosen processes. This study confirmed that the combination of PMS and O_3 is not only

the most efficient, but also the most sustainable due to the low consumption of reagents and electricity.

The number of experiments to be carried out to determine the optimal operating conditions is high due to the large number of variables that influence the treatments. Therefore, obtaining models capable of predicting the disinfection results achieved under certain operating conditions would make it possible to reduce the number of tests required. To this end, different Machine Learning (ML) techniques were applied in this work, using experimental disinfection results obtained at laboratory scale as input data. Three algorithms were evaluated (Decision Tree, Random Forest and Gradient Boosting Regression Trees) and, after a parameter tuning process, two models were obtained capable of predicting the final *Enterococcus sp.* concentration of with an accuracy higher than 85%. The strategy used in the pre-treatment of the data proved to be critical in determining the ML model that provides the best fit, being important both the way of ordering the information provided to the algorithm and the choice of an appropriate encoding method for categorical variables. In this context, One-Hot encoding allowed, in general, better results to be obtained when compared to ordinal encoding.

Thus, through experimentation (both at laboratory and pilot plant scale) the feasibility of different SR-AOP treatments for the total or partial reduction of microbiological contamination, contaminants of emerging concern and even antibiotic resistance genes in wastewater (simulated or real) has been demonstrated. At the same time, the analysis of experimental results using ML techniques for the prediction of disinfection results has been successfully introduced, which opens the door to significant time and resources saving in the development phases of new treatments.

Keywords: Wastewater treatment; Advanced oxidation processes (AOP); Peroxymonosulfate; Pilot-scale evaluation; Machine Learning.

CAPÍTULO 1:

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

1.1.1. Crisis hídrica: situación y perspectivas

El crecimiento demográfico, el cambio en los patrones de consumo y el desarrollo económico, han hecho que el uso de agua se haya multiplicado por seis en los últimos 100 años. Las estimaciones realizadas prevén que este aumento continúe a un ritmo constante, de forma que para 2050 el consumo de agua habrá aumentado hasta un 30% respecto al nivel actual (Burek *et al.*, 2016).

A esta realidad se suma el aumento de los fenómenos climáticos extremos relacionados con el agua, como son las sequías y las inundaciones. Todo esto hace que alrededor de 4.000 millones de personas vivan en condiciones de escasez de agua durante al menos 1 mes al año (Mekonnen y Hoekstra, 2016). La Organización de las Naciones Unidas (ONU) estima que, en la actualidad, son 31 los países que sufren estrés hídrico moderado, y otros 22 sufren un estrés hídrico superior al 70%, considerado en este punto estrés hídrico extremo (WWAP, 2018). Sin embargo, los estudios predicen que la situación no hará más que empeorar, ya que se espera que la escasez de agua siga aumentando en el futuro de forma que en 2050 más del 52% de la población mundial vivirá en regiones bajo estrés hídrico (WWAP, 2020).

Un tercer problema que se suma al desequilibrio existente entre la demanda y la disponibilidad de recursos es la disminución de la calidad de las reservas de agua disponibles. El vertido incontrolado de aguas residuales sin un correcto tratamiento previo, entre otros factores, ha derivado en la contaminación de las masas de agua en todo el mundo. Si bien es cierto que en los países con mayores ingresos se tratan cerca del 70% de las aguas residuales urbanas generadas, este valor desciende a menos de un 30% en los países de ingresos medios-bajos. De hecho, se estima que más de 80% de las aguas residuales son vertidas al medio sin tratar (WWAP, 2021).

Estos números contrastan con el creciente interés que está despertando el agua residual como recurso. Y es que, aunque hasta ahora era vista por la mayoría como una molestia o una carga, el agua residual es una fuente potencial y sostenible de agua, energía, nutrientes, materia orgánica y otros subproductos útiles (Guerra-Rodríguez *et al.*, 2020).

1.1.2. Reutilización del agua residual regenerada

Mediante una mejora de los tratamientos de aguas residuales, se puede conseguir una mayor reutilización del agua, así como la recuperación de subproductos y/o energía. De esta forma, el uso de agua tratada puede ser una herramienta clave que ayude a contrarrestar la escasez fruto del aumento continuado de la demanda, apoyando al mismo tiempo el avance de una economía verde (Guerra-Rodríguez *et al.*, 2020).

Las aguas residuales regeneradas son consideradas un recurso hídrico no convencional, y pueden ser definidas como aguas residuales tratadas que son sometidas a un tratamiento adicional o complementario con el objetivo de aumentar o adecuar su calidad a los fines de reutilización contemplados.

Las aguas residuales regeneradas pueden ser destinadas a fines industriales, urbanos, medioambientales o recreativos (Lyu *et al.*, 2016; Maryam y Büyükgüngör, 2019; Salgot y Folch, 2018). Sin embargo, una de las aplicaciones más interesantes para el agua regenerada es el regadío de terrenos destinados a la agricultura, ya que esta actividad consume actualmente el 72% de toda el agua dulce extraída (FAO, 2021).

El alto contenido en nutrientes de las aguas residuales urbanas tratadas hace que esta sea una alternativa atractiva para el riego en regiones en las que los recursos convencionales son escasos (Woltersdorf *et al.*, 2016). No obstante, debe recalcar la necesidad de un tratamiento previo que asegure una calidad del agua suficiente, ya que los contaminantes orgánicos o microbiológicos no eliminados podrían acumularse en el sustrato y ser absorbidos por los alimentos cultivados, pudiendo llegar a afectar negativamente la salud de los consumidores de alimentos y los trabajadores expuestos (Delli Compagni *et al.*, 2020).

A pesar de que esta es una de las aplicaciones más llamativas, no es posible ignorar que el uso del agua regenerada en un punto lo más cercano posible a la planta de tratamiento es una opción más económica. Existen, por tanto, otras opciones que contemplan el uso del agua tratada en entornos urbanos o con fines medioambientales.

Una de estas alternativas es la reutilización potable directa; es decir, para el consumo humano. El avance de las tecnologías para la regeneración de las aguas residuales hace que aumente el interés en esta solución, aunque la reutilización del agua regenerada como agua de consumo exige procesos sumamente meticulosos de control de calidad para eliminar todo riesgo para la salud pública y cumplir con estrictos criterios de calidad del agua. Esta idea

sigue siendo inaceptable para la mayoría de las personas, fenómeno conocido como el “factor asco” (Ricart y Rico, 2019). De todas formas, a pesar del rechazo inicial que genera en la sociedad esta iniciativa, ya hay países como Namibia o Singapur que permiten el uso de agua regenerada para consumo humano (Lefebvre, 2018; Woltersdorf *et al.*, 2016).

Más común es la reutilización como agua no potable. En este caso, debe distinguirse entre reutilización indirecta y directa, denominadas también reutilización no planificada o planificada respectivamente (US EPA, 2022). La reutilización indirecta se define como el vertido de los efluentes tratados a los cursos de agua para su uso después de pasar por el dominio público hidráulico. Por otra parte, la reutilización directa de las aguas residuales tratadas es aquella en la que el segundo uso se produce al finalizar la regeneración, sin que el agua se incorpore al dominio público hidráulico entre ambos. Como puede suponerse, los criterios de calidad que debe cumplir el agua regenerada para su uso como agua no potable son mucho menos estrictos, lo que ha propiciado la popularidad de esta forma de reutilización. Aun así, es recomendable adoptar medidas de control para minimizar los riesgos de contacto directo con aguas recuperadas y la contaminación cruzada.

Los fines a los que se puede destinar el agua regenerada en entornos urbanos son muy diversos. Entre ellos se encuentran el riego de parques, campos de deportes, campos de golf y jardines, su uso en actividades comerciales como el lavado de vehículos, lavaderos y lavado de ventanas, y los usos decorativos en fuentes, piscinas reflectoras y cascadas.

La reutilización indirecta permite el uso de las aguas residuales tratadas con fines ambientales. Las actividades más importantes realizadas en este contexto son la recarga de aguas subterráneas, la restauración de los caudales de los ríos, el aumento de los recursos hídricos en lagos y lagunas, y la restauración de humedales. Al hacer esto, los procesos naturales (como la filtración, adsorción o exposición a rayos UV) continúan limpiando el agua, que posteriormente será captada de nuevo (US EPA, 2017).

Hasta ahora, la regeneración de agua residual ha sido una prioridad exclusivamente para países con un alto estrés hídrico. En este contexto, durante el año 2018, China y México fueron los países que más agua residual reutilizaron con casi $15 \text{ hm}^3 \cdot \text{día}^{-1}$; sin embargo, en ambos casos esta reutilización se produce sin tratamientos adicionales (Guerra-Rodríguez *et al.*, 2020). Teniendo esto en cuenta, el primer país en reutilización de agua regenerada son los Estados Unidos de América, con casi $8 \text{ hm}^3 \cdot \text{día}^{-1}$. Este ranking cambia si se tiene en

cuenta el volumen per cápita o el porcentaje de reutilización (respecto a la extracción de recursos hídricos) en lugar del volumen absoluto. Siguiendo este criterio, países como Qatar, Kuwait e Israel serían los primeros a nivel mundial en reutilización, siendo Kuwait el país con una mayor ratio de reutilización de agua (35,2% del agua captada del medio) (Jiménez y Asano, 2008). Esto evidencia la implicación de los países de zonas áridas en la reutilización de las aguas residuales, debido al estrés hídrico al que están sometidos durante gran parte del año.

1.1.3. Situación en España

Un estudio realizado en 2008 situaba a España entre los 10 países del mundo que más cantidad de agua reutilizan (Jodar-Abellan *et al.*, 2019). Si bien, este dato es antiguo y no se dispone de referencias más recientes debido a la dificultad para recoger información fiable de un gran número de países, el dato sirve para ilustrar la voluntad existente en nuestro país por tomar acciones frente a la escasez de agua.

La posibilidad de reutilizar grandes volúmenes de agua se ha conseguido gracias a la alta capacidad de depuración de que se dispone, que era de $8.130 \text{ hm}^3 \cdot \text{año}^{-1}$ en 2017 (AEAS, 2017). Sin embargo, según datos extraídos de Instituto Nacional de Estadística (INE) el volumen total de agua residual tratada en España en el año 2018 fue de algo menos de $5.000 \text{ hm}^3 \cdot \text{año}^{-1}$ ($13.684.487 \text{ m}^3 \cdot \text{día}^{-1}$) (INE, 2020). Esto supone que, en promedio, las instalaciones están funcionando a algo menos de 2/3 de su capacidad.

Como cabe esperar, el volumen de agua tratada varía considerablemente entre los diferentes territorios en que se divide el país, siendo aquellas comunidades con una mayor población las que más agua trataron en el año 2018, tal y como se muestra en la Figura 1-1. De esta forma, en Andalucía se trataron una media de 2 millones de $\text{m}^3 \cdot \text{día}^{-1}$, mientras que en comunidades como la Comunidad Foral de Navarra o la Región de Murcia no se superaron los $300.000 \text{ m}^3 \cdot \text{día}^{-1}$.

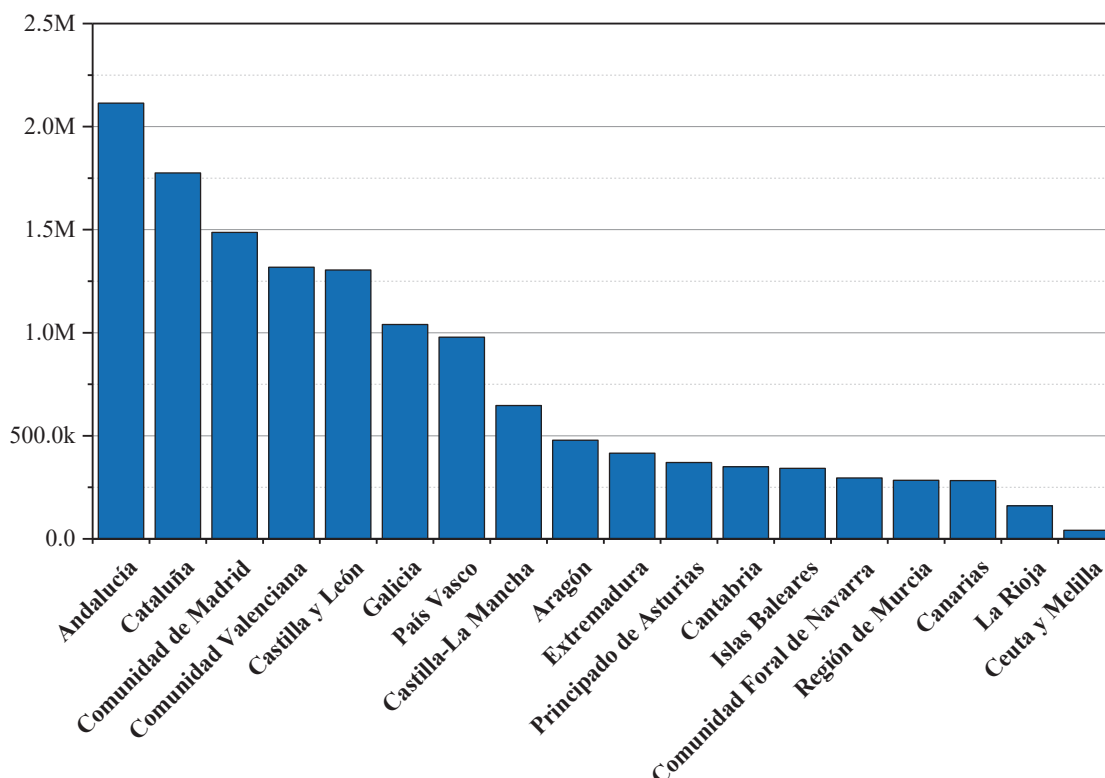


Figura 1-1. Volumen de agua residual tratada por CCAA ($\text{m}^3 \cdot \text{día}^{-1}$). Fuente: adaptado de INE (2020).

De forma paralela, el volumen de población se refleja también en el número de estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) disponibles, tal y como se observa en la Figura 1-2A. Por esta razón, el mayor número de EDAR se encuentra en Andalucía (384), Comunidad Valenciana (275), Castilla-La Mancha (255) y Cataluña (228), mientras que las ciudades autónomas de Ceuta y Melilla cuentan únicamente con una depuradora cada una. Sin embargo, a pesar de ser la tercera comunidad en volumen de población y de agua tratada, la Comunidad de Madrid se sitúa en el octavo puesto en número de EDAR, principalmente debido al mayor tamaño de sus instalaciones.

La gran mayoría de las EDAR españolas cuentan con un tratamiento secundario, situándose la media estatal en un 95,8%. Sin embargo, este porcentaje se reducen de forma drástica si se habla de tratamientos terciarios, imprescindibles para garantizar la calidad del efluente de cara a una posterior reutilización. De hecho, como se observa en la Figura 1-2B, menos del 50% de estaciones depuradoras españolas disponen de algún tipo de tratamiento de regeneración, si bien todas las comunidades cuentan con, al menos, una EDAR que cumple

estas condiciones. Destaca especialmente la situación de la Comunidad Foral de Navarra, en la que únicamente una de las casi 50 instalaciones que posee cuenta con este tratamiento.

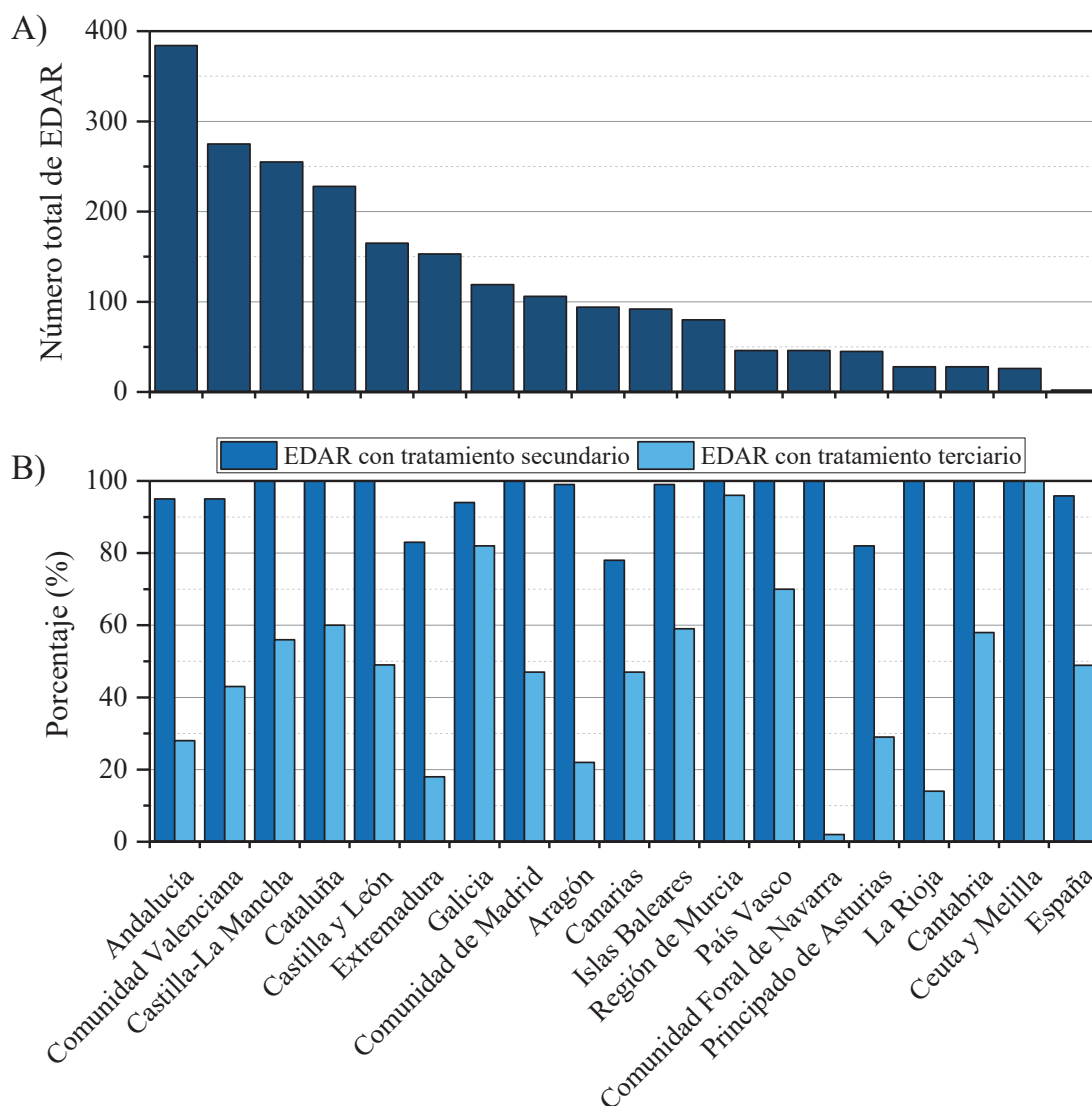


Figura 1-2. A) Número de EDAR en España por CCAA. B) Porcentaje de EDAR con tratamiento secundario y terciario por CCAA. Fuente: adaptado de INE (2020).

Más allá de analizar la capacidad de depuración, es necesario, a su vez, conocer el destino de las aguas una vez tratadas. En la Figura 1-3A se puede apreciar cómo, en el año 2018, solamente un 11,2% de las aguas tratadas fueron posteriormente reutilizadas. La mayoría de las aguas fueron vertidas al medio, siendo un 55,4% devueltas a un cauce fluvial y un 33,2% al mar. Finalmente, únicamente un 0,2% fue infiltrada en el terreno, siendo la Comunidad Valenciana el único territorio en el que se empleó esta técnica, destinando a ello un 1,8% del agua tratada.

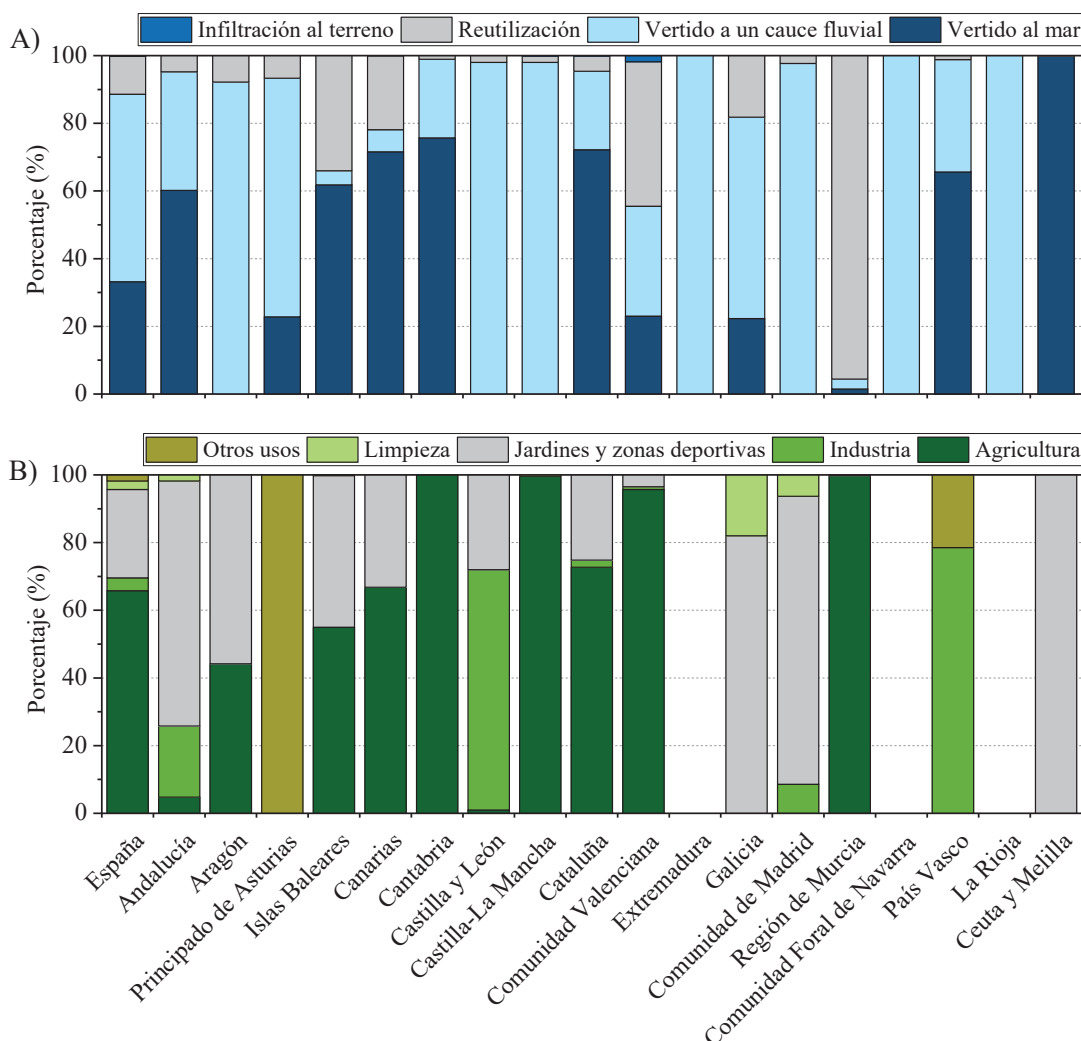


Figura 1-3. A) Destino de las aguas tratadas por CCAA. B) Usos de las aguas residuales reutilizadas por CCAA. Fuente: adaptado de INE (2020).

Como cabe esperar, el destino de las aguas residuales varía en función del territorio. En las comunidades de interior, como son Aragón (92%), Castilla y León (98%), Castilla-La Mancha (98%), La Rioja (100%), Comunidad de Madrid (97,7%), Extremadura (100%) y Comunidad Foral de Navarra (100%), la gran mayoría del agua regenerada fue vertida a cauces fluviales. Por el contrario, el mar es el destino más empleado en territorios en Comunidades como Cantabria (75,7%), Canarias (71,6%), Baleares (61,8%), Ceuta y Melilla (99%), Cataluña (72,2%), País Vasco (65,6%) y Andalucía (60,2%). Alejándose de esta tendencia, merece la pena destacar la gestión de las aguas residuales en la Región de Murcia, donde más del 95% del agua regenerada es reutilizada. Le sigue la Comunidad Valenciana, reutilizando un 42,7% de las aguas tratadas.

Como se ha comentado anteriormente, uno de los destinos principales del agua reutilizada es el riego de cultivos. Es por ello por lo que, de media, en España se destina a la agricultura aproximadamente el 65% del agua que se reutiliza (Figura 1-3B). El siguiente uso más extendido es el de mantenimiento de jardines y zonas deportivas (26,1%). Debido al importante estrés hídrico que sufre la zona, en la Región de Murcia prácticamente la totalidad de esta se destina al riego de cultivos (99,8%).

1.2. Marco legal

Como es natural, para garantizar la seguridad humana y la preservación del medio ambiente, la reutilización de aguas residuales debe estar sujeta a una regulación que determina la calidad que debe tener el agua regenerada en función de diferentes parámetros. Sin embargo, la legislación en relación con el tratamiento de aguas residuales, así como los requerimientos establecidos para sus diferentes usos posteriores, son muy diferentes de un país a otro. En la actualidad ya hay algunos países que permiten el uso de agua residual regenerada para el consumo humano, como es el caso de Singapur o Namibia. Aunque existen grandes diferencias entre ambos países en términos de legislación e infraestructuras, en ambos casos el agua es una prioridad a nivel nacional y los gobiernos de los dos países tienen estrategias sólidas para promover la reutilización del agua (Lefebvre, 2018; Woltersdorf *et al.*, 2016). Son muchos más los países que están fomentando la reutilización de agua regenerada para diversos fines, exceptuando el consumo humano. Este es el caso, por ejemplo, de México, China, Jordania, Australia, India y Sudáfrica. Casi todos ellos tienen una sólida legislación o guías que implementan límites y restricciones en su uso, según ciertos parámetros de calidad del agua (Guerra-Rodríguez *et al.*, 2020).

En la Unión Europea, la regeneración y reutilización de agua enfrenta varias barreras en algunos de los países miembros como, por ejemplo, la falta de un marco legislativo unificado y coherente. Hoy en día, algunos países europeos tienen lista la legislación que regula la regeneración y reutilización de aguas (p.ej. España, Portugal, Francia, etc.), mientras otros aún la están preparando o no tienen ninguna en absoluto. Esta es la razón por la que la Comisión está trabajando en una legislación común para todos los miembros en el marco del Plan de Economía Circular.

En 1991 se produjo un primer intento de la Unión Europea (llamada en ese momento Comisión Económica Europea) por unificar la legislación en el contexto del tratamiento de

las aguas residuales. La Directiva 91/271/CEE en relación al tratamiento de aguas residuales urbanas, posteriormente modificada por la Directiva 98/15/CE, exige la recogida y el tratamiento de las aguas residuales en los núcleos urbanos con más de 2.000 habitantes equivalentes, y un tratamiento más avanzado en las zonas sensibles en que se superen los 10.000 habitantes equivalentes, con el objetivo de proteger el medio ambiente de los efectos adversos de los vertidos de aguas residuales urbanas y de determinados sectores industriales. Además, establece directrices para el tratamiento y vertido de aguas residuales procedentes de determinados sectores industriales.

Posteriormente, en el año 2000 fue publicada la Directiva Marco de Agua (Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de octubre de 2000, por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas, 2000). Esta es una norma mucho más ambiciosa, que busca establecer un marco de actuación comunitario en el ámbito de la política de aguas. En ella no solo se contempla el tratamiento de aguas residuales, sino que entre sus objetivos se encuentran, entre otros, paliar los efectos de las sequías e inundaciones y garantizar el suministro suficiente de agua en buen estado.

Es este contexto, se aprobó, en 2006, la Directiva 2006/118/CE relativa a la protección de las aguas subterráneas contra la contaminación y el deterioro. En lo que respecta a las aguas residuales, esta directiva cobra relevancia principalmente a la hora de emplear agua regenerada para propósitos medioambientales, ya que deben respetarse en todo momento los parámetros que en ella se establecen.

Finalmente, se ha publicado el Reglamento (UE) 2020/741 relativo a los requisitos mínimos para la reutilización del agua, con el objetivo de fomentar la reutilización del agua en todos los estados miembros, siempre y cuando sea posible, proporcionando un marco legal a todos aquellos países que, hasta el momento, no han adoptado legislación nacional al respecto. Esta nueva normativa se encuentra en vigor desde junio 2020, pero será aplicable solamente a partir del 26 de junio de 2023. Esta legislación se sitúa en el contexto del Plan de Acción de Economía Circular adoptado en 2020.

A medida que las diferentes directivas europeas han entrado en vigor, estas han sido incorporadas a la legislación española. Así, mediante el Real Decreto-Ley 11/1995, de 28 de diciembre, por el que se establecen las normas aplicables al tratamiento de las aguas residuales urbanas, fue incorporada a la legislación de nuestro país la Directiva 91/271/CE.

Por su parte, la Directiva Marco del Agua fue traspuesta a la legislación española mediante el Real Decreto Legislativo 1/2001, por el que se aprobó el texto refundido de la ley de aguas. Además, España es uno de los pocos países europeos que cuentan con una legislación nacional respecto a la reutilización de aguas regeneradas. El Real Decreto 1620/2007 establece el régimen legal para la reutilización de agua regenerada en nuestro país, determinando los valores máximos admisibles para diferentes parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, que dependen del uso final del agua. Sin embargo, además de los criterios de calidad establecidos en este Real Decreto, existen otras normativas que se deben tener en cuenta, como es el caso de la Directiva 2006/118/CE, cuando el agua regenerada se utilice con fines medioambientales.

1.2.1. Aguas residuales y la Agenda de Desarrollo Sostenible

La Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible es un conjunto de objetivos adoptados por 193 estados miembros de la Asamblea General de las Naciones Unidas el 25 de septiembre de 2015. Con los objetivos principales de poner fin a la pobreza, proteger el medio ambiente y garantizar la prosperidad para todos, la agenda se compone de 17 Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), cada uno compuesto por una serie de metas específicas y medibles a alcanzar antes de 2030.

Aunque todos los objetivos se encuentran interrelacionados, es el ODS 6 (que lleva por título “Agua limpia y saneamiento”) el que se encuentra más estrechamente vinculado al trabajo desarrollado en esta Tesis Doctoral. El ODS 6 está subdividido, a su vez, en ocho metas que abarcan todas las áreas relacionadas con la gestión del agua:

- 6.1 Acceso al agua potable.
- 6.2 Accesos a servicios de saneamiento e higiene.
- 6.3 Calidad de agua. Contaminación y aguas residuales.
- 6.4 Uso eficiente de recursos hídricos.
- 6.5 Gestión integral de recursos hídricos.
- 6.6 Ecosistemas relacionados con agua.
- 6.A Creación de capacidades de gestión.
- 6.B Participación de las comunidades locales.

La meta 6.3 busca mejorar la calidad de las aguas siendo, por lo tanto, la más estrechamente vinculada a la gestión de aguas residuales (sobre todo desde el punto de vista de su vertido al medio). Sin embargo, la meta 6.4, que tiene por nombre “uso eficiente de recursos hídricos”, se verá también positivamente afectada por un aumento en la reutilización de aguas residuales, ya que esta práctica contribuye a reducir el estrés hídrico en las zonas que la llevan a cabo.

1.3. Tratamientos convencionales de aguas residuales

Tal y como se ha mencionado previamente, las aguas residuales procedentes de todos los núcleos de más de 2.000 habitantes equivalentes deben ser tratadas antes de ser devueltas al medio de acuerdo con lo establecido por la Directiva 91/271/CEE, con la finalidad de minimizar el impacto de los vertidos. Para ello, el agua es recogida por medio de sistemas colectores, que la conducen hasta las EDAR. Si bien son numerosos los diferentes tratamientos (físicos, químicos y biológicos) a los que puede someterse el agua residual durante su paso por una EDAR, existe una estructura común a todas ellas en la que los procesos pueden clasificarse en cuatro grandes grupos en función de la calidad del efluente obtenido tras el paso por ellos: pretratamiento, tratamiento primario, tratamiento secundario y, en las instalaciones más completas, tratamiento terciario. Los subproductos originados durante estos procesos son también tratados, para lo cual las EDAR suelen disponer de una línea de tratamiento de lodos.

Como se ha visto en la sección 1.1.3, más de la mitad de las EDAR españolas no cuentan con un tratamiento terciario, proporción que aumenta significativamente a nivel mundial. Por ello, en la Figura 1-4 se puede observar el esquema de la línea de tratamiento de agua en una EDAR convencional, que cuenta con pretratamiento, tratamiento primario y tratamiento secundario. El pretratamiento tiene por objetivo eliminar objetos y sustancias que puedan generar problemas durante el tratamiento posterior, y suele estar formado por un pozo de separación de sólidos gruesos (1), una etapa de desbaste y tamizado formada por rejillas a través de las que se hace pasar el agua (2) y un desarenador-desengrasador para eliminar tanto arenas y gravas de poco tamaño como grasas y materiales de densidad inferior a la del agua (3 y 4). En el tratamiento primario, situado a continuación, se persigue eliminar la mayor parte de los sólidos en suspensión y parte de la materia orgánica. Para conseguir esto el tratamiento más extendido es la decantación. Finalmente, el resto de los sólidos en

suspensión, los componentes biodegradables y, en algunos casos, los nutrientes, son eliminados mediante tratamientos químicos y/o biológicos en el tratamiento secundario. De acuerdo con la normativa vigente, esta etapa debe ser capaz de eliminar entre un 70% y un 90% de la DBO₅ y entre el 70% y 90% de los sólidos en suspensión, permitiéndose en el efluente una concentración máxima 35 mg·L⁻¹ en las EDAR de mayor tamaño (Directiva 91/271/CEE). Aunque es posible involucrar procesos químicos en esta etapa, por lo general es un tratamiento biológico el responsable de degradar la materia orgánica. Concretamente, es el tratamiento con lodos activos el más extendido, por lo que la etapa suele estar compuesta por una cámara de aireación (6) y un decantador secundario (7).

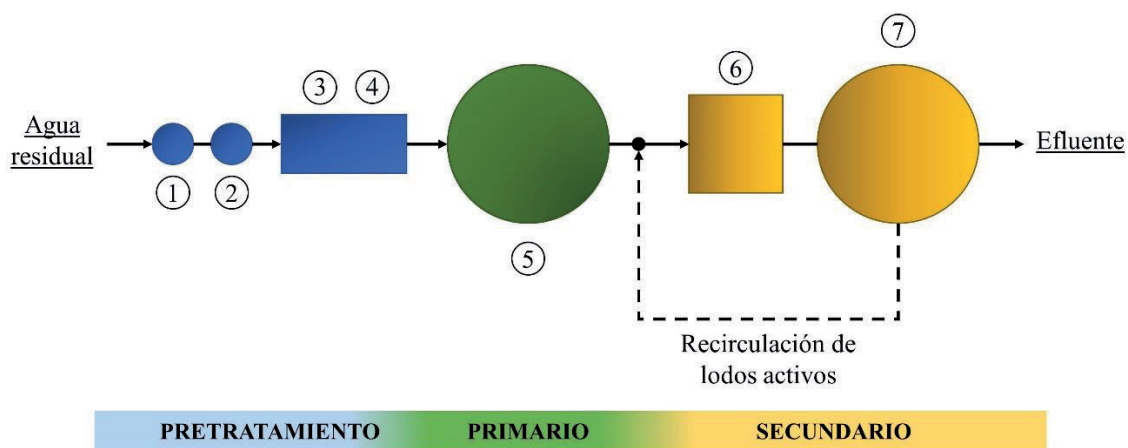


Figura 1-4. Esquema típico de la línea de agua en una EDAR convencional.

1.4. Contaminantes en el agua residual tratada

En el Real Decreto 509/1996, por el que se desarrolla el Real Decreto-Ley 11/1995, se establece los requisitos de calidad mínimos del agua residual tratada para poder ser vertida al medio. Los únicos parámetros que deben ser tenidos en cuenta en estas circunstancias son la concentración de materia orgánica, definida mediante la DQO, y la cantidad total de sólidos en suspensión. Solamente en aquellos casos en los que exista riesgo de eutrofización debe tenerse en cuenta también la concentración de fósforo y nitrógeno total en el agua, al ser nutrientes que pueden promover el crecimiento excesivo de algas u otros organismos.

Los requisitos que debe cumplir el agua residual tratada para poder ser reutilizada son más estrictos, y contempla otros parámetros que, hasta el momento de la publicación del Real Decreto 1620/2007 por el que se establece el régimen legal para la reutilización de agua

regenerada en España, habían pasado desapercibidos. En esta normativa se identifican cinco fines a los que puede destinarse el agua regenerada: usos urbanos, agrícolas, industriales, recreativos y ambientales. A su vez, estas categorías se encuentran subdivididas en función del uso concreto y, para cada una de estas categorías, se establecen unos valores máximos admisibles para los distintos parámetros a controlar, siendo los usos urbanos los más estrictos y, los ambientales, los que menos.

En relación con los parámetros microbiológicos, para todos los usos definidos se deben controlar la *Escherichia coli* y los nematodos intestinales (géneros *Ancylostoma*, *Trichuris* y *Ascaris*). También es obligatorio el análisis de *Legionella spp.* para todos los usos excepto para el ambiental. Otros parámetros microbiológicos que deben ser controlados son la presencia de *Salmonella spp.* cuando los usos son agrícolas e industriales y, por último, se realizará un control de la *Taenia saginata* y *Taenia solium*, si el agua pretende utilizarse para regar pastos que posteriormente sirvan como alimento de animales productores de carne.

A pesar de unas normas de calidad más estrictas para la reutilización del agua regenerada, son muchos otros los contaminantes detectados en el agua de salida de las depuradoras que pueden entrañar un riesgo medioambiental y para la salud humana que, por ahora, no se encuentran regulados. En este sentido, varios estudios han registrado un contenido considerable de gérmenes patógenos y contaminantes de preocupación emergente (CPE) a la salida de las depuradoras (Behera *et al.*, 2011; Caicedo *et al.*, 2019; Kosma *et al.*, 2014; Y. Luo *et al.*, 2014) por lo que estos contaminantes, que hasta ahora pasaban desapercibidos, cada vez se analizan más (Guerra-Rodríguez *et al.*, 2020). De hecho, si bien no se establecen unos valores límites de concentración, el Reglamento (UE) 2020/741 del Parlamento Europeo y del Consejo relativo a los requisitos mínimos para la reutilización del agua alude, por primera vez, al potencial riesgo asociado a la presencia de CPE, microplásticos y plaguicidas, entre otros.

A la hora de reutilizar las aguas residuales, la presencia de gérmenes patógenos como bacterias, virus o protozoos, representa la amenaza más directa para la salud humana (Jasim *et al.*, 2016). Estos microorganismos son los responsables de las enfermedades hídricas transmitidas por el agua y, por ello, son un riesgo potencial de la reutilización de las aguas residuales. Por otra parte, los CPE también suponen un riesgo para la salud humana si están presentes en las aguas residuales regeneradas, ya que la población podría estar expuesta a estos contaminantes directamente por el consumo de agua contaminada, por inhalación o por

contacto con la piel, o indirectamente por el consumo de alimentos cultivados haciendo uso de efluentes contaminados (Guerra-Rodríguez *et al.*, 2020).

1.4.1. Microorganismos patógenos y genes de resistencia a antibióticos

Se define como microorganismo patógeno cualquier microorganismo capaz de causar una enfermedad. A lo largo de la historia, son muchos los brotes de enfermedades asociados a la presencia de patógenos en las fuentes de agua, siendo uno de los episodios más conocidos la epidemia de cólera que se vivió en Londres a mediados del siglo XIX. Sin embargo, la bacteria *Vibrio cholerae* (patógeno que provoca el cólera) no es la única que puede transmitirse por este mismo medio. La Tabla 1-1 recoge los principales patógenos transmitidos por el agua, entre los que se incluyen diferentes especies de bacterias, virus y parásitos.

Tabla 1-1. Principales patógenos transmitidos por el agua (adaptado de Madigan *et al.*, 2019).

Patógeno	Enfermedad
Bacterias	
<i>Vibrio cholerae</i>	Cólera
<i>Legionella pneumophila</i>	Legionelosis
<i>Salmonella enterica</i>	Fiebre tifoidea
<i>Escherichia coli</i>	Enfermedades gastrointestinales
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Neumonía
<i>Campylobacter jejuni</i>	Enfermedades gastrointestinales
Virus	
Norovirus	Enfermedades gastrointestinales
Hepatitis A Virus	Hepatitis viral
Parásitos	
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Criptosporidiosis
<i>Giardia intestinalis</i>	Giardiasis
<i>Schistosoma</i>	Esquistosomiasis

Existen numerosos estudios que informan de la presencia de diferentes microorganismos patógenos en el vertido de efluentes tratados en una EDAR. Tanto Mosteo *et al.* (2013) como López *et al.* (2019) reportaron el vertido de diferentes bacterias patógenas, como *E. coli*, *Enterococcus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Clostridium perfringens* o *Staphylococcus aureus* en diferentes EDAR ubicadas en España. En la investigación de Mosteo *et al.* (2013) no se detectaron parásitos patógenos como *Giardia* y *Cryptosporidium*, pero sí amebas de vida libre potencialmente patógenas. Sin embargo, otros autores como Ajonina *et al.* (2012) sí han informado de la presencia de *Cryptosporidium parvum* en el efluente de las EDAR. Como la presencia de cualquiera de estos patógenos sería responsable de posibles enfermedades transmitidas por el agua, la desinfección total o parcial de las aguas residuales es obligatoria para poder ser reutilizadas.

Microorganismos indicadores

El análisis y cuantificación de todas las especies de microorganismos potencialmente presentes en una muestra de agua residual regenerada sería una tarea tediosa y difícil. Por una parte, debido al gran número de especies a analizar y, por otra, por la baja concentración en que se encuentran algunos de los patógenos. Por ello, es común emplear microorganismos indicadores.

El concepto de indicador se basa en el hecho de que ciertas especies no patógenas (o cuya manipulación entraña un riesgo menor) están presentes en el agua siempre que lo están los patógenos a determinar. Además, un indicador debe ser más resistente que los microorganismos patógenos, de forma que su ausencia en el agua es una indicación de que el agua es segura para el consumo humano. Por el contrario, la presencia del indicador indica que también pueden estar presentes otros tipos de microorganismos capaces de causar enfermedades.

Un microorganismo indicador ideal debe cumplir una serie de criterios (Gerba, 2015; X. Wen *et al.*, 2020):

- El organismo debe ser útil en todos los tipos de agua.
- El organismo debe estar presente siempre que haya patógenos entéricos y el grado de eliminación por los tratamientos del agua debe ser comparable al de otros patógenos de interés.

- El organismo debería tener un tiempo de supervivencia razonablemente mayor que el patógeno entérico más resistente.
- El organismo no debe reproducirse en el agua.
- El método de análisis debe ser sencillo.
- La densidad del organismo indicador debe tener alguna relación directa con el grado de contaminación fecal.
- El organismo debe ser un miembro de la microflora intestinal de los animales de sangre caliente.

Aunque no hay ningún indicador que cumpla con todos y cada uno de estos criterios, el uso de *Escherichia coli* como microorganismo indicador de contaminación fecal se encuentra muy extendido debido a su detección sencilla y rentable en comparación con otros patógenos. Aun así, existen otras especies empleadas como indicador, como es el caso de los enterococos. Sin embargo, se considera que los enterococos tienen ciertas ventajas sobre las bacterias coliformes y coliformes fecales como indicadores (Devane *et al.*, 2020):

- Raramente crecen en el agua.
- Son más resistentes al estrés ambiental y a la cloración que los coliformes.
- Generalmente persisten más tiempo en el medio ambiente

Debido a esta mayor resistencia, en este trabajo se ha empleado *Enterococcus sp.* como microorganismo indicador principal, a pesar de ser la *E. coli* la única especie recogida en la normativa como indicador fecal en el análisis de aguas regenerada para su reutilización.

Bacterias resistentes y genes de resistencia a antibióticos

Los antibióticos, sus metabolitos y productos de transformación forman parte de las aguas residuales hospitalarias y municipales, incorporándose a las mismas como consecuencia de los métodos incorrectos de eliminación de medicamentos y de la excreción por parte de los seres humanos y los animales. Algunos autores consideran que la presencia de antibióticos en las EDAR contribuye al desarrollo de la resistencia antimicrobiana. El proceso de tratamiento biológico en estas instalaciones crea un entorno potencialmente favorable para el desarrollo y la propagación de genes de resistencia, ya que las bacterias están constantemente expuestas a los antibióticos en concentraciones subinhibitorias, lo que

favorece la proliferación de los genes de resistencia a antibióticos (ARG: *Antibiotic Resistant Genes*) y da lugar a más y nuevas bacterias resistentes (Y. X. Gao *et al.*, 2022; Pazda *et al.*, 2019; J. Wang *et al.*, 2020).

Además, al verter las aguas residuales en el medio ambiente, los antibióticos no actúan solamente como contaminantes químicos que pueden ejercer efectos tóxicos, sino que, sobre todo son capaces de provocar una presión de selección. Este fenómeno consiste en la eliminación de microorganismos sensibles a los antibióticos y la supervivencia de células resistentes, cuyas características les permiten superar sus efectos adversos.

Todo esto hace que el número de bacterias resistentes a antibióticos (ARB: *Antibiotic Resistant Bacteria*) detectadas aumente constantemente. Solo en la Unión Europea, las ARB causaron 671.689 infecciones en 2015 y contribuyen a 33.000 muertes cada año (Cassini *et al.*, 2019). Se han aislado, tanto en el afluente como en el efluente de diferentes EDAR, especies bacterianas, como *E. coli* o *Enterococcus sp.*, que han mostrado resistencia a una amplia gama de antibióticos entre los que incluyen ampicilina, tetraciclina, trimetoprima/sulfametoxazol, cefotaxima, nitrofurantoína, eritromicina y vancomicina, etc. Además, muchas de las colonias aisladas presentan resistencia a más de dos tipos de antibióticos, lo que las convierte en bacterias multirresistentes, aumentando el riesgo que suponen para la salud humana, ya que es más difícil encontrar un medicamento con el que combatir una potencial infección (Pazda *et al.*, 2019).

Las bacterias pueden adquirir los ARG de varias maneras. Entre ellas se encuentra la transferencia vertical de genes, es decir, la transmisión de información genética modificada localizada en el cromosoma bacteriano a las siguientes generaciones de células hijas, y la transferencia horizontal de genes, que está mediada por los elementos genéticos móviles. Sin embargo, también es posible la captación de ADN libre extracelular, por lo que la inactivación de las bacterias resistentes durante los tratamientos de desinfección no es suficiente, sino que es necesaria la destrucción de las cadenas de ADN para evitar que sean captadas por otro organismos (Pazda *et al.*, 2019).

Los ARG comúnmente detectados en las EDARs incluyen los genes resistentes a β -lactamasas (blaCTXM, blaTEM, blaOXA-A, blaSHV, mecA), quinolonas (qnrS, qnrC, qnrD) sulfonamida (sul1, sul2, dhfr1), tetraciclina (tetA, tetB, tetE, tetG, tetH, tetS, tetT, tetX), macrólido (ereA, ermB, ermC, erm43) e integrón de clase 1 (int1). Entre ellos,

blaCTXM, blaTEM, sul1, sul2, tetO, tetQ, tetW y ermB son los ARG contaminantes encontrados con mayor frecuencia (J. Wang *et al.*, 2020).

Por lo general, se ha observado que la abundancia de genes de resistencia en el efluente de las EDAR es menor que en la entrada. Sin embargo, los tratamientos convencionales no son capaces de eliminarlos por completo, siendo su concentración aun relevante a la salida. Además, aunque los ARG tienen una proporción muy pequeña en el total de ARNr 16S (gen del ARN ribosomal 16S), con una abundancia relativa de alrededor del 0,16% a la entrada de las EDAR, se ha detectado un aumento de la abundancia relativa hasta alcanzar, aproximadamente, un 0,32% en el efluente. Esto parece indicar que la tasa de reducción del ARNr 16S es mayor que la de los ARG durante el proceso de tratamiento de aguas residuales (J. Wang *et al.*, 2020).

1.4.2. Contaminantes de preocupación emergente

El aumento de las actividades humanas en todos los sectores ha acarreado, también, la aparición y el consumo de nuevas sustancias químicas. Estas sustancias pueden ser liberadas en el sistema de alcantarillado municipal a través de la excreción humana y la eliminación directa/indirecta de medicamentos y productos químicos, que sin un tratamiento adecuado se distribuyen en las masas de agua a nivel de trazas (ppb o ppt). La falta de regulaciones y metodologías específicas para detectarlos en concentraciones tan bajas, junto con el desconocimiento de los efectos a largo plazo en los ecosistemas acuáticos y en la salud humana, los convierten en CPE (Guerra-Rodríguez *et al.*, 2020).

Como ya se ha mencionado, los CPE pueden tener procedencias muy variadas. En su mayoría provienen de actividades hospitalarias, veterinarias, industriales y domésticas, pudiendo clasificarlos en diferentes grupos (Virikutyte *et al.*, 2010): retardantes de llama bromados, parafinas cloradas, pesticidas, compuestos organofluorados, productos de higiene personal, productos farmacéuticos, antibióticos y otros medicamentos. Estas sustancias se caracterizan por su alta estabilidad química y su baja biodegradabilidad, motivo por el cual no son correctamente degradadas durante el tratamiento secundario en las EDAR convencionales. Esto hace que sea habitual la aparición de estas sustancias en los efluentes tratados, siendo muchos los autores que han informado de la presencia de medicamentos/antibióticos y otros microcontaminantes en efluentes de EDAR en países de

todo el mundo (Barbosa *et al.*, 2016; Gros *et al.*, 2017; J. C. G. Sousa *et al.*, 2018; J. Wang *et al.*, 2020).

Los efectos de algunos CPE en los ecosistemas acuáticos han sido analizados en diferentes investigaciones (Backhaus y Karlsson, 2014; Esplugas *et al.*, 2007). Por ejemplo, un experimento desarrollado a lo largo de 7 años y que estudiaba el efecto del estrógeno EE2 sobre los ecosistemas acuáticos llegó a la conclusión de que la exposición crónica de peces de cabeza plana a 5-6 ng·L⁻¹ de EE2 provocaba la feminización de los peces macho y alteraba la oogénesis en las hembras (Kidd *et al.*, 2007). Por otra parte, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha informado acerca de los posibles impactos sobre la salud humana del consumo de bajas concentraciones de productos farmacéuticos presentes en el agua potable (WHO, 2012, 2017), conclusiones que han sido corroboradas por otros autores en investigaciones posteriores (Gaffney *et al.*, 2015).

En lo que respecta a las aguas residuales regeneradas, uno de los principales riesgos asociados a la reutilización de agua que contenga pequeñas dosis de CPE es la posibilidad de que estas sustancias sean absorbidas por las plantas en el caso de emplearse para el riego de cultivos. La incorporación de determinados contaminantes orgánicos al sustrato puede conllevar su presencia en los alimentos cultivados, lo cual supone un riesgo para la salud de los consumidores. En un estudio en que se analizaba el peligro asociado a la presencia de 13 contaminantes en el agua de regadío, se llegó a la conclusión de que existía un riesgo potencial para la salud derivado del consumo de arroz, debido a la presencia de sulfametoxazol y EE2 (Delli Compagni *et al.*, 2020), ambos compuestos incluidos en las listas de observación de la Unión Europea (Decisión de Ejecución (UE) 2015/495; Decisión de Ejecución (UE) 2018/840; Decisión de Ejecución (UE) 2020/1161).

En la Directiva 2000/60/CE se definen las sustancias prioritarias como aquellas que presentan un riesgo significativo para el medio acuático comunitario, o a través de él, incluidos los riesgos de esta índole para las aguas utilizadas para la captación de agua potable. La Directiva 2013/39/UE del Parlamento Europeo y del Consejo identifica 45 sustancias prioritarias en el ámbito de política de aguas. Sin embargo, en esta directiva se recoge la concentración máxima admisible en masas de agua, pero no se establece un valor máximo en el agua tratada, ni para reutilización ni para vertido.

Por otra parte, en 2015 se publicó en la Decisión de Ejecución (UE) 2015/495, la primera lista de vigilancia europea en la que se recogen grupos de sustancias de los que no se disponía de suficiente información, con el objetivo de realizar un seguimiento que permitiera determinar si debían ser incluidos como sustancias prioritarias. Dicha lista contenía 10 grupos de sustancias, y fue modificada en 2018 mediante Decisión de Ejecución 2018/840, suprimiendo cinco sustancias y añadiendo otras tres. La última modificación se realizó mediante la Decisión de Ejecución 2020/1161, que se encuentra en vigor. En la Tabla 1-2 se recogen los cambios que ha sufrido la lista a través de las diferentes directivas. Como se puede ver, en total han estado incluidas 36 sustancias diferentes, entre las que pueden encontrarse antibióticos, hormonas, pesticidas y productos de cuidado personal (filtros UV), entre otros.

Aunque la Directiva 2013/39/UE y la Decisión 2015/495/UE han permitido atraer la atención para prevenir los efectos adversos de compuestos específicos, se han encontrado con frecuencia en masas de agua muchos otros compuestos orgánicos emergentes que no están recogidos como sustancias prioritarias pero cuya presencia puede entrañar riesgos, como pueden ser la cafeína, el paracetamol o el ibuprofeno, entre muchos otros (J. C. G. Sousa *et al.*, 2018). Es por ello que, aunque la concentración de CPE en las aguas regeneradas no se encuentra regulada de forma explícita, el Reglamento (UE) 2020/741 reconoce el riesgo potencial que supone su presencia, dejando la puerta abierta su regularización en caso de que haya pruebas científicas lo avalen.

Tabla 1-2. Sustancias incluidas en las listas de observación a efectos de seguimiento, a nivel de la Unión Europea.

Sustancia	Clase	Decisión de Ejecución (UE)		
		2015/495	2018/840	2020/1161
17-alfa-Etinilestradiol (EE2)	Hormona	X	X	
17-beta-Estradiol (E2)	Hormona	X	X	
2,6-di-terc-Butil-4-metilfenol	Antioxidante	X		
4-Metoxicinamato de 2-Etilhexilo	Filtro UV	X		
Acetamiprid	Neonicotinoide	X	X	
Amoxicilina	Antibiótico		X	X
Azitromicina	Antibiótico	X	X	
Ciprofloxacina	Antibiótico		X	X
Claritromicina	Antibiótico	X	X	
Clotianidina	Neonicotinoide	X	X	
Clotrimazol	Antibiótico			X
Diclofenaco	Antiinflamatorio	X		
Dimoxistrobina	Fungicida			X
Eritromicina	Antibiótico	X	X	
Estrona (E1)	Hormona	X	X	
Famoxadona	Fungicida			X
Fluconazol	Antibiótico			X
Imazalil	Pesticida			X
Imidacloprid	Neonicotinoide	X	X	
Ipconazol	Pesticida			X
Metaflumizona	Insecticida		X	X
Metconazol	Pesticida			X
Metiocarb	Pesticida	X	X	
Miconazol	Antibiótico			X
O-desmetilvenlafaxina	Antidepresivo			X
Oxadiazón	Herbicida	X		
Penconazol	Pesticida			X
Procloraz	Pesticida			X
Sulfametoxazol	Antibiótico			X
Tebuconazol	Pesticida			X
Tetraconazol	Pesticida			X
Tiacloprid	Neonicotinoide	X	X	
Tiametoxam	Neonicotinoide	X	X	
Trialato	Herbicida	X		
Trimetoprim	Antibiótico			X
Venlafaxina	Antidepresivo			X

1.5. Tratamientos de regeneración de aguas residuales

Teniendo en cuenta que el efluente de los tratamientos secundarios convencionales puede contener contaminantes emergentes y microorganismos patógenos, entre otros contaminantes, que podrían hacer que su reutilización no fuera segura, es necesario someter al efluente secundario a tratamientos terciarios o de purificación que permitan obtener agua regenerada de la mejor calidad posible cumpliendo, al mismo tiempo, con los requisitos normativos en vigor.

Los tratamientos de regeneración más comúnmente empleados pueden ser biológicos (biorreactores de membrana), de desinfección (p.ej. cloración), filtración y desalación (en caso de aguas con un alto contenido en sales), entre otros. Por tanto, no existe una única tecnología para regenerar las aguas residuales, sino diferentes configuraciones posibles en función de la calidad final requerida. En la Guía para la Aplicación del RD 1620/2007 elaborada por el Ministerio de Medio Ambiente y del Medio Rural y Marino, se propone una clasificación de los tratamientos de regeneración en cuatro categorías con diferente eficiencia de eliminación de contaminantes, principalmente microbiológicos (MITECO, 2010). La Figura 1-5 muestra las diferentes etapas que constituyen un tratamiento tipo de cada una de estas categorías. El tratamiento más exigente (tratamiento 1), puede estar compuesto por un tratamiento de coagulación-floculación seguido de una filtración o decantación, diseñados con el objetivo eliminar el material coloidal, y con ello, reducir la concentración de materia orgánica y la turbidez. A continuación, se puede incorporar un proceso de separación basado en el uso de membranas (ultrafiltración (UF) u ósmosis inversa (OI)). Es importante señalar que la ósmosis inversa es capaz de separar los sólidos disueltos. De este modo, este tratamiento permite obtener un agua casi ultrapura, libre tanto de sustancias orgánicas/inorgánicas como biológicas. Por último, aunque la ósmosis inversa puede eliminar la contaminación biológica, es necesaria una etapa de desinfección para introducir una cantidad residual de desinfectante que garantice la calidad del agua hasta el punto de uso. Lógicamente, la aplicación de este tratamiento tendrá un mayor coste de inversión, mantenimiento y explotación. Cuando no se requiera agua con calidad ultrapura, se puede modificar ligeramente la configuración de la línea, sustituyendo, en este caso, la etapa de UF/OI por una simple predesinfección basada en la radiación ultravioleta C (UV-C, tratamiento 2). Este tratamiento permite obtener un efluente de alta calidad, con muy bajo contenido en materia orgánica, sólidos en suspensión y turbidez gracias a la etapa de

coagulación-floculación; y con una calidad muy alta en términos de contaminación biológica. Por último, cuando la calidad requerida para la reutilización no es alta, el tratamiento puede simplificarse hasta llegar a una simple filtración y desinfección (tratamiento 3) o incluso sólo una filtración (tratamiento 4).

Estos tratamientos solo son necesarios si la calidad del efluente secundario no es suficiente para el fin para el que se quiere destinar el agua regenerada. En caso de que sí se cumplieran los estándares físico-químicos y biológicos requeridos, es posible reutilizar el efluente secundario sin ningún tratamiento adicional.

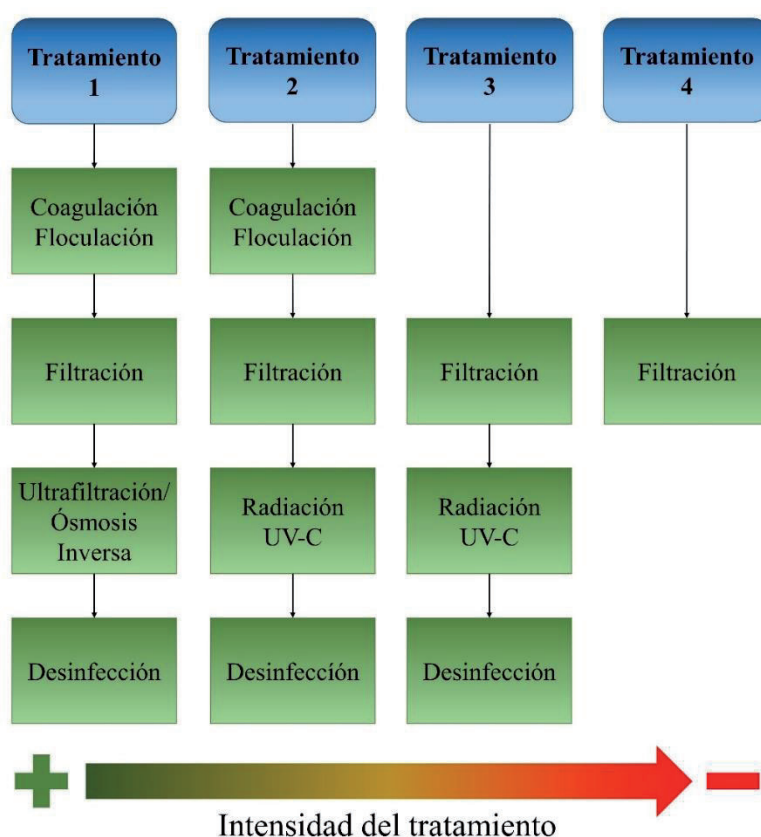


Figura 1-5. Tratamientos de regeneración propuestos por MITECO (2010).

Si bien la coagulación-floculación y la filtración son las tecnologías más extendidas para la separación de sólidos y contaminantes orgánicos del agua residual, existen otras alternativas emergentes que también están demostrando ser efectivas. Este es el caso de los procesos de adsorción, que han demostrado ser capaces de eliminar metales pesados y contaminantes orgánicos en agua residual (Aryee *et al.*, 2021; Kegl *et al.*, 2020).

En lo que respecta a la eliminación de contaminación microbiológica, la cloración es la técnica de desinfección más extendida mundialmente. Sin embargo, no es la única tecnología

disponible, y son cada vez más las instalaciones que optan por emplear técnicas de desinfección alternativas.

1.5.1. Desinfectantes convencionales

La desinfección es el tratamiento que busca únicamente la inactivación de los microorganismos patógenos. Se diferencia, por lo tanto, de la esterilización en que el objetivo de esta última es obtener un producto libre de cualquier microorganismo, independientemente de que sean patógenos o no.

Se admiten tres mecanismos principales para la inactivación de patógenos aunque, en función del tratamiento realizado y del tipo de microorganismos, la desinfección puede tener lugar también como consecuencia de una combinación de estos (US EPA, 1999):

- Destruir o perjudicar la organización estructural celular atacando los principales componentes de la célula, como la destrucción de la pared celular o la alteración de las funciones de las membranas semipermeables.
- Interferir con el metabolismo energético, haciendo que las enzimas no sean funcionales.
- Interferir con la biosíntesis y el crecimiento, impidiendo la síntesis de proteínas normales, ácidos nucleicos, coenzimas o la pared celular.

La desinfección puede llevarse a cabo mediante el uso de agentes químicos, agentes físicos, medios mecánicos y radiación. Algunos ejemplos de agentes desinfectantes físico pueden ser el calor, la luz u ondas de radiación. Utilizar calor, sin embargo, no resulta rentable a la hora de desinfectar grandes cantidades de agua debido al alto coste asociado a la energía necesaria para incrementar la temperatura, por lo que no es una técnica empleada para la regeneración de aguas residuales. El uso de radiación ultravioleta (UV), sin embargo, sí que se encuentra extendido, siendo una de las tecnologías de desinfección que se puede encontrar con mayor frecuencia en las estaciones de regeneración debido, entre otras cosas, al bajo tiempo de contacto necesario para obtener buenos resultados de inactivación microbiológica.

El uso de desinfectantes químicos, por su parte, presenta ciertas ventajas, ya que no solo sirve para eliminar microorganismos, sino que también puede tener otras consecuencias positivas como la eliminación de sabor, olor y calor en el agua (US EPA, 1999). Para ser considerado un desinfectante ideal, un compuesto debe tener una serie de características (Metcalf y Eddy, 2003):

- Estar disponible en grandes cantidades y tener un precio razonable.
- Eliminar olores.
- Tener una composición uniforme.
- No ser absorbido por otra materia orgánica que no sean los microorganismos patógenos.
- No ser corrosivo para los metales o dejar manchas en materiales como los textiles.
- Ser tóxico para los microorganismos, pero no para animales y seres humanos.
- Ser seguro de transportar, almacenar y manipular.
- Ser soluble en agua.
- Ser estable.
- Ser eficiente a temperatura ambiente.

Debido al alto número de requisitos, no existe ningún compuesto que se ajuste a esta descripción de desinfectante ideal. A pesar de esto, hay dos tecnologías que han destacado por encima de las restantes alternativas: la cloración y la ozonización.

Cloración

El cloro es el reactivo más empleado en la desinfección, ya que cumple la mayoría de los requisitos de un desinfectante ideal. Los principales compuestos de cloro empleados en las plantas de tratamiento de aguas residuales son el cloro molecular (Cl_2 ; en estado gaseoso), el hipoclorito de sodio (NaClO) y el hipoclorito de calcio ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$). Dado que el cloro es un elemento relativamente estable, estos compuestos suelen ser producidos fuera de las instalaciones.

Aunque el uso de Cl_2 se encuentra muy extendido, es una sustancia altamente tóxica cuyo transporte y manipulación conlleva un alto riesgo de accidentes. Por el contrario, el hipoclorito de sodio y el hipoclorito de calcio son compuestos en estado líquido a temperatura y presión ambiental, lo que permite un transporte y manipulación más seguros. A pesar de esto, su exposición a la luz y al calor puede llevar a que se descompongan, por lo que es necesario tomar medidas de seguridad y diseño específicas que tengan en cuenta su naturaleza corrosiva y la potencial formación de cloro gaseoso (Metcalf y Eddy, 2003).

En la Tabla 1-3 se recogen las características más relevantes de la cloración como tratamiento terciario. Su principal ventaja, aquella que hace que sea el tratamiento más extendido, es que se trata de una tecnología asequible. Además, debido a los poderes oxidantes del cloro, se ha descubierto que sirve para otros propósitos útiles en el tratamiento del agua, tales como el control de sabor y olor, la prevención del crecimiento de algas, el

mantenimiento de un poder desinfectante residual y la eliminación sulfuro de hidrógeno, entre otros (US EPA, 1999).

Sin embargo, se ha demostrado la formación de trihalometanos (THM) como resultado de la cloración del agua potable (J.J. Rook, 1974). Los THM se forman cuando el cloro o el bromuro reaccionan con los compuestos orgánicos del agua. La formación de estos compuestos es especialmente peligrosa ya que son potencialmente cancerígenos y mutagénicos, representando el principal inconveniente de la utilización de compuestos clorados como desinfectante.

A pesar de que son los compuestos que más atención han atraído, los trihalometanos no son los únicos subproductos de la desinfección (SPDs) (US EPA, 1999). Se han identificado aproximadamente entre 600 y 700 SPDs en medio acuoso, pero la gran mayoría de ellos no han sido suficientemente estudiados. La mayoría de las investigaciones se han centrado en los THMs y ácidos haloacéticos (HAAs) porque se han detectado, por lo general, en concentraciones relativamente altas en comparación al resto (Srivastav *et al.*, 2020).

Ozonización

Cuando comenzó a utilizarse, el ozono no se empleaba con fines desinfectantes sino para la eliminación de color, olor o sabor. A principios del siglo XX, se descubre en Francia su alta eficacia para la desinfección (Metcalf y Eddy, 2003). Adicionalmente a su función desinfectante, el ozono puede usarse para la eliminación de contaminantes orgánicos refractarios, como es el caso de muchos contaminantes de preocupación emergente. El ozono es un gas inestable, altamente corrosivo y tóxico, que puede ser producido por electrólisis, reacciones fotoquímicas o reacciones radioquímicas mediante descargas eléctricas. Si bien es un gas incoloro, su olor característico hace que su uso sea relativamente seguro, ya que su presencia en el aire es fácilmente detectable antes de que la concentración alcance límites perjudiciales para la salud (Metcalf y Eddy, 2003).

El principal inconveniente que presenta esta tecnología (Tabla 1-3) es que, al igual que sucede en la cloración, es frecuente la formación de subproductos de desinfección potencialmente nocivos. Aunque por lo general el ozono no forma SPDs halogenados (THM y HAA) cuando participa en reacciones de oxidación/reducción con la materia orgánica, sí forma una variedad de subproductos orgánicos e inorgánicos. Además, si el ion bromuro está

presente en el agua bruta, sí que pueden formarse SPDs halogenados que, al tener bromo, pueden suponer un mayor riesgo para la salud que los SPDs no bromados (US EPA, 1999).

Radiación ultravioleta

La capacidad germicida de la radiación ultravioleta ha sido utilizada en una amplia variedad de aplicaciones desde principios del siglo 20, ya que ha probado tener una alta capacidad de acabar con virus y bacterias sin fomentar la formación de subproductos de desinfección tóxicos (Metcalf y Eddy, 2003).

Se considera radiación ultravioleta aquella cuya longitud de onda se encuentra entre los 100 y los 400 nm. Dentro de este rango, el espectro se subdivide en cuatro tipos de radiación: UV de vacío ($\lambda = 100\text{-}200\text{ nm}$), UV-C o de onda corta ($\lambda = 200\text{-}280\text{ nm}$), UV-B o de onda media ($\lambda = 280\text{-}315\text{ nm}$) y UV-A o de onda larga ($\lambda = 315\text{-}400\text{ nm}$). La porción del espectro que posee mayores capacidades desinfectantes es la radiación con longitudes de onda entre 220 y 320 nm (Metcalf y Eddy, 2003). Por lo general, para generar esta radiación se emplean lámparas de mercurio, que emiten radiación al aplicar una corriente eléctrica. Además, en los últimos años se ha extendido el uso de lámparas LED, capaces de generar radiación en este ancho de banda con un consumo menor y una vida útil más larga.

Además de no dar lugar a SPDs, otra de las ventajas de emplear radiación ultravioleta como desinfectante es que los parámetros químicos del agua tales como pH y temperatura no tienen impacto en la eficiencia de los tratamientos, tal y como se recoge en la Tabla 1-3. Sin embargo, esta tecnología también presenta inconvenientes. Una alta dureza del agua puede generar problemas de sedimentación sobre las lámparas, dificultando el mantenimiento del sistema.

Asimismo, otros componentes del efluente como el hierro, los nitritos o los fenoles absorben radiación, lo que significa que la dosis necesaria para conseguir una determinada eficiencia es específica para cada agua en particular (US EPA, 1999). La formación de biopelículas contribuye, también, al ensuciamiento de las instalaciones, haciendo que la efectividad del tratamiento descienda rápidamente. Del mismo modo, la eficiencia de desinfección será menor en presencia de sólidos en suspensión, ya que estos pueden dispersar la radiación, sirviendo de pantalla a los microorganismos. Todos estos inconvenientes pueden superarse aumentando la intensidad de radiación, pero esto conlleva un aumento del coste asociado al consumo de energía eléctrica.

Tabla 1-3. Principales características de los tratamientos de desinfección convencionales (elaboración propia).

	Cloración	Ozonización	Radiación UV-C
Dosis	1-10 mg·L ⁻¹	0,5-20 mg·L ⁻¹	10-140 mJ·cm ⁻²
Coste	Bajo	Alto	Alto
Consumo energético	Bajo	Alto	Alto
Eficacia como desinfectante	Eficiente en la eliminación de bacterias, aunque la eficacia se reduce ante virus, esporas y protozoos. Posee poder germicida residual.	Más eficiente que la cloración en la eliminación de virus, esporas y otros organismos más resistentes.	Más eficiente que la cloración en la eliminación de virus, esporas y otros organismos más resistentes.
Eliminación de ARG y ARB	Eficiente en la eliminación de ARB. Ligera eficacia en la eliminación de ARG, aunque es necesario un mayor tiempo de contacto.	Muy eficiente en la eliminación de ARB y ha demostrado ser eficaz en la eliminación de ARG.	Eficiente en la eliminación de ARB. La eliminación de ARG solo se consigue con dosis de radiación relativamente altas.
Eliminación de CPE	Muy baja eficiencia.	Alta eficiencia, pero dependiente de la estructura química de contaminantes específicos.	Muy baja eficiencia, siendo necesarias dosis de radiación muy altas.
Principales ventajas	• Tecnología bien establecida • Aplicación sencilla	• Propiedades desinfectantes no afectadas por el pH • Tiempo de contacto bajo	• Baja formación de SPDs • No depende del pH o la temperatura • Proceso seguro al no emplear desinfectantes químicos
Principales desventajas	• Manipulación peligrosa • Formación de SPDs (trihalometanos, cloraminas y ácidos haloacéticos)	• Gas inestable y altamente corrosivo • No tiene efecto residual • Formación de SPDs	• No tiene efecto residual • Muy sensible al ensuciamiento de las lámparas • Necesidad de altas dosis de radiación
Referencias	(Metcalf y Eddy, 2003; Rizzo <i>et al.</i> , 2020; Stange <i>et al.</i> , 2019; T. Zhang <i>et al.</i> , 2019; Zheng <i>et al.</i> , 2017)	(Foroughi <i>et al.</i> , 2022; Metcalf y Eddy, 2003; Rizzo <i>et al.</i> , 2020; Sgroi <i>et al.</i> , 2021; Stange <i>et al.</i> , 2019; Zheng <i>et al.</i> , 2017)	(Metcalf y Eddy, 2003; Rizzo <i>et al.</i> , 2020; Stange <i>et al.</i> , 2019; T. Zhang <i>et al.</i> , 2019; Zheng <i>et al.</i> , 2017)

ARG: genes de resistencia a antibióticos; ARB: bacterias resistentes a antibióticos

1.5.2. Procesos de oxidación avanzada

Los inconvenientes que presentan los tratamientos de desinfección convencionales han impulsado, en los últimos años, el desarrollo de nuevos tratamientos que buscan evitar la generación de subproductos de la desinfección. Además, como refleja la Figura 1-5, en la actualidad, son necesarios varios tratamientos consecutivos para la conseguir un agua regenerada de buena calidad. Por ello, el desarrollo de tratamientos que consigan la eliminación simultánea de diferentes tipos de contaminación es también interesante, ya que simplificaría el proceso de regeneración de aguas residuales reduciendo, potencialmente, el tiempo y el coste del proceso.

En este contexto, la aplicación de procesos de oxidación avanzada (AOP: *Advanced Oxidation Processes*) se ha convertido en una alternativa plausible al conseguir una alta eficiencia en la eliminación simultánea de contaminación orgánica y microbiológica de los efluentes de plantas de depuración de aguas residuales (Berruti, Nahim-Granados, *et al.*, 2021; Popova *et al.*, 2019), lo que les proporciona una ventaja competitiva sobre otros tratamientos convencionales capaces de eliminar únicamente uno de los dos tipos de contaminantes. Además, la formación de concentraciones significativas de subproductos de desinfección no se ha observado en los procesos de oxidación dominados por el radical hidroxilo ($\text{HO}^\bullet$) (Miklos *et al.*, 2018). Tecnologías como la fotocatalisis heterogénea, la reacción de Fenton y foto-Fenton, la combinación de ozono con radiación UV-C o H_2O_2 , etc., han sido ampliamente estudiadas e informadas como eficientes en la eliminación de diferentes microorganismos y CPE (Yi-di Chen *et al.*, 2021; Giannakis, Samoil, *et al.*, 2021; Lucas *et al.*, 2010; Nihemaiti *et al.*, 2018).

Los AOP se basan en la generación *in situ* de especies de oxígeno altamente reactivas que, a continuación, pueden iniciar reacciones de oxidación en el agua para dañar la membrana, las proteínas, los lípidos, las enzimas, el ADN y el ARN de los microorganismos patógenos, o degradar y mineralizar los contaminantes orgánicos. Aunque la mayoría de los AOP disponibles, se basan en la generación de radicales $\text{HO}^\bullet$, también se han desarrollado procesos basados en otras especies oxidantes. De esta forma, las especies oxidantes más comunes generadas durante los procesos de oxidación avanzada son los radicales hidroxilo (1,8-2,7 V), los radicales sulfato (2,5-3,1 V), el oxígeno singlete (2,2 V), el radical superóxido (2,4 V) y el ozono (2,1 V) (Yi-di Chen *et al.*, 2021).

Las tecnologías empleadas en los AOP implican métodos muy diferentes de activación y de generación de oxidantes. Miklos *et al.* (2018) realizó una clasificación en la que se recogen los distintos métodos de operación establecidos y emergentes, diferenciando métodos de operación basados en el ozono, en los rayos UV, electroquímicos, catalíticos y físicos, tal y como puede verse en la Figura 1-6 (Miklos *et al.*, 2018). Como oxidante, el ozono es muy selectivo y ataca principalmente a los grupos funcionales ricos en electrones, como los dobles enlaces, las aminas y los anillos aromáticos activados (por ejemplo, el fenol) (Miklos *et al.*, 2018). Dado que sus reacciones en soluciones acuosas reales implican a menudo la formación de radicales $\text{HO}^\bullet$, la propia ozonización puede ser considerada un proceso AOP. Por otra parte, es posible combinar el O_3 con otros reactivos como el H_2O_2 (peroxona) o con radiación UV para generar especies reactivas de oxígeno. En el proceso del peroxono, el ozono reacciona con el anión peróxido (HO_2^-) para formar precursores del radical hidroxilo, que posteriormente reaccionan dando lugar al radical $\text{HO}^\bullet$.

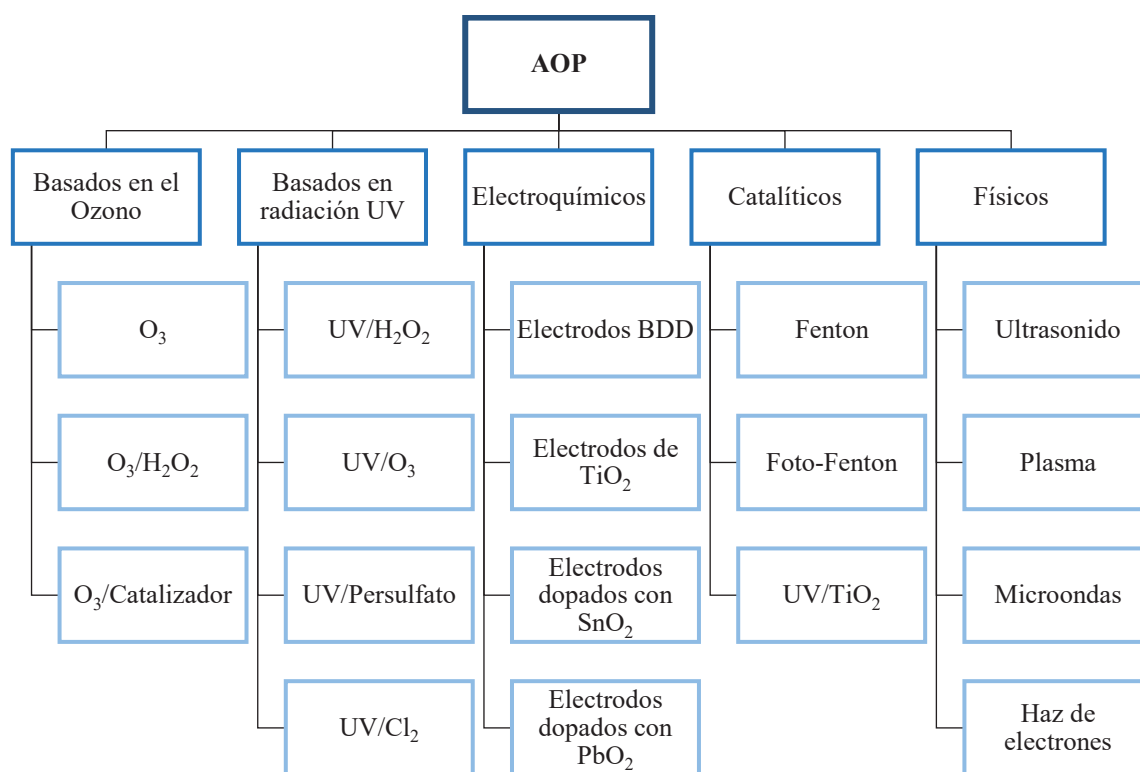


Figura 1-6. Clasificación de los AOP propuesta por Miklos *et al.* (2018).

Los AOP basados en luz ultravioleta más empleados son aquellos en los que la radiación se combina con H_2O_2 . La combinación de irradiación UV y H_2O_2 conduce a la escisión fotoquímica del H_2O_2 en dos radicales $\text{HO}^\bullet$ (Miklos *et al.*, 2018). Otro de los procesos de oxidación avanzada más extendidos son las reacciones de Fenton y pseudo Fenton, en las

que los radicales hidroxilos suelen generarse a partir del peróxido de hidrógeno catalizado por el hierro (Fe^{2+} , $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, Fe_3O_4 , $\text{H}_2\text{Fe}_2\text{O}_4$, $\alpha\text{-FeOOH}$, etc.) (Babuponnusami y Muthukumar, 2014).

Si bien muchos AOP han demostrado que son capaces de inactivar microorganismos y degradar gran variedad de contaminantes en las condiciones evaluadas, no se trata de tratamientos robustos, ya que los mecanismos de formación de radicales dependen de parámetros específicos del proceso y pueden verse muy afectados por el diseño del sistema y la calidad del agua (J. Ma *et al.*, 2017; Sbardella *et al.*, 2019). De hecho, los AOP son altamente dependientes de la composición del agua, ya la presencia de iones inorgánicos (p. ej., Cl^- , CO_3^{2-} , NO_3^-) y materia orgánica (p. ej., ácido húmico, ácido fórmico, ácido cítrico) puede promover o dificultar el tratamiento en las aguas residuales reales (Ribeiro *et al.*, 2019).

1.6. Procesos de oxidación avanzada basados en radicales sulfato

Según se ha comentado anteriormente, uno de los AOP más estudiados es el proceso Fenton (y sus variaciones) debido a la alta eficacia que ha demostrado en la eliminación de contaminantes emergentes y microorganismos. Sin embargo, esta tecnología presenta algunos problemas de funcionamiento que deben ser abordados, como son la inestabilidad del H_2O_2 , la necesidad de pH entre 2 y 4 para su correcto funcionamiento (P. Hu y Long, 2016; N. Wang *et al.*, 2016) y la generación de lodos (Shukla *et al.*, 2011; B. T. Zhang *et al.*, 2015).

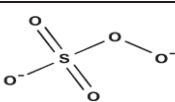
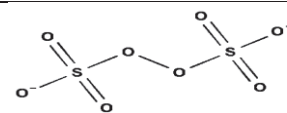
Teniendo esto en cuenta, los procesos de oxidación avanzada basados en los radicales sulfato (SR-AOP: *Sulfate Radical-based advanced oxidation processes*) están demostrando ser una buena alternativa ya que este radical posee el mismo, o incluso mayor, potencial de oxidación que el radical hidroxilo y ninguna de las desventajas mencionadas anteriormente. De hecho, los radicales sulfato ($\text{SO}_4^{\bullet-}$) presentan numerosas ventajas que pueden resumirse en cuatro puntos principales (P. Hu y Long, 2016):

- i. El $\text{SO}_4^{\bullet-}$ posee un alto potencial de oxidación (2,5-3,1 V), comparable al $\text{HO}^{\bullet}$ (1,8-2,7 V).
- ii. El radical sulfato reacciona de forma más selectiva y eficiente que el $\text{HO}^{\bullet}$, que es un radical no selectivo.

- iii. El $\text{SO}_4^{\bullet-}$ reacciona eficientemente con compuestos orgánicos en un amplio rango de pH de 2-8, alcanzando un potencial de oxidación estándar más alto que el radical hidroxilo a pH neutro (B. T. Zhang *et al.*, 2015).
- iv. La vida media de los radicales sulfato es de 30-40 μs , lo que permite que el $\text{SO}_4^{\bullet-}$ tenga una transferencia de masa más estable y un mejor contacto con los compuestos objetivo que los radicales hidroxilo, cuya vida media es de 20 ns (Ghanbari y Moradi, 2017).

Los radicales sulfato suelen generarse a partir de peroximonosulfato (PMS) o persulfato (PS). El PMS (HSO_5^-) es un polvo blanco con una estructura asimétrica que se disuelve fácilmente en agua. El PMS se comercializa normalmente como Oxone[®] (Sigma-Aldrich), que es una sal triple de potasio ($2\text{KHSO}_5\text{-KHSO}_4\text{-K}_2\text{SO}_4$). La principal desventaja de Oxone[®] es que tiene dos sales de sulfato inertes en su estructura que no pueden ser activadas (Wacławek *et al.*, 2017); sin embargo, la activación del PMS no sólo implica un radical sulfato, sino que también se genera un radical hidroxilo. Por el contrario, el PS es un oxidante simétrico que puede encontrarse como sales de sodio y de potasio. Estas sales forman cristales blancos que tienen una alta solubilidad y estabilidad (J. Wang y Wang, 2018). La longitud del enlace O-O, como puede verse en la Tabla 1-4, es superior en el PS que en el PMS, lo que implica una menor energía de disociación del enlace del PS (Wacławek *et al.*, 2017).

Tabla 1-4. Propiedades químicas del PMS y el PS. Adaptado de Wacławek *et al.* (2017) y Wang y Wang (2018).

	PMS	PS
Fórmula	HSO_5^-	$\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$
Estructura		
Peso molecular [$\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$]	113,07	192,12
Solubilidad a 25 °C [$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$]	>250	730*
Potencial redox (V)	1,8	2,1
Energía de disociación del enlace O-O [$\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$]	140 – 213	140
Longitud del enlace O-O (Å)	1.453	1.497

* Persulfato de sodio

1.6.1. Métodos de activación

Aunque PMS y PS tienen potenciales de oxidación significativos, la reacción directa con los contaminantes tiene lugar a una velocidad muy baja, por lo que deben ser activados para generar radicales sulfato. La activación de PMS y PS puede producirse por varios métodos como la aplicación de calor, radiación ultravioleta (UV), ultrasonidos (US) o mediante catálisis heterogénea y homogénea (Wacławek *et al.*, 2017; J. Wang y Wang, 2018). El objetivo principal de la activación es promover la generación de radicales sulfato, si bien también es frecuente la formación de otros radicales altamente oxidantes como el $\text{HO}^\bullet$ o el superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$).

La eficacia de los tratamientos, así como el tipo de radicales generados durante la activación, depende, en gran medida, del método de activación empleado, así como de otros factores como la composición o el pH de la matriz acuosa. Por otra parte, cada uno de los métodos de activación tiene sus ventajas e inconvenientes, por lo que la combinación de varios métodos puede potenciar la activación al aprovechar al máximo las ventajas de cada uno y disminuir los inconvenientes. La combinación de catalizadores y radiación es uno de los sistemas híbridos más utilizados (Marjanovic *et al.*, 2018; Rodríguez-Chueca *et al.*, 2020; Rodríguez-Chueca, Silva, *et al.*, 2017).

Radiación

Una de las técnicas más extendidas para la generación de radicales es el aporte de energía mediante la aplicación de radiación. Se ha demostrado que varios tipos de radiación son eficaces en la activación tanto de PMS como de PS, incluyendo la UV, la gamma y los ultrasonidos (US) (Chu *et al.*, 2019; Yin *et al.*, 2018). Actualmente, la radiación UV se considera una de las formas más eficaces para la generación de radicales, siendo la longitud de onda más utilizada la de 254 nm, que corresponde al espectro UV-C (ya que es en este rango donde estos compuestos muestran la mayor absorción) (Verma *et al.*, 2016). Sin embargo, cada vez son más los trabajos que estudian la activación de estos compuestos por radiación solar, en cuyo caso las longitudes de onda utilizadas varían, principalmente, entre la radiación UV-A y la visible (Garkusheva *et al.*, 2017; Rodríguez-Chueca, Guerra-Rodríguez, *et al.*, 2019).

Algunos contaminantes pueden degradarse hasta cierto punto utilizando sólo la radiación UV si su máxima absorción se produce cerca de la longitud de onda utilizada, pero esto es

poco común. La mayoría de los contaminantes orgánicos resisten la radiación UV, pero su combinación con persulfatos ha demostrado ser capaz de eliminarlos de forma eficiente (Ao y Liu, 2017; Cui *et al.*, 2016; Q. Wang *et al.*, 2016).

Cuando se utiliza radiación los radicales pueden generarse por mediante dos mecanismos principales. El primero, y más directo es la fisión del enlace O-O provocada por el aporte de energía (ec. 1.1-1.2). Sin embargo, la radiación también podría disociar las moléculas de agua (ec. 1.3-1.5) generando un electrón que, posteriormente activa el PS o el PMS (J. Wang y Wang, 2018).



Como puede verse, la generación de radicales hidroxilo se produce en paralelo a la generación de radicales sulfato. Además, los radicales sulfato generados pueden reaccionar con el PMS, siguiendo la ecuación 1.6, para generar el radical pentóxido de azufre ($SO_5^{\bullet-}$) que, aunque tiene un potencial redox menor ($E^0 = 1,1 \text{ V}$), colabora en la oxidación de contaminantes.



La aplicación de US para la activación de PS y PMS está menos extendida que en el caso de la radiación UV, aunque existe un mayor registro de su uso para la generación de radicales hidroxilo a partir de peróxido de hidrógeno (Monteagudo *et al.*, 2018). Se considera una tecnología limpia, segura y que ahorra energía, pero por sí sola no tiene un gran efecto y es cara, lo que la hace poco viable (B. Li *et al.*, 2013).

Activación térmica

Los estudios han demostrado que, aunque el PS puede activarse a temperatura ambiente, los resultados obtenidos son peores que si se aumenta la temperatura (Yiqun Chen *et al.*, 2017). La activación térmica, por tanto, consiste en aumentar la temperatura del agua hasta una

determinada temperatura, a la que se observa la generación de radicales. El principal inconveniente de esta técnica es que, debido al elevado consumo energético asociado, no parece ser una técnica adecuada para su aplicación a gran escala.

Este mecanismo de activación es equivalente al de la activación por radiación ya que el aporte de energía puede provocar la fisión del enlace O-O en el PS y el PMS, dando lugar a radicales sulfato e hidroxilo (ecuaciones 1.7 y 1.8).



Catalizadores metálicos

Otra vía bien documentada para la activación del PMS y el PS es el uso de metales de transición como catalizadores (Anipsitakis y Dionysiou, 2004; Rodríguez-Chueca, Amor, *et al.*, 2017). Esta activación catalítica puede dividirse en catálisis homogénea y heterogénea.

En el caso de trabajar con catalizadores homogéneos, el uso de sales de metales de transición es la opción más común. Se ha observado que el ion plata es el metal más eficiente para activar el PS, y el ion cobalto la mejor opción para activar el PMS (Anipsitakis y Dionysiou, 2004). Sin embargo, el hierro ha demostrado un muy buen rendimiento en condiciones específicas. Esto, junto con otras ventajas como ser respetuoso con el medio ambiente, relativamente no tóxico y rentable, lo hacen una de las alternativas más estudiadas.

La activación de PS y PMS utilizando metales de transición se basa en un mecanismo de oxidación-reducción, donde el metal actúa como donante de electrones, provocando la ruptura del enlace peroxo en las estructuras de PMS y PS (ecuaciones 1.9 y 1.10). Además, el PMS tiene la ventaja de que es capaz de reaccionar con el metal oxidado (M^{n+1}) dando lugar a un radical pentóxido de azufre ($SO_5^{\bullet-}$) y cerrando el ciclo catalítico (ecuación 1.11).



Los catalizadores heterogéneos han conseguido superar ciertas limitaciones que presentan los homogéneos, como la dificultad de recuperar los iones metálicos, que implica la

presencia de una alta concentración de éstos en el agua tratada. Sin embargo, su eficacia varía mucho en función de las propiedades superficiales del material. Se ha sintetizado un gran número de materiales a partir de cobre y hierro (L. Chen, Luo, *et al.*, 2018; W. Ding *et al.*, 2019), pero también se utilizan minerales naturales como la magnetita o la ilmenita (J. Liu *et al.*, 2017; Xia *et al.*, 2018).

Catalizadores carbonosos

Los materiales basados en el carbono están atrayendo una atención creciente para su uso como catalizadores gracias a sus excelentes características, como su gran superficie específica, su gran estabilidad química y térmica y el hecho de que no hay lixiviación de metales y, por tanto, no hay contaminación secundaria (Zhao *et al.*, 2017). Aprovechando estas cualidades, los carbones activados y el grafeno se han utilizado como base para la síntesis de catalizadores, modificando sus estructuras para mejorar sus capacidades catalíticas (Guan *et al.*, 2018; Vieira *et al.*, 2020)

La generación de radicales en este escenario se produce debido a una transferencia de electrones (ecuaciones 1.12-1.13) (R. Xiao *et al.*, 2018). Además, estos materiales suelen tener una fuerte capacidad de adsorción, por lo que es habitual que sean capaces de eliminar una fracción de los contaminantes por sí mismos (X. Duan *et al.*, 2018).



Otros métodos de activación

Además de los métodos de activación ya explicados, que son los que se utilizan con mayor frecuencia, existen otros que, aunque se han estudiado en menor medida, han demostrado proporcionar buenos resultados.

En condiciones alcalinas, el PS y el PMS pueden descomponerse en radicales sulfato, que a su vez pueden transformarse en radicales hidroxilo (García-Cervilla *et al.*, 2020). Sin embargo, este método presenta un inconveniente: la alteración del pH puede provocar la precipitación de los metales presentes en la matriz acuosa.

Por otra parte, la combinación de PMS con otros oxidantes para generar radicales también ha dado buenos resultados. En los últimos años se ha estudiado la aplicación del sistema

PMS/O₃ en la degradación de diversos contaminantes recalcitrantes a los tratamientos con ozono, como es el caso del iopamidol (Mao *et al.*, 2020), la atrazina o la carbamazepina (Deniere *et al.*, 2018). Se ha observado en este caso como la degradación es consecuencia de la generación de radicales sulfato e hidroxilo, además del efecto individual del ozono (Y. Yang *et al.*, 2015). Algunos autores han informado, también, sobre la existencia de sinergias al combinar PMS y H₂O₂ (Amanollahi *et al.*, 2021; Zhong *et al.*, 2022). A pesar de ello, son muy pocos los artículos que recogen la aplicación de este sistema al tratamiento de aguas residuales, por lo que es necesario realizar un mayor número de investigaciones que permitan conocer en profundidad las reacciones que tienen lugar en este sistema, así como su viabilidad.

1.6.2. Desinfección mediante SR-AOP

La mayoría de los estudios que evalúan el poder de los tratamientos de oxidación avanzada basados en radicales sulfato se han enfocado en su potencial para la degradación de compuestos orgánicos (Yiqun Chen *et al.*, 2017; Cui *et al.*, 2016; Yin *et al.*, 2018). Sin embargo, como ya se ha comentado anteriormente, los AOP son capaces también de inactivar microorganismos y, aunque su aplicación como desinfectante se ha estudiado en menor medida, esta es igualmente interesante y progresivamente más investigaciones están centrando sus esfuerzos en este aspecto.

Tras una amplia revisión bibliográfica, se han recopilado en la Tabla 1-5 un gran número de estudios en los que se utilizan los SR-AOP para la inactivación de microorganismos. La mayoría de ellos utilizan PS para la inactivación de bacterias, siendo los virus, hongos y otros microorganismos significativamente menos frecuentes. Además, en la mayoría de estos trabajos se utiliza persulfato de sodio como oxidante, probablemente debido a su menor coste.

En estos estudios, *E. coli* es el microorganismo seleccionado en un mayor número de ocasiones como objetivo, aunque en algunos de ellos la eliminación de esta bacteria se estudia en combinación con otras. A pesar de ser esta la especie más estudiada, no es la más resistente. La eliminación del hongo *Candida albicans* requiere, en las mismas condiciones, una dosis de oxidante entre 50 y 100 veces superior a la necesaria para eliminar bacterias como *E. coli* o *S. aureus* (Rodríguez-Chueca, Moreira, *et al.*, 2017; Rodríguez-Chueca, Silva, *et al.*, 2017).

Varios estudios han observado una mayor resistencia a la inactivación de los microorganismos del género *Enterococcus* en comparación con los de la especie *Escherichia coli* (Rodríguez-Chueca, Guerra-Rodríguez, *et al.*, 2019), fenómeno debido principalmente a las diferencias en la estructura celular de ambas bacterias.

Los estudios dirigidos a evaluar la eliminación simultánea de bacterias y CPE (Tabla 1-6) van incrementándose conforme pasan los años. Es frecuente que tanto la tasa de desinfección como la de degradación de contaminantes se vea afectada negativamente por su presencia simultánea en la matriz (K. Liu *et al.*, 2020). Esto es debido, en parte, a las interacciones que tienen lugar entre los organismos y estos compuestos. Sin embargo, esto no es siempre así. Popova *et al.* (2019) y Garkusheva *et al.* (2017) estudiaron la eliminación simultánea de *E. coli* y atrazina, observando un efecto negativo de la presencia de *E. coli* en la degradación del fármaco mientras que las bacterias se inactivaron más rápidamente en presencia de atrazina en las aguas residuales. Por lo tanto, no es posible extraer una única conclusión debido a las grandes variaciones en el comportamiento de los microorganismos en los diferentes tratamientos, siendo necesario realizar un mayor número de estudios que permitan conocer las interacciones que se producen entre los microorganismos y los compuestos presentes en el medio, ya sean contaminantes a eliminar o componentes presentes de forma natural en el agua residual.

Varios estudios, recogidos en la Tabla 1-7, han evaluado la eliminación de ARB o ARG mediante SR-AOP. La bacteria más estudiada para este fin ha sido *E. coli* resistente a los antibióticos, consiguiendo en todos los artículos una inactivación total de este microorganismo. Otros microorganismos que han sido eliminados con éxito son *Pseudomonas sp.* HLS-6 resistente a antibióticos y *Klebsiella pneumoniae* resistente a fármacos carbapenémicos (Y. Hu *et al.*, 2019; Serna-Galvis *et al.*, 2020).

Diversos estudios han demostrado, sin embargo, que los ARG son más resistentes al tratamiento que los ARB, no estando clara la eficacia de los procesos de oxidación avanzada basados en radicales sulfato para la degradación de estos genes (C. Zhou *et al.*, 2020). Por lo tanto, dada la creciente preocupación y el riesgo que supone la presencia de estos contaminantes en el medio acuático, son necesarios más estudios sobre el comportamiento de los genes de resistencia a los antibióticos en presencia de tratamientos de oxidación avanzada y, más concretamente, de los basados en radicales sulfato.

Tabla 1-5. Estudios que aplican SR-AOP a la inactivación de patógenos.

Especie	Oxidante	Método de activación	Matriz acuosa	Exposición (min)	Eficiencia	Ref.
Bacterias						
<i>E. coli</i> (salvaje)	PMS (0,5 mM)	Fe/UV-A (365 nm)	Agua residual simulada	5 min	5 log	(Rodríguez-Chueca, Guerra-Rodríguez, <i>et al.</i> , 2019)
<i>Enterococcus spp.</i> (salvaje)				90 min	3,5 log	
<i>E. coli</i> K12	PMS (0,03 mM)	Ag/ZIF-67@GO/Vis (>400 nm)	Agua Milli-Q®	15 min	6 log	(Kohantorabi <i>et al.</i> , 2021)
<i>Enterococcus spp.</i> (salvaje)	Sulfite (1 mM)	Fe(III)-Cit/UV-A (365 nm)	Agua residual simulada	90 min	5 log	(Guerra-Rodríguez <i>et al.</i> , 2021)
<i>E. faecalis</i> (ATCC 27285)	PS (1 mM)	UV-C (254 nm)	Agua salada marina	5 min	3,5 log	(Moreno-Andrés, Ríos Quintero, <i>et al.</i> , 2019)
<i>E. coli</i> (salvaje)	PMS (0,1 mM)	Fe/UV-A (370 nm)	Agua residual de bodega	5min	E.c.: 4,2 log	(Rodríguez-Chueca, Moreira, <i>et al.</i> , 2017)
<i>B. mycoides</i> (salvaje)				90 min	B.m.: 2,5 log	
<i>S. aureus</i> (NCTC 10788/ATCC 6538)		Co/UV-A (370 nm)		5 min	E.c.: 3,2 log	
				90 min	B.m.: 1,71 log	
				120 min	S.a.: 3,14 log	
<i>E. faecalis</i> (CECT 5143)	PS (0,5 mM)	Fe(III)-EDDS/Solar	Agua destilada	180 min	6 log	(Bianco <i>et al.</i> , 2017)
<i>E. coli</i>	PS (2 mM)	Fe ₃ O ₄ -hidrochar/Vis (>420 nm)	Solución salina	40 min	8 log	(W. Wang <i>et al.</i> , 2020)
<i>E. coli</i>	PS (1 mM)	Ag-BTO/US	Efluente secundario	5 min	6,2 log	(Xia <i>et al.</i> , 2020)

Especie	Oxidante	Método de activación	Matriz acuosa	Exposición (min)	Eficiencia	Ref.
<i>E. coli</i> K-12	PS (3 mM)	BiO _{2-x} /Vis	Solución salina	40 min	7 log	(H. Sun <i>et al.</i> , 2022)
<i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i>	PS (0,84 mM)	Fe/Calor	Agua desionizada	10 min 15 min	6 log 6 log	(Venieri <i>et al.</i> , 2020)
<i>E. coli</i> (ATCC 15597) <i>Bacillus</i> esporas (ATCC 6633)	PS (0,3 mM)	UV-C (254 nm)	Efluente secundario	5 min	5 log 5 log	(P. Sun <i>et al.</i> , 2016)
<i>E. coli</i> K12	PS (2 mM)	Pirrotina magnética	Agua superficial Agua residual	25 min 30 min	5,5 log 4 log	(Xia <i>et al.</i> , 2017)
<i>E. coli</i> K12	PS (0,09 mM)	Solar/Fe/Calor	Agua desionizada	60 min	6 log	(Marjanovic <i>et al.</i> , 2018)
<i>E. coli</i> (CECT 4624)	PS (0,5 mM)	Solar	Agua residual simulada	20 min	6 log	(Ferreira, Castro-Alfárez, <i>et al.</i> , 2020)
<i>E. faecalis</i> (CECT 5143)	PS (0,7 mM)				6 log	
<i>E. coli</i>	PS (0,5 mM)	Ilmenita/radiación visible (>400 nm)	Agua superficial	30 min	6 log	(Xia <i>et al.</i> , 2018)
<i>E. coli</i> (salvaje)	PMS (0,1 mM)	Co/UV-A (370 nm)	Agua superficial	30 min	E.c.: 6,4 log	(Rodríguez-Chueca, Silva, <i>et al.</i> , 2017)
<i>B. mycoides</i> (salvaje)				120 min	B.m.: 3,5	
<i>S. aureus</i> (NCTC 10788/ATCC 6538)				110 min	S.a.: 5,7	
		60 min		E.c.: 6,4 log		
		120 min		B.m: 3,5 log		
		Fe/UV-A (370 nm)		120 min	S.a.: 3 log	
<i>E. coli</i> (salvaje)	PMS (0,2 mM)	CoFe ₂ O ₄ /UV-A (365 nm)	Agua residual simulada	30 min	6 log	(Rodríguez-Chueca <i>et al.</i> , 2020)
<i>Enterococcus</i> <i>ssp.</i> (salvaje)				60 min	6 log	
<i>E. coli</i> (NCIM 2345)	PS (2 mM)	tris(2,2'-bipiridil) rutenio(II)/Vis (>400 nm)	Agua superficial	90 min	E.c.: 7 log	(Subramanian <i>et al.</i> , 2013)
<i>P. aeruginosa</i> (NCIM 2581)			simulada	60 min	S.a.: 7 log	
<i>S. aureus</i> (NCIM 2127)			Agua destilada	120 min	P.a.: 7 log	

Especie	Oxidante	Método de activación	Matriz acuosa	Exposición (min)	Eficiencia	Ref.
<i>B. subtilis</i> (NCIM 2545)				60 min	B.a.: 7 log	
				90 min	E.c.: 7 log	
				60 min	S.a.: 7 log	
<i>E. coli</i> BL21(DE3)	Sulfito (2 mM)	Cu (II)	Agua residual	60 min	4 log	(L. Chen <i>et al.</i> , 2017)
<i>E. coli</i>	PMS (1.5 mM)	FeOCl/Hidroxilamina	Agua desionizada	5 min	4 log	(H. Luo, Zeng, <i>et al.</i> , 2021)
<i>E. coli</i>	PS (2 mM)	Radiación visible (>420 nm)	Agua destilada	60 min	6 log	(W. Wang <i>et al.</i> , 2019)
<i>B. subtilis</i> (esporas; ATCC 6633)	PS (30 mM)	UV-C (254 nm)	Agua residual simulada	60 min	4,1 log	(W. Wang <i>et al.</i> , 2019)
<i>E. coli</i>	PS (0,5 mM)	ZVI/US (6,81 W·ml ⁻¹)	Agua superficial	60 min	≈ 5,5 log	(X. Wu <i>et al.</i> , 2021)
			Agua de grifo	60 min	≈ 6 log	
			Agua residual	60 min	≈ 5 log	
<i>S. aureus</i>	PS (1 mM)	ZVI/US (6,81 W·ml ⁻¹)	Agua superficial	60 min	≈ 3 log	(X. Wu <i>et al.</i> , 2021)
			Agua de grifo	60 min	≈ 3,5 log	
			Agua residual	60 min	≈ 3 log	
<i>E. coli</i>	PMS (0,15 mM)	WS ₂ /Fe ³⁺	Agua desionizada	5 min	4.5 log	(H. Luo, Liu, <i>et al.</i> , 2021)
Virus						
MS2 (ATCC 15597-B1)	PS (0,3 mM)	UV-C (254 nm)	Efluente secundario	30 min	3 log	(P. Sun <i>et al.</i> , 2016)
MS2 (DSMZ 13767)	PS (0,09 mM)	Fe/Solar	Agua desionizada	5 min	5 log	(Marjanovic <i>et al.</i> , 2018)
Hongos						
<i>Candida albicans</i> (ATCC 90028)	PMS (10 mM)	Fe/UV-A (370 nm)	Agua residual de bodega simulada	90 min	4,5 log	(Rodríguez-Chueca,
		Co/UV-A (370 nm)		120 min	4,5 log	

Espece	Oxidante	Método de activación	Matriz acuosa	Exposición (min)	Eficiencia	Ref.
						Moreira, <i>et al.</i> , 2017)
<i>Trichoderma sp.</i> (salvaje)	PMS (0,1 mM)	UV-C (254 nm)	Solución de PBS	6,11 min	5 log	(G. Wen <i>et al.</i> , 2017)
<i>Acremonium sp.</i> (salvaje)				6,11 min	5 log	
<i>Penicillium sp.</i> (salvaje)				9,17 min	6 log	
<i>Cladosporium sp.</i> (salvaje)				15,3 min	5 log	
<i>Candida albicans</i> (ATCC 90028)	PMS (5 mM)	Co/UV-A (370 nm)	Agua superficial	15 min	5 log	(Rodríguez-Chueca,
		Fe/UV-A (370 nm)		30 min	5 log	Silva, <i>et al.</i> , 2017)

ZVI: hierro cerovalente (*zero valent iron*)

Tabla 1-6. Estudios sobre la eliminación simultánea de CPE y microorganismos mediante SR-AOP.

Microorganismo	CPE	Oxidante	Método de activación	Matriz	Eliminación bacteria	Eliminación contaminante	Ref.
<i>E. coli</i> K-12	Atrazina (4 mg·L ⁻¹)	PS (0,3125 mM)	Fe/UV-C (222 nm)	Agua residual	5,5 log (≈16s)	85% (≈2,5 min)	(Popova <i>et al.</i> , 2019)
<i>E. coli</i> K12	Atrazina (4 mg·L ⁻¹)	PS (0,63 mM)	Fe/Solar	Agua residual diluida	6 log (≈45 min)	60% (≈90 min)	(Garkusheva <i>et al.</i> , 2017)
<i>E. faecalis</i> (ATCC, 19433)	Carbamazepina (10 µM)	PS (1 mM)	ZVI	Tampón de ácido acético	1,2 log (≈12 min)	36,9% (≈12 min)	(K. Liu <i>et al.</i> , 2020)
<i>E. coli</i>	Diclofenaco (100 µg·L ⁻¹)	PMS (0,01 mM)	Solar	Agua de pozo	6 log (≈50 min)	90% (≈120 min)	(Berruti, Oller, <i>et al.</i> , 2021)
<i>P. aeruginosa</i>	Trimetoprim (100 µg·L ⁻¹)				6 log (≈50 min)	≈0% (180 min)	
<i>E. faecalis</i>	Sulfametoxazol (100 µg·L ⁻¹)				6 log (≈90 min)	≈10% (180 min)	
<i>E. coli</i> resistente a Tetraciclinas	Tetraciclina (20 mg·L ⁻¹)	PS	Biochar sintetizado a partir de soja	Agua esterilizada	5,5 log (180 min)	100% (10 min)	(R. Duan <i>et al.</i> , 2022)
<i>E. coli</i>	Diclofenaco (100 µg·L ⁻¹)	PMS 0,5 mM	UV-C (254 nm)	Agua residual simulada	7,8 log (60 min)	>90% (10 min)	(Berruti, Nahim-Granados, <i>et al.</i> , 2021)
<i>P. aeruginosa</i>	Trimetoprim (100 µg·L ⁻¹)				7,8 log (60 min)	85% (10 min)	
<i>E. faecalis</i>	Sulfametoxazol (100 µg·L ⁻¹)				7,8 log (90 min)	>90% (10 min)	
<i>E. coli</i> K-12	Bisfenol A (20 µg·L ⁻¹)	PS (17,4 µM)	Fe ²⁺ /UV-A/US (365 nm)	Agua superficial	5 log (5 min) *con B.A	>95% (40 min)	(Popova <i>et al.</i> , 2021)
	Atrazina (20 µg·L ⁻¹)				5 log (7 min) *con ATZ	≈85% (40 min)	
<i>E. faecalis</i> B 4053	Bisfenol A (20 µg·L ⁻¹)	PS (17,4 µM)	Fe ²⁺ /UV-A/US (365 nm)	Agua superficial	5 log (10 min) *con B.A	>95% (40 min)	(Popova <i>et al.</i> , 2021)
	Atrazina (20 µg·L ⁻¹)				5 log (10 min) *con ATZ	≈85% (40 min)	

Tabla 1-7. Estudios que aplican SR-AOP a la inactivación de ARB y ARG.

ARB/ARG	Oxidante	Método de activación	Matriz	Exposición (min)	Eficiencia	Ref.
AR <i>E. coli</i> (salvaje)	PS (0,04 mM)	UV-C (254 nm)	Efluente secundario	60 min	6 log	(Michael-Kordatou <i>et al.</i> , 2015)
AR <i>E. coli</i> (CICC 10664)	PS (3 mM)	Celda galvánica/Fe	Agua ultrapura	20 min	7,9 log	(L. Zhang <i>et al.</i> , 2019)
AR <i>E. coli</i> (CICC 10664)	PS (1 mM)	ZVI Sulfurado	Agua ultrapura	30 min	7 log	(Jin <i>et al.</i> , 2020)
<i>TetB</i>				30 min	0,5-1,5 log	
<i>ampC</i>				30 min	0,3-1,6 log	
<i>intI1</i>	PMS (0,5 mM)	UV-C (254 nm)	Efluente secundario	4-7 seg	0,42-0,56 log	(Rodríguez-Chueca, della Giustina, <i>et al.</i> , 2019)
<i>sul1</i>				4-7 seg	0,51-0,66 log	
<i>sul2</i>				4-7 seg	0,47-0,57 log	
<i>blaOXA-A</i>				4-7 seg	0,49-0,58 log	
<i>blaTEM</i>				4-7 seg	0,15-0,27 log	
<i>qnrS</i>				4-7 seg	0,36-0,57 log	
Bacterias resistentes a macrólidos	PS (1 mM)	UV-C (254 nm)	Efluente secundario	10 min	96,6%	(C. Zhou <i>et al.</i> , 2020)
Bacterias resistentes a sulfonamidas				10 min	94,7%	
Bacterias resistentes a tetraciclina				10 min	98,0%	
Bacterias resistentes a quinolonas				10 min	99,0%	
Elementos genéticos móviles y ARG				10 min	50,42%	
AR <i>E. coli</i> (CICC 10664)	PS (1 mM)	ZVI Sulfurado	Agua ultrapura	30 min	>7 log	(L. Zhang <i>et al.</i> , 2020)
<i>TetB</i>				60 min	2,9 log	
<i>K. pneumoniae</i> resistente a carbapenémicos	PS (1 mM)	UV-C (254 nm)	Efluente secundario	3 min	6,5 log	(Serna-Galvis <i>et al.</i> , 2020)
<i>blaKPC-3 gene</i>				5 min	100%	

ARB/ARG	Oxidante	Método de activación	Matriz	Exposición (min)	Eficiencia	Ref.
AR <i>E. coli</i> (CICC 10664) <i>ampC</i>	PS(2 mM)	Celda Galvánica/Fe	Agua ultrapura	30 min 60 min	7 log 83%	(H. Ma <i>et al.</i> , 2019)
AR <i>E. coli</i> K-12 (salvaje) <i>blaTEM</i> extracelular <i>blaTEM</i> intracelular <i>tetA</i> extracelular <i>tetA</i> intracelular	PS (1 mM)	ZVI sulfurado	Solución de PBS	10 min 5 min 5 min 60 min 60 min	7,8 log 8 4 8 4	(Z. Yu <i>et al.</i> , 2021)
Sulfamethoxazole-resistant <i>E. coli</i> <i>blaTEM</i> <i>qnrS</i> <i>emrB</i> <i>sulI</i> <i>intI1</i> <i>IS613</i>	PS (1 mM)	CuO	Efluente secundario	10 min 60 min 60 min 60 min 60 min 60 min 60 min	3,2 log 1 log 0,7 log 0,9 log 1 log 2,3 log 0,8 log	(Chan Li <i>et al.</i> , 2022)
ARB <i>pseudomonas sp.</i> HLS-6 <i>sulI</i> <i>intI1</i>	PMS (0,003 mM) PMS (0,065 mM) PMS (0,065 mM)	UVC (254 nm)	Solución salina tamponada	10 min 30 min 30 min	5,3 log 2,9 log 3,4 log	(Y. Hu <i>et al.</i> , 2019)
<i>E. coli</i> DH5a <i>Pseudomonas</i> HLS-6 <i>sulI</i> <i>intI1</i> <i>tetA</i>	PMS (0,5 mM)	ZVI Sulfurado	Solución de PBS	15 min 5 min 120 min 120 min 120 min	7,32 log 7,32 log 1,52 log 1,79 log 1,56 log	(Y. Liu <i>et al.</i> , 2022)

ZVI: Hierro cerovalente (*zero valent iron*); AR: *Antibiotic resistant*

1.6.3. Escalabilidad e impactos ambientales

Aunque los SR-AOP han ganado interés en la comunidad científica en los últimos años, su desarrollo se limita prácticamente a estudios a escala de laboratorio. Esto hace que sea una tecnología menos madura que otros AOP, como es el caso del proceso Fenton. Aunque en los últimos años se ha observado un cambio en el enfoque en la investigación de los SR-AOP hacia casos más concretos y específicos (Giannakis, Samoili, *et al.*, 2021), aún son muy pocas sus aplicaciones a escala piloto o a escala real (Rodríguez-Chueca *et al.*, 2018; Rodríguez-Chueca, García-Cañibano, Lepistö, *et al.*, 2019; Rodríguez-Chueca, della Giustina, *et al.*, 2019).

Una de las razones para la reticencia a la hora de escalar estos tratamientos es la fácil producción científica a nivel laboratorio, que hace que los investigadores sean reacios a aplicar estos procesos a escala real (Giannakis, Samoili, *et al.*, 2021). Por otra parte, aunque la eficacia de los SR-AOP para la regeneración de aguas residuales ha sido ampliamente demostrada, las tecnologías de tratamiento convencionales son suficientes para alcanzar los valores de emisión exigidos por las diferentes legislaciones a un coste asequible. Un endurecimiento de dichas legislaciones o normativas en relación con la ausencia de CPE o la generación de subproductos de desinfección podría favorecer la implantación de la tecnología a mayor escala.

Otra de las limitaciones de los SR-AOP es que su coste a nivel industrial sigue siendo elevado en comparación con los tratamientos convencionales, razón que hace que sea poco atractivo para su aplicación a gran escala. Rodríguez-Chueca *et al.* (Rodríguez-Chueca *et al.*, 2018) en su estudio de los SR-AOP a escala real estimaron un coste de tratamiento para el PMS/UV-C de $0,585 \text{ €} \cdot \text{m}^{-3}$ para un 48% de eliminación media de microcontaminantes. El coste es 17 veces superior al coste estimado para el H_2O_2 /UV-C con un rendimiento de eliminación del 55%. Esta diferencia se debe principalmente al elevado coste del PMS ($1,36 \text{ \$} \cdot \text{mol}^{-1}$) (Wacławek *et al.*, 2017), pudiendo suponer más del 80% del coste total, en función del tratamiento.

Sin embargo, los costes económicos no son el único factor que debe tenerse en cuenta. Cuando se desarrollan procesos para solucionar un determinado problema medioambiental hay que ser consciente de que el uso de recursos y energía durante los tratamientos dará lugar a cargas medioambientales adicionales (Pesqueira *et al.*, 2020). Por tanto, el potencial

impacto ambiental asociado al proceso debe ser estudiado, con el objetivo de garantizar que la solución propuesta no genere cargas ambientales aún mayores que el problema inicial a solucionar. Una herramienta útil para esto es el Análisis del Ciclo de Vida (ACV), ya que permite cuantificar los impactos asociados a todas las etapas de un producto, servicio o proceso (Corominas *et al.*, 2013).

Desafortunadamente, existe una escasez general de literatura relativa a los impactos a lo largo del ciclo de vida de los procesos de oxidación avanzada. Aunque algunas investigaciones han realizado ACV de diferentes AOP (Chatzisyneon *et al.*, 2013; Roth *et al.*, 2022), incluso comparándolos con otros tratamientos avanzados como la ozonización o la nanofiltración (Arzate *et al.*, 2019; Tarpani y Azapagic, 2018), únicamente se han encontrado, en el momento de la elaboración de este documento, dos publicaciones que abordan los impactos ambientales de los SR-AOP (Pesqueira *et al.*, 2022; Sbardella *et al.*, 2020). En ambos casos, los autores determinaron que la mayor parte de la huella ambiental de los tratamientos corresponde a la producción de los agentes oxidantes, seguido por el consumo eléctrico. Aun así, es necesaria la realización de un mayor número de estudios, que analicen una amplia variedad de escenarios, para poder conocer en profundidad las consecuencias medioambientales que tendría la implantación de estos procesos a escala real.

1.7. Inteligencia artificial aplicada al sector del agua

Para mejorar la gestión de las aguas residuales reales, que contienen diferentes tipos de contaminantes, es esencial comprender la importancia relativa de cada variable que influye en el proceso de eliminación a fin de poder mejorar la eficiencia de los procesos. Sin embargo, determinar de forma experimental las condiciones óptimas de operación para un nuevo tratamiento, o deducir el mejor tratamiento para un agua residual con unas características determinadas, es un proceso muy costoso y que requiere de mucho tiempo, ya que deben analizarse una gran cantidad de escenarios diferentes si quieren tenerse en cuenta todas las variables que pueden intervenir. A esto debe sumarse el tiempo necesario para la realización de los análisis, que en muchas ocasiones no proporcionan resultados de forma inmediata, sino que se pueden tardar horas e incluso días (como sucede en el caso del recuento de microorganismos en placa).

Para resolver estos problemas, se han propuesto métodos de predicción de la eficacia de los tratamientos que buscan reducir coste y tiempo. En este contexto, el uso de técnicas de

inteligencia artificial cada vez está más en auge, y es que la modelización y la simulación de procesos proporcionan datos sobre el comportamiento de un proceso sin necesidad de realizar experimentos concretos.

La inteligencia artificial es la rama de la ciencia cuyo objetivo es crear sistemas informáticos que imiten la inteligencia de los seres humanos con el propósito de resolver problemas complejos.

1.7.1. Fundamentos del *Machine learning*

Una de las ramas de la inteligencia artificial es el *Machine Learning* (ML) o aprendizaje automático, que consiste en el diseño y desarrollo de herramientas informáticas que utilizan la experiencia pasada para tomar decisiones futuras (R. Huang *et al.*, 2021). Es decir, es el desarrollo de programas que pueden aprender de los datos. Su uso resulta especialmente interesante cuando se trabajan conjuntos de datos en los que se espera la existencia de relaciones no lineales o en los que se detecta falta de información (Taoufik *et al.*, 2022). Para ello se emplean algoritmos programados para predecir patrones futuros a partir del análisis matemático de datos.

Como se ha mencionado, los algoritmos son parte imprescindible en el desarrollo de las diferentes técnicas de ML. Un algoritmo consiste en un conjunto ordenado de instrucciones, operaciones, pasos o procesos que permiten desarrollar una tarea determinada o hallar una solución ante un problema planteado (Taoufik *et al.*, 2022). En otras palabras, proporcionan al ordenador un listado de instrucciones preestablecidas que guían los pasos que debe seguir en la toma de decisiones.

En el ML es posible diferenciar entre el aprendizaje supervisado y el no supervisado, siendo el aprendizaje supervisado la técnica empleada para deducir una función a partir de datos de entrenamiento. Los datos de entrenamiento consisten en pares de datos: por una parte, se dispone de los datos de entrada (o variables independientes) y, por otra, se introducen los resultados que debe predecir el modelo (variables dependientes). Los algoritmos de aprendizaje supervisado suelen aplicarse al tratamiento de datos previamente etiquetados para predecir, bien los valores de un conjunto continuo mediante la regresión, o bien la categoría de un conjunto discreto mediante la clasificación (R. Huang *et al.*, 2021). Una vez se ha entrenado el algoritmo, el objetivo es disponer de un modelo capaz de generalizar las relaciones identificadas para realizar predicciones sobre datos nuevos.

Para que un proyecto de ML tenga éxito, existen una serie de pasos que deben seguirse (Taoufik *et al.*, 2022):

1. Identificar claramente el problema y definir el objetivo del modelo.
2. Recoger datos, que pueden ser experimentales, provenientes de redes de medición, generados mediante modelos numéricos, extraídos de bibliografía, etc.
3. Preparar los datos, completando la información faltante y normalizándolos en caso de que fuera necesario.
4. Elegir un algoritmo.
5. Ajustar los parámetros del modelo y entrenarlo empleando la fracción de los datos reservada para este fin.
6. Evaluar el rendimiento del modelo para determinar cómo se comportará con los nuevos datos.
7. Aplicar el modelo generado a los nuevos datos para hacer una predicción.

A pesar de ser posible establecer unos pasos genéricos a seguir a la hora de abordar cualquier problema mediante ML, esto no es suficiente para garantizar predicciones precisas. El rendimiento de los modelos de predicción se ve afectado por un gran número de factores, como son el número de datos disponibles, las características particulares de estos datos, el número de iteraciones del proceso de entrenamiento, el pretratamiento de los datos o el sesgo derivado de la selección de uno u otro algoritmo (Yaseen, 2021)

Por lo tanto, la selección de las herramientas adecuadas para el entrenamiento, la prueba y la validación del modelo de ML es una tarea que entraña cierta dificultad (Yaseen, 2021).

1.7.2. *Machine Learning* aplicado al tratamiento de aguas residuales

La aplicación de ML ha demostrado ser exitosa en diversas actividades de ingeniería que van desde la atención médica, la educación y la gestión de proyectos hasta las disciplinas de la química o el control robótico. Además, en los últimos años también se ha aplicado para resolver una gran variedad de problemas en el campo de la ciencia del agua, siendo muchas las publicaciones que han revisado la aplicación de diferentes algoritmos de *Machine Learning* para modelar la calidad del agua en ríos, lagos y aguas subterráneas. También se han revisado las aplicaciones del ML en otros aspectos o investigaciones relacionadas con

el agua, como la teledetección para el seguimiento de la calidad del agua, la detección de fugas o fallos estructurales en presas y otras infraestructuras, el tratamiento del agua potable, la desalinización del agua de mar, y el tratamiento de aguas residuales y la eliminación de contaminantes (R. Huang *et al.*, 2021).

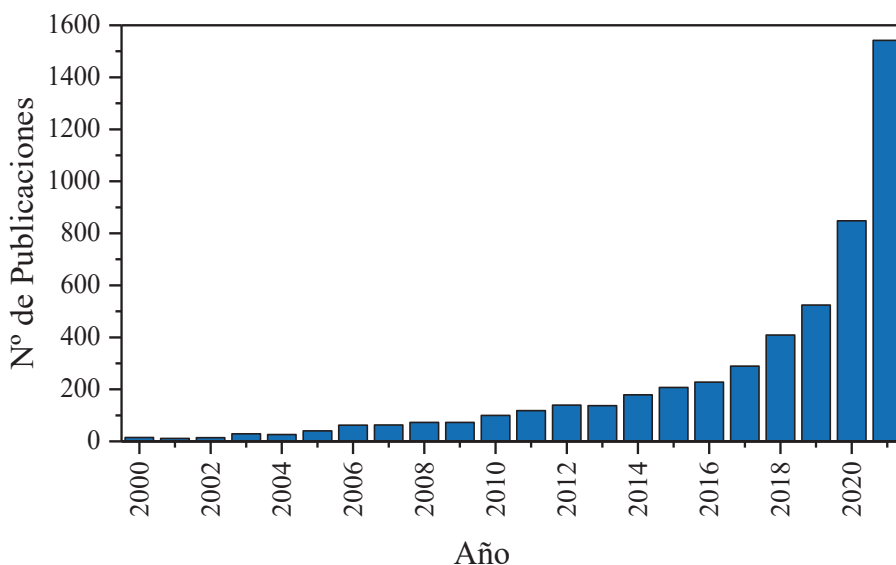


Figura 1-7. Evolución del número de publicaciones que recogen la aplicación de ML al tratamiento de AR.

En los últimos años, la publicación de investigaciones que aplican diferentes técnicas de ML al tratamiento de datos relacionados con el tratamiento de aguas residuales ha aumentado exponencialmente. Tras realizar una búsqueda de publicaciones en la plataforma *Scopus* empleando como palabras clave *Wastewater AND (Machine learning OR Artificial Intelligence)*, se ha podido comprobar como en 2010 eran únicamente una centena las publicaciones que respondían a los criterios de esta búsqueda. Sin embargo, tal y como se ilustra en la Figura 1-7, este número ha crecido hasta situarse en más de 1.500 en 2021, con un aumento de más del 80% desde el año anterior.

Concretamente, se ha producido un auge en la cantidad de investigaciones que tratan de predecir la eficiencia de diferentes tratamientos en la eliminación de contaminantes de las aguas residuales, algunas de las cuales han sido recogidas en la Tabla 1-8. En esta tabla se puede observar cómo tanto el objetivo como las técnicas de ML empleados son diversos, aunque muchos autores centran sus esfuerzos en predecir la eficiencia de los tratamientos en la eliminación de CPE.

Tabla 1-8. Ejemplos del uso de ML en la predicción de eficiencia de tratamientos de AR.

Tratamiento	Técnica ML	Output	Ref.
Adsorción	RF	Capacidad de adsorción	(Zhu <i>et al.</i> , 2022)
Adsorción	RF, GBRT, ANN	Capacidad de adsorción de tetraciclina y sulfametoxazol	(Zhu <i>et al.</i> , 2021)
Floculación	RF	Eficiencia de eliminación de metales pesados	(Lu <i>et al.</i> , 2022)
EDAR	Ada Boost Regression, GBRT y RF	Calidad del efluente (sólidos totales, DBO ₅ y DQO)	(Sharafati <i>et al.</i> , 2020)
EDAR	ANN y SVM	Calidad del efluente (concentración de nitrógeno total)	(Guo <i>et al.</i> , 2015)
EDAR	RF y Deep Neural Network	Sólidos en suspensión y concentración de fósforo total en el efluente	(D. Wang <i>et al.</i> , 2021)
TiO ₂ /UV	ANN	Velocidad de degradación de 78 contaminantes orgánicos	(Z. Jiang <i>et al.</i> , 2020)
Fotocatálisis heterogénea	DT, red bayesiana, SVM, y red neuronal prealimentada	Eliminación de pesticidas	(Vasseghian <i>et al.</i> , 2021)
Diferentes AOP	Response surface methodology y ANN	Eliminación de carbono orgánico total	(C. Zhang <i>et al.</i> , 2021)

RF: *Random forest*; **GBRT:** *Gradient Boosting regression trees*; **ANN:** *Artificial Neural Network*, **SVR:** *Support Vector Regression*; **DT:** *Decision tree*

Como se puede ver, no existe un acuerdo respecto a cuál de las alternativas es más eficiente en la predicción de la calidad del efluente tras el tratamiento de aguas residuales. Sin embargo, son varios los artículos que han llegado a la conclusión de que los métodos basados en árboles de decisión (DT) pueden ser capaces de realizar predicciones más precisas que otros algoritmos, como *Artificial Neural Networks* o *Support Vector Regression* (Bagherzadeh *et al.*, 2021; Elsayed *et al.*, 2022; Zhu *et al.*, 2021).

Por otra parte, a pesar del auge observado en los últimos años en la aplicación de ML para la modelización de diferentes tratamientos de eliminación de contaminantes, existen pocos trabajos que empleen algoritmos predictivos para evaluar la eficacia de los procesos de oxidación avanzada (Z. Jiang *et al.*, 2020; Vasseghian *et al.*, 2021; C. Zhang *et al.*, 2021). Del mismo modo, son muy pocas las publicaciones que han recogido la aplicación de estas técnicas de análisis de datos a procesos de desinfección, si bien las pocas que lo hacen informan sobre la obtención de buenos resultados (Haas, 2004; Noman *et al.*, 2022). Este es el caso del trabajo desarrollado por Sbahi *et al.* (2020), en el que se evaluó el uso de redes neuronales para predicción de resultados de inactivación de *E. coli* en agua residual tratada, obteniendo modelos capaces de predecir el resultado con un margen de error muy bajo (R^2

= 0,97) (Sbahi *et al.*, 2020). Con este precedente, y aun tratándose de un campo de estudio aún por explorar, es sensato confiar en el potencial de esta tecnología para la predicción de resultados de desinfección mediante procesos de oxidación avanzada.

CAPÍTULO 2:

OBJETIVOS Y ESTRUCTURA DE LA TESIS

OBJETIVOS Y ESTRUCTURA DE LA TESIS

Tras la revisión del estado del arte realizada en el primer capítulo, este se centra en detallar los objetivos perseguidos durante la realización de esta Tesis Doctoral.

El objetivo principal de esta investigación es la evaluación de la eficacia en la eliminación de microorganismos patógenos y contaminantes de preocupación emergente mediante la aplicación de procesos de oxidación avanzada basados en la generación de radicales sulfato.

Este propósito, sin embargo, es muy amplio. Por ello, con el fin de definir las diferentes fases de la investigación, se han establecido una serie de sub-objetivos:

1. Realización de una amplia revisión bibliográfica del estado del arte, de forma general de la regeneración de aguas residuales España y, de forma más específica, centrado en la aplicación de SR-AOP para la eliminación de microorganismos patógenos y genes de resistencia a antibióticos.
2. Evaluación de la influencia de las variables que rigen los Procesos de Oxidación Avanzada, como son el tipo de oxidante y su concentración, la presencia e intensidad de radiación UV, la utilización de catalizadores y la composición de la matriz acuosa.
3. Aplicación de técnicas de *Machine Learning* para el análisis de los resultados experimentales obtenidos. Para ello es necesario previamente comprender los conceptos fundamentales de ML y de programación de Python, así como determinar los algoritmos de ML adecuados para el fin propuesto.
4. Evaluación de la escalabilidad de los tratamientos, utilizando para ello una planta piloto.
5. Acoplamiento de SR-AOP con tratamientos convencionales (ozonización) o combinación con otros oxidantes (peróxido de hidrógeno) para intensificar el rendimiento regenerador de los tratamientos.
6. Evaluación de los impactos ambientales asociados a los distintos procesos, empleando para ello técnicas de Análisis del Ciclo de Vida.

A lo largo de este documento se intenta responder a todos los objetivos expuestos en las líneas anteriores. Para ello, el documento se ha dividido en 9 capítulos, en el primero de los cuales se ha recogido la información recopilada durante la revisión bibliográfica realizada

para conocer el estado del arte. Esta revisión ha dado lugar a dos publicaciones, ambas en la revista *Water* (Q2). Estos artículos, así como el resto de publicaciones derivadas de esta Tesis, pueden consultarse en el Anexo I.

En el **capítulo 3** se plasman las diferentes metodologías seguidas a lo largo del desarrollo de la investigación, así como el material y los equipos utilizados.

A continuación, son cuatro los capítulos dedicados a mostrar y discutir los resultados obtenidos. En el **capítulo 4** se recogen los resultados de desinfección derivados de la experimentación realizada a escala laboratorio. En la primera parte del capítulo se ha evaluado la influencia de la composición de la matriz acuosa sobre dos sistemas diferentes: PMS/UV-A y H₂O₂/UV-A. Posteriormente, se ha estudiado la viabilidad de utilizar sulfito de sodio como agente principal de los tratamientos, utilizando para su activación radiación UV-A y diferentes especies de hierro. Estos resultados han sido plasmados en dos artículos publicados en revistas de alto impacto: *Effect of the water matrix and reactor configuration on Enterococcus sp. inactivation by UV-A activated PMS or H₂O₂* (2022; *Journal of Water Process Engineering*, Q1 8/100) y *Photocatalytic activation of sulfite using Fe (II) and Fe (III) for Enterococcus sp. Inactivation in urban wastewater* (2021; *Chemical Engineering Journal*, Q1, 2/54).

Los datos mostrados en el capítulo 4 fueron analizados mediante algoritmos de *Machine Learning*, tal y como se detalla en el **capítulo 5**. En él se expone el proceso de ajuste de los parámetros de tres algoritmos diferentes (árbol de decisión, *random forest* y *gradient boosting regression trees*). Al mismo tiempo, se evalúan diferentes formas de pretratamiento de los datos, con el objetivo de obtener predicciones de desinfección lo más precisas posibles.

Los resultados de los ensayos llevados durante la estancia realizada en la *Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto* (Portugal) se recogen en el **capítulo 6**. En él se evalúa, de nuevo, el sistema PMS/UV-A, utilizando en este caso como contaminantes objetivo 20 contaminantes de preocupación emergente. Al igual que los resultados del capítulo 4, también estos han sido ya publicados, en esta ocasión en la revista *Science of the Total Environment* (Q1, 26/279), bajo el título *UV-A activation of peroxymonosulfate for the removal of micropollutants from secondary treated wastewater* (2021).

El **capítulo 7** es el último dedicado a los resultados, y gira en torno a la aplicación de SR-AOP a escala piloto. En estas condiciones se han evaluado diferentes tratamientos que combinan el uso de PMS en combinación con radiación y, también, con otros oxidantes (H_2O_2 y O_3), para la eliminación de microorganismos, genes de resistencia a antibióticos y contaminantes emergentes. Además de los resultados experimentales, en este capítulo se expone la realización de un Análisis del Ciclo de Vida comparativo de aquellos tratamientos que proporcionaron los mejores resultados en las fases de optimización, permitiendo una visión más global de los tratamientos, no limitada exclusivamente a su eficacia en la eliminación de contaminantes.

Finalmente, en el **capítulo 8** se recogen las principales conclusiones extraídas de la investigación y en el **capítulo 9** se incluyen las referencias bibliográficas utilizadas a lo largo de todo el documento.

CAPÍTULO 3:

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Matrices acuosas utilizadas en los tratamientos

Los procesos de oxidación avanzada han demostrado tener una alta dependencia de la composición de la matriz acuosa en la que se aplican. Durante las diferentes etapas de investigación de esta tesis se emplearon diversas matrices con varios niveles de complejidad, siendo la más simple el agua destilada, obtenida mediante un desionizador Lab-Ion L2 (Comecta) con 4 diodos para la lectura de la conductividad. También se empleó una matriz salina con una concentración de NaCl del 0,9% (m/v). No obstante, la matriz más utilizada en este trabajo fue el agua residual, tanto simulada como real. En las siguientes secciones se describen, con mayor detalle, las características de estas aguas residuales.

3.1.1. Aguas residuales simuladas

Se emplearon dos composiciones diferentes el agua residual simulada (ARS), ambas recogidas en la Tabla 3-1. La composición del ARS₁ se ha extraído de la Guía para la prueba de Productos Químicos elaborada por la OECD (*Organization for Economic Cooperation and Development*, Sección 303A.28) (OECD, 2001), mientras que para el ARS₂ se ha adaptado la composición empleada por Polo-López *et al.* (2012). Tal y como se puede observar, ambas tienen la misma carga de materia inorgánica, pero la ARS₁ tiene una carga de materia orgánica cinco veces superior, siendo la concentración de carbono orgánico disuelto (COD) estimada de 100 mg·L⁻¹. Por tanto, el ARS₂ tiene una composición más similar a la que se puede encontrar en el efluente de un tratamiento secundario.

Para todos los ensayos realizados a escala laboratorio, el ARS se elaboró empleando agua destilada para disolver los diferentes compuestos. Sin embargo, debido al gran volumen de agua empleada durante los tratamientos llevados a cabo a escala piloto, el agua residual simulada fue preparada en estos casos con agua del grifo. Esto supone un riesgo ya que, el cloro residual presente en el agua corriente podría contribuir a la eliminación de las bacterias, impidiendo conocer el efecto real de los tratamientos empleados. Para evitar esto, el agua se recogió en bidones de 100 L y se dejó reposar durante 24 horas. Para garantizar la completa evaporación, la concentración de cloro libre se midió mediante un fotómetro multiparamétrico (Hanna HI83399), haciendo uso de los kits de reactivos HI93701-F de la misma marca.

Tabla 3-1. Composición del agua residual simulada.

Compuesto	ARS ₁ (mg·L ⁻¹)	ARS ₂ (mg·L ⁻¹)
Urea (CH ₄ N ₂ O, <i>Scharlau</i>)	30	6
Peptona de carne (<i>Scharlau</i>)	160	32
Extracto de carne (<i>Scharlau</i>)	110	22
Cloruro sódico (NaCl, <i>Scharlau</i>)	7	7
Cloruro cálcico (CaCl ₂ ·2H ₂ O, <i>Scharlau</i>)	4	4
Fosfato monopotásico (KH ₂ PO ₄ , <i>Scharlau</i>)	28	28
Sulfato de magnesio (MgSO ₄ ·7H ₂ O, <i>Scharlau</i>)	2	2

3.1.2. Aguas residuales reales

Si bien la finalidad del ARS es la de proporcionar una visión de cómo se comportarían los tratamientos en una matriz compleja en situaciones en las que no se tiene acceso a agua real, la realidad es que las composiciones empleadas no terminan de reflejar la complejidad y variabilidad de componentes de las aguas reales.

En los ensayos realizados durante la estancia en la *Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto* (FEUP), se empleó como matriz un agua residual recogida a la salida del tratamiento secundario de una EDAR situada en los alrededores. El agua fue recogida una sola vez y, hasta el momento de su uso, se guardó en garrafas en el frigorífico para preservar su propiedades físico-químicas. Además de la caracterización mostrada en la Tabla 3-2, se realizó un análisis del contenido en metales que reveló una concentración de boro de 109 ppb, siendo este el metal presente en una mayor concentración seguido por el hierro (82 ppb).

Tabla 3-2. Caracterización del efluente secundario recogido en una EDAR del norte de Portugal.

pH	7,6
Conductividad (μs·cm ⁻¹)	954
DQO (mg·L ⁻¹)	39,4
DBO (mg·L ⁻¹)	14,7
Turbidez (NTU)	7,00

Si bien se trata de un agua residual que ya ha sido sometida a tratamiento y cumple con la regulación establecida en la Directiva 91/271/CEE de tratamiento de aguas residuales, la concentración de materia en suspensión en la misma aún era relativamente alta. Teniendo en cuenta que, por lo general, cuanto más limpia esté la muestra de agua a tratar, mejores serán

los resultados obtenidos, el agua recogida fue filtrada antes de los tratamientos empleando filtros con un diámetro de poro de 47 nm y una bomba de vacío (Figura 3-1).



Figura 3-1. Filtros y bomba de vacío empleados para la filtración de agua residual real.

También se empleó agua residual real para evaluar la eficiencia de los tratamientos optimizados a escala piloto. Para ello se recogieron, entre los días 4 y 15 de octubre de 2021, así como el 3 de marzo de 2022, muestras de agua de salida de una EDAR situada en el centro de España. Los tratamientos se realizaron, siempre, con muestras frescas, recogidas a primera hora de la mañana, con el objetivo de garantizar que las características del agua se mantuviesen lo más constantes posibles de un tratamiento a otro.

Tal y como se puede observar en la caracterización recogida en la Tabla 3-3, las muestras recogidas tenían una media de $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de sólidos en suspensión, por lo que no se consideró necesario filtrarlas para su uso. Aun así, se debe tener en cuenta que la planta piloto cuenta con un filtro de seguridad con un diámetro de poro de $25 \mu\text{m}$ (véase sección 3.4.2), por lo que cualquier partícula con un diámetro superior quedaría retenida en el mismo.

Tabla 3-3. Caracterización del agua efluente secundario recogido en una EDAR del centro de España.

pH	$6,92 \pm 0,13$
Conductividad ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	$801 \pm 127,11$
Sólidos en suspensión ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	2 ± 1
DBO ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	$4 \pm 0,71$
DQO ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	$12,38 \pm 0,85$
Pt (Fósforo total) ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	$10,29 \pm 4,62$
N-NH ₄ (N amónico) ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	$0,50 \pm 0,39$
N-NO ₃ (N nitratos) ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	$5,81 \pm 0,93$
N total ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	$8,68 \pm 0,64$

Pt: fósforo total; N-NH₄: nitrógeno amónico; N-NO₃: nitratos.

3.2. Contaminantes objetivo

A lo largo de este trabajo se ha evaluado la eficacia de los tratamientos propuestos en la eliminación de contaminantes emergentes y microorganismos.

3.2.1. Contaminantes emergentes

En las distintas fases de esta investigación, se ha estudiado la eliminación de un total de 21 contaminantes de preocupación emergente diferentes. Estos contaminantes se pueden clasificar en cinco grupos principales, tal y como se recoge en la Tabla 3-4: antibióticos, betabloqueantes, insecticidas, herbicidas y otros fármacos (un anticonvulsivo, un analgésico, un anticoagulante y un antiinflamatorio). Todos ellos han sido adquiridos a Sigma-Aldrich a excepción de la tetraciclina, adquirida a Alfa Aesar.

Tabla 3-4. Clasificación de los contaminantes emergentes objeto de estudio.

Clase	Contaminantes
Insecticidas	Acetamiprid, Metiocarb, Thiacloprid, Thiamethoxam
Herbicidas	Alacloro, Atrazina, Isoproturon, Simazina
Antibióticos	Ciprofloxacino, Enrofloxacin, Eritromicina, Ofloxacino, Tetraciclina, Trimetoprima
Betabloqueantes	Atenolol, Metoprolol, Propranolol
Otros fármacos	Carbamazepina (anticonvulsivo), Tramadol (analgésico), Warfarina (anticoagulante), Diclofenaco (antiinflamatorio)

En la etapa de la investigación realizada a escala laboratorio se estudió la eliminación simultánea de 20 de los contaminantes emergentes objetivo (excluido el diclofenaco). Para ello, se preparó una solución madre con una concentración de $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de cada uno de ellos utilizando etanol (EtOH, VWR International) como disolvente.

Por otra parte, solamente la eliminación de dos fármacos (tetraciclina y diclofenaco) fue evaluada a escala piloto. Durante estos tratamientos se evaluó la degradación de 5 mg L^{-1} de cada uno de los contaminantes, añadiendo la concentración necesaria de cada uno de ellos directamente en el tanque de alimentación.

3.2.2. Microorganismos

Durante la experimentación se emplearon diferentes especies de microorganismos para contaminar las muestras de agua residual simulada. Además, es necesario establecer una

diferenciación en base a la procedencia de los microorganismos ya que, a lo largo de las diferentes etapas de la investigación, se han usado tanto cepas salvajes como cepas comerciales.

Cepas salvajes

En la fase de trabajo a escala laboratorio se emplearon cepas de *Escherichia coli* y *Enterococcus sp.* previamente aisladas de una muestra de agua real (ver sección 3.6.3). y conservadas a -4°C.

Cepas comerciales

A escala piloto se utilizaron tres microorganismos diferentes, dos bacterias gram-positivas y una bacteria gram-negativa. Para ello, se adquirieron cepas comerciales de *Enterococcus faecalis* (ATCC® 29212™), *Escherichia coli* (ATCC® 25922™) y *Staphylococcus aureus* (ATCC® 6538™) en forma de pellets de microorganismos MiStraCon® Swabs2 (Scharlau).

3.3. Reactivos

Además de los reactivos empleados para la síntesis del agua residual simulada, en esta investigación se utilizaron numerosos compuestos durante los tratamientos y en la realización de análisis.

3.3.1. Oxidantes

Una de las formas en que se pueden generar radicales durante los AOP es mediante la activación de diferentes especies oxidantes. En este trabajo, el oxidante más empleado fue el peroximonosulfato de potasio (PMS), utilizando concentraciones entre 0,01 mM y 1,5 mM. Este compuesto es comercializado por Sigma-Aldrich como una triple sal de potasio ($\text{KHSO}_5 \cdot 0.5\text{KHSO}_4 \cdot 0.5\text{K}_2\text{SO}_4$; Oxone®). Además, las eficacias del sulfito de sodio (Na_2SO_3 ; 0,1-10 mM; Chem-Lab) y del peróxido de hidrógeno (H_2O_2 , 30% v/v; 0,1-3 mM; Chem-Lab) también fueron evaluadas.

3.3.2. Compuestos de hierro

El poder catalítico de tres compuestos de hierro diferentes fue evaluado a lo largo de la investigación, siendo estos el sulfato de hierro (II) heptahidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Scharlau), el citrato de hierro (III) (Fe(III)-Cit ; $\text{C}_6\text{H}_5\text{FeO}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$, ACROS Organics) y el óxido de hierro

(III) ($\text{C}_6\text{H}_5\text{FeO}_7$, ACROS Organics). Se utilizaron diferentes concentraciones, con valores comprendidos entre 0,05 y 5 mM.

También se emplearon sales de hierro en la realización de determinados análisis (p.ej. actinometría). Además del sulfato de hierro (II), que cumple una doble función, se utilizó sulfato de hierro (III) ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, Chem-Lab).

3.3.3. Scavengers

Los *scavengers* o secuestradores de radicales son compuestos que reaccionan rápidamente con uno o varios de los radicales generados durante los tratamientos y que permiten tener una idea de las especies reactivas involucradas en los mismos. En esta investigación se utilizó metanol (MeOH , CH_3OH , Chem-Lab) como secuestrador de radicales $\text{HO}^\bullet$ y $\text{SO}_4^{\bullet-}$ y terbutanol (TBA, $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$, Scharlau) y alcohol furfurílico (FFA, $\text{C}_5\text{H}_6\text{O}_2$, Sigma-Aldrich) como *scavengers* de radicales $\text{HO}^\bullet$ y oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$), respectivamente (Chenxu Li *et al.*, 2019; Neta *et al.*, 1982). Estos compuestos se emplearon en concentraciones que varían entre 1 y 30 mM, en función de la concentración de oxidante utilizada en el tratamiento.

3.3.4. Sales inorgánicas

Durante el estudio de la influencia de la composición de la matriz acuosa sobre los procesos de oxidación avanzada, uno de los factores evaluados ha sido el efecto de la presencia de diversos aniones inorgánicos. Además del NaCl presente en la solución salina empleada como matriz en algunos tratamientos, otros compuestos utilizados para este fin han sido el bromuro de sodio (NaBr , Scharlau), nitrito de sodio (NaNO_2 , Scharlau), fluoruro de sodio (NaF , Scharlau), nitrato de sodio (NaNO_3 , Scharlau) y fosfato de sodio anhidro (Na_3PO_4 , Scharlau). La concentración de estas sales evaluadas fue 5 mM.

3.3.5. Otros reactivos

El pH durante los tratamientos se controló mediante la adición de hidróxido de sodio (NaOH , Panreac) y ácido sulfúrico concentrado (HSO_4 , 95-97%, JT Baker).

Además, se utilizaron otros reactivos en la realización de análisis. En la cuantificación de la irradiación mediante actinometrías (sección 3.10.4) se emplearon 1,10-fenantrolina ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2$, Sigma-Aldrich), acetato de sodio ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Chem-Lab) y ácido Oxálico ($\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Chem-Lab). Por otra parte, se empleó N,N-Dietil-1,4-fenilendiamonio sulfato (DPD; $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$, 99 wt.%, Fluka), bifosfato de sodio

(NaH_2PO_4 , Chem-Lab) e hidrogenofosfato de disodio (Na_2HPO_4 ; 99 wt.%, Fluka) para la cuantificación de PMS (sección 3.10.3). Finalmente, se utilizó glicerina ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$, Scharlau) durante la preparación de crioviales (sección 3.6.3); acetonitrilo ($\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$, Honeywell), ácido fórmico (CH_2O_2 , Merk) y ácido acético (CH_3COOH , Merk) para la detección de compuestos orgánicos mediante cromatografía líquida (sección 3.7) y trisulfonato de potasio índico ($\text{C}_{16}\text{H}_7\text{K}_3\text{N}_2\text{O}_{11}\text{S}_3$, Sigma-Aldrich) en la detección de ozono (sección 3.10.3).

3.4. Instalaciones experimentales

3.4.1. Reactores a escala laboratorio

A lo largo de las diferentes fases de la experimentación, se emplearon reactores en discontinuo de 2 volúmenes diferentes (500 mL y 1000 mL). En los ensayos de desinfección a escala laboratorio se utilizó, también, un reactor tubular con recirculación.

Reactor 500 mL

En todos los tratamientos de desinfección ensayados en discontinuo se empleó como reactor un vaso de precipitado de 500 mL de capacidad. Esta configuración se empleó para evaluar la activación, tanto física como química, de diversos oxidantes. Los catalizadores férricos empleados para la activación se han descrito en la sección 3.3.2, por lo que aquí se describen, únicamente, los métodos de activación física, para los que ha sido necesario modificar ligeramente la configuración experimental.

El método de activación más empleado a lo largo de toda la investigación fue la radiación UV-A. Para ello, el vaso de reacción se colocó sobre un agitador magnético y, a su vez, se colocaron dos lámparas fluorescentes de gas de mercurio (Philips TL 6W BLB 1FM/10X25CC) sobre el reactor a una distancia tal que la radiación sobre la superficie del agua era de $8,5 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$.

Para evaluar la activación con ultrasonidos, se utilizó un baño de US Elma S 40 H. Este equipo emite ondas a una frecuencia de 37 kHz y tiene una potencia eficaz de 140 W. Para controlar la temperatura del agua, y evitar el sobrecalentamiento de la muestra durante el tratamiento, se emplearon acumuladores de frío.

Finalmente, esta configuración se empleó, también, para evaluar el efecto de la temperatura en la activación del sulfito de sodio. En este caso, la placa de agitación magnética fue remplazada por un agitador magnético con calefacción (LLG-uniSTIRRER 3) con control

de temperatura integrado. Para poder mantener la temperatura constante durante el tiempo del tratamiento, se acopló a este equipo un sensor Pt1000 de la misma marca.

Reactor 1L

Se empleó un reactor cilíndrico de 1 L de capacidad para estudiar la activación de PMS para la eliminación de contaminantes emergentes. Al igual que se hizo al utilizar el reactor de 500 mL, se empleó un agitador magnético para garantizar una distribución homogénea de los contaminantes y el oxidante en todo el volumen del reactor.

Para la activación del oxidante, este reactor se utilizó en combinación con cuatro LEDs emitiendo radiación en la región UV-A ($\lambda = 385 \text{ nm}$). Estos LEDs se dispusieron en las caras internas de un cubo metálico, en cuyo interior se situó, posteriormente, el reactor de forma que todas las lámparas se situaran a la misma distancia (tal y como se muestra en la Figura 3-2). Para evitar el sobrecalentamiento de la instalación, todos los LEDs se equiparon con un ventilador eléctrico.

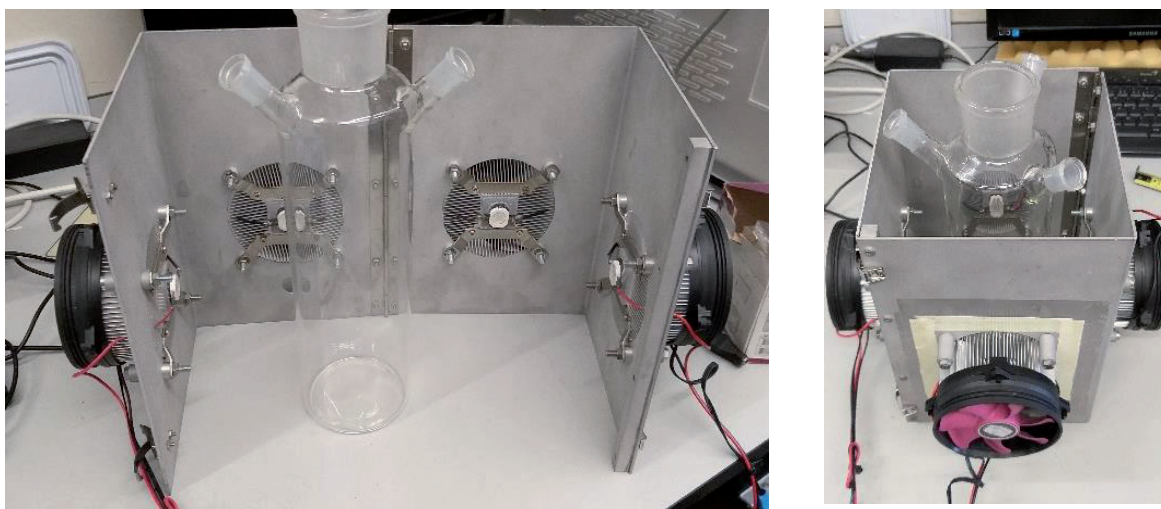


Figura 3-2. Configuración con reactor *batch* de 1 L.

Reactor tubular

Un reactor tubular permite, en tratamientos que involucran el uso de radiación, una distribución más homogénea de esta. Por ello, una parte importante de los ensayos de desinfección realizados a escala laboratorio se llevaron a cabo en una instalación cuyo elemento principal es un pequeño reactor tubular hueco, en el que se pusieron en contacto el agua a tratar y la radiación UV. Aunque los reactores tubulares pueden emplearse para tratar el agua de forma continua, esta instalación se configuró de forma que el agua de salida del

reactor se devuelve al tanque de alimentación, cerrando un ciclo en que el fluido es recirculado continuamente.

Tal y como se observa en la Figura 3-3, existen dos circuitos claramente diferenciados. En primer lugar, la instalación dispone de un circuito hidráulico encargado de favorecer la circulación continua del fluido para su tratamiento. En segundo lugar, un circuito eléctrico permite el encendido de una lámpara y, por ende, la generación de radiación UV-A.

Un circuito hidráulico es un sistema formado por un conjunto de elementos conectados entre sí con la finalidad de transportar el fluido. Esta instalación es sencilla, ya que únicamente cuenta con un reactor tubular hueco, una bomba y un depósito de alimentación al reactor, además de conductos de goma de 15 mm de diámetro que conectan estos elementos.

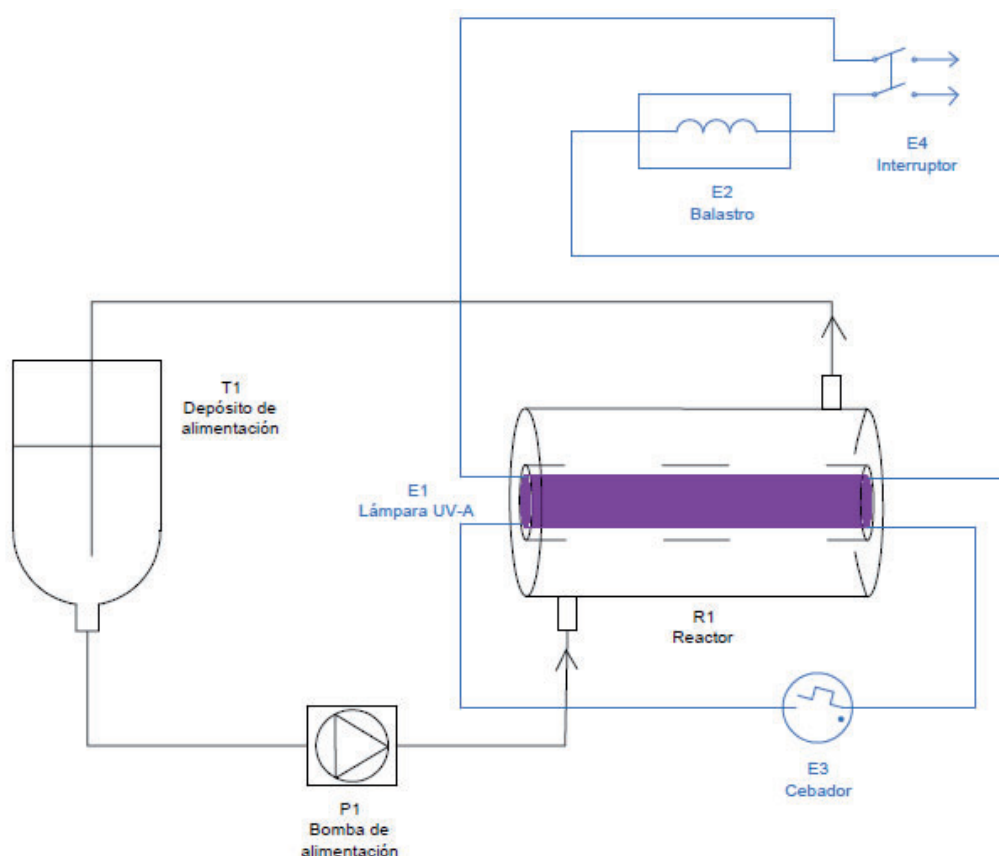


Figura 3-3. Esquema de reactor tubular con recirculación.

Como depósito de alimentación del sistema (T1) se empleó un recipiente cilíndrico de vidrio de 2 L de capacidad provisto de una apertura en la parte inferior. Desde este elemento se alimenta el reactor por medio de una tubería conectada en la apertura inferior del depósito gracias a la acción de la bomba de alimentación (P1). Esta última es una bomba centrífuga

con acoplamiento magnético (NDP 35/3, Flojet), capaz de proporcionar un flujo máximo de $35 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ y una altura máxima de 2,3 m.

Tal y como se ha mencionado previamente, el reactor (R1) es el elemento más importante de la instalación ya que en él tenía lugar la reacción fotoquímica. Está formado por dos cabezales de policloruro de vinilo en los que se sostienen dos cilindros concéntricos de 159 mm de largo. El cilindro exterior, de polimetilmetacrilato, tiene un diámetro de 54 mm, mientras que el interior, de cuarzo, tiene un diámetro de 30 mm. Esto implica que el reactor tiene un volumen útil total de $251,75 \text{ cm}^3$. El reactor se encontraba colocado en posición horizontal dentro de la instalación. El agua se recirculaba al depósito de alimentación mediante una conducción conectada a la parte superior del reactor.

El circuito eléctrico está formado por una serie de elementos que, funcionando en conjunto, permiten encender la lámpara de luz ultravioleta (E1). En esta instalación, la radiación se generó mediante una lámpara fluorescente de gas de mercurio (Philips TL 6W BLB 1FM/10X25CC) que emitía una radiación con una longitud de onda pico de 370 nm. El consumo nominal de la lámpara es de 6W cuando se le aplica una corriente de 170 mA.

Si bien la lámpara es el elemento principal del circuito, para que se encendiera era necesario precalentar los electrodos, función que llevaba a cabo el cebador (Philips S2). Además, para evitar posibles sobrecalentamientos, el circuito cuenta también con un balastro (Helvar L 13 D 230 V 60 Hz) que regulaba el voltaje que recibe la lámpara (E2). Por último, el sistema dispone de un interruptor (E4) que permitía interrumpir el paso de la corriente.

3.4.2. Planta piloto

La instalación de mayores dimensiones utilizada durante la investigación fue una instalación de la marca APRIA Systems, modelo Photobench LED275-0.8/LED365-16/450-16a (Figura 3-4). Este equipo es una planta piloto diseñada en colaboración con APRIA Systems, empresa posteriormente encargada de su fabricación y traslado a las instalaciones de la Universidad Politécnica de Madrid.



Figura 3-4. Planta piloto Photobench LED275-0.8/LED365-16/450-16a (APRIA Systems): vista frontal y posterior.

Tal y como se puede ver en el diagrama P&ID (Figura 3-5), los elementos principales de la planta son los dos fotorreactores anulares dispuestos en paralelo. Ambos fotorreactores están formados por dos tubos concéntricos, estando las lámparas LED ubicadas en el tubo interior mientras que el agua a tratar fluye por el tubo exterior. A pesar de estar dispuestos en paralelo, no es posible operar con los dos reactores de forma simultánea. Uno de ellos cuenta con una lámpara LED emisora de radiación ultravioleta en la región de UV-C, mientras que el otro cuenta con una lámpara LED capaz de emitir tanto radiación ultravioleta en la región UV-A como radiación en el espectro visible (Vis).

La instalación cuenta, también, con una unidad de generación de ozono. Esto ofrece la posibilidad de incorporar una etapa de ozonización antes del tratamiento fotoquímico (independientemente del tipo de radiación seleccionada), así como de utilizar únicamente la ozonización como tratamiento principal. Con el objetivo de controlar los gases generados durante este proceso, la planta dispone, también, de un extractor de aire en línea con un filtro de carbón activado de la marca Kosner (modelo KE-100). Este filtro se encuentra situado sobre el tanque de alimentación y permite el paso de un caudal de aire máximo de $198 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ (trabajando a 2.200 rpm).

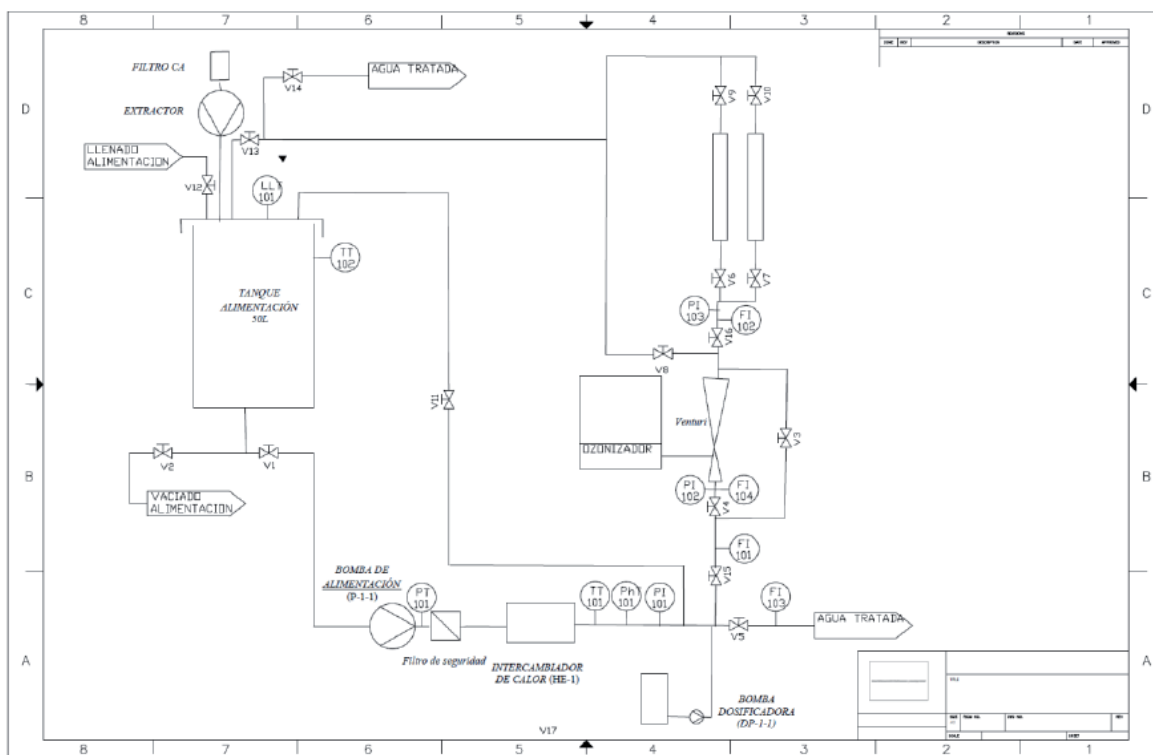


Figura 3-5. Planta piloto Photobench LED275-0.8/LED365-16/450-16a (APRIA Systems):
Diagrama P&ID.

Por otra parte, la instalación permite el trabajo en condiciones de temperatura controlada, al incluir un sistema de control de temperatura formado por un intercambiador de calor, un baño termostatzado y una sonda de temperatura externa.

Finalmente, y aunque no fue empleado en este trabajo, la planta incluye un sistema de dosificación de reactivos (formado por una bomba de dosificación y un tanque independiente) con el objetivo de poder añadir productos químicos de forma controlada durante los tratamientos.

Las protecciones de los equipos y los elementos de maniobra tales como sistemas de encendido, marcha y parada de la instalación, pulsadores, interruptores, pantallas de visualización de instrumentos, etc. se encuentran en una envolvente eléctrica y de maniobra integradas en un armario eléctrico de poliéster con grado de protección IP adecuado para su operación en laboratorio (Figura 3-6). Dicha envolvente contiene, también, un controlador lógico programable (PLC, *Programmable Logic Controller*) para la monitorización, control y regulación de la temperatura y de la potencia consumida por las lámparas LED.



Figura 3-6. Planta piloto Photobench LED275-0.8/LED365-16/450-16a (APRIA Systems):
Armario eléctrico.

En las siguientes secciones se explica con mayor detalle cada una de las partes principales de la instalación.

Bomba de alimentación

El sistema cuenta con una única bomba de alimentación (CM 1-3; Grudfos), cuya función principal es la de establecer un flujo continuo en el interior de la instalación. Así, la bomba se alimenta de agua procedente del tanque de alimentación (50 L; Etatron) y la impulsa a través de los diferentes módulos para su tratamiento. Este equipo tiene un caudal nominal de $1.700 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$ y una presión máxima de operación de 16 bar.

Con el fin de optimizar la eficacia de los tratamientos, así como de proteger las partes más sensibles del sistema, la instalación dispone de un filtro de seguridad (NW25, Cintropur) colocado a continuación de la bomba de alimentación que impide el paso de sólidos de un diámetro superior a $25 \mu\text{m}$.

Fotorreactores

La planta dispone de un reactor equipado con una lámpara LED que genera radiación en el espectro UV-C y otro capaz de generar, alternativamente, radiación UV-A y visible. La Lámpara LED UV-C se encuentra formada por un total de 80 LEDs ($\lambda = 265\text{-}285 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{pico}} = 275 \text{ nm}$, $I_{\text{rad}} = 10,5 \text{ mW} \cdot \text{LED}^{-1}$) colocados en 4 líneas. Por su parte, la Lámpara LED UV-

A/Vis está formada por 20 LEDs UV-A ($\lambda = 365\text{-}370\text{ nm}$, $I_{\text{rad}} = 1.200\text{ mW}$) y 20 LEDs Vis, colocados alternativamente en 4 líneas. Con estas características, la radiación máxima teórica emitida por las lámparas de UV-C, UV-A y VIS es $93\text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$, $1.973\text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$ y $2.969\text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$, respectivamente. Sin embargo, la potencia total irradiada no es un valor fijo, sino que puede ser regulado en cada ensayo.

Ambos reactores están fabricados en vidrio borosilicatado y, como se puede ver en la Figura 3-7, están protegidos con una carcasa de ácido poliláctico en color negro. Además, también incluyen en la parte superior un sistema de refrigeración por aire equipado con una sonda de temperatura, lo cual permite preservar el potencial de irradiación y prolongar la vida útil de los LEDs.

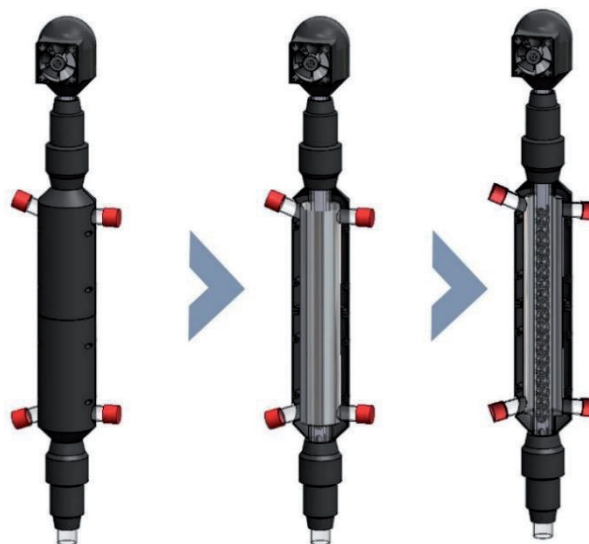


Figura 3-7. Planta piloto Photobench LED275-0.8/LED365-16/450-16a (APRIA Systems):

Modelos en 3D de los reactores fotoquímicos.

Debido a la baja resistencia del vidrio, el caudal máximo de operación recomendado en ambos reactores es de $650\text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$, con una presión máxima asociada de 1 bar. Al tener la presión máxima permitida más baja de toda la instalación, fue esta unidad la que limitó el caudal de trabajo durante los tratamientos.

Sistema de ozonización

La segunda técnica de tratamiento del agua que permite esta instalación es la ozonización. El sistema de ozonización (Figura 3-8) está compuesto por una unidad de generación de

ozono y un tubo Venturi para la dosificación en línea del ozono generado. El generador de ozono (GHBZO3-E, ZonoSistem) produce una dosis de ozono regulable, con un flujo máximo de $2,5 \text{ g}\cdot\text{h}^{-1}$.

El agua de salida de esta unidad puede enviarse a los reactores fotoquímicos, o directamente de vuelta al tanque de alimentación si no se quiere realizar un segundo tratamiento. Del mismo modo, esta unidad puede no utilizarse si únicamente se quiere realizar un tratamiento fotoquímico.



Figura 3-8. Planta piloto Photobench LED275-0.8/LED365-16/450-16a (APRIA Systems):
Sistema de ozonización.

Sistema de control

Son varios los elementos de control (sensores e indicadores) con los que cuenta la instalación. Algunos de ellos tienen la única finalidad de facilitar su manejo, mientras que otras se han instalado como medida de seguridad.

El tanque de alimentación cuenta con un sensor de nivel tipo boya flotante para controlar el nivel. Esta información se envía al PLC situado en el cuadro eléctrico de forma que, si el nivel de la planta es demasiado bajo, se produce una parada automática del sistema para evitar trabajar sin fluido, lo que dañaría, entre otras cosas, la bomba de alimentación.

El sistema de control también incluye dos transmisores de temperatura que monitorizan, en tiempo real, la temperatura de la corriente. Concretamente, estos sensores se encuentran situados en la corriente de entrada al tren de tratamiento y en el tanque de alimentación (TT101 y TT102 respectivamente en el P&ID).

El tercer y último transmisor de la planta es un presostato. Gracias a él se efectúa una parada automática del tratamiento en caso de sobrepresión. Además, son tres los medidores de presión que proporcionan una lectura visual de la presión en las distintas corrientes. De acuerdo con la nomenclatura que se puede encontrar en el P&ID, estos son:

- PI 101: corriente de entrada al proceso.
- PI 102: corriente de entrada a la unidad de ozonización.
- PI 103: corriente de entrada a la unidad fotoquímica.

Adicionalmente, son tres los caudalímetros que permiten controlar el caudal de líquido que pasa por las unidades. Estos elementos son, únicamente, indicadores visuales del flujo volumétrico, por lo que el valor que indican no se envía en ningún momento al PLC. En la Figura 3-9 se pueden observar, de izquierda a derecha, los indicadores FI 101, FI 102 y FI 103, que indican los caudales de entrada al proceso, a la unidad fotoquímica y de salida, respectivamente.



Figura 3-9. Planta piloto Photobench LED275-0.8/LED365-16/450-16a (APRIA Systems):
Caudalímetros F101, F102 y F103.

Por otra parte, el sistema de control de temperatura consta de dos elementos principales, más allá del sensor previamente mencionado. En primer lugar, la instalación cuenta con un

intercambiador de calor de carcasa y tubos (Watergeat EVO 40kW, AstralPool), situado a continuación del filtro de seguridad, cuya función es compensar el posible aumento de temperatura debido al bombeo y tratamiento fotoquímico. De forma adicional, un baño de refrigeración (LT ecocool™ 150, Grant) controla la temperatura del proceso gracias a la información enviada por los sensores.

Otro parámetro que puede resultar interesante controlar durante los tratamientos es el pH del agua. Para ello, la instalación cuenta con un controlador en línea compuesto por una sonda de pH y temperatura (Figura 3-10A) y un transmisor analítico (Figura 3-10b) que muestra el valor recogido por la sonda (ambos de la marca Mettler-Toledo).



Figura 3-10. Planta piloto Photobench LED275-0.8/LED365-16/450-16a (APRIA Systems): A) sensor de pH y temperatura y B) transmisor analítico.

3.5. Procedimientos experimentales

3.5.1. Tratamientos para la eliminación de contaminantes emergentes

Para la evaluación de la degradación de contaminantes mediante activación fotolítica del PMS se utilizó el reactor de 1 L, en cuyo interior se depositó la cantidad necesaria de la dilución madre de forma que la concentración inicial de cada uno de los 20 CPE (sección 3.2.1) fuera de $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. El etanol se evaporó mediante una corriente de nitrógeno para evitar su interferencia en el resultado de la degradación. Tras añadir el agua residual previamente filtrada, el reactor se llevó a un baño de ultrasonidos durante dos minutos para garantizar la completa disolución de los compuestos orgánicos. Tras 5 minutos más en agitación, se tomó la primera muestra, se encendieron los LEDs y se añadió el PMS (0,05-0,5 mM). Durante los ensayos, realizados a temperatura ambiente, se recogieron muestras de 400 μL a los 5, 10, 20, 30 y 60 minutos, que fueron reservadas en el frigorífico para su posterior análisis.

3.5.2. Tratamientos para la inactivación de microorganismos

El proceso seguido para la realización de los tratamientos fue el mismo para todas las configuraciones de reactor. En primer lugar, se introducía la cantidad de necesaria de agua en el depósito de alimentación (o en el reactor en el caso de los ensayos en *batch*). A escala piloto se trabajó, en todo momento, con un volumen de 35 L. Por otra parte, se utilizó 1 L de agua al trabajar en el reactor tubular a escala laboratorio, siendo el volumen empleado en *batch* de 500 mL. Tras introducir el agua, se ponía en funcionamiento el sistema y se ajustaba el pH haciendo uso de NaOH (1 M) y H₂SO₄ (0,5 M) en los ensayos que así lo requerían. A continuación, se inoculaba la matriz con 2 mL·L⁻¹ del *stock* de microorganismos previamente preparado (ver sección 3.6.4), de forma que se conseguía, en todos los tratamientos, una concentración inicial de 10⁵-10⁶ unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC·mL⁻¹). Con el objetivo de garantizar una distribución homogénea de los microorganismos en toda la matriz, se mantenía el sistema en circulación durante 5-10 min y, a continuación, se tomaba la muestra inicial de la corriente de entrada al depósito (en el caso de los tratamientos en recirculación) o mediante una pipeta (reactor *batch*). Una vez analizada esta muestra, se introducían en el reactor los reactivos necesarios para el tratamiento y se activaban las lámparas y/o el sistema de ozonización. La mayoría de los tratamientos tuvieron una duración de 120 minutos, durante los cuales se tomaron muestras a los 5, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 min para el seguimiento de las cinéticas de desinfección. En los tratamientos que involucraban ozonización, que tuvieron una duración máxima de 60 minutos, las muestras se recogieron a los 2, 5, 7, 10, 15, 20, 30 y 60 min. El volumen de las muestras era dependiente de los análisis a realizar, siendo necesario 1 mL para los análisis microbiológicos y 20 mL en caso de análisis de fitotoxicidad.

3.6. Análisis microbiológico

3.6.1. Protocolo general de trabajo

En un laboratorio de microbiología, seguir un protocolo de limpieza minuciosa es fundamental para poder realizar análisis sin riesgo para la salud de las personas y sin cometer errores en las medidas por contaminación de muestras o material de laboratorio. Con esta premisa como base, todo el material necesario para trabajar (incluyendo el agua destilada) ha de ser estéril. En esta investigación, dicha esterilización se realizó sometiendo el material

a una temperatura de 121 °C y presión de 1 bar durante 15 minutos. Para ello se hizo uso de un autoclave semiautomático de 75 litros de capacidad (Selecta Presoclave 75).

Por otra parte, los análisis se realizaron, en todo momento, en un ambiente estéril. Esto se consiguió, preferentemente, haciendo los análisis en el interior de una campana de flujo laminar (Telstar AV-30/70). Sin embargo, en ocasiones en que no se tenía acceso a este equipo el ambiente estéril se consiguió mediante el uso de un mechero Bunsen.

3.6.2. Medios de cultivo

Un medio de cultivo es un gel o una solución que cuenta con los nutrientes necesarios para permitir, en condiciones apropiadas de temperatura y pH, el crecimiento y reproducción de microorganismos. El único medio líquido empleado en este trabajo fue el caldo de cultivo LB (Scharlau), usado para para la multiplicación de bacterias. El caldo LB está compuesto únicamente por triptona y extracto de levadura, y en él se reproducen de forma eficaz las tres especies de microorganismo utilizadas en esta investigación.

Por otra parte, para el análisis de muestras de agua se emplearon medios de cultivo en gel. Tal y como se recoge en la Tabla 3-5, en este trabajo se utilizaron tanto medios selectivos como no selectivos. Un medio de cultivo es considerado selectivo cuando está concebido de forma que solamente una o varias especies de microorganismos puedan crecer en ellos, al mismo tiempo que se inhibe el crecimiento de otras. El uso de agares selectivos permite, en muestras en que se espera la presencia de varios microorganismos, aislar y poder estudiar el efecto de un tratamiento sobre cada una de las especies por separado.

Tabla 3-5. Medios de cultivo empleados.

Medio de cultivo	Marca	Microorganismo	Observaciones
Agar MacConkey	Scharlau	<i>Escherichia coli</i>	-
Agar Slanetz&Bartley	Scharlau	<i>Enterococcus sp.</i>	Adición de 10 mL·L ⁻¹ TTC 1%
Agar Slanetz&Bartley	Condalab	<i>Enterococcus sp.</i>	No autoclavar
Agar Manitol hipersalino	Scharlau	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Agar PCA (Plate count agar)	Scharlau	Microorganismos aerobios totales	-

Todos los medios de cultivo empleados en esta investigación se adquirieron deshidratados, por lo que fue necesario rehidratarlos en agua destilada siguiendo las instrucciones

proporcionadas por el fabricante. Como norma general, una vez el medio deshidratado se encontraba completamente disuelto, era necesario su esterilización en autoclave.

El caldo de cultivo LB estaba listo para su uso inmediatamente tras su esterilización ya que, tal y como indica su nombre, mantiene su estado líquido. Sin embargo, antes debe alcanzar una temperatura inferior a 50°C, ya que una temperatura demasiado alta podría provocar la muerte de los microorganismos que se quieren replicar.

Por otra parte, una vez autoclavados/llevados a ebullición, los medios de cultivo en gel fueron repartidos en placas de Petri. Todos los medios fueron vertidos aún calientes excepto el agar Slanetz&Bartley (Scharlau). En este caso, se esperó a que la temperatura del medio fuera próxima a 50°C, momento en el que se añadieron 10 mL·L⁻¹ de una solución estéril de TTC al 1% (Scharlau). Tras homogeneizarlo, el medio se distribuyó en las placas.

Una vez alcanzada la temperatura ambiente y solidificado su contenido, las placas se almacenaron en el frigorífico para su uso posterior.

3.6.3. Aislamiento de cepas y preparación de crioviales

Las cepas de *Escherichia coli* y de *Enterococcus sp.* empleadas durante los tratamientos a escala de laboratorio fueron aisladas a partir de una muestra de agua residual procedente de una depuradora de aguas residuales del centro de España, siguiendo el procedimiento ilustrado en la Figura 3-11.

Para el aislamiento, dado que no se conocía la concentración de bacterias en el agua, se realizaron diferentes diluciones de la muestra siguiendo el procedimiento que se explica en detalle en la sección 3.6.5. Una vez preparadas las diluciones, éstas se sembraron mediante el método de placa difusa (sección 3.6.5) en placas previamente preparadas con medio selectivo para las bacterias que se querían aislar (Slanetz&Bartley para *Enterococcus sp.* y MacConkey para *Escherichia coli*). Después de incubar las placas a 37 °C durante el tiempo establecido para cada una de las especies (Tabla 3-6), se observó el crecimiento de las colonias y se retiraron las placas de la estufa.

Para cada una de las especies se escogieron, para un aislamiento lo más eficaz posible, aquellas placas en la que las colonias se encontraban más separadas entre ellas. Con ayuda de un asa de siembra esterilizada con un mechero Bunsen se tomaron 2 o 3 colonias que se inocularon en, aproximadamente, 40 mL de caldo de cultivo LB que se incubó a 37 °C durante 20 ± 4 h.

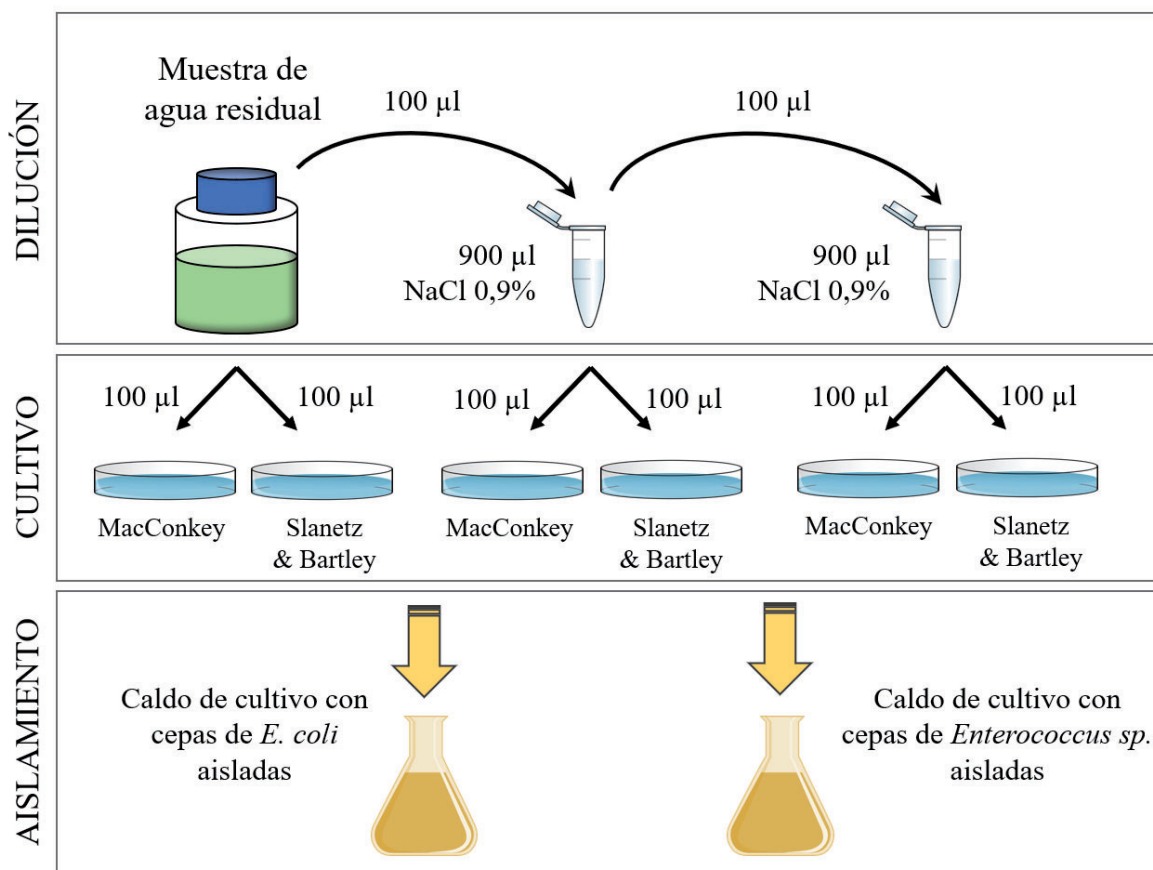


Figura 3-11. Procedimiento para el aislamiento de cepas salvajes.

Pasado este tiempo, se comprobó que la especie que había crecido en cada uno de los caldos de cultivo es la deseada. Para ello, se inoculó 1 mL de caldo con microorganismos en 1 L de agua destilada previamente esterilizada. Tras hacer diluciones y sembrar la muestra en placas preparadas con un medio selectivo, se observó, pasado el tiempo necesario, el crecimiento de colonias.

Las diferentes cepas de microorganismos, tanto si han sido aisladas de agua residual real o adquiridas mediante un proveedor, deben ser conservadas en unas condiciones óptimas que garanticen la supervivencia de las bacterias durante el mayor tiempo posible. Esto se consiguió mediante la preparación de crioviales, que posteriormente fueron guardados en el congelador a -4°C .

Para la preparación de los crioviales se esterilizaron en autoclave dos matraces Erlenmeyer con 3,75 gramos de glicerol y 15 gramos de etanol en cada uno de ellos, y otro con 20 mL de caldo de cultivo LB.

Suponiendo que los crioviales se prepararon a partir de una cepa de cultivo comercial, el primer paso a seguir fue sacar del frigorífico la cepa que se quisiera reproducir y esperar a que se atemperara. Una vez alcanzada la temperatura ambiente, se procedió a abrir el envoltorio y romper la válvula de presión roja para liberar el líquido hidratante, apretando el bulbo superior para rehidratar el pellet. Una vez el pellet se hubo hidratado, el siguiente paso consistió en inocular una placa de cultivo con el bastoncillo e introducir en una estufa a 37 °C durante el tiempo necesario (24/48 h en función de la especie).

Pasado este tiempo, se inoculó una colonia del microorganismo (obtenida de la placa) en el matraz Erlenmeyer con el caldo de cultivo y se volvió a introducir en una estufa a 37 °C. Transcurridas 24 h, se distribuyeron en cada uno de los matraces, previamente preparados, 10 mL de caldo incubado y se homogeneizó bien. Finalmente, se distribuyó la mezcla en crioviales, añadiendo a cada uno un volumen de 0,5 mL, que fueron conservados a -4 °C en un congelador. Al aplicar este método de conservación a cepas salvajes, fue el caldo obtenido tras el aislamiento de un microorganismo el que se distribuyó en los Erlenmeyer previamente preparados con etanol y glicerina.

Por otra parte, también es posible preparar crioviales a partir de un criovial preexistente. En este caso únicamente es necesario inocular el contenido de un vial en el matraz Erlenmeyer con el caldo de cultivo y seguir el mismo procedimiento.

3.6.4. Preparación del *stock* de microorganismos

La mayoría de los ensayos de desinfección realizados en esta investigación se llevaron a cabo sobre muestras contaminadas artificialmente. Para ello fue necesario preparar un caldo con una alta concentración de microorganismos, que posteriormente se inoculó en la matriz para conseguir la concentración inicial de bacterias deseada.

Este caldo se preparó diariamente a partir de crioviales. Esto permitió mantener las mismas condiciones en todos los ensayos realizados ya que, si bien los microorganismos pueden sobrevivir durante varios días en determinadas condiciones, se ha comprobado que la concentración de bacterias desciende exponencialmente, lo cual puede significar, también, que los microorganismos se debiliten siendo menos resistente a los tratamientos.

Para preparar el caldo de microorganismos se debe inocular el contenido de un criovial por cada 50 mL de caldo LB. Tras su incubación a 37°C durante 24 horas, se debe observar un aumento de la turbidez, lo cual es indicativo de que los microorganismos se han replicado

de forma exitosa. El siguiente paso es separar las bacterias del líquido con el objetivo de retirar la mayor cantidad de materia orgánica posible y frenar así el crecimiento. Para ello se centrifuga el caldo a 4.000 rpm durante 15 minutos, obteniendo un pellet de microorganismos como el que se puede ver en la Figura 3-12.

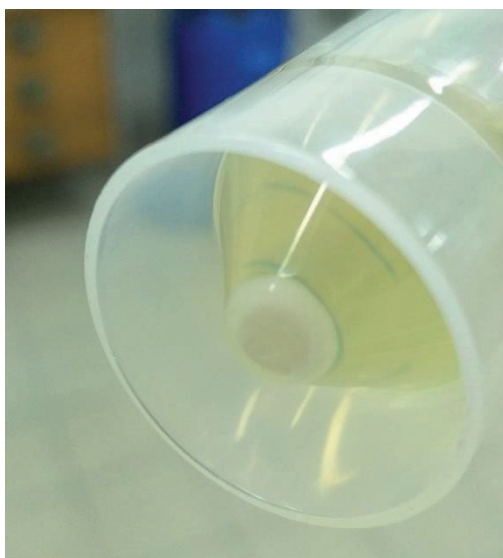


Figura 3-12. *Pellet* bacteriano obtenido después de la centrifugación.

Después de desechar el sobrenadante, el último paso es resuspender las bacterias en una disolución de NaCl al 0,9%, usando para ello tanto volumen como el que había de LB inicialmente. Al finalizar este proceso, se obtiene una suspensión con una concentración de microorganismos de aproximadamente 10^9 UFC·mL⁻¹.

3.6.5. Siembra e incubación

Diluciones seriadas

En la mayoría de las ocasiones se desconoce la concentración de microorganismos que habrá en una muestra a analizar. Por ello, para poder obtener una placa en la que realizar una lectura de resultados adecuada, es necesario diluir la muestra y sembrar varias de estas diluciones.

El primer paso para preparar diluciones decimales es transferir, con ayuda de una micropipeta, 100 µL de la muestra objeto de estudio a un tubo de Eppendorf con 900 µL de solución salina (0,9% NaCl) previamente esterilizada. Posteriormente, esta mezcla se homogeniza haciendo uso de un agitador mecánico. De esta forma, se obtiene una muestra en que la concentración de microorganismos se ha reducido 10 veces (dilución 10^{-1}). Si es necesario, los pasos seguidos para obtener la primera dilución pueden repetirse (utilizando

en cada operación una punta de pipeta nueva), obteniendo en cada repetición una muestra con una concentración 10 veces inferior a la anterior (10^{-2} , 10^{-3} , etc.). Este proceso se realiza hasta obtener las diluciones suficientes que permitan realizar un recuento correcto de microorganismos (Figura 3-13).

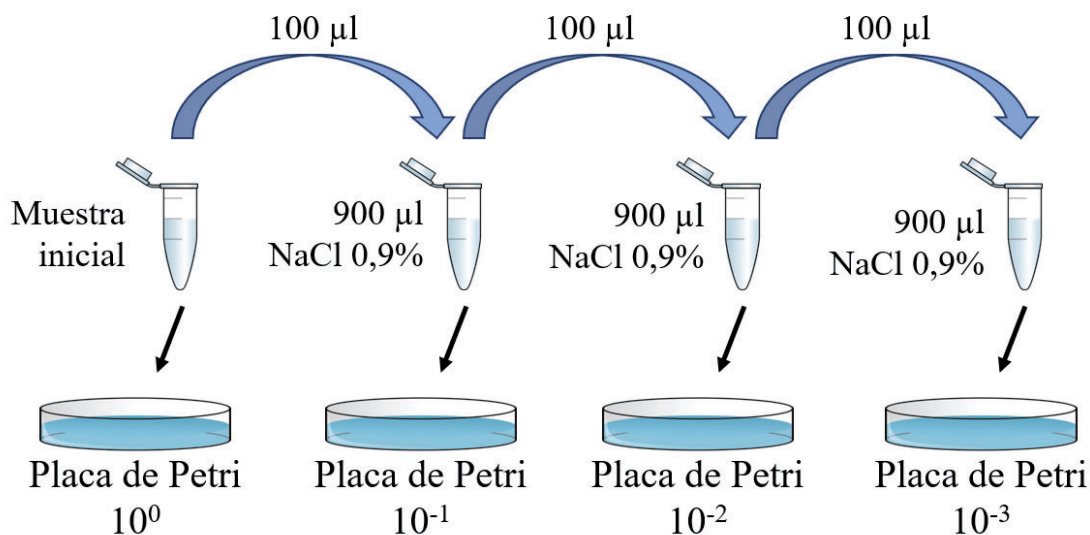


Figura 3-13. Procedimiento para la realización de diluciones seriadas.

Técnicas de siembra

Una vez preparadas las diferentes diluciones, el siguiente paso para el análisis de las muestras es sembrar un volumen determinado en una placa de cultivo previamente preparada, con el fin de promover el crecimiento de los microorganismos.

Existen un gran número de técnicas de cultivo diferentes, en algunas de las cuales los microorganismos se reproducen en el interior del agar, mientras que en otras lo hacen en la superficie. En esta investigación se han empleado dos técnicas de cultivo diferentes en función del límite de detección (LD) deseado, pero en ambas las colonias crecen en la superficie del agar.

La primera técnica, y la más empleada a lo largo del trabajo, es la siembra mediante gotas (*drop plate method*) (Herigstad *et al.*, 2001). Si bien existen diferentes adaptaciones y variantes del método, todas tienen una base común. Esta técnica consiste en dividir una placa en secciones, en cada una de las cuales se depositan varias gotas de una de las diluciones previamente preparadas. En este estudio, las placas fueron divididas en cuatro secciones iguales o cuadrantes (Figura 3-14A), en cada uno de las cuales se depositaron, espaciadas,

tres gotas de 10 μL de una de las diluciones, de forma que se obtuvieron tres réplicas de la misma medida. Tras proceder de la misma forma para cada una de las diluciones preparadas, se obtuvieron placas con un aspecto similar al que se muestra en la Figura 3-14B.

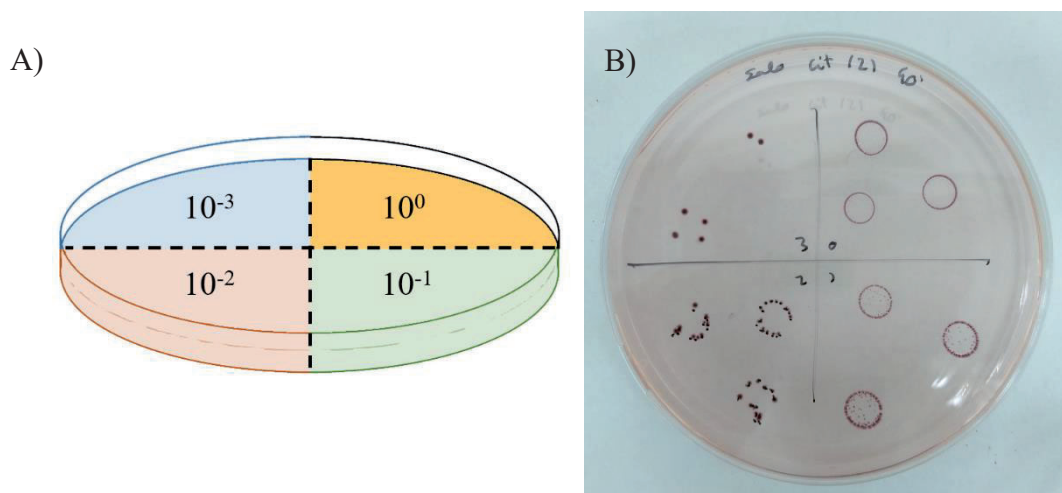


Figura 3-14. Siembra mediante gotas: A) Posible división de una placa y B) resultado obtenido.

Para fomentar el crecimiento de las bacterias, las placas se introdujeron en una estufa (J.P. Selecta[®]) para su incubación a 37 °C. El tiempo de incubación depende del microorganismo a analizar, así como del medio de cultivo empleado. La Tabla 3-6 recoge los tiempos de incubación recomendados para cada uno de los medios de cultivo empleados a lo largo de esta investigación.

Antes de introducir la placa en la estufa es recomendable dejar secar al aire las gotas depositadas (aprox. 30 minutos). De esta forma se obtienen colonias más definidas, facilitando la posterior recogida de resultados. Mediante esta técnica, se consigue obtener un límite de detección de 100 UFC·mL⁻¹.

Tabla 3-6. Tiempo de incubación recomendado para cada especie de microorganismo.

Medio de cultivo	Microorganismo	Tiempo de incubación
Agar MacConkey	<i>Escherichia coli</i>	24h
Agar Slanetz&Bartley	<i>Enterococcus sp.</i>	48 h
Agar Manitol hipersalino	<i>Staphylococcus aureus</i>	36-48h
Agar PCA (Plate count agar)	Microorganismos aerobios totales	48h

La segunda técnica empleada en esta investigación fue el método de placa difusa, definida por el Método Estándar 9215C de la APHA (*American Public Health Association*) (APHA,

2017). Esta técnica permite aumentar el LD hasta las $10 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$, por lo que se sembraron mediante ella únicamente las muestras finales de forma que se pudo obtener un resultado más preciso en tratamientos con tasas de desinfección muy altas, en los que un LD de $100 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ era insuficiente. El método de placa difusa consiste en depositar $100 \mu\text{L}$ de muestra en una placa de cultivo, que posteriormente debe ser esparcida por toda la superficie de la forma más uniforme posible. Para esto, se emplearon perlas de siembra (Figura 3-15A). Al realizar movimientos secos con la placa, estas pequeñas esferas de vidrio de aproximadamente 2 mm de diámetro reparten la muestra por toda la superficie de la placa. En este caso no es imprescindible dejar secar la placa, ya que la mayor parte del agua será absorbida por el medio de cultivo. Por tanto, el último paso es la incubación de las placas, empleando para ello las mismas condiciones que las establecidas en el método anterior. Una vez pasado el tiempo necesario, se obtienen placas con un aspecto similar al que se puede ver en la Figura 3-15B.

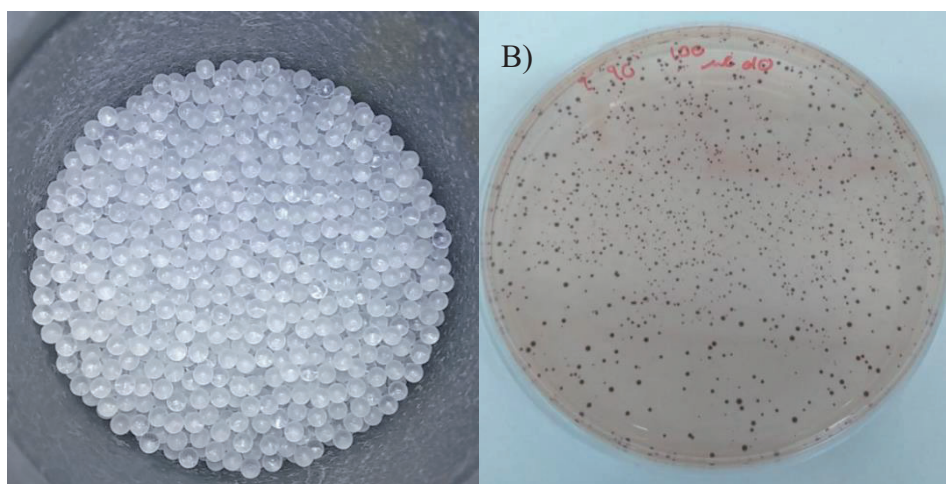


Figura 3-15. Método de placa difusa: A) perlas de siembra y B) placa de ejemplo.

3.6.6. Recuento de microorganismos

La finalidad del cultivo de microorganismos en placas es conocer el número de unidades formadoras de colonias presentes en la muestra. Para esto es necesario, una vez pasado el tiempo de incubación, realizar un recuento de las colonias presentes en la placa.

Dado que para cada muestra se realizaron una serie de diluciones, fue preciso escoger aquella en la que se minimizaba el error en el recuento de microorganismos, debiendo mantenerse el número de colonias entre 30 y 300 por placa para el método de placa difusa y entre 10 y 100 por gota en el método de siembra mediante gotas. Superar este número de colonias

dificulta la labor de recuento y, además, la precisión desciende rápidamente si se contabiliza un número demasiado bajo o alto.

Cuando se trabaja con medios selectivos y distintivos, las colonias de diferentes especies presentan una tinción diferente por lo que se deben contar únicamente aquellas del color deseado. En el caso del agar MacConkey, las colonias de *Escherichia coli* presentan un color rosa intenso mientras que aquellas de otras especies que pudieran crecer tienen un color grisáceo.

Al emplear la técnica de siembra mediante gotas, se realizaron tres recuentos diferentes para cada dilución, por lo que el resultado se expresó como el promedio de los valores obtenidos, reflejando también la desviación estándar. Si en una dilución alguna de las gotas quedó ilegible, se contaron las colonias presentes en las dos restantes, tomando este promedio como resultado.

Por otra parte, al emplear el método de placa difusa es posible que en la placa se desarrollen demasiadas colonias o bien, por algún motivo, parte de la placa quede ilegible. En este caso existe la posibilidad de realizar el recuento únicamente de una porción de superficie y suponer que las colonias se encuentran repartidas de forma uniforme. De esta forma, contando únicamente las colonias presentes en la mitad (o en un cuarto) de la placa se podría estimar el número de UFC total.

En caso de que no crezcan colonias en ninguna de las placas, no es posible afirmar que no exista ninguna colonia en la muestra. Por el contrario, el resultado se expresará como $n < 10 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$, donde n representa el número de unidades formadoras de colonias presentes en la muestra y $10 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ es el límite de detección.

3.6.7. Genes de resistencia a antibióticos: extracción y análisis

Para poder analizar la presencia de uno o varios genes en una muestra de agua residual real, es necesario aislar el ADN de los microorganismos. Esto se consiguió por medio de un proceso de lisis celular, seguido por la eliminación de proteínas e inhibidores.

El primer paso para ello consistió en filtrar las muestras de agua objeto del análisis, reteniendo los microorganismos en membranas de policarbonato de 47 mm de diámetro y un tamaño de poro de $0,27 \mu\text{m}$ (MPC020047H, CHMLAB). Para ello se utilizó un sistema

de filtración compuesto por una rampa de filtrado y bomba de Millipore[®], así como por un Kitasato y embudos desechables previamente esterilizados.

La extracción de ADN se realizó empleando el kit comercial DNeasy[®] PowerWater[®] Kit (QIAGEN) y para ello se siguió el procedimiento descrito por el fabricante. Una vez extraído el ADN, las muestras fueron conservadas a -4°C hasta su posterior análisis.

Dicho análisis, se realizó en la Plataforma Solar de Almería-CIEMAT. En primer lugar, se midió la cantidad total de ADN, usando para ello un espectrofotómetro especializado (NanoDrop Lite) en el que se analizó 1 µL de ADN. Previamente, una vez descongeladas, las muestras se agitaron durante 5 segundos en un agitador vortex y, posteriormente, se centrifugaron en una microcentrífuga durante otros 5 segundos.

El análisis de la concentración de genes de resistencia antibiótica se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *Polymerase Chain Reaction*) cuantitativa en tiempo real. Una PCR es una técnica de replicación del ADN que permite amplificar selectivamente una secuencia de ADN objetivo varios millones de veces para permitir su detección mediante equipos específicos. Los elementos principales que intervienen en una PCR son:

Primers o cebadores: Por cada gen que se quiera detectar serán necesarios dos cebadores, cada uno complementario a una de las dos hebras del ADN. Son secuencias cortas, de entre seis y cuarenta nucleótidos que permiten que la polimerasa inicie la reacción.

dNTP: Nucleótidos necesarios para sintetizar nuevo ADN.

ADN polimerasa: Enzimas que intervienen en el proceso de replicación del ADN emparejando las hebras del ADN molde con los dNTPs.

ADN molde: ADN del gen que se quiere replicar.

Como fuente de dNTPs y ADN polimerasa se empleó PowerUp[™] SYBR[™] Green Master Mix (Thermo Fisher Scientific), un preparado que contiene también el fluoróforo SYBR-Green. Este último se une al ADN proporcionándole fluorescencia, que es posteriormente detectada por el equipo de medida. Para cada uno de los genes estudiados se preparó, en un tubo Eppendorf, una disolución con todos los reactivos necesarios. Por cada una de las muestras a analizar son necesarios 10 µL de PowerUp[™] y 9 µL de una disolución de los dos cebadores en agua estéril para biología molecular, de forma que su concentración sea, para

cada gen, la que se recoge en la Tabla 3-7. Los genes analizados en este estudio, así como las condiciones empleadas durante los análisis mediante PCR se encuentran recogidos en la Tabla 3-7.

Siempre que se realiza una PCR es necesario incluir entre las muestras un blanco o control negativo, en el que no se añada ADN. De esta forma, se garantiza que los reactivos no se encuentren contaminados. Además, cada muestra se analizó por duplicado, por lo que el número total de muestras a analizar para cada gen fue $n \times 2 + 1$ (donde n es el número de muestras extraídas).

Para la preparación de las muestras para su análisis, se colocó en cada hueco de una placa de 96 pocillos 19 μL de la disolución de reactivos preparada. Una vez listo, se añadió 1 μL de la muestra de ADN correspondiente, siguiendo un orden previamente establecido. Una vez preparada, se cubrió la placa con un film adhesivo, asegurando que se adhiriese correctamente a todos los bordes.

Para garantizar la homogeneidad de la mezcla, la placa de 96 pocillos fue centrifugada a 1.500 rpm durante 2 minutos. El análisis de las PCR se realizó en un equipo 7500 Fast Real-Time PCR (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific Inc.), con el software 7500 Software v2.0.6.

Los datos de amplificación se analizaron calculando la relación de cada ARG analizado con respecto al gen 16s rRNA (indicador de la abundancia microbiana total) utilizando el valor del umbral de ciclo (C_t). El C_t representa el número de ciclo de activación a partir del cual la señal fluorescente es detectable. Un valor alto de este parámetro implica que el gen objetivo se encuentra en una concentración muy baja, por lo que fue necesario replicarlo muchas veces antes de ser detectado por el equipo.

Tabla 3-7. Condiciones de operación utilizadas en los análisis PCR en tiempo real.

Gen	Secuencia del primer	Primer [μM]	Condiciones	Ref.
16srRNA	FW: TCCTACGGGAGGCAGCAGT RV: ATTACCGCGGCTGCTGG	0,50	50°C - 1 min; 95°C - 3s, 60°C- 30s (×40); 95°C - 15s; 60°C -1 min; 95°C -15s	(Rocha <i>et al.</i> , 2020)
intI1	FW: GATCGGTCTGAATGCGTGT RV: GCCTTGATGTTACCCGAGAG	0,50	50°C - 1 min; 95°C - 3s, 60°C- 30s (×40); 95°C - 15s; 60°C -1 min; 95°C -15s	(Rocha <i>et al.</i> , 2020)
qnrS	FW: GACGTGCTAACTTGCGTG RV: TGGCATTGTTGGAAACTT	0,60	50°C - 1 min; 95°C - 3s, 60°C- 30s (×40); 95°C - 15s; 60°C -1 min; 95°C -15s	(Rocha <i>et al.</i> , 2020)
sul1	FW: CGCACCGGAAACATCGCTGCAC RV: TGAAGTTCCGCCGCAAGGCTCG	0,30	50°C - 1 min; 95°C - 3s, 60°C- 30s (×40); 95°C - 15s; 60°C -1 min; 95°C -15s	(Rocha <i>et al.</i> , 2020)
blaCTX-M32	FW: CGTCACGCTGTTGTTAGGAA RV: CGCTCATCAGCACGATAAAG	0,30	95°C - 10 min; 95°C - 30s. 55°C - 1 min; 72°C - 1 min (×40); 72°C - 7 min; 60°C - 10s; 95°C -10s	(das Neves <i>et al.</i> , 2020)
tetM	FW: GCAATTCTACTGATTTCTGC RV: CTGTTTGATTACAATTTCCGC	0,20	50°C - 1 min; 95°C - 3s, 60°C- 30s (×40); 95°C - 15s; 60°C -1 min; 95°C -15s	(Rocha <i>et al.</i> , 2020)
blaTEM	FW: TTCCTGTTTTTGCTCACCCAG RV: CTCAAGGATCTTACCGCTGTTG	0,20	50°C - 1 min; 95°C - 3s, 60°C- 30s (×40); 95°C - 15s; 60°C -1 min; 95°C -15s	(Rocha <i>et al.</i> , 2020)
blaOXA-48	FW: AGGCACGTATGAGCAAGATG RV: TGGCTTGTTTGACAATACGC	0,20	95°C – 3 min; 95°C- 30s, 60°C – 45s (×40); 60°C – 1 min; 95 °C – 15s	(Subirats <i>et al.</i> , 2017)
blaVIM	FW: GAGTTGCTTTTGATTGATACAG RV: TCGATGAGAGTCCTTCTAGA	0,20	95°C – 10 min; 95°C- 30s, 55°C – 37s, 72 °C – 20 s (×40); 70°C 1 min; 99 °C – 15s	(Goudarzi <i>et al.</i> , 2019)

FW: forward; RV: reverse

3.7. Análisis de contaminantes de preocupación emergente

3.7.1. Extracción sólido-líquido

La concentración de contaminantes de preocupación emergente en aguas residuales reales, si bien es relevante, por lo general es inferior a los límites de detección de los equipos de análisis disponibles. Es por ello que, para su cuantificación, es necesario concentrar las muestras que se deseen analizar. En esta investigación, las muestras de agua real se concentraron mediante extracción sólido-líquido con posterior elución en EtOH.

Para la extracción sólido líquido (SPE: *solid phase extraction*) se recogieron 100 mL de muestra, posteriormente acidificada con H_2SO_4 hasta obtener un $\text{pH} = 2$ y enriquecida con 50 μL de una solución madre de patrones internos de los contaminantes a analizar. Esto permite aumentar la sensibilidad en la cuantificación de concentraciones bajas de un analito (método de dilución isotópica). Esta solución fue preparada a partir de patrones internos con marcado isotópico (acetamiprid-d3, azithromycin-d5, atrazine-d5, diclofenac-d4, ketoprofen-d3, methiocarb-d3, propranolol-d7 y ofloxacin-d3) adquiridos a Sigma-Aldrich, siendo la concentración de cada uno de los estándares de $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ y empleando EtOH como solvente.

Siguiendo una adaptación del procedimiento de SPE descrito por Ribeiro *et al.* (2015), para la extracción se emplearon cartuchos Oasis[®] HLB (150 mg, 6 mL), acondicionados secuencialmente con 4 mL de EtOH y 4 mL de agua ultrapura acidificada ($\text{pH} = 3$) a un flujo de $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. Una vez acondicionados, los cartuchos se cargaron con cada muestra a un caudal constante de $10 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. Tras el lavado con 4 mL de una solución de EtOH al 5% en agua ultrapura, los cartuchos se secaron al vacío durante 30 min. La elución se realizó con 4 mL de EtOH a $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ para extraer los analitos objetivo. Los extractos se evaporaron hasta la sequedad en un dispositivo Centrivap Concentrator[®] (Labconco[®] Corporation), y los residuos se disolvieron en 250 μL de EtOH y se filtraron a través de filtros de jeringa de politetrafluoroetileno de 0,22 μm (Membrane Solutions) antes del análisis cromatográfico.

3.7.2. Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)

La cromatografía líquida de alta eficiencia es una técnica analítica que permite la detección y cuantificación de diferentes compuestos mediante la separación de los componentes de una mezcla en una columna cromatográfica.

El seguimiento de la degradación de tetraciclina y diclofenaco a escala piloto se realizó mediante un equipo de HLPC Agilent 1100 series. Se utilizó una precolumna KromaPhase 5 μm C18 tipo cartucho (Scharlau) con un tamaño de poro de 100 Å y unas dimensiones de 10×4 mm acoplada a una columna KromaPhase 5 μm C18 (Scharlau), con un tamaño de poro de 100 Å y unas dimensiones de 150×4,6 mm. La fase móvil consistió en ACN y una solución de ácido acético al 2% en agua ultrapura en una relación 70/30 y a un caudal de 1,5 mL·min⁻¹. El volumen de inyección, constante para todas las muestras, fue de 20 μL .

3.7.3. Cromatografía líquida-espectrometría de masas (LCMS)

Para la detección y determinación de la concentración de los contaminantes emergentes presentes en las muestras recogidas durante los tratamientos en los que se perseguía la eliminación simultánea de un gran número de compuestos, se utilizó la cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas (LCMS). La concentración de cada analito se analizó por triplicado utilizando un equipo de cromatografía líquida de ultra alto rendimiento con espectrometría de masas en tándem (UHPLC-MS/MS) Shimadzu Corporation que consiste en un equipo de UHPLC (Nexera) acoplado a un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (serie de espectrometría de masas ultrarrápida LCMS-8040).

Esta técnica permite la cuantificación individual de un gran número de compuestos, ya que combina el poder de separación de la HPLC con la alta selectividad, sensibilidad y precisión en la determinación de la masa molecular de la espectrometría de masas. Los componentes de la muestra separados en la HPLC pasan al espectrómetro de masas a través de una interfase donde son ionizados. Gracias a ello, es posible cuantificar muchos compuestos presentes en la muestra, aunque tengan tiempos de retención muy similares.

En la etapa de separación, se utilizó una columna Kinetex™ 1,7 μm XB-C18 100 Å (100 × 2,1 mm) (Phenomenex Inc.), con una fase móvil formada por una solución acuosa de ácido fórmico (0,1%) y acetonitrilo, en modo de gradiente, con la temperatura del horno de la columna ajustada a 35 °C. El volumen de inyección fue de 10 μL y la temperatura del muestreador automático se mantuvo a 4 °C. La cuantificación de los compuestos objetivo se realizó mediante monitorización de reacción seleccionada, utilizando el ion de fragmento más abundante como cuantificador y el segundo más abundante para la confirmación de la identidad. El voltaje del capilar, flujos de gas de secado y de gas de nebulización, temperatura de desolvatación y de la fuente fueron respectivamente 4,5 kV, 15 dm³·min⁻¹,

3,0 dm³·min⁻¹, 400°C y 250°C. El gas de disociación inducida por colisión fue argón a 230 kPa.

3.8. Cálculo del grado de sinergia

Con el objetivo de cuantificar los posibles efectos sinérgicos que puedan tener lugar durante los tratamientos de inactivación de microorganismos, se calculó el grado de sinergia (S). Para ello, en primer lugar, fue necesario determinar las constantes cinéticas (k) de pseudo-primer orden (ecuación 3.1) para cada uno de los tratamientos. Una vez obtenidos, el grado de sinergia fue calculado siguiendo la expresión recogida en la ecuación 3.2 (Zanias *et al.*, 2020). En ella $k_{1+\dots+n}$ representa la constante cinética del tratamiento que implica la interacción de 2 o más factores, siendo k_1 - k_n las constantes cinéticas de los tratamientos con un solo agente (p.ej. PMS, UV-A o H₂O₂).

$$\log \frac{N_t}{N_o} = -k \cdot t \quad (3.1)$$

$$S(\%) = \frac{k_{1+\dots+n} - k_1 - \dots - k_n}{k_{1+\dots+n}} \times 100 \quad (3.2)$$

Del mismo modo, se calculó el grado de sinergia para la degradación de cada uno de los contaminantes en los ensayos de degradación simultánea de 20 contaminantes emergentes. Tras calcular las constantes cinéticas de pseudo-primer orden para cada uno de los tratamientos, el grado de sinergia se calculó siguiendo la expresión recogida en la ecuación 3.3 (Zanias *et al.*, 2020). Esta ecuación es una particularización de la ecuación 3.2 donde $k_{\text{PMS+UV-A}}$ es la constante cinética de pseudo-primer orden en el tratamiento que combina PMS y UV-A y k_{PMS} y $k_{\text{UV-A}}$ las constantes de degradación en presencia únicamente de PMS y UV-A respectivamente

$$S(\%) = \frac{k_{\text{PMS+UV-A}} - k_{\text{PMS}} - k_{\text{UV-A}}}{k_{\text{PMS+UV-A}}} \times 100 \quad (3.3)$$

3.9. Análisis de fitotoxicidad

La evaluación de la fitotoxicidad se llevó a cabo empleando el método de germinación de semillas. Esta metodología no devuelve un valor objetivo de toxicidad de la muestra, sino que permite detectar, mediante la comparación del crecimiento de las semillas germinadas, un aumento o disminución de la fitotoxicidad tras los tratamientos.

Para los ensayos de fitotoxicidad realizados durante la estancia en la FEUP, se utilizó Phytotestkit. Este kit, comercializado por la empresa ECOTest s.l., cumple con la Norma ISO 18763 y evalúa el crecimiento de tres especies diferentes: *Sorghum saccharatum*, *Lepidium sativum*, *Sinapis alba*. En este caso, siguiendo las instrucciones del fabricante, para evaluar la toxicidad se colocaron 10 semillas una misma especie sobre el papel de filtro suministrado y se añadieron 20 mL de la muestra a analizar. Este procedimiento se repitió para las tres especies.

Un método similar se empleó en el resto del análisis de fitotoxicidad realizados, si bien las semillas empleadas pertenecían a las especies *Solanum Lycopersicum* (Tomate) y *Raphanus sativus* (Rábano). Aunque en este caso no se empleó un kit comercial, este método es ampliamente utilizado y ha sido descrito por varios autores (Balestri *et al.*, 2019; Ghanbari *et al.*, 2021). Siguiendo la metodología descrita por Ghanbari *et al.* (2021), para cada muestra se colocaron 15 semillas de una de las especies en una placa de Petri en la que previamente se había colocado un papel de filtro, y se añadieron 10 mL de la muestra a analizar. Al igual que en el caso anterior, este procedimiento se repitió para ambas especies.

En ambos casos, las semillas se incubaron durante 72 h a 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$). En la Figura 3-16 se puede observar la evolución diaria de un análisis realizado empleando semillas de *Raphanus sativus*. Pasado este tiempo, los brotes fueron separados cuidadosamente con ayuda de unas pinzas y fotografiados. Se empleó *ImageJ*, un programa de procesamiento de imágenes, para medir su longitud. Este es un software desarrollado en el dominio público, por lo que no se necesita licencia para su uso.

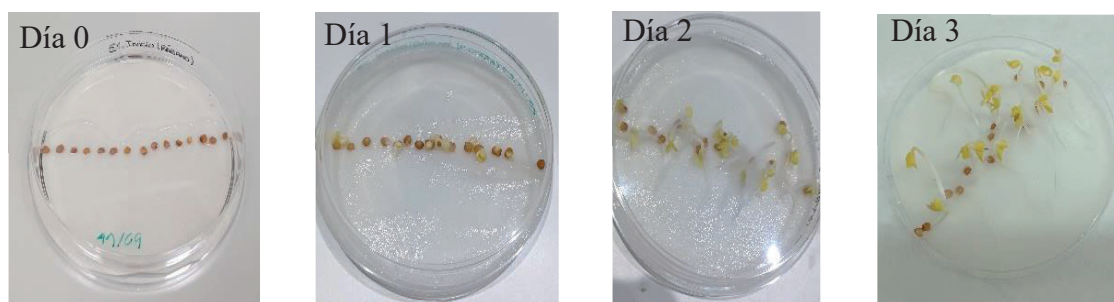


Figura 3-16. Evolución diaria de semillas de *Raphanus sativus* en un análisis de fitotoxicidad.

3.10. Análisis fisicoquímicos

3.10.1. pH

Para la determinación del pH durante los ensayos realizado en la Universidad Politécnica de Madrid se utilizó un electrodo Hamilton FlushTrode acoplado a un analizador de pH PC8 de la marca XS Instruments. Por otra parte, se utilizó un medidor de pH pHenomenal® pH 1100L (VWR) para los ajustes de pH durante la estancia realizada en la FEUP. Para asegurar la fiabilidad de las medidas, ambos instrumentos deben ser calibrados de forma regular mediante disoluciones tampón de pH 7,00 y 4,00. El uso de equipos de medida externos no fue necesario durante los tratamientos realizados a escala piloto, puesto que la instalación cuenta con un medidor de pH integrado (sección 3.4.2).

3.10.2. Cloro libre

El cloro libre generado durante los tratamientos, así como el contenido de cloro en el agua corriente, fue determinado empleando el kit para la detección de cloro libre comercializado por Hanna Instruments (HI93701-F) combinado con un fotómetro multiparamétrico HI83399 de la misma marca. Este kit permite la detección de cloro de acuerdo con el método estándar 4500-CL G.

3.10.3. Seguimiento de reactivos

PMS

Para monitorizar el consumo de PMS a lo largo de los tratamientos se empleó un método colorimétrico basado en la N,N-dietil-p-fenilendiamina (DPD). Este método se fundamenta en el hecho de que la oxidación del DPD por medio de persulfatos da lugar a una solución de color rosado intenso, cuya absorbancia a 510 y 551 nm es directamente proporcional a la concentración de PMS.

En este trabajo se siguió el procedimiento recogido por Gokulakrishnan *et al.* (2016). Para ello, se prepararon dos soluciones: la primera de ellas, un *buffer* de fosfato (100 mM) con pH 7 compuesta de Na_2HPO_4 y NaH_2PO_4 disueltos en agua ultrapura ($\text{H}_2\text{O}_{\text{UP}}$) y, la segunda, una disolución de DPD con una concentración 25 mM en H_2SO_4 (0,05 M). Una vez el tampón y la solución de DPD se hubieron añadido a la muestra a analizar, la mezcla se dejó reposar durante 10 minutos a temperatura ambiente y la absorbancia fue medida a 551 nm empleando como referencia un blanco preparado.

Antes de realizar los análisis, se elaboró una recta de calibración, empleando para ello disoluciones con concentraciones de PMS conocidas y del orden de las esperadas durante los tratamientos. Tal y como se muestra en la Figura 3-17, la ecuación que se obtuvo para la recta de calibrado fue $y = 5.8018x$. Este resultado se obtuvo tras realizar la media entre dos réplicas de la curva de calibrado.

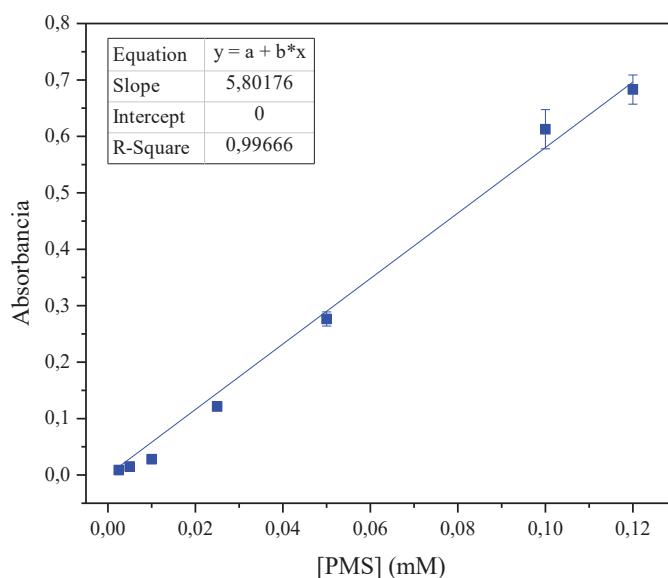


Figura 3-17. Recta de calibrado para la detección de PMS disuelto.

Ozono

El seguimiento del ozono generado durante los tratamientos se realizó mediante el método colorimétrico índigo (4500-O₃) para la cuantificación del ozono disuelto. Esta técnica es un método estandarizado recogido en el manual de métodos estándar para el análisis de agua y aguas residuales (*Standard Methods* 23th, APHA).

Dado que la vida media del ozono es, dependiendo de la calidad del agua, desde unos segundos hasta unos pocos minutos, es necesario realizar este análisis de la forma más rápida posible para garantizar unos resultados fiables.

El método índigo se basa en el principio de que, en una solución ácida, el ozono rápidamente degrada el trisulfonato de potasio índigo, que es un compuesto de un marcado color azul. El descenso de la absorbancia ($\lambda = 600 \text{ nm}$) de esta solución es lineal con la concentración. De

esta forma, midiendo la absorbancia de la solución es posible calcular la concentración de ozono por medio de la ecuación 3.4 (American Public Health Association (APHA), 2017).

$$mg \frac{O_3}{L} = \frac{100 \cdot \Delta A}{f \cdot b \cdot V} \quad (3.4)$$

Donde:

ΔA = Absorbancia respecto al blanco

$f = 0,42$

b = ancho de la celda (cm)

V = volumen de muestra

Para realizar este análisis se preparó una solución diluyendo 770 mg de trisulfonato índigo potasio en 500 mL de una solución de ácido fosfórico (2%). A partir de esta, se pudo determinar la concentración de ozono siguiendo el procedimiento descrito en el método. Para la medida de la absorbancia se empleó un espectrofotómetro de radiación UV/Vis (UV5, Mettler-Toledo).

3.10.4. Determinación de la intensidad de irradiación

Luxómetro

La irradiancia emitida por las lámparas empleadas durante los ensayos realizados en *batch* se determinó mediante un luxómetro HD2102.11 (DeltaOHM). Para la detección de radiación UVA este equipo se empleó en combinación con una sonda radiométrica LP471 UVA de la misma marca, con un rango de medida de entre 1 y 2.000 W·m⁻².

Actinometría

No ha sido posible emplear un equipo de medida como el previamente descrito para conocer el flujo radiante en las instalaciones experimentales que cuentan con un reactor tubular. Por ello, para comparar la eficiencia lumínica de diferentes configuraciones de reactor se utilizó una técnica de actinometría química.

La actinometría química permite cuantificar la radiación incidente analizando su efecto sobre una reacción química. En esta investigación se han realizado experimentos de actinometría con ferrioxalato siguiendo el proceso descrito por Hatchard y Parker (1956). Esta técnica es

un método colorimétrico basado en la reducción de Fe^{3+} a Fe^{2+} por acción de la radiación incidente, y su reacción con 1,10- fenantrolina dando lugar a una solución anaranjada. Se realizó una calibración del método, obteniendo una ecuación lineal que relaciona la concentración de Fe^{2+} generado con la absorbancia de la muestra (Figura 3-18).

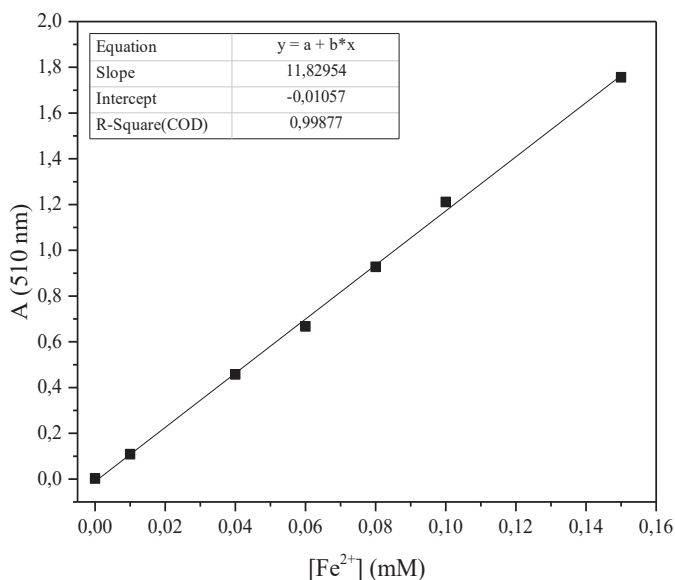


Figura 3-18. Recta de calibrado para la actinometría de ferrioxalato.

De esta forma, conociendo la tasa de generación de Fe^{2+} respecto al tiempo ($\text{mol} \cdot \text{min}^{-1}$) y el rendimiento cuántico de la reacción es posible calcular la radiación total incidente. El rendimiento cuántico de la actinometría del ferrioxalato es un dato conocido pero dependiente de la longitud de onda. Este parámetro ha sido estimado en el rango de 205-365 nm, obteniendo un valor medio ponderado para el espectro de emisión de las lámparas utilizadas en este trabajo de $1.273 \text{ mol} \cdot \text{Einstein}^{-1}$ (Goldstein y Rabani, 2008).

3.11. Análisis del Ciclo de Vida

El Análisis del Ciclo de Vida (ACV) es una herramienta que permite estudiar el potencial impacto medioambiental de un producto, proceso o servicio teniendo en cuenta las diferentes etapas que conforman su ciclo de vida. Esta metodología de análisis se encuentra definida por las normas ISO 14014:2006 y 14044:2006 (ISO 2006). En ellas se define el ACV como «la recopilación y evaluación de las entradas, resultados y los impactos ambientales potenciales de un sistema del producto durante su ciclo de vida».

En este caso, se realizó un ACV de la planta piloto fotoquímica descrita en la sección 3.4.2, así como un análisis comparativo del impacto potencial de la aplicación de procesos de

oxidación avanzada a escala piloto según cuatro escenarios diferentes. Dichos escenarios fueron aquellos en los que se alcanzó el límite de detección en los ensayos de optimización. Este análisis comparativo sirvió como herramienta de decisión a la hora de determinar el proceso óptimo, teniendo en cuenta factores que van más allá del rendimiento del tratamiento. De esta forma, se obtuvo una imagen objetiva sobre los efectos ambientales asociados a su fabricación y operación.

3.11.1. Límites y alcance del ACV

Para poder realizar un ACV es necesario determinar su alcance; es decir, establecer un conjunto de criterios que especifiquen cuáles de los procesos unitarios que son parte del sistema van a ser tenidos en cuenta. Además, deben determinarse también los límites temporales y geográficos de las actividades incluidas en el ACV, ya que estos factores pueden influir en componentes del estudio como son los sistemas de generación de energía o de transporte.

Límite temporal y geográfico

La empresa encargada de la fabricación de la planta piloto fotoquímica fue APRIA Systems, ubicada en Cantabria. Por lo tanto, el ensamblaje de la planta tuvo lugar en España, si bien los componentes utilizados fueron adquiridos a través de terceros, por lo que no provienen todos de la misma localización geográfica. Ya montado, el equipo fue trasladado hasta el Laboratorio General de Tecnología Química en la Escuela Superior de Ingenieros Industriales de la Universidad Politécnica de Madrid, siendo este el emplazamiento donde se llevó a cabo la experimentación.

La planta se fabricó entre septiembre de 2020 y abril de 2021, mientras que la obtención de resultados experimentales tuvo lugar desde abril de 2021 hasta septiembre de 2021. Por ello, el límite temporal global es desde septiembre de 2020 hasta septiembre de 2021.

Alcance del ACV

Este estudio se separó en dos etapas claramente definidas, tal y como se ha mencionado anteriormente. En la Figura 3-19 se puede observar el diagrama de flujo simplificado del ciclo de vida de la planta piloto, incluyendo los límites del estudio. El primer ACV realizado fue de la cuna a la puerta; es decir, desde la extracción de materias primas hasta la llegada de la planta a la localización final en Madrid. Por otra parte, se elaboró un ACV comparativo

de los tratamientos seleccionados, teniendo en cuenta únicamente la etapa de uso. A la hora de estudiar el impacto global de cada uno de los escenarios propuestos, se sumó el impacto de la fabricación de la planta piloto con el impacto de cada escenario de uso, relacionando ambas etapas gracias a la unidad funcional (sección 3.11.2).

Han quedado fuera del estudio, por lo tanto, la etapa de diseño de la planta y el final de vida útil de la misma. En esta última etapa, la planta pasará a manos de los gestores de residuos de la UPM, no dependiendo su gestión de decisiones individuales.

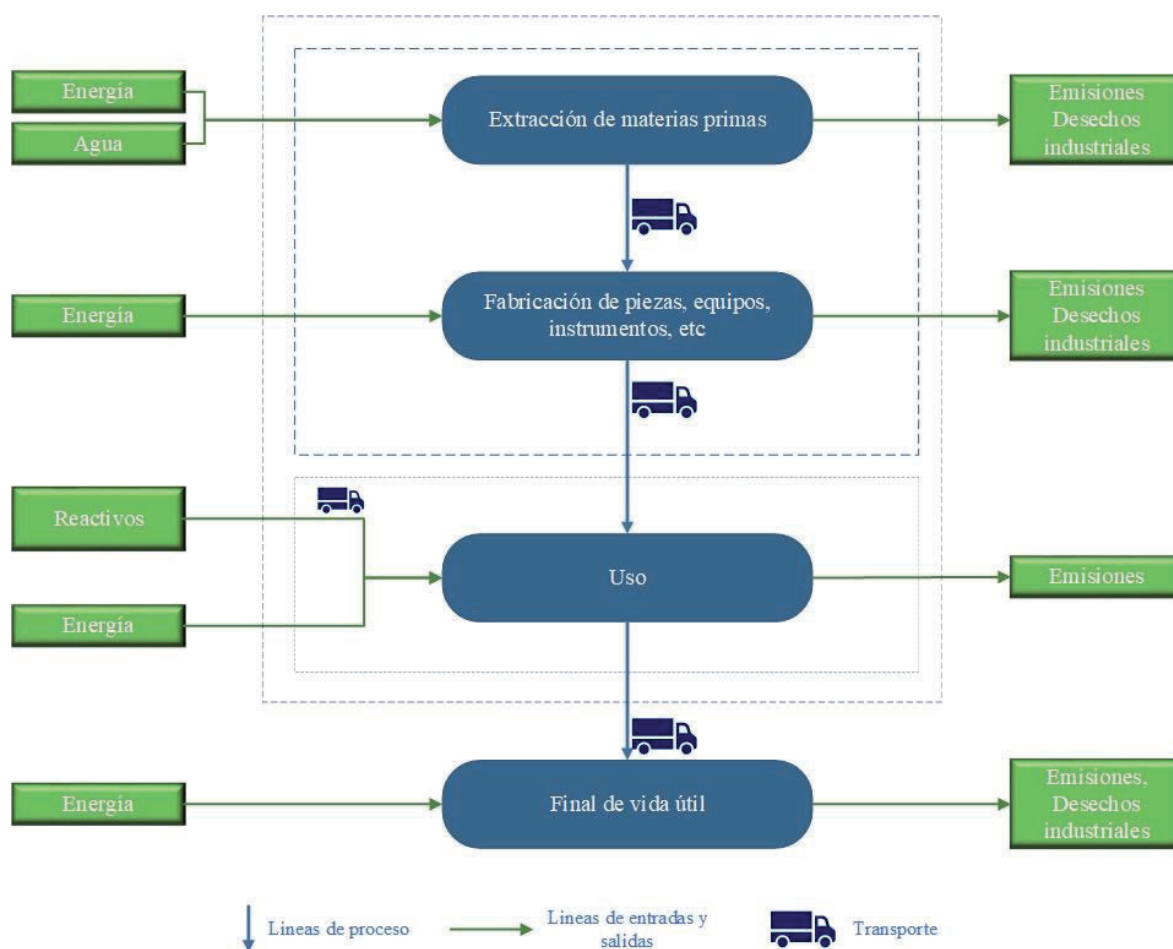


Figura 3-19. Diagrama de flujo de las diferentes etapas del ciclo de vida de la planta piloto objeto de estudio.

Existen, además, otros criterios que han sido tomados en cuenta al analizar los impactos de los diferentes tratamientos. Con la finalidad de simplificar el análisis, se han realizado una serie de hipótesis que se enumeran a continuación:

- La energía consumida durante los tratamientos ha sido suministrada por Red Eléctrica Española (REE, 2021).

- El agua a tratar proviene de un tratamiento secundario situado justo antes del comienzo de la planta piloto, por tanto, no se ha tenido en cuenta el impacto de su llegada a la planta.
- La vida útil de la planta piloto es de 10 años

3.11.2. Unidad funcional

Una unidad funcional se define por la norma ISO 14040 como el desempeño cuantificado de un sistema del producto para su utilización como unidad de referencia. Por lo tanto, la unidad seleccionada es la base de cálculo sobre la que se efectúan los balances de materia y energía. Todos los materiales, emisiones y consumos de energía están referido a esta unidad.

El servicio que se quiere satisfacer mediante la planta piloto objeto de estudio es la desinfección de un cierto volumen de agua, empleando unas condiciones de operación determinadas. Por esto, la unidad funcional seleccionada fue un volumen de agua tratada hasta alcanzar el límite de detección. Sabiendo que en cada uno de los tratamientos realizados se emplearon 35 L y que alcanzar el LD implica la eliminación de $10^5 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$, la unidad funcional se definió como: «Inactivación de $10^5 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ de *Enterococcus sp.* en 35 L de agua residual».

3.11.3. Software y bases de datos

El software utilizado fue SimaPro, uno de los más extendidos y completos del mercado. Esta herramienta contiene bases de datos con información sobre suministros de energía, producción y procesado de materiales, transporte y servicios de eliminación de residuos; todo ello con su rendimiento medioambiental asociado. Además, el propio software también es capaz aplicar la metodología seleccionada por el usuario para estimar los impactos ambientales e identificar los puntos más conflictivos para su posterior optimización.

La licencia de SimaPro empleada permite tener acceso a una gran cantidad de bases de datos, si bien, en este estudio se ha hecho uso solamente de la información de la base de datos Ecoinvent (versión 3) por ser la más completa y actualizada. Esta base no se ha empleado para definir el mix energético español, ya que dicha información se encuentra desactualizada y no refleja la estructura de generación empleada actualmente en España. Por ello, la información relativa al mix energético se completó en el software SimaPro utilizando información extraída del informe del Sistema Eléctrico Español del 2020 (REE, 2021)

(Figura 3-20), siendo estos los últimos datos disponibles en el momento de la elaboración de este texto.

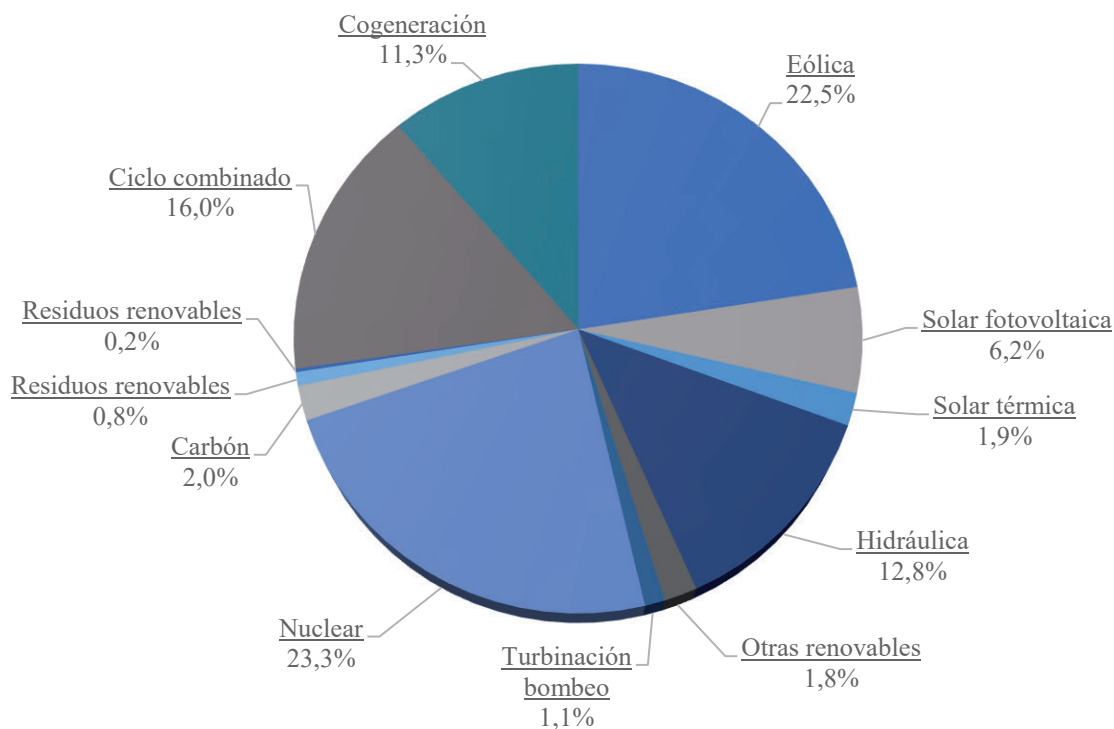


Figura 3-20. Estructura de generación eléctrica peninsular en 2020 (REE, 2021).

3.11.4. Inventario de ciclo de vida

La Comisión Europea define el inventario del ciclo de vida como «la recopilación y el análisis de los datos de las intervenciones medioambientales (por ejemplo, las emisiones al aire y al agua, la generación de residuos y el consumo de recursos) que se asocian a un producto desde la extracción de las materias primas, pasando por la producción y el uso, hasta la eliminación final, incluidos el reciclaje, la reutilización y la recuperación de energía.»

Por tanto, para la realización de este inventario se recopilieron las entradas y salidas del sistema descrito en la sección 3.11.1. Se consiguió elaborar un inventario con un alto nivel de detalle, utilizando como fuentes de datos los diagramas del proceso y planos del equipo proporcionados por APRIA Systems, las fichas técnicas de los diferentes equipos que conforman la planta, medidas realizadas sobre el equipo y las condiciones y resultados experimentales.

Existen limitaciones prácticas en la recopilación de datos que no han sido proporcionados por los fabricantes, pues en muchos casos los equipos son altamente complejos y disponen de múltiples piezas con pesos y/o materiales variados. Además, debido a la heterogeneidad en la procedencia de los datos empleados en el estudio, es de suponer que su calidad no será siempre la equiparable. Por ejemplo, se consideran más fiables los datos extraídos de una ficha técnica que los obtenidos a partir de medidas realizadas sobre la propia planta. Por otra parte, las bases de datos empleadas tienen un número limitado de registros, por lo que fue necesario realizar aproximaciones, seleccionando en ocasiones materiales con una composición similar a la del material que se encuentra en la planta piloto.

Para reflejar esta realidad, se clasificó la información recopilada en cuatro categorías diferentes, siguiendo los criterios recogidos en la Tabla 3-8.

Para calcular la energía empleada en cada tratamiento se sumaron los consumos de la bomba de alimentación, los LEDs que forman los reactores fotoquímicos y la unidad de ozonización.

Tabla 3-8. Indicadores de la calidad de los datos incluidos en el análisis de inventario.

Fuente de los datos	Categoría
Datos experimentales y proporcionados por fabricantes	A
Datos de productos similares	B
Datos obtenidos por volúmenes aproximados y densidades	C
Datos obtenidos mediante proporciones aproximadas de cada componente sobre el peso total	D

3.11.5. Metodología de análisis de impactos

Una vez recogida toda la información disponible acerca del proceso/producto que se quiere analizar, y tras introducir dicha información en el software SimaPro, se evaluó el impacto que tienen las corrientes de entrada y salida del sistema sobre el medio ambiente. Para ello existen diferentes metodologías de evaluación de impactos, siendo la empleada en este trabajo la *Product Environmental Footprint* (PEF). Esta metodología ha sido desarrollada por el centro común de investigación de la comisión europea (JRC, *Joint Research Centre*) y su objetivo es el de proporcionar un marco común para la evaluación de impactos medioambientales para empresas e instituciones de la Unión Europea.

La mencionada metodología PEF evalúa el impacto del sistema sobre 16 categorías de impacto diferentes, que se han recogido en la Tabla 3-9. Una vez realizada esta evaluación,

se ponderó la contribución de cada una de las categorías, calculando así el impacto global para cada uno de los escenarios.

Tabla 3-9. Categorías de impacto empleadas en la metodología PEF (adaptada de JRC (2012a)).

Categoría de impacto	Abreviatura	Unidad
Cambio climático	GWP	kg CO ₂ eq.
Reducción de la capa de ozono	ODP	kg CFC-11 eq.
Toxicidad humana (cáncer)	HTP-C	CTUh
Toxicidad humana (no cáncer)	HTP-NC	CTUh
Material particulado	PMF	kg PM _{2.5} eq.
Radiación ionizante	IRP	kg U ²³⁵ eq.
Formación de ozono fotoquímico	PCOF	kg NMVOC eq.
Acidificación	AP	mol H ⁺ eq.
Eutrofización, Terrestre	T-EP	mol N eq.
Eutrofización, Agua dulce	F-EP	kg P eq.
Eutrofización, marina	M-EP	kg N eq.
Ecotoxicidad, agua dulce	FETP	CTUe
Uso de terreno	LU	kg (déficit)
Uso de agua	W-RD	m ³ en relación con la escasez de agua local
Uso de recursos minerales y metales	M-RD	kg Sb eq.
Uso de recursos fósiles	F-RD	MJ

3.12. Análisis de resultados de desinfección mediante técnicas de *Machine Learning*

Los resultados de desinfección obtenidos a escala laboratorio han sido analizados mediante diferentes técnicas de *Machine Learning* con el objetivo de obtener modelos capaces de predecir el resultado de un tratamiento en función de las condiciones experimentales empleadas. En este estudio se emplearon un total de 560 registros, correspondientes a 85 ensayos diferentes. Las condiciones experimentales tenidas en cuenta, que varían a lo largo de los diferentes tratamientos y que pueden consultarse en el Anexo II, fueron: tipo y concentración de oxidante (PMS, H₂O₂ o sulfito de sodio), tipo y concentración de catalizador (FeSO₄ o Fe(III)-Cit), matriz acuosa (agua destilada, solución salina o agua residual simulada) y presencia o ausencia de luz.

El lenguaje de programación empleado para el trabajo fue *Python* y el desarrollo se realizó en el entorno *Jupyter Notebook*. *Jupyter Notebook* es parte del proyecto *Jupyter*, y es una aplicación web de código abierto que permite crear y ejecutar código. La librería más utilizada fue *Scikit-learn*, ya que es una herramienta gratuita que contiene un gran número de funciones y algoritmos indispensables para el desarrollo de proyectos de aprendizaje automático. Sin embargo, se emplearon también otras librerías como *NumPy*, especializada en el cálculo numérico y el análisis de datos; *Pandas*, utilizada para la manipulación y el tratamiento de conjuntos de datos; *Seaborn*, empleada en la creación de mapas de calor; y *Matplotlib*, librería específica para la generación de gráficos.

3.12.1. Pretratamiento de los datos de entrada: Escenarios planteados

Para poder proporcionar a los algoritmos los datos a analizar, es necesario preparar previamente una tabla en la que, en cada una de las diferentes columnas, se recoja el valor de una de las variables de entrada (o *input*) o salida (u *output*). De hecho, uno de los factores que pueden resultar decisivos a la hora de obtener un modelo, ya sea de regresión o de clasificación, es la forma en la que se estructuran estos datos. Por tanto, en este trabajo se evaluaron cinco escenarios en los que los mismos datos se han dispuesto de forma diferente.

Escenario 1 (E1):

En el primer escenario planteado (E1) los datos no fueron sometidos a un tratamiento previo. Por ello, en este escenario se consideraron 10 *inputs*: tiempo, luz (Sí/No), tipo de agua, concentración de PMS, concentración de sulfito, concentración de H_2O_2 , tipo de oxidante, concentración de FeSO_4 , concentración de Fe(III)-Cit y tipo de catalizador. Como *output* se empleó la concentración de *Enterococcus sp.*, expresada como el logaritmo decimal de la relación entre la concentración a un tiempo dado y la concentración inicial ($\log N_t/N_0$).

Escenario 2 (E2):

Teniendo en cuenta que nunca se emplean dos oxidantes a la vez, se han agregaron en una sola columna las tres variables correspondientes a las concentraciones de cada uno de los oxidantes (PMS, Sulfito y H_2O_2). De esta forma, en este nuevo escenario existe una sola variable «concentración de oxidante» y es la variable «tipo de oxidante» la que indica cuál de los tres posibles compuestos se está empleando (PMS, H_2O_2 o Sulfito). Lo mismo se hizo para los catalizadores, agregando las concentraciones de FeSO_4 y Fe(III)-Cit en una misma

variable. Realizando estas modificaciones, se obtuvo un archivo en el que existen 7 variables independientes y 1 variable dependiente.

Sin embargo, al hacer esto se presentó, en algunos casos, un dilema en relación con el valor que debe proporcionarse a la variable «tipo de catalizador», ya que hay tratamientos que no emplean ninguno de los dos posibles catalizadores. La opción lógica podría ser establecer una categoría extra para aquellos tratamientos en los que no haya catalizador («Tipo de catalizador = Ninguno»). Sin embargo, al evaluar el efecto de la concentración de catalizador sobre el resultado de desinfección, la ausencia de catalizador debe ser el primer punto de la curva ($[\text{Catalizador}] = 0$), por lo que no parece tener sentido asignar una categoría independiente a los procesos que no emplean catalizador. Para tratar de superar este inconveniente se ha decidido plantear tres sub-escenarios diferentes:

- **Random (E2.1).** En este escenario se realizó una asignación aleatoria de valores (FeSO_4 o Fe(III)-Cit) a la variable «tipo de catalizador» siempre que la concentración de los dos posibles catalizadores fuera igual a cero. De esta forma, se obtuvo un nuevo archivo en el que se modificaron los 223 datos con estas características, asignando a 101 de ellos la categoría « FeSO_4 » y a 122 de ellos la categoría « Fe(III)-Cit ».
- **Duplicados (E2.2).** En este caso, la solución aplicada al dilema planteado fue la de duplicar aquellos conjuntos de datos en que la concentración de ambos catalizadores fuera cero, asignando «Tipo de catalizador= FeSO_4 » a uno de ellos y «Tipo de catalizador = Fe(III)-Cit ». No en vano, la ausencia de catalizador es el primer punto de la curva cuando se estudian ambos compuestos y no sólo uno de ellos.
- **División (E2.3).** La tercera solución planteada fue la de dividir los datos en tres archivos diferentes. De esta forma, se evaluó un modelo para aquellos tratamientos que emplean FeSO_4 como catalizador (E2.3.1) y otro para aquellos que usan Fe(III)-Cit (E2.3.2), estudiando por separado aquellos registros en los que no se emplea ningún catalizador (E2.3.3). Estos conjuntos de datos son mucho más reducidos, pero también es menor el número de variables a analizar.

Escenario 3 (E3):

En todos los escenarios planteados hasta ahora se ha optado por mantener la columna «Tipo de catalizador», combinando las columnas de concentraciones. De esta forma, se ha reducido

de 3 a 2 el número de variables relativas al catalizador. Sin embargo, mediante este enfoque, se está eliminando una variable numérica en favor de una categórica, que podría dar más problemas durante el estudio (ver la sección 3.12.2). Por lo tanto, se ha planteado un último escenario en el que se elimina la variable «Tipo de catalizador», manteniendo ambas columnas de concentración. Dado que nunca se usan ambos compuestos de forma simultánea, aplicando este nuevo enfoque se espera que los modelos sean capaces de interpretar cuál es el tipo de catalizador empleado (FeSO_4 , Fe(III)-Cit o ninguno) en función de cuál/cuáles de las columnas de concentración tengan un valor cero.

3.12.2. Codificación de las variables categóricas

Al enumerar los *inputs* que se contemplan en este estudio no se ha mencionado de forma explícita el tipo de variable (categórica o numérica) que son. No obstante, parece evidente que variables como el tipo de matriz acuosa o de oxidante son categóricas; es decir, que pueden tomar un número limitado de valores. Además, el valor de estos *inputs* no es numérico, sino cualitativo, lo cual puede presentar problemas a la hora de aplicar los diferentes algoritmos.

Aunque, teóricamente, los algoritmos de ML son capaces de analizar ambos tipos de información de forma simultánea, las funciones disponibles en *Scikit Learn* no son capaces de gestionar las variables categóricas, al tener un formato diferente (*string* en lugar de *int* o *float*). Por ello, es necesario realizar un preprocesado de los datos con el objetivo de transformar los *inputs* categóricos en numéricos para su correcta gestión por parte del algoritmo. Este es un proceso conocido como codificación, y en este trabajo se han evaluado dos métodos diferentes a este respecto: codificación ordinal (LE: *label encoding*) y codificación *One-Hot* (OHE: *one-hot encoding*).

Al aplicar LE, a cada uno de los posibles valores que puede tomar una variable categórica se le asigna un número entero. De esta forma, en la columna «Tipo de catalizador» se ha asignado el valor 1 al PMS, 2 al H_2O_2 y 3 al Sulfito, repitiendo el mismo procedimiento para el resto de los *inputs*.

La codificación *One-Hot*, por su parte, consiste en crear tantas nuevas columnas como posibles valores tomen las variables categóricas, asignando posteriormente valores de 0-1 tal y como se muestra en la Figura 3-21. Para realizar esta codificación se ha usado la función *preprocessing.OneHotEncoder* contenida dentro de la librería *Scikit-Learn*.

Color		Blanco	Rojo	Azul
Blanco		1	0	0
Rojo		0	1	0
Blanco	→	1	0	0
Azul		0	0	1
Rojo		0	1	0

Figura 3-21. Ejemplo de codificación *One-Hot*.

3.12.3. Algoritmos evaluados

Son tres los algoritmos de regresión evaluados en este trabajo para la predicción de resultados de desinfección. El primero de ellos es el algoritmo *Decision tree* (DT) o árbol de decisión. Los otros dos algoritmos son evoluciones de este primero, y son el algoritmo *Random forest* (RF) o Bosque Aleatorio y el *Gradient Boosted Regression Trees* (GBRT).

Árbol de decisión

El árbol de decisión es un algoritmo que ha ganado popularidad en los últimos años y que, tal y como indica su nombre, tiene una estructura de árbol. Está compuesto por un nodo raíz, varios nodos internos y “hojas” que representan respectivamente el conjunto de todos los datos, las pruebas de atributos y los resultados de la decisión. Estos métodos aplican la partición binaria recursiva para clasificar el conjunto de datos en varias subregiones más pequeñas para, en última instancia, construir una estructura de árbol tal y como se ilustra en la Figura 3-22 (Taoufik *et al.*, 2022).

El principal inconveniente que presenta este algoritmo es que tiende a desarrollar árboles muy complejos si el conjunto de datos a tratar es muy grande, lo que puede provocar un exceso de ajuste. Es decir, el modelo obtenido funciona bien sobre los datos de entrenamiento, pero no es capaz de generalizar a nuevos datos.

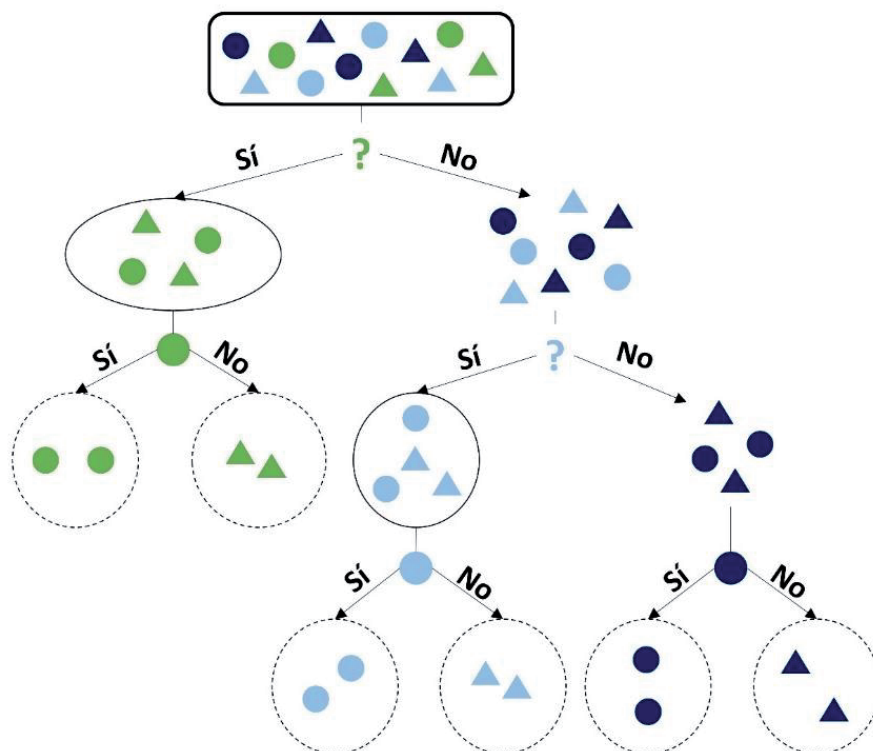


Figura 3-22. Diagrama esquemático de un árbol de decisión (DT). Fuente: Elaboración Propia.

Random Forest

El algoritmo de bosques aleatorios es una evolución natural del algoritmo de árbol de decisión que busca eliminar la tendencia de este último al sobreajuste. En concreto, el RF es un algoritmo de conjunto, compuesto por muchos DT, en el que cada árbol es ligeramente diferente a los demás. Cada árbol puede hacer un trabajo de predicción relativamente bueno, pero es probable que se ajuste demasiado a una parte de los datos. (Müller y Guido, 2016) Al construir muchos árboles es posible reducir la cantidad de sobreajuste promediando sus resultados.

Por tanto, en este algoritmo cada uno de los árboles toma una muestra aleatoria de los datos de entrada para generar un resultado de predicción de forma independiente (R. Huang *et al.*, 2021). A continuación, las predicciones se promedian cuando los datos son cuantitativos o se utilizan para una votación para los datos cualitativos (Taoufik *et al.*, 2022). El número de árboles generados en este algoritmo es un parámetro que debe determinarse, pudiendo ser de varias decenas o incluso centenas.

Gradient Boosting Regressor Tree

De la misma forma que el *Random Forest*, este algoritmo busca obtener modelos más potentes que el DT, proponiendo una solución que previene el sobreajuste del modelo. Sin embargo, en lugar de generar los diferentes árboles de forma aleatoria, el GBRT construye árboles de forma secuencial, de forma que cada árbol toma la información del anterior y trata de corregir sus errores, por lo que no existe aleatoriedad. Cada uno de los árboles empleados suele tener poca profundidad, por lo que sólo puede proporcionar buenas predicciones a una pequeña parte de los datos. Añadiendo más y más árboles se consigue mejorar el rendimiento global del modelo (Müller y Guido, 2016).

3.12.4. Validación de los modelos: proceso de validación cruzada

Al aplicar técnicas de ML supervisado, es necesario proporcionar al algoritmo una serie de datos con los que entrenar. Una vez el modelo ha sido entrenado, este debe ser evaluado sobre un nuevo conjunto de datos para determinar su capacidad de predecir el *output* en escenarios a los que no se ha enfrentado previamente. Por tanto, cuando se dispone de un conjunto de registros sobre el que se va a realizar un estudio empleando técnicas de ML, lo primero que se debe hacer es dividir la información en dos grupos: conjunto de datos de entrenamiento y datos para la validación del modelo. Por norma general, esta división se realiza apartando un porcentaje de los datos (15 – 25%) y entrenando el modelo únicamente en la porción restante (75 – 85%). Una vez entrenado el modelo, se evalúa su precisión sobre los datos previamente reservados para la validación.

Este procedimiento no es ideal cuando se dispone un número reducido de registros, ya que se disminuye la cantidad de datos que el modelo puede emplear en la fase de entrenamiento. Además, la forma en que se dividan los datos puede ser determinante en el resultado que se obtenga de aplicar el modelo. Estos dos inconvenientes se eliminan al emplear validación cruzada (VC) en la evaluación de los modelos. La validación cruzada es un método estadístico para la evaluación de modelos en el que los datos se dividen, generalmente, en 5 o 10 partes (o bloques), y se entrena y evalúa el modelo varias veces, empleando como set de datos para *test* una partición diferente cada vez. La Figura 3-23 ilustra un ejemplo de validación cruzada empleando 5 divisiones. Como puede verse, en primer lugar, los datos se dividen en cinco bloques de tamaño (aproximadamente) igual. A continuación, se entrena una secuencia de modelos. El primer modelo se entrena utilizando el primer bloque como

conjunto de prueba, y los bloques restantes (2-5) se utilizan como conjunto de entrenamiento. A continuación, se construye otro modelo, esta vez utilizando el bloque 2 como conjunto de prueba y los datos de los bloques 1, 3, 4 y 5 como conjunto de entrenamiento, y así sucesivamente. Para cada una de estas cinco divisiones se calcula un error, por lo que al final se obtienen cinco valores de precisión de los que se puede extraer un error promedio.

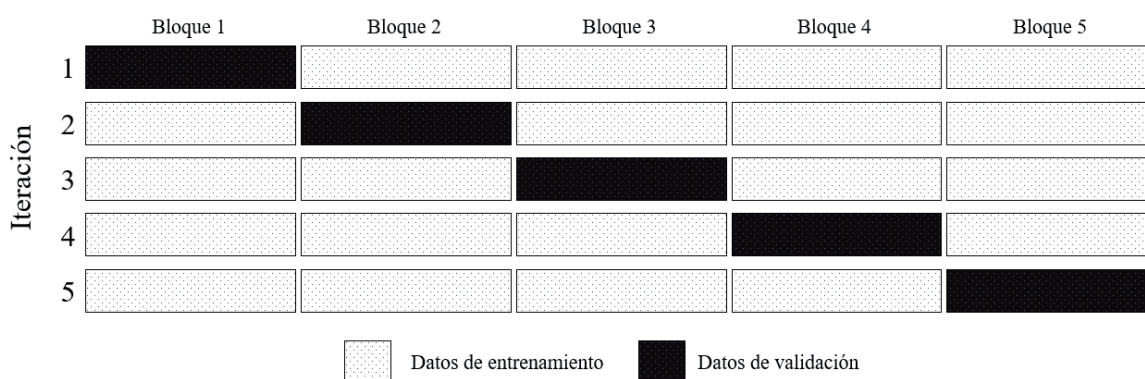


Figura 3-23. Ejemplo de validación cruzada dividiendo los datos en 5 secciones (Adaptado de Müller y Guido, 2016).

3.12.5. Ajuste de hiperparámetros: validación cruzada anidada

A la hora de construir un modelo basado en un algoritmo de ML, es necesario dar previamente un valor los hiperparámetros que lo definen. Para ello, se debe alcanzar una solución de compromiso entre la precisión alcanzada por el modelo y el coste computacional que conlleva, lo cual se consigue mediante un proceso denominado *tunning* o ajuste. El número de hiperparámetros a evaluar puede ser muy elevado, por lo que en el presente trabajo se ha optado por la optimización de aquellos más influyentes en función del algoritmos seleccionado (Tabla 3-10) (Müller y Guido, 2016). Dado que la nomenclatura puede variar en función del lenguaje de programación empleado, en la redacción de este trabajo se emplea, en todo momento, la nomenclatura propia de la librería de *Python Scikit-Learn*.

Uno de los métodos más utilizados para ajustar hiperparámetros es *Grid Search* (o búsqueda en cuadrícula), que consiste en asignar una serie de valores a cada parámetro y probar todas las combinaciones posibles entre ellos (Müller y Guido, 2016). No obstante, dado que todos los datos se emplean durante el ajuste de los parámetros, no pueden usarse para conocer realmente cómo de bueno es el modelo, siendo necesario disponer de un conjunto de datos independientes sobre el que evaluarlo. Para ello se pueden volver a dividir los datos, de

forma que el set de entrenamiento se subdivide, de nuevo, en set de entrenamiento y de *test*, usando estos datos para el ajuste y reservando el set de validación para la evaluación final del modelo. La librería de *Python* dispone de una función (*'GridSearchCV'*) que emplea VC para evaluar el rendimiento de cada una de las combinaciones de parámetros, devolviendo el promedio de los errores obtenidos en cada una de las iteraciones.

Tabla 3-10. Hiperparámetros optimizados en función del algoritmo de ML evaluado.

Algoritmo	Hiperparámetro	Comentarios
<i>Decision tree</i>	<i>min_samples_leaf</i>	Parámetros que permite delimitar la profundidad de los árboles. Cuanto menor sea el valor asignado a este parámetro, mayor será la profundidad del árbol
	<i>n_estimators</i>	Número de árboles que generará el algoritmo
<i>Random Forest</i>	<i>n_features</i>	Número de variables que tendrá en cuenta cada uno de los árboles de decisión generados por el algoritmo. No evaluar todas las variables independientes permite al modelo obtener una visión más ajustada del efecto de variables menos relevantes sobre la variable dependiente
	<i>min_samples_leaf</i>	-
	<i>n_estimators</i>	-
<i>Gradient Boosted Regression Trees</i>	<i>min_samples_leaf</i>	-
	<i>learning rate</i>	Controla el grado de mejora de un árbol respecto del anterior (o tasa de aprendizaje). Una tasa de aprendizaje pequeña supone una mejora más lenta, pero adaptándose mejor a los datos

Aplicando esta función al proceso de VC definido previamente para el entrenamiento y validación de los modelos, se genera un sistema conocido como validación cruzada anidada. En él existe un bucle exterior sobre las diferentes divisiones entrenamiento/test y, para cada uno de ellos, se ejecuta una optimización de parámetros mediante *GridSearchCV*. De esta forma, cada paso del bucle exterior devuelve el error en el ajuste de la mejor combinación de parámetros determinada por *GridSearchCV*.

La Figura 3-24 muestra un esquema metodológico en el que se recogen los pasos principales que componen en proceso de optimización de hiperparámetros mediante validación cruzada anidada. En primer lugar, los datos son divididos en un número N de bloques exteriores (A). En la primera iteración del bucle exterior se reserva uno de los bloques para la validación, volviendo a dividir el set de datos de entrenamiento ($N-1$ bloques; color verde en la ilustración) en un número k de bloques (el número de bloques en que se dividen los datos

para las validaciones cruzadas interior y exterior sin independientes, pudiendo ser iguales o diferente) **(B)**. Sobre estos datos se aplica la función *GridSearchCV*, que emplea validación cruzada para evaluar cada una de las combinaciones de hiperparámetros posible, devolviendo la combinación que proporciona un mejor ajuste a los datos **(C)**. Una vez la función ha determinado el mejor modelo, este es evaluado sobre el conjunto de datos reservados para la validación **(D)**. A continuación, se repiten los pasos B-D, reservando en cada una de las iteraciones un bloque diferente para la validación. De esta forma, se obtienen un número N de modelos con sus respectivos datos de ajuste **(E)**. Idealmente, en todas las iteraciones se obtendría la misma combinación de hiperparámetros, pero esto no tiene por qué ser así. Por lo tanto, de entre los modelos obtenidos es necesario seleccionar uno **(F)**, que será finalmente evaluado sobre el conjunto total de los datos **(G)** para conocer el ajuste global del modelo (Browniee, 2021). En este trabajo se escogió la combinación de hiperparámetros que se repetía en un mayor número de iteraciones. En caso de empate, se escogió aquella que proporcionó un mejor ajuste a los datos reservados (*test*). El parámetro empleado para determinar el modelo óptimo ha sido el coeficiente de determinación (R^2).

Finalmente, un parámetro adicional que se debe considerar siempre que se trabaja con este tipo de algoritmos es *Random_State*, que controla la aleatoriedad de los modelos. Si no se asigna un valor a este parámetro, cada vez que se ejecute el programa se obtendrán resultados ligeramente diferentes, al variar la forma en que el algoritmo selecciona los datos. Sin embargo, una de las características de la programación es que no existe la aleatoriedad absoluta, sino que una función “aleatoria” tendrá definidos un número N de formas en que escoger los datos. En este trabajo se asignó un *Random_State* = 42 y, de esta forma, los resultados se han mantenido constantes en diferentes ejecuciones.

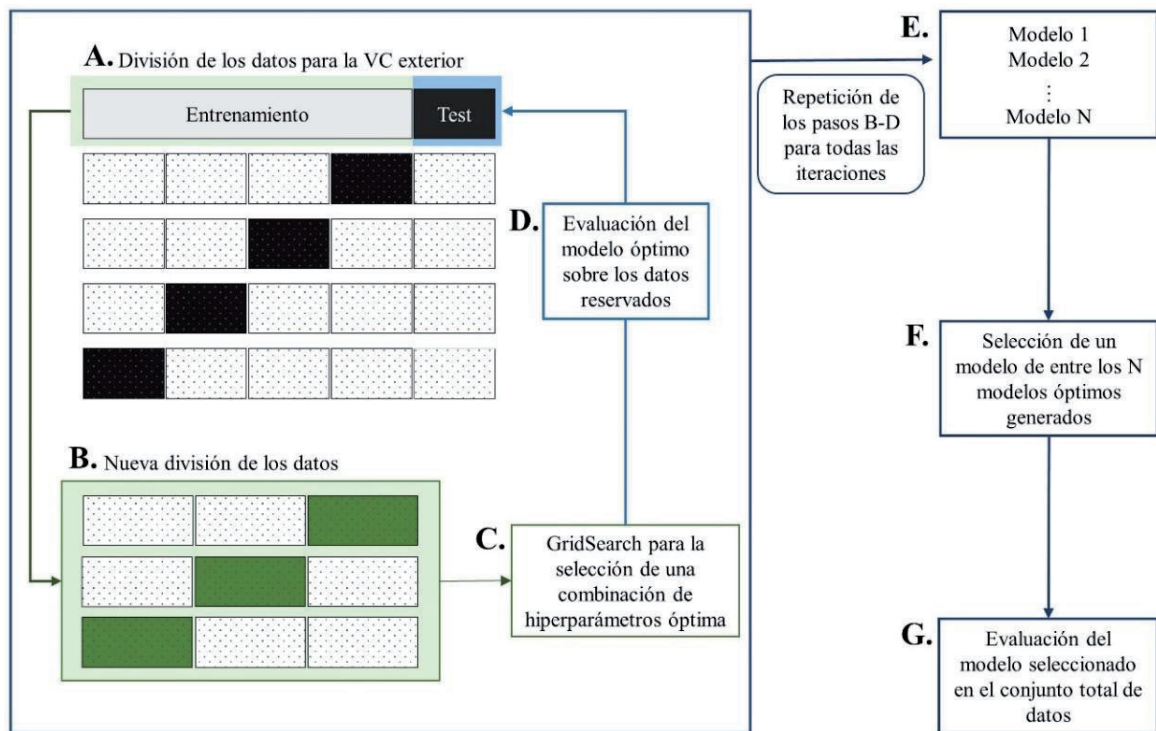


Figura 3-24. Procedimiento de validación cruzada anidada (Adaptado de Parvandeh *et al.*, 2020).

CAPÍTULO 4:
INACTIVACIÓN DE MICROORGANISMOS A
ESCALA LABORATORIO

INACTIVACIÓN DE MICROORGANISMOS A ESCALA LABORATORIO

4.1. Evaluación de la activación fotoquímica del PMS y el H₂O₂ para la inactivación de *Enterococcus sp.*

Un gran número de AOP se basan en la generación de radicales hidroxilo y otras especies reactivas a partir del H₂O₂ (Miklos *et al.*, 2018). No obstante, el PMS es uno de los compuestos más utilizados en lo que respecta a los SR-AOP (J. Wang y Wang, 2018). Por otra parte, aunque se ha publicado que algunos constituyentes del agua residual pueden inhibir o promover las diferentes reacciones que tienen lugar durante los procesos, no existe, por el momento, consenso en la comunidad científica acerca del efecto que la presencia de unos u otros aniones inorgánicos tiene sobre los tratamientos (Ao *et al.*, 2018; Choi *et al.*, 2021; Ribeiro *et al.*, 2019; Yao *et al.*, 2016). En parte, es esta falta de información lo que dificulta la aplicación a gran escala de los tratamientos, a pesar de haber sido demostrado en numerosas ocasiones su alto potencial en la eliminación de contaminantes emergentes y la inactivación de microorganismos. Por ello, se ha decidido estudiar la influencia de la composición de la matriz en la activación fotoquímica del H₂O₂ y el PMS aplicadas a la inactivación de *Enterococcus sp.* en el agua. Para ello se ha comparado el rendimiento de los tratamientos en tres matrices acuosas (agua destilada, solución salina y agua residual simulada) y, además, se ha estudiado la influencia de cinco aniones inorgánicos (Br⁻, F⁻, PO₄³⁻, NO₃⁻, NO₂⁻) cuyo efecto sobre los AOP ha sido menos explorado hasta ahora. Por otra parte, se han comparado también dos configuraciones de reactor diferentes para determinar cuál es la más eficiente en términos de distribución de la radiación.

4.1.1. Influencia de la concentración de oxidante y la configuración de reactor

En una primera aproximación, se estudió la inactivación de *Enterococcus sp.* a lo largo del tiempo para diferentes concentraciones de PMS y H₂O₂ en un reactor *batch* bajo la incidencia de la radiación UV-A. Para esta fase de optimización, se utilizaron muestras de agua destilada como matriz acuosa. Tal y como se muestra en la figura 4-1A, la radiación UV-A, por sí sola no fue capaz de inactivar los microorganismos presentes en el medio. Sin embargo, tras la adición de PMS al tratamiento se observó un incremento significativo de la tasa de inactivación de *Enterococcus sp.*

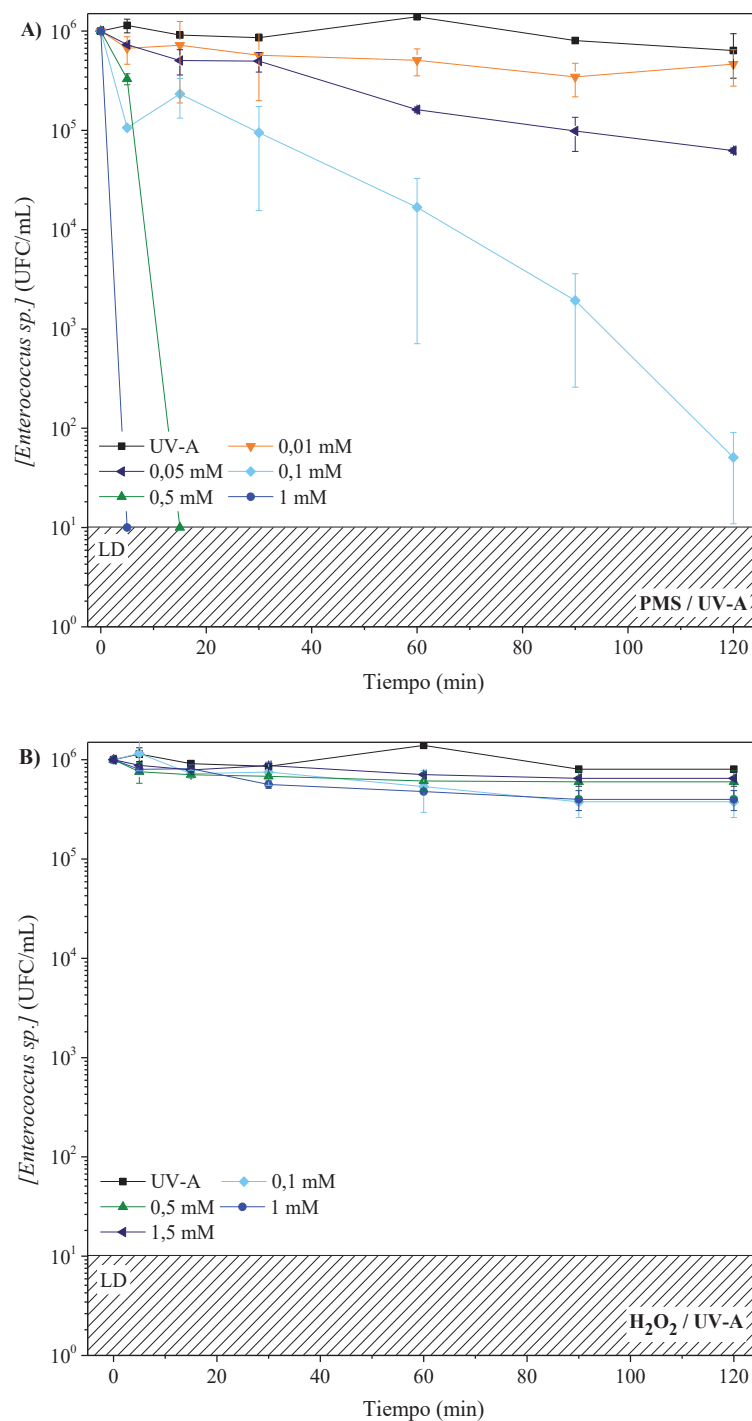


Figura 4-1. Activación fotoquímica de A) PMS y B) H₂O₂ para la inactivación de *Enterococcus sp.* en un reactor *batch*. Condiciones experimentales: pH = natural; matriz = agua destilada; $\lambda = 365$ nm. LD: límite de detección.

Aunque la inactivación fue prácticamente insignificante para una dosis de PMS de 0,01 mM, obteniéndose una tasa de desinfección de 0,33 log tras 120 min de irradiación, al aumentar la concentración de oxidante a 0,05 mM y 0,1 mM, la tasa de desinfección aumentó a 1,2

log y 4,3 log, respectivamente, para el mismo tiempo. Las dosis más altas de oxidante condujeron a la inactivación completa de las bacterias en menos de 15 minutos (considerando que se ha alcanzado una desinfección total cuando se alcanza el límite de detección). Se ha afirmado que el PMS no activado tiene cierta capacidad de desinfección (Rodríguez-Chueca, Moreira, *et al.*, 2017), por lo que se realizaron experimentos en la oscuridad, pero no se observó ninguna inactivación significativa para las dosis evaluadas (datos no mostrados).

El mismo procedimiento se llevó a cabo para el peróxido de hidrógeno (Figura 4-1B), pero ninguna de las concentraciones aplicadas tuvo un efecto significativo sobre la población de bacterias. Sin embargo, según otros autores, una dosis de H_2O_2 de 1,5 mM ($51 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), cuando se utilizan métodos tipo Fenton, es suficiente para la inactivación de los microorganismos (Bianco *et al.*, 2017; Rodríguez-Chueca *et al.*, 2014). Esto podría indicar que la radiación UV-A no es capaz de activar el oxidante para generar radicales que ataquen a las bacterias presentes en el agua en las condiciones experimentales ensayadas. Dado que al realizarse el tratamiento en agua destilada no hay partículas en el medio que dispersen la luz, ni materia orgánica que la absorba, la razón de que la radiación no tenga el efecto deseado podría ser que la radiación incidente no sea suficiente para activar el H_2O_2 .

Se seleccionó una concentración de 1,5 mM de H_2O_2 y una concentración de 0,05 mM de PMS, y se realizaron los mismos tratamientos en un reactor tubular para comprobar si un reactor y una distribución de la luz diferentes podían mejorar la inactivación de *Enterococcus sp.* En esta nueva disposición, la lámpara se colocó en el eje central del reactor, rodeada por el fluido, por lo que se esperaba una mejor distribución de la luz respecto a los experimentos anteriores, en los que la lámpara se colocaba sobre el reactor. La Figura 4-2B muestra cómo, al utilizar la nueva configuración, la inactivación de *Enterococcus sp.* alcanza el límite de detección ($10 \text{ UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$) tras 120 minutos de tratamiento con $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV-A}$, mientras que la eliminación era casi inexistente en el reactor discontinuo. Del mismo modo, la eficacia del tratamiento PMS/UV-A mejoró, aumentando la tasa de desinfección de 1,2 log a la inactivación completa después de 120 min (Figura 4-2A).

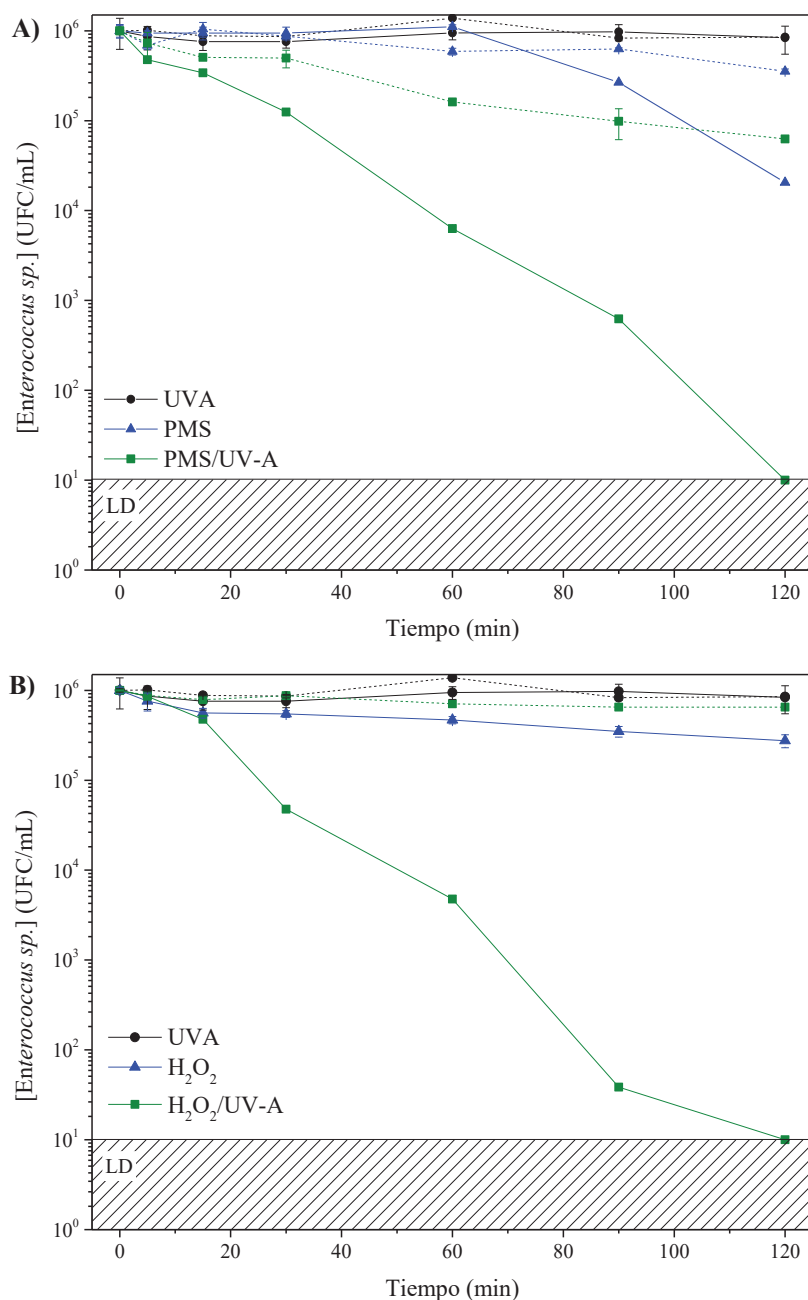


Figura 4-2. Influencia del reactor sobre el tratamiento A) PMS/UV-A y B) H₂O₂/UV-A para la inactivación de *Enterococcus sp.* (líneas continuas: reactor tubular; líneas discontinuas: reactor *batch*). Condiciones experimentales: [PMS] = 0,05 mM; [H₂O₂] = 1,5 mM; pH = natural; Matriz = agua destilada; λ = 365 nm. LD: límite de detección.

Al igual que se hizo para el reactor *batch*, se estudió el efecto de la radiación UV-A por sí sola sobre la población bacteriana, concluyendo que la cantidad de radiación emitida por las lámparas no es suficiente para inactivar *Enterococcus sp.* Sí que se observó, sin embargo, un aumento del poder desinfectante de los reactivos no activados. La tasa de desinfección alcanzada por el PMS y el H₂O₂ fue de 1,68 y 0,55 log, respectivamente. Esto puede deberse

a una mayor descomposición de los compuestos como consecuencia de la agitación más agresiva generada por el paso del líquido a través de la bomba de alimentación. Se calculó el grado de sinergia (S) de la combinación de reactivos y radiación ultravioleta-visible (UV-A), para lo cual fue necesario calcular primero la constante cinética de pseudo-primer orden. La Tabla 4-1 muestra las constantes de cinéticas obtenidas para la inactivación, así como la S calculada para los dos tratamientos en cada una de las configuraciones evaluadas. Como se esperaba, la S más alta se obtuvo para el sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV-A}$ en el reactor tubular (91,6 %), mientras que no se observó ninguna interacción entre los dos elementos de ese mismo tratamiento para la configuración *batch*. La diferencia entre los valores de S obtenidos para el sistema PMS/UV-A es menor, aunque el reactor tubular también favorece la sinergia en este tratamiento.

Tabla 4-1. Constantes cinéticas y grado de sinergia calculados para los sistemas PMS/UV-A y $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV-A}$.

Configuración de reactor	Tratamiento	Constante cinética de pseudo-primer orden (min^{-1})	Grado de sinergia (%)
<i>Batch</i>	UV-A	0,0007	-
	PMS	0,0070	-
	H_2O_2	0,0027	-
	PMS/UV-A	0,0229	66,2
	$\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV-A}$	0,0033	-3,8
Tubular	UV-A	-0,0003	-
	PMS	0,0268	-
	H_2O_2	0,0090	-
	PMS/UV-A	0,0918	71,1
	$\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV-A}$	0,1034	91,6

Los resultados experimentales mostraron que, cambiando la configuración del reactor utilizado para el tratamiento, se pueden obtener mayores eficiencias utilizando la misma dosis de reactivo. Aunque se puede deducir que esto se debe, como se ha mencionado anteriormente, a una mejor distribución de la radiación, se han realizado experimentos de actinometría tanto en el reactor discontinuo como en el tubular para cuantificar la radiación total incidente. La Figura 4-3 muestra la formación de Fe^{2+} frente al tiempo durante las dos reacciones actinométricas. Los resultados se ajustaron linealmente para obtener la pendiente y, a continuación, para calcular el flujo de radiación incidente se dividió entre el rendimiento

cuántico de la actinometría del ferrioxalato (que es un factor conocido dependiente de la longitud de onda). Goldstein y Rabani (2008) estimaron este parámetro en el rango de 205-365 nm, obteniendo un valor medio ponderado para el espectro de emisión de las lámparas utilizadas en este trabajo de $1,273 \text{ mol} \cdot \text{Einstein}^{-1}$. La radiación incidente calculada para el reactor tubular fue de $2,23 \times 10^{-6} \text{ Einstein} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, mientras que este valor fue de $1,19 \times 10^{-6} \text{ Einstein} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ para el reactor *batch*.

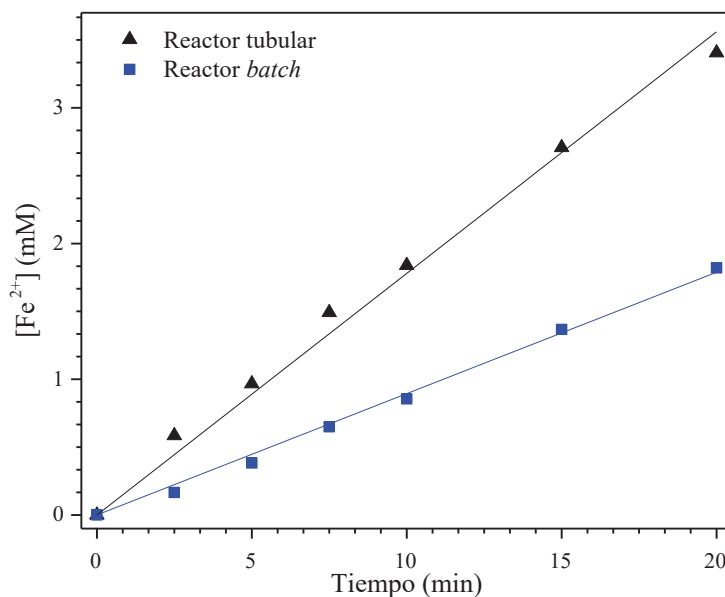


Figura 4-3. Variación de la concentración de Fe^{2+} durante los experimentos de actinometría de ferrioxalato para los reactores *batch* y tubular.

A la vista de estos resultados, la mejora en la eficacia de los tratamientos puede deberse a dos fenómenos diferentes. El primero es una mejor activación de los oxidantes debido a una mayor radiación incidente. La energía de disociación del enlace del peróxido de hidrógeno se ha estimado entre $44,1$ y $50,72 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ($184,51$ - $212 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$) (Bach y Schlegel, 2020). Por otro lado, no existe un valor de referencia para la energía de enlace del PMS, aunque se ha estimado que es inferior a la del H_2O_2 (S. Yang *et al.*, 2010). Esto podría explicar por qué hay una cierta activación del PMS cuando se utiliza una configuración *batch*, pero no del H_2O_2 . Así mismo, aunque se ha demostrado que la radiación por sí sola no es capaz de inactivar los microorganismos, sí podría tener suficiente poder para debilitar su estructura y promover un ligero daño oxidativo (W. Qi *et al.*, 2020), facilitando su posterior inactivación cuando se añaden reactivos, ya sea por oxidación directa o a través de los radicales generados. En cualquier caso, los resultados de la actinometría corroboran que, al utilizar un reactor tubular, la mayor eficiencia del tratamiento es consecuencia de que esta

configuración permite maximizar el flujo de radiación incidente. Por tanto, se seleccionó esta configuración como óptima para el resto de los experimentos.

4.1.2. Influencia de la composición de la matriz acuosa

Las dosis seleccionadas de PMS y H_2O_2 durante la fase de optimización se aplicaron a varias matrices acuosas, aumentando gradualmente la complejidad del medio. Para ello, se utilizó una solución salina y agua residual simulada. Tal y como se describió en el capítulo 3 «Materiales y métodos», la solución salina utilizada tenía una concentración de $9\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Aunque las aguas residuales municipales suelen tener un menor contenido en sal ($< 0,5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), las aguas residuales salinas pueden producirse por diversas razones, como las fugas de los vertederos o en respuesta a la infiltración de agua de mar en los sistemas de alcantarillado, que es un problema común durante las inundaciones por mareas de tormenta en las zonas costeras (Linaric *et al.*, 2013). Por otro lado, no hay que olvidar que en las aguas residuales industriales pueden encontrarse concentraciones de NaCl de hasta 760 mM ($\approx 44\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) (Oyekunle *et al.*, 2021) y, de forma más genérica, la concentración de iones salinos en las industrias inorgánicas suele oscilar entre $1,5$ y $11\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Sahu, 2021). Por último, cabe señalar que el uso de una concentración salina de $9\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ es muy común en los análisis microbiológicos para evitar la muerte celular como consecuencia de la diferencia osmótica entre el interior y el exterior de la célula. Por ello, es importante conocer los efectos de esta concentración salina (en términos de NaCl) en los procesos de desinfección estudiados.

La Figura 4-4A muestra que la inactivación de los microorganismos fue completa en 5 minutos cuando se aplicó el sistema PMS/UV-A en solución salina.

Se ha afirmado que el PMS reacciona con el cloro generando especies de $HClO/Cl_2$ (ec. 4.1 y 4.2), responsables de la inactivación de las bacterias (Moreno-Andrés, Farinango, et al., 2019; G. Wen *et al.*, 2019). Para confirmar la formación de cloro libre, se realizó un experimento en el que se monitorizó esta especie, comprobando cómo se generaba de forma lineal hasta alcanzar una concentración de $1,6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.



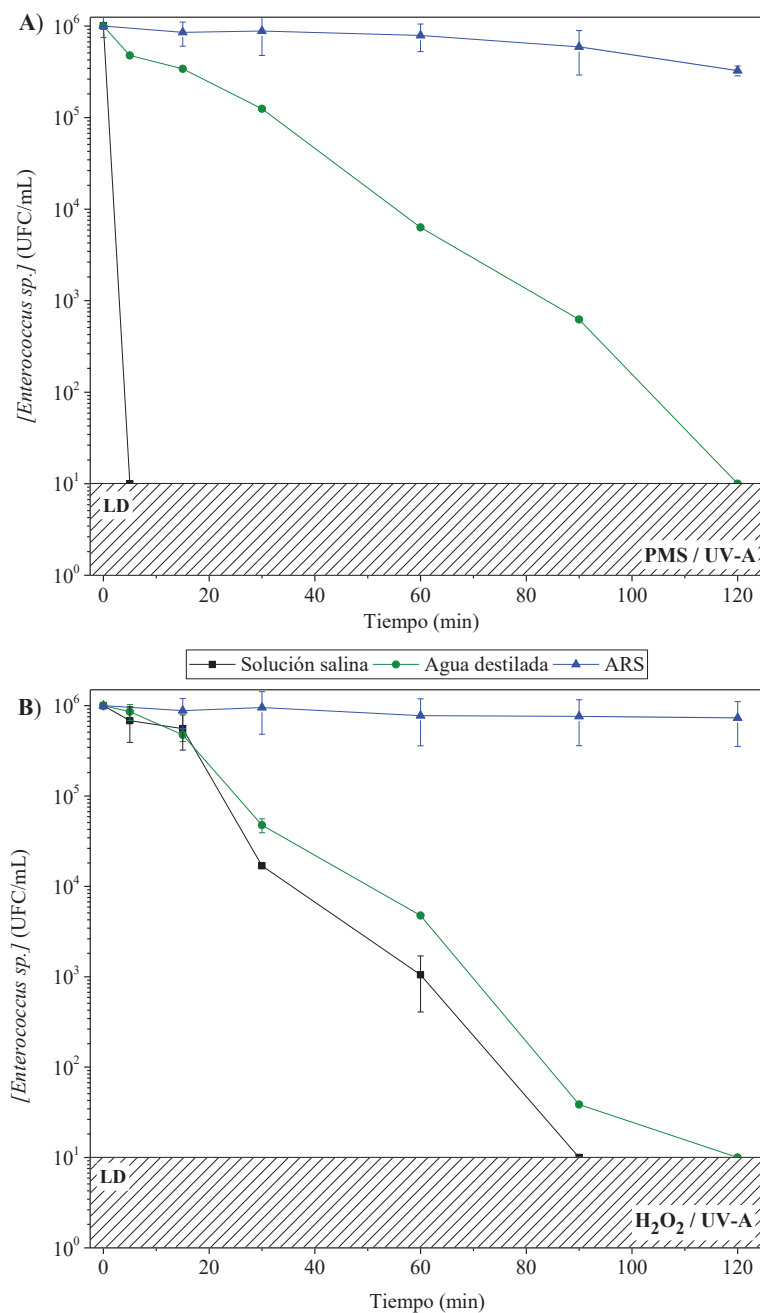


Figura 4-4. Influencia la matriz sobre el tratamiento A) PMS/UV-A y B) H₂O₂/UV-A para la inactivación de *Enterococcus sp.* Condiciones experimentales: [PMS] = 0,05 mM; [H₂O₂] = 1,5 mM; pH = natural; Reactor = reactor tubular; λ = 365 nm. LD: límite de detección.

Por otro lado, el tratamiento optimizado en agua destilada no fue suficiente para inactivar *Enterococcus sp.* en el agua residual simulada, lográndose solamente una reducción de 0,5 log de la concentración de microorganismos inicial después de 120 min. Una mayor complejidad de la matriz suele conducir a menores tasas de degradación o inactivación, y la materia orgánica disuelta (DOM) tiene un papel documentado como sumidero de radicales (Giannakis, Lin, *et al.*, 2021). El agua residual simulada utilizada en este trabajo tenía un

contenido de carbono orgánico disuelto de $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ que es, probablemente, el responsable de la inhibición del tratamiento. Además, la materia orgánica puede absorber la radiación en la región UV-A, impidiendo también de esta manera la activación del oxidante. Asimismo, la naturaleza inestable del PMS significa que puede reaccionar rápidamente con casi cualquier componente de la matriz (Antoniou *et al.*, 2010; Waławek *et al.*, 2017). Por tanto, cuanto mayor sea la complejidad de la matriz, mayor será la tasa de degradación del PMS, dejando menos cantidad disponible para la activación mediante la radiación UV-A. Estudios anteriores han demostrado que se necesitarían dosis más altas de PMS para lograr la inactivación bacteriana en estas condiciones (Rodríguez-Chueca, Guerra-Rodríguez, *et al.*, 2019).

En la Figura 4-4B se compara la eficacia del sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV-A}$ en las tres matrices estudiadas. Se observó, de nuevo, una inhibición completa del tratamiento cuando se aplicó en aguas residuales simuladas. Al igual que en el sistema PMS/UV-A, la presencia de materia orgánica podría ser la principal responsable de la inhibición del tratamiento al absorber la radiación, reaccionar con los radicales y promover la degradación del H_2O_2 , también conocido por su naturaleza inestable. Aunque Cédar *et al.* (2016) determinaron que la cantidad de H_2O_2 utilizada en este trabajo (1,5 mM) es suficiente para eliminar los estrógenos de las aguas residuales, en dicho estudio se utilizó UV-C (254 nm) para activar el H_2O_2 . El peróxido de hidrógeno tiene una capacidad de absorción de radiación mucho mayor en la región UV-C que en la longitud de onda utilizada en este trabajo (Urey *et al.*, 1929), lo que explica la diferencia en la eficiencia de activación. Por tanto, sería necesaria una dosis de radiación mucho mayor para conseguir el mismo efecto.

Las tasas de desinfección alcanzadas en la matriz salina fueron similares a las obtenidas en agua destilada, siendo la cinética de desinfección ligeramente superior en SS. En esta matriz, el límite de detección se alcanzó a los 90 minutos, en comparación con los 120 minutos necesarios para alcanzar el mismo punto cuando el tratamiento se aplicó en agua destilada. Esto difiere de los resultados comunicados por otros autores para la eliminación de contaminantes orgánicos (X. Ding *et al.*, 2020; X. Liu *et al.*, 2020; Nihemaiti *et al.*, 2018; Yiqing Zhang *et al.*, 2019). Se ha demostrado que la presencia de Cl^- tiene efectos inhibitorios en la degradación de compuestos como la amoxicilina (Yiqing Zhang *et al.*, 2019), la ofloxacina (X. Liu *et al.*, 2020) o el colorante RhB (X. Ding *et al.*, 2020) al actuar como *scavenger* de radicales hidroxilo (ec. 4.3 y 4.4) (Jayson *et al.*, 1973). Por otra parte,

Nihemaiti *et al.* (2018) afirmaron que la presencia de cloruro no influyó en la degradación de las sustancias químicas orgánicas traza, ya que la reacción entre el cloruro y el radical $\text{HO}^\bullet$ es reversible, siendo la constante de velocidad de la reacción hacia adelante ($4,3 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) ligeramente inferior a la de la reacción hacia atrás ($6,1 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$). En el caso aquí evaluado, el radical cloro formado durante estas reacciones puede ayudar a la inactivación de *Enterococcus sp.*

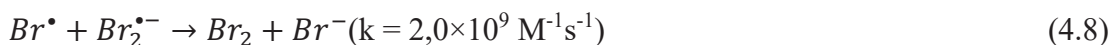
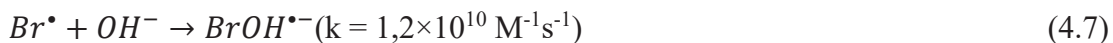
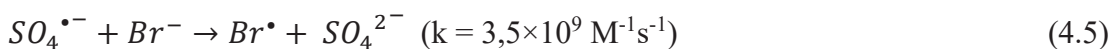


4.1.3. Influencia de la presencia de aniones inorgánicos en la matriz

Como se ha demostrado, la composición de la matriz en la que tienen lugar los tratamientos tiene una gran influencia en su eficacia. La presencia de ciertos compuestos, como la materia orgánica o los carbonatos, que se encuentran fácilmente en las aguas residuales urbanas, ha sido ampliamente estudiada (Ribeiro *et al.*, 2019). Sin embargo, hay poca o ninguna información sobre las implicaciones de la presencia de otros compuestos inorgánicos que aparecen frecuentemente en las aguas residuales industriales en altas concentraciones. La mayoría de los estudios sobre la influencia de la matriz han evaluado la degradación de contaminantes (Ao *et al.*, 2018; P. Wang *et al.*, 2021; Yiqing Zhang *et al.*, 2017), pero también es necesario estudiar el efecto de los iones inorgánicos en la inactivación de los microorganismos. Por este motivo, se ha analizado la influencia de cinco aniones a una concentración de 5 mM (NO_2^- , NO_3^- , F^- , Br^- , PO_4^{3-}) en los tratamientos optimizados. La concentración de 5 mM para cada anión se seleccionó como la concentración necesaria para observar efectos positivos o negativos en los tratamientos seleccionados. Para evitar interferencias con el objetivo del estudio, se realizaron pruebas para comprobar que estos compuestos no fueran perjudiciales para los microorganismos en la concentración utilizada (datos no mostrados).

La Figura 4-5A muestra la influencia de los aniones en la activación del PMS para la inactivación de *Enterococcus sp.* Se observó un gran aumento de la eficacia del proceso cuando se trató con 5 mM de Br^- en agua. Mientras que en el tratamiento de referencia (en agua destilada) el límite de detección se alcanzaba después de 120 minutos, la presencia de bromuros en la matriz aumentó la velocidad de reacción de forma que el límite de detección se alcanzó en media hora. Este comportamiento se asemeja al observado en presencia de

cloruros. Un estudio realizado por Xie *et al.* (2016) reveló que tanto el radical $SO_4^{\bullet-}$ como el PMS pueden transformar el Br^- en radicales de bromo, bromo libre y otras especies bromadas como el $HBrO$ (ec. 4.5-4.11). Estas nuevas especies reactivas generadas son las responsables de la rápida inactivación bacteriana. Sin embargo, la presencia de estas nuevas especies puede conducir, en presencia de materia orgánica, a la formación de SPD potencialmente dañinos. En estas circunstancias, el uso de AOP pierde una de sus principales ventajas, la no formación de SPD.



Tanto la presencia de fluoruros como la de nitritos parecen tener el efecto contrario, disminuyendo la eficacia del tratamiento. Después de 120 minutos, la concentración de microorganismos se redujo sólo en 2,51 log en presencia de NO_2^- . Aunque Chai *et al.* (2021) informaron que las bajas concentraciones de este ion pueden promover la generación de radicales en los procesos catalíticos, la presencia de un exceso de iones NO_2^- puede actuar como *scavenger* de radicales de sulfato ($k = 8,8 \times 10^8 \text{ M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) (Neta *et al.*, 1988).

Más notable fue la disminución en presencia de F^- ya que, para el mismo tiempo de tratamiento, la concentración inicial de microorganismos se reduce en sólo 1,68 log. Tras una revisión bibliográfica, se ha comprobado que ninguna investigación previa ha estudiado la interacción del PMS o los radicales sulfato con el F^- . Aun así, de la respuesta observada podría deducirse que los fluoruros compiten con los microorganismos por los radicales, disminuyendo así la eficacia del tratamiento.

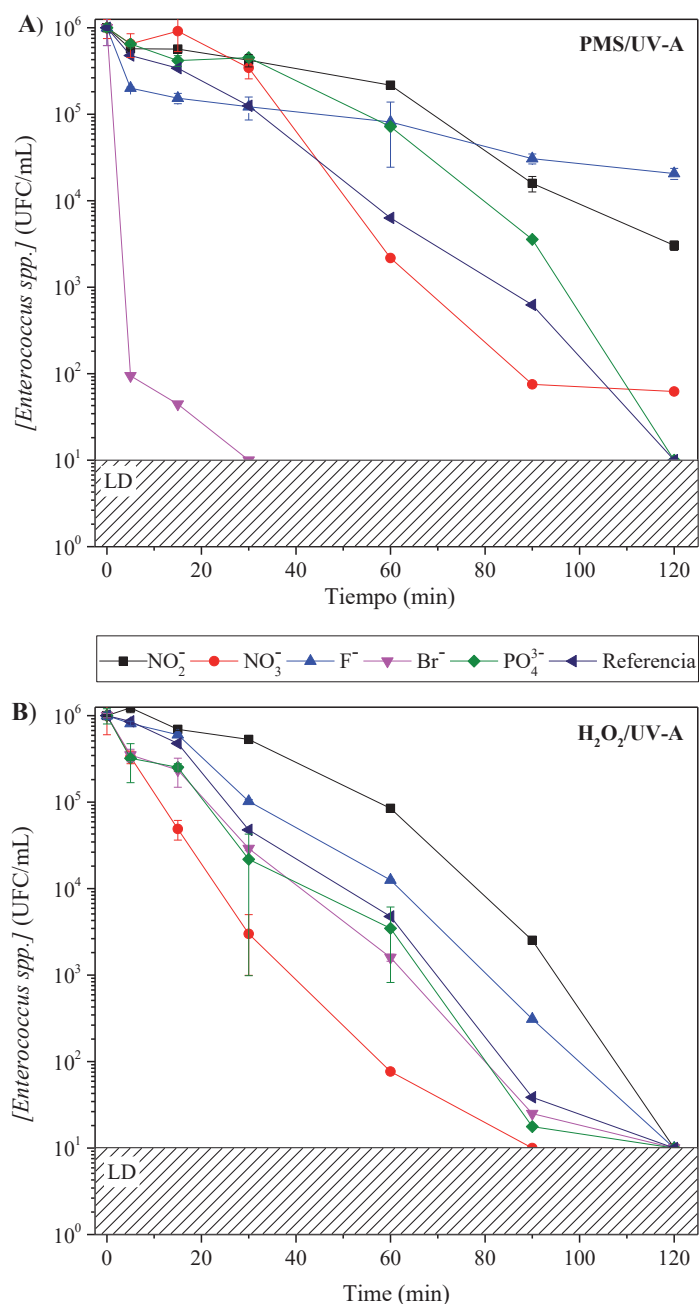


Figura 4-5. Influencia de la presencia de aniones inorgánicos sobre el tratamiento A) PMS/UV-A y B) H₂O₂/UV-A para la inactivación de *Enterococcus sp.* Condiciones experimentales: [PMS] = 0,05 mM; [H₂O₂] = 1,5 mM; pH = natural; Matriz = agua destilada; Reactor = reactor tubular; λ = 365 nm. LD: límite de detección.

Finalmente, ni el PO_4^{3-} ni el NO_3^- tuvieron un efecto considerable sobre el tratamiento. En el estudio de la activación catalítica del PMS, se encontró que los fosfatos, así como los nitratos y nitritos, tienen un efecto inhibitor sobre el tratamiento (Yao *et al.*, 2016). Sin embargo, este efecto negativo se atribuye a la competencia de los aniones por los centros

activos en la superficie del catalizador utilizado, y no por la reacción con los radicales debido a la baja velocidad de reacción entre NO_3^- y $\text{SO}_4^{\bullet-}$ ($k = 2,1 \text{ M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) (Neta *et al.*, 1988). Por otro lado, Ao *et al.* (2018) determinaron que la eliminación de ciprofloxacina por PMS/UV-A se veía potenciada por la presencia de NO_3^- . Esto sirve para ilustrar que es necesario estudiar cada caso concreto para saber cómo interactuarían los componentes del contaminante y de la matriz.

Los resultados muestran que el tratamiento basado en la activación del H_2O_2 se ve menos afectado por las variaciones en la composición de la matriz (Figura 4-5B). No se observaron diferencias respecto al tratamiento de referencia cuando el proceso se llevó a cabo en presencia de Br^- , F^- , o PO_4^{3-} . Por el contrario, la eficacia disminuyó ligeramente en presencia de nitritos, ya que se observó una ralentización de la inactivación bacteriana durante la primera parte del tratamiento. Sin embargo, finalizado el tratamiento se obtuvo el mismo resultado que en el tratamiento de referencia, alcanzando el límite de detección a los 120 min. Una alta concentración de NO_2^- también condujo a una menor degradación del ibuprofeno en el estudio de P. Wang *et al.* (2021). Este ion reacciona con el radical hidroxilo ($k = 1 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) dando lugar al radical $\text{NO}_2^{\bullet}$ menos reactivo. Finalmente, se observó una mejora en la inactivación bacteriana con la adición de 5 mM de NO_3^- , alcanzando el límite de detección en 90 min en el sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV-A}$. Se ha reportado que estas especies inorgánicas generan radicales $\text{HO}^{\bullet}$ y radicales $\text{NO}_2^{\bullet}$ bajo fotólisis UV directa (ec. 4.12-4.16), incrementando consecuentemente la degradación de algunos compuestos (Yiqing Zhang *et al.*, 2017). Aunque este proceso puede ocurrir en ambos sistemas estudiados, los resultados muestran que se ve potenciado en el sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV-A}$.



Estos resultados sugieren que el sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV-A}$ es algo menos dependiente de la composición de la matriz que los tratamientos basados en PMS, siendo la presencia de nitritos una contraindicación para la aplicación de cualquiera de los dos procesos. Además,

el uso de procesos de oxidación avanzada basados en la formación de radicales sulfato también estaría contraindicado para aguas con una alta concentración de bromuros, a pesar de la mayor tasa de inactivación, debido al riesgo potencial de formación de SPD perjudiciales.

4.1.4. Mecanismos de inactivación de *Enterococcus sp.*

Identificación de los principales radicales involucrados

Para conocer mejor las especies reactivas que intervienen en el proceso de inactivación, se ha realizado un conjunto de experimentos utilizando diferentes *scavengers* en los tratamientos, tanto en agua destilada como en solución salina. Estos experimentos no se han llevado a cabo en el agua residual simulada debido al bajo rendimiento del tratamiento conseguido en dicha matriz. El uso de *scavengers* es una buena aproximación cualitativa para la identificación de radicales; sin embargo, para confirmar los resultados se deberían realizar análisis adicionales utilizando tecnologías analíticas más complejas como la resonancia paramagnética de electrones. El MeOH se ha utilizado como secuestrador de radicales hidroxilo y sulfato, mientras que el TBA se ha utilizado como para la identificación únicamente de radicales hidroxilo. Además, el oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$) también puede desempeñar un papel importante en la eliminación de contaminantes en los AOP, por lo que el FFA se utiliza como eliminador de esta especie. Se sabe que el MeOH reacciona con el radical $\text{SO}_4^{\cdot-}$ y el radical $\text{HO}^{\cdot}$ a una velocidad de $3,2 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ y $9,7 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, respectivamente (Neta *et al.*, 1988). Por el contrario, el TBA reacciona sólo con el radical $\text{HO}^{\cdot}$ a una velocidad de $6 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, tres órdenes de magnitud más rápida que el radical $\text{SO}_4^{\cdot-}$ ($8,0 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) (Neta *et al.*, 1988). El FFA reacciona con el $^1\text{O}_2$ a una velocidad de $1,2 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, pero hay que tener en cuenta que el FFA es también un eficiente *scavenger* del radical $^{\cdot}\text{OH}$ ($1,5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$). Así, si el radical $\text{HO}^{\cdot}$ fuera la especie reactiva dominante, el TBA y el FFA deberían tener efectos inhibidores similares (Chenxu Li *et al.*, 2019).

Todos los *scavengers* tuvieron un efecto similar en la activación del PMS en la matriz más sencilla. La eficacia del tratamiento se redujo de manera que, después de dos horas, la concentración de microorganismos sólo se redujo en 1-2 unidades log (Figura 4-6A). Esto demuestra que el radical $\text{HO}^{\cdot}$ es el principal responsable de la inactivación bacteriana en este escenario, ya que es el único radical que reacciona con todos los *scavengers* utilizados. Sin embargo, como la inhibición no es completa, puede deducirse que hay una parte de la

desinfección que no se debe a la acción de ninguno de los radicales estudiados, lo que podría indicar la combinación con vías no radicalarias. Qi *et al.* (2020) obtuvieron el mismo resultado al combinar PMS y radiación UV-A para la inactivación de *Escherichia coli*. De hecho, la existencia de mecanismos no radicales para la desinfección o degradación de contaminantes es considerada, en ocasiones, como una de las ventajas del uso de PMS, ya que estos mecanismos son menos sensibles a presencia de la materia orgánica (Giannakis, Lin, *et al.*, 2021).

La realización de experimentos con *scavengers* en la matriz salina confirmó que, como se indicó en el apartado 4.1.2, la inactivación en este escenario es principalmente consecuencia de la generación de especies cloradas (ec. 4.1 y 4.2). La Figura 4-6B muestra que ninguno de los *scavengers* provocó una disminución pronunciada de la eficacia del tratamiento, lo que revela que las especies reactivas estudiadas desempeñan un papel menor en la desinfección. Un examen más detallado de las curvas de inactivación muestra que todos los *scavengers* aumentaron ligeramente el tiempo necesario para completar el tratamiento de 5 a 15 min, siendo el uso de FFA el que dio lugar a la inactivación más lenta. Wen *et al.* (2019) también afirmaron la mayor implicación en la desinfección de especies cloradas en comparación con los radicales en su estudio sobre la inactivación de hongos mediante un sistema PMS/ Cl^- .

Al igual que sucede al utilizar PMS, el radical hidroxilo es el principal responsable de la inactivación de *Enterococcus sp.* al aplicar el sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV-A}$ en agua destilada. De hecho, al añadir MeOH y FFA a los tratamientos, se obtuvieron resultados muy similares (Figura 4-7A). El tratamiento se inhibió de forma que, cuando se utilizó MeOH, la tasa de desinfección fue de 0,6 log después de 90 min. Se observó una inhibición ligeramente más fuerte cuando se utilizó FFA como secuestrador, disminuyendo la concentración de *Enterococcus sp.* únicamente en 0,5 unidades logarítmicas para este mismo tiempo. Esto indica que el $^1\text{O}_2$ también desempeña un papel en el tratamiento, aunque menor que el radical $\text{HO}^\bullet$.

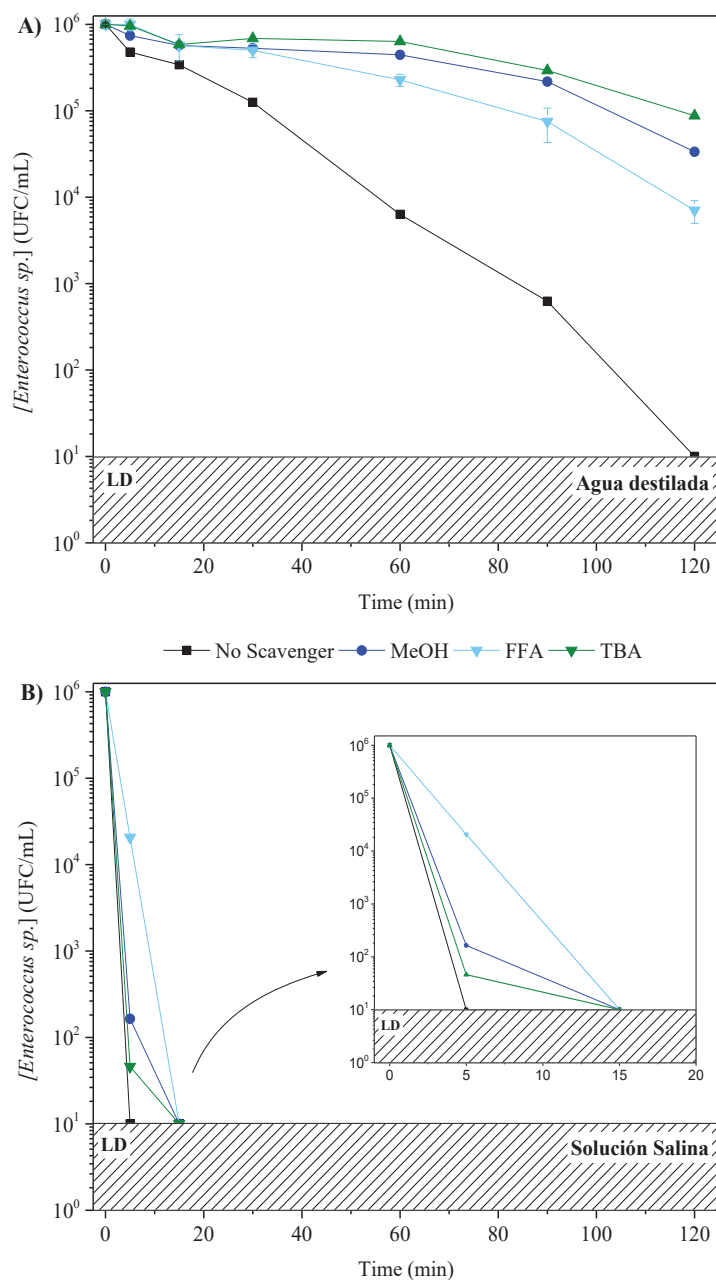


Figura 4-6. Influencia de los *scavengers* en la inactivación de *Enterococcus sp.* mediante PMS/UV-A en A) agua destilada y B) solución salina. Condiciones experimentales: pH = natural; [PMS] = 0,05 mM; [PMS]: [Scavenger] = 1:20; λ = 365 nm; Reactor = tubular. LD: límite de detección.

Muchos de los estudios que informan del uso de H_2O_2 /UV-A para la eliminación de contaminantes pasan por alto el posible efecto de otros radicales distintos del radical $\text{HO}^\bullet$ (Amanollahi *et al.*, 2021; P. Wang *et al.*, 2021). Sin embargo, un estudio reciente de Kim *et al.* (2021) abordó la aparición de especies reactivas desconocidas en sistemas H_2O_2 /UV, e

informó de la presencia de oxígeno singlete. Del mismo modo, también Liu *et al.* (2020) encontraron que el $^1\text{O}_2$ tiene un papel relevante en la eliminación de ofloxacino y levofloxacino al utilizar el sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV-A}$, si bien es el $\text{HO}^\bullet$ el principal radical responsable de degradación.

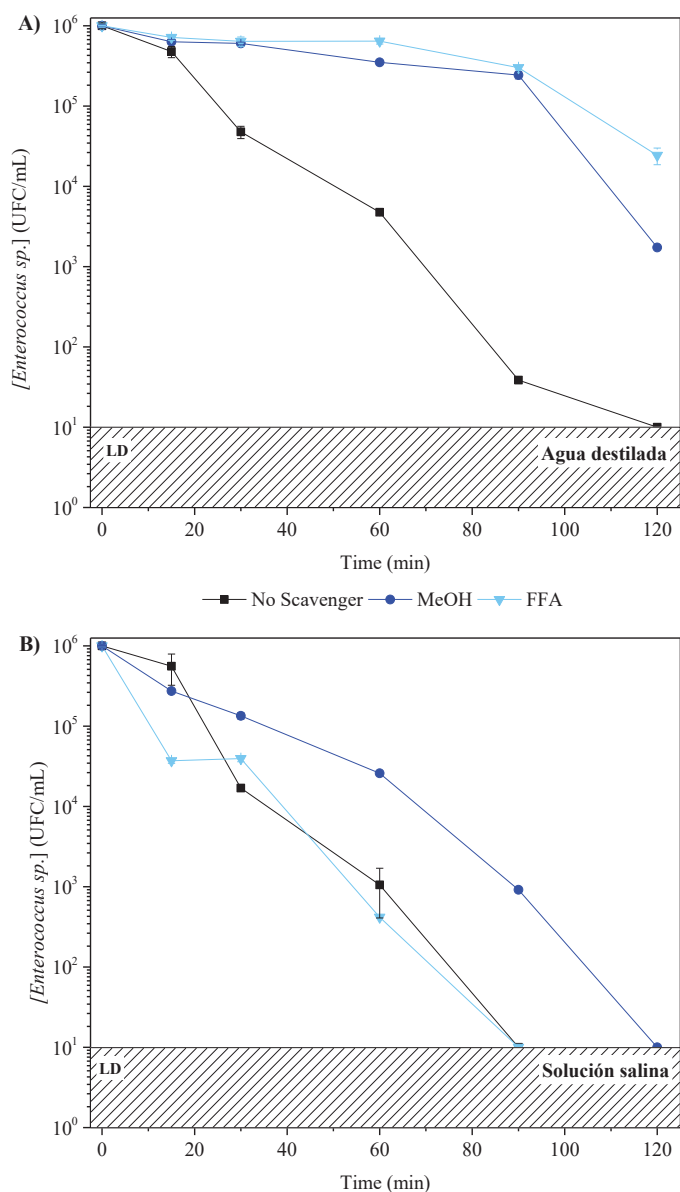


Figura 4-7. Influencia de los *scavengers* en la inactivación de *Enterococcus sp.* mediante $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV-A}$ en A) agua destilada y B) solución salina. Condiciones experimentales: $[\text{H}_2\text{O}_2] = 1,5$ mM; $[\text{H}_2\text{O}_2]: [\text{Scavenger}] = 1:20$; pH = natural; $\lambda = 365$ nm.; Reactor = tubular. LD: límite de detección.

Aunque el resultado final de desinfección obtenido mediante el sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ es similar en las dos matrices, el estudio de *scavengers* realizado revela que el mecanismo de inactivación es muy diferente cuando se trata una matriz con una alta concentración Cl^- . En este caso, los radicales hidroxilo no juegan un papel tan relevante en el tratamiento ya que, aunque la desinfección se inhibe ligeramente cuando se utiliza MeOH como *scavenger*, después de 120 min el resultado obtenido es el mismo. Esto se debe a que, tal y como se discutió en el apartado 4.1.2, la reacción entre los radicales hidroxilo generados y el cloruro disuelto también puede dar lugar a la formación de cloro libre (ec. 4.3 y 4.4), siendo este último el responsable más probable de la inactivación bacteriana.

Propuesta de mecanismo de inactivación

Sobre la base de los resultados anteriores, y de una revisión crítica de la literatura científica, se ha propuesto un esquema de los procesos que podrían desempeñar un papel en la inactivación de *Enterococcus sp.* Dichos procesos se han ilustrado, para cada uno de los tratamientos evaluados, en la Figura 4-8.

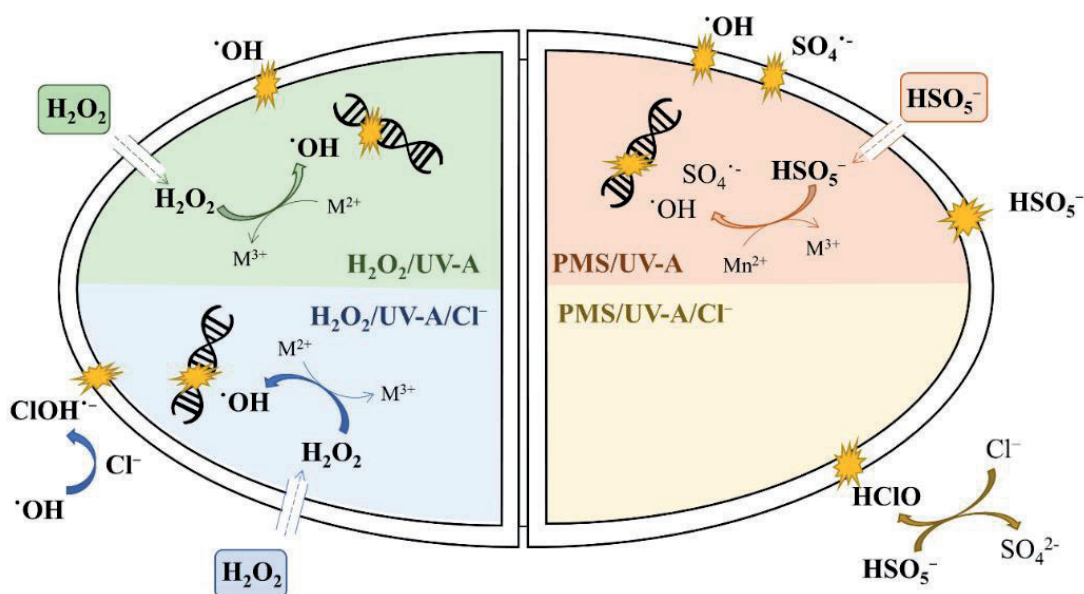


Figura 4-8. Mecanismos propuestos para la inactivación de *Enterococcus sp.* mediante los tratamientos estudiados (figura de elaboración propia).

El efecto de la luz UV en la inactivación de las bacterias difiere según la fuente de radiación. A diferencia de la radiación UV-C, la emisión en el rango UV-A no es absorbida por el ADN

de las bacterias, pero es capaz de inactivar los microorganismos dañando sus proteínas o mediante la generación de especies oxidantes reactivas de manera interna (Chevrement *et al.*, 2012). En los ensayos realizados únicamente con radiación, se ha observado que la dosis utilizada no es suficiente para desinfectar, aunque sí se espera que, a lo largo del tratamiento, ésta afecte a la membrana celular.

Al combinar la radiación UV-A con el H_2O_2 , se pueden generar, en el medio extracelular, radicales hidroxilo que son capaces de atacar y destruir la membrana celular, lo que provoca la fuga de material intracelular y la muerte de las bacterias. De hecho, se ha confirmado mediante experimentos con *scavengers* que el radical $\text{HO}^\bullet$ es el principal responsable de la inactivación de *Enterococcus sp.* en el sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV-A}$. Además, tal y como se ha mencionado previamente, la estructura celular podría debilitarse debido a la exposición a los rayos UV-A. Esto permitiría la difusión del H_2O_2 en la célula, pudiendo producirse una reacción de Fenton intracelular con el hierro presente de forma natural en la célula que conduciría a una mejora de la inactivación bacteriana (Feng *et al.*, 2020). Esto se refleja en un aumento, en los últimos minutos, de la tasa de desinfección (Figura 4-7A) que no depende de los radicales generados. Además, este efecto se acentúa al aumentar el flujo de radiación incidente, lo que explica que no se haya observado este efecto en el reactor discontinuo.

Algo similar podría ocurrir en el sistema PMS/UV-A. De nuevo, se ha visto que el radical más influyente en la inactivación de los microorganismos es el radical $\text{HO}^\bullet$, aunque también hay que suponer cierta participación del radical sulfato. Al igual que el radical $\text{HO}^\bullet$, el radical $\text{SO}_4^{\bullet-}$ tiene una fuerte capacidad oxidativa, capaz de oxidar los lípidos de la membrana celular y destruir sus proteínas (R. Xiao *et al.*, 2019). Como se ha mencionado anteriormente, la radiación UV-A provoca un estrés en la célula que permite que las especies reactivas penetren a través de la membrana y alcancen el citoplasma, provocando potencialmente la oxidación de las proteínas citoplasmáticas y causa la muerte de las bacterias (W. Qi *et al.*, 2020). Además de los radicales, existen otras formas de oxidar la membrana citoplasmática que pueden estar relacionadas con otras formas de acción del PMS. Por un lado, es posible la oxidación directa del PMS sobre los componentes de la pared celular (Berruti, Oller, *et al.*, 2021). Por otro lado, Berruti *et al.* (2021) también proponen la posibilidad de que el sulfato penetre a través de la membrana celular, facilitando su reacción con los metales naturalmente presentes en el interior de la célula. A partir de esto, también se pueden generar radicales de sulfato e hidroxilo intracelularmente, dañando los componentes internos de la

célula. Este enfoque se basa en el hecho de que el sulfato (SO_4^{2-}), presente en el Oxone, es una de las fuentes de azufre preferidas por las células y su captación se produce a través de transportadores de proteínas de membrana bien definidos (Berruti, Oller, *et al.*, 2021).

Un escenario muy diferente aparece en el sistema PMS/UV-A/ Cl^- , donde toda la desinfección es consecuencia de los compuestos de cloro generados como consecuencia de la reacción entre PMS y Cl^- . Wen *et al.* (2019) estudiaron el efecto del sistema PMS/ Cl^- en la inactivación de varias especies fúngicas, determinando que la membrana celular se destruye en el tratamiento, descargando el material intracelular en el medio. Esto se debe a que, como se ha demostrado, los compuestos químicos con alto potencial oxidativo (como el cloro libre) rompen los enlaces químicos de las moléculas que componen las células (R. Xiao *et al.*, 2019).

Durante el tratamiento con H_2O_2 /UV-A/ Cl^- también se ha observado que los radicales hidroxilo no juegan ningún papel, o sólo uno residual, en la inactivación de los microorganismos. Al igual que en el caso del PMS, en este tratamiento los compuestos clorados podrían desempeñar un papel en la inactivación bacteriana. Sin embargo, en esta ocasión, su generación está condicionada a la generación previa de radicales hidroxilo, como se explica en el apartado 4.1.2. Esto explicaría por qué se observa una tasa de desinfección más lenta que en el escenario PMS/UV-A, donde el PMS puede reaccionar directamente con los cloruros. Por tanto, en este último escenario cabe esperar que la inactivación se produzca por dos vías: la oxidación directa a partir del $\text{ClOH}^\bullet$ (ec. 3 y 4) y la oxidación intracelular, como se ha explicado anteriormente.

4.2. Evaluación del sulfito de sodio como fuente de radicales

El PMS es, junto al persulfato o peroxidisulfato (PS o PDS), el compuesto utilizado con mayor frecuencia en los procesos de oxidación avanzada basados en radicales sulfato. Sin embargo, existen otros compuestos de azufre cuya aplicación al tratamiento de aguas ha sido estudiada en algún momento, como es el caso del sulfito de sodio (Khan *et al.*, 2018; Nie y Xiao, 2020; B. Xie *et al.*, 2017). La activación del sulfito (SO_3^{2-}) por medio de la radiación ultravioleta (Q. Xiao, Wang, *et al.*, 2017) es reconocida como uno de los principales procesos de reducción avanzada en el ámbito del tratamiento de agua (Khan *et al.*, 2018). De forma similar a los AOP, estos procesos se basan en la formación de especies reductoras, capaces de degradar los contaminantes mediante su reducción.

En la activación mediante radiación, las moléculas de sulfito de sodio (normalmente presentes en el medio como una combinación de SO_3^{2-} y HSO_3^-) absorben la energía, descomponiéndose y generando tres especies reactivas diferentes, todas ellas con un alto poder reductor (ec. 4.17-4.18). Entre las especies generadas, los electrones hidratados (e_{aq}^-) tienen el mayor potencial de reducción (-2,90 V), seguidos por los átomos de hidrógeno ($H^\bullet$) y los aniones radicales de sulfito ($SO_3^{\bullet-}$), cuyos potenciales de reducción son -2,30 V y -0,73 V, respectivamente (Xingyue Yu *et al.*, 2019).



Sin embargo, estas no son las únicas especies presentes, ya que el $SO_3^{\bullet-}$ generado puede, a su vez, reaccionar con el oxígeno disuelto en el agua dando lugar a otros radicales como $SO_5^{\bullet-}$ y $SO_4^{\bullet-}$ (ec. 4.19-4.20) (Neta *et al.*, 1982; Warneck y Ziajka, 1995). Además, en los últimos tiempos ha aumentado el número de estudios relacionados con la activación catalítica del sulfito para la eliminación de contaminantes orgánicos. A diferencia de lo que ocurre al utilizar radiación, se ha comprobado que las principales especies reactivas generadas por la activación catalítica de sulfitos son el $SO_4^{\bullet-}$ y $HO^\bullet$, ambas especies altamente oxidantes, además del $SO_3^{\bullet-}$ y el $SO_5^{\bullet-}$ (W. Ding *et al.*, 2019; Wei *et al.*, 2018). Por todo ello, estos procesos pueden definirse como procesos avanzados de oxidación/reducción.



Existen diversas investigaciones que han demostrado que estos tratamientos pueden utilizarse para la eliminación de contaminantes orgánicos como el 4-bromofenol (B. Xie *et al.*, 2017) o los colorantes (Nie y Xiao, 2020). Por el contrario, muy pocos investigadores evalúan su eficacia en la inactivación de microorganismos patógenos (L. Chen *et al.*, 2017). Sin embargo, el sulfito se ha utilizado históricamente en la industria alimentaria, entre otras razones, por su efecto antimicrobiano (Irwin *et al.*, 2017). Por tanto, es de esperar que los procesos de oxidación-reducción basados en el sulfito sean capaces de inactivar los microorganismos presentes en la matriz acuosa.

Por otra parte, en el apartado 4.1.2 se ha visto como evaluar los tratamientos en matrices sencillas (como el agua destilada), aunque hace posible ver con mayor claridad las sinergias

entre los diferentes elementos, no es realista ya que, al aplicar los tratamientos optimizados a una matriz más compleja (como es el caso del agua residual simulada) su eficacia desciende considerablemente. Es por ello por lo que, a partir de este punto, todos los tratamientos se han evaluado sobre matrices complejas. Aunque idealmente esta matriz sería un agua residual real, ante la dificultad que conlleva adquirirla y la imposibilidad de garantizar que la composición de las muestras sea constante a lo largo de todos los ensayos, se ha utilizado agua residual simulada sintetizada a partir de la receta que se puede encontrar en el apartado 3.1.1. Igualmente, al final del capítulo se compararán los resultados de desinfección obtenidos con los que se obtendrían en un agua real, recogida a la salida el tratamiento secundario de una EDAR de la Comunidad de Madrid.

4.2.1. Selección del tipo de radiación

El aporte de energía al sulfito para la generación de radicales puede hacerse mediante diferentes tipos de radiación, siendo la radiación ultravioleta una de las más utilizadas para este fin. Concretamente, la longitud de onda óptima para la activación de este compuesto se sitúa en torno a los 200 nm, mientras que a 365 nm (longitud de onda típica de la radiación UV-A) no se observa ninguna absorbancia (Figura 4-9). Por ello, la longitud de onda más común a la que se realizan los experimentos es la de 254 nm, más cercana al pico de absorbancia (Q. Xiao, Ren, *et al.*, 2017; B. Xie *et al.*, 2017).

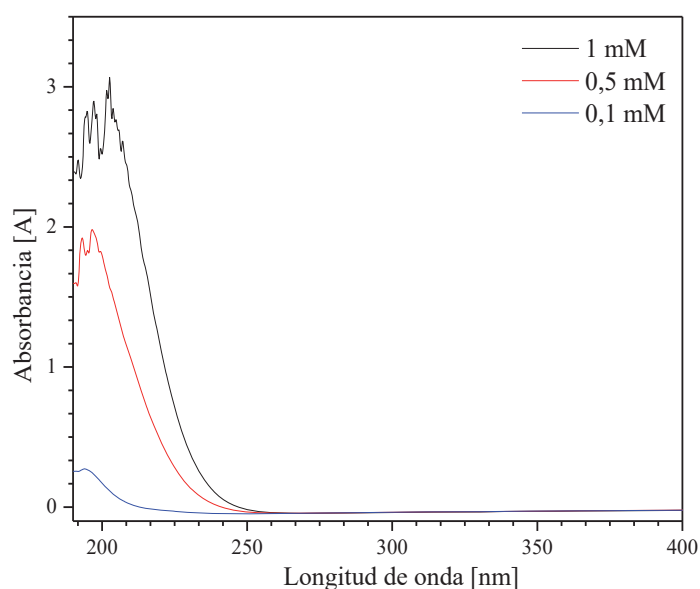


Figura 4-9. Espectro de absorción del sulfito de sodio en el rango UV (figura de elaboración propia).

A pesar de que la radiación en el espectro UV-C parece ser más apropiada para la activación del sulfito según el espectro de absorción, su utilización no permite observar las posibles sinergias que existieran al combinarla con el SO_3^{2-} , ya que la radiación UV-C (254 nm) es capaz de inactivar *Enterococcus sp.* por sí sola alcanzando el límite de detección en poco más de un minuto (resultados no mostrados). Dado que esta radiación es suficiente para inactivar los microorganismos, podría parecer que el uso de un oxidante es innecesario. Sin embargo, a diferencia de los AOP, la irradiación UV-C por sí misma no es capaz de degradar la mayoría de contaminantes recalcitrantes (Rodríguez-Chueca, della Giustina, *et al.*, 2019), lo cual sería deseable en una aplicación real. Aunque el PMS tampoco absorbe radiación en el rango UV-A, se ha demostrado en este capítulo que la combinación de ambos genera sinergias en la inactivación de microorganismos generando, al menos, radicales $\text{HO}^\bullet$ (Rodríguez-Chueca, Silva, *et al.*, 2017; Jiaming Zhang *et al.*, 2019). Por ello, es coherente esperar que en este caso pudiera observarse un fenómeno análogo.

Por otra parte, la radiación ultrasónica también ha demostrado ser capaz de activar el sulfito (T. Luo, Xu, *et al.*, 2021). De hecho, Luo *et al.* (2021), en su estudio, consiguieron la completa eliminación de 5 μM de As(III), utilizando para ello 1 mM de SO_3^{2-} activado exclusivamente mediante US.

Teniendo todo esto en cuenta, se decidió evaluar el poder de la radiación UV-A y los US, en la activación de 1 mM de sulfito para la inactivación de *Enterococcus sp.*, y en la Figura 4-10 se muestran los resultados obtenidos.

Como se puede observar, los US no fueron capaces de activar el PMS, mientras que sí que se observaron sinergias al utilizar radiación UV-A llegando reducir la población bacteriana en casi 2 log. La falta de eficacia de los US es debida, probablemente, a la potencia del equipo utilizado, ya que T. Luo *et al.* (2021) demostraron la alta influencia de este parámetro en el resultado de degradación alcanzado, determinando una potencia de trabajo óptima de 650 W. Sin embargo, la capacidad del equipo utilizado en este trabajo es muy inferior, siendo la potencia de ultrasonidos eficaz determinada por el fabricante únicamente 140 W. A la vista de estos resultados, se decidió dejar de lado la activación mediante US y evaluar en más profundidad la capacidad de activación de la radiación UV-A.

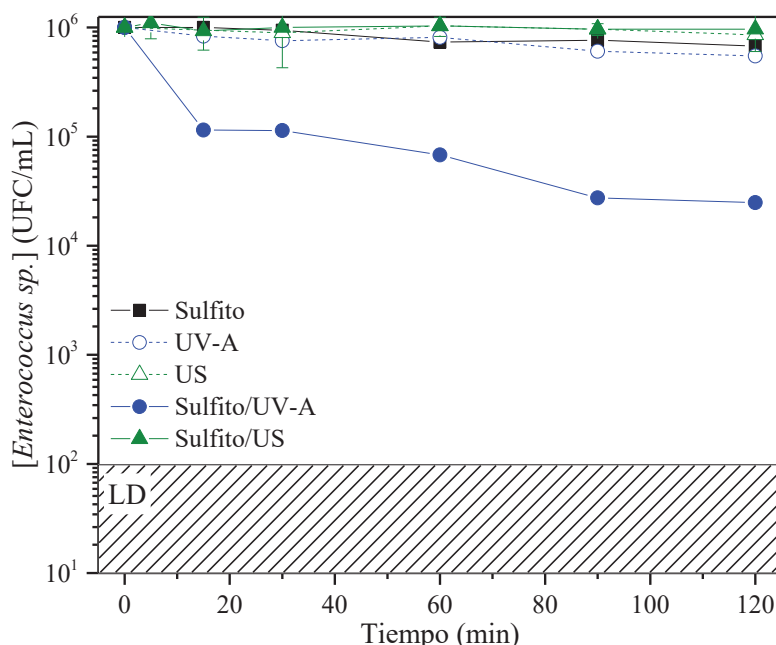


Figura 4-10. Activación de SO_3^{2-} mediante UV-A y US para la inactivación de *Enterococcus sp.*

Condiciones experimentales: $[\text{SO}_3^{2-}] = 1 \text{ mM}$; $\text{pH} = 6$; Matriz = ARS. LD: límite de detección.

Para ello, se estudió la inactivación de *Enterococcus sp.* a lo largo del tiempo para diferentes concentraciones de SO_3^{2-} , siempre bajo la incidencia de radiación UV-A. Los resultados de desinfección obtenidos se muestran en la Figura 4-11, siendo la mayor tasa de desinfección la conseguida para la concentración de sulfito 0,5 mM. Aunque podría esperarse que al incrementar la dosis de reactivo aumentase la eficacia del tratamiento, el aumento excesivo de la concentración de sulfito, hasta 10 mM, provocó la disminución de la tasa de inactivación de los microorganismos. Este fenómeno se ha observado principalmente en la activación catalítica (Yiqun Chen *et al.*, 2020), pero también se han obtenido comportamientos similares en la activación de SO_3^{2-} mediante US (T. Luo, Xu, et al., 2021) y radiación UV (Nie y Xiao, 2020). Otros autores han determinado que el radical $\text{SO}_3^{\bullet-}$ suele desempeñar un papel escaso en la oxidación de los contaminantes, debido a las constantes de velocidad relativamente bajas y a su rápida autooxidación (Yiqun Chen *et al.*, 2020), siendo el anión radical sulfato el que desempeña el papel más importante. Sin embargo, un exceso de sulfito puede llevar al agotamiento del $\text{SO}_4^{\bullet-}$, tal y como se muestra en la ecuación 4.21, dando lugar a especies menos reactivas y explicando, así el descenso de la eficacia (Wine *et al.*, 1989).



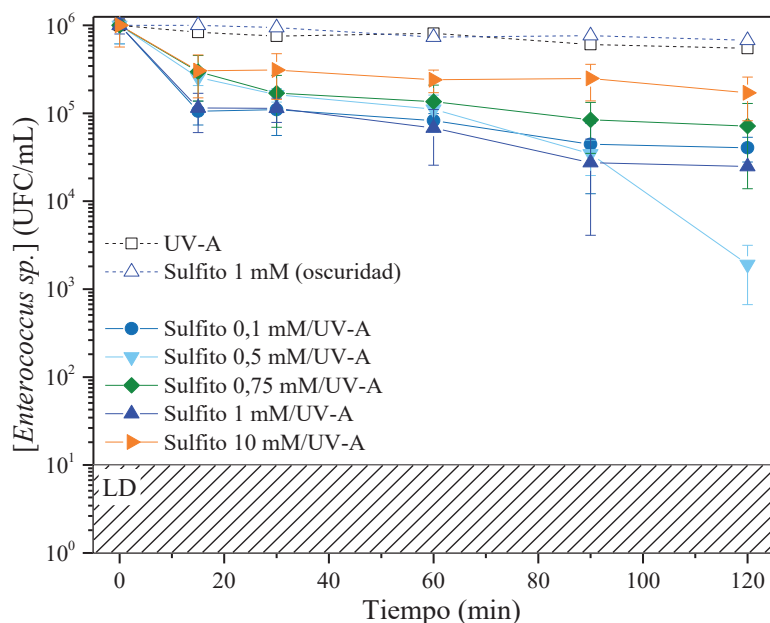


Figura 4-11. Activación fotoquímica de SO_3^{2-} para la inactivación de *Enterococcus sp.*

Condiciones experimentales: pH = 6; Matriz = ARS; $\lambda = 365$ nm. LD: límite de detección.

Aunque se ha mencionado que el mejor resultado se ha conseguido al utilizar una concentración de sulfito de 0,5 mM, es necesario destacar que, al contrario de lo que sucedía en la sección anterior para el PMS y el H_2O_2 , la mayor tasa de inactivación bacteriana alcanzada es inferior a 3 log. Además de tratarse de compuestos diferentes que, por tanto, reaccionan de manera diferente ante la energía proporcionada, debe tenerse en cuenta que la matriz acuosa en la que se han evaluado estos tratamientos es de una complejidad superior, con una alta concentración de materia orgánica y otras sales disueltas que pueden absorber parte de la radiación dificultando la activación.

4.2.2. Efecto de catalizadores de hierro en la activación de sulfito

Tal y como se mencionaba al inicio de esta sección, varios autores han demostrado la eficacia de diversos metales como el cobre (L. Chen, Huang, *et al.*, 2018) o el cobalto (D. Wu *et al.*, 2018) como catalizadores. El metal más utilizado para este fin es el hierro, que ha demostrado tener una gran capacidad catalítica en la activación de compuestos de azufre. Sun *et al.* (2018) y Jing Zhang *et al.* (2017) probaron con éxito el ferrato (Fe(VI)) como catalizador para la eliminación de varios contaminantes (N,N-dietil-3-metilbenzamida, benzotriazol, fenol, ciprofloxacina, azul de metilo, rodamina B, naranja de metilo y sulfametoxazol). Otros autores han demostrado, también, la eficacia del hierro cerivalente

en la eliminación de varios contaminantes (X-3B, nitrobenzeno, metilparabeno, bisfenol A, Imipramina, amitriptilina y propranolol) (P. Xie *et al.*, 2017, 2019).

Del mismo modo, la combinación de catalizadores y radiación para la activación fotocatalítica del sulfito ha sido evaluada por varios grupos de investigación, obteniendo un aumento de la eficacia de los tratamientos cuando se realizaban bajo radiación UV-vis (Y. Huang *et al.*, 2018; G. Li *et al.*, 2020). Por ello, y dado que mediante la combinación de SO_3^{2-} y radiación UV-A no se consiguió una desinfección completa, se decidió estudiar la influencia de la adición de un catalizador homogéneo al tratamiento. Concretamente, para este estudio se han seleccionado dos sales de hierro: el sulfato de hierro (II) y el citrato de hierro (III).

En una primera aproximación, se evaluaron diferentes concentraciones de hierro en combinación con 0,5 mM de sulfito. Sin embargo, no se observó un aumento significativo de la tasa de desinfección después de 2 horas (datos no mostrados). Una revisión de la bibliografía existente reveló que en otros tratamientos basados en la activación catalítica del SO_3^{2-} , aunque aplicados a la eliminación de CPE, la concentración de sulfito suele oscilar entre 0,5 y 2 mM (Marjanovic *et al.*, 2018; Rodríguez-Chueca *et al.*, 2014; S. Sun *et al.*, 2018). Teniendo esto en cuenta, se decidió modificar la concentración de reactivo y evaluar las especies de hierro utilizando a una dosis de sulfito de 1 mM.

La Figura 4-12A muestra que para una concentración de Fe^{2+} de 0,5 mM la inactivación mejora ligeramente si se compara con la conseguida para el sistema SO_3^{2-} /UV-A, ya que la eliminación aumenta de 1,6 a 2,3 unidades log. Un aumento de la concentración de Fe^{2+} por encima de este valor no supuso ninguna mejora en la desinfección. De hecho, el aumento de este valor hasta 1 mM supuso una menor tasa de inactivación, disminuyendo de 2 unidades log (99% de los microorganismos eliminados) a <1 log. Este es un efecto común, ya que el Fe^{2+} puede competir por los radicales sulfato para formar SO_4^{2-} (ec. 4.22), disminuyendo el rendimiento de $\text{SO}_4^{\bullet-}$ (S. Sun *et al.*, 2018), con una elevada constante cinética ($9,9 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Xie *et al.* (2017) observaron este efecto al activar el sulfito con Fe^0 para la degradación del X-3B. En esta investigación, no se obtuvo ninguna mejora en la eliminación al aumentar la concentración de hierro por encima de 0,5 mM, alcanzando los mismos resultados de degradación al utilizar una concentración de Fe^0 de 0,5, 0,8 y 1 mM.



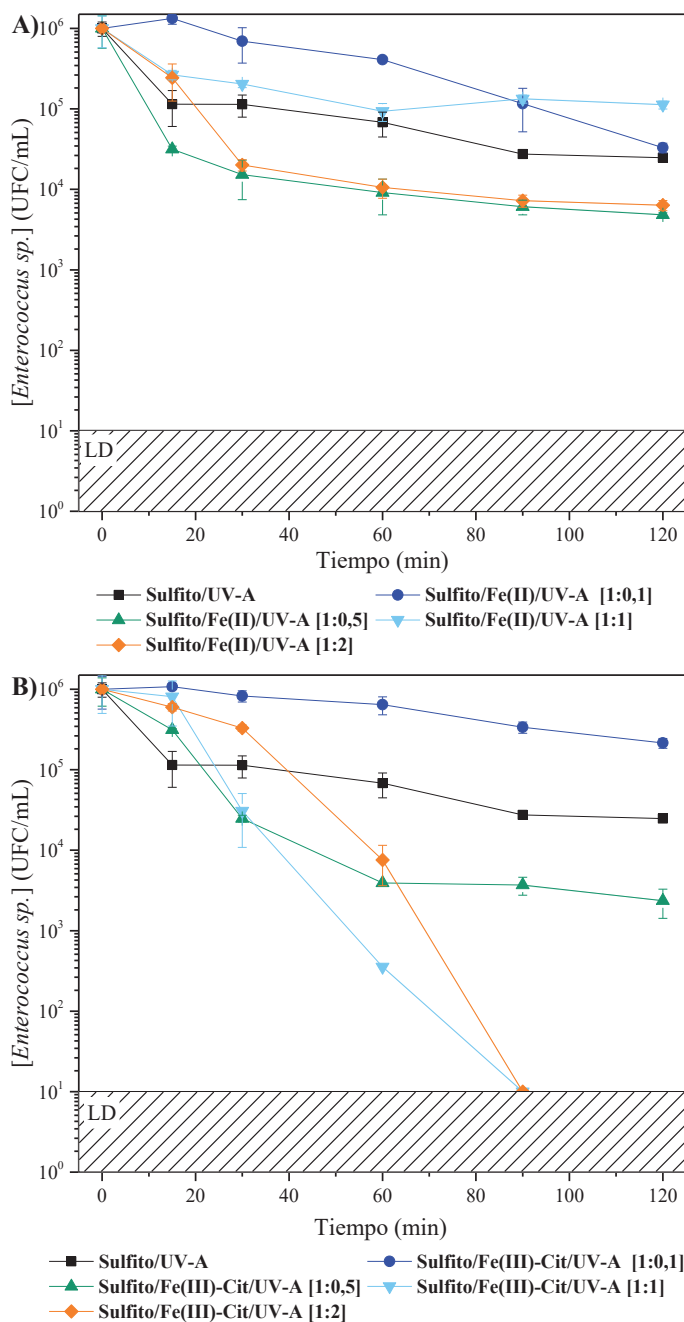


Figura 4-12. Activación fotocatalítica de SO_3^{2-} utilizando A) Fe^{2+} y B) Fe(III)-Cit como catalizador para la inactivación de *Enterococcus sp.* Condiciones experimentales: $[\text{SO}_3^{2-}] = 1 \text{ mM}$; $\text{pH} = 6$; Matriz = ARS; $\lambda = 365 \text{ nm}$. LD: límite de detección.

Utilizando citrato de hierro como catalizador, la desinfección más rápida se consiguió cuando la relación molar $\text{SO}_3^{2-}:\text{Fe(III)-Cit}$ era de 1:1, como puede observarse en la Figura 4-12B. Utilizando esta concentración de Fe(III)-Cit , la inactivación total de *Enterococcus sp.* (considerando esto cuando se alcanza el límite de detección), se consiguió tras 90 minutos de tratamiento. S. Sun *et al.* (2018) afirman que la combinación $\text{SO}_3^{2-}/\text{Fe}^{3+}$ sólo es viable a

un $\text{pH} < 4$, ya que, a un pH más alto, el Fe^{3+} precipita muy fácilmente. Sin embargo, cuando se trabaja con Fe(III)-Cit esta afirmación deja de ser aplicable ya que, al estar complejoado, la precipitación es más difícil, permitiendo que el hierro se disuelva completamente en el agua a pH neutro.

Al aumentar la concentración de hierro no se consiguió un aumento de la tasa de desinfección. Por el contrario, al evaluar una relación 1:2, la cinética observada fue ligeramente más lenta que la correspondiente a la concentración óptima de hierro. Aunque a los 90 minutos también se había alcanzado el límite de detección, a los 60 minutos sólo se había eliminado 2 log, frente a 3,4 log transcurrido el mismo tiempo cuando se utilizó la proporción molar óptima. Además del fenómeno que tiene lugar durante la activación del sulfito con el Fe^{2+} , se añade en este caso un segundo factor que puede disminuir la eficacia del tratamiento. Li *et al.* (2020) aplicaron el sistema hematita/ SO_3^{2-} /UV-vis a la eliminación de la Roxarsona y encontraron que un aumento de la concentración del mineral influía negativamente en el ratio de degradación ya que producía un efecto de dispersión de la radiación. Este efecto, es más común cuando se utilizan catalizadores heterogéneos (Moreno-SanSegundo *et al.*, 2020), pero es posible un efecto similar en este caso debido a la coloración observada de la matriz acuosa.

Una vez determinadas las condiciones óptimas de operación con cada una de las especies de hierro, se ha querido cuantificar el efecto sinérgico observado durante estos tratamientos. Para poder realizar este cálculo ha sido necesario, en primer lugar, estudiar individualmente el efecto de los catalizadores sobre la población bacteriana. Se ha comprobado que, en la concentración óptima, el Fe^{2+} y el Fe(III)-Cit consiguen una tasa de inactivación de 0,9 y 0,7 log, respectivamente, tras 120 minutos de tratamiento (resultados no mostrados). Esto se debe a que, en fase homogénea, los cationes de hierro son capaces de atacar a los microorganismos. Spuhler *et al.* (2010) estudiaron los mecanismos de la inactivación de *E. coli* en presencia de radiación, Fe^{2+} , Fe^{3+} y H_2O_2 y, en su artículo, se describe como el Fe^{2+} puede difundirse en el interior de las células, reaccionando con el H_2O_2 intracelular para dar lugar a $\text{HO}^{\bullet}$, que atacarían al microorganismos desde el interior (Spuhler *et al.*, 2010).

Tras cuantificar el efecto individual de cada uno de los elementos involucrados en los tratamientos, se ha calculado el efecto sinérgico siguiendo la expresión descrita en el apartado 3.8. Los resultados obtenidos pueden observarse en la Tabla 4-2. Además de ser el tratamiento más eficaz, el sistema sulfito/ Fe(III)-Cit /UV-A es el que mayor grado de sinergia

ha mostrado. Por el contrario, aunque mediante el sistema sulfito/ Fe^{2+} /UV-A se ha obtenido una tasa de desinfección mayor que al aplicar el tratamiento sin hierro (sulfito/UV-A), el grado de sinergia calculado ha resultado ser inferior, debido a la capacidad desinfectante del Fe^{2+} .

Tabla 4-2. Cuantificación del grado de sinergia en los sistemas $\text{SO}_3^{2-}/\text{Fe}^{n+}/\text{UV-A}$. $[\text{Fe}^{2+}] = 0,5 \text{ mM}$; $[\text{Fe(III)-Cit}] = [\text{SO}_3^{2-}] = 1\text{mM}$; duración de los tratamientos: 120 min.

	k (min⁻¹)	S (%)	S_{mod} (%)
Fe^{2+}	0,0113	-	-
Fe(III)-Cit	0,0125	-	-
UV-A $_{\lambda=365 \text{ nm}}$	0,0045	-	-
SO_3^{2-}	0,0035	-	-
$\text{SO}_3^{2-}/\text{UV-A}_{\lambda=365 \text{ nm}}$	0,0257	68,9	-
$\text{SO}_3^{2-}/\text{UV-A}_{\lambda=365 \text{ nm}}/\text{Fe}^{2+}$	0,0340	43,3	-0,1
$\text{SO}_3^{2-}/\text{UV-A}_{\lambda=365 \text{ nm}}/\text{Fe(III)-Cit}$	0,1374	85,1	72,2

A la vista de este resultado, se ha definido un grado de sinergia modificado, en el que el cálculo se ha realizado teniendo en cuenta la cinética de desinfección observada para el sistema $\text{SO}_3^{2-}/\text{UV-A}$ (ec. 4.23), en lugar de las cinéticas obtenidas al aplicar sulfito y UV-A de forma individual.

$$S_{\text{mod}}(\%) = \frac{k_{\text{sulfito/UV-A/Fe}^{n+}} - k_{\text{sulfito/UV-A}} - k_{\text{Fe}^{n+}}}{k_{\text{sulfito/UV-A/Fe}^{n+}}} \quad (4.23)$$

De esta forma, lo que se ha conseguido ha sido determinar si existen nuevas sinergias al incluir las especies de hierro en el tratamiento, sin contabilizar las sinergias preexistentes entre en sulfito y la radiación. Al hacer este cálculo se ha visto como la adición de Fe^{2+} no parece haber generado nuevas sinergias ($S_{\text{mod}} \approx 0$), lo que implica que la cinética de desinfección calculada para la activación fotocatalítica es equivalente a la suma aritmética de las cinéticas del Fe^{2+} y el sistema $\text{SO}_3^{2-}/\text{UV-A}$. No obstante, esto no significa que el mecanismo de generación de radicales y/o desinfección no haya podido modificarse. Sí que se han observado importantes efectos sinérgicos en el sistema $\text{SO}_3^{2-}/\text{Fe(III)-Cit}/\text{UV-A}$, para el que se ha obtenido un S_{mod} del 72,2%.

4.2.3. Posibles mecanismos de generación de radicales

Al igual que en la sección anterior, para conocer mejor el mecanismo de desinfección que se produce en los sistemas de sulfitos, así como las especies reactivas que intervienen en él, se

ha utilizado un conjunto de *scavengers*. Aunque se pueden generar otros radicales distintos al $\text{SO}_4^{\bullet-}$ y el $\text{HO}^{\bullet}$ durante la activación del sulfito, incluyendo el $\text{SO}_3^{\bullet-}$ y el $\text{SO}_5^{\bullet-}$, estos son menos reactivos hacia el MeOH y el TBA ($k_{\text{app}} \leq 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$).

La Figura 4-13 muestra la eliminación de *Enterococcus sp.* al aplicar los *scavengers* al tratamiento optimizado de $\text{SO}_3^{2-}/\text{Fe}^{2+}/\text{UV-A}$. En ella se puede observar cómo tanto el MeOH como el TBA disminuyeron la eficiencia del tratamiento alrededor de 1 log demostrando la importante influencia del $\text{HO}^{\bullet}$ en el proceso y, por otra parte, la escasa implicación del $\text{SO}_4^{\bullet-}$ en la desinfección.

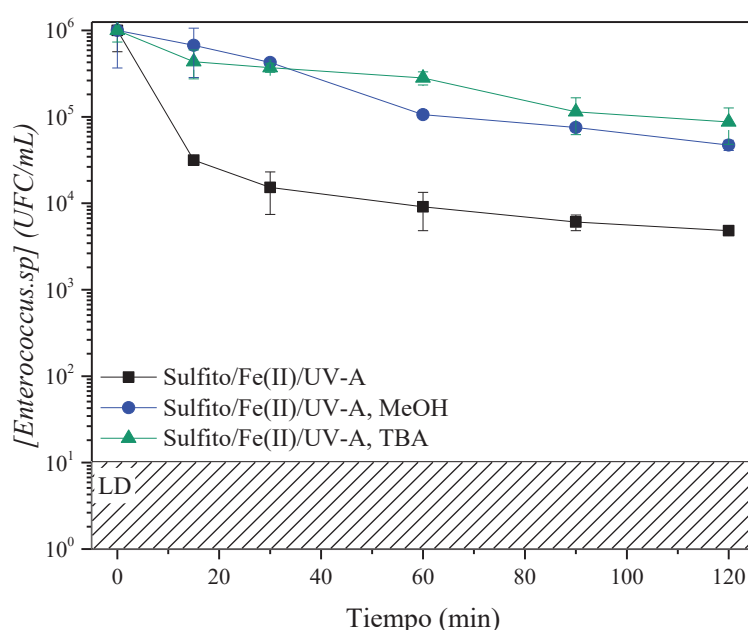


Figura 4-13. Influencia de los *scavengers* en la inactivación de *Enterococcus sp.* mediante el sistema $\text{SO}_3^{2-}/\text{Fe}^{2+}/\text{UV-A}$. Condiciones experimentales: $[\text{SO}_3^{2-}] = 1 \text{ mM}$; $[\text{Fe}^{2+}] = 0,5 \text{ mM}$; $[\text{MeOH}]$ o $[\text{TBA}] = 10 \text{ mM}$; $\text{pH} = 6$; Matriz = ARS; $\lambda = 365 \text{ nm}$. LD: límite de detección.

Esta conclusión es similar a las alcanzadas en dos estudios realizados por Cai *et al.* (2022) y Xiao y Yu (2021a), en los que se estudió la eliminación de tetraciclina y bromato, respectivamente, siendo en ambos casos el $\text{HO}^{\bullet}$ el principal responsable de la degradación. En dichas investigaciones, sin embargo, prácticamente el 100% de la degradación fue inhibida, mientras que puede observarse en este trabajo como la tasa de desinfección resultante tras la aplicación de los *scavengers* es aproximadamente 1 log. Esta diferencia puede deberse a la inactivación bacteriana causada por el Fe^{2+} y es que, dado que la totalidad de la bibliografía encontrada se centra en la degradación de contaminantes, en ningún caso

es posible observar un efecto directo del hierro, que sí se observa al trabajar con microorganismos.

Aunque podría parecer que esta observación refuerza la hipótesis de que no existen sinergias entre el Fe^{2+} y el SO_3^{2-} , la presencia de $\text{HO}^\bullet$ es indicativa de activación catalítica, al contrario de lo que parecía indicar el S_{mod} . Diversos autores han reportado que el $\text{H}^\bullet$ y el e_{aq}^- son las principales especies reactivas generadas mediante la activación fotoquímica del sulfito (Q. Xiao, Wang, *et al.*, 2017; Xingyue Yu *et al.*, 2019), sin contemplarse en ningún caso la generación de $\text{HO}^\bullet$ o $\text{SO}_4^{\bullet-}$. Por tanto, la presencia de $\text{HO}^\bullet$ permite afirmar que en el sistema $\text{SO}_3^{2-}/\text{Fe}^{2+}/\text{UV-A}$ existe interacción entre ambos reactivos.

Por otra parte, a los 90 minutos, tanto el tratamiento realizado en presencia de MeOH como el realizado con TBA mostraron el mismo resultado al utilizar Fe(III)-Cit como catalizador, disminuyendo ligeramente la eficacia respecto a la del tratamiento original (Figura 4-14). Sin embargo, durante la primera hora de tratamiento se observó una cinética más lenta a causa del MeOH, lo que indica una mayor contribución durante este tiempo inicial $\text{SO}_4^{\bullet-}$ a la inactivación de las bacterias.

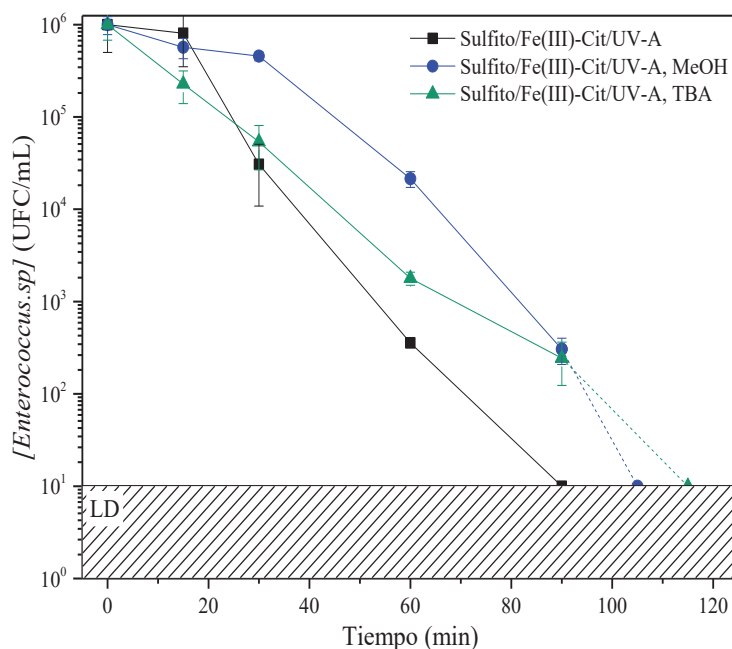


Figura 4-14. Influencia de los *scavengers* en la inactivación de *Enterococcus sp.* mediante el sistema $\text{SO}_3^{2-}/\text{Fe(III)-Cit}/\text{UV-A}$. Condiciones experimentales: $[\text{SO}_3^{2-}] = 1 \text{ mM}$; $[\text{Fe(III)-Cit}] = 1 \text{ mM}$; $[\text{MeOH}]$ o $[\text{TBA}] = 10 \text{ mM}$; $\text{pH} = 6$; Matriz = ARS; $\lambda = 365 \text{ nm}$. LD: límite de detección.

El escaso efecto producido por los secuestradores sugiere que otras especies reactivas, como $\text{SO}_3^{\bullet-}$ o $\text{SO}_5^{\bullet-}$, pueden estar implicadas en el proceso. Sin embargo, no es posible determinarlo con exactitud ya que, aunque los métodos de sondeo químicos son ampliamente aceptados para establecer las principales especies radicales y las vías del proceso de degradación, sería necesario utilizar espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica para obtener una lista completa de los radicales involucrados.

Es destacable el hecho de que no existe concordancia entre los resultados obtenidos por diferentes investigadores respecto a los principales radicales involucrados en los sistemas $\text{SO}_3^{2-}/\text{Fe(III)}$. El $\text{SO}_4^{\bullet-}$ resultó ser más relevante que $\text{HO}^{\bullet}$ en la degradación de carbamazepina (Dong *et al.*, 2020), lo que concuerda con los resultados obtenidos en este trabajo. Por otra parte, Xiao y Yu (2021b) determinaron que el $\text{SO}_3^{\bullet-}$ es el principal responsable de la eliminación de bromato al utilizar el mismo sistema. Por tanto, a la vista de los resultados obtenidos en este estudio, y teniendo en cuenta las conclusiones alcanzadas por otros autores, es seguro afirmar que son varias las especies reactivas involucradas en la inactivación de microorganismos en el sistema $\text{SO}_3^{2-}/\text{Fe(III)}/\text{UV-A}$.

En base a estos resultados y a la bibliografía existente, se propone un mecanismo de reacción para la inactivación de *Enterococcus sp.* mediante un proceso de oxidación/reducción avanzada utilizando sulfito como fuente de radicales. Recientemente, Rodríguez-Chueca *et al.* (2019) propusieron un mecanismo de reacción para el PMS activado por $\text{Fe}/\text{UV-vis}$. Dado que la mayoría de los radicales generados y las reacciones que tienen lugar son las mismas en ambos procesos, se ha utilizado dicho trabajo como referencia. La Figura 4-15 muestra un diagrama que presenta todas las posibles reacciones que tienen lugar durante la inactivación de los microorganismos, que se resumen en la Tabla 4-3. Cabe señalar que el mecanismo propuesto se basa, principalmente, en suposiciones teóricas, por lo que sería necesario realizar más trabajos experimentales para confirmar la presencia/ausencia de cada radical en la matriz acuosa durante el tratamiento.

El mecanismo propuesto puede dividirse en tres etapas principales. En la primera, el sulfito se activa para generar radicales sulfito. Una vez que el $\text{SO}_3^{\bullet-}$ está presente en la matriz, tienen lugar una serie de reacciones en las que se generan otras especies reactivas (como $\text{SO}_4^{\bullet-}$, $\text{SO}_5^{\bullet-}$ u $\text{HO}^{\bullet}$). Finalmente, los radicales se recombinan volviendo a estados no excitados. Mientras se producen todas estas reacciones, Fe^{2+} y Fe^{3+} reaccionan continuamente, lo que da lugar a un ciclo continuo de hierro.

Por tanto, en la primera etapa el sulfito se activa mediante radiación UV-A y/o catálisis para generar $\text{SO}_3^{\bullet-}$. En la activación fotoquímica, el proceso que tiene lugar es un proceso de reducción avanzada, ya que durante la activación con radiación UV-A se genera un electrón hidratado. Sin embargo, la tasa de desinfección alcanzada por la activación con UV-A ha sido muy escasa, por lo que se puede deducir que la activación fotocatalítica es la principal vía de generación de radicales. Siendo el HSO_3^- el principal responsable de la generación de radicales en las condiciones de operación (a pH 6, el sulfito existe como una mezcla de 94% de HSO_3^- y 6% de SO_3^{2-} (L. Chen *et al.*, 2012; G. Li *et al.*, 2020)), se produce un compuesto intermedio de hierro (FeSO_3^+) antes de la generación de radicales. Posteriormente, este compuesto se disocia para generar radicales sulfito. La formación de FeSO_3^+ es más lenta cuando se utiliza Fe^{3+} que cuando se utiliza Fe^{2+} , siendo a su vez la reacción de disociación la más lenta de todo el proceso ($k = 0,19 \text{ s}^{-1}$). Sin embargo, debido a la amplia banda de absorción de luz (290-575 nm) del complejo de sulfito férrico, se ha evidenciado que la irradiación acelera eficientemente la velocidad de la reacción reduciendo la producción de lodos y mejorando la eficiencia de degradación de contaminantes (P. Xie *et al.*, 2019). En este paso se genera Fe^{2+} , independientemente de la fuente inicial de hierro, lo que implica una lenta transformación de Fe^{3+} en Fe^{2+} . Simultáneamente, la radiación UV-A reduce el Fe^{3+} a Fe^{2+} .

Tabla 4-3. Mecanismo de reacción propuesto para la activación de SO_3^{2-} (numeración de las ecuaciones correspondiente a las reacciones presentadas en la figura 4. 15).

Reacción	Constante cinética	Nº ec.	Ref.
Activación			
$\text{Fe}^{2+} + \text{HSO}_3^- \rightarrow \text{FeHSO}_3^+$	$1 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$	1	(Yu Zhang <i>et al.</i> , 2012)
$4\text{FeHSO}_3^+ + \text{O}_2 \rightarrow 4\text{FeSO}_3^+ + 2\text{H}_2\text{O}$	$1,69 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	2	(Grgic <i>et al.</i> , 1999)
$\text{Fe}^{3+} + \text{HSO}_3^- \rightarrow \text{FeSO}_3^+ + \text{H}^+$	$2,82 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	3	(L. Chen <i>et al.</i> , 2012)
$\text{FeSO}_3^+ \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{SO}_3^{\bullet-}$	$0,19 \text{ s}^{-1}$	4	(Buxton <i>et al.</i> , 1988)
$\text{HSO}_3^- + h\nu \rightarrow \text{SO}_3^{\bullet-} + \text{H}$	Indeterminado	5	(Q. Xiao, Wang, <i>et al.</i> , 2017)
$\text{SO}_3^{2-} + h\nu \rightarrow \text{SO}_3^{\bullet-} + e_{aq}^-$	Indeterminado	6	(Q. Xiao, Wang, <i>et al.</i> , 2017)
Ciclo de hierro			
$\text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{O} + \text{photo} \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{H}^+ + \text{HO}^\bullet$	$2,9 \cdot 10^{-3} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	7	(Rodríguez-Chueca, Giannakis, <i>et al.</i> , 2019)
Propagación			
$\text{SO}_3^{\bullet-} + \text{O}_2 \rightarrow \text{SO}_5^{\bullet-}$	$1-2,3 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	8	(Neta <i>et al.</i> , 1982)
$\text{SO}_5^{\bullet-} + \text{HSO}_3^- \rightarrow \text{HSO}_5^- + \text{SO}_3^{\bullet-}$	$<3 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	9	(Warneck y Ziajka, 1995)

Reacción	Constante cinética	Nº ec.	Ref.
$\text{SO}_5^{\cdot-} + \text{HSO}_3^- \rightarrow \text{SO}_4^{\cdot-} + \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+$	$1,2 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	10	(Warneck y Ziajka, 1995)
$\text{SO}_4^{\cdot-} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HO}^{\cdot} + \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+$	$6,6 \times 10^2 \text{ s}^{-1}$	11	(Herrmann <i>et al.</i> , 1995)
$\text{SO}_4^{\cdot-} + \text{HO}^- \rightarrow \text{HO}^{\cdot} + \text{SO}_4^{2-}$	$1,4 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	12	(D. Zhou <i>et al.</i> , 2015)
$\text{SO}_4^{\cdot-} + \text{HSO}_3^- \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + \text{SO}_3^{\cdot-} + \text{H}^+$	$7,5 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	13	(Wine <i>et al.</i> , 1989)
$\text{HO}^{\cdot} + \text{HSO}_5^- \rightarrow \text{SO}_5^{\cdot-} + \text{H}_2\text{O}$	$1,7 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	14	(Rodríguez-Chueca, Giannakis, <i>et al.</i> , 2019)
Recombinación			
$2 \text{SO}_5^{\cdot-} \rightarrow 2 \text{SO}_4^{\cdot-} + \text{O}_2$	$2,2 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	15	(Rodríguez-Chueca, Giannakis, <i>et al.</i> , 2019)
$\text{SO}_4^{\cdot-} + \text{HO}^{\cdot} \rightarrow \text{HSO}_5^-$	$1 \cdot 10^{10} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	16	(Rodríguez-Chueca, Giannakis, <i>et al.</i> , 2019)
$2 \text{HO}^{\cdot} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$	$5,5 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	17	(Rodríguez-Chueca, Giannakis, <i>et al.</i> , 2019)
Proceso Fenton			
$\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{HO}^{\cdot} + \text{HO}^-$	$76 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	18	(Rodríguez-Chueca, Giannakis, <i>et al.</i> , 2019)
Ciclo de hierro (extendido)			
$\text{Fe}^{2+} + \text{SO}_4^{\cdot-} \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + \text{Fe}^{3+}$	$9,9 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	19	(Wine <i>et al.</i> , 1989)
$\text{Fe}^{2+} + \text{HSO}_5^- \rightarrow \text{SO}_4^{\cdot-} + \text{Fe}^{3+} + \text{HO}^-$	$3 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	20	(Brandt y Eldik, 1995)
$\text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{H}^+ + \text{HO}_2^{\cdot}$	$0,01 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	21	(Rodríguez-Chueca, Giannakis, <i>et al.</i> , 2019)
$\text{Fe}^{3+} + \text{HO}_2^{\cdot} \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{O}_2 + \text{H}^+$	$33 - 210 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	22	(Rodríguez-Chueca, Giannakis, <i>et al.</i> , 2019)
$\text{Fe}^{2+} + \text{HO}^{\cdot} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{HO}^-$	$25 - 58 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	23	(Rodríguez-Chueca, Giannakis, <i>et al.</i> , 2019)
$\text{Fe}^{2+} + \text{HO}_2^{\cdot} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{HO}_2^-$	$75 - 150 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	24	(Rodríguez-Chueca, Giannakis, <i>et al.</i> , 2019)
Propagación (extendida)			
$\text{SO}_4^{\cdot-} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+ + \text{HO}_2^{\cdot}$	$1,2 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	25	(Rodríguez-Chueca, Giannakis, <i>et al.</i> , 2019)
$\text{HO}^{\cdot} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{HO}_2^{\cdot} + \text{H}_2\text{O}$	$2,7 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	26	(Rodríguez-Chueca, Giannakis, <i>et al.</i> , 2019)
$\text{HO}_2^{\cdot} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{HO}^{\cdot} + \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$	$3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	27	(Rodríguez-Chueca, Giannakis, <i>et al.</i> , 2019)
Recombinación (extendida)			
$2 \text{HO}_2^{\cdot} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$	$8,3 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	28	(Rodríguez-Chueca, Giannakis, <i>et al.</i> , 2019)

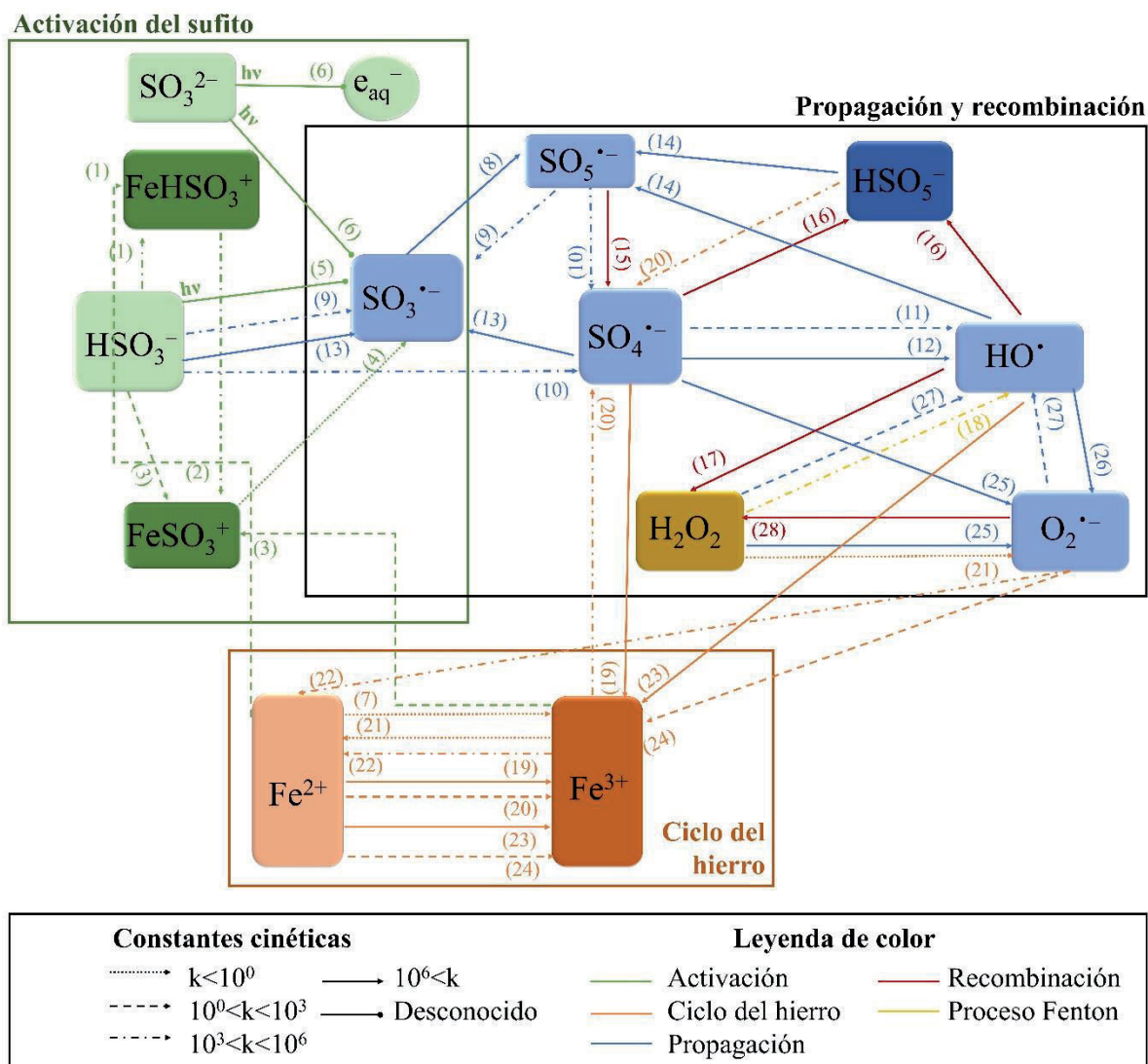


Figura 4-15. Mecanismo de reacción propuesto para la activación de SO_3^{2-} . Obsérvese la correspondencia de los números de reacción con los presentados en la Tabla 4-3.

Una vez generados los radicales sulfito, se generan nuevos radicales a través de una serie de reacciones con altas constantes cinéticas (10^4 - $10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$), siendo esta fase mucho más rápida que la anterior. En esta etapa el $\text{SO}_5^{\bullet-}$ juega un papel muy importante en la generación de $\text{SO}_4^{\bullet-}$, tanto por generación directa como al reaccionar con el HSO_3^- para producir HSO_5^- , (que luego puede ser activado para generar aniones radicales hidroxilo y sulfato). Además, el $\text{HO}^{\bullet}$ se produce en varias reacciones de esta etapa, por lo que su recombinación para generar peróxido de hidrógeno (H_2O_2) es muy probable. Dado que el hierro se ha utilizado en la activación del sulfito y, por tanto, está presente en el medio, tendría lugar entonces un proceso Fenton. El H_2O_2 reacciona más rápidamente con las especies de Fe^{2+} que con las de Fe^{3+} , lo cual podría ser la razón por la que el $\text{HO}^{\bullet}$ parece tener un mayor papel en la

inactivación de *Enterococcus sp.* cuando el sulfito se activa con Fe^{2+} . Esta especie de hierro también está presente en el agua cuando se utiliza Fe(III)-Cit, pero cabe esperar que exista en menor proporción. Por tanto, el proceso Fenton es responsable de la producción adicional de radicales, incluso sin la adición de H_2O_2 (Rodríguez-Chueca, Giannakis, *et al.*, 2019). La presencia de H_2O_2 y la reducción del Fe^{3+} , da lugar a $\text{HO}_2^\bullet/\text{O}_2^{\bullet-}$ (Giannakis *et al.*, 2016), que puede atacar a las bacterias o actuar como un compuesto reductor de especies férricas. Dado que $\text{HO}_2^\bullet$ tiene un pKa de 4,8, se espera que $\text{O}_2^{\bullet-}$ sea la especie dominante en las condiciones de trabajo (pH 6) (Bielski *et al.*, 1985). Sin embargo, se necesitaría una mayor investigación para confirmar que este proceso tiene lugar realmente en el sistema. Para cerrar el bucle, finalmente se produce la recombinación de los radicales, volviendo a estados no excitados.

Por tanto, hay cinco radicales generados capaces de inactivar las bacterias: $\text{SO}_3^{\bullet-}$, $\text{SO}_4^{\bullet-}$, $\text{SO}_5^{\bullet-}$, $\text{HO}^\bullet$ y $\text{O}_2^{\bullet-}$. En la activación impulsada por el Fe^{2+} , el $\text{HO}^\bullet$ tuvo un papel mayor que el $\text{SO}_4^{\bullet-}$ en la inactivación de *Enterococcus sp.*, aunque se espera que otras especies también intervengan en la desinfección. Al utilizar Fe(III)-Cit en su lugar, el $\text{SO}_4^{\bullet-}$ parece desempeñar un papel más importante, especialmente durante la primera hora del tratamiento, pero es necesario un estudio más profundo para determinar en qué medida el resto de los radicales participan en la inactivación.

4.2.4. Eficiencia de los tratamientos en muestras de aguas residuales reales

La Figura 4-16 muestra el resultado de inactivación de *Enterococcus sp.* obtenido al probar los tratamientos optimizados en agua real recogida en una planta de tratamiento. El tratamiento optimizado con Fe^{2+} consigue sólo 0,47 unidades log de desinfección frente a las más de 2 log obtenidas al tratar el ARS. El tratamiento con Fe(III)-Cit consigue mejores resultados, eliminando al cabo de dos horas 1,41 unidades log. Sin embargo, si se compara con el tratamiento realizado en ARS, el aumento de la complejidad del medio implica una disminución de la eficacia del tratamiento de 5 log a <1 log a los 90 minutos.

Tal y como se ha discutido previamente para los sistemas PMS/UV-A y H_2O_2 /UV-A, esta disminución de la eficacia se explica por la mayor complejidad del agua residual real. Por un lado, esta matriz tiene una mayor turbidez que el agua simulada, así como pequeñas partículas de sólidos en suspensión que dispersan la radiación (efecto *scattering* (Moreno-SanSegundo *et al.*, 2020)). Por otro lado, hay compuestos que se encuentran habitualmente en las aguas residuales, pero que no están presentes en el agua residual simulada (como son

los carbonatos y bicarbonatos), y que pueden provocar una disminución de la eficacia de los tratamientos. Por último, es de esperar que las aguas residuales reales contengan otros microorganismos además de *Enterococcus sp.*, que podrían influir en la inactivación de las bacterias objetivo.

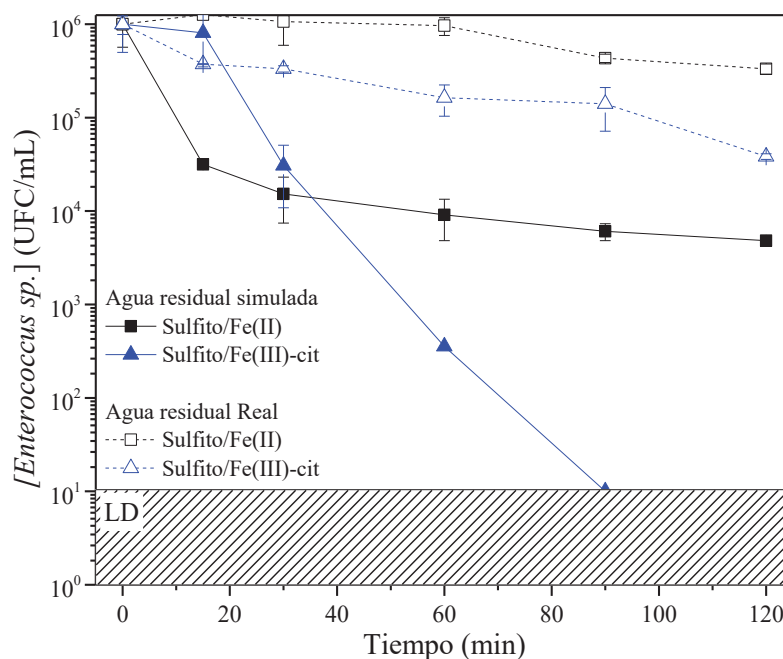


Figura 4-16. Influencia de la matriz acuosa en la inactivación de *Enterococcus sp.* mediante el sistema $\text{SO}_3^{2-}/\text{Fe}^{n+}/\text{UV-A}$. Condiciones experimentales: $[\text{SO}_3^{2-}] = 1 \text{ mM}$; $[\text{Fe}^{2+}] = 0,5 \text{ mM}$; $[\text{Fe(III)-Cit}] = 1\text{mM}$; $\text{pH} = 6$; $\lambda = 365 \text{ nm}$. LD: límite de detección.

4.2.5. Efecto de la presencia de *E. coli* en la matriz acuosa

Como se ha mencionado en el apartado anterior, la presencia de diversos microorganismos en el medio puede afectar a la eficacia de inactivación de una especie concreta. Por este motivo, se han realizado ensayos para determinar el impacto de la presencia de *E. coli* en la matriz acuosa sobre la eficiencia de eliminación de *Enterococcus sp.*

En la Figura 4-17 se observa cómo aquellos tratamientos en los que están presentes ambas especies muestran peores resultados de inactivación de *Enterococcus sp.* El tratamiento realizado con el sistema $\text{SO}_3^{2-}/\text{Fe}^{2+}/\text{UV-A}$ reduce su eficiencia en 1,3 log tras 120 minutos. Cuando sólo había *Enterococcus sp.* en la matriz, la inactivación completa se lograba en 90 minutos utilizando la combinación óptima de $\text{SO}_3^{2-}/\text{Fe(III)-Cit}$. Sin embargo, la adición de *E. coli* representa una disminución considerable de la eficacia del tratamiento, alcanzando una eliminación máxima de 2,1 log al final del ensayo.

Otros autores han informado de que *Enterococcus sp.* parece tener mayor resistencia a los tratamientos basados en radicales de sulfato que *Escherichia coli* (Bianco *et al.*, 2017; Rodríguez-Chueca, Guerra-Rodríguez, *et al.*, 2019). Sin embargo, los resultados aquí mostrados pueden indicar que no existe una mayor resistencia, sino cierta selectividad de los radicales a la hora de inactivar varias especies en un mismo medio, aunque no se ha encontrado ninguna investigación que explique este efecto. En este contexto, en un futuro podrían realizarse estudios que evaluaran en profundidad la influencia de la presencia de varios microorganismos a la hora de realizar tratamientos de desinfección, y si esta influencia es debida a interacciones entre especies o a que los radicales muestran selectividad hacia determinados microorganismos.

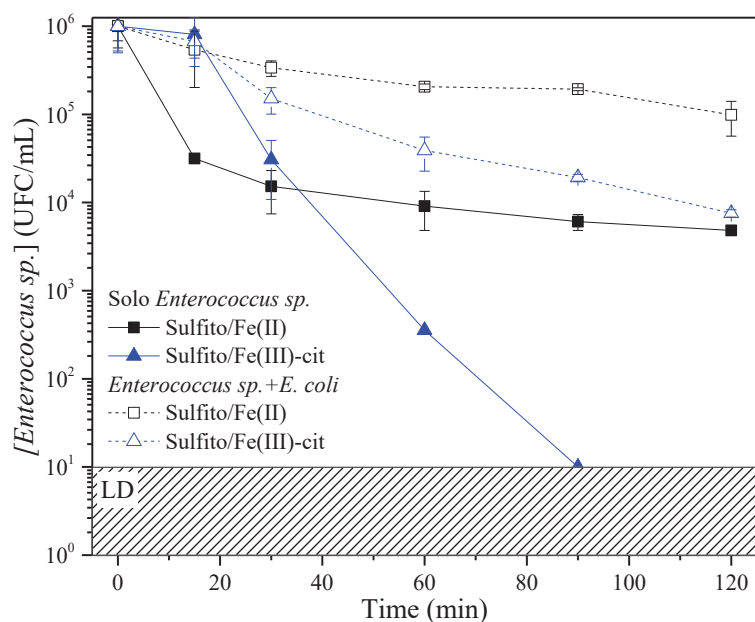


Figura 4-17. Influencia de la presencia de *Escherichia coli* en la inactivación de *Enterococcus sp.* mediante el sistema $\text{SO}_3^{2-}/\text{Fe}^{n+}/\text{UV-A}$. Condiciones experimentales: $[\text{SO}_3^{2-}] = 1 \text{ mM}$; $[\text{Fe}^{2+}] = 0,5 \text{ mM}$; $[\text{Fe(III)-Cit}] = 1 \text{ mM}$; $\text{pH} = 6$; $\lambda = 365 \text{ nm}$. LD: límite de detección.

CAPÍTULO 5:

APLICACIÓN DE TÉCNICAS DE *MACHINE*
***LEARNING* PARA LA PREDICCIÓN DE**
RESULTADOS DE DESINFECCIÓN

APLICACIÓN DE TÉCNICAS DE *MACHINE LEARNING* PARA LA PREDICCIÓN DE RESULTADOS DE DESINFECCIÓN

En el capítulo anterior se demostró que los tratamientos de oxidación avanzada son una tecnología viable para la inactivación de microorganismos (*Enterococcus sp.*) a escala laboratorio. No obstante, el número de variables y, por tanto, el número de experimentos a realizar para determinar las condiciones de operación óptimas es muy alto en este tipo de tratamientos. Por ello, la obtención de modelos capaces de predecir el resultado de desinfección que se alcanzaría para unas condiciones de operación determinadas permitiría reducir el número de ensayos necesario y el tiempo invertido en las fases de optimización de los procesos.

Con este fin se han aplicado diferentes técnicas de *Machine Learning* (ML), empleando como datos de entrada los resultados experimentales incluidos en el capítulo 4 de este trabajo, así como otros resultados no incluidos en este trabajo (ver la lista completa de tratamientos en el Anexo II). A lo largo de este capítulo se desglosan los diferentes pasos a seguir hasta alcanzar modelos eficaces, desde la codificación de las variables categóricas hasta la validación de los modelos. Además, se evalúan tres algoritmos basados en árboles de decisión y se comparan diferentes escenarios de pretratamiento de los datos, con el objetivo de determinar la forma más adecuada de ordenar la información de entrada.

5.1. Preprocesado del conjunto de datos

En todos los escenarios planteados en este trabajo, hay dos tipos de variables (numéricas y categóricas) en el conjunto de datos a evaluar. Las variables categóricas son el tipo de matriz acuosa, la presencia/ausencia de radiación, el tipo de oxidante y el tipo de catalizador; mientras que las numéricas son las concentraciones de los diferentes reactivos, el tiempo de tratamiento y la tasa de desinfección, siendo esta última la variable dependiente.

Para poder aplicar los algoritmos de ML seleccionados en este trabajo, es necesario codificar las variables categóricas para transformarlas en numéricas. Uno de los procedimientos más conocidos para ello es la codificación ordinal o *Label Encoding* (LE). Sin embargo, la principal desventaja que presenta es que, al asignar valores numéricos a las variables categóricas, el algoritmo de ML puede establecer que una categoría tiene mayor importancia que otras. Por ejemplo: si se asigna al PMS el valor 1 y al H₂O₂ el valor 2, a la hora de

elaborar el modelo, el algoritmo puede interpretar que el peróxido de hidrógeno vale el doble que el PMS, cuando es evidente que esto no es así.

Para evitar este potencial problema, se plantea también la aplicación de otra técnica de preprocesado a las variables categóricas: la codificación *One-Hot* (OHE: *One-Hot Encoding*). Al igual que LE, esta técnica también tiene algunos inconvenientes, siendo uno de ellos que, al tratar variables con un alto número de categorías, se obtendría una matriz de datos excesivamente grande. Sin embargo, en este trabajo el máximo número de categorías por cada variable a preprocesar es 3, por lo que esta técnica parece ser una buena alternativa.

En la Tabla 5-1 se realiza una comparación de los resultados obtenidos al preprocesar los datos utilizando LE y OHE. Una vez codificadas las variables, se ha evaluado, para cada escenario y algoritmo, el modelo definido por los hiperparámetros predefinidos en la librería *Scikit.Learn*. Tal y como se puede ver en la tabla, al codificar las variables mediante OHE se consigue obtener predicciones con un R^2 superior en la mayoría de los escenarios. Al emplear el algoritmo *Decission Trees* (DT), se consigue mejorar el resultado previamente obtenido en 4/5 escenarios, si bien el incremento registrado fue únicamente de entre 0,003 y 0,016 puntos.

Tabla 5-1. R^2 obtenido al preprocesar los datos usando diferentes métodos de codificación de variables.

	Decission Tree		Random Forest		Gradient Boosting	
	LE	OHE	LE	OHE	LE	OHE
E1	0,623	0,627	0,776	0,785	0,745	0,730
E2.1	0,513	0,516	0,734	0,744	0,728	0,744
E2.2	0,795	0,811	0,852	0,854	0,757	0,761
E2.3.1	0,161	0,202	0,459	0,469	0,601	0,609
E2.3.2	0,745	0,743	0,853	0,857	0,855	0,867
E2.3.3	0,659	0,622	0,764	0,754	0,706	0,709
E2.3 (promedio)	0,522	0,522	0,692	0,693	0,721	0,728
E3	0,501	0,509	0,738	0,750	0,724	0,733

El resultado es similar si se analizan los resultados obtenidos mediante el algoritmo *Random Forest* (RF). En este caso se observó un mejor rendimiento en todos, con un incremento promedio de 0,007. De igual forma, la codificación OHE proporciona mejores resultados en todos los escenarios al utilizar el algoritmo GBRT (*Gradient Boosting Regression Trees*).

No obstante, el incremento de R^2 observado es ligeramente superior en este caso, siendo el aumento promedio de 0,008 puntos.

Por otra parte, de los resultados obtenidos para cada uno de los algoritmos parece intuirse que, en la mayoría de los casos, es el RF el que mejores modelos permite obtener. Del mismo modo, el escenario 2.2 es el que mejores resultados ha devuelto. No obstante, en esta sección no se profundizará en estos aspectos, ya que su finalidad es únicamente identificar el método más apropiado de codificar las variables categóricas. Se determinará el mejor escenario y modelo en las secciones posteriores, una vez ajustados los hiperparámetros de los diferentes algoritmos.

En un estudio publicado en la plataforma digital *Medium.com* se evaluaron diferentes métodos de preprocesado de variables categóricas y su efecto sobre las predicciones realizadas por un árbol de decisión (Laurae, 2017). Para variables con una cardinalidad baja (siendo la cardinalidad un concepto relacionado con el número de posibles valores que pueden tomar las variables categóricas) se demostró que tanto LE como OHE permiten obtener modelos con una alta precisión, observándose únicamente diferencias entre ambos cuando aumenta la cardinalidad. Por desgracia, los resultados obtenidos en dos estudios de ML son difícilmente comparables debido a las grandes diferencias que pueda haber entre los datos analizados. No obstante, estas conclusiones concuerdan con las obtenidas en el presente trabajo, en el que la cardinalidad es muy baja, ya que, al aplicar DT, no se han observado diferencias significativas en el resultado obtenido al preprocesar los datos de una forma u otra.

Sin embargo, no parece haber consenso en la comunidad científica, respecto a la idoneidad de utilizar una u otra técnica de preprocesado al utilizar algoritmos más complejos como el RF y el GBRT. Al hacer una revisión de la bibliografía disponible, se ha encontrado que OHE es más utilizada en las investigaciones llevadas a cabo por científicos especializados en la materia (Y. Gao y Liu, 2021; Mercadier y Lardy, 2019; Vamsi *et al.*, 2018). En un estudio comparativo realizado por Satya Sree *et al.* (2021) se encontró que, para el conjunto de datos empleado, OHE permitía obtener predicciones más precisas que LE, si bien la diferencia de precisión entre ambos resultados fue únicamente de 0,001 puntos. Ma y Zhang (2020) realizaron una evaluación similar concluyendo que, tanto para RF como GBRT, LE era la mejor alternativa de codificación. Del mismo modo, Gnat (2021) demuestra que RF es un algoritmo mucho más robusto ante las diferentes codificaciones de los categóricos que

otros algoritmos también evaluados en el estudio, aunque cabe destacar que OHE funcionó mejor que LE para el conjunto de datos evaluado.

Teniendo todo esto en cuenta, es posible afirmar que los modelos basados en árboles de decisión son relativamente robustos ante la técnica de codificación de variables categóricas empleadas. Por lo general, las diferencias encontradas en las precisiones obtenidas al aplicar ambos tipos de preprocesado suelen ser pequeñas, por lo que, si no se quiere realizar una evaluación exhaustiva, se considera una buena aproximación el uso de codificación ordinal. No obstante, a la vista de los resultados obtenidos, OHE se ha escogido como el método de codificación más apropiado en este trabajo. Es necesario tener en cuenta que al aplicar esta técnica el número de variables de entrada para cada escenario crece de forma significativa, de forma que, por ejemplo, en el escenario 1 el número de *inputs* se incrementa de 10 a 17.

5.2. Ajuste del proceso de validación cruzada anidada

La cantidad de hiperparámetros que se pueden ajustar a la hora de crear modelos mediante los algoritmos de ML es muy grande. Sin embargo, además de los parámetros propios del modelo, que se han evaluado por medio de la función *GridSearch*, existen otros parámetros que han tenido que ser ajustados a la hora de aplicar el proceso de validación cruzada anidada (VCA) que se ha planteado en el apartado 3.12.5. El principal es la cantidad de secciones en que deben dividirse los datos para ejecutar las validaciones cruzadas (*n_splits*), tanto para el bucle exterior como para el interior. El valor más comúnmente empleado es 10, aunque también es frecuente emplear 5 o 3 secciones. Con el objetivo de simplificar el estudio se ha fijado, inicialmente, *n_splits* = 3 en la validación cruzada interna mientras se ha estudiado el efecto de elegir un valor 5 o 10 en el bucle exterior. Otro factor que debe especificarse es si se desea que los datos que formen parte de cada una de dichas secciones sean escogidos de forma aleatoria proporcionando un valor *True* o *False* al parámetro *shuffle* a la hora de definir la validación cruzada en la función *KFold*. En caso positivo, se ha establecido un *Random_state* siempre igual a 42, para asegurar la reproducibilidad de los resultados.

Para poder analizar estos parámetros, se ha escogido como ejemplo el escenario 1, al cual se ha aplicado el algoritmo *Random Forest*, evaluando 3 hiperparámetros con diversos valores a cada uno:

- *max_features*: 3, 5, 10, 15 y 17
- *n_estimators*: 10, 50, 100 y 200
- *min_samples_leaf*: 1, 3, 5 y 7

En la primera aproximación realizada, las características de las diferentes validaciones cruzadas, para el bucle exterior e interior, han sido las siguientes:

- *cv_outer* = *KFold* (*n_splits* = 10, *shuffle* = *False*, *random_state* = *None*)
- *cv_inner* = *KFold* (*n_splits* = 3, *shuffle* = *False*, *random_state* = *None*)

Aplicando estos parámetros, se han obtenido los resultados mostrados en la Tabla 5-2.

Tabla 5-2. Resultados obtenidos mediante VCA. Bucle exterior: *KFold*(*n_splits* = 10, *shuffle* = *False*, *random_state* = 42); Bucle interior: *KFold*(*n_splits* = 3, *shuffle* = *False*, *random_state* = 42).

R ² (Validación)	R ² (test)	Parámetros		
		Max_features	Min_samples_leaf	N_estimators
0,444	0,675	10	1	200
0,542	0,707	5	1	50
0,708	0,656	17	1	100
0,811	0,656	10	1	200
0,881	0,674	10	1	100
0,722	0,693	10	1	200
0,770	0,660	10	1	200
0,836	0,609	10	1	200
0,667	0,676	10	1	200
0,731	0,667	10	1	200

R² promedio: 0,711 (0,127)

Desviación promedio: 0,126 (0,078)

Los modelos han sido evaluados haciendo uso de R² como herramienta estadística y se han recogido los valores de ajuste obtenidos para el test en el bucle interior, así como la precisión en la predicción sobre los datos reservados para la validación en el bucle exterior. Como se puede observar, el ajuste medio durante la validación de los modelos escogidos por la función *GridSearch* en cada una de las 10 iteraciones ha sido 0,711, con una desviación estándar igual a 0,127.

La combinación de hiperparámetros *max_features* = 10, *min_samples_leaf* = 1 y *n_estimators* = 200 fue la que mejores resultados arrojó en 7 de las 10 iteraciones. Además, cabe destacar que, en todas las iteraciones, el valor de *min_samples_leaf* seleccionado ha sido 1. Esto es

coherente con lo que se sabe acerca de RF ya que, cuánto más profundo sean los árboles, el algoritmo dispondrá de más detalles de los que aprender durante el entrenamiento.

Para evaluar el efecto de n_splits sobre los modelos generados, se ha ejecutado de nuevo el algoritmo empleando, en este caso, únicamente 5 divisiones en la validación cruzada exterior (Tabla 5-3).

Tabla 5-3. Resultados obtenidos mediante VCA. Bucle exterior: $KFold(n_splits = 5, shuffle = False, random_state = None)$; Bucle interior: $KFold(n_splits = 3, shuffle = False, random_state = None)$.

Parámetros				
R^2 (Validación)	R^2 (test)	Max_features	Min_samples_leaf	N_estimators
0,566	0,716	10	1	200
0,782	0,666	15	1	100
0,729	0,667	15	1	100
0,808	0,596	10	1	200
0,623	0,671	5	1	100

R^2 promedio: 0,702 (0,093)

Desviación promedio: 0,118 (0,060)

En este caso, en la Tabla 5-3 puede verse cómo no hay una combinación de parámetros que destaque sobre el resto, aunque la pareja $max_features = 15$ y $n_estimators = 100$ es la que proporciona un mayor R^2 (0,782), si bien es inferior al obtenido en el caso anterior. Llama la atención cómo, cuando el primer quinto de los datos es reservado para la validación, es decir, en las dos primeras iteraciones cuando $n_splits = 10$ y en la primera iteración cuando $n_splits = 5$, la precisión en la validación es relativamente baja en comparación con el resto (a pesar de tener los datos de ajuste más altos en el *test* de la VC interior). Una de las posibles razones por las que esto podría estar sucediendo es que los datos en el *input* no estén distribuidos de forma suficientemente aleatoria, no siendo extrapolable el modelo optimizado a los datos reservados para la validación. Por ello se ha tomado la decisión de modificar el parámetro *shuffle* en la función *KFold*.

Sin embargo, debe establecerse si esto se hará solamente en la VC exterior o también en la interior. Realizando este cambio únicamente en el bucle exterior, el R^2 medio aumenta de 0,711 a 0,783 (Tabla 5-4), siendo también revelador el descenso de la desviación estándar, que pasa de tener un valor de 0,127 a situarse en 0,05. Esta disminución indica una mejor distribución de los datos

Tabla 5-4. Resultados obtenidos mediante VCA. Bucle exterior: $KFold(n_splits = 10, shuffle = True, random_state = 42)$; Bucle exterior: $KFold(n_splits = 3, shuffle = False, random_state = None)$.

R^2 (Validación)	R^2 (test)	Parámetros		
		Max_features	Min_samples_leaf	N_estimators
0,727	0,686	15	1	50
0,775	0,663	15	1	10
0,836	0,659	10	1	100
0,840	0,669	10	1	100
0,766	0,656	10	1	200
0,830	0,627	5	1	100
0,787	0,657	5	1	50
0,767	0,652	10	1	50
0,678	0,668	10	1	200
0,828	0,639	10	1	100

R^2 promedio: 0,783 (0,050)

Desviación promedio: 0,126 (0,060)

El mismo efecto ha podido observarse para $n_splits = 5$, donde el R^2 ha aumentado hasta 0,781 mientras que la desviación estándar se sitúa únicamente en 0,042, frente al valor de 0,093 obtenido previamente (Tabla 5-5).

Tabla 5-5. Resultados obtenidos mediante VCA. Bucle exterior: $KFold(n_splits = 5, shuffle = True, random_state = 42)$; Bucle exterior: $KFold(n_splits = 3, shuffle = False, random_state = None)$.

R^2 (Validación)	R^2 (test)	Parámetros		
		Max_features	Min_samples_leaf	N_estimators
0,818	0,661	10	1	200
0,826	0,654	10	1	200
0,783	0,613	5	1	100
0,709	0,645	10	1	50
0,770	0,624	10	1	200

R^2 promedio: 0,781 (0,042)

Desviación promedio: 0,142 (0,040)

Modificar el valor de *Shuffle* también en la validación cruzada interior, tanto para $n_splits = 10$ como para $n_splits = 5$, no provoca cambios significativos en los ajustes de los modelos

obtenidos a los datos de validación, aunque aumentan ligeramente la calidad del ajuste en el bucle interior (Tabla 5-6 y Tabla 5-7).

Tabla 5-6. Resultados obtenidos mediante VCA. Bucle exterior: $KFold(n_splits = 10, shuffle = True, random_state = 42)$; Bucle interior: $KFold(n_splits = 3, shuffle = True, random_state = 42)$.

R ² (Validación)	R ² (test)	Parámetros		
		Max_features	Min_samples_leaf	N_estimators
0,723	0,726	5	1	200
0,829	0,704	5	1	50
0,836	0,731	10	1	100
0,840	0,757	10	1	100
0,756	0,731	10	1	50
0,824	0,716	5	1	200
0,773	0,699	10	1	200
0,783	0,702	5	1	200
0,729	0,758	5	1	50
0,828	0,732	10	1	200

R² promedio: 0,793 (0,044)

Desviación promedio: 0,074 (0,040)

Tabla 5-7. Resultados obtenidos mediante VCA. Bucle exterior: $KFold(n_splits = 5, shuffle = True, random_state = 42)$; Bucle interior: $KFold(n_splits = 3, shuffle = True, random_state = 42)$.

R ² (Validación)	R ² (test)	Parámetros		
		Max_features	Min_samples_leaf	N_estimators
0,8.19	0,723	15	1	200
0,798	0,705	5	1	50
0,810	0,746	10	1	200
0,745	0,713	10	1	200
0,770	0,764	10	1	200

R² promedio: 0,788 (0,027)

Desviación promedio: 0,058 (0,035)

Si bien la diferencia en el ajuste obtenido para los dos valores de $n_splits_{exterior}$ es baja, el R² calculado es mejor de forma consistente dividir los datos en 10 bloque. Por ello, se ha decidido continuar trabajando con 10 secciones en la validación cruzada exterior.

Por otra parte, aunque se puede observar cómo la desviación en la precisión entre el ajuste a los datos del test y de validación disminuye al aleatorizar los datos de entrada, aún es posible

percibir una diferencia entre los valores de R^2 . Esto puede deberse al hecho de que, en la validación cruzada interior, los datos se están dividiendo únicamente en tres bloques, dejando en cada una de las iteraciones un 33% de los datos para la prueba. Si bien los datos se encuentran aleatorizados, es posible que un número mayor de divisiones consiga acercar los resultados obtenidos para el test y la validación. Por lo tanto, se ha aumentado el número de bloques en el bucle interior hasta 10. Al hacerlo, se ha observado una ligera disminución de la desviación media entre ambos resultados (Tabla 5-8). Sin embargo, el R^2 promedio en la validación disminuye ligeramente (0,789 vs 0,793), y se modifica la combinación de hiperparámetros detectada como óptima, incrementándose el valor óptimo de *max_features* hasta 10.

Dado que el ajuste obtenido al dividir los datos en 3 y 10 bloques en la validación cruzada interior es tan similar, y cada uno tiene sus pros y sus contras, se tendrán en cuenta ambas combinaciones de hiperparámetros de cara a análisis posteriores.

Tabla 5-8. Resultados obtenidos mediante VCA. Bucle exterior: *KFold*(*n_splits* = 10, *shuffle* = True, *random_state* = 42); Bucle interior: *KFold*(*n_splits* = 10 *shuffle* = True, *random_state* = 42).

R^2 (Validación)	R^2 (test)	Parámetros		
		Max_features	Min_samples_leaf	N_estimators
0,724	0,777	5	1	50
0,827	0,749	5	1	200
0,826	0,789	15	1	10
0,836	0,775	10	1	200
0,766	0,772	10	1	200
0,858	0,748	10	1	200
0,773	0,755	10	1	200
0,779	0,793	10	1	200
0,678	0,782	10	1	200
0,828	0,781	10	1	200

R^2 promedio: 0,789 (0,053)

Desviación promedio: 0,053 (0,034)

5.3. Optimización de hiperparámetros

Tal y como se ha explicado en la sección 3.12.5 del capítulo «Materiales y métodos», son tres los hiperparámetros que se han optimizado en este trabajo tanto para *Random Forest* como *Gradient Boosting*. Por el contrario, dada la simplicidad de los árboles de decisión en

comparación con los primeros, para dichos algoritmos solamente se ha evaluado el efecto de un hiperparámetro.

Los valores que se han asignado a la mayoría de los hiperparámetros han sido los mismos para todos los escenarios, y son los que se indican a continuación:

- *n_estimators* (RF y GBRT): 10, 50, 100 y 200
- *min_samples_leaf* (RF, GBRT, DT): 1, 3, 5 y 7
- *learning_rate* (GBRT): 0,05, 0,1, 0,2, 0,5

En el caso de *max_features* (ajustado únicamente para RF), sin embargo, ha sido necesario establecer diferentes valores para cada uno de los escenarios, ya que este parámetro es dependiente del número de variables de entrada disponibles y nunca puede utilizarse un número mayor al de *inputs*. Al aplicar la codificación *One-Hot*, el número de columnas incrementa en función del número de variables categóricas que hubiera, tal y como se ha mencionado previamente, de forma que hay escenarios que tienen únicamente 10 *inputs* (E2.3.3) y siendo el E1 el más numeroso (17 variables). Teniendo esto en cuenta, los valores de *max_features* evaluados para cada uno de los escenarios han sido:

- **Escenario 1:** 3, 5, 10, 15, 17
- **Escenario2.1:** 3, 5, 10, 13
- **Escenario 2.2:** 3, 5, 10, 13
- **Escenario 2.3:** 3, 5, 10
- **Escenario 3:** 3, 5, 10, 12

Para cada uno de los posibles algoritmos y, a su vez, para cada escenario, se han seleccionado dos combinaciones de hiperparámetros. La primera de ellas considerando $nSplits_{interior} = 3$ y la segunda $nSplits_{interior} = 10$. Los resultados obtenidos para cada una de las iteraciones pueden ser consultados en el Anexo III. Aunque los resultados de ajuste obtenidos son similares para los dos valores de $nSplits_{interior}$ planteados, es necesario destacar que el tiempo consumido por el programa ha sido de aproximadamente el triple para $nSplits_{interior} = 10$.

Se ha determinado que la mejor combinación de parámetros es aquella que la función ‘*GridSearchCV*’ ha seleccionado en un mayor número de iteraciones. En aquellos casos en los que dos o más modelos cumplían este requisito (por haber un empate), se ha seleccionado

aquella cuyo R^2 promedio medio haya sido mayor. Teniendo estos criterios en mente, se ha elaborado la Tabla 5-9, en la que se recogen las combinaciones de parámetros óptimas.

El único hiperparámetro que ha sido optimizado para todos los algoritmos ha sido *min_samples_leaf*. Los valores obtenidos para los diferentes escenarios al utilizar DT y GBRT son variados, siendo 3 el más repetido. Sin embargo, en todos los escenarios se ha determinado un *min_samples_leaf* = 1 como valor óptimo al aplicar el algoritmo *Random Forest*. Esto se debe a que, aunque tener un solo árbol con mucha profundidad puede llevar a un sobreajuste del modelo a los datos de entrenamiento (Mantovani *et al.*, 2018), en el caso de RF una mayor profundidad permite que el modelo aprenda más de los datos, lo que se traduce en una exactitud mayor en la predicción global (Fraj, 2017).

Por otra parte, para los dos algoritmos más complejos, por norma general se ha observado que un mayor número de árboles conduce a una mejor predicción (Koehrsen, 2018; Mohapatra *et al.*, 2021). Es por esto por lo que, en 26 de los 28 modelos, el valor óptimo de *n_estimators* ha sido 200, es decir, el valor máximo evaluado. Para los dos modelos restantes se ha determinado un conjunto de 100 árboles como el óptimo entre los evaluados. Si se analiza cuáles son los escenarios para lo que se obtienen los valores más bajos, ambos modelos corresponden al escenario 2.3. Probablemente, esto se deba a que el conjunto de datos sobre el que se trabaja en estos subescenarios es mucho menor (150-200 registros frente a 560), careciendo de sentido elaborar un número de árboles tan grande. Resultados más variados se han obtenido para los dos hiperparámetros restantes (*max_features* y *learning_rate*). Para *learning_rate*. Sin embargo, se observa cierta tendencia hacia los valores más altos, ya que solamente en una ocasión se han seleccionado tasas de aprendizaje de 0,05 y 0,1. Esto no resulta extraño, ya que otros autores han comprobado que una tasa de aprendizaje mayor permite obtener un menor error en las predicciones realizadas por el modelo (Mohapatra *et al.*, 2021; Yanru Zhang y Haghani, 2015)

Tabla 5-9. Parámetros que definen los modelos óptimos en cada escenario.

	$nSplits_{interior}$	<i>Decission Tree</i>	<i>Random Forest</i>	<i>Gradient boosting</i>			
		<i>min_samples_leaf</i>	<i>max_features</i>	<i>min_samples_leaf</i>	<i>n_estimators</i>	<i>learning_rate</i>	<i>min_samples_leaf</i> <i>n_estimators</i>
E1	3	5	5	1	200	0,5	1 200
	10	3	10	1	200	0,5	3 200
E2.1	3	7	5	1	200	0,2	1 200
	10	3	5	1	200	0,5	3 200
E2.2	3	3	10	1	200	0,5	3 200
	10	1	10	1	200	0,5	1 200
E2.3.1	3	10	3	1	200	0,5	5 200
	10	10	3	1	200	0,5	7 200
E2.3.2	3	1	10	1	200	0,1	3 200
	10	3	10	1	100	0,05	3 200
E2.3.3	3	1	5	1	200	0,2	7 100
	10	1	5	1	200	0,2	1 200
E3	3	3	5	1	200	0,5	5 200
	10	3	3	1	200	0,5	3 200

5.4. Evaluación de los modelos sobre el conjunto de datos

Para poder realizar una comparación entre los diferentes escenarios y algoritmos, se ha calculado (y recogido en la Tabla 5-10) el valor de R^2 obtenido al evaluar los diferentes modelos, con los hiperparámetros optimizados en la sección anterior, sobre el conjunto total de los datos. Esta evaluación se ha llevado a cabo mediante un proceso de validación cruzada, en el que los datos han sido divididos en 10 bloques. Si bien la diferencia entre los modelos obtenidos realizando un número de divisiones u otro en la validación cruzada interior no es excesivamente alta en la mayoría de los escenarios, se ha podido observar que, por norma general, los modelos ajustados haciendo uso de un $nSplits_{interior} = 10$ son los que realizan una mejor predicción de la tasa de desinfección.

Tabla 5-10. Evaluación de los modelos de ML tras el ajuste de los hiperparámetros.

	$nSplits_{interior}$	<i>Decision Tree</i>	<i>Random Forest</i>	<i>Gradient boosting</i>
E1	3	0,616 ($\pm 0,125$)	0,788 ($\pm 0,045$)	0,804 ($\pm 0,065$)
	10	0,650 ($\pm 0,110$)	0,796 ($\pm 0,055$)	0,809 ($\pm 0,055$)
E2.1	3	0,568 ($\pm 0,119$)	0,750 ($\pm 0,050$)	0,794 ($\pm 0,053$)
	10	0,613 ($\pm 0,117$)	0,750 ($\pm 0,050$)	0,790 ($\pm 0,045$)
E2.2	3	0,745 ($\pm 0,095$)	0,854 ($\pm 0,047$)	0,859 ($\pm 0,036$)
	10	0,811 ($\pm 0,060$)	0,854 ($\pm 0,047$)	0,860 ($\pm 0,034$)
E2.3.1	3			0,681 ($\pm 0,149$)
	10	0,218 ($\pm 0,205$)	0,533 ($\pm 0,096$)	0,684 ($\pm 0,111$)
E2.3.2	3	0,743 ($\pm 0,187$)	0,856 ($\pm 0,091$)	0,868 ($\pm 0,066$)
	10	0,800 ($\pm 0,122$)	0,857 ($\pm 0,090$)	0,868 ($\pm 0,066$)
E2.3.3	3		0,756 ($\pm 0,063$)	0,731 ($\pm 0,104$)
	10	0,622 ($\pm 0,184$)	0,756 ($\pm 0,063$)	0,744 ($\pm 0,146$)
E2.3		0,546	0,715	0,765
E3	3	0,635 ($\pm 0,110$)	0,768 ($\pm 0,048$)	0,801 ($\pm 0,057$)
	10	0,635 ($\pm 0,110$)	0,773 ($\pm 0,038$)	0,803 ($\pm 0,059$)

Para poder visualizar esta información de forma gráfica, se ha realizado un mapa de calor con la ayuda de la librería *seaborn* de Python. En la Figura 5-1. Se puede observar claramente cómo los modelos de árbol de decisión fueron los que realizan predicciones menos precisas. Por otra parte, *Gradient Boosting* fue el algoritmo que mejores predicciones realizó sobre las porciones de datos reservadas para la validación en todos los escenarios, aunque seguido muy de cerca por *Random forest*. De la misma forma, observando el mapa destacan los

resultados obtenidos para el escenario 2.2, siendo en el que se obtiene un mayor valor R^2 para los tres algoritmos. Por tanto, puede afirmarse que el pretratamiento de los datos que plantea la duplicación de los registros cuando no se utiliza catalizador es el que mejores resultados arroja. Para este escenario concreto, se observa como RF y GBRT proporcionan un ajuste muy parecido, con una diferencia en el R^2 de 0,006 puntos. Existen varios artículos en los que se compara la aplicación de estos dos algoritmos para realizar predicciones en diversos sectores. En la mayoría de ellos, y al igual que se observa en este trabajo, los investigadores han determinado que se obtienen resultados muy similares al utilizar uno u otro (Brillante *et al.*, 2015; Y. Ma y Zhang, 2020). En un estudio en el que buscaba predecir la prevalencia de *Listeria spp.* en dos entornos diferentes, se demostró que GBRT tenía un mejor comportamiento en uno de ellos, mientras que RF y GBRT consiguieron realizar predicciones con una precisión muy similar para el otro, no siendo posible establecer uno de los algoritmos como el más indicado (Golden *et al.*, 2019).

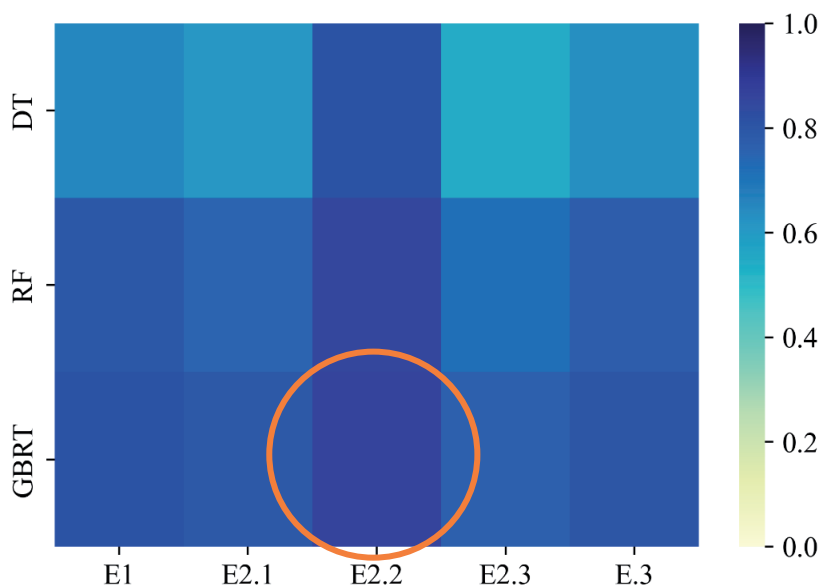


Figura 5-1. Mapa de calor: precisión de los modelos tras el ajuste de los hiperparámetros.

Como se puede apreciar en la Figura 5-1, para el escenario 3 no se han tenido en cuenta los tres subescenarios por separado (E2.3.1: solo tratamientos con FeSO_4 ; E2.3.2: solo tratamientos con Fe(III)-Cit ; E2.3.3: solo tratamientos sin catalizador), sino que se ha calculado el ajuste promedio como medida de la eficacia global del escenario planteado.

Al dividir los registros en función del catalizador empleado, podría esperarse que, tratando con datos procedentes de experimentos más homogéneos (con menos variables), se

obtuvieran modelos que pudieran realizar una mejor predicción de los resultados experimentales. Sin embargo, al analizar los resultados obtenidos en el escenario E2.3.1 es llamativo que los valores de R^2 son los más bajos de entre todos los modelos evaluados (Tabla 5-10), siendo especialmente destacable en el caso de utilizar DT. Además, estos resultados tienen una desviación estándar considerablemente alta, lo que indica una gran dependencia de los registros contenidos en cada una de las divisiones. GBRT es el único algoritmo que alcanza una predicción con un margen de error razonable y, aun así, este resultado es alrededor de un 10% peor que en el siguiente peor escenario para el mismo algoritmo.

Mucho mejor es el ajuste de los modelos en el E2.3.2. Los datos de los tratamientos con Fe(III)-Cit han permitido obtener predicciones más exactas, alcanzando unos valores de R^2 muy similar a los obtenidos para el mejor escenario (E2.2). Ante resultados tan dispares, cabe preguntarse a qué se debe esta diferencia. En *machine learning*, no es de extrañar que se obtengan peores resultados al disponer de un menor número de datos sobre los que trabajar. Si comparamos la cantidad de registros evaluados en el E2.3.1, observamos que son 157 frente a los 783 que se evalúan en el escenario E2.2. Sin embargo, en el E2.3.2 se dispone de un conjunto de datos de un tamaño similar (180 registros), pero los resultados obtenidos son mucho mejores. Por lo tanto, teniendo en cuenta todos estos factores se podría concluir que el comportamiento del *output* es mucho más predecible al emplear el Fe(III)-Cit como catalizador o, lo que es lo mismo, que los experimentos realizado con FeSO_4 tienen un comportamiento más errático, que no depende de forma tan directa del tipo de catalizador utilizado. Es por esto por lo que, a pesar del buen resultado obtenido en el escenario 2.3.2, no tiene sentido tenerlo en cuenta por sí solo, ya que de esta forma sólo se evalúa una pequeña parte del total de los registros. Al calcular el ajuste promedio, se ha visto como la eficacia de esta alternativa desciende significativamente debido, principalmente, a la baja precisión en la predicción observada en el E2.3.1.

Para finalizar, se quiso visualizar en mayor detalle las predicciones realizadas mediante los algoritmos RF y GBRT aplicados al mejor escenario (E2.2). En la Figura 5-2 se puede observar como la dispersión es ligeramente menor para valores bajos de $\log(N_t/N_0)$ al utilizar GBRE, mientras que la exactitud de la predicción es similar en ambos modelos cuando la desinfección es alta (>3 log). Por consiguiente, y al devolver un R^2 tan similar, no parece justo afirmar que uno de ellos sea mejor que el otro, siendo posible afirmar que en

este trabajo se ha conseguido elaborar dos modelos capaces de predecir la tasa de inactivación de *Enterococcus sp.* mediante diferentes procesos de oxidación avanzada con una precisión superior al 85%.

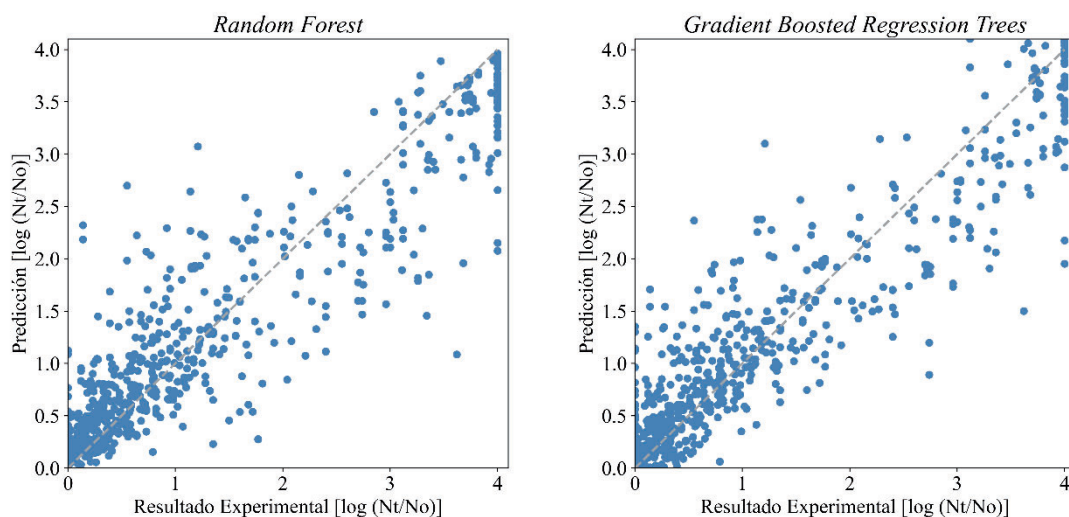


Figura 5-2. Predicciones de la tasa de desinfección obtenidas con los modelos óptimos.

Aunque existen varios trabajos en los que se aborda mediante técnicas de ML la eliminación de contaminantes, o la generación de subproductos de desinfección, mediante diferentes tratamientos de agua (Z. Jiang *et al.*, 2020; Lu *et al.*, 2022; Vasseghian *et al.*, 2021; Zhu *et al.*, 2021), a día de hoy se han reportado muy pocos trabajos en los que se evalúe la presencia o inactivación de microorganismos. En un estudio presentado en el año de 2017 se evaluó la posibilidad de utilizar ML para estimar la presencia de microorganismos (*E. coli* y enterococos intestinales) en el agua en función de otros parámetros medibles como el pH, conductividad o turbidez del agua, empleando para ello el algoritmo *Random Forest* (Mohammed *et al.*, 2017). A pesar de que las predicciones realizadas tenían un error significativo, el estudio mostró resultados prometedores, abriendo la posibilidad de aplicar esta tecnología a un campo hasta ese momento prácticamente inexplorado. Sin embargo, este estudio no analiza el poder desinfectante de un tratamiento. A este respecto, el primer artículo que puede encontrarse data del año de 2004 y en él se emplearon redes neuronales para describir, de forma exitosa, la cinética de inactivación de *Giardia lamblia* mediante cloro libre (Haas, 2004). Este trabajo evaluó el efecto de la temperatura, el pH y la concentración de cloro sobre el proceso. Por lo tanto, si se compara dicho estudio con la evaluación desarrollada en este capítulo, es posible apreciar aquí un mayor nivel de

complejidad derivado de la presencia de un mayor número de variables, así como de la combinación de variables categóricas y numéricas.

A pesar de los prometedores resultados obtenidos por Haas (2004), la comunidad científica no ha mostrado interés en proseguir con la fusión de estos dos campos de investigación, lo que puede deducirse de la falta de publicaciones en los últimos años. Esta tendencia, por suerte, está empezando a cambiar y se ha observado en los dos últimos años la publicación de algunos estudios que abordan este asunto. Sbahi *et al.* (2020) utilizaron redes neuronales artificiales para predecir la concentración de coliformes totales en agua residual doméstica depurada mediante un tratamiento físico. En dicho trabajo se consiguió obtener una alta precisión en las predicciones realizadas, utilizando como variables de entrada diversos parámetros físicos-químicos del agua como el pH, la conductividad o el contenido en nitratos y fosfatos, entre otros. Más recientemente, Kadoya *et al.* (2021) evaluaron la inactivación de tres especies de bacterias resistentes a antibióticos, consiguiendo obtener, también valores de $R^2 > 0,9$.

Por tanto, ante la escasez de bibliografía encontrada a la hora de elaborar este trabajo, es posible afirmar con confianza que esta es una de las primeras investigaciones que abordan el uso de técnicas de ML para la predicción del resultado de tratamientos de desinfección de agua. Si bien es necesario continuar trabajando en esta línea y perfeccionar los modelos, los resultados obtenidos son prometedores y demuestran la posibilidad de predecir el resultado de AOP aplicados a la inactivación de microorganismos en aguas residuales mediante algoritmos basados en árboles de decisión.

CAPÍTULO 6:

**ACTIVACIÓN DE PMS MEDIANTE UV-A
(LED) PARA LA ELIMINACIÓN DE
CONTAMINANTES EMERGENTES A
ESCALA DE LABORATORIO**

ACTIVACIÓN DE PMS MEDIANTE UV-A (LED) PARA LA ELIMINACIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES A ESCALA DE LABORATORIO

En el capítulo 4 se ha visto, entre otras cosas, como la combinación de PMS y radiación UV-A puede dar lugar a un tratamiento capaz de inactivar de formas satisfactoria cepas salvajes de *Enterococcus sp.* Sin embargo, tal y como se ha explicado en la introducción, los AOP tienen la ventaja de ser capaces de degradar también moléculas orgánicas. Es por ello que en este capítulo se muestran los resultados obtenidos en la eliminación simultánea de 20 contaminantes de preocupación emergente, entre los que se encuentran diferentes fármacos, pesticidas y herbicidas.

6.1. Ensayos para la optimización de la dosis de oxidante

Aunque se realizó una optimización de la dosis de PMS, aplicando los tratamientos correspondientes para inactivar el *Enterococcus sp.*, en agua destilada, se pudo comprobar que las condiciones optimizadas en una matriz tan sencilla no son eficaces en una matriz más compleja, como es el caso del agua residual (simulada o real). Teniendo en cuenta que la configuración del reactor y la fuente de radiación UV-A empleadas para el estudio de eliminación de contaminantes han sido diferentes a las utilizadas en los tratamientos de desinfección, ha sido necesario llevar a cabo una nueva optimización de la dosis de oxidante, para lo que se evaluó la activación fotoquímica de tres concentraciones de PMS (0,05, 0,1 y 0,5 mM). Para ello se utilizó un efluente secundario real contaminado artificialmente con los 20 CPE en estudio (ver lista completa en el apartado 3.2.1) para obtener una concentración de 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de cada uno de ellos.

Se consiguió un notable incremento en la eliminación de los CPE cuando la dosis de PMS aumentó de 0,05 a 0,1 mM (Figura 6-1). En concreto, la eliminación media de los CPE seleccionados aumentó del 31,8% cuando se utilizó 0,05 mM de PMS, al 87,4% cuando se empleó 0,1 mM de PMS.

Aunque el aumento de la concentración de PMS (hasta 0,5 mM) condujo a una degradación más pronunciada de algunos contaminantes (trimetoprima, los 3 betabloqueantes, tramadol, warfarina y tiacloprid), la eliminación media de los CPE fue ligeramente inferior (82%) a la obtenida con 0,1 mM de PMS (87,4%). Este descenso de la eficacia fue especialmente destacable para los compuestos más recalcitrantes, como atracina, alacloro y simazina.

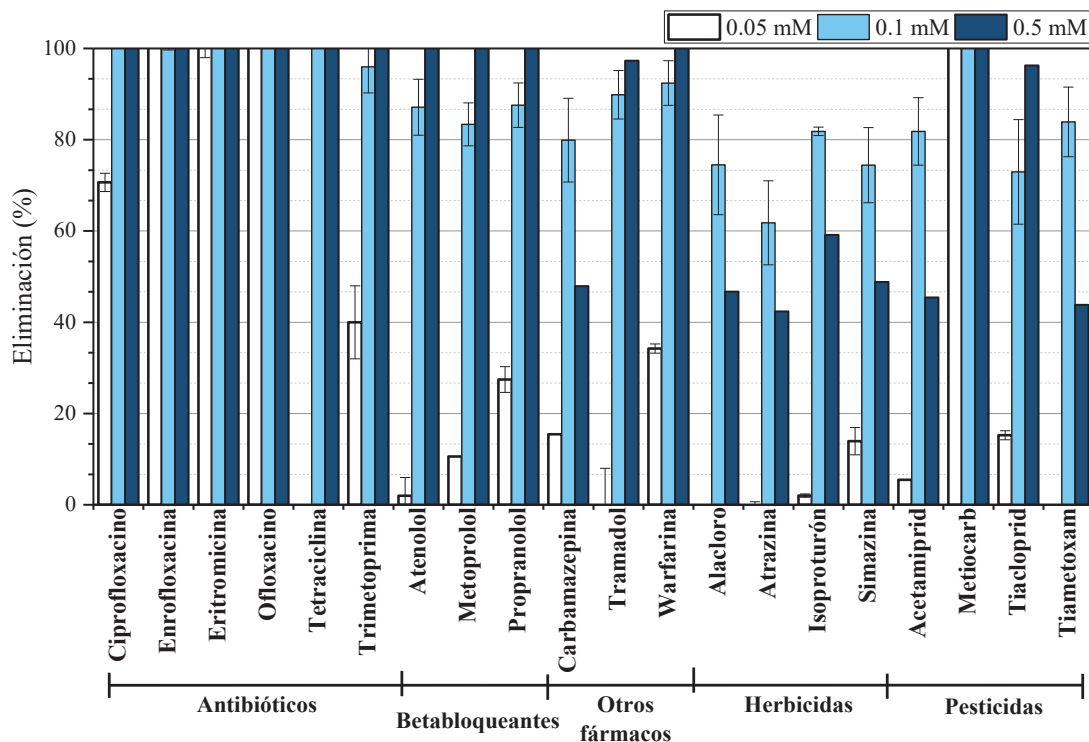
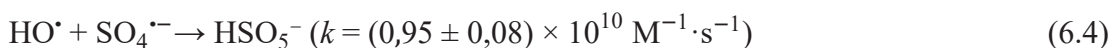
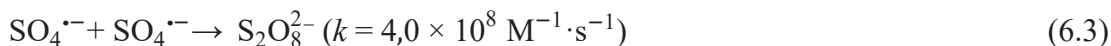
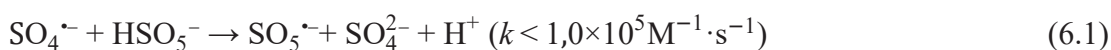
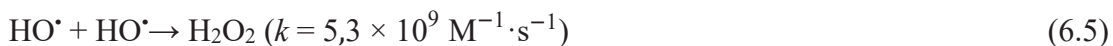


Figura 6-1. Efecto de la concentración de PMS sobre la eliminación (%) de los 20 CPE objetivo. Condiciones experimentales: Matriz = AR; $[CPE]_0 = 100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; radiación = UV-A (LED); tiempo de reacción = 60 min.

Este descenso de la eficacia del tratamiento no resulta extraño, ya que un exceso de PMS puede reaccionar con los radicales hidroxilo y sulfato generados (ec. 6.1-6.2) (Brandt y Eldik, 1995), dando lugar a especies menos reactivas, y propiciando la recombinación de los radicales (ec. 6.3-6.5) (Huie y Clifton, 1993; Khan *et al.*, 2017). De hecho, estos fenómenos se han reportado, en varias ocasiones, al combinar el PMS con la radiación UV. Por ejemplo, una investigación concluyó de que las concentraciones de PMS superiores a 0,66 mM disminuyen el rendimiento del tratamiento para la eliminación del bisfenol A (Sharma *et al.*, 2015). El mismo efecto fue también observado por Jiang *et al.* (2018) para la eliminación de contaminantes refractarios en lixiviados de incineración.





A la vista de los resultados, se seleccionó 0,1 mM como la dosis óptima de PMS y fue, por tanto, la concentración utilizada en los ensayos posteriores. Sin embargo, antes de proseguir, se realizaron experimentos complementarios para discriminar las diferentes contribuciones a la degradación de cada CPE, es decir, para determinar el efecto individual de la fotólisis y oxidación directa de PMS. Ambos procesos pueden tener lugar durante el tratamiento y sus efectos pueden ser aditivos o sinérgicos, siendo este último el escenario deseable.

En primer lugar, se evaluó la degradación de los CPE objetivo mediante fotólisis, para lo cual se realizó el tratamiento solamente bajo radiación UV-A (sin adición de PMS). En este trabajo, los tratamientos se evaluaron en aguas residuales reales, por lo que se esperaba que se produjera tanto la fotólisis directa como la indirecta (Giannakis *et al.*, 2015; Legrini *et al.*, 1993). Además de la degradación directa de los CPE debido a la excitación electrónica de las moléculas, los compuestos disueltos en la matriz pueden contribuir a la degradación, ya que pueden generarse especies reactivas de oxígeno por la irradiación de elementos fotosensibles disueltos en la matriz del agua (Ribeiro *et al.*, 2019). Sin embargo, la materia orgánica disuelta también puede absorber parte de la radiación incidente, disminuyendo la tasa de degradación por radiación directa. Al realizar este ensayo, se pudo observar como el efecto de la radiación UV-A en la degradación de la mayoría de los CPE objetivo fue mínimo (Figura 6-2A). De hecho, tras 60 minutos de reacción, la mayoría de los contaminantes se eliminaron en menos de un 15% con UV-A, excepto la tetraciclina, el propranolol, la atrazina, el tiacloprid y el metiocarb, para los que se obtuvieron eliminaciones del 97%, 26%, 35%, 24% y 52% respectivamente.

Se evaluó, también, la contribución de la oxidación directa mediante PMS a la degradación de cada CPE. Para 11 de los 20 CPE objetivo se verificó una degradación promedio inferior al 35% tras 60 minutos de reacción en oscuridad. Sin embargo, 6 de los 20 contaminantes objetivo (todos los antibióticos y el metiocarb) se degradaron completamente. Este hecho sugiere que la oxidación por PMS juega un papel notable en la degradación de estos 6 CPE en la matriz real estudiada.

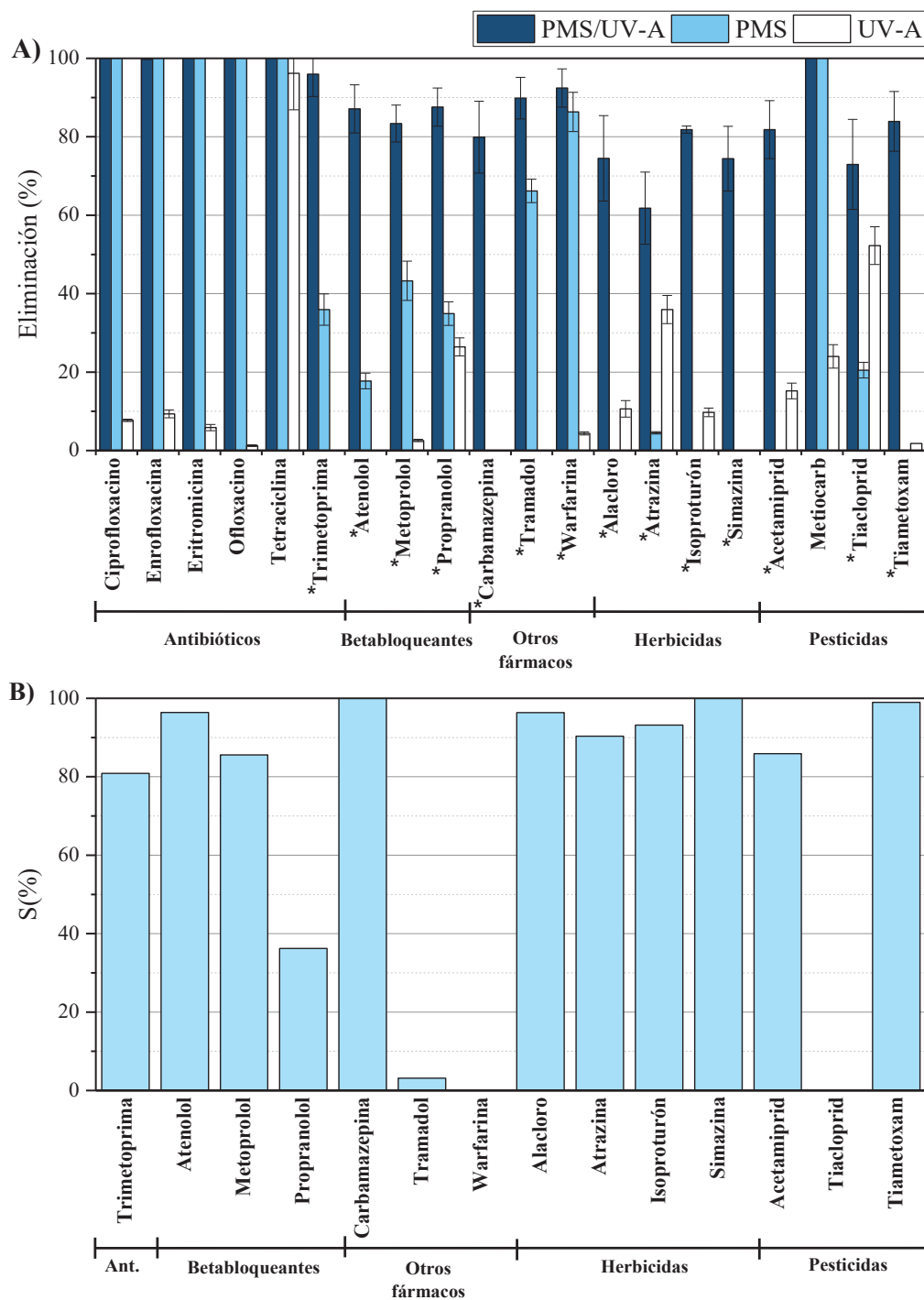


Figura 6-2. Determinación de los efectos sinérgicos entre el PMS y la radiación UV-A en la degradación de los 20 CPE multiclase objetivo: A) Eliminación por PMS/UV-A, PMS o UV-A (%) B) Grado de sinergia en el tratamiento PMS/UV-A (estimado para aquellos CPE marcados con un asterisco). Condiciones experimentales: Matriz = AR; $[CPE]_0 = 100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; $[PMS] = 0,1 \text{ mM}$; irradiación = UV-A (LED); tiempo de reacción = 60 min.

Ante estos resultados, no debe perderse de vista que la eliminación completa de un determinado contaminante no implica la completa mineralización del compuesto. Se sabe que, durante la degradación, se generan productos de transformación y es necesario disponer de equipos de vanguardia para identificar y cuantificar estos compuestos. Esto se observó claramente en un estudio realizado por Rodríguez-Chueca *et al.* (2019), en el que entre los productos intermedios generados al tratar un agua residual real mediante el uso de PMS/UV-C (Rodríguez-Chueca, García-Cañibano, Sarro, *et al.*, 2019), se encontraron hasta 3 subproductos de la degradación del atenolol dependiendo de la dosis de PMS, y se pudieron identificar 10 productos de transformación de la carbamazepina. Dado que la aparición de estos productos de transformación es inevitable, la posibilidad de aplicar un tratamiento para eliminar los contaminantes radica en que estos subproductos generados sean menos dañinos que las moléculas iniciales, lo cual no siempre es así. Por ello, y ante la incapacidad técnica de identificar todos los posibles subproductos, se realizaron pruebas de fitotoxicidad en el agua antes y después de ser tratada para entender si las nuevas moléculas resultantes de la degradación del PMS son más inocuas que las iniciales (resultados mostrados en el apartado 6.4).

Si se comparan los resultados obtenidos en los tratamientos con sólo PMS o con radiación UV-A con los alcanzados tras el tratamiento con PMS/UV-A, se observa una notable mejora en la eliminación de la mayoría de los compuestos mediante la foto activación del PMS. Este efecto es especialmente notable en el caso de los compuestos más recalcitrantes cuando se utiliza únicamente el PMS o la radiación UV-A (atenolol, alacloro, acetamiprid, isoproturón, simazina, carbamazepina y tiametoxam). En el caso de los últimos 4 compuestos citados, se observó una degradación insignificante al añadir PMS en la oscuridad y durante la fotólisis, pero se logró alrededor del 80% de eliminación con el tratamiento combinado.

Para cuantificar el posible efecto sinérgico que se produce, se determinaron las constantes cinéticas de pseudo-primer orden (Tabla 6-1) y se calculó el grado de sinergia (S), representando gráficamente los resultados obtenidos para cada CPE en la Figura 6-2b. Este análisis no se realizó para los compuestos ciprofloxacina, eritromicina, enrofloxacin, ofloxacina, metiocarb y tetraciclina, debido a (i) la falta de datos suficientes, ya que estos compuestos se eliminaron en menos de 5 minutos al utilizar el sistema PMS/UV-A (impidiendo así la determinación de las respectivas constantes cinéticas de pseudo-primer

orden); y (ii) la eliminación completa de estos CPE con PMS en oscuridad, mostrando la misma tendencia observada para PMS/UV-A.

Tabla 6-1. Constantes cinéticas de pseudo-primer orden para los CPE objetivo.

Contaminante	k (PMS)	k (UV-A)	k (PMS/UV-A)
Trimetoprima	0,0112 ($R^2 = 0,9312$)	0	0,0585 ($R^2 = 0,8865$)
Atenolol	0,0031 ($R^2 = 0,9540$)	0	0,0860 ($R^2 = 0,9764$)
Metoprolol	0,0137 ($R^2 = 0,8716$)	0,0002 ($R^2 = 0,9697$)	0,0964 ($R^2 = 0,9522$)
Propranolol	0,0198 ($R^2 = 0,9948$)	0,0022 ($R^2 = 0,9810$)	0,0345 ($R^2 = 0,9229$)
Carbamazepina	0	0	0,0301 ($R^2 = 0,9463$)
Tramadol	0,0432 ($R^2 = 0,9990$)	0	0,0446 ($R^2 = 0,9155$)
Warfarina	0,1828 ($R^2 = 0,9999$)	0,0027 ($R^2 = 0,9800$)	0,1660 ($R^2 = 0,9999$)
Alacloro	0	0,0008 ($R^2 = 0,8891$)	0,0220 ($R^2 = 0,8893$)
Atrazina	0,0024 ($R^2 = 0,9914$)	0,0062 ($R^2 = 0,9830$)	0,0892 ($R^2 = 0,9999$)
Isoproturón	0	0,0020 ($R^2 = 0,9572$)	0,0293 ($R^2 = 0,9521$)
Simazina	0	0	0,0228 ($R^2 = 0,9168$)
Acetamiprid	0	0,0059 ($R^2 = 0,9294$)	0,0418 ($R^2 = 0,8998$)
Tiacloprid	0,0238 ($R^2 = 0,9999$)	0,0114 ($R^2 = 0,9412$)	0,0237 ($R^2 = 0,8704$)
Tiametoxam	0	0,0003 ($R^2 = 0,7619$)	0,0290 ($R^2 = 0,9262$)

Los valores de S obtenidos para los CPE estudiados son consistentes con los resultados mostrados en la Figura 6-2a. No se encontraron sinergias entre el oxidante y la radiación UV-A para la degradación de tiacloprid y warfarina, ya que, en estos casos, la suma del efecto individual de UV-A y PMS fue igual a la obtenida por su uso combinado. Además, sólo se estimó un grado de sinergia del 3% para el tramadol, cuya degradación no se vio afectada por la radiación UV-A. Una situación completamente diferente se observó en el caso de los demás CPE, para los que se obtuvo S promedio del 87,6%. El valor de S descende al 69,1% cuando se consideran los todos los CPE en estudio. Aun así, estos resultados confirman la existencia de sinergias entre el PMS y la radiación UV-A aplicada, posiblemente debido a la generación de radicales.

Este fenómeno ha sido reportado previamente para la degradación de otros contaminantes bajo irradiación UV-C. X. Zhang *et al.* (2019) mostraron que la degradación de los haloacetónitrilos era prácticamente inexistente cuando se utilizaba UV-C o PMS de forma independiente en agua desionizada ($\text{pH} = 7$). Sin embargo, cuando se combinó UV-C con PMS, la degradación aumentó hasta el 80% en tan solo 30 minutos de reacción. Lo mismo se ha observado al utilizar este tratamiento en la degradación del fosfato de tris(2-cloroetil)

(TCEP) en agua ultrapura ($\text{pH} = 5,5 \pm 0,5$). En otro estudio desarrollado por Xu *et al.* (2017), se determinó que la eliminación de este compuesto era del 94,6% tras 30 min de tratamiento con una relación $[\text{PMS}]:[\text{TCEP}]$ de 20:1 bajo radiación UV-C, mientras que se obtuvo una degradación insignificante por oxidación del PMS, y solo el 4,5% se eliminó por fotólisis.

Para comprender si existen tendencias similares en las cinéticas de degradación de los contaminantes pertenecientes a cada una de las clases, los 20 compuestos en estudio se agruparon en 5 categorías principales: antibióticos, betabloqueantes, otros productos farmacéuticos (anticoagulantes, analgésicos y anticonvulsivos), herbicidas e insecticidas. A continuación, se analizó la cinética de degradación obtenida para cada clase (Figura 6-3).

Todos los antibióticos (Figura 6-3a) se eliminaron por completo tras 5 minutos (momento de la recogida de la primera muestra), excepto la trimetoprima. Esto implica que el sistema PMS/UV-A (o incluso por el PMS de forma individual, Figura 6-2a) es capaz de degradarlos, pudiendo haberse transformado en subproductos o, incluso, mineralizado. Estos resultados difieren de los obtenidos por otros autores para la degradación de ciprofloxacina (Ao *et al.*, 2018) y tetraciclina (Ao *et al.*, 2019) en agua milli-Q[®] bajo radiación UV-C ($\text{pH} = 3,7$). En esos estudios, la degradación de los antibióticos fue insignificante cuando se utilizó solo el PMS, siendo también menor que en el presente estudio cuando se combinó el PMS y la radiación UV-C. Sin embargo, Ao *et al.* (2019) informaron de una mayor eliminación de tetraciclina en matrices reales recogidas de diferentes plantas de tratamiento de agua potable, lo que se atribuyó a otros constituyentes del agua en las matrices reales, ya sean inorgánicos u orgánicos, que pueden actuar como promotores o inhibidores de los radicales.

Como se ha mencionado previamente, algunos estudios sugieren que la presencia de carbonatos, nitratos o cloruros en el medio puede mejorar la eficacia del tratamiento (Ao *et al.*, 2018), mientras que la presencia de materia orgánica inhibe la degradación de los contaminantes (Q. Wang *et al.*, 2020). De hecho, en el capítulo 4 se comprobó cómo la presencia de Br^- y Cl^- supuso una mejora significativa en la inactivación bacteriana durante al aplicar PMS/UV-A, mientras que el efecto fue el contrario al incorporar NO_2^- y F^- en la matriz. Sin embargo, no hay acuerdo entre los autores, siendo los efectos de cada uno de estos componentes diferentes según el contaminante objetivo y la composición global de la matriz.

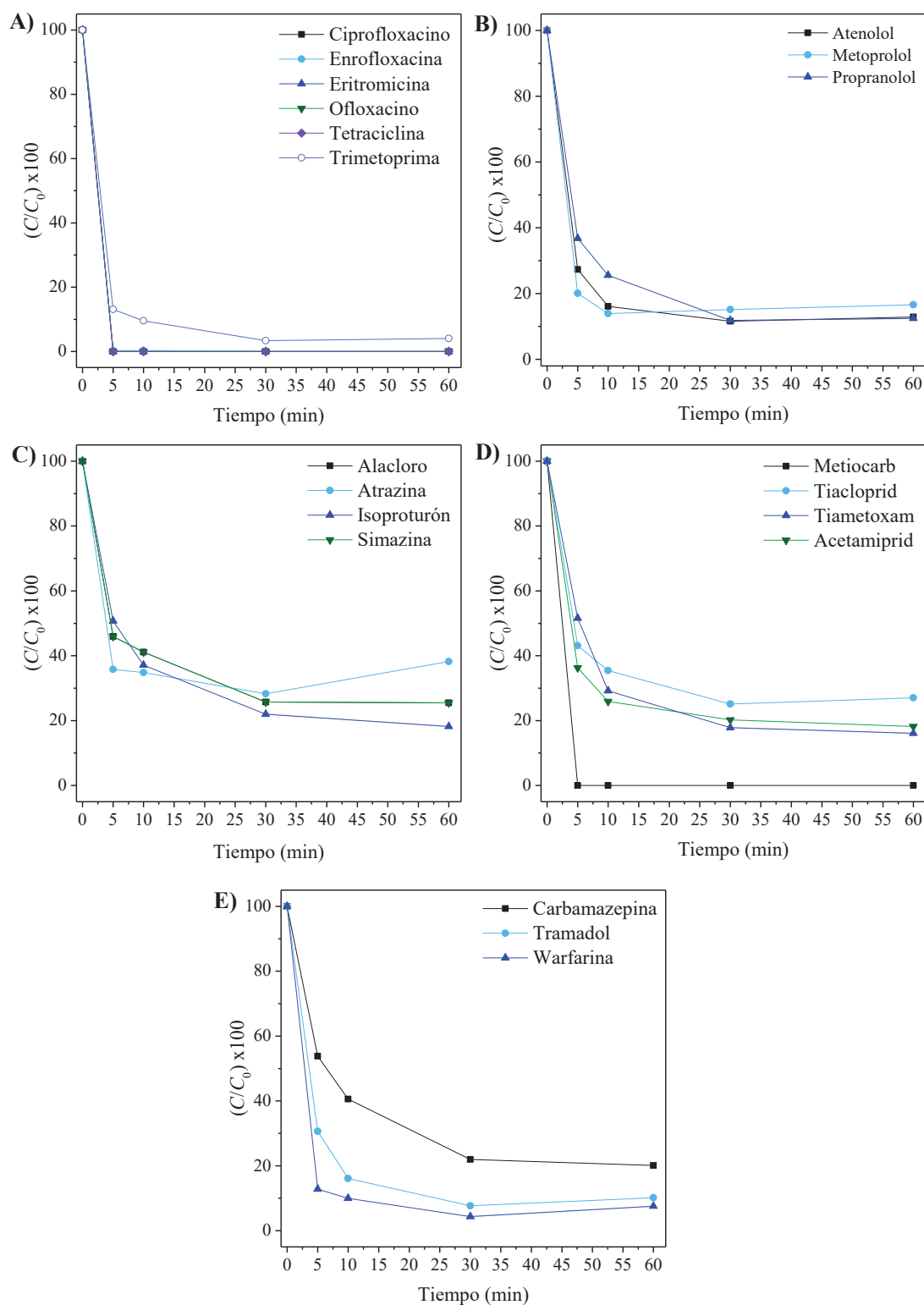


Figura 6-3. Eliminación de a) Antibióticos; b) Betabloqueantes; c) Otros productos farmacéuticos; d) Herbicidas; y e) Insecticidas. Condiciones experimentales: Matriz = AR; $[CPE]_0 = 100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; $[PMS] = 0,1 \text{ mM}$; radiación = UV-A (LED).

Al igual que los antibióticos, todos los betabloqueantes siguieron una cinética de degradación similar (Figura 6-3B), con una rápida eliminación en los primeros 5 minutos de reacción, tras la cual se produjo una eliminación residual hasta los 30 minutos de reacción, momento en el que se había eliminado el 86% de los compuestos. En lo que respecta a los otros tres productos farmacéuticos no incluidos en estas clases terapéuticas (Figura 6-3C), el 83% y el 90% del tramadol y la warfarina se degradaron después de 10 minutos de tratamiento, respectivamente. Por el contrario, más lenta fue la degradación de la carbamazepina, ya que solamente el 59,5% se eliminó en el mismo periodo de tiempo. En comparación con los productos farmacéuticos, los herbicidas (Figura 6-3D) y los insecticidas (Figura 6-3E) fueron más recalcitrantes. La excepción a esta norma ha sido el insecticida metiocarb que tuvo una cinética similar a la observada para los antibióticos, sufriendo una eliminación completa en apenas 5 minutos. Para el resto de los compuestos, la reducción más intensa se observó durante los primeros 5 minutos (48 – 64%) y la reacción pareció detenerse a los 30 minutos, con una eliminación del 71 – 82%, siendo la cantidad de pesticidas que quedó en el agua casi 2 veces superior a la de los betabloqueantes.

Durante el tratamiento óptimo, se realizó un seguimiento de la concentración de PMS disponible. Al hacerlo, se observó que la cinética que describe es similar a la observada en la degradación de los CPE objetivo, con un 32% de la concentración de PMS consumida durante los primeros 5 min de reacción, mientras que un 11% adicional se consumió transcurridos 30 min (Figura 6-4). Al final del tratamiento, se consumió el 50% de la PMS inicial, de los cuales solamente un se consumió 7% en la segunda mitad del proceso.

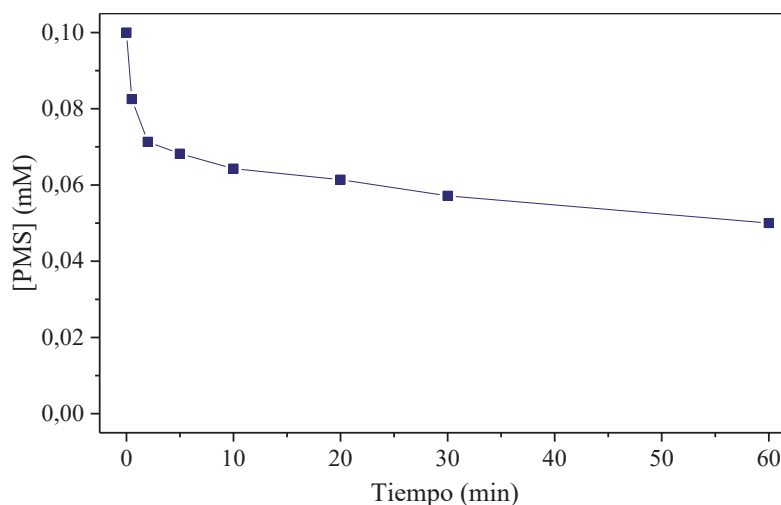


Figura 6-4. Consumo de PMS durante el tratamiento con PMS/UV-A. Condiciones experimentales: Matriz = AR; $[CPE]_0 = 100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; $[PMS] = 0,1 \text{ mM}$; radiación = UV-A (LED).

6.2. Importancia de los radicales en la degradación

Con el objetivo de comprender los procesos que pueden tener lugar durante los tratamientos, se realizó una amplia revisión bibliográfica para recopilar información sobre la reactividad de cada contaminante objetivo con los radicales sulfato e hidroxilo, al considerar que estas sean las especies reactivas más abundantes en los tratamientos (Tabla 6-2).

Dado que en el presente estudio se evaluó la degradación de un gran número de CPE, no todos igual de frecuentes en la bibliografía, fue imposible encontrar información sobre las constantes de reacción de varios de estos contaminantes. No obstante, la información recopilada fue suficiente para verificar que las variaciones en las constantes de velocidad de los compuestos de las distintas categorías son insignificantes. Esto podría indicar que los componentes de la matriz podrían estar desempeñando un papel importante en la degradación de, al menos una parte de los CPE objetivo, poniendo de manifiesto la necesidad de evaluar la eficiencia de los procesos de oxidación avanzada en condiciones lo más cercanas a la realidad. Otra explicación viable es la involucración de otras especies reactivas en el proceso de degradación (como el $\text{SO}_5^{\cdot-}$) o la existencia de mecanismos de degradación no radicales. Este fenómeno pudo comprobarse mediante el uso de secuestradores de radicales en el sistema PMS/UV-A pues, a pesar de ser el radical hidroxilo el principal responsable de la inactivación bacteriana, la reducción de al menos 1 unidad logarítmica no podía asociarse a ninguno de los radicales evaluados (apartado 4.1.4).

Tabla 6-2. Reactividad de los contaminantes objetivo respecto a SO_4^{2-} y $\text{HO}^\cdot$.

Contaminante	$k_{\text{SO}_4^{2-}}$	pH	Ref.	$k_{\text{HO}^\cdot}$	pH	Ref.
Ciprofloxacino	$8,4 \pm 0,7 \times 10^8$	7	(Wojnárovits y Takács, 2019)	$5,94 \pm 1,72 \times 10^9$	8	(Wols y Hofman-Caris, 2012)
Enrofloxacin	--	--	--	--	--	--
Eritromicina	--	--	--	$3,8 \pm 0,76 \times 10^9$	6	(Wols <i>et al.</i> , 2014)
Ofloxacino	--	--	--	$4,2 \pm 0,5 \times 10^9$	7	(Márquez <i>et al.</i> , 2013)
Tetraciclina	--	--	--	$7,7 \times 10^9$	7-8	(Wols y Hofman-Caris, 2012)
Trimetoprima	$7,71 \pm 0,29 \times 10^9$	6	(Wojnárovits y Takács, 2019)	$8 \pm 0,73 \times 10^9$	6	(Wols <i>et al.</i> , 2014)
Atenolol	$1,3 \times 10^{10}$	7	(Wojnárovits y Takács, 2019)	$7,1 \pm 0,75 \times 10^9$	6	(Wols <i>et al.</i> , 2014)
Metoprolol	$1,0 \pm 0,1 \times 10^{10}$	7	(Wojnárovits y Takács, 2019)	$8,1 \pm 0,98 \times 10^9$	6	(Wols <i>et al.</i> , 2014)
Propranolol	$4,79 \pm 0,49 \times 10^9$	7	(Wojnárovits y Takács, 2019)	$1,1 \pm 2,6 \times 10^{10}$	6	(Wols <i>et al.</i> , 2014)
Carbamazepina	$1,92 \times 10^9$	3	(Wojnárovits y Takács, 2019)	$9,1 \pm 1 \times 10^9$	6	(Wols <i>et al.</i> , 2014)
Tramadol	--	--	--	$5,59 \pm 0,03 \times 10^9$	3	(Monteil <i>et al.</i> , 2020)
Warfarina	--	--	--	--	--	--
Alacloro	--	--	--	$5,2 \pm 0,28 \times 10^9$	6	(Wols y Hofman-Caris, 2012)
Atrazina	$1,4 \times 10^9$	-	(Wojnárovits y Takács, 2019)	$2,4 \times 10^9$	6	(Wojnárovits y Takács, 2014)
Isoproturon	$2,9 \pm 0,2 \times 10^9$	7	(Wojnárovits y Takács, 2019)	$2,3 \pm 0,14 \times 10^9$	6	(Wols <i>et al.</i> , 2014)
Simazina	--	--	--	$7,6 \times 10^9$	--	(Wojnárovits y Takács, 2014)
Acetamiprid	$1,1 \pm 0,6 \times 10^9$	3	(Wojnárovits y Takács, 2019)	$2,6 \times 10^9$	--	(Wojnárovits y Takács, 2014)
Metiocarb	--	--	--	$2,1 \times 10^9$	Neutral	(Cruz-Alcalde <i>et al.</i> , 2017b)
Tiacloprid	$3 \pm 1 \times 10^9$	3	(Wojnárovits y Takács, 2019)	$8,2 \times 10^9$	Neutral	(Cruz-Alcalde <i>et al.</i> , 2017a)
Tiametoxam	--	--	--	--	--	--
				$3,9 \times 10^9$	7	(Huijiao Wang <i>et al.</i> , 2020)

Por tanto, para determinar el nivel de actividad de los radicales en las condiciones evaluadas en esta etapa del estudio, podrían realizarse de nuevo ensayos con *scavengers*, como TBA y MeOH empleados en experiencias previas. Sin embargo, en este caso se consideró adecuado aprovechar la presencia de EtOH en la disolución madre de contaminantes, ya que este compuesto es también un conocido *scavenger* de radicales hidroxilo y sulfato, reaccionando con ellos con unas cinéticas de reacción de $k = 1,9 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ y $k = 1,6 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, respectivamente (Buxton *et al.*, 1988; Neta *et al.*, 1988).

Para ello, se realizó un ensayo sin evaporar previamente el EtOH utilizado como disolvente. De esta forma, se añadió al tratamiento 1 mL de EtOH (17 mM), con lo que se consiguió una dosis de *scavenger* más de 100 veces superior a la de PMS. La Figura 6-5 muestra una marcada reducción en la eliminación de la mayoría de los CPE en presencia del alcohol, siendo los resultados de degradación comparables a los obtenidos con la oxidación de PMS no activada. Esta observación confirma la generación de radicales durante la activación fotoquímica del PMS. Aunque en el capítulo 4 se ha indicado que, en el sistema PMS/UV-A, el $\text{HO}^\bullet$ era el principal responsable de la inactivación bacteriana, no es posible afirmar que se esté produciendo aquí el mismo fenómeno ya que las matrices acuosas evaluadas son diferentes y su composición, tal y como se ha explicado, puede tener un papel fundamental en el tipo y la cantidad de radicales generados. Por lo tanto, serían necesarios más experimentos para determinar cuál de estas dos especies de radicales es responsable de la degradación de los contaminantes, pero este tema queda fuera del objetivo de este estudio.

Aunque la reducción de la eficacia del tratamiento tiene lugar para la mayoría de los contaminantes, no es evidente en el caso de los antibióticos y el metiocarb. Además, incluso para aquellos compuestos para los que sí se observa una menor eliminación, aún se produce, generalmente, cierta degradación. Esto confirma la hipótesis planteada previamente acerca de la implicación de la oxidación directa en el proceso, resultados que están de acuerdo con algunos informes publicados sobre la ocurrencia simultánea de vías de degradación radicales y no radicales en la oxidación por PMS activada de CPE orgánicos (Chenxu Li *et al.*, 2019; W. Li *et al.*, 2019; H. Xu *et al.*, 2020).

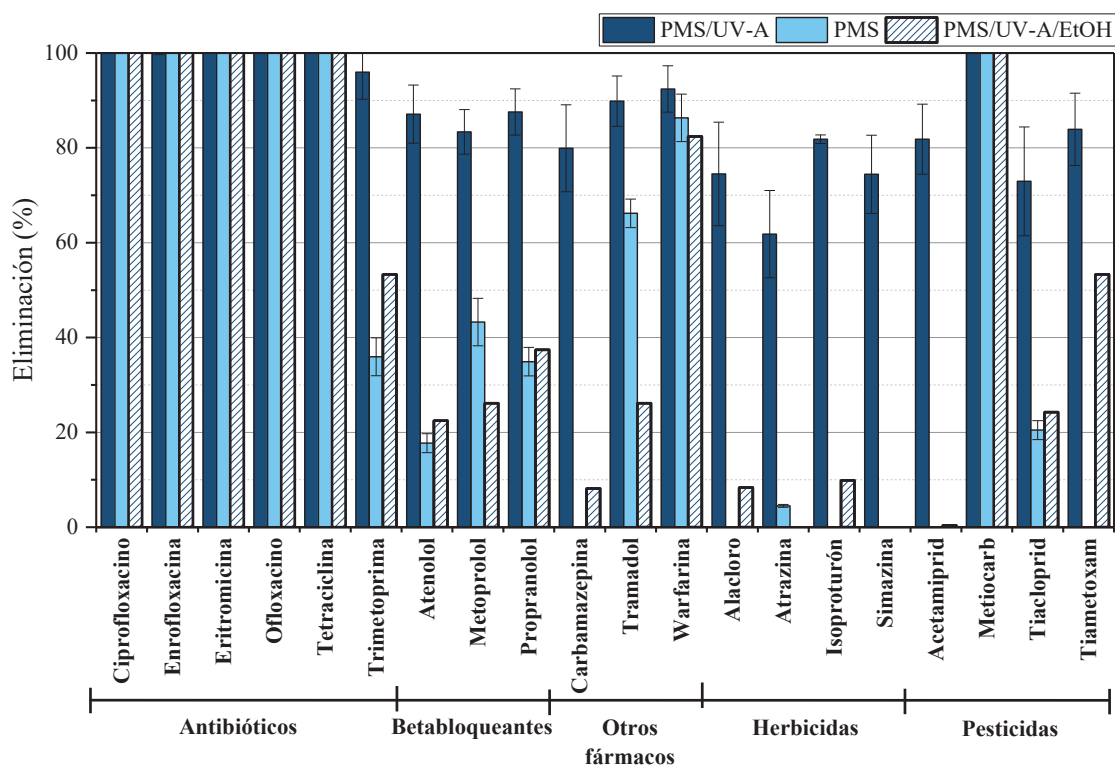


Figura 6-5. Eliminación (%) de CPE por PMS/UV-A, PMS y PMS/UV-A en presencia de etanol residual (0,1%): efecto de la presencia de etanol (EtOH). Condiciones experimentales: Matriz = AR; $[CPE]_0 = 100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; $[PMS] = 0,1 \text{ mM}$; $[\text{EtOH}] = 1 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$; radiación = UV-A (LED).

6.3. Experimentos en condiciones reales de concentración

Se ha evaluado la eficacia del tratamiento para eliminar los CPE presentes originalmente en el agua residual empleando la dosis óptima de PMS (0,1 mM); es decir, sin la adición de $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de los contaminantes objetivo.

Para ello, se analizó una muestra de agua residual previamente concentrada mediante el procedimiento de SPE descrito en el apartado 3.7.1, para conocer cuáles de los contaminantes objetivo se encontraban en el efluente recogido, así como su concentración. Se detectaron 12 de los 20 contaminantes evaluados en este estudio en las aguas residuales reales. Resultó llamativo comprobar que estos compuestos fueron, precisamente, los más recalcitrantes al tratamiento propuesto (Figura 6-2). El isoproturón y la carbamazepina fueron, entre los contaminantes detectados, los que se encontraban presentes en las concentraciones más altas, con $1,356$ y $2,080 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ respectivamente. Esto significa que, en el agua real, los CPE se encontraron en concentraciones, como máximo, cien veces menores que en los ensayos realizados en aguas contaminadas artificialmente.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en los experimentos previos, se seleccionó un tiempo de tratamiento de 30 minutos para los tratamientos con aguas residuales no alteradas (Tabla 6-3), ya que más allá de este tiempo no se esperaba una degradación importante. Entre los CPE detectados, 5 no se degradaron (carbamazepina, warfarina, simazina, tiametoxan y trimetoprima), siendo la warfarina y la simazina los CPE presentes en menor concentración (9,32 y 6,16 ng·L⁻¹ respectivamente). Los restantes se eliminaron en mayor o menor medida, variando entre el 10,7% (acetamiprid) y el 94,4% (ofloxacina) y siendo la degradación promedio de eliminación de todos los CPE del 28,9%.

Tabla 6-3. Concentraciones iniciales de los CPE detectados en la muestra de aguas residuales no alteradas y su eliminación mediante el sistema PMS-UV-A. t = 30 min; [PMS] = 0,1 mM.

Contaminante	Concentración inicial (ng·L ⁻¹)	Concentración final (ng·L ⁻¹)	Eliminación (%)
Trimetoprima	n.d.	-	-
Atenolol	n.d.	-	-
Metoprolol	n.d.	-	-
Propranolol	286	16	94,4
Carbamazepina	n.d.	-	-
Tramadol	717	717	0
Warfarina	n.d.	-	-
Alacloro	174	143	16,1
Atrazina	121	92,3	23,8
Isoproturón	2,080	2,080	0
Simazina	n.d.	-	-
Acetamiprid	9,32	9,32	0
Tiacloprid	25,7	21,7	15,6
Tiametoxam	39,2	29,87	23,8
Trimetoprima	1356	1114	17,8
Atenolol	6,16	6,16	0
Metoprolol	27,2	24,3	10,7
Propranolol	n.d.	-	-
Carbamazepina	n.d.	-	-
Tramadol	282	282	0

n.d.= no detectado

Por el momento, se han publicado muy pocos artículos de investigación sobre la aplicación de este tratamiento a la degradación de un número tan elevado de compuestos al mismo tiempo. Rodríguez-Chueca *et al.* (2018) estudiaron la degradación de 25 compuestos de

diferentes clases en aguas residuales reales, consiguiendo una eliminación media del 48%, que es superior a la observada en el presente estudio (28,9%). Este mayor rendimiento puede explicarse por el uso de la radiación UV-C en dicha investigación. El PMS tiene una mayor capacidad de absorción en dicha región del espectro (Verma et al., 2016), lo cual conlleva una mejor fotólisis del PMS respecto a la que se puede conseguir al usar la radiación UV-A aquí reportada. Además, también se describió el uso de una mayor concentración de PMS (0,5 mM frente a 0,1 mM, en el presente estudio).

6.4. Análisis de fitotoxicidad

La adición de PMS a las aguas residuales para la degradación de los CPE conlleva un aumento de los sulfatos en el efluente. Ni la normativa europea sobre requisitos mínimos para la reutilización del agua (Reglamento 2020/741) ni el RD por el que se establece el régimen legal para la reutilización de aguas residuales en España (Real Decreto 1620/2007) establecen un contenido máximo de sulfatos para la reutilización del agua regenerada. Sin embargo, tal y como se recoge en el apartado 6.1, se realizaron ensayos de fitotoxicidad para evaluar el posible aumento de la toxicidad tras el tratamiento, debido a la presencia de PMS y/o a la formación de subproductos tóxicos resultantes de la degradación de los contaminantes objetivo. Mediante dichos ensayos se evaluó la germinación y crecimiento de 10 semillas de tres especies diferentes, tal y como se explica con detalle en el apartado 3.9. Como se muestra en la Tabla 6-4, casi todas las semillas germinaron tanto en las aguas residuales tratadas como en las no tratadas. Aun así, es posible apreciar como la germinación de las semillas de *Lepidium sativum* se vio beneficiada por el agua tratada.

Tabla 6-4. Número de semillas germinadas de cada especie en la prueba de fitotoxicidad.

Especie	Número de semillas germinadas	
	AR sin tratar	AR tratada
<i>Sorghum saccharatum</i>	10	9
<i>Sinapis Alba</i>	10	10
<i>Lepidium sativum</i>	8	10

Además, la Figura 6-6 muestra cómo, en todos los casos, los brotes crecieron más cuando se expusieron a aguas residuales tratadas respecto a las aguas residuales brutas, siendo las raíces y los brotes un 18% y un 27% más largos de media, respectivamente. La principal diferencia

se observó, de nuevo, en el caso de *Lepidium sativum*, donde las raíces y los brotes crecieron un 22% y un 31% más de media, respectivamente.

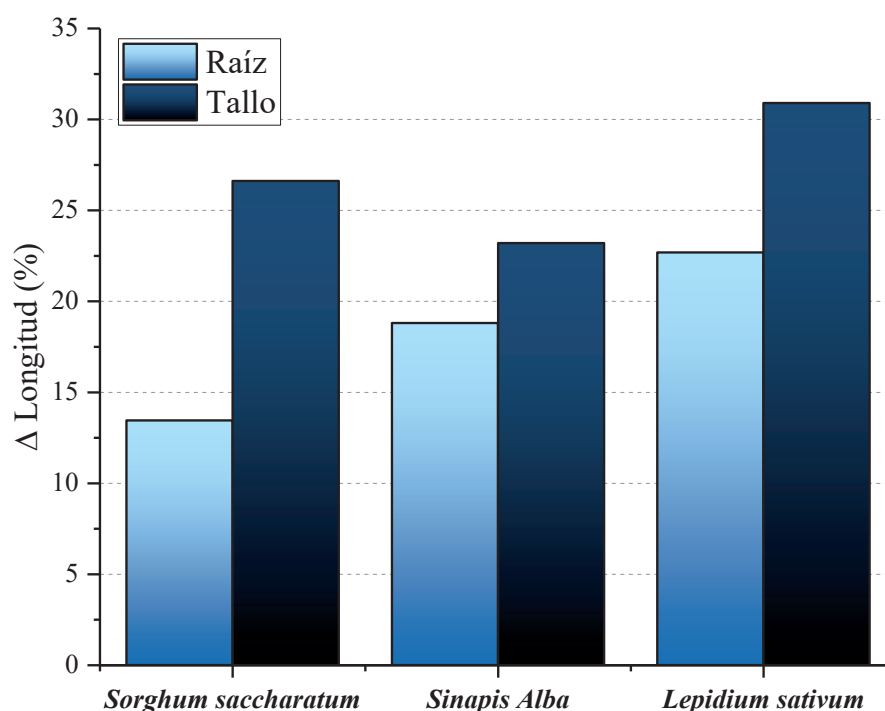


Figura 6-6. Aumento de la longitud (%) de las raíces y los tallos de tres especies (*Sorghum saccharatum*, *Sinapis alba* y *Lepidium sativum*) alimentadas con aguas residuales tratadas con PMS/UV-A, en comparación con las aguas residuales no tratadas.

Existe cierta dificultad a la hora de comparar estos resultados con los obtenidos por otros autores, ya que las pruebas de fitotoxicidad son escasas cuando se evalúa este tipo de tratamientos y hay muchas especies diferentes que pueden utilizarse para este fin. Sin embargo, algunas investigaciones han encontrado que los tratamientos basados en radicales sulfato pueden reducir la fitotoxicidad (Ghanbari *et al.*, 2020; Jaafarzadeh *et al.*, 2017), lo que se confirma con los resultados aquí presentados. Esta es una ventaja de este tratamiento sobre otros, que no pueden reducir la toxicidad. Por ejemplo, con ensayos similares, se ha informado que los tratamientos que utilizan ozono para eliminar contaminantes tienden a aumentar la fitotoxicidad del agua, posiblemente debido a la naturaleza nociva de los subproductos de oxidación generados (Iakovides *et al.*, 2019).

En este trabajo, por tanto, se ha demostrado que el tratamiento propuesto no aumenta la toxicidad de los efluentes, sino que reduce los niveles preexistentes. Además, considerando la dosis de PMS utilizada en este tratamiento (0,1 mM) y asumiendo que todo el azufre

contenido en el peroximonosulfato se transforma en sulfato, se añadiría a las aguas residuales una cantidad total de $19,2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de sulfato. Comparando este valor con el máximo de $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de sulfato establecido en la Directiva del Consejo relativa a la calidad del agua destinada al consumo humano (Directiva (UE) 2020/2184), se puede afirmar que el tratamiento propuesto es seguro y respetuoso con el medio ambiente.

6.5. Análisis económico

Aunque se ha demostrado en el apartado anterior que este tratamiento es eficaz para reducir la toxicidad del agua, es necesario, saber, también, si es económicamente viable. Esto se puede estimar a través de diferentes maneras. Para abordar esta cuestión, Bolton *et al.* (2001) desarrollaron un procedimiento para la comparación de los procesos de oxidación avanzada, que se basa en la consideración de que el consumo de energía eléctrica a menudo representa una fracción importante de los costes de funcionamiento de los AOP (Miklos *et al.*, 2018). Para bajas concentraciones de contaminantes (típicamente $< 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), la cinética de eliminación de los contaminantes orgánicos mediante AOP puede describirse mediante cinéticas de *pseudo* primer orden, tal y como se ha hecho en este trabajo. A partir de esta suposición, la dosis de oxidante o de energía se escala con el volumen tratado y los objetivos del tratamiento para obtener un valor de EEO (energía eléctrica por orden):

"La energía eléctrica por orden es la energía eléctrica en kWh necesaria para degradar un contaminante C en un orden de magnitud (1 log o 90% de degradación) en 1 m³ de agua contaminada" (Bolton et al., 2001).

Teniendo todo esto en cuenta, el valor de EEO se calcula tal y como se muestra en la ecuación 6.6 (Ferreira, Fernandes, *et al.*, 2020):

$$E_{EO} = \frac{P \cdot t}{V \cdot \log\left(\frac{C_i}{C_f}\right)} \quad (6.6)$$

En la ecuación 5.6, el término P refleja la suma de las diferentes entradas de potencia necesarias (para activar lámparas LEDs, bombas, ventiladores, etc.), t la duración del experimento, V es el volumen tratado (m^3) y C_i y C_f hacen referencia a la concentración de contaminante antes y después del tratamiento, respectivamente. Con el objetivo de realizar una comparación lo más realista posible, se ha seleccionado para todos los tratamientos un tiempo de 30 minutos.

La EEO podría calcularse para cada CPE individualmente. Sin embargo, como el objetivo de este estudio es evaluar la eliminación de una mezcla de contaminantes, se ha considerado el porcentaje medio de eliminación. Tomando en consideración la eliminación media (80%) en los experimentos de optimización, la EEO se ha estimado en $28,6 \text{ kWh}\cdot\text{m}^{-3}$. Este valor aumenta a $135 \text{ kWh}\cdot\text{m}^{-3}$ si se considera la eliminación media en los experimentos en agua real (29%). Debido a la gran cantidad de energía consumida para la generación de radiación, el EEO calculado es ligeramente superior al reportado por otros autores para SR-AOP en configuración *batch*, pero que no involucran la radiación para la activación de PMS (Y. Luo *et al.*, 2014). Además, Sbardella *et al.* (2020) estimaron la EEO para el tratamiento continuo de aguas residuales utilizando PMS/UV-A, obteniendo un valor de $0,8 \text{ kWh}\cdot\text{m}^{-3}$. Esta gran diferencia en la EEO puede explicarse por el tiempo de contacto con la radiación, que fue de 46 s en los experimentos realizados por Sbardella *et al.* (2020), mucho menos que los 30 min utilizados en el presente estudio. Una vez calculada la EEO, es posible determinar el coste total orden $[\text{€}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{orden}^{-1}]$. Para realizar esta aproximación, se ha considerado un coste promedio de la electricidad en España en el año 2020 ($0,04038 \text{ euros}\cdot\text{kWh}^{-1}$) (REE, 2021). Además, también se puede estimar el coste del PMS por orden, del mismo modo que se hizo para la energía eléctrica (ec. 6.7).

$$\text{PMS}_0 = \frac{[\text{PMS}]}{\log\left(\frac{C_i}{C_f}\right)} \quad (6.7)$$

Para ello, se ha considerado que el precio del PMS es de $1,11 \text{ €}\cdot\text{mol}^{-1}$ (Wacławek *et al.*, 2017). En la Tabla 6-5 se observa que el coste estimado para el tratamiento propuesto es de $1,31 \text{ €}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{orden}^{-1}$ (para $C_i = 100\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). Este valor es inferior al obtenido por Rodríguez-Chueca *et al.* (2018) al combinar PMS y radiación UV-C, debido, principalmente, a una mayor efectividad del tratamiento. Por otro lado, si se considera el resultado obtenido en el experimento en condiciones reales de concentración de CPE, el coste del tratamiento se eleva a $6,19 \text{ €}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{orden}^{-1}$, debido a que la eliminación fue considerablemente menor en este ensayo. Sin embargo, la comparación de estos dos tratamientos no es totalmente fiable, ya que el estudio realizado por Rodríguez-Chueca *et al.* (2018) se centró en la aplicación de un tratamiento a escala real, mientras que este trabajo presenta un reactor a escala de laboratorio. El hecho de que el presente estudio se haya realizado en *batch* implica que existe un margen importante para la reducción de los costes implicados. Si se pudiera reducir el tiempo de contacto, el coste disminuiría inmediatamente.

Tabla 6-5. Análisis económico del tratamiento propuesto (Tiempo de contacto = 30 min; [PMS] = 0,1 mM).

		Optimización	Agua real
Eliminación	(%)	80	28,9
E_{EO}	(kWh·m⁻³·order⁻¹)	28,6	135
E_{EO}	(€·m⁻³·order⁻¹)	1,15	5,45
PMS_O	(€·m⁻³·order⁻¹)	0,16	0,74
Coste total	(€·m⁻³·order⁻¹)	1,31	6,19

CAPÍTULO 7:
EVALUACIÓN DE PROCESOS DE
OXIDACIÓN AVANZADA A ESCALA
PILOTO

EVALUACIÓN DE PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA A ESCALA PILOTO

En los capítulos 4 y 6 se ha mostrado como la combinación de radiación UV-A y PMS genera sinergias capaces de inactivar microorganismos y degradar, en mayor o menor medida, contaminantes de preocupación emergente. Sin embargo, hasta este punto, los tratamientos han sido evaluado únicamente a escala laboratorio.

Aunque una investigación a pequeña escala puede resultar de gran utilidad para el estudio de mecanismos de activación y degradación, es necesario realizar el escalado de los tratamientos para poder ponderar la viabilidad de la transferencia tecnológica a escala real.

Por ello, en este capítulo se recogen los resultados de los diferentes ensayos realizados con agua residual, tanto simulada como real, para la inactivación de *Enterococcus faecalis* a escala piloto. Todos los tratamientos aplicados tienen en común el uso de PMS como oxidante, pero se han propuesto varios métodos de activación, como son la radiación UV-A y su combinación con peróxido de hidrógeno u ozono.

7.1. Optimización de tratamientos en agua residual simulada

7.1.1. Activación fotoquímica del PMS

El PMS, a determinadas concentraciones, tiene capacidad para inactivar microorganismos incluso en condiciones de oscuridad, tal y como pudo comprobarse en el capítulo 4. De hecho, en dicho capítulo se observó una desinfección total al utilizar una dosis de 0,5 mM de reactivo. Sin embargo, no debe perderse de vista que esos ensayos se realizaron en agua destilada, por lo que las conclusiones obtenidas no pueden ser extrapoladas directamente a este nuevo escenario, dado que el potencial biocida de un oxidante puede estar determinado por muchos factores, entre los que se encuentra composición de la matriz sobre la que se aplican los tratamientos.

Por tanto, para seleccionar la concentración de PMS de trabajo en estas nuevas condiciones, se evaluaron diferentes concentraciones de oxidante en oscuridad en la planta piloto y usando agua residual simulada, obteniendo los resultados mostrados en la Figura 7-1. Para las concentraciones más bajas evaluadas (0,1 y 0,25 mM) no se ha observado ningún efecto significativo sobre la población bacteriana. Cierta poder desinfectante empieza a apreciarse al incrementar la dosis de reactivo hasta 0,5 mM, consiguiéndose una tasa de inactivación

de casi 4 unidades logarítmicas tras dos horas de tratamiento cuando la concentración evaluada fue 1,5 mM.

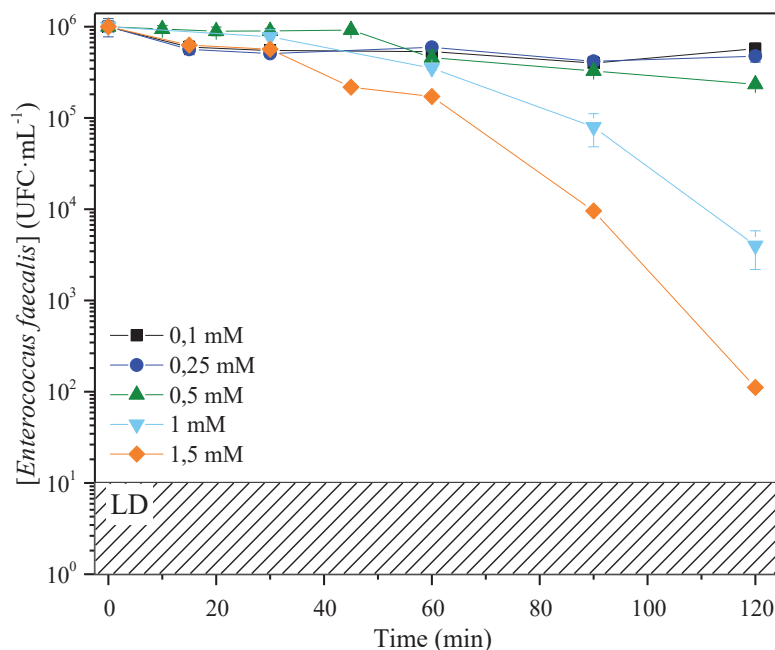


Figura 7-1. Influencia de la concentración de PMS en la inactivación de *E. faecalis* a escala piloto. Condiciones experimentales: Matriz = ARS; pH $\approx$ 7. LD: Límite de detección.

Tras realizar una revisión bibliográfica, se confirmó que las concentraciones de PMS utilizada en tratamientos similares al que aquí se propone es muy dispar, obteniéndose buenos resultados de desinfección o eliminación de contaminantes para concentraciones que varían desde unos pocos $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (Cui *et al.*, 2016; Y. Qi *et al.*, 2019) hasta dosis tan altas como 32 mM (F. Jiang *et al.*, 2018). Sin embargo, las dosis de reactivo utilizadas con mayor frecuencia se encuentran en un rango de entre 0,5 y 2 mM (Berruti, Nahim-Granados, *et al.*, 2021; Rodríguez-Chueca, della Giustina, *et al.*, 2019; Y. Xu *et al.*, 2017), por lo que se decidió descartar las dos concentraciones más pequeñas.

Una vez determinadas las dosis de PMS de trabajo, el primer método de activación que se estudió a escala piloto fue la activación fotoquímica. La combinación de PMS/UV-A ha sido el sistema principal utilizado a escala laboratorio y sus resultados están recogidos en capítulos anteriores. A pesar de que el espectro de absorción UV del PMS demuestra que este compuesto no presenta una absorbancia significativa en la región UV-A, se ha demostrado que la combinación de estos dos elementos es eficaz para el tratamiento de aguas residuales. En esta etapa de la investigación, dicha radiación fue generada mediante lámparas

LED de intensidad regulable. Por ello, antes de evaluar la activación de PMS, se quiso comprobar el efecto de la radiación sobre la población de *Enterococcus faecalis* inoculada en la matriz, valorando diferentes intensidades comprendidas entre la más baja ($60 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$) y la más alta ($1.900 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$) permitida por el equipo. En la Figura 7-2 se han recogido los resultados obtenidos, y en ella se puede apreciar cómo ninguna de las intensidades evaluadas tuvo un efecto desinfectante significativo sobre la población, observándose una disminución de la concentración de microorganismos de 0,5 unidades logarítmicas tras dos horas de tratamiento al emplear la intensidad máxima. Este resultado es coherente con los recogidos en la literatura, ya que otros autores han concluido en estudios previos que a longitudes de onda en el espectro UV-A no son eficaces en la inactivación de otros microorganismos como *E. coli*, *S. aureus* o *B. mycoides* (Rodríguez-Chueca, Moreira, *et al.*, 2017; Rodríguez-Chueca, Silva, *et al.*, 2017; Venieri *et al.*, 2020).

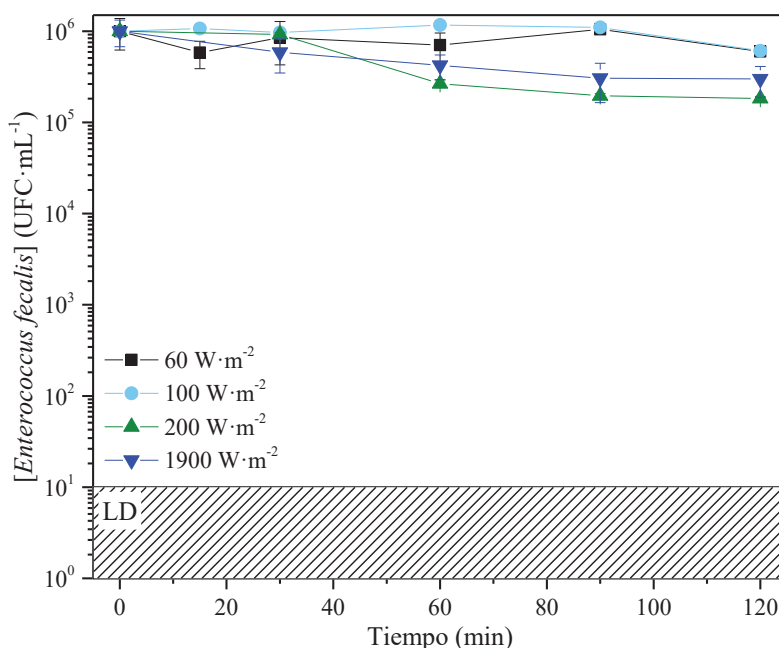


Figura 7-2. Influencia de la intensidad de la radiación UV-A en la inactivación de *E. faecalis* a escala piloto. Condiciones experimentales: Matriz = ARS; pH $\approx$ 7. LD: Límite de detección.

En vista de los resultados, y siendo conocida la baja absorbancia del PMS en la región UV-A, se seleccionó como intensidad de trabajo la máxima permitida por el equipo. Para conocer el flujo de radiación incidente a dicha intensidad, se realizó un ensayo de actinometría de ferrioxalato, siguiendo el procedimiento descrito en la sección 3.10.4. Este ensayo reveló un flujo radiante de $0,0897 \text{ mE}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, como se puede extraer de la pendiente de la recta representada en la Figura 7-3. Este valor es un 30% inferior al observado para el reactor

tubular utilizado en los ensayos de desinfección reportados en el capítulo 4, por lo que cabría esperar que las sinergias generadas en esta ocasión fueran menos significativas. Esta diferencia es debida, entre otras cosas a la reducción del tiempo de contacto del fluido con la radiación.

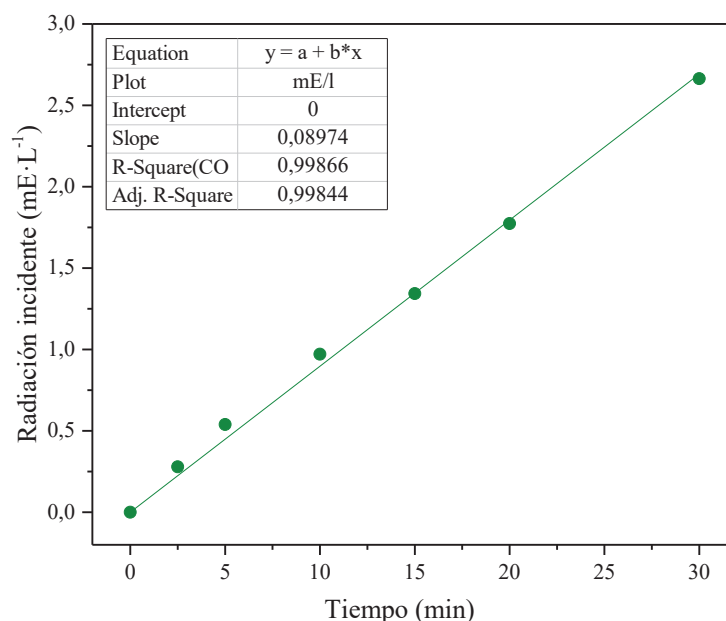


Figura 7-3. Flujo de radiación incidente (energía frente al tiempo) durante los tratamientos a escala piloto. Condiciones experimentales: Matriz = ARS; Intensidad de radiación = $1.900 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$.

Los resultados derivados de la combinación de PMS con la radiación ultravioleta se muestran en la Figura 7-4. Como se puede observar, el sistema PMS/UV-A no generó sinergias evidentes para las concentraciones 1 mM y 0,5 mM. Sin embargo, el resultado fue diferente al incrementar la dosis hasta 1,5 mM, ya que su combinación con UV-A dio lugar a un tratamiento capaz de, en 90 minutos, reducir la población bacteriana hasta alcanzar el límite de detección.

Este resultado es ligeramente mejor al obtenido por Venieri *et al.* (2020) en la eliminación de *E. coli* y *E. fecalis*, si bien en dicho trabajo no se empleó PMS como oxidante sino persulfato. Una concentración 1,1 mM de este compuesto, combinado con radiación UV-A, permitió la inactivación de $10^6 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ de ambas especies en 180 minutos. Tras dos horas de tratamiento, la población bacteriana se había reducido alrededor de 1 log, frente a las casi 3 log eliminadas en este trabajo en el mismo tiempo al utilizar una concentración 1 mM de PMS. Esto es debido, sin embargo, al menor poder desinfectante del PS frente al que se ha demostrado para el PMS.

Si se comparan estos tratamientos con los evaluados en el capítulo 4, la primera conclusión que se puede extraer es que la dosis de PMS necesaria para obtener resultados similares ha sido muy superiores en el tratamiento a escala piloto. Como se adelantaba unas líneas más arriba, debe tenerse en cuenta que, a escala laboratorio, los tratamientos fueron optimizados en agua destilada, facilitando la activación del oxidante. Además, al evaluar el sistema en una matriz sencilla, los radicales potencialmente generados no se enfrentan a otros contaminantes o compuestos orgánicos que degradar, sino que su acción se centra en la inactivación de las bacterias. En ese mismo capítulo puedo verse como al evaluar los tratamientos sobre ARS (apartado 4.1.2), la dosis de reactivo optimizada no fue suficiente para obtener una desinfección relevante.

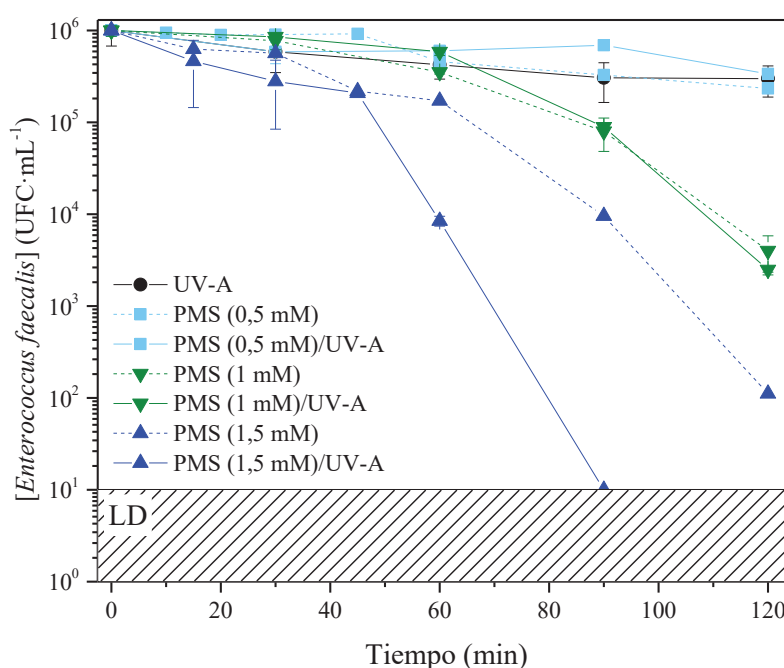


Figura 7-4. Influencia de la concentración de PMS en la inactivación de *E. faecalis* mediante el sistema PMS/UV-A aplicado a escala piloto. Condiciones experimentales: Matriz = ARS; pH $\approx$ 7; Intensidad de radiación = 1.900 W·m⁻². LD: Límite de detección.

7.1.2. Evaluación del sistema PMS/H₂O₂/UV-A

Aunque mediante el sistema PMS/UV-A se ha logrado la inactivación los microorganismos hasta alcanzar el límite de detección en 90 minutos, este tratamiento aún podría considerarse excesivamente largo al compararse con otros que alcanzan la desinfección en cuestión de minutos (Rodríguez-Chueca, García-Cañibano, Lepistö, *et al.*, 2019). Con el objetivo de reducir la duración del tratamiento, se ha propuesto la adición de H₂O₂ para evaluar si la

interacción entre ambos oxidantes puede incrementar la velocidad de la desinfección. Aunque la combinación de ambos compuestos no está muy extendida, una investigación realizada por Amanollahi *et al.* (2021) demuestra que este sistema promueve sinergias para la eliminación de amoníaco, permitiendo también la inactivación de bacterias presentes en la muestra tratada. Partiendo de esta base, y tomando como referencia la concentración de PMS optimizada en la sección anterior, se seleccionó una concentración de 1,5 mM de peróxido de hidrógeno de forma que se evaluó una relación molar 1:1 entre ambos reactivos.

En la Figura 7-5 se observa cómo, a la concentración de trabajo seleccionada, el peróxido de hidrógeno no muestra efecto desinfectante ni en oscuridad ni bajo radiación ultravioleta. Al combinar los dos oxidantes en oscuridad, sin embargo, se produce un efecto sinérgico que permite la inactivación de 5 log de *E. faecalis* (alcanzando el límite de detección), frente a las 4 unidades logarítmicas de reducción que proporcionaba el PMS.

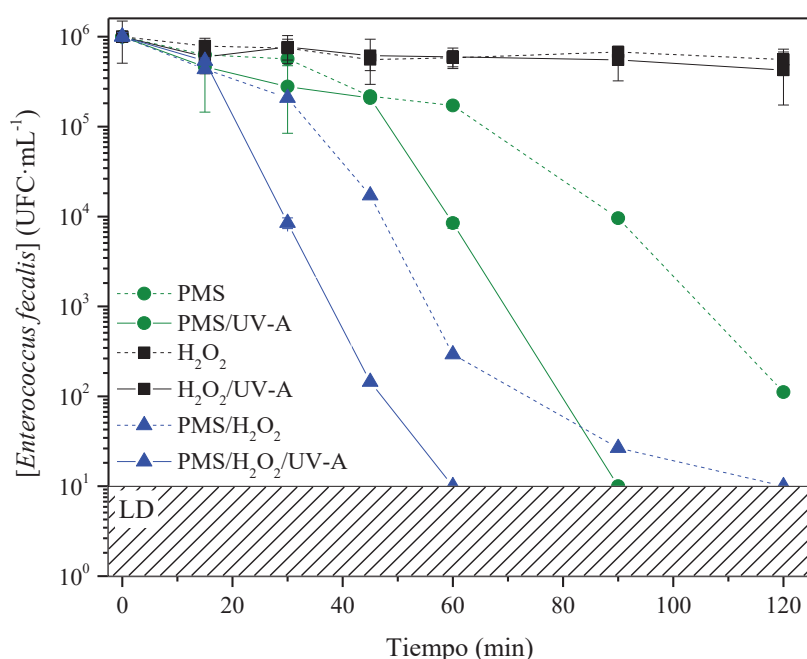


Figura 7-5. Inactivación de *E. faecalis* mediante la combinación de PMS, H₂O₂ y radiación UV-A a escala piloto. Condiciones experimentales: [PMS] = [H₂O₂] = 1,5 mM; Matriz = ARS; pH $\approx$ 7; Intensidad de radiación = 1.900 W·m⁻². LD: Límite de detección.

La eficacia del tratamiento vuelve a aumentar al llevarlo a cabo bajo radiación UV-A, reduciendo el tiempo necesario para alcanzar el límite de detección de 120 a 60 minutos siendo, por tanto, el tratamiento más eficaz hasta este momento.

A la vista de los buenos resultados obtenidos al evaluar el sistema PMS/H₂O₂/UV-A, se estudió la posibilidad de disminuir la concentración de PMS empleada. Tal y como se vio en el apartado anterior, una dosis de 0,5 mM de PMS no tiene un efecto significativo sobre la población microbiológica. En cambio, en la Figura 7-6 se puede comprobar como su combinación con peróxido de hidrógeno y radiación UV-A consigue inactivar las bacterias hasta alcanzar el límite de detección tras dos horas. Dado que ninguno de los tres elementos tiene un poder desinfectante relevante de forma individual, es posible afirmar que esta combinación en la que proporciona uno efecto sinérgico más fuerte.

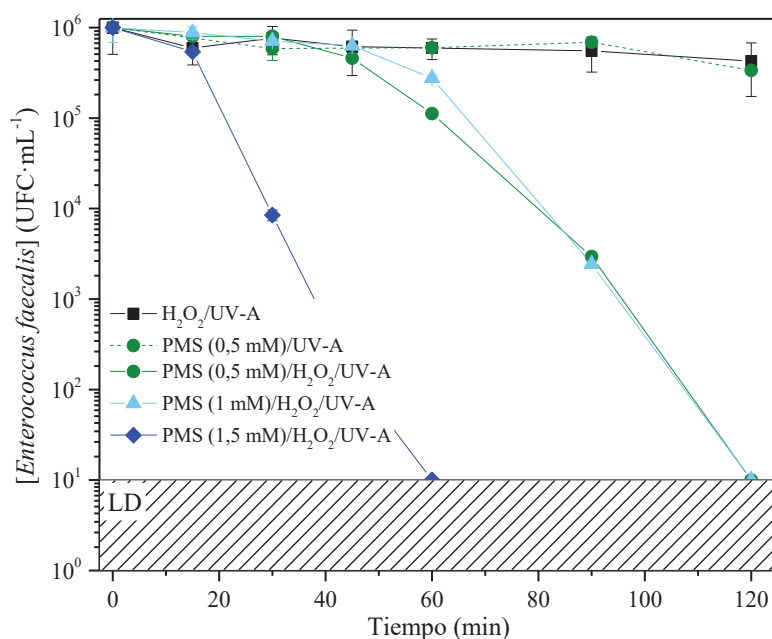


Figura 7-6 Influencia de la concentración de PMS en la inactivación de *E. faecalis* mediante el sistema PMS/H₂O₂/UV-A aplicado a escala piloto. Condiciones experimentales: [H₂O₂] = 1,5 mM; pH ≈ 7; Matriz = ARS; λ = 365 nm; Intensidad de radiación = 1.900 W·m⁻². LD: Límite de detección.

A pesar de que en estas condiciones se consigue la total inactivación de *E. faecalis*, no puede pasarse por alto que el tiempo necesario para completar el tratamiento se ve incrementado significativamente. Aun así, la reducción a un tercio de la concentración de PMS podría justificar este aumento de la duración del proceso y, por tanto, del gasto energético asociado. Es por esto por lo que se ha seleccionado también este sistema para realizar análisis en mayor profundidad, que concluirá con la realización de un análisis de ciclo de vida ambiental para conocer los impactos ambientales asociados a los tratamientos.

Por tanto, tras finalizar esta segunda etapa de la optimización, de entre todos los tratamientos evaluados se seleccionaron tres como viables al ser capaces de inactivar *E. faecalis* hasta el límite de detección en menos de dos horas: PMS/UV-A con una concentración de oxidante de 1,5 mM, PMS/H₂O₂/UV-A con concentraciones de ambos reactivos de 1,5 mM y, por último, PMS/H₂O₂/UV-A utilizando una concentración de PMS de 0,5 mM y el triple de H₂O₂.

7.1.3. Evaluación del sistema PMS/O₃

Como se adelantaba en la introducción, la ozonización es una de las técnicas de desinfección más utilizadas, debido al alto poder de oxidación de este reactivo. Además, la combinación del O₃ con H₂O₂ para potenciar el efecto desinfectante individual de las dos especies es un proceso ampliamente conocido y denominado peroxona. Sin embargo, existen algunos estudios que parecen indicar que no solo el peróxido de hidrógeno puede combinarse con el ozono, sino que su uso junto al PMS, incluso a pequeñas dosis, puede dar también muy buenos resultados para el tratamiento de aguas residuales. Esto ha podido verse, no solo para la inactivación de microorganismos (Moreno-Andrés *et al.*, 2020), sino también para la eliminación de diversos contaminantes emergentes como la atrazina (Deniere *et al.*, 2018, 2022), atenolol (Xiaoping Yu *et al.*, 2021) o metronidazol (Deniere *et al.*, 2018), entre otros. Sin embargo, los ensayos recogidos en estos estudios han sido realizados, en su mayoría, en volúmenes muy pequeños (máx. 2L) y es muy escasa la representación de la aplicación de esta nueva tecnología a escalas superiores (Tang *et al.*, 2020).

Dado que la planta piloto empleada en este trabajo cuenta con un equipo para la generación e inyección de ozono en línea, se ha querido explorar el potencial del sistema PMS/O₃. Para ello, en primer lugar, se evaluó el poder desinfectante del ozono de forma individual. Puesto que el ozonizador cuenta con un regulador de caudal de O₃, se evaluaron tres dosis diferentes, mostrando los resultados obtenidos en la Figura 7-7.

Para todos los caudales evaluados, el ozono fue capaz de inactivar, en menos de media hora de tratamiento, las bacterias presentes en la matriz hasta alcanzar el límite de detección analítico. Como cabría esperar, un aumento de la dosis implicó una reducción del tiempo necesario, finalizando el tratamiento en 15 minutos cuando el caudal de O₃ inyectado fue 1,25 g·h⁻¹. Puesto que el objetivo de esta sección es la evaluación de su combinación con PMS, se seleccionó como caudal de trabajo el menor proporcionado por el equipo (0,25 g·h⁻¹

¹⁾ y, en dichas condiciones, se hizo un seguimiento de la concentración de O_3 disuelto en el agua durante la duración del tratamiento. Estos resultados se muestran en la Figura 7-8, en la que se puede ver como durante los primeros minutos del tratamiento la concentración de ozono crece de forma (más o menos) lineal, para posteriormente estabilizarse en $0,6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ o, lo que es lo mismo $12,5 \text{ }\mu\text{M}$.

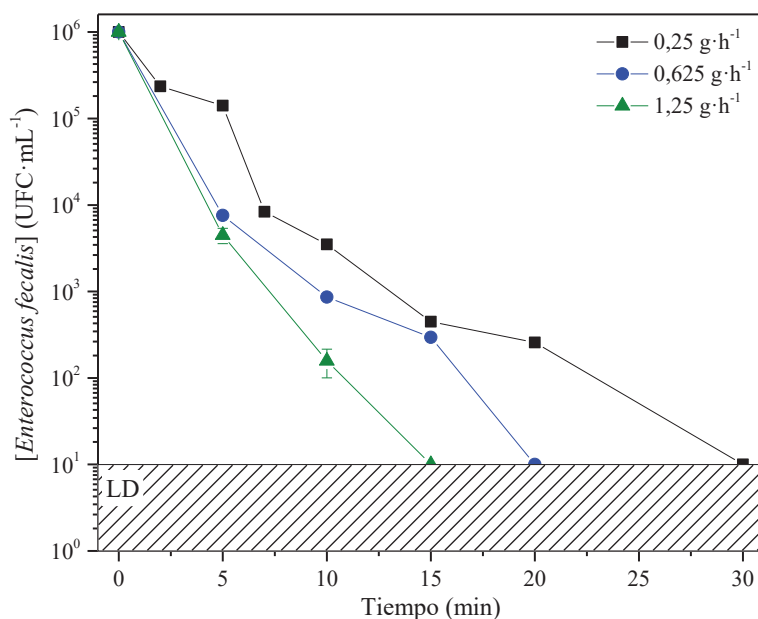


Figura 7-7. Inactivación de *E. faecalis* mediante la inyección de diferentes caudales de O_3 .

Condiciones experimentales: Matriz = ARS; $\text{pH} \approx 7$. LD: Límite de detección.

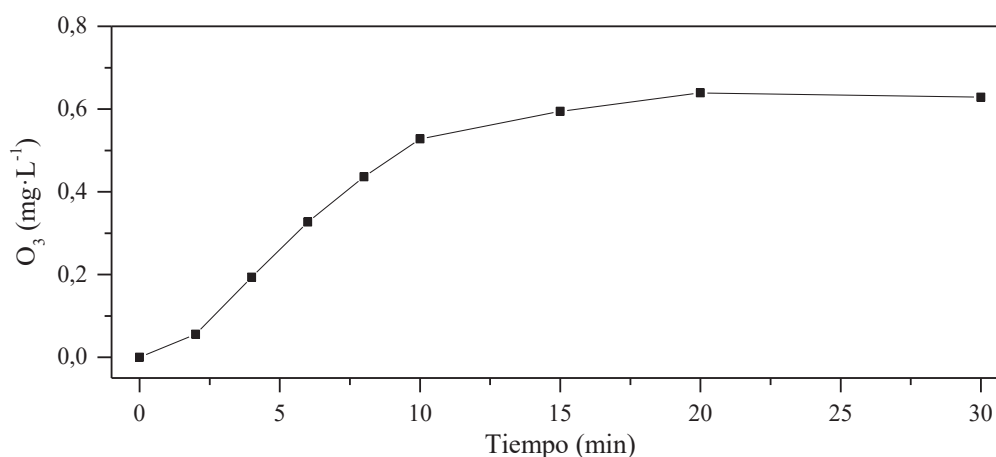


Figura 7-8. Evolución de la concentración de O_3 disuelto en el agua durante un tratamiento.

Condiciones experimentales: $O_3 = 0,25 \text{ g}\cdot\text{h}^{-1}$.

La combinación del ozono con PMS permite reducir el tiempo necesario para la desinfección un 30%, alcanzándose el límite de detección en 20 minutos, tal y como se muestra en la

Figura 7-9. Se seleccionaron para este estudio las concentraciones de PMS que proporcionaron los mejores resultados en combinación con el H_2O_2 , siendo estas 0,5 mM y 1,5 mM. Como se puede observar en la Figura 7-9, un incremento de la dosis no se ve reflejada en una mayor velocidad de inactivación, obteniéndose prácticamente los mismos resultados para las dos condiciones evaluadas.

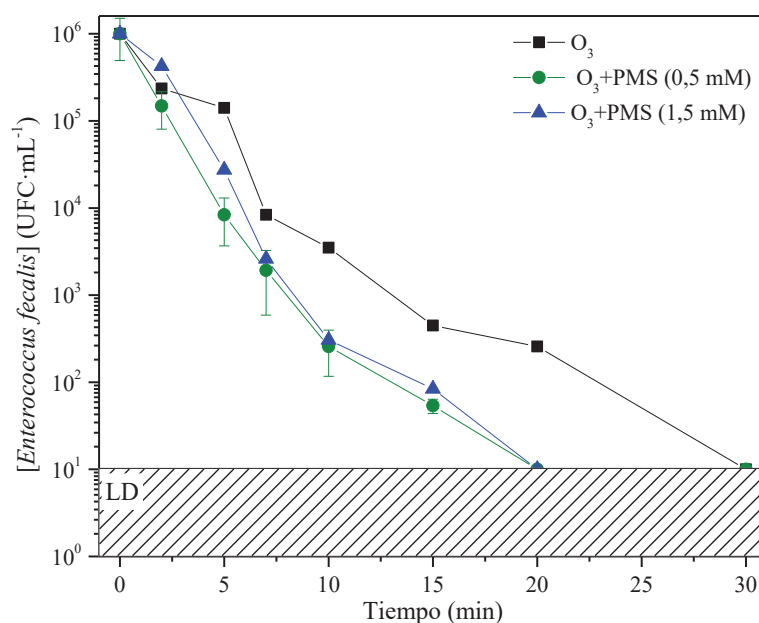


Figura 7-9. Inactivación de *E. faecalis* mediante el sistema PMS/ O_3 /UV-A aplicado a escala piloto. Condiciones experimentales: Matriz: = ARS; pH $\approx$ 7; O_3 : 0,25 g·h⁻¹. LD: Límite de detección.

Son escasos los trabajos en la bibliografía en los que se evalúa la influencia de la dosis de PMS. Sin embargo, algunos autores han llegado a conclusiones similares a la alcanzada en este trabajo. Gholikandi *et al.* (2018) evaluó la aplicación de PMS/ O_3 para la estabilización de lodos y, al incrementar la dosis de PMS utilizada más allá de 0,3 mM, observó un ligero descenso en la eficacia de eliminación de sólidos volátiles. También Wu *et al.* (2019) advirtió que, aunque para dosis de PMS bajas el incremento de la misma supone un aumento de la eficacia de degradación de *prometon*, esta tendencia se rompe al superar dosis de 0,3 mM (o 100 mg·L⁻¹).

Este fenómeno es similar al recogido en apartados anteriores (4.2.1 y 6.1) y es que, como ya se ha explicado, el PMS en exceso puede reaccionar con los radicales generados en la interacción entre el PMS y el O_3 , haciendo las veces de *scavenger* y dando lugar, por tanto, a especies menos reactivas.

Tras comprobar el éxito derivado de la combinación de PMS y O₃ para la inactivación bacteriana, se planteó también la adición de radiación UV-A al tratamiento. Sin embargo, no se apreció una mejora significativa del desempeño que justificase el incremento del coste energético que supone el uso de lámparas LED (resultados no mostrados).

7.1.4. Identificación de los radicales involucrados en los tratamientos

Una vez determinados los tratamientos que mejor resultado proporcionan en la inactivación de *E. faecalis*, se realizaron una serie de ensayos con el objetivo de identificar los radicales involucrados en los diferentes procesos. Los resultados observados en este tipo de estudios permiten vislumbrar los posibles mecanismos de desinfección, como ya se ha visto en capítulos anteriores. Con este fin se han utilizado como *scavengers*, de nuevo, el TBA y el MeOH.

La adición de TBA durante el tratamiento realizado aplicando el sistema PMS/UV-A no ha supuesto una variación significativa en la cinética de inactivación de las bacterias, aunque en la Figura 7-10 se puede apreciar como este compuesto provoca que se incremente el tiempo necesario para alcanzar el límite de detección. Tiene un efecto superior a la incorporación de MeOH al tratamiento. Aunque, de nuevo, el límite de detección se alcanza a las dos horas, se puede observar como la concentración de bacterias decae de una forma más lenta durante todo el tratamiento.

Estos resultados indican la presencia de radicales sulfato en el sistema, mientras que el radical hidroxilo no contribuye de forma significativa al proceso. Sin embargo, a pesar de que se produce una ralentización en la cinética de desinfección, no puede pasarse por alto el hecho de que ninguno de los dos *scavenger* es capaz de inhibir sustancialmente el tratamiento. De esto puede deducirse que una parte importante de la inactivación está teniendo lugar, en este tratamiento, debido a mecanismos no radicales. Como pudo verse en la Figura 7-1 el PMS (aún sin activar) tiene un poder oxidante nada despreciable. Por lo tanto, al utilizar una dosis elevada de este compuesto, una parte importante de la desinfección se produce por oxidación directa. Aun así, la existencia de sinergias con la radiación indica que el PMS no es el único responsable de la inactivación. La radiación UV-A, aunque no es capaz, por sí sola, de inactivar rápidamente los microorganismos, sí es posible que debilite o dañe su membrana celular, facilitando así su inactivación. No en vano, esta es la

fundamentación de los tratamientos de desinfección solar o SODIS (García-Gil *et al.*, 2021; McGuigan *et al.*, 2012).

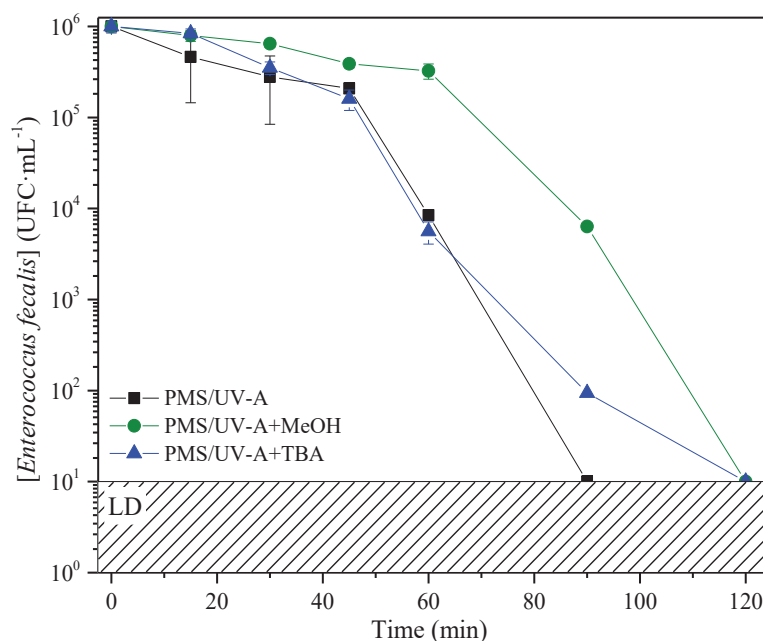


Figura 7-10. Influencia de los *scavengers* en la inactivación de *E. faecalis* mediante el sistema PMS/UV-A aplicado a escala piloto. Condiciones experimentales: [PMS] = 1,5 mM; [MeOH] = [TBA] = 30 mM; Matriz = ARS; pH $\approx$ 7; Intensidad de radiación = 1.900 W·m⁻². LD: Límite de detección.

Diversos autores han observado, para la degradación de contaminantes, fenómenos similares a los vistos en este trabajo. Cui *et al.* (2016) evaluaron la activación de PMS mediante radiación para la eliminación de sulfonamidas, concluyendo que únicamente un 32,8% de la degradación se producía por acción de radicales, siendo la contribución del SO₄^{•-} superior a la del HO[•]. Del mismo modo, en un estudio realizado acerca de la degradación de anatoxina se encontró que más del 75% de la degradación conseguida se producía mediante mecanismos diferentes a la acción de SO₄^{•-} o HO[•] (Verma *et al.*, 2016). En ambos trabajos, se plantea la existencia de mecanismos no radicales, así como la posible presencia de otras especies reactivas, como respuesta a este efecto.

Los resultados aquí obtenidos pueden parecer contrarios a los obtenidos en el capítulo 4 al utilizar como matriz acuosa agua destilada, cuando se observó una importante contribución de los radicales generados en la inactivación de las bacterias. Existen dos razones principales que explican este fenómeno. Por una parte, el agua residual simulada, al tratarse de una matriz más compleja, tiene una gran cantidad de componentes que pueden absorber parte de

la radiación, lo cual minimiza la cantidad de fotones disponibles para la activación del PMS. Por otra parte, se ha visto gracias a los ensayos de actinometría realizados que la dosis de radiación incidente en la planta piloto es inferior al que se obtenía en el reactor tubular a escala laboratorio. Este hecho, sumado a la baja absorbancia de este compuesto a la longitud de onda de trabajo (Verma *et al.*, 2016), explican la dificultad encontrada para la generación de radicales y, por tanto, no solo necesidad de dosis más altas (como se mencionaba en el apartado anterior), sino también el cambio en el mecanismo de desinfección observado.

La situación varía al añadir 1,5 mM de H_2O_2 al tratamiento, manteniendo la concentración de PMS. Tal y como se muestra en la Figura 7-11, los dos *scavengers* utilizados consiguen una inhibición similar del tratamiento, duplicando el tiempo necesario para la completa inactivación de *E. faecalis*. Las curvas de desinfección descritas al añadir uno u otro compuesto son muy similares, lo cual indica una predominancia del radical hidroxilo en el proceso de inactivación bacteriana. Sin embargo, y a pesar de existir una implicación de los radicales ligeramente superior a la observada para el sistema PMS/UV-A, sigue siendo muy significativa la aportación en la desinfección de los mecanismos no radicales.

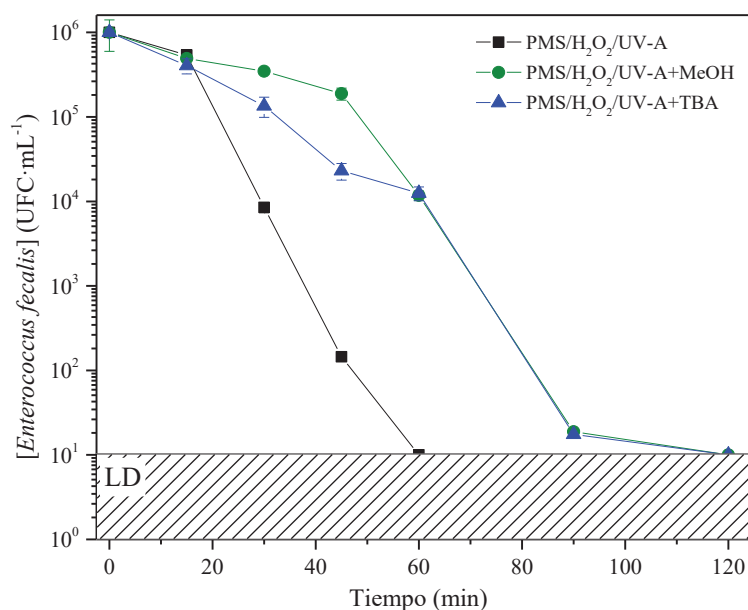


Figura 7-11. Influencia de los *scavengers* en la inactivación de *E. faecalis* mediante el sistema PMS/ H_2O_2 /UV-A aplicado a escala piloto. Condiciones experimentales: $[\text{PMS}] = [\text{H}_2\text{O}_2] = 1,5$ mM; $[\text{MeOH}] = [\text{TBA}] = 30$ mM; Matriz = ARS; $\text{pH} \approx 7$; Intensidad de radiación = $1.900 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$. LD: Límite de detección.

Como se comentaba en el apartado 7.1.2, existen muy pocas publicaciones que discutan la aplicación simultánea de PMS y H_2O_2 para el tratamiento de agua, por lo que aún existen

muchas incertidumbres respecto al mecanismo de acción de este sistema de oxidación doble. Aun así, en el estudio realizado por Zhong *et al.* (2022) para la eliminación de cloranfenicol, se detectó también una presencia mayoritaria de $\text{HO}^\bullet$, aunque debe tenerse en cuenta que dicho trabajo se evalúa este sistema en combinación con un catalizador, por lo que los resultados no son necesariamente comparables. También Amanollahi *et al.* (2021) detectó una mayor importancia de los radicales $\text{HO}^\bullet$ durante la eliminación de nitrógeno amoniacal, si bien se reportó también una contribución significativa de los radicales sulfato.

Al reducir la dosis de PMS hasta 0,5 mM se observó un cambio absoluto en el comportamiento del sistema (Figura 7-12). En esta ocasión, al utilizar MeOH como *scavenger* se consigue una inhibición casi completa del tratamiento, mientras que no se observan grandes variaciones en la cinética al emplear TBA. Esto evidencia que la desinfección tiene lugar, casi exclusivamente, como consecuencia de la generación de radicales sulfato. La diferencia con el resultado obtenido al aplicar una mayor concentración de PMS pone de manifiesto la gran relevancia de la *ratio* entre ambos oxidantes a la hora de determinar el mecanismo de desinfección, realidad que hasta la fecha no ha sido discutida en la literatura.

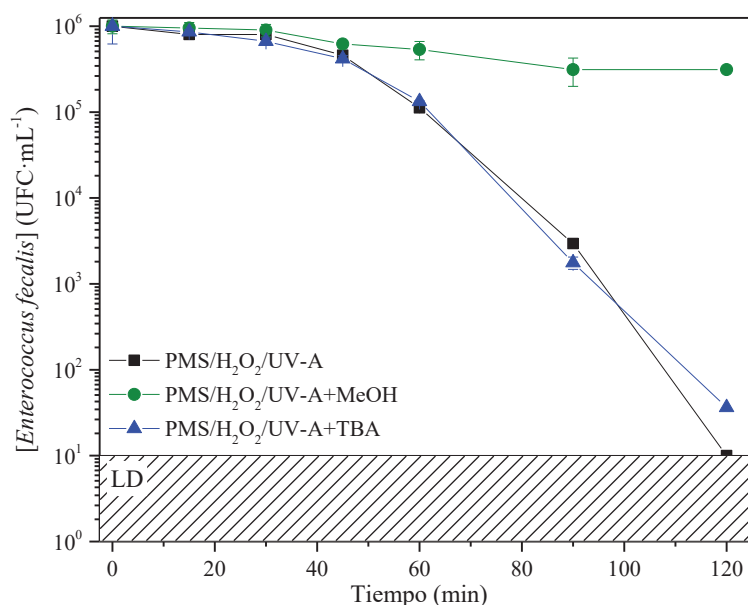


Figura 7-12. Influencia de los *scavengers* en la inactivación de *E. faecalis* mediante el sistema PMS/H₂O₂/UV-A aplicado a escala piloto. Condiciones experimentales: [PMS] = 0,5 mM; [H₂O₂] = 1,5mM; [MeOH] = [TBA] = 30 mM; Matriz= ARS; pH ≈ 7; Intensidad de radiación = 1.900 W·m⁻². LD: Límite de detección.

Además, este es el primer escenario de entre los evaluados en el que no se observa una contribución relevante de los mecanismos no radicales. Esto es debido, probablemente, a que una concentración de PMS de 0,5 mM no es suficiente para causar una desinfección significativa, lo cual sí sucede cuando la concentración empleada es 1,5 mM, tal y como se vio en la Figura 7-1.

El último tratamiento seleccionado para su evaluación en profundidad fue la combinación de ozono y PMS. Según han demostrado otros autores, tanto el ozono (mediante oxidación directa), como el HO• son las principales especies reactivas al realizar un tratamiento de ozonización (Deniere *et al.*, 2018; Z. W. Yang *et al.*, 2022). De hecho, en función del pH del tratamiento actuará la vía radicalaria o no. De esta forma, en las condiciones de trabajo (pH ≈ 7-8) durante el tratamiento aquí evaluado es de esperar que la presencia de HO• sea relevante ya que condiciones alcalinas favorecen la descomposición del O₃ (Iakovides *et al.*, 2019; Michael-Kordatou *et al.*, 2017). Por otra parte, al combinar este tratamiento con el PMS, es de esperar que se generen radicales SO₄•⁻ u otras especies de azufre que intervengan en el tratamiento, en este caso, de desinfección. De hecho, según el mecanismo propuesto por Yang *et al.* (2022), sería la forma disociada del PMS la que reaccionaría directamente con el ozono, desencadenando una serie de reacciones que concluirían con la generación de radicales SO₄•⁻ y HO• siguiendo las ecuaciones 7.1-7.5.



En la Figura 7-13 se puede comprobar cómo, al añadir MeOH, se produce una inhibición importante del tratamiento de desinfección. Por otra parte, también se observa también una ralentización del proceso emplear TBA como secuestrador de radicales, aunque el efecto inhibitorio es significativamente inferior. Por lo tanto, es posible afirmar en el sistema PMS/O₃ se generan tanto SO₄•⁻ como HO•, si bien la implicación de los primeros en la inactivación bacteriana es superior. Esta conclusión es la misma a la que han llegado otros

autores que han estudiado la aplicación de este sistema para la degradación de contaminantes orgánicos (Deniere *et al.*, 2018; J. Yang *et al.*, 2022; Z. W. Yang *et al.*, 2022).

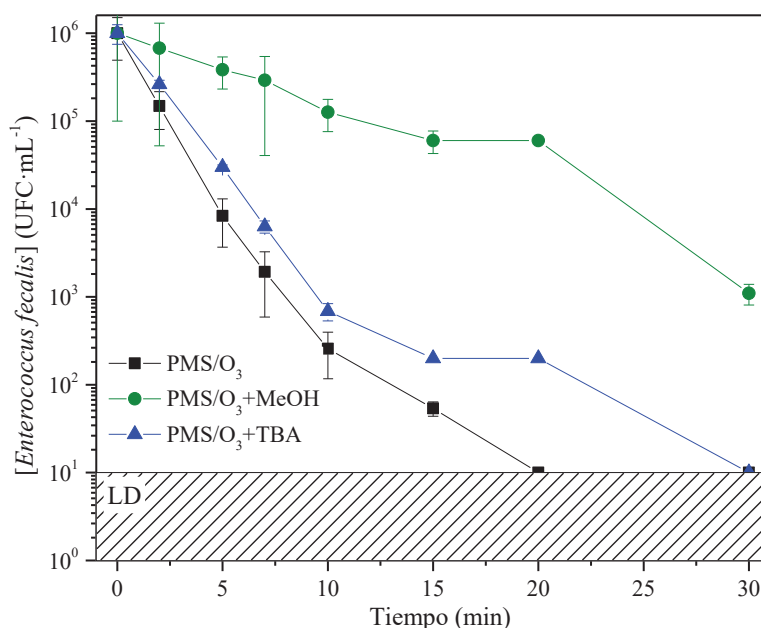


Figura 7-13. Influencia de los *scavengers* en la inactivación de *E. faecalis* mediante el sistema PMS/O₃ aplicado a escala piloto. Condiciones experimentales: [PMS] = 0,5 mM; O₃: 0,25 g·h⁻¹; [MeOH] = [TBA] = 10 mM; Matriz= ARS; pH ≈ 7. LD: Límite de detección.

Por tanto, se ha comprobado que, aunque el resultado de desinfección no difiere en exceso al emplear solo ozono o al combinarlo con PMS, los mecanismos de inactivación sí que son muy diferentes, lo que podría tener repercusiones importantes a la hora de determinar la generación (o no) de subproductos de desinfección, así como la naturaleza tóxica de los mismos. Un análisis más profundo a este respecto se ha planteado en el apartado 7.3.4, al evaluar los tratamientos sobre un efluente real.

7.1.5. Eficacia de los tratamientos seleccionados en la eliminación simultánea de microorganismos y contaminantes de preocupación emergente

Una vez establecidos los tratamientos más eficaces para la eliminación de *Enterococcus faecalis* dentro del tiempo de tratamiento establecido (< 120 min), así como sus mecanismos de actuación, se ha evaluado su comportamiento ante una mayor complejidad de la matriz acuosa a tratar. Para ello, se ha inoculado el efluente simulado con bacterias de tres especies diferentes (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*) y se han añadido dos fármacos para observar su degradación, en una concentración inicial de 5 mg·L⁻¹

¹. Esta concentración, que es muy superior a la que se puede encontrar en el agua real y a la concentración de contaminantes utilizada en los ensayos mostrados en el capítulo 6, ha sido escogida de acuerdo con límite de detección del equipo de análisis disponible.

En esta sección se detallan, por separado, los resultados obtenidos para la inactivación bacteriana y para la degradación de los dos fármacos objetivo.

Inactivación de microorganismos

De entre las tres especies de bacteria evaluadas durante los tratamientos, la *E. coli* ha resultado ser la más sensible, habiéndose alcanzado el límite de detección tras media hora para todos los sistemas evaluados (Figura 7-14). De los tres microorganismos, esta especie es la única del tipo Gram-negativo. Las bacterias con estas características han demostrado en otras ocasiones ser más sensibles a los procesos de oxidación avanzada que las bacterias Gram-positivo, siendo una de las posibles razones la diferencia en la estructura de su pared celular, con una capa de peptidoglicano de menor grosor que las pertenecientes al segundo grupo (Madigan *et al.*, 2019).

Precisamente Gram-positivo son las dos especies restantes evaluadas. De entre ellas, *S. aureus* es la que se inactiva con una mayor rapidez, mientras que *Enterococcus faecalis* es la especie más resistente. A la vista de estos resultados, se confirma que la elección de esta bacteria como microorganismo indicador es acertada, ya que su eliminación garantiza la inactivación de otras comúnmente presentes en el agua residual simulada.

Además de comparar el comportamiento de las diferentes bacterias, es muy interesante comparar el nuevo escenario con la velocidad de inactivación observada al eliminar únicamente un microorganismo. Como cabría esperar, debido al incremento en la complejidad de la matriz se observa, de forma generalizada, una ralentización de la velocidad de inactivación de *E. faecalis*, del mismo modo que sucedía en el capítulo 4 al eliminar de forma simultánea *E. coli* y *E. faecalis* (apartado 4.2.5).

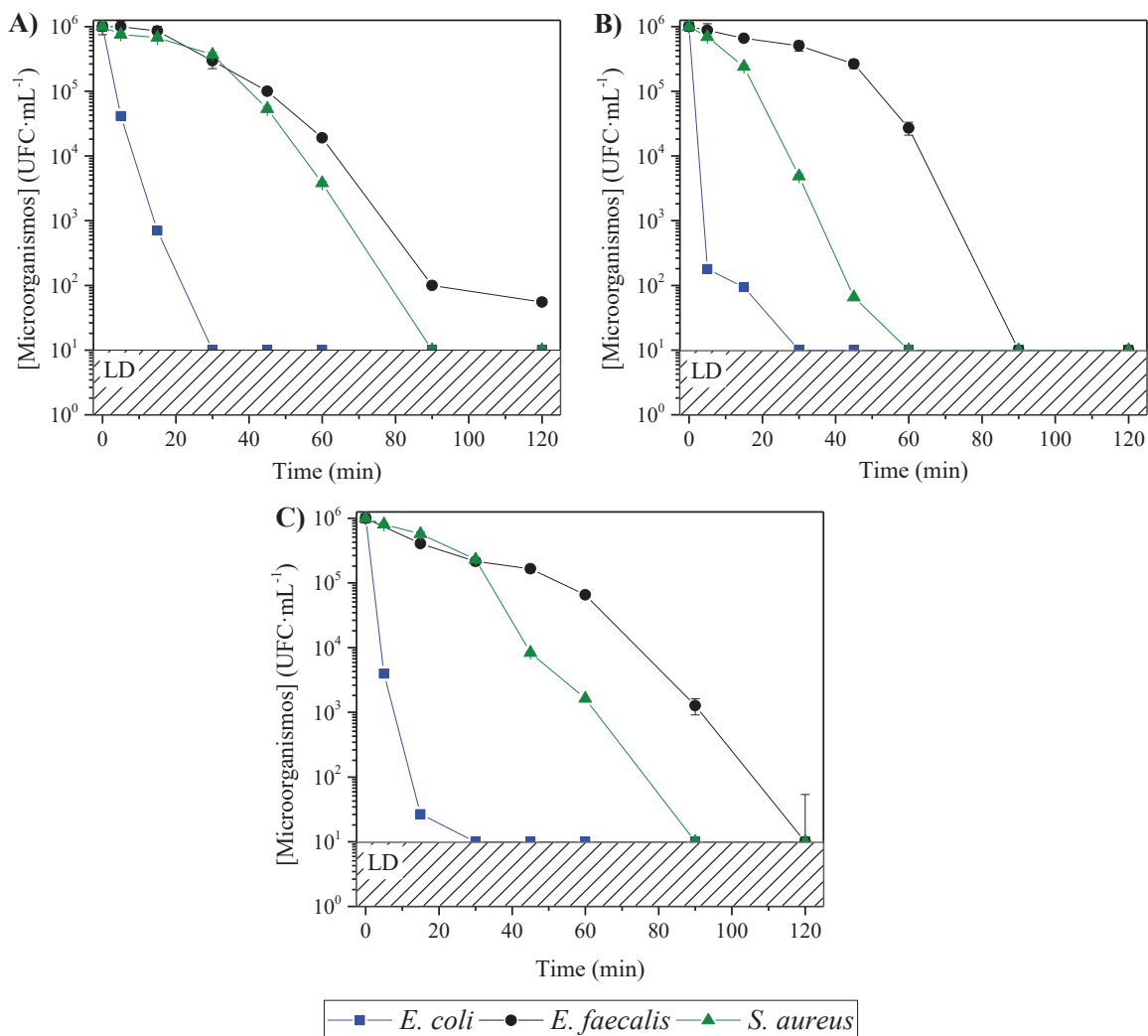


Figura 7-14. Eliminación simultánea de *E. coli*, *E. faecalis* y *S. aureus* mediante el sistema **A)** PMS/UVA; **B)** PMS (1,5 mM)/H₂O₂/UV-A; **C)** PMS (0,5 mM)/H₂O₂/UV-A. Condiciones experimentales: [H₂O₂] = 1,5 mM; Matriz = ARS; pH ≈ 7; Intensidad de radiación = 1.900 W·m⁻². LD: Límite de detección.

También al aplicar el tratamiento basado en el sistema PMS/O₃ es la *E. coli* la especie menos resistente (Figura 7-15). Además, en este escenario varía significativamente el tiempo necesario para la eliminación de *E. faecalis*, incrementándose de 20 a 45 min. La aceleración de la inactivación de *E. faecalis* se produce a los 20 minutos de tratamiento, lo cual corresponde con el momento en el que se supera un 80% de degradación de diclofenaco, como se verá un poco más adelante (Figura 7-16). Por lo tanto, es posible que hasta este momento los radicales generados hayan sido consumidos en la degradación del fármaco, presente en el medio en una concentración muy alta. Una vez la concentración es lo

suficientemente baja (< 1 mM), el ozono y los radicales tienen mayor facilidad para atacar los microorganismos, acelerando la desinfección.

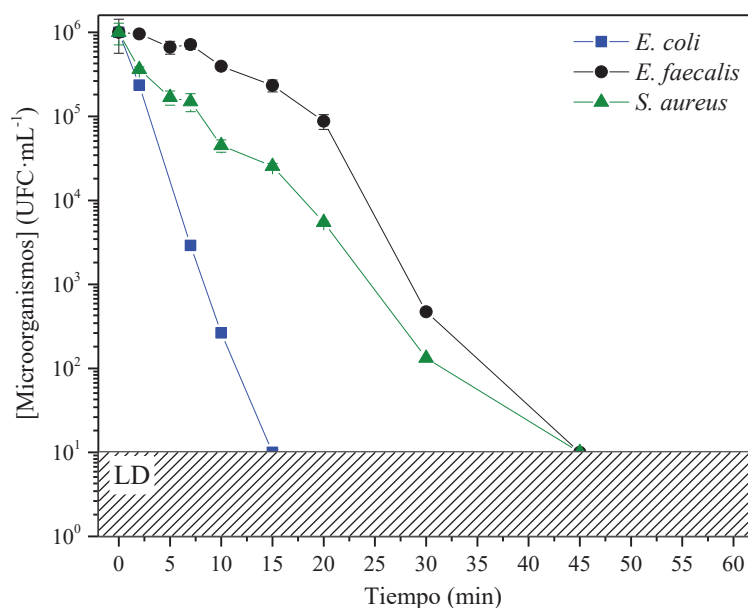


Figura 7-15. Eliminación simultánea de *E. coli*, *E. faecalis* y *S. aureus* mediante el sistema PMS/O₃. Condiciones experimentales: [PMS] = 0,5 mM; O₃: 0,25 g·h⁻¹; Matriz = ARS; pH ≈ 7.

LD: Límite de detección.

Degradación de contaminantes emergentes

De forma simultánea a la eliminación de las tres especies de microorganismos descrita en la sección anterior, se ha evaluado la eliminación de dos fármacos comúnmente encontrados en efluentes reales de depuradora: tetraciclina (TC) y diclofenaco (DF). Los resultados obtenidos para los cuatro tratamientos evaluados se muestran en la Figura 7-16.

Lo primero que llama la atención a la hora de analizar los resultados es que la concentración de TC parece crecer en todos los tratamientos, excepto en aquel que involucra el uso de ozono. Este crecimiento es especialmente destacado en los tratamientos con PMS/H₂O₂/UV-A, observándose un pico de crecimiento de más del 60% a los 60 minutos (o 30% a los 120 minutos) al utilizar una concentración de PMS de 0,5 mM. Resulta evidente que no es posible que se genere TC durante un proceso de oxidación avanzada, por lo que se ha profundizado en este fenómeno para tratar de entender qué está sucediendo. Al estudiar la degradación de DF de forma individual, se ha observado la aparición de un subproducto que produce un pico en el cromatograma aproximadamente al mismo tiempo que aparece el TC durante el análisis (resultados no mostrados), superponiéndose e impidiendo la correcta cuantificación

del contaminante objetivo. El pico máximo se sitúa a los 60 minutos, lo que parece indicar que a partir de este tiempo comienza a degradarse en mayor medida el subproducto que se había generado y/o la TC, pero, por desgracia, el equipamiento disponible no permite hacer esta distinción.

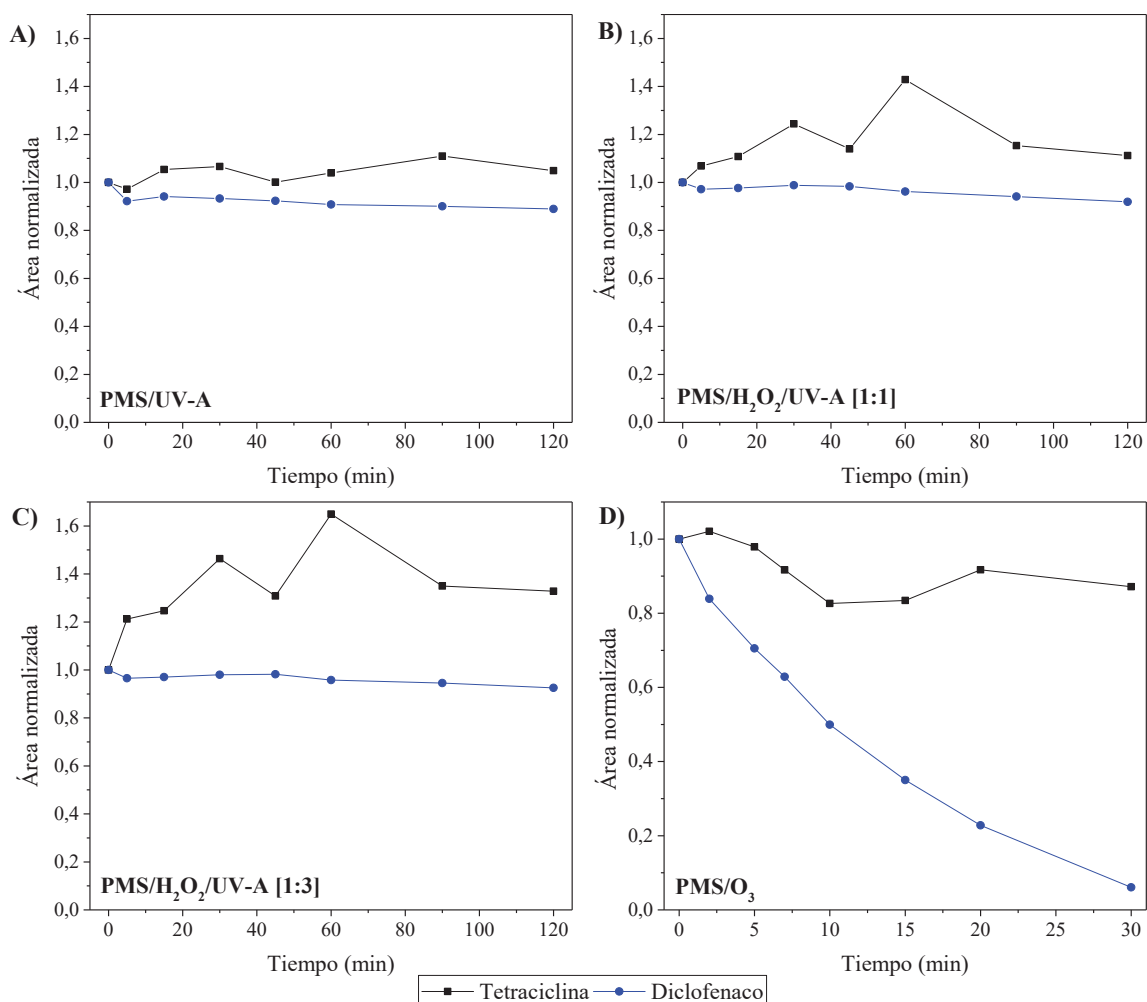


Figura 7-16. Degradación $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de tetraciclina y diclofenaco mediante los sistemas **A)** PMS ($1,5 \text{ mM}$)/UV-A **B)** PMS ($1,5 \text{ mM}$)/H₂O₂/UV-A **C)** PMS ($0,5 \text{ mM}$)/H₂O₂/UV-A y **D)** PMS ($0,5 \text{ mM}$)/O₃. Condiciones experimentales: [H₂O₂] = $1,5 \text{ mM}$; Matriz= ARS; pH ≈ 7 ; $\lambda = 365 \text{ nm}$; Intensidad de radiación = $1.900 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$; O₃: $0,25 \text{ g} \cdot \text{h}^{-1}$.

Como se adelantaba, en el tratamiento con PMS/O₃ es el único que no se aprecia un incremento en la concentración de la tetraciclina (Figura 7-16D). Además, es el único que consigue una degradación significativa del DF (en el resto de los escenarios ronda el 10% de degradación) observándose al final del tratamiento cómo se ha eliminado más del 95% de este contaminante.

En esta ocasión, la degradación aparente de la TC ronda el 20%. Sin embargo, dado el efecto observado en el resto de los escenarios, no es posible afirmar que solamente se haya eliminado este porcentaje, ya que puede suponerse que la degradación de este fármaco está viéndose camuflada por la generación de subproductos. Para poder realizar esta distinción sería necesario disponer de un equipamiento como el que se empleó en los análisis mostrados en el capítulo 6, ya que un equipo de UHPLC-MS permitiría diferenciar los diferentes compuestos gracias al espectrómetro de masas acoplado al equipo de separación.

7.2. Análisis del Ciclo de Vida de los tratamientos seleccionados

La eficacia y la rapidez son elementos críticos a la hora de seleccionar el tratamiento más adecuado para su implantación a gran escala. Sin embargo, no debe perderse de vista a la hora de proponer nuevas tecnologías, procesos o tratamientos el posible impacto ambiental y sobre la salud humana que llevarán asociados.

Medioambientalmente, ¿es más sostenible realizar tratamientos que duren más tiempo, pero que utilicen menos reactivos, o tratamientos más cortos que precisen mayores dosis de oxidante? Para responder a esta pregunta, se ha realizado un Análisis del Ciclo de Vida comparativo de los cuatro tratamientos que se han seleccionado como viables en las secciones anteriores de este capítulo, con el objetivo de poder comparar los potenciales impactos que llevan asociados. En la Tabla 7-1 se recogen las condiciones de cada uno de estos tratamientos, con duraciones que varían desde 20 minutos (para el sistema PMS/O₃), hasta los 120 minutos (necesarios en el sistema PMS/H₂O₂/UV-A [1:3]) y concentraciones de PMS entre 0,5 y 1,5 mM.

Tabla 7-1. Descripción de los escenarios evaluados mediante ACV. Condiciones experimentales:

[H₂O₂] = 1,5 mM; O₃: 0,25 g·h⁻¹.

Escenario	Tratamiento	[PMS] (mM)	Tiempo de operación (min)
1	PMS/UV-A	1,5	90
2	PMS/O ₃	0,5	20
3	PMS/H ₂ O ₂ /UV-A	1,5	60
4	PMS/H ₂ O ₂ /UV-A	0,5	120

Tal y como se ha descrito en la sección 3.11.2, la unidad funcional establecida para la realización de este estudio es la inactivación de 10^5 UFC·ml⁻¹ de *E. faecalis* en 35 L de agua residual simulada.

7.2.1. Inventario del Ciclo de Vida

Siguiendo el procedimiento reflejado en el capítulo 3, se han realizado dos análisis de ciclo de vida bien diferenciados: el primero de ellos comparando los diferentes escenarios y, el segundo, para conocer los impactos asociados a la planta piloto. Para llevarlos a cabo, el primer paso ha sido elaborar dos inventarios de ciclo de vida, tal y como se recoge en las Tabla 7-2 y Tabla 7-3.

El primer inventario, relativo a los diferentes escenarios, se muestra en la Tabla 7-2. En él se han incluido las cantidades de reactivos empleadas en los tratamientos y se ha calculado el consumo energético necesario para alcanzar el nivel de tratamiento descrito por la unidad funcional. El escenario 2 es aquel en el que se utiliza una menor cantidad de reactivos y, además, el que menor consumo energético tiene. Esto se debe a que, a pesar de que el ozonizador consume energía eléctrica para la generación de ozono, el consumo global es menor que en el resto de los escenarios evaluados. Teniendo esto en cuenta, es razonable esperar que este sea el escenario con un menor impacto asociado. Sin embargo, no es tan sencillo realizar una predicción de cara al resto de los escenarios, ya que será determinante conocer si son los reactivos empleados o la electricidad consumida los factores que más impacten el ACV.

Tabla 7-2. Inventario de ciclo de vida: reactivos y energía utilizados en los diferentes escenarios.

Escenario	Reactivos (kg)			Energía (kWh)		Total
	PMS	H ₂ O ₂	Bomba	Lámpara UV-A	Ozonizador	
1	$1,61 \cdot 10^{-2}$	0	0,68	$1,44 \cdot 10^{-2}$	0	0,69
2	$5,39 \cdot 10^{-3}$	0	0,15	0	0,2	0,35
3	$1,61 \cdot 10^{-2}$	$1,79 \cdot 10^{-3}$	0,45	$9,60 \cdot 10^{-3}$	0	0,46
4	$5,39 \cdot 10^{-3}$	$1,79 \cdot 10^{-3}$	0,90	$1,92 \cdot 10^{-2}$	0	0,92

Como se puede observar, en este inventario solamente se han incluido las entradas al sistema, sin tener en cuenta las emisiones o el consumo de recursos derivado de la extracción de materias primas, síntesis de productos, generación energética, etc. Sin embargo, al introducir la información disponible en el software, se genera de forma automática un inventario mucho

más completo, con un total de 1.894 registros para cada uno de los escenarios planteados. Este inventario completo no ha sido incluido en este trabajo debido a su extensión, pero en él se pueden encontrar, entre otras cosas, emisiones atmosféricas y al medio acuático.

Todos los datos utilizados para la preparación de este inventario son, o bien experimentales (duración de los experimentos y dosis de reactivos utilizadas) o proporcionadas por los fabricantes (consumo eléctrico de los diferentes equipos). Por ello, la calidad de esta información ha sido determinada, en todos los casos, como clase A, por lo que esta información no se ha incluido en la tabla.

Por otra parte, en la Tabla 7-3 muestra el inventario de ciclo de vida de la planta piloto. Al contrario que en el caso anterior, la calidad de estos datos es variable, por lo que la precisión de la evaluación que se realice a continuación es mucho menor. A pesar de la predisposición de la empresa fabricante para proporcionar datos, en algunos casos la información conseguida no ha sido suficiente y ha sido necesario realizar estimaciones. Este es el caso del bastidor de aluminio, cuyo peso se ha calculado a partir de la longitud de los perfiles (medida *in situ*) y la densidad del material. Se incluye también en la tabla el proceso de fabricación seleccionado en la base de datos *EcoInvent* para cada uno de los componentes. Esta información es clave para determinar, por ejemplo, la energía necesaria durante el moldeo de los elementos plásticos o la extrusión de los perfiles de aluminio.

De nuevo, al introducir esta información en el software de cálculo, se obtuvo un inventario de ciclo de vida extendido, con casi 2.000 entradas, que contempla las entradas y salidas del sistema desde la extracción de las materias primas hasta el ensamblaje de la planta piloto.

Tabla 7-3. Inventario de ciclo de vida: componentes de la planta piloto.

Equipo	Componente	Descripción	Unidades	Proceso EcoInvent	Calidad de los datos
Tanque de alimentación	-	Polietileno lineal aditivado con anti-UV	1,5 kg	P1	A
Extractor	Hélices	Acirilonitrilo butadieno estireno	0,75 kg	P1	D
	Carcasa	Polipropileno	0,75 kg	P2	
Bomba de alimentación	Impulsor	Acero inoxidable	2,26 kg	P3	B
	Carcasa	Hierro fundido	9,04 kg	P4	

Equipo	Componente	Descripción	Unidades	Proceso EcoInvent	Calidad de los datos
Filtro de seguridad	Cabezal	Polipropileno	0,59 kg	P2	C
	Vaso	Estireno acrilonitrilo	0,59 kg	P2	
	Junta	Caucho nitrilo	0,02 kg	P2	
Intercambiador de calor	Cuerpo	Titanio	1,70 kg	P2	A
	Serpentín				
Ozonizador	Núcleo generación ozono	Acero inoxidable	1 kg	P3	D
	Tubo Venturi	Fluoruro de polivinilideno	0,50 kg	P2	
	Control electrónico y pantalla táctil	Pantalla LCD	0,30 kg	P5	
	Conducciones	Polipropileno	0,20 kg	P2	
	Carcasa	Acrilonitrilo butadieno estireno	10 kg	P1	
	Otros	Acero inoxidable	2 kg	P3	
Unidad fotoquímica	Carcasa protectora	Filamento poliláctico	0,81 kg	P1	C
	Reactor	Vidrio de borosilicato	0,91 kg	P6	
	Vidrio protector de la lámpara	Vidrio de borosilicato	0,38 kg	P6	
	Tira disparadora	Aluminio	0,05 kg	P7	
	Lámpara LED	-	1ud	P8	
	Carcasa sistema de ventilación	Filamento poliláctico	0,33 kg	P1	
	Conexión vidrios	Polietileno	0,08 kg	P2	
	Ventilador	Nailon	0,16 kg	P2	
Armario eléctrico	Armario	Poliéster reforzado con fibras	22,7 kg	P1	D
		Acero	0,78 kg	P3	
		Zinc	0,38 kg	P4	
		Nailon	0,38 kg	P2	
	Cuadro de control	Pantalla LCD	0,30 kg	P5	D
	Cableado	Cable bimetálico de aluminio y acero	50 m	-	
Bastidor	-	Aluminio anodizado	78 kg	P7	C

Equipo	Componente	Descripción	Unidades	Proceso EcoInvent	Calidad de los datos
Instrumentación	Sensores de nivel,	Acero inoxidable	0,50 kg	P3	D
	caudalímetros,	Aluminio	0,50 kg	P7	
	sensores de temperatura,				
	medidores de presión,	Cloruro de polivinilo	0,50 kg	P1	
	transmisores de pH y sus indicadores				
Tuberías	-	Cloruro de polivinilo	4,05 kg	P1	C
Tornillos	-	Acero inoxidable	1,00 kg	P3	D
Transporte	-	Transporte en vehículo comercial ligero	420 km	-	C

*Procesos EcoInvent: P1 - *Blow moulding* {GLO}, P2 - *Injection moulding* {GLO}, P3 - *Metal working, average for chromium steel product manufacturing* {GLO}, P4 - *Metal working, average for metal product manufacturing* {GLO}, P5 - *Assembly, LCD screen/GLO*, P6 - *Extrusion, plastic film* {GLO}, P7 - *Impact extrusion of aluminium, cold, tempering* {GLO}, P8 - *Ultraviolet lamp* {GLO} | *ultraviolet lamp production, for water disinfection*

7.2.2. Evaluación de impactos: ACV comparativo

Una vez realizado el inventario e introducidos los datos en el software, es posible calcular el impacto asociado a cada una de las categorías evaluadas según la metodología de análisis seleccionada (*Product Environmental Footprint*). Esto se ha hecho para los cuatro escenarios, obteniendo los resultados que se recogen en la Figura 7-17. Sin embargo, tal y como se recoge en la tabla 3-9 (situada en el capítulo 3 de este trabajo) cada una de las categorías de impacto evaluadas tiene unas unidades diferentes, razón por la que no es adecuado realizar comparaciones sin un tratamiento previo de los resultados.

La Figura 7-17A permite comparar los diferentes escenarios expresando, para cada categoría, los impactos en relación el peor resultado. Para ello se ha designado como el 100% el mayor valor de impacto obtenido en una categoría determinada de entre los cuatro escenarios evaluados, expresando el impacto en los demás como un porcentaje de este. El escenario 4 es para el que peores resultados se obtuvieron, medioambientalmente, presentando los valores de impacto más altos en 8 de las 16 categorías. Dado que dicho tratamiento se utiliza una concentración de reactivos menor que otros escenarios, es posible deducir que esto se debe a un mayor uso de energía eléctrica, al ser el tratamiento más largo.

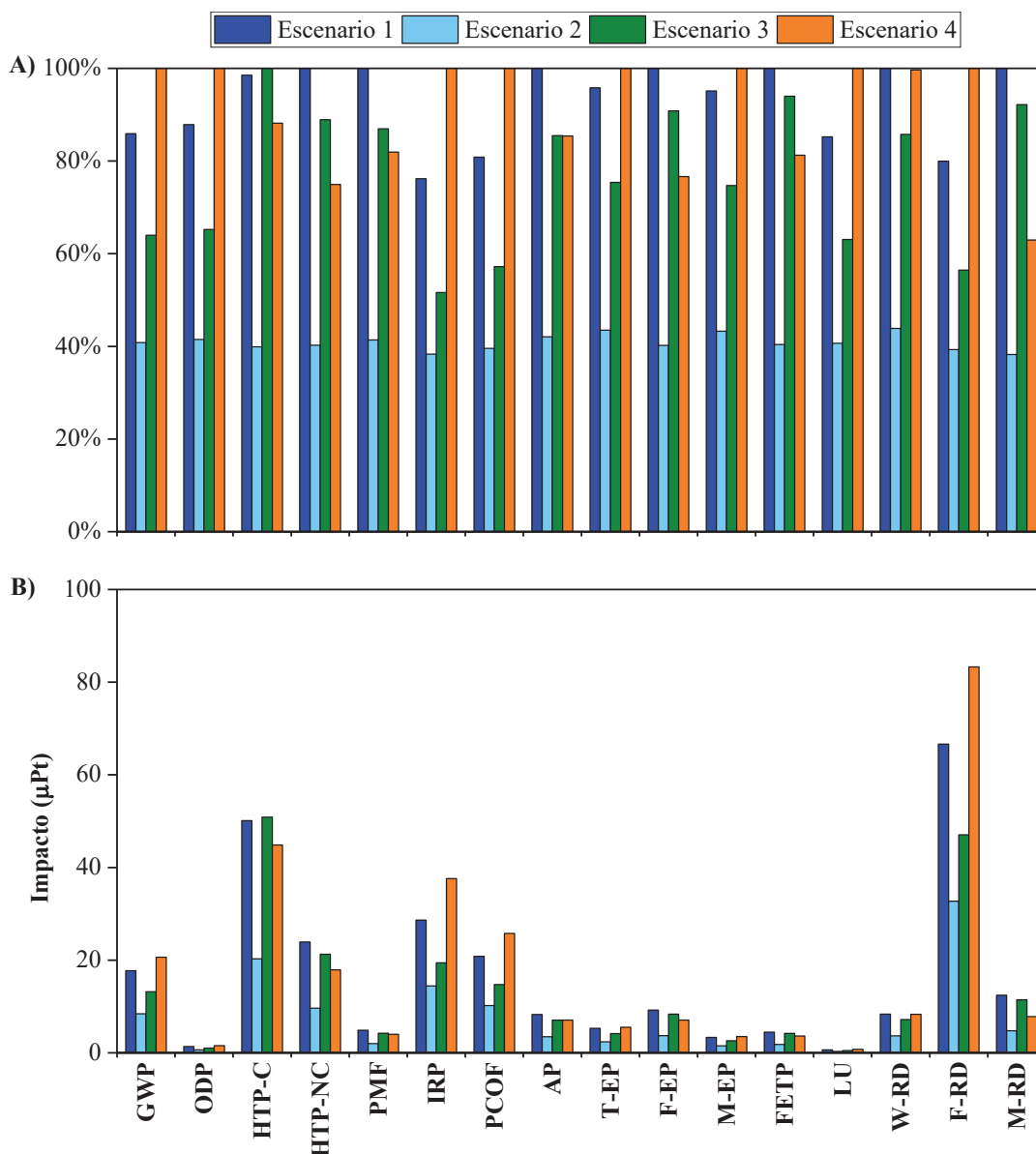


Figura 7-17. Cuantificación de los impactos asociados a cada escenario: **A)** En términos de caracterización **B)** Valores normalizados.

Esto se ve reflejado en que algunas de las categorías en las que es el escenario más perjudicial son la de calentamiento global o uso de recursos fósiles. El escenario 1, por su parte, presenta los valores más altos en 7 categorías. Solamente en la categoría referente al potencial cancerígeno en los humanos (HTP-C) es el escenario 3 el que más impacto tiene, lo que puede relacionarse con que es el tratamiento que más utiliza una mayor cantidad de reactivos (1,5 mM de PMS y H₂O₂). Finalmente, tal y como se podía preverse, ha sido el escenario 2 el que ha resultado tener asociados los impactos más bajos para todas las categorías al ser el que menor dosis de reactivos utiliza, requiriendo, al mismo tiempo, una menor cantidad de

energía para alcanzar el mismo resultado de desinfección que el resto de los tratamientos propuestos.

Los mismos resultados se muestran en la Figura 7-17B, si bien en esta ocasión han sido normalizados, habiendo utilizado para ello los valores de normalización propuestos por la metodología. Aunque este es un paso opcional en la realización de un ACV, la normalización es una herramienta para solucionar el problema de las diferentes unidades y escalas, obteniendo valores adimensionales que permiten la comparación entre categorías (European Commission - Joint Research Centre, 2012b). A la vista de los resultados, es posible afirmar que las categorías en las que se producen los impactos más relevantes son, para todos los escenarios, el agotamiento de recursos fósiles, relacionada con la generación de energía, y la toxicidad humana (efectos cancerígenos).

Aunque a priori pueda resultar llamativa la alta puntuación obtenida con relación a la salud humana, se ha encontrado que otros autores han reportado resultados similares al evaluar los impactos ambientales de otros procesos de oxidación avanzada. En un estudio realizado por Chatzisyneon *et al.* en 2013, se detectó un gran impacto en esta categoría al evaluar diversos tratamientos basados en el sistema UV/TiO₂. En ese trabajo se asoció esta contribución principalmente a las emisiones atmosféricas fruto de la generación energética, ya que el mix empleado en el país del estudio (Grecia) tiene una gran dependencia de los recursos fósiles y, en concreto, del carbón (Chatzisyneon *et al.*, 2013). También Sbardella *et al.* (2020) detectaron que la toxicidad humana se encontraba entre las 5 categorías más relevantes en su estudio, en el que evaluaban dos procesos de oxidación avanzada basados en radicales sulfato. Sin embargo, en este caso determinaron que no solo la generación de electricidad contribuye a incrementar este impacto, sino que también el proceso de síntesis de persulfato es perjudicial en este sentido.

El cálculo de una puntuación única de impacto permite confirmar que, tal y como ya se había adelantado, el escenario 2 es el que menores impactos asociados tiene, al obtener una puntuación ponderada de 7,72 micropuntos. En el otro extremo se encuentra el escenario 4, con una puntuación de 18,5 micropuntos (Figura 7-18). El valor absoluto de puntuación única calculado no es relevante, ya que este resultado variará en función del tipo de metodología aplicada dado que cada metodología dispone sus propios factores de normalización y ponderación, dando mayor relevancia a unas categorías y otras. Sin

embargo, sí que permite realizar una comparación de los diferentes escenarios, gracias a la cual se pueden ordenar en función de su impacto ambiental global:

$$\text{Escenario 2} < \text{Escenario 3} < \text{Escenario 1} < \text{Escenario 4}$$

Al igual que se ha visto en esta investigación, Arzate *et al.* (2019) determinó que un tratamiento terciario basado en la ozonización tiene menos impactos que otros tratamientos, como el foto-Fenton, al no necesitar del uso de reactivos. En el tratamiento aquí evaluado el ozono sí que ha sido combinado con PMS, pero tanto la dosis de reactivo como el tiempo necesario son menores respecto a los tratamientos alternativos. Por el contrario, Tarpani y Azapagic (2018) concluyeron en su investigación que el ozono era, medioambientalmente, el peor tratamiento de entre los que comparó. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que, de entre los escenarios evaluados por estos autores, la ozonización es el único tratamiento que implica el uso de energía.

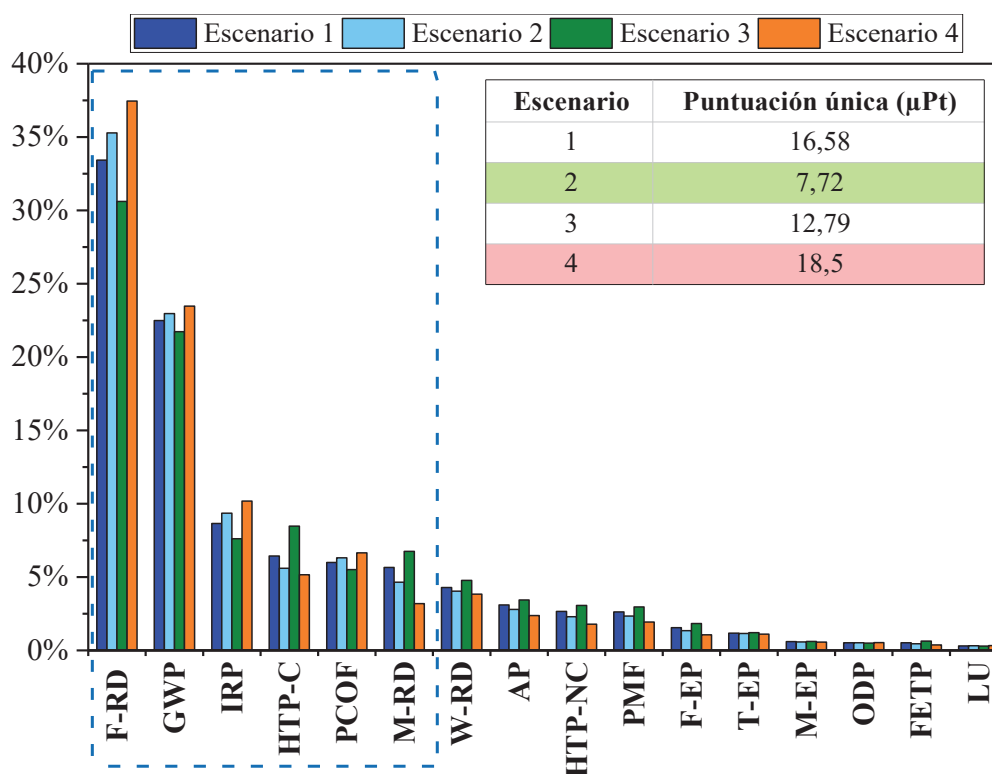


Figura 7-18. Impacto global de cada escenario (puntuación única) y contribución de cada una de las categorías.

Según la metodología *Product Environmental Footprint*, se consideran relevantes aquellos impactos cuya suma contribuye en un 80% al impacto global, mientras que el resto de las categorías se consideran no relevantes. En la Figura 7-18 se han resaltado las categorías más

relevantes en este estudio, que son: agotamiento de recursos fósiles (F-RD), cambio climático (GWP), potencial de radiación ionizantes (IRP), toxicidad humana (efectos cancerígenos, HTP-C), formación fotoquímica de ozono (PCOF) y agotamiento de recursos minerales (M-RD). A pesar de ser seis las categorías relevantes, cabe destacar cómo las dos primeras suponen más de un 50% del impacto global en todos los escenarios. Esto es debido, además de a la alta puntuación calculada para el agotamiento de recursos fósiles, a la gran importancia que se da en este método al cambio climático, que contribuye a la puntuación única con un factor de ponderación del 21 %.

Ambas categorías están altamente relacionadas con el consumo eléctrico y es que, una vez más, se confirma que la electricidad es, con diferencia, el elemento que contribuye en mayor medida al impacto global asociado a los diferentes tratamientos (Tabla 7-4). En el tratamiento más largo, representado en el escenario 4, esta contribución es superior al 90% y, aunque la proporción disminuye para los tratamientos más cortos y/o al aumentar la dosis de reactivos necesaria, siempre es superior al 65%. Por el contrario, a pesar de que la concentración de H_2O_2 utilizada en el escenario 3 es la misma que la de PMS, se puede ver cómo su contribución al impacto global es insignificante, tal y como ya afirmó también Pesqueira *et al.* (2022).

De forma general, la electricidad es el elemento que más influye en todos los estudios consultados en bibliografía (Foteinis *et al.*, 2018; Pesqueira *et al.*, 2020). Sin embargo, no siempre esta contribución es debida a la fase de uso, ya que algunos tratamientos fotocatalíticos dependen de la síntesis previa de nanopartículas, proceso que lleva asociado un alto consumo eléctrico y supone una parte importante del impacto global (Dubsok *et al.*, 2022). En lo que respecta al consumo energético derivado del uso de lámparas, los tratamientos solares son una gran forma de atajar este problema y reducir los impactos (Gallego-Schmid *et al.*, 2019; Pesqueira *et al.*, 2020).

Tabla 7-4. Contribución de los elementos involucrados en los tratamientos al impacto global de cada escenario.

	Escenario 1	Escenario 2	Escenario 3	Escenario 4
Electricidad (%)	75,8	82,7	65,6	90,8
PMS (%)	24,2	17,3	31,3	7,2
H₂O₂ (%)	0	0	3,1	2,1

Un resultado muy diferente fue el obtenido por Sbardella *et al.* (2020), ya que en su estudio del sistema persulfato/UV-A determinó que la producción de PMS supone un 85% del impacto global. Esta diferencia, sin embargo, puede explicarse por la alta concentración de reactivo utilizada (0,4 mM) en comparación con los bajos tiempos de operación y, por tanto, de consumo de energía eléctrica (< 4 min).

Debido a la gran importancia del gasto energético a la hora de determinar el impacto de los tratamientos, se ha realizado en el apartado 7.2.4 un análisis de sensibilidad en el que se ha evaluado la influencia del mix energético utilizado en la generación de energía.

7.2.3. Evaluación de impactos: ACV de la planta piloto

No existe uniformidad en la literatura acerca de la idoneidad de incluir la infraestructura en el análisis de impacto de los tratamientos (Pesqueira *et al.*, 2020), aunque sí que hay diversos autores que lo tienen en cuenta, sobre todo en las publicaciones más recientes (Arzate *et al.*, 2019; Foteinis *et al.*, 2018; Gallego-Schmid *et al.*, 2019). Y es que el impacto del tratamiento no está determinado únicamente por la fase de uso, sino que también debe tenerse en cuenta el impacto asociado a la instalación en que tienen lugar. Por ello, se ha realizado también un ACV de la planta piloto en que se han realizado los ensayos (utilizando como unidad funcional, en este caso, 1 planta piloto), y se ha calculado un nuevo impacto de los tratamientos teniendo en cuenta esta nueva contribución.

Los resultados del ACV realizado sobre la planta piloto se presentan en la Figura 7-19. Para cada una de las categorías se ha determinado la contribución de los diferentes elementos que conforman la planta, y destaca sobre el resto la importancia del bastidor de aluminio en la mayoría de las categorías. Esto no es de extrañar ya que, según el inventario realizado, su masa supone un 45% de la total de la planta.

Al igual que en el ACV anterior, se puede determinar cuáles son las categorías de impacto más relevantes de cara al impacto global de la planta. En este caso, la categoría más relevante es el uso de recursos minerales, representando un 27,5% del impacto total. Si bien esta categoría también era importante en el ACV de los tratamientos, en ese caso suponía alrededor de un 5%. El hecho de que sea tan alta en esta ocasión es debido a la extracción de materiales necesarios para la fabricación de la planta, principalmente el aluminio.

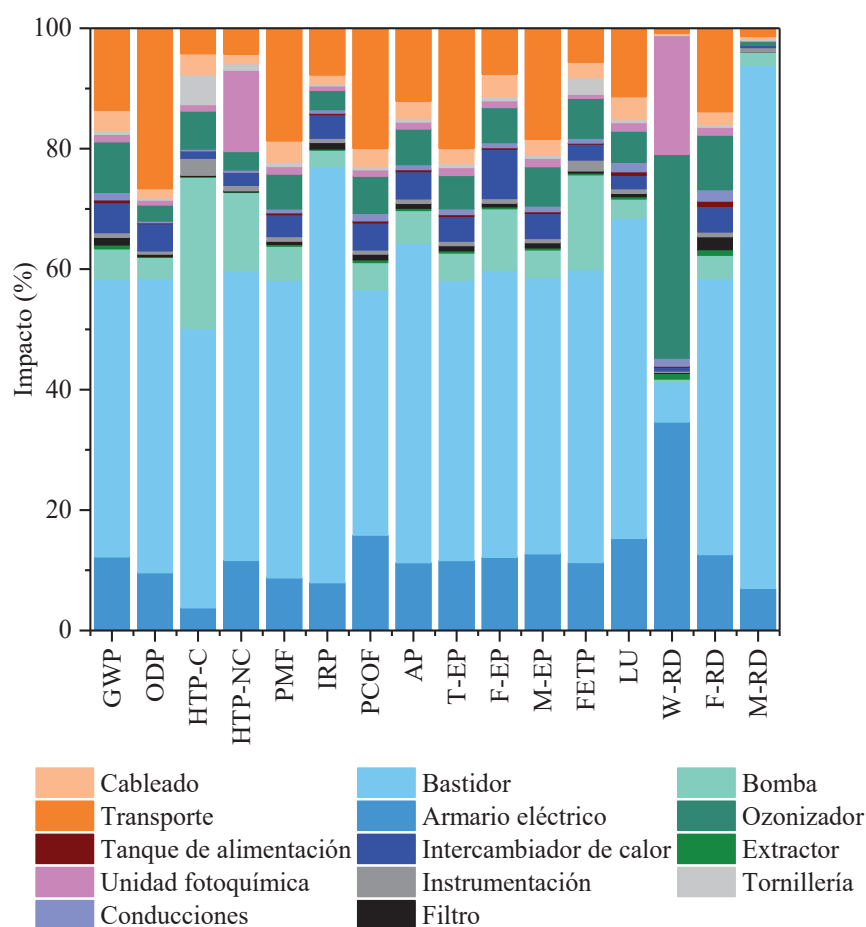


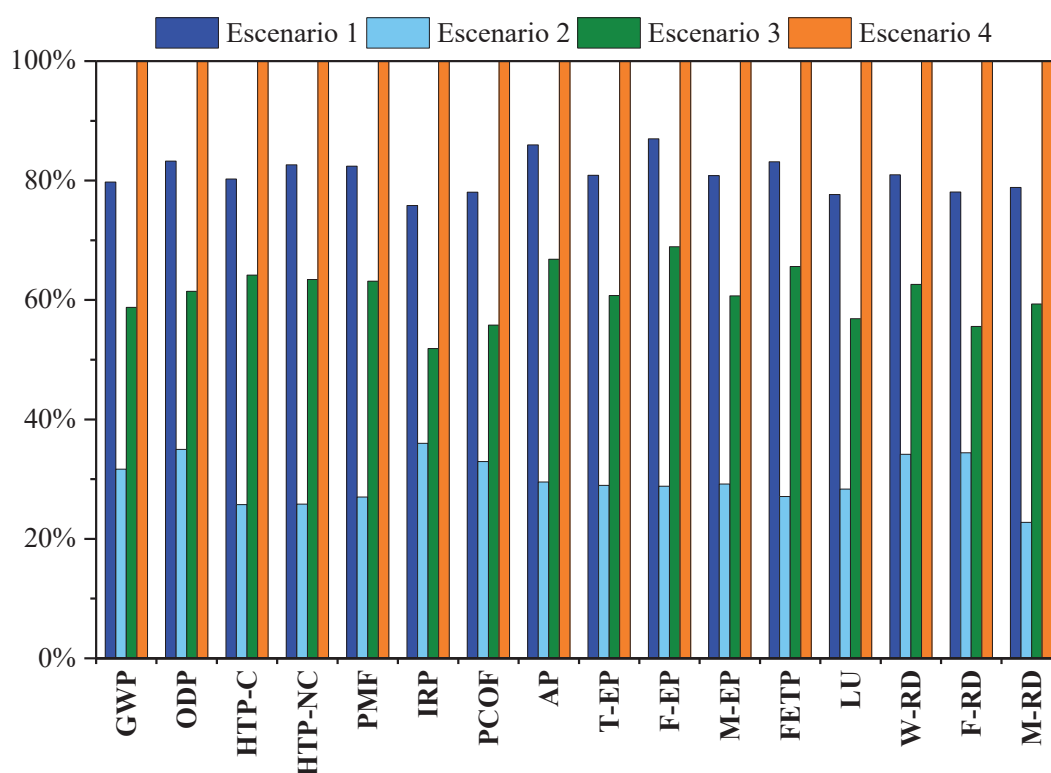
Figura 7-19. ACV de la planta piloto: contribución de los componentes principales a las diferentes categorías de impacto. La longitud total de la barra representa el 100% del impacto dentro de cada categoría.

Para poder sumar el impacto de la planta amortizado en cada tratamiento, es necesario relacionar las unidades funcionales utilizadas en los dos ACV. Para ello, se ha determinado que la planta se considerará amortizada en 10 años, durante los cuales trabajará 5 horas, 5 días a la semana, un total de 53 semanas al año. Teniendo esto en cuenta, se ha determinado el número de tratamientos que se podrían realizar en cada escenario. Esto se ha calculado en función del tiempo necesario para, como se estableció en la unidad funcional del ACV comparativo, la eliminación de 10^5 UFC·mL⁻¹ de *Enterococcus faecalis* en 35 L de agua residual (Tabla 7-5). Además, dado que el ozonizador ha demostrado tener un impacto significativo para algunas de las categorías de impacto, se ha supuesto que la planta se construye sin ozonizador para los escenarios 1, 3 y 4 (en los que no se usa) considerándose este elemento únicamente en el escenario 2.

Tabla 7-5. Número de tratamientos realizados en 10 años de funcionamiento de la planta piloto.

Escenario	Tratamientos en 10 años
1	8.833
2	39.750
3	13.250
4	6.625

Al tratar de forma independiente la etapa de uso, se veía como el escenario de mayor impacto variaba para cada categoría (Figura 7-17), siendo los más repetidos el 4 (debido a la importancia del consumo eléctrico) y el 1 (debido a la alta dosis de PMS necesaria). Al realizar este análisis teniendo en cuenta el impacto asociado a la planta, se observa como para todas las categorías, el escenario 4 es el peor (Figura 7-20). Esto se debe a que, al ser el escenario con una mayor duración, en los 10 años estimados para la amortización son menos el número de tratamientos que se pueden realizar y, por tanto, mayor la proporción del impacto global amortizada en cada uno de ellos.

**Figura 7-20.** Cuantificación de los impactos asociados a cada escenario (en términos de caracterización) teniendo en cuenta el impacto asociado a la fabricación de la planta piloto.

Si bien estos resultados no son extrapolables a una instalación a escala real en la que potencialmente se emplearán los procesos estudiados, ya que la configuración y los

materiales utilizados serían totalmente diferentes, sí que hay algunas conclusiones que pueden extraerse. Un tratamiento más corto, además de tener menores impactos asociados a la generación de energía, también permite realizar un mayor número de tratamientos en un tiempo de amortización determinado (10 años en este caso) lo que se traduce en un menor impacto de la instalación asociado la unidad funcional utilizada.

Para tener una visión más global del impacto ambiental de un tratamiento terciario, no bastaría con estudiar solamente el impacto del proceso o la instalación, que es inherentemente negativo por el uso de recursos y energía. Además, debería tenerse en cuenta el impacto positivo que supondría el eliminar contaminantes del agua y permitir su reutilización. Tarpani y Azapagoc (2018) tuvieron en cuenta en su estudio el beneficio de eliminar contaminantes del agua, si bien consideraron que la finalidad del efluente era su vertido al medio. En dicho estudio, si bien el tratamiento realizado con ozono a partir del aire es el que menor impacto tuvo de entre los tratamientos estudiados, el impacto positivo asociado a la eliminación de CPE se vio opacado por los impactos del tratamiento, siendo el balance global negativo. Una conclusión similar fue la alcanzada por Risch *et al.* (2022) en su trabajo, que afirmó que los beneficios directos obtenidos por el aumento de la calidad del agua se veían sobrepasados por los impactos derivados del consumo energético y de recurso. Sin embargo, debe tenerse en consideración que ambos trabajos se centran en los beneficios de la eliminación de unos determinados contaminantes objetivo. No obstante, al aplicar un tratamiento terciario se eliminarían muchos otros contaminantes que no se están considerando en dichos estudios y, por lo tanto, cabría esperar que aumentase el impacto positivo del tratamiento.

Por otra parte, ninguno de estos estudios considera el hecho de que el efluente tratado puede reutilizarse disminuyendo el consumo de recursos hídricos si se aleja un poco el foco del análisis. De hecho, al realizar un ACV del tratamiento de agua residual para su uso en el riego de cultivos, Canaj *et al.* (2021) comprobaron que el impacto asociado a la aplicación de un tratamiento terciario convencional y la posterior reutilización, es inferior comparado con el del vertido del efluente secundario. Por desgracia, hasta el momento no se ha realizado un estudio tan completo relativo a la aplicación de procesos de oxidación avanzada, pero sería de esperar que, al realizarlo, los resultados obtenidos fueran favorables.

7.2.4. Análisis de sensibilidad: influencia del mix energético

Los resultados obtenidos en un ACV son altamente sensibles a la metodología utilizada y a otros factores, como el mix energético en escenarios con un alto consumo eléctrico (Foteinis *et al.*, 2018; Pesqueira *et al.*, 2022). Debido a la alta contribución de la generación de energía al impacto global observada en el apartado 7.2.2, se ha decidido realizar un análisis de sensibilidad comparando los resultados obtenidos mediante el uso del mix energético del año 2020 (caso base), con los resultados basados en el mix energético nacional de España para el año 2014, que es el recogido en las bases de datos de *EcoInvent*. Se incluye también en la comparación un tercer escenario denominado Mix Renovable, dónde el 74 % de la generación proviene de energía renovable, según el objetivo propuesto en el Plan Nacional Integrado de Energía y Clima (PNIEC) para 2030. De este porcentaje, el 50% corresponde a la generación de energía eólica, y el 24 % a energía fotovoltaica e hidroeléctrica.

Tabla 7-6. Influencia del mix energético: variación de las diferentes categorías de impacto respecto a la puntuación obtenida en el caso base (mix energético 2020).

	Escenario 1		Escenario 2		Escenario 3		Escenario 4	
	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix	Mix
	Renovables	2014	Renovables	2014	Renovables	2014	Renovables	2014
GWP	-48%	81%	-51%	87%	-43%	73%	-55%	93%
ODP	-42%	-6%	-45%	-7%	-38%	-6%	-49%	-8%
IRP	-35%	18%	-35%	18%	-34%	17%	-35%	18%
PCOF	-80%	18%	-83%	19%	-75%	17%	-86%	20%
PMF	-11%	121%	-14%	148%	-9%	93%	-18%	197%
HTP-NC	-1%	204%	-2%	257%	-1%	153%	-2%	363%
HTP-C	12%	52%	16%	66%	8%	34%	19%	78%
AP	-29%	409%	-35%	493%	-23%	319%	-45%	638%
F-EP	-5%	371%	-7%	468%	-4%	272%	-9%	645%
M-EP	-39%	278%	-44%	309%	-33%	236%	-50%	352%
T-EP	-42%	300%	-46%	335%	-35%	254%	-53%	383%
FETP	1%	96%	2%	120%	1%	68%	2%	157%
LU	-11%	107%	-12%	114%	-10%	96%	-13%	121%
W-RD	-54%	68%	-62%	78%	-42%	53%	-72%	91%
F-RD	-42%	20%	-44%	21%	-40%	19%	-45%	22%
M-RD	15%	-16%	19%	-22%	10%	-12%	31%	-34%

En la Tabla 7-6 se muestran las variaciones respecto al escenario base al aplicar los nuevos mix energéticos. El uso de energías renovables supone un descenso generalizado de todas las categorías de impacto, siendo la más afectada la formación fotoquímica de ozono, cuya disminución se encuentra entorno al 80% para todos los escenarios. Por otra parte, se ha

observado un incremento mucho más significativo al aplicar el mix de 2014, llegando a aumentar el potencial de acidificación y la potencial de eutrofización de agua dulce hasta en un 638% y un 645%, respectivamente, en el escenario 4. Esta gran diferencia es debida, en gran medida, a la descarbonización que se ha llevado a cabo durante los últimos años en nuestro país.

Sea cual sea el mix energético utilizado, el escenario 2 se mantiene siempre como la mejor opción al calcular el impacto global (Figura 7-21). Sin embargo, aunque al utilizar el mix energético 2014 y 2020 el escenario 4 es claramente el que mayor puntuación alcanza, al establecer un mix energético con renovables, el peor, aunque por muy poco (0,1 μPt), es el escenario 1. Esto pone de manifiesto cómo, al disminuir la dependencia de los recursos fósiles, decrece la relevancia de la duración del tratamiento (o la energía consumida) y adquiere una mayor importancia la dosis de PMS utilizada (mucho más alta en el escenario 1).

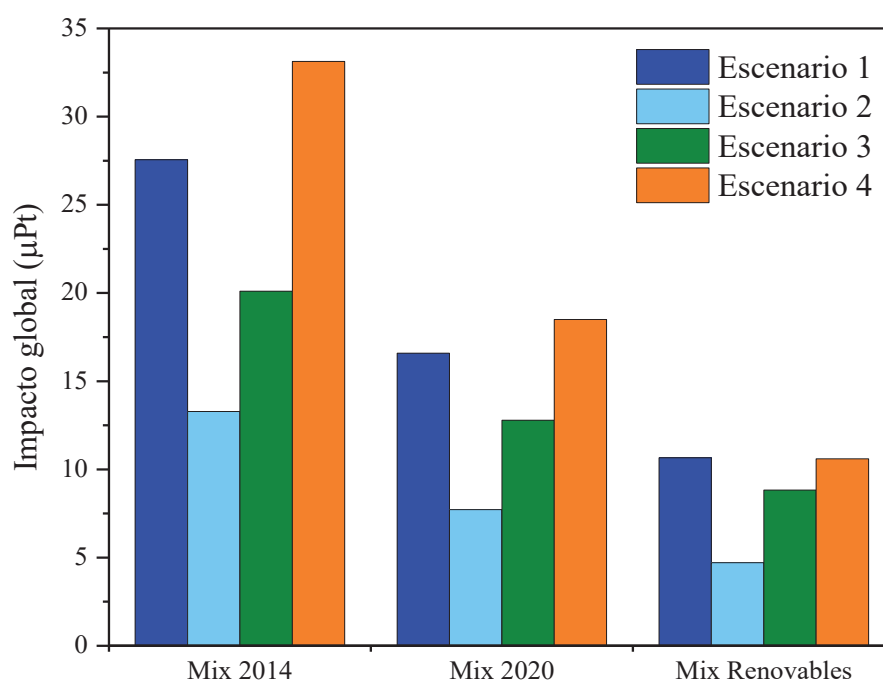


Figura 7-21. Influencia del mix energético sobre el impacto global de cada escenario.

También Foteinis *et al.* (2018) realizaron un análisis de sensibilidad en el que se evaluó la influencia del mix eléctrico, determinando que el uso de energías renovables puede reducir hasta en un 87% el impacto ambiental de los AOP basados en el uso de radiación UV. En el presente trabajo, se ha podido comprobar que para el escenario 3 (el mejor de los que usan

radiación UV-A) el impacto se reduce en casi un 60% respecto al resultado obtenido si se usara el mix energético de 2014. Esta disminución es menos significativa en este estudio debido a que el mix energético utilizado por Foteinis *et al.* (2018) (Grecia, 2016) es aún más dependiente de los combustibles fósiles que el español, ya que únicamente un 18% de la energía proviene de fuentes renovables, mientras en España este valor ya superaba el 40% en 2014 (Red Eléctrica de España, 2014). Un estudio similar hizo Pesqueira *et al.* (2022) al evaluar diferentes mix energéticos europeos, y comprobó que aquellos con un mayor uso de energías renovables (como la fotovoltaica) permiten una disminución significativa de los impactos, mientras que el uso de mix energéticos de países muy dependientes de los recursos fósiles como Serbia, Macedonia del norte o Montenegro implica un mayor impacto del mismo tratamiento.

7.3. Evaluación de tratamientos sobre un efluente secundario real

Hasta este momento, los tratamientos evaluados a escala piloto han sido aplicados sobre un agua residual sintetizada en el laboratorio. Además, se ha realizado un análisis de ciclo de vida gracias al que se ha podido comprobar que, medioambientalmente, el sistema PMS/O₃ es el más sostenible. Sin embargo, se ha demostrado en numerosas ocasiones a lo largo de este trabajo la importancia de la composición de la matriz en el resultado del tratamiento, existiendo en las aguas residuales componentes capaces de acelerar o inhibir los procesos. Por ello, se han evaluado los cuatro tratamientos previamente optimizados (recogidos en la tabla 7-1) también sobre condiciones más realistas, utilizando con este fin muestras de un efluente secundario real (cuyas características pueden observarse en la tabla 3-3 del capítulo de materiales y métodos).

Es de esperar que los resultados de desinfección sean similares a los obtenidos sobre muestras de ARS. Sin embargo, se ha aprovechado la oportunidad de disponer de un agua real para evaluar, de forma simultánea, la capacidad de los tratamientos para la eliminación de contaminantes emergentes y genes de resistencia a antibióticos presentes de forma natural en la matriz. Asimismo, se han realizado análisis de fitotoxicidad del agua antes y después de ser sometida a los diferentes tratamientos. De esta forma, podrá tomarse una decisión informada acerca del tratamiento óptimo no solo en base a su eficiencia e impacto medioambiental, sino también a la seguridad de la potencial reutilización del efluente obtenido.

7.3.1. Inactivación de microorganismos presentes en el agua residual

Hasta este punto, la concentración de microorganismos al inicio de los tratamientos de desinfección siempre ha sido conocida, al tratarse de una población inoculada artificialmente en las diferentes matrices. En esta ocasión, por el contrario, no se trata de un dato conocido, por lo que el primer paso que se dio fue analizar la presencia de diferentes especies para tener una idea aproximada del problema a enfrentar.

La concentración promedio registrada para todas las muestras analizadas se recoge en la Tabla 7-7. Al tratarse de muestras reales recogidas con días de diferencia, la desviación observada es relativamente alta, si bien la población de las diferentes especies se mantuvo en todo momento en el mismo orden de magnitud. Para poder comparar los resultados de los diferentes tratamientos, se han establecido valores iniciales normalizados, en función de la concentración observada. De esta forma, para la *E. coli* este valor se fijó en 10^3 mientras que la población de microorganismos aerobios totales se encontraba en torno a 10^5 UFC·mL⁻¹.

Tabla 7-7. Concentración de microorganismos en las muestras de efluente secundario real.

Especie	Concentración inicial promedio (UFC·mL ⁻¹)	Desviación	Valor de normalización
<i>E. coli</i>	$2,25 \cdot 10^3$	$1,79 \cdot 10^3$	10^3
<i>Enterococcus sp.</i>	$6,57 \cdot 10^1$	$4,62 \cdot 10^1$	-
<i>S. aureus</i>	$1,57 \cdot 10^1$	$9,03 \cdot 10^0$	-
Aerobios totales	$1,25 \cdot 10^5$	$4,41 \cdot 10^4$	10^5

La presencia de *Enterococcus sp.* y *Staphylococcus aureus*, por otra parte, es significativamente inferior, siendo en todo momento inferior a 100 UFC·mL⁻¹. Si bien se hizo un seguimiento de su eliminación durante los tratamientos, todos los evaluados (excepto la aplicación exclusiva de radiación UV-A) consiguieron su eliminación hasta alcanzar el límite de detección (<10 UFC·mL⁻¹) en menos de 5 minutos. Por lo tanto, se ha centrado la atención en la inactivación de especies presentes en una mayor concentración.

En la Figura 7-22 se muestra la inactivación de *E. coli* (A) y microorganismos aerobios (B) para todos los tratamientos excepto aquellos que involucran el uso de ozono que, al ser más cortos, se han representado en una figura diferente.

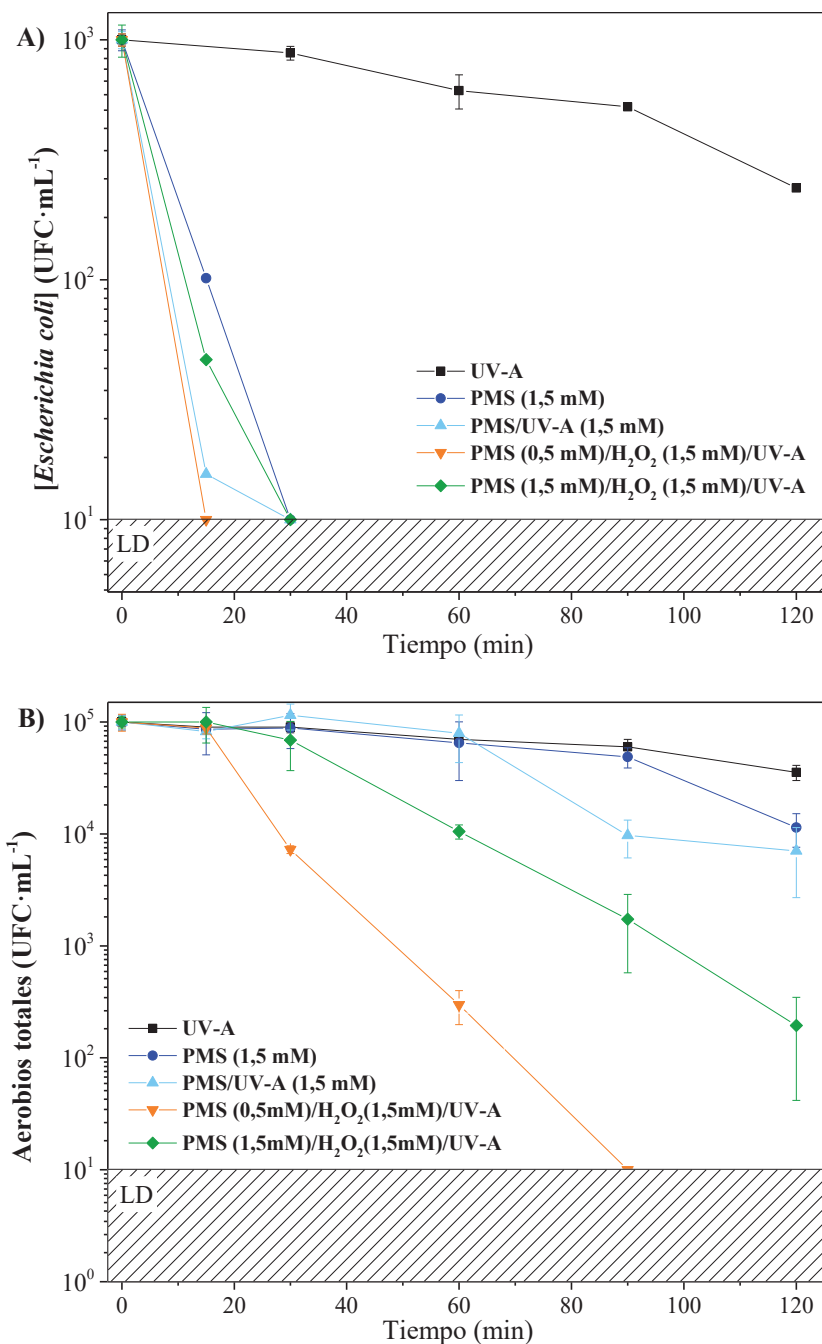


Figura 7-22. Inactivación de **A) *Escherichia coli***; **B) Microorganismos aerobios totales** presentes en un efluente secundario real. Condiciones experimentales: $[\text{H}_2\text{O}_2] = 1,5 \text{ mM}$; $\text{pH} \approx 7$; Intensidad de radiación = $1.900 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$. LD: Límite de detección.

Al igual que sucedía al realizar los ensayos en ARS, todos los tratamientos fueron capaces de reducir la población de *E. coli* por debajo del límite de detección en menos de 30 min. Por el contrario, solamente uno de los sistemas evaluados logró la eliminación de microorganismos aerobios totales. Al contrario de lo que se observó en el ARS, fue el

sistema PMS/H₂O₂/UV-A [1:3] el que consiguió mejores resultados, superando la eficacia de aquel con una mayor concentración de PMS. Suponiendo que los radicales generados al aplicar los tratamientos en las dos matrices evaluadas son los mismos, al utilizar una menor concentración de PMS son los radicales SO₄^{•-} los principales responsables de la desinfección, mientras que se vio en el apartado 7.1.4 como al incrementar la dosis de PMS esta especie reactiva pierde relevancia en favor de los radicales HO[•].

De los resultados aquí obtenidos, por lo tanto, puede extraerse que los radicales sulfato han resultado ser menos sensibles que los hidroxilo al cambio de la matriz. Esto se alinea con la teoría presentada por diversos autores que afirma que los radicales sulfato son más selectivos para la degradación de determinados contaminantes (Anipsitakis y Dionysiou, 2004; Nihemaiti *et al.*, 2018). Por su parte, el sistema PMS/UV-A, cuyo mecanismo de actuación se basa principalmente en vías no-radicales, perdió casi todo su poder desinfectante al emplear una matriz real, consiguiendo una reducción de la población microbiológica de poco más de 1 log.

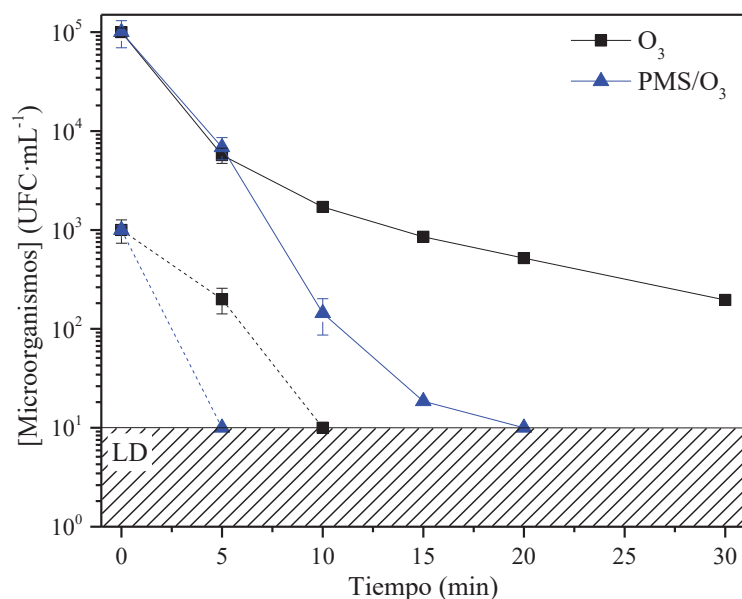


Figura 7-23. Inactivación de los microorganismos presentes en un efluente secundario real mediante el sistema PMS/O₃. Línea de puntos: *Escherichia coli*; Línea continua: microorganismos aerobios totales. Condiciones experimentales: [PMS] = 0,5 mM; O₃: 0,25 g·h⁻¹; pH ≈ 7. LD: Límite de detección.

Al aplicar los tratamientos en ARS, tanto el O₃ de forma independiente como el sistema PMS/O₃ fueron capaces de eliminar la población de *E. faecalis* en menos de 30 minutos (Figura 7-9) Sin embargo, en la Figura 7-23 se ve claramente como, mientras que el ozono

por sí solo no ha sido capaz de inactivar el total de los microorganismos aerobios presentes en la muestra, el proceso PMS/O₃ sí que permite alcanzar el límite de detección en solamente 20 minutos. Esta misma tendencia se puede apreciar para la eliminación de la *E. coli* (línea de puntos). Aunque en este caso ambos tratamientos son capaces de eliminar esta bacteria concreta, puede verse como al combinar los dos oxidantes esto se consigue apenas 5 minutos, haciendo falta el doble de tiempo si se utiliza solamente ozono.

7.3.2. Eliminación de genes de resistencia a antibióticos

En este trabajo se ha empleado una técnica de PCR en tiempo real para analizar la presencia de 9 genes diferentes (16S rRNA, *intI1*, *sul1*, *qnrS*, *tetM*, *blaTEM*, *blaCTX-M32*, *blaVIM* y *blaOXA-48*) en muestras de agua recogidas antes y después de los tratamientos. Para cada uno de ellos se ha determinado el Ct (número de ciclos de amplificación necesarios para la detección) cuantificando la abundancia relativa respecto al gen 16S rRNA. Este gen representa la abundancia microbiológica en el agua residual urbana. Haciendo esto para todas las muestras iniciales, se ha detectado que el ARG presente en una mayor medida es el *intI1*, seguido por el *sul1* y el *blaTEM* (Tabla 7-8). El resto de los genes, aunque presentes, se encontraron en concentraciones mucho más bajas.

De hecho, no se detectó *qnrS* en los ensayos realizados para evaluar los tratamientos con O₃ y PMS/O₃. El agua empleada para llevar a cabo estos experimentos fue recogida entre octubre de 2021 y marzo de 2022. La concentración de la mayoría de los ARG analizados se mantuvo relativamente constante con la excepción de, como se adelantaba, el gen *qnrS*. Esto podría explicarse por una posible estacionalidad en el uso de antibióticos de la familia de las quinolonas (norfloxacino, ciprofloxacino, ofloxacino, levofloxacino, etc.), responsables de la proliferación de ese gen. Sin embargo, los resultados de estacionalidad reportado por los diferentes autores no parecen encontrar un acuerdo respecto a este gen, habiendo publicaciones en las que se reporta un mayor consumo de estos antibióticos en verano (H. Zhang *et al.*, 2014), mientras que en otros se afirma que no existe una estacionalidad relevante en la concentración de estos antibióticos en aguas residuales (Golovko *et al.*, 2014). Esto se debe a que las quinolonas son antibióticos utilizados para el tratamiento de un amplio espectro de infecciones, como son las infecciones de las vías urinarias, del aparato gastrointestinal o infecciones cutáneas. Por lo tanto, el aumento del gen *qnrS* registrado en octubre puede deberse a un repunte puntual. Ni siquiera en ese momento la concentración de este gen era demasiado alta, simplemente lo suficiente para

ser detectada; por lo tanto, un pequeño descenso de esta ya haría su concentración fuese inferior al límite de detección del equipo.

En la Figura 7-24 se muestra, para los tratamientos que no involucran el uso ozono, la abundancia relativa de los genes detectados en mayor concentración. Se han incluido en las gráficas las eficacias individuales de la radiación (1) y el PMS (2) a modo comparativo. La abundancia relativa de los tres ARG no graficados puede extraerse de la Tabla 7-8.

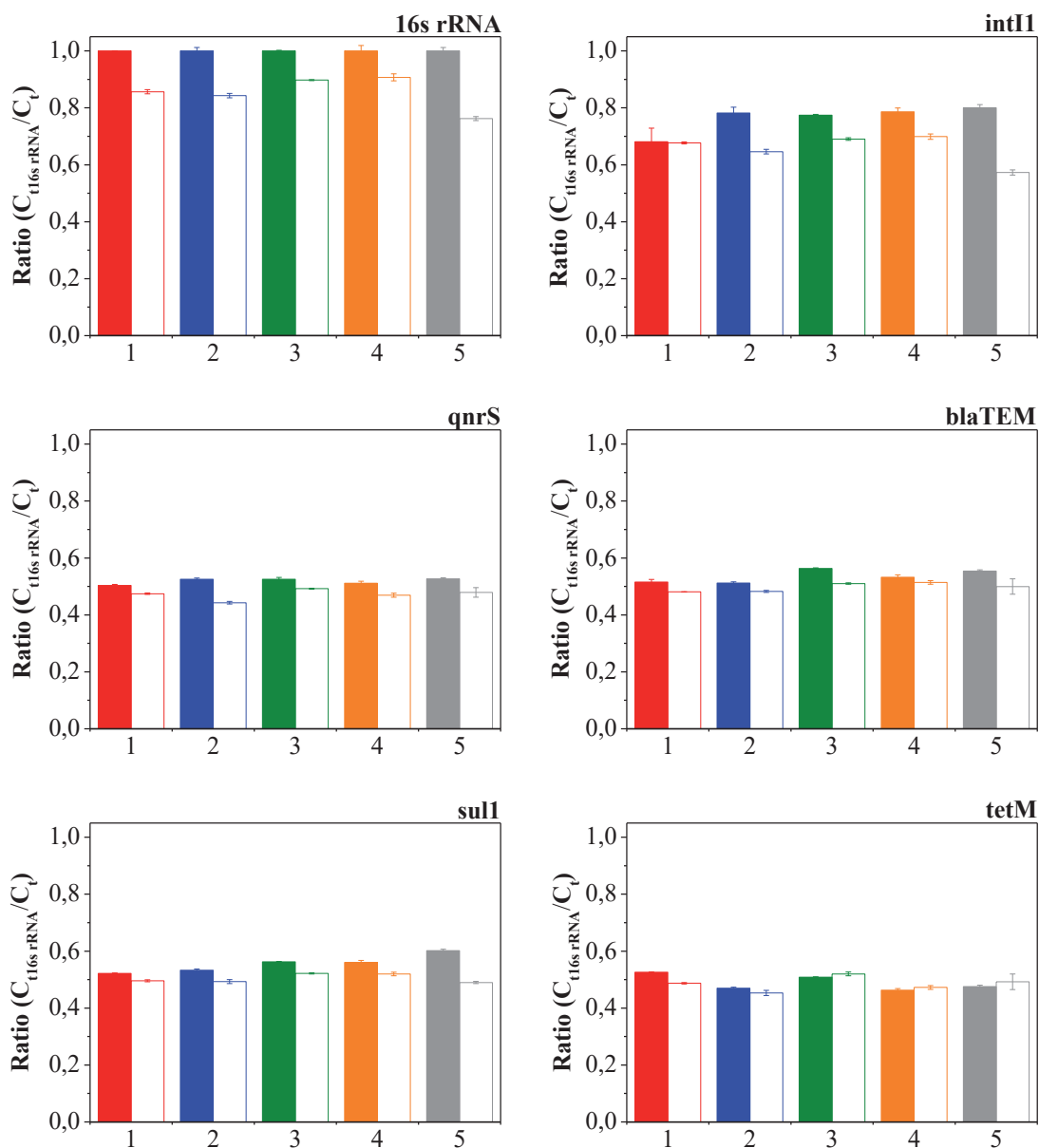


Figura 7-24. Abundancia relativa de los ARG antes y después de los tratamientos. **1.** UV-A; **2.** PMS (1,5 mM); **3.** PMS (1,5 mM)/UV-A; **4.** PMS (1,5 mM)/H₂O₂/UV-A; **5.** PMS (0,5 mM)/H₂O₂/UV-A. Condiciones experimentales: [H₂O₂] = 1,5 mM; O₃: 0,25 g·h⁻¹; pH ≈ 7; Intensidad de radiación = 1.900 W·m⁻². LD: Límite de detección.

Tabla 7-8. Abundancia relativa de los ARG detectados en el estudio: promedio y desviación estándar. Condiciones experimentales: $[H_2O_2] = 1,5 \text{ mM}$; O_3 : $0,25 \text{ g}\cdot\text{h}^{-1}$; $\text{pH} \approx 7$; Intensidad de radiación = $1.900 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$.

	<i>16s rRNA</i>	<i>intI1</i>	<i>bla_{TEM}</i>	<i>qnrS</i>	<i>sulI</i>	<i>tetM</i>	<i>bla_{OXA-48}</i>	<i>bla_{CTX-M32}</i>	<i>bla_{VIM}</i>
UV-A									
Inicio	$1,00 \pm 0,00$	$0,68 \pm 0,047$	$0,51 \pm 0,009$	$0,50 \pm 0,003$	$0,52 \pm 0,001$	$0,52 \pm 0,00$	$0,45 \pm 0,003$	$0,46 \pm 0,001$	$0,45 \pm 0,017$
Final	$0,85 \pm 0,007$	$0,67 \pm 0,003$	$0,48 \pm 0,00$	$0,47 \pm 0,002$	$0,49 \pm 0,003$	$0,49 \pm 0,002$	LC	LC	$0,44 \pm 0,01$
PMS (1,5 mM)									
Inicio	$1,00 \pm 0,012$	$0,78 \pm 0,020$	$0,51 \pm 0,003$	$0,52 \pm 0,004$	$0,53 \pm 0,004$	$0,47 \pm 0,003$	$0,44 \pm 0,005$	$0,43 \pm 0,01$	$0,45 \pm 0,005$
Final	$0,74 \pm 0,008$	$0,64 \pm 0,0081$	$0,48 \pm 0,004$	$0,44 \pm 0,005$	$0,49 \pm 0,007$	$0,45 \pm 0,009$	$0,43 \pm 0,009$	$0,44 \pm 0,004$	$0,41 \pm 0,007$
PMS (1,5 mM)/UV-A									
Inicio	$1,00 \pm 0,002$	$0,77 \pm 0,002$	$0,56 \pm 0,002$	$0,53 \pm 0,006$	$0,56 \pm 0,002$	$0,51 \pm 0,002$	$0,51 \pm 0,007$	LC	LC
Final	$0,89 \pm 0,002$	$0,69 \pm 0,005$	$0,51 \pm 0,002$	$0,49 \pm 0,002$	$0,52 \pm 0,002$	$0,52 \pm 0,007$	LC	LC	LC
PMS (1,5 mM)/H₂O₂/UV-A									
Inicio	$1,00 \pm 0,019$	$0,78 \pm 0,014$	$0,53 \pm 0,008$	$0,51 \pm 0,007$	$0,56 \pm 0,006$	$0,46 \pm 0,005$	$0,46 \pm 0,012$	$0,44 \pm 0,012$	$0,46 \pm 0,013$
Final	$0,91 \pm 0,012$	$0,70 \pm 0,009$	$0,51 \pm 0,006$	$0,47 \pm 0,007$	$0,52 \pm 0,006$	$0,47 \pm 0,006$	$0,43 \pm 0,007$	LC	$0,44 \pm 0,010$
PMS (0,5 mM)/H₂O₂/UV-A									
Inicio	$1,00 \pm 0,012$	$0,80 \pm 0,011$	$0,55 \pm 0,004$	$0,53 \pm 0,004$	$0,60 \pm 0,005$	$0,48 \pm 0,004$	LC	$0,47 \pm 0,005$	$0,49 \pm 0,014$
Final	$0,76 \pm 0,007$	$0,57 \pm 0,009$	$0,50 \pm 0,027$	$0,48 \pm 0,017$	$0,49 \pm 0,004$	$0,49 \pm 0,027$	LC	LC	LC
O₃									
Inicio	$1,00 \pm 0,060$	$0,91 \pm 0,059$	$0,60 \pm 0,031$	LC	$0,60 \pm 0,031$	$0,52 \pm 0,026$	$0,52 \pm 0,023$	$0,55 \pm 0,029$	$0,52 \pm 0,025$
Final	$0,66 \pm 0,030$	$0,86 \pm 0,050$	LC	LC	LC	LC	LC	LC	LC
PMS (0,5 mM)/O₃									
Inicio	$1,00 \pm 0,057$	$0,90 \pm 0,060$	$0,60 \pm 0,030$	LC	$0,60 \pm 0,028$	$0,53 \pm 0,029$	$0,53 \pm 0,026$	$0,52 \pm 0,026$	$0,53 \pm 0,027$
Final	$0,66 \pm 0,027$	$0,76 \pm 0,022$	LC	LC	LC	LC	LC	LC	LC

LC: Límite de cuantificación

Al igual que se vio en la sección anterior en la eliminación de microorganismos, el tratamiento que devuelve un mejor resultado es la combinación de 0,5 mM de PMS con H₂O₂ y radiación UV-A. No obstante, ninguno de los tratamientos es capaz de alcanzar una eliminación competitiva si se compara con los resultados reportados en la literatura.

En la investigación llevada a cabo por Berruti *et al.* (2021), se alcanzó la completa eliminación de la mayoría de los genes evaluados utilizando UV-C/PMS, requiriendo para ello menos de 60 min. Es muy grande la diferencia con los resultados aquí recogidos, pero esta puede deberse al uso de una radiación con un mayor aporte energético en el rango de absorción del PMS. Con un tratamiento similar al de Berruti *et al.*, Rodríguez-Chueca *et al.* (2019) no obtuvo resultados tan favorables. No obstante, la disparidad en los resultados mostrados por ambos autores es debida, probablemente, a los bajos tiempos de contacto empleados por Rodríguez-Chueca (4 - 18 seg) frente al tiempo requerido por el tratamiento planteado por Berruti (60 minutos de tratamiento equivalentes a 300 seg de contacto con la radiación, al haber utilizado un reactor con recirculación).

Hu *et al.* (2019) también combinó PMS con radiación UV-C, consiguiendo la eliminación de hasta 3,1 log del gen *sul1* y 3,3 log del gen *intI1*. Esta realidad evidencia que la radiación UV-C permite obtener resultados mucho mejores en la de eliminación de ARG. Mediante los tratamientos aquí evaluados (PMS/UV-A o PMS/H₂O₂/UV-A) se consigue la inactivación de microorganismos, pero estos no resultan los suficientemente eficaces en este ámbito. Aunque debido a la escasez de artículos que abordan el uso de PMS/H₂O₂/UV-A no ha sido posible encontrar en la literatura información relativa a la eficacia de este sistema en la eliminación de ARG, cabría esperar que, modificando el tratamiento para combinarlo con UV-C, se obtendrían también resultados más prometedores.

La situación es muy diferente tanto al utilizar ozonización como al combinar el uso de O₃ y PMS, ya que en ambos casos se ha conseguido eliminar la gran mayoría de los genes (por debajo del límite de detección) en los 30 minutos de duración del tratamiento (Figura 7-25). Los únicos genes que han podido ser cuantificados por el equipo pasado este tiempo han sido en 16S rRNA y el *intI1* reduciéndose la concentración del primero en casi un 40% para los dos tratamientos. Aunque la abundancia relativa del gen de referencia descendió de forma similar, la combinación de PMS/O₃ permitió obtener una eliminación del gen *intI1* más acusada, que se tradujo en un incremento del Ct en un 78% frente al 66% observado en el caso de la ozonización.

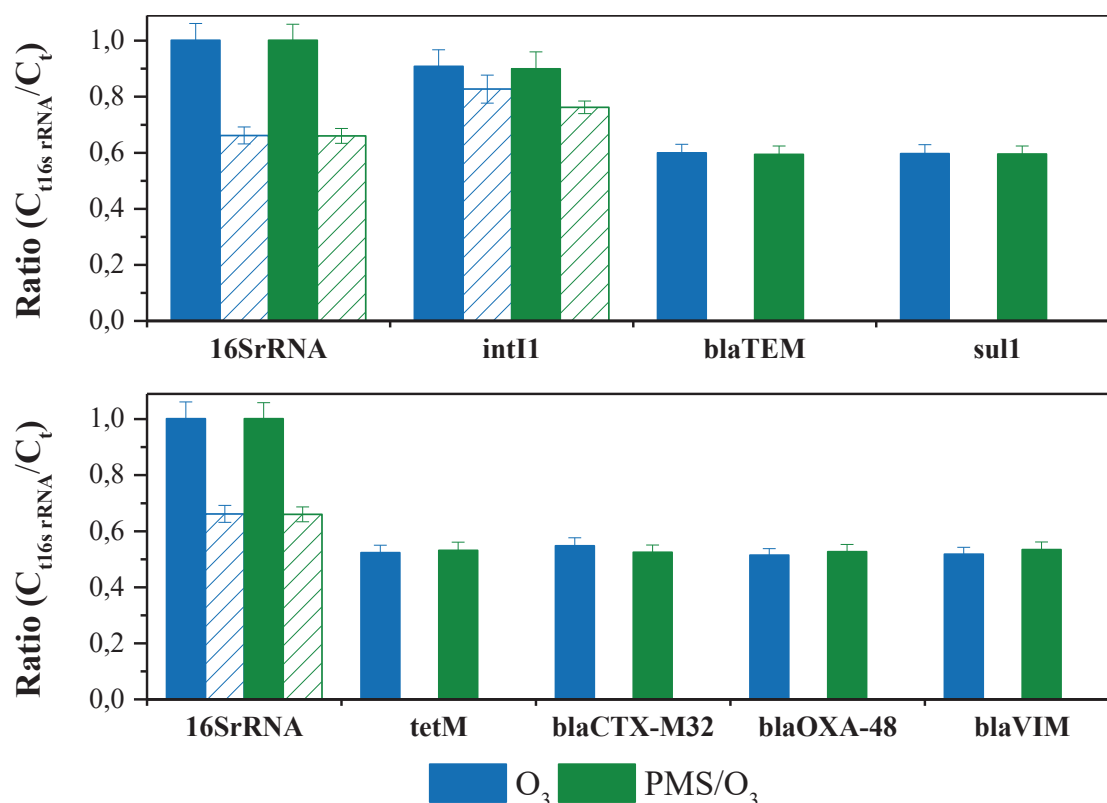


Figura 7-25. Abundancia relativa de los ARG antes y después del tratamiento de un efluente secundario real mediante el sistema PMS/ O_3 . Condiciones experimentales: [PMS] = 0,5 mM; O_3 : 0,25 g·h⁻¹; pH ≈ 7.

En esta ocasión, además de las muestras iniciales, se tomaron muestras de agua tras añadir el PMS (pero antes de poner en funcionamiento el ozonizador). Tras añadir el oxidante, se esperó unos minutos y se tomó una muestra con el objetivo de verificar que la adición de PMS (por sí sola) no modifica la carga genética en el agua. Tras analizar y comparar las muestras no se observaron diferencias relevantes antes y después de añadir el reactivo para ninguno de los genes evaluados (resultados no mostrados).

La eliminación de ARG mediante ozonización ha sido ampliamente estudiada, obteniendo buenos resultados que han sido publicados en numerosos artículos (Iakovides *et al.*, 2019; J. M. Sousa *et al.*, 2017; Zheng *et al.*, 2017). Sin embargo, y aunque cada vez es más frecuente la combinación de esta tecnología con otros elementos (US, UV, H_2O_2 , etc.) (Foroughi *et al.*, 2022), solo se ha encontrado a día de la escritura de este documento una publicación que reporta la evaluación del sistema PMS/ O_3 para la eliminación de ARB y ARG. En el estudio publicado por Oh *et al.* (2014) se compara la eficacia del O_3 , PMS/ O_3 , O_3 /PS y O_3 / H_2O_2 en

la eliminación del plásmido pB10 como indicador de resistencia. De entre los tratamientos evaluados, el PMS/O₃ fue el que mejores resultados obtuvo, eliminando 2 log en 15 minutos.

Ante el repunte observado en los últimos años en el estudio del potencial de este sistema para el tratamiento de aguas residuales, es de esperar que se produzca también un incremento en el número de investigaciones que evalúen su capacidad de eliminación de cada vez un mayor número de ARG.

7.3.3. Eliminación de contaminantes de preocupación emergente

Aunque el número de posibles contaminantes a analizar es incalculable, en este trabajo se ha estudiado la presencia de 73 compuestos correspondientes a categorías muy diversas, como son fármacos, estimulantes (cafeína) o pesticidas. En este capítulo no se evalúa de forma detallada la eliminación de cada uno de los contaminantes de forma individual, sino que se ha cuantificado la disminución de la carga total. No obstante, en el Anexo IV se recoge la lista completa de los compuestos analizados, así como sus concentraciones antes y después de cada uno de los tratamientos.

En la Figura 7-26 se muestra cómo la radiación, por sí sola, consigue la degradación del 45% de los contaminantes. Por su parte, el PMS solo es capaz de eliminar un 15% de la carga total de contaminantes analizados. En ambos casos puede observarse un incremento de la concentración de algunos de los compuestos evaluados, debido a que son subproductos generados en la degradación de otros. Este es el caso, por ejemplo, del tramadol N-Oxide que se genera como subproducto en la degradación del tramadol, que parece degradarse en su totalidad. Por otra parte, al igual que pudo observarse en el capítulo 6, existen algunos contaminantes que son eliminados en su totalidad mediante la oxidación directa por PMS. De hecho, en ambas ocasiones, tanto la ciprofloxacina como la eritromicina, han sido degradados al 100%, mientras que otros compuestos que parecían eliminarse en su totalidad a escala laboratorio no han sido analizados en esta ocasión (enrofloxacin, ofloxacin y metiocarb).

La combinación de PMS y UV-A permite aumentar el porcentaje de degradación hasta un 71%. Si bien la generación de radicales es limitada en este tratamiento (apartado 7.1.4) se aprecian sinergias entre ambos elementos, tal y como se observó para la inactivación de microorganismos en ARS. Sin embargo, es llamativo como la adición de H₂O₂ al tratamiento provoca un descenso de la capacidad de degradación de los procesos. Al utilizar el sistema

PMS/H₂O₂/UV-A se ha visto como la eliminación global descende hasta un 59% y un 22% al utilizar concentraciones de PMS 1,5 y 0,5 mM respectivamente. Esto contradice los resultados de desinfección y eliminación de genes de resistencia a antibióticos, ya que en ambas ocasiones se obtuvieron los mejores resultados al utilizar este sistema con una concentración 0,5 mM (si no se tienen en cuenta los tratamientos con ozono).

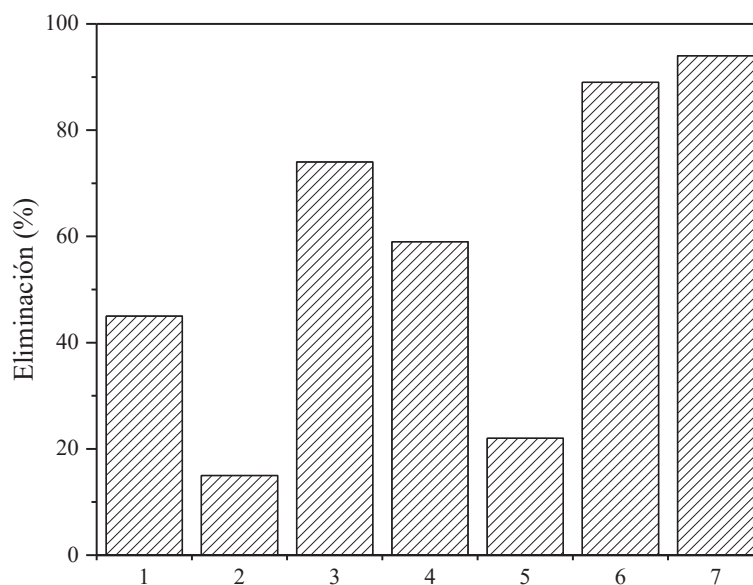


Figura 7-26. Eliminación global de CPE mediante los diferentes tratamientos evaluados a escala piloto. **1.** UV-A; **2.** PMS (1,5 mM); **3.** PMS (1,5 mM)/UV-A; **4.** PMS (1,5 mM)/H₂O₂/UV-A; **5.** PMS (0,5 mM)/H₂O₂/UV-A; **6.** O₃; **7.** PMS/O₃ (0,5 mM). Condiciones experimentales: [H₂O₂] = 1,5 mM; O₃: 0,25 g·h⁻¹; pH ≈ 7.

Al contrario que el PMS, y aunque se encuentra muy lejos de su pico de máxima absorbancia, el peróxido de hidrógeno presenta cierta absorbancia a la longitud de onda de trabajo (Figura 7-27). De esta forma, la competencia por la radiación podría traducirse en una menor cantidad de fotones disponibles para la degradación de los contaminantes.

Un fenómeno similar fue identificado por Rodríguez-Chueca *et al.* (2019) al evaluar la activación fotoquímica del PMS para el tratamiento de agua residual, ya que se obtuvieron mejores resultados al aplicar radiación UV-C de forma individual que al combinarla con el oxidante. Sin embargo, en su estudio este efecto fue observado en la eliminación de genes de resistencia a antibióticos, y no así en la degradación de contaminantes emergentes. Además, la absorción de radiación a 365 nm por parte del H₂O₂, aunque no es inexistente,

es extremadamente baja, por lo que no parece probable que se produzca este fenómeno de competitividad por los fotones.

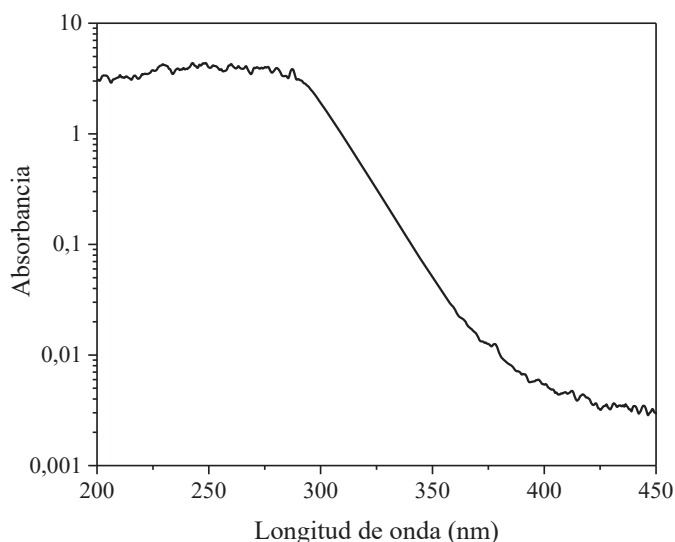


Figura 7-27. Espectro de absorción del H₂O₂ (obtenido de forma experimental).

Por otra parte, del bajo resultado de degradación obtenido mediante el sistema PMS/H₂O₂/UV-A [1:3] se deduce que los radicales sulfato generados (responsables de la inactivación bacteriana) o bien no son eficaces en la degradación de los contaminantes, o bien tienen cierta selectividad hacia los microorganismos.

No obstante, debe tenerse en cuenta que este estudio se ha realizado de forma puntual y el agua empleada en los distintos tratamientos ha sido recogida en días diferentes. Aunque no se apreciaron grandes cambios en los parámetros de caracterización de la matriz, deberían realizarse un mayor número de repeticiones, con muestras de agua recogidas en diferentes días, que permita confirmar que lo aquí observado no se trate de un fenómeno derivado de la composición de la matriz un día concreto.

Contrariamente, casi todos los contaminantes fueron degradados al aplicar tratamientos con ozono. El O₃, por sí solo, fue capaz de degradar un 89% de los compuestos orgánicos evaluados, mientras que la adición de 0,5 mM de PMS al tratamiento se tradujo en un aumento de la eficiencia hasta alcanzar una degradación del 94%. Estos resultados concuerdan con los alcanzados en el estudio realizado por Yang *et al.* (2022) acerca la eliminación de biocidas mediante este tratamiento. En él se observó un incremento de hasta un 62% en la eficacia de degradación de metilcloroisotiazolinona al combinar los dos

oxidantes. Aunque este incremento es muy superior al que se ha tenido en este trabajo, esto puede deberse a la gran diferencia en la concentración inicial de los contaminantes a degradar, de $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para los biocidas y del orden de $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ en las condiciones reales aquí evaluadas. También Deniere *et al.* (2022) observó una mejora en el desempeño del sistema PMS/O₃ frente a la ozonización para la eliminación de contaminantes orgánicos confirmando, una vez más, los beneficios de la combinación de ambos reactivos.

Al contrario de lo que ocurría en los demás tratamientos evaluados, al utilizar ozono no se observó la formación de subproductos como el Tramadol N-oxide, lo cual parece indicar una mayor mineralización de los contaminantes. Aun así, y a pesar de que la mayoría de los contaminantes fueron eliminados en su totalidad, algunos compuestos demostraron ser especialmente recalcitrantes. El caso más representativo es el de la cafeína, ya que la degradación de este compuesto es inferior al 6% al aplicar el sistema PMS/O₃. Pero no es este el único compuesto que ha demostrado ser significativamente más resistente, sino que también es posible encontrar en el efluente otros compuestos como la lamotrigina, la nicotinamida o el sulfametoxazol.

A la vista de los resultados, es posible afirmar que, una vez más, el tratamiento que combina PMS/O₃ es el que permite alcanzar una mayor eliminación de contaminantes. Del mismo modo, es necesario destacar que el sistema PMS/H₂O₂/UV-A, capaz de inactivar microorganismos aerobios y, en menor medida, eliminar genes de resistencia a antibióticos, no ha tenido resultados favorables en la eliminación de contaminantes emergentes en concentraciones reales.

7.3.4. Análisis de fitotoxicidad

Tanto en agua residual simulada como real, se ha visto en las secciones anteriores como los tratamientos que involucran el uso de ozono obtienen resultados más rápidos en la inactivación bacteriana, siendo también capaces de eliminar en mayor medida los genes de resistencia a antibióticos y los contaminantes emergentes presentes en la matriz. También el análisis de ciclo de vida realizado ha señalado al sistema PMS/O₃ como aquel que presenta unos menores impactos medioambientales. Sin embargo, con el objetivo de disponer de una visión lo más global posible, se ha realizado también un análisis de fitotoxicidad para evaluar la calidad del efluente obtenido y su potencial como fuente de agua para el riego de cultivos.

Para ello, tal y como se detalla en el apartado 3.9, se han utilizado semillas de dos especies diferentes: *Raphanus sativus* y *Solanum lycopersicum*.

Todas las semillas de *Raphanus sativus* han germinado, tanto al ser irrigadas con agua tratada como sin tratar (Tabla 7-9). Muy diferente es la situación si se observa la germinación de las semillas de *Solanum lycopersicum*, ya que se ha observado una mayor sensibilidad de esta especie a la toxicidad del efluente. Ni la radiación UV-A ni la adición de PMS en una concentración de 1,5 mM, tratamientos realizados como blanco, tuvieron un efecto sobre la germinación. Por otra parte, para todos los demás tratamientos que involucran el uso de PMS se ha apreciado un incremento en el número de semillas germinadas al regarlas con efluente tratado respecto a aquellas irrigadas con efluente secundario. Concretamente, al analizar los resultados obtenidos para los sistemas PMS/H₂O₂/UV-A se puede apreciar un incremento de más del 100%, indicando un descenso de la fitotoxicidad.

Tabla 7-9. Número de semillas germinadas en los análisis de fitotoxicidad realizados tras la aplicación de diferentes AOP sobre un efluente secundario real. Condiciones experimentales:

[H₂O₂] = 1,5 mM; O₃: 0,25 g·h⁻¹; pH ≈ 7.

Tratamiento	<i>Solanum lycopersicum</i>		<i>Raphanus sativus</i>	
	Inicio	Fin	Inicio	Fin
UV-A	10	10	15	15
PMS (1,5 mM)	10	10	15	15
PMS (1,5 mM)/UV-A	6	7	15	15
PMS (1,5 mM)/H ₂ O ₂ /UV-A	5	12	15	15
PMS (0,5 mM)/H ₂ O ₂ /UV-A	6	13	15	15
O ₃	7	4	15	15
PMS (0,5 mM) / O ₃	11	6	15	15

Por el contrario, existe un claro incremento de la toxicidad del efluente tras ser sometido a un tratamiento que involucra el uso de ozono, que se ve reflejado en una disminución del número de semillas germinadas. Este aumento de la toxicidad no se ha visto reflejado únicamente en el número de brotes obtenido, sino que también se ha observado una disminución de su longitud (Figura 7-28). Para el cálculo de la variación se ha tenido en cuenta únicamente la longitud de aquellos brotes germinados, sin considerar las semillas que

no llegaron a germinar. De esta forma, para el tratamiento PMS/O₃, por ejemplo, se ha calculado el promedio de los 11 brotes germinados en el efluente no tratado, comparándolo con el promedio de la longitud de los 6 brotes obtenidos en el efluente tratado.

Se ha observado una inhibición en el crecimiento de casi el 60% para los brotes de *Solanum lycopersicum* y de alrededor de un 30% para *Raphanus sativus* al evaluar el efluente tratado con ozono. Esta inhibición es menos acentuada tras el tratamiento realizado con PMS/O₃, reduciéndose la longitud de las plantas entre un 10 y un 30%.

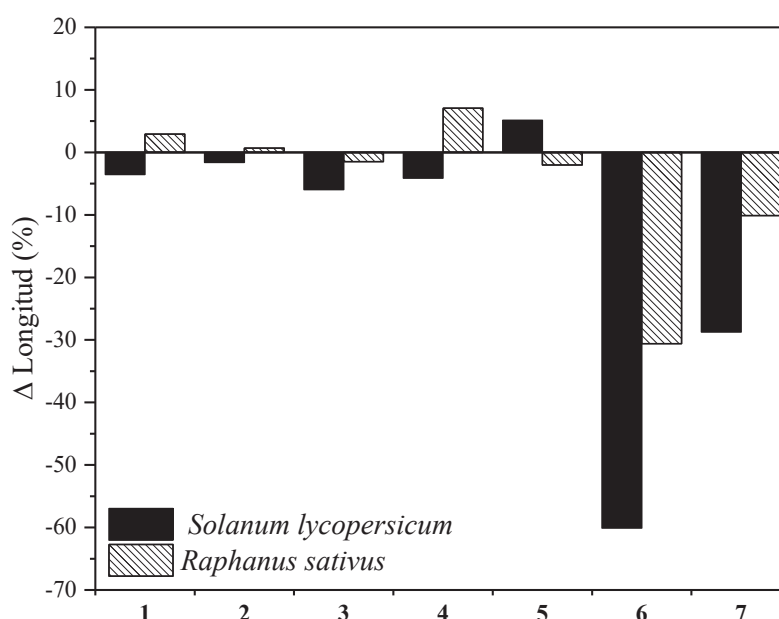


Figura 7-28. Variación en el crecimiento de los brotes alimentados con agua tratada y sin tratar. **1.** UV-A; **2.** PMS (1,5 mM) **3.** PMS (1,5 mM)/UV-A; **4.** PMS (1,5 mM)/H₂O₂/UV-A; **5.** PMS (0,5 mM)/H₂O₂/UV-A; **6.** O₃; **7.** PMS/O₃ (0,5 mM). Condiciones experimentales: [H₂O₂] = 1,5 mM; O₃: 0,25 g·h⁻¹; pH ≈ 7.

Tal y como se adelantaba en la introducción, uno de los potenciales inconvenientes del uso de la ozonización es la formación de subproductos, orgánicos e inorgánicos, que pueden suponer un riesgo para la salud. En diversos estudios llevados a cabo por otros autores se ha podido comprobar como la fitotoxicidad del efluente tiende a aumentar tras un tratamiento con ozono, debido a los subproductos generados durante la degradación de contaminantes, pero también a la oxidación de la materia orgánica (Iakovides *et al.*, 2019; Michael-Kordatou *et al.*, 2017). Dichos resultados están alineados con los obtenidos en este trabajo, si bien en este caso no ha sido posible obtener datos de intermedios o mineralización. Por otra parte, en el estudio de la degradación de iopamidol, Mao *et al.* (2020) comprobaron como la

combinación de PMS/O₃ reduce la formación de subproductos tóxicos frente al uso de ozono solamente, debido a la generación de radicales hidroxilo y sulfato responsables de la degradación. De nuevo, estas observaciones son coherentes con los resultados de fitotoxicidad aquí obtenidos. No obstante, no solo la combinación con PMS permite reducir la toxicidad. El sistema O₃/H₂O₂ también ha demostrado reducir la toxicidad frente al tratamiento solo con ozono, debido a una mayor mineralización de los contaminantes (Demir-Duz *et al.*, 2022).

Centrando la atención en los tratamientos que no involucran la ozonización, es oportuno recordar como en el capítulo 6 se vio como tras tratar un efluente secundario utilizando el sistema PMS/UV-A se conseguía un incremento en el crecimiento de los brotes de alrededor de entre un 18 y un 30%. Este fenómeno no se ha producido en este caso, sino que, por el contrario, se ha observado un ligero descenso en la longitud de los brotes de ambas especies estudiadas. Aunque existen diversos factores que pueden explicar este hecho, debe tenerse en cuenta que este descenso es en todo caso inferior al 10%, lo cual puede encontrarse dentro del margen de error aceptable en las técnicas de medición utilizadas y no constituyen una disminución relevante de la longitud. En primer lugar, la diferencia puede deberse al incremento de la dosis de PMS utilizada durante el tratamiento (1,5 mM vs 0,1 mM). Por otra parte, al caracterizar las muestras de agua utilizadas en sendos estudios, se ha visto como carga de materia orgánica en el agua empleadas en los ensayos recogidos en el capítulo 6 (procedente de una EDAR portuguesa; tabla 3-2) triplica, aproximadamente, a la aquí empleada (tabla 3-3). Esta mayor carga de materia orgánica puede favorecer el crecimiento de los brotes (Han jie Wang *et al.*, 2022). Finalmente, no debe perderse de vista que las especies utilizadas en ambos estudios han sido diferentes, por lo que realizar una comparación de los resultados obtenidos no es fiable, ya que distintas especies pueden reaccionar de forma diferente a un mismo tratamiento, como puede verse en la Figura 7-28.

De entre los tratamientos evaluados, el PMS/O₃ es capaz de eliminar contaminantes, microorganismos y genes con una mayor eficiencia y rapidez. Sin embargo, y aunque la toxicidad es significativamente inferior a la derivada del tratamiento únicamente con ozono, para poder implantar este tratamiento sería necesario disponer, a continuación, de un postratamiento capaz de eliminar subproductos generados (como podría ser un filtro de carbón activo) con el objetivo de hacer que el efluente fuera aprovechable para el riego. Esto incrementaría el coste y el impacto ambiental del tratamiento, reduciendo así las ventajas

que presenta frente a otros procesos de oxidación avanzada. Algunos autores ya evalúan la adición de más elementos durante el tratamiento, como materiales carbonosos (G. Wen *et al.*, 2020), o la realización de pretratamientos (Z. Liu *et al.*, 2021), para la inhibición de la formación de compuestos bromados durante el proceso.



CAPÍTULO 8:

CONCLUSIONES / CONCLUSIONS

CONCLUSIONES / CONCLUSIONS

8.1. Conclusiones y líneas futuras

Conclusiones

En este texto se han descrito y discutido los resultados obtenidos en las diferentes fases de esta investigación. Las principales conclusiones que se pueden extraer son:

1. La composición de la matriz acuosa ha demostrado ser clave a la hora de determinar la eficacia de los tratamientos, siendo diferente la reacción de cada sistema ante un mismo componente. De esta forma, se evaluó, por primera vez, la influencia de la presencia de F^- en la matriz acuosa y, de acuerdo con los resultados obtenidos, puede concluirse que su presencia es contraproducente para la inactivación de *E. faecalis*, si se emplea el sistema PMS/UV-A mientras que no tiene una influencia relevante en el sistema H_2O_2 /UV-A.
2. Mediante la realización de experimentos con *scavengers* se confirmó que los mecanismos de inactivación varían como consecuencia de la presencia de Cl^- en el medio. El $HO^\bullet$ fue identificado como el principal responsable de la eliminación de bacterias al aplicar el sistema H_2O_2 /UV-A en agua destilada, mientras que al aplicarlo a una matriz salina los resultados apuntan a la generación de cloro libre como agente desinfectante. Este fenómeno es paralelo al que se produce al utilizar el sistema PMS/UV-A, si bien la reacción directa entre el PMS y el Cl^- permite una inactivación mucho más rápida (< 5 min).
3. Se han observado sinergias en la combinación de sulfito de sodio con radiación UV-A y diferentes especies de hierro. De esta forma, se consiguió la inactivación de 10^6 UFC $\cdot$ mL $^{-1}$ de *E. faecalis* en agua residual simulada tras 90 minutos de tratamiento al utilizar citrato de hierro (III). Sin embargo, se descartó el escalado de este tratamiento debido a la necesidad de utilizar especies de hierro, encareciendo el proceso y añadiendo un factor contaminante al agua producto.
4. Dos modelos de *Machine Learning* ha sido capaces de predecir, con una precisión superior al 85%, los resultados de inactivación de *Enterococcus faecalis* que se obtendrían al aplicar diferentes condiciones experimentales.

La estrategia utilizada en el pretratamiento de los datos ha resultado ser crítica a la hora de determinar el modelo de ML que proporciona el mejor ajuste, siendo importantes, tanto la forma de ordenar la información que se proporciona al algoritmo como la elección de un método de codificación de variables categóricas adecuado. En este contexto, la codificación *One-Hot* permitió, de forma general, obtener mejores resultados al ser comparada con codificación ordinal.

5. La combinación de UV-A con 0,1 mM de PMS derivó en la degradación de un 87,4% de los 20 CPE adicionados a un efluente secundario real. El efecto sinérgico promedio observado entre los dos agentes involucrados en el tratamiento fue de casi un 70%.

La aplicación del mismo tratamiento en un agua residual procedente de una EDAR se tradujo en una reducción importante de la eficacia (28,9%). No obstante, un análisis de fitotoxicidad demostró un descenso significativo de este parámetro, incrementándose la longitud de los brotes para las 3 especies vegetales evaluadas.

6. De entre los tratamientos evaluados en agua residual simulada a escala piloto, la combinación de PMS (0,5 mM) y O_3 ($0,25\text{ g}\cdot\text{h}^{-1}$) ha sido la más rápida en la inactivación de microorganismos ($< 45\text{ min}$), y el único tratamiento capaz de degradar contaminantes emergentes ($5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de diclofenaco). Experimentos con *scavengers* permitieron confirmar la generación de $SO_4^{\bullet-}$ en el proceso, siendo estos responsables en gran medida de la inactivación bacteriana.
7. Se ha confirmado, también, la existencia de sinergias en la combinación de PMS, H_2O_2 y UV-A, optimizándose tres tratamientos capaces de inactivar $10^6\text{ UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$ de *E. faecalis* en menos de 120 min. La adición de *scavengers* durante los tratamientos permitió observar mecanismos de inactivación diferentes en función de la relación molar entre los dos reactivos: el $HO^{\bullet}$ es predominante cuando el tratamiento se realiza con una relación 1:1, mientras que prácticamente la totalidad de la inactivación se consigue con la generación de $SO_4^{\bullet-}$ al disminuir la concentración de PMS (relación 1:3). Este fenómeno se debe a que un exceso de PMS actúa como sumidero de radicales, impidiendo su interacción con las bacterias.
8. Mediante la realización de un Análisis del Ciclo de Vida ambiental comparativo se determinó que el tratamiento basado en la combinación de PMS y O_3 es el más

sostenible, debido al bajo consumo de reactivos y electricidad. Además, se encontró que el consumo eléctrico es el factor más importante al evaluar la sostenibilidad ambiental de un tratamiento, contribuyendo entre un 65 y un 90% al impacto total. Esto se vio reflejado también en las categorías de impacto, siendo las más relevantes, para todos los escenarios estudiados, el agotamiento de recursos fósiles y el cambio climático.

9. El sistema PMS/O₃ fue capaz de inactivar los microorganismos aerobios totales presentes en un efluente secundario real en menos de 10 minutos. Al mismo tiempo, se consiguió la eliminación por debajo del límite de detección de 6 de los 8 genes de resistencia a antibióticos evaluados, reduciendo la concentración de 16S rRNA en un 40%. Por el contrario, ninguno de los sistemas PMS/H₂O₂/UV-A fue capaz de eliminar ARG de forma significativa. Además, también el sistema PMS/O₃ fue el que se tradujo en la eliminación de un mayor número de CPE, con una eliminación promedio del 94%.

No obstante, los análisis de fitotoxicidad realizados revelaron un punto débil del sistema PMS/O₃, ya que se observó que su aplicación tiene un efecto negativo sobre la calidad del agua, inhibiendo el crecimiento de los brotes entre un 10 y un 30%. Esta inhibición se incrementa hasta el 60% al realizar un tratamiento con O₃ exclusivamente, por lo que la combinación de ambos reactivos es beneficiosa, si bien aún es evidente el margen de mejora.

Por tanto, a través de la experimentación (tanto en el laboratorio como a escala piloto) se ha demostrado la viabilidad de diferentes SR-AOP para la eliminación del agua residual (simulada o real) de contaminación microbiológica, contaminantes de preocupación emergente e, incluso, genes de resistencia antibióticos. Al mismo tiempo, se ha introducido el análisis de los resultados experimentales mediante técnicas de *Machine Learning* para la predicción de resultados de desinfección. Esto puede suponer un gran avance para la evaluación de estos tratamientos al abrir la posibilidad de un ahorro significativo en tiempo y recursos en las fases de desarrollo de nuevo tratamientos. Con todo esto, se busca fomentar la reutilización del agua en un contexto de economía circular.

Líneas futuras

La investigación es un proceso continuo al que difícilmente se puede poner un punto final. Es por ello por lo que, tal y como se ha dejado ver hasta ahora, este trabajo deja una puerta abierta a continuar desarrollando diversas líneas de investigación.

Por una parte, el alto potencial demostrado por combinación de ML y AOP hace que sea mucho el margen de desarrollo en este campo. Es necesario resaltar, una vez más, que el número de datos disponible para la realización de este estudio de ML ha sido limitado. Por ello, una de las vías de trabajo de interés sería la elaboración de una amplia base de datos, bien experimentales o extraídos de la realización de una revisión bibliográfica extensa, que permitiera la verificación de las conclusiones aquí recogidas. Además, aunque en esta investigación se han evaluado diferentes algoritmos basados en árboles de decisión, no debe obviarse la existencia de muchas otras aproximaciones que podrían estudiarse y que podrían arrojar, también, buenos resultados.

Por otra parte, la combinación de PMS y O₃ ha demostrado muy eficaz en la eliminación de contaminantes en agua real, además de ser el más sostenible de entre los tratamientos comparados en el análisis de ciclo de vida realizado. Aunque los resultados obtenidos son prometedores, es importante tener en consideración el aumento de la fitotoxicidad tras el tratamiento, que podría hacer que el efluente fuera inapropiado para su reutilización como agua de riego. Por tanto, es imprescindible estudiar la naturaleza de los subproductos tóxicos generados, así como posibilidad de implantar un postratamiento que elimine dichos compuestos, garantizando de esta forma un agua de calidad. Igualmente, resultaría de interés la comparación de este tratamiento con tratamientos terciarios convencionales, no solamente en términos de eficacia sino también económicos y de sostenibilidad ambiental.

Finalmente, con el objetivo de escalar los tratamientos evaluados, será necesaria la realización de tratamientos en continuo que reflejen el funcionamiento de una instalación industrial.

8.2. Conclusions and future work

Conclusions

In this document, the results obtained in the different phases of this research have been described and discussed. The main conclusions that can be drawn are:

1. The composition of the aqueous matrix has been shown to be key in determining the efficacy of the treatments, the reaction of each system to the same component being different. Thus, the influence of the presence of F^- in the aqueous matrix was evaluated for the first time and, according to the results obtained, it can be concluded that its presence is counterproductive for the inactivation of *E. faecalis* if the PMS/UV-A system is used, while it does not have a relevant influence in the H_2O_2 /UV-A system.
2. Experiments with scavengers confirmed that inactivation mechanisms vary because of the presence of Cl^- in the aqueous matrix. $HO^\bullet$ was identified as the main responsible for the elimination of bacteria when applying the H_2O_2 /UV-A system in distilled water, while when applied to a saline matrix the results point to the generation of free chlorine as a disinfecting agent. This phenomenon is parallel to that produced when using the PMS/UV-A system, although the direct reaction between PMS and Cl^- allows a much faster inactivation (< 5 min).
3. Synergies have been observed in the combination of sodium sulphite with UV-A radiation and different iron species. Thus, inactivation of 10^6 CFU $\cdot$ mL $^{-1}$ of *E. faecalis* in simulated wastewater was achieved after 90 min of treatment when using iron (III) citrate. However, scaling up this treatment was discarded due to the need to use iron species, making the process more expensive and adding a contaminant factor to the product water.
4. Two Machine Learning models have been able to predict, with an accuracy higher than 85%, the *Enterococcus faecalis* inactivation rate that would be obtained by applying different experimental conditions.

The strategy used in the pre-treatment of the data has proved to be critical in determining the ML model that provides the best fit, being important both the way of sorting the information provided to the algorithm and the choice of an appropriate

encoding method for categorical variables. In this context, One-Hot encoding gave better results when compared to ordinal encoding.

5. The combination of UV-A with 0.1 mM PMS resulted in the degradation of 87.4% of the 20 contaminants of emerging concern added to a real secondary effluent. The average synergistic effect observed between the two agents involved in the treatment was almost 70%.

The application of the same treatment on real conditions of pollutants concentration resulted in a significant reduction in efficacy (28.9%). However, a phytotoxicity analysis showed a significant decrease in this parameter, increasing shoot length for the 3 plant species evaluated.

6. Among the treatments evaluated in simulated wastewater at pilot-scale, the combination of PMS (0.5 mM) and O₃ (0.25 g·h⁻¹) was the fastest in inactivating microorganisms (< 45 min), and the only treatment capable of degrading emerging pollutants (5 mg·L⁻¹ diclofenac). Experiments with scavengers confirmed the generation of SO₄^{•-} in the process, being largely responsible for bacterial inactivation.
7. The existence of synergies in the combination of PMS, H₂O₂ and UV-A has also been confirmed, three different treatments being capable of inactivating 10⁶ CFU·mL⁻¹ of *E. faecalis* in less than 120 min. The addition of scavengers during the treatments allowed to observe different inactivation mechanisms depending on the molar ratio between the two reagents: HO[•] is predominant when the treatment is carried out with a 1:1 ratio, whereas SO₄^{•-} is primarily responsible for the inactivation as the PMS concentration decreases (1:3 ratio). This phenomenon occurs because an excess of PMS acts as a sink for radicals, preventing their interaction with the bacteria.
8. By performing a comparative Life Cycle Assessment, it was determined that the treatment based on the combination of PMS and O₃ is the most sustainable, due to the low consumption of reagents and electricity. Furthermore, electricity consumption was found to be the most important factor when assessing the environmental sustainability of a treatment, contributing between 65 and 90% to the total impact. This was also reflected in the impact categories, with fossil resource depletion and climate change being the most relevant for all scenarios studied.

9. The PMS/O₃ system was able to inactivate the total aerobic microorganisms present in a real secondary effluent in less than 10 minutes. At the same time, it achieved the elimination below the detection limit of 6 of the 8 antibiotic resistance genes tested, reducing the concentration of 16S rRNA by 40%. In contrast, none of the PMS/H₂O₂/UV-A systems were able to significantly remove ARG. Furthermore, also the PMS/O₃ system resulted in the removal of the highest number of organic pollutants, with an average removal of 94%.

However, phytotoxicity analyses revealed a weakness of the PMS/O₃ system, as it was observed that its application has a negative effect on water quality, inhibiting shoot growth by 10-30%. This inhibition increases to 60% when treating wastewater with O₃ alone, so the combination of both reagents is beneficial, although there is still clear room for improvement.

Therefore, through experimentation (both in the laboratory and at pilot scale), the feasibility of different SR-AOP for the removal of microbiological contamination, contaminants of emerging concern and even antibiotic resistance genes from wastewater (simulated or real) has been demonstrated. At the same time, the analysis of experimental results using Machine Learning techniques has been introduced for the prediction of disinfection results. This may represent a breakthrough for the evaluation of these treatments by allowing significant time and resources savings in the development phases of new treatments. Through this, the aim is to promote the reuse of water in a circular economy context.

Future work

Research is an ongoing process that can hardly be ended. That is why, as it has been already stated, this work leaves the door open for the further development of various research lines.

On the one hand, the high potential demonstrated by the combination of ML and AOP means that there is high potential for development in this field. It is necessary to emphasise, once again, that the amount of data available for this ML study was limited. Therefore, one of the avenues of interest would be the development of an extensive database, either experimental or extracted from an extensive literature review, which would allow verification of the conclusions drawn here. Furthermore, although this research has evaluated different decision tree-based algorithms, it should not be forgotten that there are many other approaches that could be assessed and that could also yield good results.

On the other hand, the combination of PMS and O₃ has been shown to provide very good results in terms of pollutant removal in real water, as well as being the most sustainable among the treatments compared via life cycle assessment. Despite the promising results obtained, it is important to take into consideration the increase in phytotoxicity after treatment, which could make the effluent unsuitable for reuse as irrigation water. It is therefore essential to study the nature of the toxic by-products generated, as well as the possibility of implementing a post-treatment that eliminates these compounds, thus guaranteeing quality water. It would also be of interest to compare this treatment with conventional tertiary treatments, not only in terms of efficiency but also in terms of economic and environmental sustainability.

Finally, in order to scale up the treatments here evaluated, it would be necessary to assess their efficacy while operating in continuous mode, thus simulating the working conditions in an industrial wastewater treatment plant.

CAPÍTULO 9:

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Ajonina, C., Buzie, C., Ajonina, I. U., Basner, A., Reinhardt, H., Gulyas, H., Liebau, E., y Otterpohl, R. (2012). Occurrence of *cryptosporidium* in a wastewater treatment plant in north germany. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues*, 75(22–23), 1351–1358. <https://doi.org/10.1080/15287394.2012.721167>
- Amanollahi, H., Moussavi, G., y Giannakis, S. (2021). Enhanced vacuum UV-based process (VUV/H₂O₂/PMS) for the effective removal of ammonia from water: Engineering configuration and mechanistic considerations. *Journal of Hazardous Materials*, 402, 123789. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123789>
- American Public Health Association (APHA). (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water* (R. B. Baird, A. D. Eaton, y E. W. Rice (eds.); 23st ed.).
- Anipsitakis, G. P., y Dionysiou, D. D. (2004a). Radical generation by the interaction of transition metals with common oxidants. *Environmental Science and Technology*, 38(13), 3705–3712. <https://doi.org/10.1021/es035121o>
- Anipsitakis, G. P., y Dionysiou, D. D. (2004b). Transition metal/UV-based advanced oxidation technologies for water decontamination. *Applied Catalysis B: Environmental*, 54(3), 155–163. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2004.05.025>
- Antoniou, M. G., de la Cruz, A. A., y Dionysiou, D. D. (2010). Degradation of microcystin-LR using sulfate radicals generated through photolysis, thermolysis and e⁻ transfer mechanisms. *Applied Catalysis B: Environmental*, 96(3–4), 290–298. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2010.02.013>
- Ao, X., y Liu, W. (2017). Degradation of sulfamethoxazole by medium pressure UV and oxidants: Peroxymonosulfate, persulfate, and hydrogen peroxide. *Chemical Engineering Journal*, 313, 629–637. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.12.089>
- Ao, X., Liu, W., Sun, W., Cai, M., Ye, Z., Yang, C., Lu, Z., y Li, C. (2018). Medium pressure UV-activated peroxymonosulfate for ciprofloxacin degradation: Kinetics, mechanism, and genotoxicity. *Chemical Engineering Journal*, 345, 87–97. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.03.133>
- Ao, X., Sun, W., Li, S., Yang, C., Li, C., y Lu, Z. (2019). Degradation of tetracycline by medium pressure UV-activated peroxymonosulfate process: Influencing factors, degradation pathways, and toxicity evaluation. *Chemical Engineering Journal*, 361, 1053–1062. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.12.133>
- Aryee, A. A., Mpatani, F. M., Han, R., Shi, X., y Qu, L. (2021). A review on adsorbents for the remediation of wastewater: Antibacterial and adsorption study. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(6), 106907. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106907>

- Arzate, S., Pfister, S., Oberschelp, C., y Sánchez-Pérez, J. A. (2019). Environmental impacts of an advanced oxidation process as tertiary treatment in a wastewater treatment plant. *Science of The Total Environment*, 694, 133572. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.378>
- Asociación Española de Abastecimientos de Agua y Saneamiento (AEAS). (2017). *Informe sobre aguas residuales en España*. 1–22. <http://www.asoaeas.com/sites/default/files/Documentos/Informe sobre aguas residuales AEAS.pdf>
- Babuponnusami, A., y Muthukumar, K. (2014). A review on Fenton and improvements to the Fenton process for wastewater treatment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(1), 557–572. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2013.10.011>
- Bach, R. D., y Schlegel, H. B. (2020). Bond Dissociation Energy of Peroxides Revisited. *Journal of Physical Chemistry A*, 124(23), 4742–4751. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.0c02859>
- Backhaus, T., y Karlsson, M. (2014). Screening level mixture risk assessment of pharmaceuticals in STP effluents. *Water Research*, 49, 157–165. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.11.005>
- Bagherzadeh, F., Mehrani, M. J., Basirifard, M., y Roostaei, J. (2021). Comparative study on total nitrogen prediction in wastewater treatment plant and effect of various feature selection methods on machine learning algorithms performance. *Journal of Water Process Engineering*, 41, 102033. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102033>
- Balestri, E., Menicagli, V., Ligorini, V., Fulignati, S., Raspolli Galletti, A. M., y Lardicci, C. (2019). Phytotoxicity assessment of conventional and biodegradable plastic bags using seed germination test. *Ecological Indicators*, 102, 569–580. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.03.005>
- Barbosa, M. O., Moreira, N. F. F., Ribeiro, A. R., Pereira, M. F. R., y Silva, A. M. T. (2016). Occurrence and removal of organic micropollutants: An overview of the watch list of EU Decision 2015/495. *Water Research*, 94, 257–279. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.02.047>
- Behera, S. K., Kim, H. W., Oh, J. E., y Park, H. S. (2011). Occurrence and removal of antibiotics, hormones and several other pharmaceuticals in wastewater treatment plants of the largest industrial city of Korea. *Science of the Total Environment*, 409(20), 4351–4360. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.07.015>
- Berruti, I., Nahim-Granados, S., Abeledo-Lameiro, M. J., Oller, I., y Polo-López, M. I. (2021). UV-C Peroxymonosulfate Activation for Wastewater Regeneration: Simultaneous Inactivation of Pathogens and Degradation of Contaminants of Emerging Concern. *Molecules*, 26(16), 4890. <https://doi.org/10.3390/molecules26164890>
- Berruti, I., Oller, I., y Polo-López, M. I. (2021). Direct oxidation of peroxymonosulfate

- under natural solar radiation: Accelerating the simultaneous removal of organic contaminants and pathogens from water. *Chemosphere*, 279, 130555. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130555>
- Bianco, A., Polo-López, M. I., Fernández-Ibáñez, P., Brigante, M., y Mailhot, G. (2017). Disinfection of water inoculated with *Enterococcus faecalis* using solar/Fe(III)EDDS- H_2O_2 or $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ process. *Water Research*, 118, 249–260. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.03.061>
- Bielski, B. H. J., Cabelli, D. E., Arudi, R. L., y Ross, A. B. (1985). Reactivity of $\text{HO}_2/\text{O}^{-2}$ Radicals in Aqueous Solution. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 14(4), 1041–1100. <https://doi.org/10.1063/1.555739>
- Bolton, J. R., Bircher, K. G., Tumas, W., y Tolman, C. A. (2001). Figures-of-merit for the technical development and application of advanced oxidation technologies for both electric- and solar-driven systems. *Pure and Applied Chemistry*, 73(4), 627–637. <https://doi.org/10.1351/pac200173040627>
- Brandt, C., y Eldik, R. Van. (1995). Transition Metal-Catalyzed Oxidation of Sulfur (IV) Oxides . Atmospheric-Relevant Processes and Mechanisms. *Chemical Reviews*, 95, 119–190. <https://doi.org/10.1021/cr00033a006>
- Brillante, L., Gaiotti, F., Lovat, L., Vincenzi, S., Giacosa, S., Torchio, F., Segade, S. R., Rolle, L., y Tomasi, D. (2015). Investigating the use of gradient boosting machine, random forest and their ensemble to predict skin flavonoid content from berry physical–mechanical characteristics in wine grapes. *Computers and Electronics in Agriculture*, 117, 186–193. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2015.07.017>
- Browniee, J. (2021). *Nested Cross-Validation for Machine Learning with Python*. Machine Learning Mastering. <https://machinelearningmastery.com/nested-cross-validation-for-machine-learning-with-python/>
- Burek, P., Satoh, Y., Fischer, G., Taher Kahil, M., Scherzer, A., Tramberend, S., Fabiola Nava, L., Wada, Y., Eisner Martina Flörke Naota Hanasaki Piotr Magnuszewski, S., Wiberg, D., y Cosgrove, B. (2016). *Water Futures and Solution: Fast Track Initiative (Final Report)*. WP-16-006. <https://pure.iiasa.ac.at/id/eprint/13008/>
- Buxton, G. V. G. V, Greenstock, C. L. C. L., Helman, W. P. P., Ross, A. B., Buxton, G. V. G. V, Greenstock, C. L. C. L., Helman, P., y Ross, A. B. (1988). Critical Review of rate constants for reactions of hydrated electrons , hydrogen atoms and hydroxyl radicals ($\text{OH}/\text{O}^{\bullet}$) in Aqueous Solution. *Journal of Physical and Chemical Reference*, 17(2), 513–886. <https://doi.org/10.1063/1.555805>
- Cai, Y., Shen, S., y Fan, J. (2022). Enhanced degradation of tetracycline by Cu(II) complexation in the FeS/sulfite system. *Journal of Hazardous Materials*, 421, 126673. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126673>
- Caicedo, C., Rosenwinkel, K. H., Exner, M., Verstraete, W., Suchenwirth, R., Hartemann,

- P., y Nogueira, R. (2019). Legionella occurrence in municipal and industrial wastewater treatment plants and risks of reclaimed wastewater reuse: Review. *Water Research*, 149, 21–34. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.10.080>
- Canaj, K., Mehmeti, A., Morrone, D., Toma, P., y Todorović, M. (2021). Life cycle-based evaluation of environmental impacts and external costs of treated wastewater reuse for irrigation: A case study in southern Italy. *Journal of Cleaner Production*, 293, 126142. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2021.126142>
- Cassini, A., Högberg, L. D., Plachouras, D., Quattrocchi, A., Hoxha, A., Simonsen, G. S., Colomb-Cotin, M., Kretzschmar, M. E., Devleeschauwer, B., Cecchini, M., Ouakrim, D. A., Oliveira, T. C., Struelens, M. J., Suetens, C., Monnet, D. L., Strauss, R., Mertens, K., Struyf, T., Catry, B., ... Hopkins, S. (2019). Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, 19(1), 56–66. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30605-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30605-4)
- Cédat, B., de Brauer, C., Métivier, H., Dumont, N., y Tutundjan, R. (2016). Are UV photolysis and UV/H₂O₂ process efficient to treat estrogens in waters? Chemical and biological assessment at pilot scale. *Water Research*, 100, 357–366. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.05.040>
- Chatzisymeon, E., Foteinis, S., Mantzavinos, D., y Tsoutsos, T. (2013). Life cycle assessment of advanced oxidation processes for olive mill wastewater treatment. *Journal of Cleaner Production*, 54, 229–234. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.05.013>
- Chen, L., Huang, X., Tang, M., Zhou, D., y Wu, F. (2018). Rapid dephosphorylation of glyphosate by Cu-catalyzed sulfite oxidation involving sulfate and hydroxyl radicals. *Environmental Chemistry Letters*, 16(4), 1507–1511. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0767-y>
- Chen, L., Luo, T., Yang, S., Xu, J., Liu, Z., y Wu, F. (2018). Efficient metoprolol degradation by heterogeneous copper ferrite/sulfite reaction. *Environmental Chemistry Letters*, 16(2), 599–603. <https://doi.org/10.1007/s10311-017-0696-1>
- Chen, L., Peng, X., Liu, J., Li, J., y Wu, F. (2012). Decolorization of Orange II in Aqueous Solution by an Fe (II)/ sulfite System: Replacement of Persulfate. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 51, 13632–13638. <https://doi.org/10.1021/ie3020389>
- Chen, L., Tang, M., Chen, C., Chen, M., Luo, K., Xu, J., Zhou, D., y Wu, F. (2017). Efficient bacterial inactivation by transition metal catalyzed auto-oxidation of sulfite. *Environmental Science and Technology*, 51(21), 12663–12671. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03705>

- Chen, Yi-di, Duan, X., Zhou, X., Wang, R., Wang, S., Ren, N. qi, y Ho, S. H. (2021). Advanced oxidation processes for water disinfection: Features, mechanisms and prospects. *Chemical Engineering Journal*, 409, 128207. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.128207>
- Chen, Yiqun, Deng, P., Xie, P., Shang, R., Wang, Z., y Wang, S. (2017). Heat-activated persulfate oxidation of methyl- and ethyl-parabens: Effect, kinetics, and mechanism. *Chemosphere*, 168, 1628–1636. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.11.143>
- Chen, Yiqun, Tong, Y., Xue, Y., Liu, Z., Tang, M., Huang, L. Z., Shao, S., y Fang, Z. (2020). Degradation of the β -blocker propranolol by sulfite activation using FeS. *Chemical Engineering Journal*, 385, 123884. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123884>
- Chevremont, A. C., Farnet, A. M., Sergent, M., Coulomb, B., y Boudenne, J. L. (2012). Multivariate optimization of fecal bioindicator inactivation by coupling UV-A and UV-C LEDs. *Desalination*, 285, 219–225. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.10.006>
- Choi, J., Kim, H. il, Lee, J., y Lee, H. (2021). Role of nitrite ligands in enhancing sulfate radical production via catalytic peroxymonosulfate activation by cobalt complexes. *Separation and Purification Technology*, 279, 119698. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.119698>
- Chu, L., Zhuan, R., Chen, D., Wang, J., y Shen, Y. (2019). Degradation of macrolide antibiotic erythromycin and reduction of antimicrobial activity using persulfate activated by gamma radiation in different water matrices. *Chemical Engineering Journal*, 361, 156–166. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.12.072>
- Corominas, L., Foley, J., Guest, J. S., Hospido, A., Larsen, H. F., Morera, S., y Shaw, A. (2013). Life cycle assessment applied to wastewater treatment: State of the art. *Water Research*, 47(15), 5480–5492. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.06.049>
- Cruz-Alcalde, A., Sans, C., y Esplugas, S. (2017a). Exploring ozonation as treatment alternative for methiocarb and formed transformation products abatement. *Chemosphere*, 186, 725–732. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.08.040>
- Cruz-Alcalde, A., Sans, C., y Esplugas, S. (2017b). Priority pesticides abatement by advanced water technologies: The case of acetamiprid removal by ozonation. *Science of the Total Environment*, 599–600, 1454–1461. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.065>
- Cui, C., Jin, L., jiang, L., Han, Q., Lin, K., Lu, S., Zhang, D., y Cao, G. (2016). Removal of trace level amounts of twelve sulfonamides from drinking water by UV-activated peroxymonosulfate. *Science of the Total Environment*, 572, 244–251. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.183>
- das Neves, G. B., Nunes Araújo, D., Pick, E., Bitner, D. S., Brisola, M. C., Crecencio, R. B., y Stefani, L. M. (2020). Expression of blaCTX-M2 and invA genes of *Salmonella Heidelberg* isolated from poultry by Qpcr. *Annals of Molecular and Genetic Medicine*,

4(1), 006–011. <https://doi.org/10.17352/AMGM.000006>

Decisión de Ejecución (UE) 2015/ 495 de la Comisión, de 20 de marzo de 2015, por la que se establece una lista de observación de sustancias a efectos de seguimiento a nivel de la Unión en el ámbito de la política de aguas, de conformidad con la Directiva, (2015).

Decisión de Ejecución (UE) 2018/840 de la Comisión, de 5 de junio de 2018, por la que se establece una lista de observación de sustancias a efectos de seguimiento a nivel de la Unión en el ámbito de la política de aguas, de conformidad con la Directiva 20, (2018).

Decisión de Ejecución (UE) 2020/1161 de la Comisión, de 4 de agosto de 2020, por la que se establece una lista de observación de sustancias a efectos de seguimiento a nivel de la Unión en el ámbito de la política de aguas, de conformidad con la Directiva , (2020).

Delli Compagni, R., Gabrielli, M., Polesel, F., Turolla, A., Trapp, S., Vezzaro, L., y Antonelli, M. (2020). Risk assessment of contaminants of emerging concern in the context of wastewater reuse for irrigation: An integrated modelling approach. *Chemosphere*, 242, 125185. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125185>

Demir-Duz, H., Perez-Estrada, L. A., Álvarez, M. G., Gamal El-Din, M., y Contreras, S. (2022). O₃/H₂O₂ and UV-C light irradiation treatment of oil sands process water. *Science of The Total Environment*, 832, 154804. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154804>

Deniere, E., Alagappan, R. P., Langenhove, H. Van, Hulle, S. Van, y Demeestere, K. (2022). The ozone-activated peroxymonosulfate process (O₃/PMS) for removal of trace organic contaminants in natural and wastewater: Effect of the (in)organic matrix composition. *Chemical Engineering Journal*, 430, 133000. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.133000>

Deniere, E., Van Hulle, S., Van Langenhove, H., y Demeestere, K. (2018). Advanced oxidation of pharmaceuticals by the ozone-activated peroxymonosulfate process: the role of different oxidative species. *Journal of Hazardous Materials*, 360, 204–213. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.07.071>

Devane, M. L., Moriarty, E., Weaver, L., Cookson, A., y Gilpin, B. (2020). Fecal indicator bacteria from environmental sources; strategies for identification to improve water quality monitoring. *Water Research*, 185, 116204. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116204>

Ding, W., Huang, X., Zhang, W., Wu, F., y Li, J. (2019). Sulfite activation by a low-leaching silica-supported copper catalyst for oxidation of As(III) in water at circumneutral pH. *Chemical Engineering Journal*, 359, 1518–1526. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.11.020>

Ding, X., Gutierrez, L., Croue, J. P., Li, M., Wang, L., y Wang, Y. (2020). Hydroxyl and sulfate radical-based oxidation of RhB dye in UV/H₂O₂ and UV/persulfate systems: Kinetics, mechanisms, and comparison. *Chemosphere*, 253, 126655.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126655>

Directiva (UE) 2020/2184 del Parlamento Europeo y del Consejo, del 16 de diciembre de 2020, relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano, (2020).

Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de octubre de 2000, por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas, (2000).

Directiva 2006/118/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 12 de diciembre de 2006, relativa a la protección de las aguas subterráneas contra la contaminación y el deterioro, (2006).

Directiva 2013/39/UE Del Parlamento Europeo y del Consejo, de 12 de agosto de 2013, por la que se modifican las Directivas 2000/60/CE y 2008/105/CE en cuanto a las sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas, (2013).

Directiva 91/271/CEE del Consejo, del 21 de mayo de 1991, sobre el tratamiento de aguas residuales, (1991).

Directiva 98/15/CE de la Comisión, de 27 de febrero de 1998, por la que se modifica la Directiva 91/271/CEE del Consejo en relación con determinados requisitos establecidos en su anexo I, (1998).

Dong, H., Wei, G., Yin, D., y Guan, X. (2020). Mechanistic insight into the generation of reactive oxygen species in sulfite activation with Fe(III) for contaminants degradation. *Journal of Hazardous Materials*, 384, 121497. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121497>

Duan, R., Ma, S., Xu, S., Wang, B., He, M., Li, G., Fu, H., y Zhao, P. (2022). Soybean straw biochar activating peroxydisulfate to simultaneously eliminate tetracycline and tetracycline resistance bacteria: Insights on the mechanism. *Water Research*, 218, 118489. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118489>

Duan, X., Sun, H., Tade, M., y Wang, S. (2018). Metal-free activation of persulfate by cubic mesoporous carbons for catalytic oxidation via radical and nonradical processes. *Catalysis Today*, 307, 140–146. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2017.04.038>

Dubsok, A., Khamdahsag, P., y Kittipongvises, S. (2022). Life cycle environmental impact assessment of cyanate removal in mine tailings wastewater by nano-TiO₂/FeCl₃ photocatalysis. *Journal of Cleaner Production*, 366, 132928. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.132928>

Elsayed, A., Siam, A., y El-Dakhakhni, W. (2022). Machine learning classification algorithms for inadequate wastewater treatment risk mitigation. *Process Safety and Environmental Protection*, 159, 1224–1235. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2022.01.065>

Esplugas, S., Bila, D. M., Krause, L. G. T., y Dezotti, M. (2007). Ozonation and advanced

- oxidation technologies to remove endocrine disrupting chemicals (EDCs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in water effluents. *Journal of Hazardous Materials*, 149(3), 631–642. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.07.073>
- European Comission - Joint Research Centre. (2012a). *Product Environmental Footprint (PEF) Guide. Consolidated Version*. [https://ec.europa.eu/environment/eussd/pdf/footprint/PEF methodology final draft.pdf](https://ec.europa.eu/environment/eussd/pdf/footprint/PEF_methodology_final_draft.pdf)
- European Comission - Joint Research Centre. (2012b). *Product Environmental Footprint (PEF) Guide*. [https://ec.europa.eu/environment/eussd/pdf/footprint/PEF methodology final draft.pdf](https://ec.europa.eu/environment/eussd/pdf/footprint/PEF_methodology_final_draft.pdf)
- Feng, L., Peillex-Delphe, C., Lü, C., Wang, D., Giannakis, S., y Pulgarin, C. (2020). Employing bacterial mutations for the elucidation of photo-Fenton disinfection: Focus on the intracellular and extracellular inactivation mechanisms induced by UVA and H₂O₂. *Water Research*, 182, 116049. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116049>
- Ferreira, L., Castro-Alfárez, M., Nahim-Granados, S., Polo-López, M. I. I., Lucas, M. S. S., Li Puma, G., y Fernández-Ibáñez, P. (2020). Inactivation of water pathogens with solar photo-activated persulfate oxidation. *Chemical Engineering Journal*, 381, 122275. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.122275>
- Ferreira, L., Fernandes, J. R., Rodríguez-Chueca, J., Peres, J. A., Lucas, M. S., y Tavares, P. B. (2020). Photocatalytic degradation of an agro-industrial wastewater model compound using a UV LEDs system: kinetic study. *Journal of Environmental Management*, 269, 110740. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110740>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2021). *The State of the World's Land and Water Resources for Food and Agriculture: Systems at breaking point*. <https://doi.org/10.4060/cb7654en>
- Foroughi, M., Khiadani, M., Kakhki, S., Kholghi, V., Naderi, K., y Yektay, S. (2022). Effect of ozonation-based disinfection methods on the removal of antibiotic resistant bacteria and resistance genes (ARB/ARGs) in water and wastewater treatment: a systematic review. *Science of The Total Environment*, 811, 151404. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151404>
- Foteinis, S., Borthwick, A. G. L., Frontistis, Z., Mantzavinos, D., y Chatzisyneon, E. (2018). Environmental sustainability of light-driven processes for wastewater treatment applications. *Journal of Cleaner Production*, 182, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.02.038>
- Fraj, M. Ben. (2017). *In Depth: Parameter tuning for Random Forest | by Mohtadi Ben Fraj | All things AI | Medium*. <https://medium.com/all-things-ai/in-depth-parameter-tuning-for-random-forest-d67bb7e920d>
- Gaffney, J., Almeida, V., Rodrigues, C., Ferreira, A., Benoliel, E., Cardoso, M. J., y Vale, V. (2015). Occurrence of pharmaceuticals in a water supply system and related human

- p>health risk assessment.
- Water Research*
- , 72, 199–208.
-
- <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.10.027>
- Gallego-Schmid, A., Tarpani, R. R. Z., Miralles-Cuevas, S., Cabrera-Reina, A., Malato, S., y Azapagic, A. (2019). Environmental assessment of solar photo-Fenton processes in combination with nanofiltration for the removal of micro-contaminants from real wastewaters. *Science of The Total Environment*, 650, 2210–2220.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.361>
- Gao, Y., y Liu, J. (2021). Potential User Prediction for Financial APP Based on Random Forest Model. *Proceedings of the 2021 IEEE 24th International Conference on Computer Supported Cooperative Work in Design, CSCWD 2021*, 180–185.
<https://doi.org/10.1109/CSCWD49262.2021.9437776>
- Gao, Y. X., Li, X., Fan, X. Y., Zhao, J. R., y Zhang, Z. X. (2022). Wastewater treatment plants as reservoirs and sources for antibiotic resistance genes: A review on occurrence, transmission and removal. *Journal of Water Process Engineering*, 46, 102539.
<https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102539>
- García-Cervilla, R., Santos, A., Romero, A., y Lorenzo, D. (2020). Remediation of soil contaminated by lindane wastes using alkaline activated persulfate: Kinetic model. *Chemical Engineering Journal*, 393, 124646.
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.124646>
- García-Gil, Á., García-Muñoz, R. A., McGuigan, K. G., y Marugán, J. (2021). Solar Water Disinfection to Produce Safe Drinking Water: A Review of Parameters, Enhancements, and Modelling Approaches to Make SODIS Faster and Safer. *Molecules*, 26(11), 3431.
<https://doi.org/10.3390/molecules26113431>
- Garkusheva, N., Matafonova, G., Tsenter, I., Beck, S., Batoev, V., y Linden, K. (2017). Simultaneous atrazine degradation and *E. coli* inactivation by simulated solar photo-Fenton-like process using persulfate. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 52(9), 849–855.
<https://doi.org/10.1080/10934529.2017.1312188>
- Gerba, C. P. (2015). Indicator Microorganisms. *Environmental Microbiology: Third Edition*, 551–564. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394626-3.00023-5>
- Ghanbari, F., y Moradi, M. (2017). Application of peroxymonosulfate and its activation methods for degradation of environmental organic pollutants: Review. *Chemical Engineering Journal*, 310, 41–62. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.10.064>
- Ghanbari, F., Wang, Q., Hassani, A., Waclawek, S., Rodríguez-Chueca, J., y Lin, K. Y. A. (2021). Electrochemical activation of peroxides for treatment of contaminated water with landfill leachate: Efficacy, toxicity and biodegradability evaluation. *Chemosphere*, 279, 130610. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130610>
- Ghanbari, F., Wu, J., Khatebasreh, M., Ding, D., y Lin, K. Y. A. (2020). Efficient treatment

- for landfill leachate through sequential electrocoagulation, electrooxidation and PMS/UV/CuFe₂O₄ process. *Separation and Purification Technology*, 242, 116828. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.116828>
- Gholikandi, G. B., Zakizadeh, N., y Masihi, H. (2018). Application of peroxymonosulfate-ozone advanced oxidation process for simultaneous waste-activated sludge stabilization and dewatering purposes: A comparative study. *Journal of Environmental Management*, 206, 523–531. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.10.070>
- Giannakis, S., Gamarra Vives, F. A., Grandjean, D., Magnet, A., De Alencastro, L. F., y Pulgarin, C. (2015). Effect of advanced oxidation processes on the micropollutants and the effluent organic matter contained in municipal wastewater previously treated by three different secondary methods. *Water Research*, 84, 295–306. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.07.030>
- Giannakis, S., Lin, K. A. Y. A., y Ghanbari, F. (2021). A review of the recent advances on the treatment of industrial wastewaters by sulfate radical-based Advanced Oxidation Processes (SR-AOPs). *Chemical Engineering Journal*, 406, 127083. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.127083>
- Giannakis, S., Polo López, M. I., Spuhler, D., Sánchez Pérez, J. A., Fernández Ibáñez, P., y Pulgarin, C. (2016). Solar disinfection is an augmentable, in situ-generated photo-Fenton reaction—Part 1: A review of the mechanisms and the fundamental aspects of the process. *Applied Catalysis B: Environmental*, 199, 199–223. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2016.06.009>
- Giannakis, S., Samioli, S., y Rodríguez-Chueca, J. (2021). A meta-analysis of the scientific literature on (photo)Fenton and persulfate advanced oxidation processes: Where do we stand and where are we heading to? *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 29, 100456. <https://doi.org/10.1016/J.COGSC.2021.100456>
- Gnat, S. (2021). Impact of Categorical Variables Encoding on Property Mass Valuation. *Procedia Computer Science*, 192, 3542–3550. <https://doi.org/10.1016/j.procs.2021.09.127>
- Gokulakrishnan, S., Mohammed, A., y Prakash, H. (2016). Determination of persulphates using N,N-diethyl-p-phenylenediamine as colorimetric reagent: Oxidative coloration and degradation of the reagent without bactericidal effect in water. *Chemical Engineering Journal*, 286, 223–231. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2015.10.058>
- Golden, C. E., Rothrock, M. J., y Mishra, A. (2019). Comparison between random forest and gradient boosting machine methods for predicting *Listeria* spp. prevalence in the environment of pastured poultry farms. *Food Research International*, 122, 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.03.062>
- Goldstein, S., y Rabani, J. (2008). The ferrioxalate and iodide–iodate actinometers in the UV region. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 193(1), 50–55.

<https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2007.06.006>

- Golovko, O., Kumar, V., Fedorova, G., Randak, T., y Grabic, R. (2014). Seasonal changes in antibiotics, antidepressants/psychiatric drugs, antihistamines and lipid regulators in a wastewater treatment plant. *Chemosphere*, 111, 418–426. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.03.132>
- Goudarzi, H., Mirsamadi, E. S., Ghalavand, Z., Hakemi Vala, M., Mirjalali, H., y Hashemi, A. (2019). Rapid detection and molecular survey of blaVIM, blaIMP and blaNDM genes among clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* using new multiplex real-time PCR and melting curve analysis. *BMC Microbiology*, 19(1), 122. <https://doi.org/10.1186/S12866-019-1510-Y>
- Grgic, I., Poznic, M., y Bizjak, M. (1999). S (IV) Autoxidation in Atmospheric Liquid Water: The Role of Fe (II) and the Effect of Oxalate. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 33, 89–102. <https://doi.org/10.1023/A:1006141913681>
- Gros, M., Blum, K. M., Jernstedt, H., Renman, G., Rodríguez-Mozaz, S., Haglund, P., Andersson, P. L., Wiberg, K., y Ahrens, L. (2017). Screening and prioritization of micropollutants in wastewaters from on-site sewage treatment facilities. *Journal of Hazardous Materials*, 328, 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.12.055>
- Guan, C., Jiang, J., Luo, C., Pang, S., Yang, Y., Wang, Z., Ma, J., Yu, J., y Zhao, X. (2018). Oxidation of bromophenols by carbon nanotube activated peroxymonosulfate (PMS) and formation of brominated products: Comparison to peroxydisulfate (PDS). *Chemical Engineering Journal*, 337, 40–50. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.12.083>
- Guerra-Rodríguez, S., Cediél, N., Rodríguez, E., y Rodríguez-Chueca, J. (2021). Photocatalytic activation of sulfite using Fe(II) and Fe(III) for *Enterococcus sp.* Inactivation in urban wastewater. *Chemical Engineering Journal*, 408, 127326. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.127326>
- Guerra-Rodríguez, S., Oulego, P., Rodríguez, E., Singh, D. N., y Rodríguez-Chueca, J. (2020). Towards the Implementation of Circular Economy in the Wastewater Sector: Challenges and Opportunities. *Water*, 12(5), 1431. <https://doi.org/10.3390/w12051431>
- Guo, H., Jeong, K., Lim, J., Jo, J., Kim, Y. M., Park, J. pyo, Kim, J. H., y Cho, K. H. (2015). Prediction of effluent concentration in a wastewater treatment plant using machine learning models. *Journal of Environmental Sciences*, 32, 90–101. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2015.01.007>
- Haas, C. N. (2004). Neural networks provide superior description of *Giardia lamblia* inactivation by free chlorine. *Water Research*, 38(14–15), 3449–3457. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.05.001>
- Hatchard, C. G., y Parker, C. A. (1956). A new sensitive chemical actinometer - II. Potassium ferrioxalate as a standard chemical actinometer. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences*, 235(1203), 518–536.

<https://doi.org/10.1098/rspa.1956.0102>

- Herigstad, B., Hamilton, M., y Heersink, J. (2001). How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 44(2), 121–129. [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(00\)00241-4](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(00)00241-4)
- Herrmann, H., Reese, A., y Zellner, R. (1995). Time-resolved UV/VIS Diode Array Absorption Spectroscopy of SO_x^- ($x=3, 4, 5$) Radical Anions in Aqueous Solution. *Journal of Molecular Structure*, 348, 183–186. [https://doi.org/10.1016/0022-2860\(95\)08619-7](https://doi.org/10.1016/0022-2860(95)08619-7)
- Hu, P., y Long, M. (2016). Cobalt-catalyzed sulfate radical-based advanced oxidation: A review on heterogeneous catalysts and applications. *Applied Catalysis B: Environmental*, 181, 103–117. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2015.07.024>
- Hu, Y., Zhang, T., Jiang, L., Yao, S., Ye, H., Lin, K., y Cui, C. (2019). Removal of sulfonamide antibiotic resistant bacterial and intracellular antibiotic resistance genes by UVC-activated peroxymonosulfate. *Chemical Engineering Journal*, 368, 888–895. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.02.207>
- Huang, R., Ma, C., Ma, J., Huangfu, X., y He, Q. (2021). Machine learning in natural and engineered water systems. *Water Research*, 205, 117666. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117666>
- Huang, Y., Han, C., Liu, Y., Nadagouda, M. N., Machala, L., O'Shea, K. E., Sharma, V. K., y Dionysiou, D. D. (2018). Degradation of atrazine by $\text{Zn}_x\text{Cu}_{1-x}\text{Fe}_2\text{O}_4$ nanomaterial-catalyzed sulfite under UV-vis light irradiation: Green strategy to generate $\text{SO}_4^{\cdot-}$. *Applied Catalysis B: Environmental*, 221, 380–392. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2017.09.001>
- Huie, R. E., y Clifton, C. L. (1993). Kinetics of the self-reaction of hydroxymethylperoxyl radicals. *Chemical Physics Letters*, 205(2–3), 163–167. [https://doi.org/10.1016/0009-2614\(93\)89222-4](https://doi.org/10.1016/0009-2614(93)89222-4)
- Iakovides, I. C., Michael-Kordatou, I., Moreira, N. F. F., Ribeiro, A. R., Fernandes, T., Pereira, M. F. R., Nunes, O. C., Manaia, C. M., Silva, A. M. T., y Fatta-Kassinos, D. (2019). Continuous ozonation of urban wastewater: Removal of antibiotics, antibiotic-resistant *Escherichia coli* and antibiotic resistance genes and phytotoxicity. *Water Research*, 159, 333–347. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.05.025>
- INE. (2020). *Estadística sobre el Suministro y Saneamiento del Agua (Año 2018)*. https://www.ine.es/prensa/essa_2018.pdf
- Irwin, S. V., Fisher, P., Graham, E., Malek, A., y Robidoux, A. (2017). Sulfites inhibit the growth of four species of beneficial gut bacteria at concentrations regarded as safe for food. *PLoS ONE*, 12(10), e0186629. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0186629>

- ISO (Organización Internacional de Normalización). (2006). *Gestión ambiental. Análisis del ciclo de vida. Principios y marco de referencia. (ISO 14040)*.
- J.J. Rook. (1974). *Formation of haloforms during chlorination of natural waters*.
- Jaafarzadeh, N., Ghanbari, F., Ahmadi, M., y Omidinasab, M. (2017). Efficient integrated processes for pulp and paper wastewater treatment and phytotoxicity reduction: Permanganate, electro-Fenton and $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{UV}/\text{peroxymonosulfate}$. *Chemical Engineering Journal*, 308, 142–150. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.09.015>
- Jasim, S. Y., Saththasivam, J., Loganathan, K., Ogunbiyi, O. O., y Sarp, S. (2016). Reuse of Treated Sewage Effluent (TSE) in Qatar. *Journal of Water Process Engineering*, 11, 174–182. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2016.05.003>
- Jayson, G. G., Parsons, B. J., y Swallow, A. J. (1973). Some simple, highly reactive, inorganic chlorine derivatives in aqueous solution. Their formation using pulses of radiation and their role in the mechanism of the Fricke dosimeter. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases*, 69, 1597–1607. <https://doi.org/10.1039/F19736901597>
- Jiang, F., Qiu, B., y Sun, D. (2018). Advanced degradation of refractory pollutants in incineration leachate by UV/Peroxymonosulfate. *Chemical Engineering Journal*, 349, 338–346. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.05.062>
- Jiang, Z., Hu, J., Zhang, X., Zhao, Y., Fan, X., Zhong, S., Zhang, H., y Yu, X. (2020). A generalized predictive model for TiO_2 -Catalyzed photo-degradation rate constants of water contaminants through artificial neural network. *Environmental Research*, 187, 109697. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109697>
- Jiménez, B., y Asano, T. (2008). Water reclamation and reuse around the world. In B. Jiménez y T. Asano (Eds.), *Water Reuse - An International Survey of current practice, issues and needs*. IWAP. <https://doi.org/10.2166/9781780401881>
- Jin, H., Cang, Z., Ding, W., Wu, W., Ma, H., Wang, C., Qi, Z., Li, Z., y Zhang, L. (2020). Oxidative removal of antibiotic resistant *E. coli* by sulfidated zero-valent iron: Homogeneous vs heterogeneous activation. *Journal of Hazardous Materials*, 408, 124411. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124411>
- Jodar-Abellan, A., López-Ortiz, M. I., y Melgarejo-Moreno, J. (2019). Wastewater Treatment and Water Reuse in Spain. Current Situation and Perspectives. *Water*, 11(8), 1551. <https://doi.org/10.3390/w11081551>
- Kadoya, S. suke, Nishimura, O., Kato, H., y Sano, D. (2021). Predictive water virology using regularized regression analyses for projecting virus inactivation efficiency in ozone disinfection. *Water Research X*, 11, 100093. <https://doi.org/10.1016/j.wroa.2021.100093>
- Kegl, T., Košak, A., Lobnik, A., Novak, Z., Kralj, A. K., y Ban, I. (2020). Adsorption of rare

- earth metals from wastewater by nanomaterials: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 386, 121632. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121632>
- Khan, S., He, X., Khan, J. A., Khan, H. M., Boccelli, D. L., y Dionysiou, D. D. (2017). Kinetics and mechanism of sulfate radical- and hydroxyl radical-induced degradation of highly chlorinated pesticide lindane in UV/peroxymonosulfate system. *Chemical Engineering Journal*, 318, 135–142. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.05.150>
- Khan, S., Sayed, M., Sohail, M., Shah, L. A., y Raja, M. A. (2018). Chapter 6 - Advanced Oxidation and Reduction Processes. In *Advances in Water Purification Techniques: Meeting the Needs of Developed and Developing Countries*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814790-0.00006-5>
- Kidd, K. A., Blanchfield, P. J., Mills, K. H., Palace, V. P., Evans, R. E., Lazorchak, J. M., y Flick, R. W. (2007). Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(21), 8897–8901. <https://doi.org/10.1073/pnas.0609568104>
- Kim, M. S., Lee, C., y Kim, J. H. (2021). Occurrence of unknown reactive species in UV/H₂O₂ system leading to false interpretation of hydroxyl radical probe reactions. *Water Research*, 201, 117338. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117338>
- Koehrsen, W. (2018). *Hyperparameter Tuning the Random Forest in Python*. Towards Data Science. <https://towardsdatascience.com/hyperparameter-tuning-the-random-forest-in-python-using-scikit-learn-28d2aa77dd74>
- Kohantorabi, M., Giannakis, S., Moussavi, G., Bensimon, M., Gholami, M. R., y Pulgarin, C. (2021). An innovative, highly stable Ag/ZIF-67@GO nanocomposite with exceptional peroxymonosulfate (PMS) activation efficacy, for the destruction of chemical and microbiological contaminants under visible light. *Journal of Hazardous Materials*, 413, 125308. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125308>
- Kosma, C. I., Lambropoulou, D. A., y Albanis, T. A. (2014). Investigation of PPCPs in wastewater treatment plants in Greece: Occurrence, removal and environmental risk assessment. *Science of the Total Environment*, 466–467, 421–438. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.07.044>
- Laurae. (2017). *Visiting: Categorical Features and Encoding in Decision Trees*. Data Science y Design | Medium. <https://medium.com/data-design/visiting-categorical-features-and-encoding-in-decision-trees-53400fa65931>
- Lefebvre, O. (2018). Beyond NEWater: An insight into Singapore's water reuse prospects. *Current Opinion in Environmental Science y Health*, 2, 26–31. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2017.12.001>
- Legrini, O., Oliveros, E., y Braun, A. M. (1993). Photochemical Processes for Water Treatment. *Chemical Reviews*, 93(2), 671–698. <https://doi.org/10.1021/cr00018a003>

- Li, B., Li, L., Lin, K., Zhang, W., Lu, S., y Luo, Q. (2013). Removal of 1,1,1-trichloroethane from aqueous solution by a sono-activated persulfate process. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(3), 855–863. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.11.014>
- Li, Chan, Goetz, V., y Chiron, S. (2022). Copper oxide/peroxydisulfate system for urban wastewater disinfection: Performances, reactive species, and antibiotic resistance genes removal. *Science of The Total Environment*, 806, 150768. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150768>
- Li, Chenxu, Wu, J., Peng, W., Fang, Z., y Liu, J. (2019). Peroxymonosulfate activation for efficient sulfamethoxazole degradation by Fe₃O₄/β-FeOOH nanocomposites: Coexistence of radical and non-radical reactions. *Chemical Engineering Journal*, 356, 904–914. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.09.064>
- Li, G., Wang, C., Yan, Y., Yan, X., Li, W., Feng, X., Li, J., Xiang, Q., Tan, W., Liu, F., y Yin, H. (2020). Highly enhanced degradation of organic pollutants in hematite/sulfite/photo system. *Chemical Engineering Journal*, 386, 124007. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.124007>
- Li, W., Zhang, Y., Liu, Y., Cheng, X., Tang, W., Zhao, C., y Guo, H. (2019). Kinetic performance of peroxymonosulfate activated by Co/Bi₂₅FeO₄₀: radical and non-radical mechanism. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 100, 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2019.02.033>
- Linaric, M., Markic, M., y Sipos, L. (2013). High salinity wastewater treatment. *Water Science and Technology*, 68(6), 1400–1405. <https://doi.org/10.2166/WST.2013.376>
- Liu, J., Zhou, J., Ding, Z., Zhao, Z., Xu, X., y Fang, Z. (2017). Ultrasound irritation enhanced heterogeneous activation of peroxymonosulfate with Fe₃O₄ for degradation of azo dye. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 953–959. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.08.005>
- Liu, K., Bai, L., Shi, Y., Wei, Z., Spinney, R., Göktaş, R. K., Dionysiou, D. D., y Xiao, R. (2020). Simultaneous disinfection of *E. faecalis* and degradation of carbamazepine by sulfate radicals: An experimental and modelling study. *Environmental Pollution*, 263, 114558. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114558>
- Liu, X., Liu, Y., Lu, S., Wang, Z., Wang, Y., Zhang, G., Guo, X., Guo, W., Zhang, T., y Xi, B. (2020). Degradation difference of ofloxacin and levofloxacin by UV/H₂O₂ and UV/PS (persulfate): Efficiency, factors and mechanism. *Chemical Engineering Journal*, 385, 123987. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123987>
- Liu, Y., Gao, J., Wang, Y., Duan, W., Liu, J., Zhang, Y., Zhang, H., y Zhao, M. (2022). The removal of antibiotic resistant bacteria and genes and inhibition of the horizontal gene transfer by contrastive research on sulfidated nanoscale zerovalent iron activating peroxymonosulfate or peroxydisulfate. *Journal of Hazardous Materials*, 423, 126866. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126866>

- Liu, Z., Wen, G., Ni, Y., Wang, S., Wang, S., Yu, Y., Huang, T., y Ma, J. (2021). Inhibition of bromate formation in the ozone/peroxymonosulfate process by ammonia, ammonia-chlorine and chlorine-ammonia pretreatment: Comparisons with ozone alone. *Separation and Purification Technology*, 278, 119600. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.119600>
- López, A., Rodríguez-Chueca, J., Mosteo, R., Gómez, J., Rubio, E., Goñi, P., y Ormad, M. P. (2019). How does urban wastewater treatment affect the microbial quality of treated wastewater? *Process Safety and Environmental Protection*, 130, 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.07.016>
- Lu, C., Xu, Z., Dong, B., Zhang, Y., Wang, M., Zeng, Y., y Zhang, C. (2022). Machine learning for the prediction of heavy metal removal by chitosan-based flocculants. *Carbohydrate Polymers*, 285, 119240. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119240>
- Lucas, M. S., Peres, J. A., y Li Puma, G. (2010). Treatment of winery wastewater by ozone-based advanced oxidation processes (O₃, O₃/UV and O₃/UV/H₂O₂) in a pilot-scale bubble column reactor and process economics. *Separation and Purification Technology*, 72(3), 235–241. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2010.01.016>
- Luo, H., Liu, C., Cheng, Y., Zeng, Y., He, D., y Pan, X. (2021). Fe(III) greatly promotes peroxymonosulfate activation by WS₂ for efficient carbamazepine degradation and *Escherichia coli* disinfection. *Science of The Total Environment*, 787, 147724. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147724>
- Luo, H., Zeng, Y., Cheng, Y., He, D., y Pan, X. (2021). Activation of peroxymonosulfate by iron oxychloride with hydroxylamine for ciprofloxacin degradation and bacterial disinfection. *Science of The Total Environment*, 799, 149506. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149506>
- Luo, T., Xu, J., Li, J., Wu, F., y Zhou, D. (2021). Strengthening arsenite oxidation in water using metal-free ultrasonic activation of sulfite. *Chemosphere*, 281, 130860. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130860>
- Luo, Y., Guo, W., Ngo, H. H., Nghiem, L. D., Hai, F. I., Zhang, J., Liang, S., y Wang, X. C. (2014). A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. *Science of the Total Environment*, 473–474, 619–641. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.065>
- Lyu, S., Chen, W., Zhang, W., Fan, Y., y Jiao, W. (2016). Wastewater reclamation and reuse in China: Opportunities and challenges. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 39, 86–96. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2015.11.012>
- Ma, H., Zhang, L., Huang, X., Ding, W., Jin, H., Li, Z., Cheng, S., y Zheng, L. (2019). A novel three-dimensional galvanic cell enhanced Fe²⁺/persulfate system: High efficiency, mechanism and damaging effect of antibiotic resistant E. coli and genes. *Chemical Engineering Journal*, 362, 667–678.

- <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.01.042>
- Ma, J., Li, H., Yang, Y., y Li, X. (2017). Influence of water matrix species on persulfate oxidation of phenol: Reaction kinetics and formation of undesired degradation byproducts. *Water Science and Technology*, 2017(2), 340–350. <https://doi.org/10.2166/wst.2018.147>
- Ma, Y., y Zhang, Z. (2020). Travel Mode Choice Prediction Using Deep Neural Networks with Entity Embeddings. *IEEE Access*, 8, 64959–64970. <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2020.2985542>
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., y Stahl, D. A. (2019). *Brock Biology of Microorganisms* (S. Beuparlant (ed.); Fifteen Ed).
- Mantovani, R. G., Horváth, T., Cerri, R., Junior, S. B., Vanschoren, J., y De Carvalho, A. C. P. L. F. (2018). *An empirical study on hyperparameter tuning of decision trees*. ArXiv. <https://doi.org/10.48550/arXiv.1812.02207>
- Mao, Y., Dong, H., Liu, S., Zhang, L., y Qiang, Z. (2020). Accelerated oxidation of iopamidol by ozone/peroxymonosulfate (O₃/PMS) process: Kinetics, mechanism, and simultaneous reduction of iodinated disinfection by-product formation potential. *Water Research*, 173, 115615. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115615>
- Marjanovic, M., Giannakis, S., Grandjean, D., de Alencastro, L. F., y Pulgarin, C. (2018). Effect of MM Fe addition, mild heat and solar UV on sulfate radical-mediated inactivation of bacteria, viruses, and micropollutant degradation in water. *Water Research*, 140, 220–231. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.04.054>
- Márquez, G., Rodríguez, E. M., Beltrán, F. J., y Álvarez, P. M. (2013). Determination of Rate Constants for Ozonation of Ofloxacin in Aqueous Solution. *Ozone: Science and Engineering*, 35(3), 186–195. <https://doi.org/10.1080/01919512.2013.771530>
- Maryam, B., y Büyükgüngör, H. (2019). Wastewater reclamation and reuse trends in Turkey: Opportunities and challenges. *Journal of Water Process Engineering*, 30, 100501. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2017.10.001>
- McGuigan, K. G., Conroy, R. M., Mosler, H. J., du Preez, M., Ubomba-Jaswa, E., y Fernandez-Ibañez, P. (2012). Solar water disinfection (SODIS): A review from bench-top to roof-top. *Journal of Hazardous Materials*, 235–236, 29–46. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.07.053>
- Mekonnen, M. M., y Hoekstra, A. Y. (2016). Four billion people facing severe water scarcity. *Science Advances*, 2(2), e1500323. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1500323>
- Mercadier, M., y Lardy, J. P. (2019). Credit spread approximation and improvement using random forest regression. *European Journal of Operational Research*, 277(1), 351–365. <https://doi.org/10.1016/j.ejor.2019.02.005>
- Metcalf y Eddy. (2003). *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse* (4th Editio).

McGraw-Hill.

- Michael-Kordatou, I., Andreou, R., Iacovou, M., Frontistis, Z., Hapeshi, E., Michael, C., y Fatta-Kassinos, D. (2017). On the capacity of ozonation to remove antimicrobial compounds, resistant bacteria and toxicity from urban wastewater effluents. *Journal of Hazardous Materials*, 323, 414–425. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.02.023>
- Michael-Kordatou, I., Iacovou, M., Frontistis, Z., Hapeshi, E., Dionysiou, D. D., y Fatta-Kassinos, D. (2015). Erythromycin oxidation and ERY-resistant *Escherichia coli* inactivation in urban wastewater by sulfate radical-based oxidation process under UV-C irradiation. *Water Research*, 85, 346–358. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.08.050>
- Miklos, D. B., Remy, C., Jekel, M., Linden, K. G., Drewes, J. E., y Hübner, U. (2018). Evaluation of advanced oxidation processes for water and wastewater treatment – A critical review. *Water Research*, 139, 118–131. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.03.042>
- MITECO. (2010). *Guía para la aplicación del R.D. 1620/2007 por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas* (Ministerio).
- Mohammed, H., Hameed, I. A., y Seidu, R. (2017). Random forest tree for predicting fecal indicator organisms in drinking water supply. *4th International Conference on Behavioral, Economic, and Socio-Cultural Computing*, 2018-January, 1–6. <https://doi.org/10.1109/BESC.2017.8256398>
- Mohapatra, S. K., Khilar, R., Das, A., y Mohanty, M. N. (2021). Design of Gradient Boosting Ensemble Classifier with Variation of Learning Rate for Automated Cardiac Data Classification. *Proceedings of the 8th International Conference on Signal Processing and Integrated Networks*, SPIN 2021, 11–14. <https://doi.org/10.1109/SPIN52536.2021.9566084>
- Monteagudo, J. M., El-taliawy, H., Durán, A., Caro, G., y Bester, K. (2018). Sono-activated persulfate oxidation of diclofenac: Degradation, kinetics, pathway and contribution of the different radicals involved. *Journal of Hazardous Materials*, 357, 457–465. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.06.031>
- Monteil, H., Oturan, N., Péchaud, Y., y Oturan, M. A. (2020). Electro-Fenton treatment of the analgesic tramadol: Kinetics, mechanism and energetic evaluation. *Chemosphere*, 247, 125939. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.125939>
- Moreno-Andrés, J., Farinango, G., Romero-Martínez, L., Acevedo-Merino, A., y Nebot, E. (2019). Application of persulfate salts for enhancing UV disinfection in marine waters. *Water Research*, 163, 114866. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.114866>
- Moreno-Andrés, J., Morillo-Ponce, J., Ibáñez-López, M. E., Acevedo-Merino, A., y García-Morales, J. L. (2020). Disinfection enhancement of single ozonation by combination with peroxymonosulfate salt. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(5),

104335. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104335>
- Moreno-Andrés, J., Rios Quintero, R., Acevedo-Merino, A., y Nebot, E. (2019). Disinfection performance using a UV/persulfate system: Effects derived from different aqueous matrices. *Photochemical and Photobiological Sciences*, 18(4), 878–883. <https://doi.org/10.1039/c8pp00304a>
- Moreno-SanSegundo, J., Casado, C., y Marugán, J. (2020). Enhanced numerical simulation of photocatalytic reactors with an improved solver for the radiative transfer equation. *Chemical Engineering Journal*, 388, 124183. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.124183>
- Mosteo, R., Ormad, M. P., Goñi, P., Rodríguez-Chueca, J., García, A., y Clavel, A. (2013). Identification of pathogen bacteria and protozoa in treated urban wastewaters discharged in the Ebro River (Spain): Water reuse possibilities. *Water Science and Technology*, 68(3), 575–583. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.201>
- Müller, A. C., y Guido, S. (2016). *Introduction To Machine Learning With Python: A Guide For Data Scientists* (D. Schanafelt (ed.)). O'Reilly Media, Inc.
- Neta, P., Huie, R. E., y Ross, A. B. (1982). Rate Constants for Reactions of Inorganic Radicals in Aqueous Solution. *J. Phys. Chem. Ref. Data*, 17(3), 1027–1284. <https://doi.org/10.1063/1.555978>
- Neta, P., Huie, R. E., y Ross, A. B. (1988). Rate Constants for Reactions of Inorganic Radicals in Aqueous Solution. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 17(3), 1027–1284. <https://doi.org/10.1063/1.555808>
- Nie, G., y Xiao, L. (2020). New insight into wastewater treatment by activation of sulfite with photosensitive organic dyes under visible light irradiation. *Chemical Engineering Journal*, 389, 123446. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123446>
- Nihemaiti, M., Miklos, D. B., Hübner, U., Linden, K. G., Drewes, J. E., y Croué, J. P. (2018). Removal of trace organic chemicals in wastewater effluent by UV/H₂O₂ and UV/PDS. *Water Research*, 145, 487–497. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.08.052>
- Noman, E. A., Al-Gheethi, A. A., Radin Maya Saphira, R. M., Talip, B. A., Al-Sahari, M., y Ismail, N. (2022). Mathematical prediction models for inactivation of antibiotic-resistant bacteria in kitchen wastewater by bimetallic bionanoparticles using machine learning with gene expression programming. *Journal of Cleaner Production*, 333, 130131. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.130131>
- OECD. (2001). Simulation test - aerobic sewage treatment 303A. *OCED Publishing, Paris, January*, 1–4. <https://doi.org/10.1787/9789264067394-eng>
- Oh, J., Salcedo, D. E., Medriano, C. A., y Kim, S. (2014). Comparison of different disinfection processes in the effective removal of antibiotic-resistant bacteria and genes. *Journal of Environmental Sciences*, 26(6), 1238–1242. <https://doi.org/10.1016/S1001->

0742(13)60594-X

- Oyekunle, D. T., Cai, J., Gendy, E. A., y Chen, Z. (2021). Impact of chloride ions on activated persulfates based advanced oxidation process (AOPs): A mini review. *Chemosphere*, 280, 130949. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130949>
- Parvande, S., Yeh, H. W., Paulus, M. P., y McKinney, B. A. (2020). Consensus features nested cross-validation. *Bioinformatics*, 36(10), 3093–3098. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa046>
- Pazda, M., Kumirska, J., Stepnowski, P., y Mulkiewicz, E. (2019). Antibiotic resistance genes identified in wastewater treatment plant systems – A review. *Science of The Total Environment*, 697, 134023. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134023>
- Pesqueira, J. F. J. R., Marugán, J., Pereira, M. F. R., y Silva, A. M. T. (2022). Selecting the most environmentally friendly oxidant for UVC degradation of micropollutants in urban wastewater by assessing life cycle impacts: Hydrogen peroxide, peroxymonosulfate or persulfate? *Science of The Total Environment*, 808, 152050. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152050>
- Pesqueira, J. F. J. R., Pereira, M. F. R., y Silva, A. M. T. (2020). Environmental impact assessment of advanced urban wastewater treatment technologies for the removal of priority substances and contaminants of emerging concern: A review. *Journal of Cleaner Production*, 261, 121078. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121078>
- Polo-López, M. I., García-Fernández, I., Velegraki, T., Katsoni, A., Oller, I., Mantzavinos, D., y Fernández-Ibáñez, P. (2012). Mild solar photo-Fenton: An effective tool for the removal of Fusarium from simulated municipal effluents. *Applied Catalysis B: Environmental*, 111–112, 545–554. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2011.11.006>
- Popova, S., Matafonova, G., y Batoev, V. (2019). Simultaneous atrazine degradation and *E. coli* inactivation by UV/S₂O₈²⁻/Fe²⁺ process under KrCl excilamp (222 nm) irradiation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 169, 169–177. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.11.014>
- Popova, S., Tsenter, I., Garkusheva, N., Beck, S. E., Matafonova, G., y Batoev, V. (2021). Evaluating (sono)-photo-Fenton-like processes with high-frequency ultrasound and UVA LEDs for degradation of organic micropollutants and inactivation of bacteria separately and simultaneously. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(3), 105249. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105249>
- Qi, W., Zhu, S., Shitu, A., Ye, Z., y Liu, D. (2020). Low concentration peroxymonosulfate and UVA-LED combination for *E. coli* inactivation and wastewater disinfection from recirculating aquaculture systems. *Journal of Water Process Engineering*, 36, 101362. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101362>
- Qi, Y., Qu, R., Liu, J., Chen, J., Al-Basher, G., Alsultan, N., Wang, Z., y Huo, Z. (2019). Oxidation of flumequine in aqueous solution by UV-activated peroxymonosulfate:

- Kinetics, water matrix effects, degradation products and reaction pathways. *Chemosphere*, 237, 124484. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124484>
- Real Decreto-Ley 11/1995, de 28 de diciembre, por el que se establecen las normas aplicables al tratamiento de las aguas residuales urbanas.*, (1995).
- Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas.*, (2007).
- 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*, (1996).
- Real Decreto Legislativo 1/2001, de 20 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Aguas*, (2001).
- Red Eléctrica de España. (2014). *El sistema Eléctrico Español. Avance del informe 2014*.
- REE, R. E. de E. (2021). *Informe del Sistema Eléctrico Español 2020*. <https://www.ree.es/es/glosario>
- Reglamento (UE) 2020/741 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 25 de mayo de 2020, relativo a los requisitos mínimos para la reutilización del agua*, (2020).
- Ribeiro, A. R., Moreira, N. F. F., Li Puma, G., y Silva, A. M. T. (2019). Impact of water matrix on the removal of micropollutants by advanced oxidation technologies. *Chemical Engineering Journal*, 363, 155–173. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.01.080>
- Ribeiro, A. R., Pedrosa, M., Moreira, N. F. F., Pereira, M. F. R., y Silva, A. M. T. (2015). Environmental friendly method for urban wastewater monitoring of micropollutants defined in the Directive 2013/39/EU and Decision 2015/495/EU. *Journal of Chromatography A*, 1418, 140–149. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.09.057>
- Ricart, S., y Rico, A. M. (2019). Assessing technical and social driving factors of water reuse in agriculture: A review on risks, regulation and the yuck factor. *Agricultural Water Management*, 217, 426–439. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2019.03.017>
- Risch, E., Jaumaux, L., Maesele, C., y Choubert, J. M. (2022). Comparative Life Cycle Assessment of two advanced treatment steps for wastewater micropollutants: How to determine whole-system environmental benefits? *Science of The Total Environment*, 805, 150300. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150300>
- Rizzo, L., Gernjak, W., Krzeminski, P., Malato, S., McArdell, C. S., Perez, J. A. S., Schaar, H., y Fatta-Kassinos, D. (2020). Best available technologies and treatment trains to address current challenges in urban wastewater reuse for irrigation of crops in EU countries. *Science of The Total Environment*, 710, 136312. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136312>

- Rocha, J., Cacace, D., Kampouris, I., Guilloteau, H., Jäger, T., Marano, R. B. M., Karaolia, P., Manaia, C. M., Merlin, C., Fatta-Kassinos, D., Cytryn, E., Berendonk, T. U., y Schwartz, T. (2020). Inter-laboratory calibration of quantitative analyses of antibiotic resistance genes. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(1), 102214. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.02.022>
- Rodríguez-Chueca, J., Amor, C., Silva, T., Dionysiou, D. D., Li Puma, G., Lucas, M. S., y Peres, J. A. (2017). Treatment of winery wastewater by sulphate radicals: HSO_5^- /transition metal/UV-A LEDs. *Chemical Engineering Journal*, 310, 473–483. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.04.135>
- Rodríguez-Chueca, J., Barahona-García, E., Blanco-Gutiérrez, V., Isidoro-García, L., y Dos santos-García, A. J. (2020). Magnetic CoFe_2O_4 ferrite for peroxymonosulfate activation for disinfection of wastewater. *Chemical Engineering Journal*, 398, 125606. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125606>
- Rodríguez-Chueca, J., della Giustina, S. V., Rocha, J., Fernandes, T., Pablos, C., Encinas, Á., Barceló, D., Rodríguez-Mozaz, S., Manaia, C. M., y Marugán, J. (2019). Assessment of full-scale tertiary wastewater treatment by UV-C based-AOPs: Removal or persistence of antibiotics and antibiotic resistance genes? *Science of the Total Environment*, 652, 1051–1061. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.223>
- Rodríguez-Chueca, J., García-Cañibano, C., Lepistö, R. J., Encinas, Pellinen, J., y Marugán, J. (2019). Intensification of UV-C tertiary treatment: Disinfection and removal of micropollutants by sulfate radical based Advanced Oxidation Processes. *Journal of Hazardous Materials*, 372, 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.04.044>
- Rodríguez-Chueca, J., García-Cañibano, C., Sarro, M., Encinas, Á., Medana, C., Fabbri, D., Calza, P., y Marugán, J. (2019). Evaluation of transformation products from chemical oxidation of micropollutants in wastewater by photoassisted generation of sulfate radicals. *Chemosphere*, 226, 509–519. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.152>
- Rodríguez-Chueca, J., Giannakis, S., Marjanovic, M., Kohantorabi, M., Gholami, M. R., Grandjean, D., de Alencastro, L. F., y Pulgarín, C. (2019). Solar-assisted bacterial disinfection and removal of contaminants of emerging concern by Fe^{2+} -activated HSO_5^- vs. $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ in drinking water. *Applied Catalysis B: Environmental*, 248, 62–72. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2019.02.018>
- Rodríguez-Chueca, J., Guerra-Rodríguez, S., Raez, J. M. J. M., López-Muñoz, M. J. M.-J. M. J., y Rodríguez, E. (2019). Assessment of different iron species as activators of $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ and HSO_5^- for inactivation of wild bacteria strains. *Applied Catalysis B: Environmental*, 248, 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2019.02.003>
- Rodríguez-Chueca, J., Laski, E., García-Cañibano, C., Martín de Vidales, M. J., Encinas, Kuch, B., y Marugán, J. (2018). Micropollutants removal by full-scale UV-C/sulfate radical based Advanced Oxidation Processes. *Science of the Total Environment*, 630,

- 1216–1225. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.279>
- Rodríguez-Chueca, J., Moreira, S. I., Lucas, M. S., Fernandes, J. R., Tavares, P. B., Sampaio, A., y Peres, J. A. (2017). Disinfection of simulated and real winery wastewater using sulphate radicals: Peroxymonosulphate/transition metal/UV-A LED oxidation. *Journal of Cleaner Production*, 149, 805–817. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.02.135>
- Rodríguez-Chueca, J., Polo-López, M. I., Mosteo, R., Ormad, M. P., y Fernández-Ibáñez, P. (2014). Disinfection of real and simulated urban wastewater effluents using a mild solar photo-Fenton. *Applied Catalysis B: Environmental*, 150–151, 619–629. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2013.12.027>
- Rodríguez-Chueca, J., Silva, T., Fernandes, J. R., Lucas, M. S., Puma, G. L., Peres, J. A., y Sampaio, A. (2017). Inactivation of pathogenic microorganisms in freshwater using $\text{HSO}_5^-/\text{UV-A LED}$ and $\text{HSO}_5^-/\text{M}^{n+}/\text{UV-A LED}$ oxidation processes. *Water Research*, 123, 113–123. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.06.021>
- Roth, C., Wünsch, R., Dinkel, F., Hugli, C., Wülser, R., Antes, R., y Thomann, M. (2022). Micropollutant abatement with UV/ H_2O_2 oxidation or low-pressure reverse osmosis? A comparative life cycle assessment for drinking water production. *Journal of Cleaner Production*, 336, 130227. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.130227>
- Sahu, P. (2021). A comprehensive review of saline effluent disposal and treatment: conventional practices, emerging technologies, and future potential. *Journal of Water Reuse and Desalination*, 11(1), 33–65. <https://doi.org/10.2166/wrd.2020.065>
- Salgot, M., y Folch, M. (2018). Wastewater treatment and water reuse. *Current Opinion in Environmental Science y Health*, 2, 64–74. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2018.03.005>
- Satya Sree, K. P. N. V., Karthik, J., Niharika, C., Srinivas, P. V. V. S., Ravinder, N., y Prasad, C. (2021). Optimized Conversion of Categorical and Numerical Features in Machine Learning Models. *Proceedings of the 5th International Conference on I-SMAC (IoT in Social, Mobile, Analytics and Cloud), I-SMAC 2021*, 294–299. <https://doi.org/10.1109/I-SMAC52330.2021.9640967>
- Sbahi, S., Ouazzani, N., Latrach, L., Hejjaj, A., y Mandi, L. (2020). Predicting the concentration of total coliforms in treated rural domestic wastewater by multi-soil-layering (MSL) technology using artificial neural networks. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 204, 111118. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111118>
- Sbardella, L., Gala, I. V., Comas, J., Carbonell, S. M., Rodríguez-Roda, I., y Gernjak, W. (2020). Integrated assessment of sulfate-based AOPs for pharmaceutical active compound removal from wastewater. *Journal of Cleaner Production*, 260, 121014. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121014>
- Sbardella, L., Velo-Gala, I., Comas, J., Rodríguez-Roda Layret, I., Fenu, A., y Gernjak, W. (2019). The impact of wastewater matrix on the degradation of pharmaceutically active compounds by oxidation processes including ultraviolet radiation and sulfate radicals.

- Journal of Hazardous Materials*, 380, 120869. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120869>
- Serna-Galvis, E. A., Salazar-Ospina, L., Jiménez, J. N., Pino, N. J., y Torres-Palma, R. A. (2020). Elimination of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* in water by UV-C, UV-C/persulfate and UV-C/H₂O₂. Evaluation of response to antibiotic, residual effect of the processes and removal of resistance gene. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(1), 102196. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.02.004>
- Sgroi, M., Snyder, S. A., y Roccaro, P. (2021). Comparison of AOPs at pilot scale: Energy costs for micro-pollutants oxidation, disinfection by-products formation and pathogens inactivation. *Chemosphere*, 273, 128527. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128527>
- Sharafati, A., Asadollah, S. B. H. S., y Hosseinzadeh, M. (2020). The potential of new ensemble machine learning models for effluent quality parameters prediction and related uncertainty. *Process Safety and Environmental Protection*, 140, 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2020.04.045>
- Sharma, J., Mishra, I. M., Dionysiou, D. D., y Kumar, V. (2015). Oxidative removal of bisphenol a by uv-c/peroxymonosulfate (pms): Kinetics, influence of co-existing chemicals and degradation pathway. *Chemical Engineering Journal*, 276, 193–204. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.04.021>
- Shukla, P., Sun, H., Wang, S., Ang, H. M., y Tadé, M. O. (2011). Co-SBA-15 for heterogeneous oxidation of phenol with sulfate radical for wastewater treatment. *Catalysis Today*, 175(1), 380–385. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2011.03.005>
- Sousa, J. C. G., Ribeiro, A. R., Barbosa, M. O., Pereira, M. F. R., y Silva, A. M. T. (2018). A review on environmental monitoring of water organic pollutants identified by EU guidelines. *Journal of Hazardous Materials*, 344, 146–162. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.09.058>
- Sousa, J. M., Macedo, G., Pedrosa, M., Becerra-Castro, C., Castro-Silva, S., Pereira, M. F. R., Silva, A. M. T., Nunes, O. C., y Manaia, C. M. (2017). Ozonation and UV_{254nm} radiation for the removal of microorganisms and antibiotic resistance genes from urban wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, 323, 434–441. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.03.096>
- Spuhler, D., Andrés Rengifo-Herrera, J., y Pulgarin, C. (2010). The effect of Fe²⁺, Fe³⁺, H₂O₂ and the photo-Fenton reagent at near neutral pH on the solar disinfection (SODIS) at low temperatures of water containing *Escherichia coli* K12. *Applied Catalysis B: Environmental*, 96(1), 126–141. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2010.02.010>
- Srivastav, A. L., Patel, N., y Chaudhary, V. K. (2020). Disinfection by-products in drinking water: Occurrence, toxicity and abatement. *Environmental Pollution*, 267, 115474. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115474>

- Stange, C., Sidhu, J. P. S., Toze, S., y Tiehm, A. (2019). Comparative removal of antibiotic resistance genes during chlorination, ozonation, and UV treatment. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 222(3), 541–548. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.02.002>
- Subirats, J., Royo, E., Balcázar, J. L., y Borrego, C. M. (2017). Real-time PCR assays for the detection and quantification of carbapenemase genes (bla KPC, bla NDM, and bla OXA-48) in environmental samples. *Environmental Science and Pollution Research International*, 24(7), 6710–6714. <https://doi.org/10.1007/S11356-017-8426-6>
- Subramanian, G., Parakh, P., y Prakash, H. (2013). Photodegradation of methyl orange and photoinactivation of bacteria by visible light activation of persulphate using a tris(2,2'-bipyridyl) ruthenium(ii) complex. *Photochemical and Photobiological Sciences*, 12(3), 456–466. <https://doi.org/10.1039/c2pp25316j>
- Sun, H., Xiao, K., Ma, Y., Xiao, S., Zhang, Q., Su, C., y Wong, P. K. (2022). Vacancy-rich BiO_{2-x} as a highly-efficient persulfate activator under near infrared irradiation for bacterial inactivation and mechanism study. *Journal of Hazardous Materials*, 431, 128510. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128510>
- Sun, P., Tyree, C., y Huang, C. H. (2016). Inactivation of *Escherichia coli*, Bacteriophage MS2, and *Bacillus* Spores under UV/H₂O₂ and UV/Peroxydisulfate Advanced Disinfection Conditions. *Environmental Science and Technology*, 50(8), 4448–4458. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b06097>
- Sun, S., Pang, S., Jiang, J., Ma, J., Huang, Z., Zhang, J., Liu, Y., Xu, C., Liu, Q., y Yuan, Y. (2018). The combination of ferrate(VI) and sulfite as a novel advanced oxidation process for enhanced degradation of organic contaminants. *Chemical Engineering Journal*, 333, 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.09.082>
- Tang, G., Zhang, Y., Wei, Y., Wang, S., Liu, P., Jia, Z., Yu, X., y Ma, F. (2020). Advanced treatment of bio-treated Chinese patent medicine wastewater using ozone/poxymonosulfate-upflow biological aerated filter. *Chemical Engineering Journal*, 390, 124527. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.124527>
- Taoufik, N., Boumya, W., Achak, M., Chennouk, H., Dewil, R., y Barka, N. (2022). The state of art on the prediction of efficiency and modeling of the processes of pollutants removal based on machine learning. *Science of The Total Environment*, 807, 150554. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150554>
- Tarpani, R. R. Z., y Azapagic, A. (2018). Life cycle environmental impacts of advanced wastewater treatment techniques for removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs). *Journal of Environmental Management*, 215, 258–272. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.03.047>
- U.S. Environmental Protection Agency (US EPA). (1999). *Alternative Disinfectants and Oxidants Guidance Manual*.

- U.S. Environmental Protection Agency (US EPA). (2017). *Potable Reuse Compendium*, EPA/810/R-17/002.
- U.S. Environmental Protection Agency (US EPA). (2022). *Basic Information about Water Reuse*.
- Urey, H. C., Dawsey, L. H., y Rice, F. O. (1929). The absorption spectrum and decomposition of hydrogen peroxide by light. *Journal of the American Chemical Society*, 51(5), 1371–1383. <https://doi.org/10.1021/JA01380A011>
- Vamsi, I. V., Abhinav, N., Verma, A. K., y Radhika, S. (2018). Random forest based real time fault monitoring system for industries. *4th International Conference on Computing Communication and Automation (ICCCA)*, 1–6. <https://doi.org/10.1109/CCAA.2018.8777673>
- Vasseghian, Y., Berkani, M., Almomani, F., y Dragoi, E. N. (2021). Data mining for pesticide decontamination using heterogeneous photocatalytic processes. *Chemosphere*, 270, 129449. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129449>
- Venieri, D., Karapa, A., Panagiotopoulou, M., y Gounaki, I. (2020). Application of activated persulfate for the inactivation of fecal bacterial indicators in water. *Journal of Environmental Management*, 261, 110223. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110223>
- Verma, S., Nakamura, S., y Sillanpää, M. (2016). Application of UV-C LED activated PMS for the degradation of anatoxin-a. *Chemical Engineering Journal*, 284, 122–129. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.08.095>
- Vieira, O., Ribeiro, R. S., Pedrosa, M., Lado Ribeiro, A. R., y Silva, A. M. T. (2020). Nitrogen-doped reduced graphene oxide – PVDF nanocomposite membrane for persulfate activation and degradation of water organic micropollutants. *Chemical Engineering Journal*, 402, 126117. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.126117>
- Virkutyte, J., Varma, R. S., y Jegatheesan, V. (2010). *Treatment of Micropollutants in Water and Wastewater*. IWA Publishing.
- Wacławek, S., Lutze, H. V., Gröbel, K., Padil, V. V. T. T., Černík, M., y Dionysiou, D. D. (2017). Chemistry of persulfates in water and wastewater treatment: A review. *Chemical Engineering Journal*, 330, 44–62. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.07.132>
- Wang, D., Thunéll, S., Lindberg, U., Jiang, L., Trygg, J., Tysklind, M., y Souihi, N. (2021). A machine learning framework to improve effluent quality control in wastewater treatment plants. *Science of The Total Environment*, 784, 147138. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147138>
- Wang, Han jie, Wang, J., y Yu, X. (2022). Wastewater irrigation and crop yield: A meta-analysis. *Journal of Integrative Agriculture*, 21(4), 1215–1224. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(21\)63853-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(21)63853-4)

- Wang, Huijiao, Zhan, J., Gao, L., Yu, G., Komarneni, S., y Wang, Y. (2020). Kinetics and mechanism of thiamethoxam abatement by ozonation and ozone-based advanced oxidation processes. *Journal of Hazardous Materials*, 390, 122180. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122180>
- Wang, J., Chu, L., Wojnárovits, L., y Takács, E. (2020). Occurrence and fate of antibiotics, antibiotic resistant genes (ARGs) and antibiotic resistant bacteria (ARB) in municipal wastewater treatment plant: An overview. *Science of the Total Environment*, 744, 140997. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140997>
- Wang, J., y Wang, S. (2018). Activation of persulfate (PS) and peroxymonosulfate (PMS) and application for the degradation of emerging contaminants. *Chemical Engineering Journal*, 334, 1502–1517. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.11.059>
- Wang, N., Zheng, T., Zhang, G., y Wang, P. (2016). A review on Fenton-like processes for organic wastewater treatment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 4(1), 762–787. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2015.12.016>
- Wang, P., Bu, L., Wu, Y., Ma, W., Zhu, S., y Zhou, S. (2021). Mechanistic insight into the degradation of ibuprofen in UV/H₂O₂ process via a combined experimental and DFT study. *Chemosphere*, 267, 128883. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128883>
- Wang, Q., Rao, P., Li, G., Dong, L., Zhang, X., Shao, Y., Gao, N., Chu, W., Xu, B., An, N., y Deng, J. (2020). Degradation of imidacloprid by UV-activated persulfate and peroxymonosulfate processes: Kinetics, impact of key factors and degradation pathway. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 187, 109779. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109779>
- Wang, Q., Shao, Y., Gao, N., Chu, W., Shen, X., Lu, X., Chen, J., y Zhu, Y. (2016). Degradation kinetics and mechanism of 2,4-Di-tert-butylphenol with UV/persulfate. *Chemical Engineering Journal*, 304, 201–208. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.06.092>
- Wang, W., Wang, H., Li, G., An, T., Zhao, H., y Wong, P. K. (2019). Catalyst-free activation of persulfate by visible light for water disinfection: Efficiency and mechanisms. *Water Research*, 157, 106–118. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.03.071>
- Wang, W., Wang, H., Li, G., Wong, P. K., y An, T. (2020). Visible light activation of persulfate by magnetic hydrochar for bacterial inactivation: Efficiency, recyclability and mechanisms. *Water Research*, 176, 115746. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115746>
- Warneck, P., y Ziajka, J. (1995). Reaction Mechanism of the Iron(III)-Catalyzed Autoxidation of Bisulfite in Aqueous Solution: Steady State Description for Benzene as Radical Scavenger. *Berichte Der Bunsengesellschaft Für Physikalische Chemie*, 99, 59–65. <https://doi.org/10.1002/bbpc.19950990109>

- Wei, Y., Zou, Q., Ye, P., Wang, M., Li, X., y Xu, A. (2018). Photocatalytic degradation of organic pollutants in wastewater with g-C₃N₄/sulfite system under visible light irradiation. *Chemosphere*, 208, 358–365. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.006>
- Wen, G., Wang, S., Wang, T., Feng, Y., Chen, Z., Lin, W., Huang, T., y Ma, J. (2020). Inhibition of bromate formation in the O₃/PMS process by adding low dosage of carbon materials: Efficiency and mechanism. *Chemical Engineering Journal*, 402, 126207. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.126207>
- Wen, G., Xu, X., Zhu, H., Huang, T., y Ma, J. (2017). Inactivation of four genera of dominant fungal spores in groundwater using UV and UV/PMS: Efficiency and mechanisms. *Chemical Engineering Journal*, 328, 619–628. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.07.055>
- Wen, G., Zhao, D., Xu, X., Chen, Z., Huang, T., y Ma, J. (2019). Inactivation of fungi from four typical genera in groundwater using PMS/Cl⁻ system: Efficacy, kinetics and mechanisms. *Chemical Engineering Journal*, 357, 567–578. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.09.195>
- Wen, X., Chen, F., Lin, Y., Zhu, H., Yuan, F., Kuang, D., Jia, Z., y Yuan, Z. (2020). Microbial Indicators and Their Use for Monitoring Drinking Water Quality—A Review. *Sustainability*, 12(6), 2249. <https://doi.org/10.3390/SU12062249>
- Wine, P. H., Tang, Y., Thorn, R. P., Wells, J. R., y Davis, D. D. (1989). Kinetics of aqueous phase reactions of the SO₄⁻ radical with potential importance in cloud chemistry. *J. Geophys. Res., D, Atmos.*, 94, 1085–1094. <https://doi.org/10.1029/JD094iD01p01085>
- Wojnárovits, L., y Takács, E. (2014). Rate coefficients of hydroxyl radical reactions with pesticide molecules and related compounds: A review. *Radiation Physics and Chemistry*, 96, 120–134. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2013.09.003>
- Wojnárovits, L., y Takács, E. (2019). Rate constants of sulfate radical anion reactions with organic molecules: A review. *Chemosphere*, 220, 1014–1032. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.12.156>
- Wols, B. A., Harmsen, D. J. H., Beerendonk, E. F., y Hofman-Caris, C. H. M. (2014). Predicting pharmaceutical degradation by UV (LP)/H₂O₂ processes: A kinetic model. *Chemical Engineering Journal*, 255, 334–343. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.05.088>
- Wols, B. A., y Hofman-Caris, C. H. M. (2012). Review of photochemical reaction constants of organic micropollutants required for UV advanced oxidation processes in water. *Water Research*, 46(9), 2815–2827. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.03.036>
- Woltersdorf, L., Scheidegger, R., Liehr, S., y Döll, P. (2016). Municipal water reuse for urban agriculture in Namibia: Modeling nutrient and salt flows as impacted by sanitation user behavior. *Journal of Environmental Management*, 169, 272–284.

<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.12.025>

- World Health Organization (WHO). (2012). *Pharmaceuticals in drinking-water*. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data.
- World Health Organization (WHO). (2017). *Guidelines for drinking-water quality* (4ª Edición). WHO Library Cataloguing-in-Publication Data.
- World Water Assessment Programme (WWAP). (2018). World Water Development Report 2018: Nature-Based Solutions for Water. In *UN Water Report*.
- World Water Assessment Programme (WWAP). (2020). World water development report 2020: water and climate change. In *UN Water Report*.
- World Water Assessment Programme (WWAP). (2021). World Water Development Report 2021: Valuing water. In *UN Water Report*.
- Wu, D., Ye, P., Wang, M., Wei, Y., Li, X., y Xu, A. (2018). Cobalt nanoparticles encapsulated in nitrogen-rich carbon nanotubes as efficient catalysts for organic pollutants degradation via sulfite activation. *Journal of Hazardous Materials*, 352, 148–156. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.03.040>
- Wu, G., Qin, W., Sun, L., Yuan, X., y Xia, D. (2019). Role of peroxymonosulfate on enhancing ozonation for micropollutant degradation: Performance evaluation, mechanism insight and kinetics study. *Chemical Engineering Journal*, 360, 115–123. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.11.183>
- Wu, X., Yan, L., Xu, G., Wang, X., Wang, J. J., y Dionysiou, D. D. (2021). High frequency ultrasonication enhances iron-catalyzed sulphate inactivation of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Chemical Engineering Journal Advances*, 8, 100170. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.100170>
- Xia, D., He, H., Liu, H., Wang, Y., Zhang, Q., Li, Y., Lu, A., He, C., y Wong, P. K. (2018). Persulfate-mediated catalytic and photocatalytic bacterial inactivation by magnetic natural ilmenite. *Applied Catalysis B: Environmental*, 238, 70–81. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2018.07.003>
- Xia, D., Li, Y., Huang, G., Yin, R., An, T., Li, G., Zhao, H., Lu, A., y Wong, P. K. (2017). Activation of persulfates by natural magnetic pyrrhotite for water disinfection: Efficiency, mechanisms, and stability. *Water Research*, 112, 236–247. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.052>
- Xia, D., Tang, Z., Wang, Y., Yin, R., He, H., Xie, X., Sun, J., He, C., Wong, P. K., y Zhang, G. (2020). Piezo-catalytic persulfate activation system for water advanced disinfection: Process efficiency and inactivation mechanisms. *Chemical Engineering Journal*, 400, 125894. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125894>
- Xiao, Q., Ren, Y., y Yu, S. (2017). Pilot study on bromate reduction from drinking water by UV/sulfite systems: Economic cost comparisons, effects of environmental parameters

- and mechanisms. *Chemical Engineering Journal*, 330, 1203–1210. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.08.071>
- Xiao, Q., Wang, T., Yu, S., Yi, P., y Li, L. (2017). Influence of UV lamp, sulfur(IV) concentration, and pH on bromate degradation in UV/sulfite systems: Mechanisms and applications. *Water Research*, 111, 288–296. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.018>
- Xiao, Q., y Yu, S. (2021a). The role of dissolved oxygen in the sulfite/divalent transition metal ion system: degradation performances and mechanisms. *Chemical Engineering Journal*, 417, 129115. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.129115>
- Xiao, Q., y Yu, S. (2021b). Reduction of bromate from drinking water by sulfite/ferric ion systems: Efficacy and mechanisms. *Journal of Hazardous Materials*, 418, 125940. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125940>
- Xiao, R., Liu, K., Bai, L., Minakata, D., Seo, Y., Kaya Göktas, R., Dionysiou, D. D., Tang, C. J., Wei, Z., y Spinney, R. (2019). Inactivation of pathogenic microorganisms by sulfate radical: Present and future. *Chemical Engineering Journal*, 371, 222–232. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.03.296>
- Xiao, R., Luo, Z., Wei, Z., Luo, S., Spinney, R., Yang, W., y Dionysiou, D. D. (2018). Activation of peroxymonosulfate/persulfate by nanomaterials for sulfate radical-based advanced oxidation technologies. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 19, 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.coche.2017.12.005>
- Xie, B., Li, X., Huang, X., Xu, Z., Zhang, W., y Pan, B. (2017). Enhanced debromination of 4-bromophenol by the UV/sulfite process: Efficiency and mechanism. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 54, 231–238. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.02.001>
- Xie, P., Guo, Y., Chen, Y., Wang, Z., Shang, R., Wang, S., Ding, J., Wan, Y., Jiang, W., y Ma, J. (2017). Application of a novel advanced oxidation process using sulfite and zero-valent iron in treatment of organic pollutants. *Chemical Engineering Journal*, 314, 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.12.094>
- Xie, P., Zhang, L., Chen, J., Ding, J., Wan, Y., Wang, S., Wang, Z., Zhou, A., y Ma, J. (2019). Enhanced degradation of organic contaminants by zero-valent iron/sulfite process under simulated sunlight irradiation. *Water Research*, 149, 169–178. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.10.078>
- Xie, W., Dong, W., Kong, D., Ji, Y., Lu, J., y Yin, X. (2016). Formation of halogenated disinfection by-products in cobalt-catalyzed peroxymonosulfate oxidation processes in the presence of halides. *Chemosphere*, 154, 613–619. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.04.025>
- Xu, H., Jiang, N., Wang, D., Wang, L., Song, Y., Chen, Z., Ma, J., y Zhang, T. (2020). Improving PMS oxidation of organic pollutants by single cobalt atom catalyst through

- hybrid radical and non-radical pathways. *Applied Catalysis B: Environmental*, 263, 118350. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2019.118350>
- Xu, X., Chen, J., Qu, R., y Wang, Z. (2017). Oxidation of Tris (2-chloroethyl) phosphate in aqueous solution by UV-activated peroxymonosulfate: Kinetics, water matrix effects, degradation products and reaction pathways. *Chemosphere*, 185, 833–843. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.090>
- Xu, Y., Lin, Z., Wang, Y., y Zhang, H. (2017). The UV/peroxymonosulfate process for the mineralization of artificial sweetener sucralose. *Chemical Engineering Journal*, 317, 561–569. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.02.058>
- Yang, J., Li, Y., Yang, Z., Shih, K., Ying, G. G., y Feng, Y. (2022). Activation of ozone by peroxymonosulfate for selective degradation of 1,4-dioxane: Limited water matrices effects. *Journal of Hazardous Materials*, 436, 129223. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129223>
- Yang, S., Wang, P., Yang, X., Shan, L., Zhang, W., Shao, X., y Niu, R. (2010). Degradation efficiencies of azo dye Acid Orange 7 by the interaction of heat, UV and anions with common oxidants: Persulfate, peroxymonosulfate and hydrogen peroxide. *Journal of Hazardous Materials*, 179(1–3), 552–558. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.03.039>
- Yang, Y., Jiang, J., Lu, X., Ma, J., y Liu, Y. (2015). Production of Sulfate Radical and Hydroxyl Radical by Reaction of Ozone with Peroxymonosulfate: A Novel Advanced Oxidation Process. *Environmental Science and Technology*, 49(12), 73307339. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/es506362e>
- Yang, Z. W., Wang, W. L., Lee, M. Y., Wu, Q. Y., y Guan, Y. T. (2022). Synergistic effects of ozone/peroxymonosulfate for isothiazolinone biocides degradation: Kinetics, synergistic performance and influencing factors. *Environmental Pollution*, 294, 118626. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118626>
- Yao, Y., Chen, H., Qin, J., Wu, G., Lian, C., Zhang, J., y Wang, S. (2016). Iron encapsulated in boron and nitrogen codoped carbon nanotubes as synergistic catalysts for Fenton-like reaction. *Water Research*, 101, 281–291. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.05.065>
- Yaseen, Z. M. (2021). An insight into machine learning models era in simulating soil, water bodies and adsorption heavy metals: Review, challenges and solutions. *Chemosphere*, 277, 130126. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130126>
- Yin, R., Guo, W., Wang, H., Du, J., Zhou, X., Wu, Q., Zheng, H., Chang, J., y Ren, N. (2018). Enhanced peroxymonosulfate activation for sulfamethazine degradation by ultrasound irradiation: Performances and mechanisms. *Chemical Engineering Journal*, 335, 145–153. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.10.063>
- Yu, Xiaoping, Qin, W., Yuan, X., Sun, L., Pan, F., y Xia, D. (2021). Synergistic mechanism

- and degradation kinetics for atenolol elimination via integrated UV/ozone/peroxymonosulfate process. *Journal of Hazardous Materials*, 407, 124393. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124393>
- Yu, Xingyue, Cabooter, D., y Dewil, R. (2019). Efficiency and mechanism of diclofenac degradation by sulfite/UV advanced reduction processes (ARPs). *Science of the Total Environment*, 688, 65–74. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.210>
- Yu, Z., Rabiee, H., y Guo, J. (2021). Synergistic effect of sulfidated nano zerovalent iron and persulfate on inactivating antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes. *Water Research*, 198, 117141. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117141>
- Zanias, A., Frontistis, Z., Vakros, J., Arvaniti, O. S., Ribeiro, R. S., Silva, A. M. T., Faria, J. L., Gomes, H. T., y Mantzavinos, D. (2020). Degradation of methylparaben by sonocatalysis using a Co–Fe magnetic carbon xerogel. *Ultrasonics Sonochemistry*, 64, 105045. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105045>
- Zhang, B. T., Zhang, Y., Teng, Y., y Fan, M. (2015). Sulfate radical and its application in decontamination technologies. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 45(16), 1756–1800. <https://doi.org/10.1080/10643389.2014.970681>
- Zhang, C., Sun, W., Wei, H., y Sun, C. (2021). Application of artificial intelligence for predicting reaction results in advanced oxidation processes. *Environmental Technology & Innovation*, 23, 101550. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101550>
- Zhang, H., Du, M., Jiang, H., Zhang, D., Lin, L., Ye, H., y Zhang, X. (2014). Occurrence, seasonal variation and removal efficiency of antibiotics and their metabolites in wastewater treatment plants, Jiulongjiang River Basin, South China. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 17(1), 225–234. <https://doi.org/10.1039/C4EM00457D>
- Zhang, Jiaming, Song, H., Liu, Y., Wang, L., Li, D., Liu, C., Gong, M., Zhang, Z., Yang, T., y Ma, J. (2019). Remarkable enhancement of a photochemical Fenton-like system (UV-A/Fe(II)/PMS) at near-neutral pH and low Fe(II)/peroxymonosulfate ratio by three alpha hydroxy acids: Mechanisms and influencing factors. *Separation and Purification Technology*, 224, 142–151. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.04.086>
- Zhang, Jing, Zhu, L., Shi, Z., y Gao, Y. (2017). Rapid removal of organic pollutants by activation sulfite with ferrate. *Chemosphere*, 186, 576–579. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.102>
- Zhang, L., Jin, H., Ma, H., Gregory, K., Qi, Z., Wang, C., Wu, W., Cang, D., y Li, Z. (2020). Oxidative damage of antibiotic resistant *E. coli* and gene in a novel sulfidated micron zero-valent activated persulfate system. *Chemical Engineering Journal*, 381, 122787. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.122787>
- Zhang, L., Ma, H., Huang, X., Yan, Z., Ding, W., Li, Z., y Cang, D. (2019). Fast and efficient inactivation of antibiotic resistant *Escherichia coli* by iron electrode-activated sodium peroxydisulfate in a galvanic cell. *Chemical Engineering Journal*, 355, 150–158.

<https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.08.065>

- Zhang, T., Hu, Y., Jiang, L., Yao, S., Lin, K., Zhou, Y., y Cui, C. (2019). Removal of antibiotic resistance genes and control of horizontal transfer risk by UV, chlorination and UV/chlorination treatments of drinking water. *Chemical Engineering Journal*, 358, 589–597. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.09.218>
- Zhang, X., Yao, J., Zhao, Z., y Liu, J. (2019). Degradation of haloacetonitriles with UV/peroxymonosulfate process: Degradation pathway and the role of hydroxyl radicals. *Chemical Engineering Journal*, 364, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.01.029>
- Zhang, Yanru, y Haghani, A. (2015). A gradient boosting method to improve travel time prediction. *Transportation Research Part C: Emerging Technologies*, 58, 308–324. <https://doi.org/10.1016/j.trc.2015.02.019>
- Zhang, Yiqing, Xiao, Y., Zhong, Y., y Lim, T. T. (2019). Comparison of amoxicillin photodegradation in the UV/H₂O₂ and UV/persulfate systems: Reaction kinetics, degradation pathways, and antibacterial activity. *Chemical Engineering Journal*, 372, 420–428. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.04.160>
- Zhang, Yiqing, Zhang, J., Xiao, Y., Chang, V. W. C. C., y Lim, T.-T. T. (2017). Direct and indirect photodegradation pathways of cytostatic drugs under UV germicidal irradiation: Process kinetics and influences of water matrix species and oxidant dosing. *Journal of Hazardous Materials*, 324, 481–488. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.11.016>
- Zhang, Yu, Zhou, J., Li, C., Guo, S., y Wang, G. (2012). Reaction Kinetics and Mechanism of Iron (II) -Induced Catalytic Oxidation of Sulfur (IV) during Wet Desulfurization. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 51, 1158–1165. <https://doi.org/10.1021/IE2014372>
- Zhao, Q., Mao, Q., Zhou, Y., Wei, J., Liu, X., Yang, J., Luo, L., Zhang, J., Chen, H., Chen, H., y Tang, L. (2017). Metal-free carbon materials-catalyzed sulfate radical-based advanced oxidation processes: A review on heterogeneous catalysts and applications. *Chemosphere*, 189, 224–238. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.09.042>
- Zheng, J., Su, C., Zhou, J., Xu, L., Qian, Y., y Chen, H. (2017). Effects and mechanisms of ultraviolet, chlorination, and ozone disinfection on antibiotic resistance genes in secondary effluents of municipal wastewater treatment plants. *Chemical Engineering Journal*, 317, 309–316. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.02.076>
- Zhong, D., Zhou, Z., Ma, W., Ma, J., Lv, W., Feng, W., Du, X., y He, F. (2022). Study on degradation of chloramphenicol by H₂O₂/PMS double-oxidation system catalyzed by pipe deposits from water networks. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(3), 107529. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.107529>
- Zhou, C., Wu, J., Dong, L., Liu, B., Xing, D., Yang, S., Wu, X., Wang, Q., Fan, J., Feng, L.,

- y Cao, G. (2020). Removal of antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes in wastewater effluent by UV-activated persulfate. *Journal of Hazardous Materials*, 388, 122070. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122070>
- Zhou, D., Yuan, Y., Yang, S., y Gao, H. (2015). Roles of oxysulfur radicals in the oxidation of acid orange 7 in the Fe (III)– sulfite system. *Journal of Sulfur Chemistry*, 36, 373–384. <https://doi.org/10.1080/17415993.2015.1028939>
- Zhu, X., He, M., Sun, Y., Xu, Z., Wan, Z., Hou, D., Alessi, D. S., y Tsang, D. C. W. (2022). Insights into the adsorption of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) on biochar and activated carbon with the aid of machine learning. *Journal of Hazardous Materials*, 423, 127060. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127060>
- Zhu, X., Wan, Z., Tsang, D. C. W., He, M., Hou, D., Su, Z., y Shang, J. (2021). Machine learning for the selection of carbon-based materials for tetracycline and sulfamethoxazole adsorption. *Chemical Engineering Journal*, 406, 126782. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.126782>

ANEXOS

ANEXO I: Publicaciones producto de la investigación

I.I. Publicación 1

Autores: Guerra-Rodríguez, S., Rodríguez, E., Singh, D. N. D. N., y Rodríguez-Chueca, J.

Título: *Assessment of sulfate radical-based advanced oxidation processes for water and wastewater treatment: A review*

Publicación, año y número de artículo: *Water* (2018), 10(12), 1828

DOI: <https://doi.org/10.3390/w10121828>



Review

Assessment of Sulfate Radical-Based Advanced Oxidation Processes for Water and Wastewater Treatment: A Review

Sonia Guerra-Rodríguez ¹, Encarnación Rodríguez ¹, Devendra Narain Singh ² and Jorge Rodríguez-Chueca ^{1,*} 

¹ Department of Industrial Chemical & Environmental Engineering, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales, Universidad Politécnica de Madrid, Calle José Gutiérrez Abascal 2, 28006 Madrid, Spain; guerrarodriguezs@gmail.com (S.G.-R.); encarnacion.rodriguez@upm.es (E.R.)

² Department of Civil Engineering, Indian Institute of Technology Bombay, Powai, Mumbai 400076, India; dns@civil.iitb.ac.in

* Correspondence: jorge.rodriguez.chueca@upm.es; Tel.: +34-910-677-334

Received: 16 November 2018; Accepted: 6 December 2018; Published: 11 December 2018



Abstract: High oxidation potential as well as other advantages over other tertiary wastewater treatments have led in recent years to a focus on the development of advanced oxidation processes based on sulfate radicals (SR-AOPs). These radicals can be generated from peroxymonosulfate (PMS) and persulfate (PS) through various activation methods such as catalytic, radiation or thermal activation. This review manuscript aims to provide a state-of-the-art overview of the different methods for PS and PMS activation, as well as the different applications of this technology in the field of water and wastewater treatment. Although its most widespread application is the elimination of micropollutants, its use for the disinfection of wastewater is gaining increasing interest. In addition, the possibility of combining this technology with ultrafiltration membranes to improve the water quality and lifespan of the membranes has also been discussed. Finally, a brief economic analysis of this technology has been undertaken and the different attempts made to implement it at full-scale have been summarized. As a result, this review tries to be useful for all those people working in that area.

Keywords: advanced oxidation processes; disinfection; micropollutants; organic matter sulfate radicals; tertiary wastewater treatment

I.II. Publicación 2

Autores: Guerra-Rodríguez, S., Oulego, P., Rodríguez, E., Singh, D. N., y Rodríguez-Chueca, J.

Título: *Towards the Implementation of Circular Economy in the Wastewater Sector: Challenges and Opportunities*

Publicación, año y número de artículo: *Water* (2020), 12(5), 1431

DOI: <https://doi.org/10.3390/w12051431>



Review

Towards the Implementation of Circular Economy in the Wastewater Sector: Challenges and Opportunities

Sonia Guerra-Rodríguez¹, Paula Oulego² , Encarnación Rodríguez¹, Devendra Narain Singh³ and Jorge Rodríguez-Chueca^{1,*} 

¹ Department of Industrial Chemical Engineering & Environment, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales, Universidad Politécnica de Madrid, Calle José Gutiérrez Abascal 2, 28006 Madrid, Spain; sonia.guerra@upm.com (S.G.-R.); encarnacion.rodriguez@upm.es (E.R.)

² Department of Chemical and Environmental Engineering, University of Oviedo, c/Julián Clavería s/n, E-33071 Oviedo, Spain; oulegopaula@uniovi.es

³ Department of Civil Engineering, Indian Institute of Technology Bombay, Powai, Mumbai 400076, India; dns@civil.iitb.ac.in

* Correspondence: jorge.rodriguez.chueca@upm.es; Tel.: +34-910-677-334

Received: 11 March 2020; Accepted: 13 May 2020; Published: 18 May 2020



Abstract: The advancement of science has facilitated increase in the human lifespan, reflected in economic and population growth, which unfortunately leads to increased exploitation of resources. This situation entails not only depletion of resources, but also increases environmental pollution, mainly due to atmospheric emissions, wastewater effluents, and solid wastes. In this scenario, it is compulsory to adopt a paradigm change, as far as the consumption of resources by the population is concerned, to achieve a circular economy. The recovery and reuse of resources are key points, leading to a decrease in the consumption of raw materials, waste reduction, and improvement of energy efficiency. This is the reason why the concept of the circular economy can be applied in any industrial activity, including the wastewater treatment sector. With this in view, this review manuscript focuses on demonstrating the challenges and opportunities in applying a circular economy in the water sector. For example, reclamation and reuse of wastewater to increase water resources, by paying particular attention to the risks for human health, recovery of nutrients, or highly added-value products (e.g., metals and biomolecules among others), valorisation of sewage sludge, and/or recovery of energy. Being aware of this situation, in the European Union 18 out of 27 countries are already reusing reclaimed wastewater at some level. Moreover, many wastewater treatment plants have reached energy self-sufficiency, producing up to 150% of their energy requirements. Unfortunately, many of the opportunities presented in this work are far from becoming a reality. Still, the first step is always to become aware of the problem and work on optimizing the solution to make it possible.

Keywords: circular economy; wastewater reuse; zero waste; zero energy; substances recovery; sustainable development goals

I.III. Publicación 3

Autores: Guerra-Rodríguez, S., Cediél, N., Rodríguez, E., y Rodríguez-Chueca, J.

Título: *Photocatalytic activation of sulfite using Fe(II) and Fe(III) for Enterococcus sp. Inactivation in urban wastewater*

Publicación, año y número de artículo: *Chemical Engineering Journal* (2021), 408, 127326

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.127326>

Chemical Engineering Journal 408 (2021) 127326

Contents lists available at ScienceDirect

Chemical Engineering Journal

journal homepage: www.elsevier.com/locate/cej

Photocatalytic activation of sulfite using Fe(II) and Fe(III) for *Enterococcus* sp. Inactivation in urban wastewater

Sonia Guerra-Rodríguez, Nerea Cediél, Encarnación Rodríguez, Jorge Rodríguez-Chueca^{*}

Department of Industrial Chemical & Environmental Engineering, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, Spain

ARTICLE INFO

Keywords:
Sulfate radical anion
Sulfite
Iron species
Wastewater disinfection
Advanced Oxidation Processes
UV radiation

ABSTRACT

The application of sulfite in advanced oxidation-reduction processes has shown good results in the degradation of organic pollutant, but very few researches have addressed its application for wastewater disinfection. In this study, the efficacy of a sulfite system activated by different iron species and/or UV-A radiation in the inactivation of *Enterococcus* sp. was studied for the first time, achieving complete disinfection (>5-log) after 90 min. Different sulfite (0.1–10 mM), Fe(II) and Fe(III)-cit (0.1–2 mM) concentrations, were assessed in simulated and real wastewater matrices and experiments with radical scavengers were carried out to identify the main radical species involved in the disinfection. In addition, the influence of the nature of the aqueous matrix and the presence of other bacteria species as *E.coli* was assessed. Fe(III)-cit was the best sulfite activator, reaching complete bacteria inactivation (>5-log), while a maximum disinfection rate of 2.3-log units was achieved when using Fe(II). The performance of the treatment was greatly affected by the composition of the matrix, as the use of real wastewater resulted in a decrease in the disinfection rate to 0.5 and 1.4-log when using Fe(II) and Fe(III)-cit, respectively. The presence of *Escherichia coli* also proved to negatively influence the *Enterococcus* inactivation result, leading to a inactivation of 2.1-log in the sulfite/Fe(III)-cit system, opening the door to new studies to find out the selectivity of the radicals towards the different microorganisms in the matrix. Even though deeper studies are needed for a better understanding of the reaction mechanisms, this work opens the door to the use of sulfite-based processes applied to the disinfection of wastewater, proposing an alternative to the use of traditional oxidants.

I.IV. Publicación 4

Autores: Guerra-Rodríguez, S., Ribeiro, A. R., Ribeiro, R. S. R. S., Rodríguez, E., Silva, A. M. T. A. M. T., y Rodríguez-Chueca, J.

Título: *UV-A activation of peroxymonosulfate for the removal of micropollutants from secondary treated wastewater*

Publicación, año y número de artículo: *Science of the Total Environment* (2021) 770, 145299.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145299>



UV-A activation of peroxymonosulfate for the removal of micropollutants from secondary treated wastewater

Sonia Guerra-Rodríguez^a, Ana Rita Lado Ribeiro^{b,*}, Rui S. Ribeiro^b, Encarnación Rodríguez^a, Adrián M.T. Silva^b, Jorge Rodríguez-Chueca^{a,*}

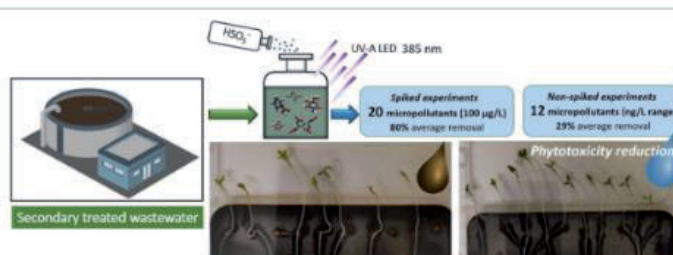
^a Department of Industrial Chemical & Environmental Engineering, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, Spain

^b Laboratory of Separation and Reaction Engineering – Laboratory of Catalysis and Materials (LSRE-LCM), Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto, Rua Dr. Roberto Frias s/n, 4200-465 Porto, Portugal

HIGHLIGHTS

- The average extent of synergy obtained by PMS/UV-A LED was 69%.
- 80% average degradation of micropollutants ($100 \mu\text{g L}^{-1}$) was achieved with PMS/UV-A.
- Most of the removal of micropollutants occurred in the first 5 min of reaction.
- Phytotoxicity reduction was observed after PMS/UV-A treatment.
- Roots and shoots of germinated seeds were longer when fed with treated wastewater.

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Article history:

Received 14 November 2020

Received in revised form 14 January 2021

Accepted 15 January 2021

Available online 21 January 2021

Editor: Paola Verlicchi

Keywords:

UV-A LED radiation
Peroxymonosulfate
Advanced oxidation process
Micropollutants
Phytotoxicity

ABSTRACT

The occurrence of micropollutants (MPs) in the aquatic environment poses a threat to the environment and to the human health. The application of sulfate radical-based advanced oxidation processes (SR-AOPs) to eliminate these contaminants has attracted attention in recent years. In this work, the simultaneous degradation of 20 multi-class MPs (classified into 5 main categories, namely antibiotics, beta-blockers, other pharmaceuticals, pesticides, and herbicides) was evaluated for the first time in secondary treated wastewater, by activating peroxymonosulfate (PMS) with UV-A radiation, without any pH adjustment or iron addition. The optimal PMS concentration to remove the spiked target MPs ($100 \mu\text{g L}^{-1}$) from wastewater was 0.1 mM , leading to an average degradation of 80% after 60 min, with most of the elimination occurring during the first 5 min. Synergies between radiation and the oxidant were demonstrated and quantified, with an average extent of synergy of 69.1%. The optimized treatment was then tested using non-spiked wastewater, in which 12 out of the 20 target contaminants were detected. Among these, 7 were degraded at some extent, varying from 10.7% (acetamiprid) to 94.4% (ofloxacin), the lower removals being attributed to the quite inferior ratio of MPs to natural organic matter. Phytotoxicity tests carried out with the wastewater before and after photo-activated PMS oxidation revealed a decrease in the toxicity and that the plants were able to grow in the presence of the treated water. Therefore, despite the low degradation rates obtained for some MPs, the treatment effectively reduces the toxicity of the matrix, making the water safer for reuse.

© 2021 Elsevier B.V. All rights reserved.

V. Publicación 5

Autores: Guerra-rod  guez, S., Rodríguez, E., Moreno-Andrés, J. y Rodríguez-Chueca, J.

Título: *Effect of the water matrix and reactor configuration on Enterococcus sp.*

inactivation by UV-A activated PMS or H₂O₂

Publicación, año y número de artículo: *Journal of Water Process Engineering* (2022) 47, 102740

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2022.102740>

Journal of Water Process Engineering 47 (2022) 102740

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Water Process Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jwpe

Effect of the water matrix and reactor configuration on *Enterococcus* sp. inactivation by UV-A activated PMS or H₂O₂

Sonia Guerra-Rodr  guez^a, Encarnación Rodr  guez^a, Javier Moreno-Andr  s^b, Jorge Rodríguez-Chueca^{a,*}

^a Department of Industrial Chemical & Environmental Engineering, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales, Universidad Politécnica de Madrid, C/José Gutiérrez Abascal 2, 28006 Madrid, Spain

^b Department of Environmental Technologies, Faculty of Marine and Environmental Sciences, INMAR-Marine Research Institute, CEIMAR International Campus of Excellence of the Sea, University of Cad  z, Campus Universitario de Puerto Real, 11510 C  diz, Spain

ARTICLE INFO

Keywords:
Advanced oxidation processes
Enterococcus sp.
Inorganic anions
Persulfates
UV activation

ABSTRACT

In this work, the influence of the matrix on the photolytic activation of peroxymonosulfate (PMS) and hydrogen peroxide (H₂O₂) has been studied for the inactivation of *Enterococcus* sp. Additionally, two different reactor configurations (batch reactor and tubular reactor) have been evaluated that achieve complete disinfection within 120 min when using a tubular reactor. Three water matrices (distilled water, saline solution and simulated wastewater) have been studied, and experiments have been carried out using radical scavengers to determine the main reactive species involved in each process. The hydroxyl radical ($\cdot$ OH) has been found to be the main responsible for the inactivation of bacteria in distilled water, while chlorinated species generated during treatments are responsible for disinfection in a saline matrix. The study of the influence of various inorganic ions (Br⁻, F⁻, PO₄³⁻, NO₃⁻, NO₂⁻) on treatments revealed an increase in the efficacy of the PMS/UV-A system in the presence of Br⁻ due to the bromine generation. Furthermore, the effect of F⁻ has been studied for the first time, determining that the presence of this compound does not have a significant influence on the H₂O₂/UV-A system while inhibiting PMS/UV-A treatment. Overall, the results suggest that H₂O₂-based treatments would be less dependent on matrix composition than those involving PMS, and the presence of nitrites is a contraindication to the application of either process.

ANEXO II. Conjunto de experimentos utilizado para el entrenamiento y validación de los modelos de *Machine Learning*

Nº	Matriz	Luz	[PMS] (mM)	[H ₂ O ₂] (mM)	[Sulfito] (mM)	[FeSO ₄] (mM)	[Fe(III)-Cit] (mM)	Tiempos (min)
1	ARS	Sí	-	-	0,5	-	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
2	ARS	Sí	-	-	0,1	-	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
3	ARS	Sí	-	-	1	-	-	0, 15, 30, 45, 60, 90, 120
4	ARS	Sí	-	-	0,75	-	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
5	ARS	No	-	-	0,5	-	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
6	ARS	Sí	0,01	-	-	-	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
7	ARS	Sí	0,1	-	-	-	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
8	ARS	Sí	10	-	-	-	-	0, 60, 120
9	ARS	No	0,5	-	-	-	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
10	ARS	No	0,1	-	-	-	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
11	ARS	Sí	-	-	0,5	-	0,5	0, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120
12	ARS	Sí	-	-	0,5	-	2,5	0, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120
13	ARS	Sí	-	-	0,5	-	5	0, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120
14	ARS	No	-	-	0,5	-	2,5	0, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120
15	ARS	Sí	-	-	0,5	-	3,5	0, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120
16	ARS	Sí	-	-	0,5	-	1	0, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120
17	ARS	No	-	-	0,5	-	5	0, 60, 90, 120
18	ARS	Sí	-	-	0,5	0,5	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
19	ARS	Sí	-	-	0,5	2,5	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
20	ARS	No	-	-	0,5	2,5	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
21	ARS	Sí	-	-	0,5	5	-	0, 15, 30, 60, 90, 120

Nº	Matriz	Luz	[PMS] (mM)	[H ₂ O ₂] (mM)	[Sulfito] (mM)	[FeSO ₄] (mM)	[Fe(III)-Cit] (mM)	Tiempos (min)
22	ARS	Sí	-	-	0,5	0,05	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
23	ARS	Sí	-	-	0,5	0,025	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
24	ARS	Sí	-	-	0,5	0,25	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
25	ARS	Sí	-	-	1	0,5	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
26	ARS	No	-	-	0,5	0,05	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
27	ARS	Sí	-	-	1	0,1	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
28	ARS	Sí	-	-	1,5	0,5	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
29	ARS	Sí	-	-	1	1	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
30	ARS	Sí	0,1	-	-	-	0,1	0, 15, 30, 60, 90, 120
31	ARS	Sí	0,1	-	-	-	0,01	0, 15, 30, 60, 90, 120
32	ARS	Sí	0,1	-	-	-	0,05	0, 15, 30, 60, 90, 120
33	ARS	Sí	0,1	-	-	-	0,5	0, 15, 30, 60, 90, 120
34	ARS	Sí	0,2	-	-	-	0,1	0, 15, 30, 60, 90, 120
35	ARS	Sí	0,1	-	-	0,1	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
36	ARS	Sí	0,1	-	-	0,5	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
37	ARS	Sí	0,1	-	-	0,01	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
38	ARS	Sí	0,1	-	-	0,05	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
39	ARS	Sí	0,1	-	-	1	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
40	ARS	Sí	0,2	-	-	1	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
41	ARS	Sí	-	3	-	-	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
42	ARS	Sí	-	5	-	-	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
43	ARS	Sí	-	10	-	-	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
44	ARS	Sí	-	15	-	-	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
45	Dest.	Sí	-	-	0,01	-	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120

Nº	Matriz	Luz	[PMS] (mM)	[H ₂ O ₂] (mM)	[Sulfito] (mM)	[FeSO ₄] (mM)	[Fe(III)-Cit] (mM)	Tiempos (min)
46	Dest.	Sí	-	-	0,05	-	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
47	Dest.	Sí	-	-	0,1	-	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
48	Dest.	Sí	-	-	0,5	-	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
49	SS	Sí	-	1,5	-	-	0,05	0, 15, 30, 60, 90, 120
50	SS	Sí	-	1,5	-	-	0,15	0, 5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120
51	SS	Sí	-	1,5	-	-	0,5	0, 15, 30, 60, 90, 120
52	SS	Sí	-	1,5	-	-	1,5	0, 5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120
53	SS	Sí	-	1,5	-	-	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
54	SS	No	-	1,5	-	-	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
55	ARS	Sí	-	1,5	-	-	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
56	ARS	No	-	1,5	-	-	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
57	Dest.	Sí	-	1,5	-	-	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
58	Dest.	No	-	1,5	-	-	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
59	ARS	Sí	-	3	-	0,03	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
60	ARS	Sí	-	3	-	0,3	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
61	ARS	Sí	-	3	-	0,6	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
62	ARS	Sí	-	3	-	1,5	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
63	Dest.	Sí	-	-	0,1	0,01	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
64	Dest.	Sí	-	-	0,1	0,1	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
65	Dest.	Sí	-	-	0,1	0,2	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
66	Dest.	Sí	-	-	0,1	-	0,01	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
67	Dest.	Sí	-	-	0,1	-	0,05	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
68	Dest.	Sí	-	-	0,1	-	0,1	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
69	Dest.	Sí	-	-	0,1	-	0,2	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120

Nº	Matriz	Luz	[PMS] (mM)	[H ₂ O ₂] (mM)	[Sulfito] (mM)	[FeSO ₄] (mM)	[Fe(III)-Cit] (mM)	Tiempos (min)
70	ARS	Sí	0,05	-	-	-	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
71	ARS	No	0,05	-	-	-	-	0, 15, 30, 60, 90, 120
72	SS	Sí	0,05	-	-	-	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
73	SS	Sí	0,05	-	-	-	0,1	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
74	SS	Sí	0,01	-	-	-	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
75	SS	Sí	0,01	-	-	-	2	0, 5, 15, 20, 30, 60, 90, 120
76	SS	Sí	0,01	-	-	-	1	0, 5, 15, 20, 30, 60, 90, 120
77	SS	Sí	0,01	-	-	-	0,1	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
78	SS	Sí	0,01	-	-	-	0,01	0, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120
79	SS	Sí	0,01	-	-	-	0,001	0, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120
80	SS	No	0,01	-	-	-	-	0, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120
81	SS	No	0,05	-	-	-	-	0, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120
82	Dest.	Sí	0,01	-	-	-	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
83	Dest.	No	0,01	-	-	-	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120
84	Dest.	SÍ	0,05	-	-	-	-	0, 5, ,15, 30, 60, 90, 120
85	Dest.	No	0,05	-	-	-	-	0, 5, 15, 30, 60, 90, 120

ANEXO III. Resultados de *GridSearch* mediante validación cruzada anidada

1.1. *Random Forest*

1.1.1. Escenario 1

$nSplits_{interior}=3$

Parámetros				
R ² (Validación)	R ² (test)	Max_features	Min_samples_leaf	N_estimators
0,723	0,726	5	1	200
0,839	0,704	5	1	50
0,836	0,731	10	1	100
0,840	0,757	10	1	100
0,756	0,731	10	1	50
0,824	0,716	5	1	200
0,773	0,699	10	1	200
0,783	0,702	5	1	200
0,729	0,758	5	1	50
0,828	0,732	10	1	200

R² promedio: 0,793 (0,044)

Desviación promedio: 0,074 (0,040)

$nSplits_{interior}=10$

Parámetros				
R ² (Validación)	R ² (test)	Max_features	Min_samples_leaf	N_estimators
0,724	0,777	5	1	50
0,827	0,749	5	1	200
0,836	0,787	10	1	100
0,836	0,775	10	1	200
0,766	0,772	10	1	200
0,858	0,848	10	1	200
0,773	0,755	10	1	200
0,779	0,793	10	1	200
0,678	0,782	10	1	200
0,828	0,781	10	1	200

R² promedio: 0,790 (0,054)

Desviación promedio: 0,054 (0,034)

1.1.2. Escenario 2.1

$$nSplits_{interior}=3$$

R² (Validación)	R² (test)	Parámetros		
		<i>Max_features</i>	<i>Min_samples_leaf</i>	<i>N_estimators</i>
0,700	0,694	5	1	200
0,769	0,685	10	1	50
0,794	0,702	5	1	200
0,834	0,742	5	1	50
0,685	0,707	5	1	100
0,802	0,699	5	1	50
0,684	0,675	5	1	200
0,752	0,670	5	1	200
0,724	0,727	5	1	50
0,745	0,702	5	1	200

R² promedio: 0,749 (0,049)

Desviación promedio: 0,054 (0,039)

$$nSplits_{interior}=10$$

R² (Validación)	R² (test)	Parámetros		
		<i>Max_features</i>	<i>Min_samples_leaf</i>	<i>N_estimators</i>
0,700	0,740	5	1	200
0,801	0,720	5	1	200
0,806	0,737	10	1	100
0,837	0,734	5	1	200
0,691	0,741	5	1	200
0,802	0,730	5	1	50
0,684	0,732	5	1	200
0,755	0,748	5	1	100
0,714	0,750	5	1	200
0,745	0,745	5	1	200

R² promedio: 0,754 (0,052)

Desviación promedio: 0,051 (0,030)

1.1.3. Escenario 2.2

$$nSplits_{interior}=3$$

R² (Validación)	R² (test)	Parámetros		
		<i>Max_features</i>	<i>Min_samples_leaf</i>	<i>N_estimators</i>
0,939	0,812	10	1	200
0,912	0,785	10	1	100
0,885	0,713	10	1	200
0,792	0,818	10	1	200
0,877	0,782	10	1	200
0,847	0,814	10	1	200
0,861	0,770	10	1	200
0,800	0,779	10	1	200
0,833	0,773	10	1	200
0,800	0,822	10	1	50

R² promedio: 0,854 (0,047)

Desviación promedio: 0,067 (0,039)

$$nSplits_{interior}=10$$

R² (Validación)	R² (test)	Parámetros		
		<i>Max_features</i>	<i>Min_samples_leaf</i>	<i>N_estimators</i>
0,936	0,852	10	1	200
0,911	0,839	10	1	200
0,885	0,850	10	1	200
0,792	0,867	10	1	200
0,877	0,832	10	1	200
0,841	0,864	10	1	100
0,861	0,827	10	1	200
0,800	0,812	10	1	200
0,833	0,852	10	1	100
0,800	0,862	10	1	200

R² promedio: 0,854 (0,047)

Desviación promedio: 0,046 (0,024)

1.1.4. Escenario 2.3

E2.3.1: Fe (II):

$$nSplits_{interior}=3$$

R ² (Validación)	R ² (test)	Parámetros		
		Max_features	Min_samples_leaf	N_estimators
0,434	0,464	3	1	200
0,379	0,578	5	1	100
0,587	0,574	3	1	200
0,410	0,595	3	1	200
0,593	0,567	3	1	200
0,726	0,585	3	1	10
0,433	0,440	3	1	10
0,562	0,512	3	1	100
0,451	0,417	5	1	100
0,430	0,558	10	1	10

R² promedio: 0,501 (0,105)

Desviación promedio: 0,081 (0,070)

$$nSplits_{interior}=10$$

R ² (Validación)	R ² (test)	Parámetros		
		Max_features	Min_samples_leaf	N_estimators
0,434	0,530	3	1	200
0,400	0,411	3	1	200
0,551	0,552	3	1	100
0,410	0,569	3	1	200
0,593	0,541	3	1	200
0,726	0,481	3	1	100
0,553	0,508	3	1	200
0,552	0,809	3	1	200
0,378	0,503	3	1	10
0,507	0,448	3	1	200

R² promedio: 0,510 (0,102)

Desviación promedio: 0,084 (0,071)

E2.3.2: Fe-Cit:

$$nSplits_{interior}=3$$

Parámetros				
R² (Validación)	R² (test)	Max_features	Min_samples_leaf	N_estimators
912	847	5	1	100
901	810	10	1	200
892	875	10	1	200
917	794	10	1	200
880	836	10	1	200
638	891	10	1	50
904	804	10	1	200
736	835	10	1	50
795	863	10	1	200
940	862	10	1	100

R² promedio: 0,851 (0,093)

Desviación promedio: 0,094 (0,060)

$$nSplits_{interior}=10$$

Parámetros				
R² (Validación)	R² (test)	Max_features	Min_samples_leaf	N_estimators
923	855	5	1	50
801	841	10	1	100
895	853	10	1	100
926	861	10	1	50
880	856	10	1	200
654	883	5	1	50
896	832	10	1	100
736	879	10	1	50
795	856	10	1	10
935	854	10	1	200

R² promedio: 0,854 (0,090)

Desviación promedio: 0,084 (0,057)

E2.3.3: Sin catalizador

$$nSplits_{interior}=3$$

R² (Validación)	R² (test)	Parámetros		
		<i>Max_features</i>	<i>Min_samples_leaf</i>	<i>N_estimators</i>
0,801	0,670	5	1	200
0,715	0,714	3	1	50
0,834	0,686	5	1	200
0,687	0,709	3	1	200
0,620	0,723	10	1	10
0,696	0,653	10	1	200
0,707	0,699	5	1	50
0,833	0,697	3	1	50
0,662	0,729	10	1	50
0,726	0,666	3	1	100

R² promedio: 0,728 (0,069)

Desviación promedio: 0,072 (0,052)

$$nSplits_{interior}=10$$

R² (Validación)	R² (test)	Parámetros		
		<i>Max_features</i>	<i>Min_samples_leaf</i>	<i>N_estimators</i>
0,801	0,709	5	1	200
0,695	0,759	3	1	200
0,834	0,722	5	1	200
0,699	0,714	10	1	50
0,620	0,750	10	1	10
0,714	0,682	5	1	200
0,740	0,657	3	1	50
0,880	0,658	5	1	200
0,647	0,726	3	1	100
0,772	0,735	5	1	200

R² promedio: 0,740 (0,078)

Desviación promedio: 0,087 (0,056)

1.1.5. Escenario 3:

$$nSplits_{interior}=3$$

R² (Validación)	R² (test)	Parámetros		
		<i>Max_features</i>	<i>Min_samples_leaf</i>	<i>N_estimators</i>
0,723	0,718	3	1	200
0,821	0,691	5	1	50
0,822	0,718	5	1	200
0,805	0,736	3	1	50
0,617	0,715	5	1	10
0,785	0,712	3	1	200
0,750	0,684	5	1	200
0,760	0,696	3	1	100
0,759	0,737	3	1	100
0,758	0,712	5	1	200

R² promedio: 0,760 (0,057)

Desviación promedio: 0,068 (0,036)

$$nSplits_{interior}=10$$

R² (Validación)	R² (test)	Parámetros		
		<i>Max_features</i>	<i>Min_samples_leaf</i>	<i>N_estimators</i>
0,723	0,751	3	1	200
0,803	0,737	3	1	50
0,805	0,755	3	1	200
0,820	0,756	3	1	100
0,711	0,756	3	1	200
0,785	0,739	3	1	200
0,767	0,743	3	1	200
0,756	0,770	3	1	200
0,748	0,767	3	1	200
0,787	0,762	3	1	200

R² promedio: 0,770 (0,034)

Desviación promedio: 0,039 (0,018)

1.2. *Decission Tress*

1.2.1. Escenario 1: Datos brutos

$nSplits_{interior}=3$

R² (Validación)	R² (test)	<i>Min_samples_leaf</i>
0,616	0,556	5
0,706	0,547	5
0,813	0,546	5
656	0,558	5
0,386	0,550	1
0,767	0,600	1
0,510	0,536	3
0,471	0,553	1
0,548	0,615	3
0,770	0,546	3
R² promedio: 0,624 (0,136)		
Desviación promedio: 0,132 (0,073)		

$nSplits_{interior}=10$

R² (Validación)	R² (test)	<i>Min_samples_leaf</i>
0,653	0,629	3
0,759	0,595	3
0,792	0,682	3
0,739	0,572	3
0,482	0,622	3
0,687	0,587	3
0,510	0,578	3
0,471	0,640	1
0,548	0,652	3
0,770	0,621	3
R² promedio: 0,641 (0,121)		
Desviación promedio: 0,120 (0,045)		

1.2.2. Escenario 2.1: *Random*

$nSplits_{interior}=3$

R² (Validación)	R² (test)	Min_samples_leaf
0,549	0,507	7
0,701	0,558	3
0,697	0,557	7
0,776	0,591	5
0,477	0,548	5
0,439	0,564	10
0,474	0,533	5
0,716	0,463	7
0,545	0,524	3
0,491	0,529	3
R² promedio: 0,587 (0,117)		
Desviación promedio: 0,108 (0,071)		

$nSplits_{interior}=10$

R² (Validación)	R² (test)	Min_samples_leaf
0,552	0,573	3
0,701	0,599	3
0,701	0,606	3
0,789	0,575	3
0,571	0,644	3
0,522	0,545	1
0,410	0,554	3
0,716	0,607	7
0,545	0,641	3
0,584	0,568	3
R² promedio: 0,609 (0,108)		
Desviación promedio: 0,89 (0,058)		

1.2.3. Escenario 2.2: Duplicados

$nSplits_{interior}=3$

R² (Validación)	R² (test)	Min_samples_leaf
0,821	0,677	3
0,884	0,677	1
0,814	0,706	3
0,805	0,731	1
0,812	0,702	5
0,643	0,748	3
0,766	0,654	3
0,752	0,648	3
0,749	0,671	5
0,746	0,719	1
R² promedio: 0,779 (0,061)		
Desviación promedio: 0,107 (0,045)		

$nSplits_{interior}=10$

R² (Validación)	R² (test)	Min_samples_leaf
0,915	0,774	1
0,884	0,752	1
0,803	0,747	1
0,805	0,826	1
0,866	0,776	1
0,719	0,779	1
0,781	0,685	1
0,833	0,728	1
0,756	0,770	1
0,746	0,828	1
R² promedio: 0,811 (0,060)		
Desviación promedio: 0,080 (0,040)		

1.2.4. Escenario 2.3: División

E2.3.1: Fe(II)

 $nSplits_{interior}=3$

R² (Validación)	R² (test)	Min_samples_leaf
0,296	0,319	10
0,101	0,415	10
-0,044	0,374	10
-0,101	0,304	10
0,575	0,332	10
0,444	0,337	10
0,290	0,332	10
0,225	0,357	10
0,045	0,320	10
0,351	0,408	10

R² promedio: 0,218 (0,205)**Desviación promedio:** 0,201 (0,141) $nSplits_{interior}=10$

R² (Validación)	R² (test)	Min_samples_leaf
0,141	0,346	1
0,101	0,193	10
-0,845	0,357	3
-0,101	0,276	10
0,575	0,265	10
0,517	0,134	7
0,290	0,321	10
0,225	0,294	10
0,045	0,221	10
0,351	0,121	10

R² promedio: 0,130 (0,380)**Desviación promedio:** 0,306 (0,320)

E2.3.2: Fe(III)-Cit: $nSplits_{interior}=3$

R² (Validación)	R² (test)	Min_samples_leaf
0,832	0,768	3
0,922	0,724	1
0,859	0,848	1
0,914	0,692	3
0,903	0,825	1
0,592	0,819	3
0,445	0,801	1
0,697	0,764	5
0,392	0,813	1
0,685	0,778	1

R² promedio: 0,724 (0,186)**Desviación promedio:** 0,174 (0,129) $nSplits_{interior}=10$

R² (Validación)	R² (test)	Min_samples_leaf
0,832	0,820	3
0,882	0,726	3
0,779	0,805	3
0,914	0,778	3
0,743	0,797	5
0,592	0,836	3
0,929	0,764	3
0,681	0,852	3
0,580	0,733	5
0,914	0,796	3

R² promedio: 0,784 (0,126)**Desviación promedio:** 0,123 (0,069)

E2.3.3: Sin catalizador

$nSplits_{interior}=3$

R² (Validación)	R² (test)	Min_samples_leaf
0,713	0,511	1
0,815	0,629	1
0,648	0,531	5
0,781	0,543	1
0,275	0,580	1
0,363	0,460	7
0,348	0,609	1
0,839	0,479	3
0,613	0,600	3
0,544	0,466	7
R² promedio: 0,594 (0,195)		
Desviación promedio: 0,186 (0,104)		

$nSplits_{interior}=10$

R² (Validación)	R² (test)	Min_samples_leaf
0,713	0,530	1
0,815	0,588	1
0,827	0,555	1
0,781	0,587	1
0,080	0,570	3
0,589	0,566	1
0,554	0,528	3
0,869	0,388	7
0,613	0,560	3
0,742	0,625	1
R² promedio: 0,658 (0,218)		
Desviación promedio: 0,207 (0,161)		

1.2.5. Escenario 3:

$nSplits_{interior}=3$

R² (Validación)	R² (test)	Min_samples_leaf
0,513	0,501	7
0,700	0,577	3
0,782	0,557	3
0,740	0,580	5
0,558	0,558	3
0,456	0,559	10
0,422	0,523	3
0,611	0,491	10
0,565	0,553	3
0,543	0,535	10

R² promedio: 0,589 (0,113)

Desviación promedio: 0,086 (0,072)

$nSplits_{interior}=10$

R² (Validación)	R² (test)	Min_samples_leaf
0,678	0,559	3
0,566	0,574	7
0,740	0,592	1
0,791	0,597	3
0,558	0,618	3
0,607	0,534	5
0,422	0,541	3
0,662	0,591	7
0,565	0,641	3
0,621	0,581	7

R² promedio: 0,621 (0,099)

Desviación promedio: 0,091 (0,052)

1.3. Gradient Boosted Regression Trees

1.3.1. Escenario 1: Datos brutos

$nSplits_{interior}=3$

R ² (Validación)	R ² (test)	Parámetros		
		<i>learning_rate</i>	<i>min_samples_leaf</i>	<i>n_estimators</i>
0,792	0,762	0.2	3	200
0,861	0,747	0.5	1	100
0,814	0,746	0.5	3	100
0,852	0,760	0.5	5	100
0,739	0,728	0.2	1	200
0,852	0,740	0.5	1	200
0,830	0,727	0.5	3	200
0,706	0,739	0.2	1	200
0,710	0,747	0.2	3	200
0,854	0,743	0.5	1	200

R² promedio: 0,801 (0,058)

Desviación promedio: 0,071 (0,038)

$nSplits_{interior}=10$

R ² (Validación)	R ² (test)	Parámetros		
		<i>learning_rate</i>	<i>min_samples_leaf</i>	<i>n_estimators</i>
0,797	0,776	0.5	3	200
0,863	0,776	0.5	3	200
0,855	0,794	0.5	5	200
0,826	0,781	0.5	7	200
0,746	0,782	0.5	5	200
0,864	0,767	0.5	5	200
0,830	0,795	0.5	3	200
0,692	0,798	0.5	1	200
0,723	0,808	0.5	3	200
0,859	0,790	0.5	3	200

R² promedio: 0,806 (0,060)

Desviación promedio: 0,064 (0,028)

1.3.2. Escenario 2.1: *Random*

$$nSplits_{interior}=3$$

R ² (Validación)	R ² (test)	Parámetros		
		<i>learning_rate</i>	<i>min_samples_leaf</i>	<i>n_estimators</i>
0,772	0,731	0,2	3	200
0,832	0,749	0,5	1	100
0,795	0,724	0,2	1	100
0,849	0,745	0,2	1	200
0,707	0,733	0,2	3	200
0,809	0,726	0,5	3	50
0,757	0,700	0,1	3	200
0,779	0,689	0,5	1	200
0,702	0,729	0,2	5	200
0,776	0,744	0,2	1	200

R² promedio: 0,778 (0,045)

Desviación promedio: 0,062 (0,027)

$$nSplits_{interior}=10$$

R ² (Validación)	R ² (test)	Parámetros		
		<i>learning_rate</i>	<i>min_samples_leaf</i>	<i>n_estimators</i>
0,783	0,763	0,5	3	100
0,836	0,760	0,5	1	200
0,812	0,786	0,2	1	200
0,828	0,777	0,5	3	200
0,726	0,780	0,5	1	200
0,839	0,761	0,5	5	200
0,809	0,769	0,5	5	200
0,750	0,777	0,5	3	200
0,739	0,781	0,2	3	200
0,802	0,791	0,5	3	200

R² promedio: 0,792 (0,039)

Desviación promedio: 0,042 (0,021)

1.3.3. Escenario 2.2: Duplicados

$$nSplits_{interior}=3$$

R ² (Validación)	R ² (test)	Parámetros		
		<i>learning_rate</i>	<i>min_samples_leaf</i>	<i>n_estimators</i>
0,893	0,826	0,5	3	200
0,904	0,804	0,5	1	200
0,902	0,823	0,5	3	200
0,821	0,825	0,5	3	200
0,891	0,975	0,5	1	200
0,845	0,811	0,5	7	200
0,850	0,792	0,2	1	200
0,828	0,820	0,5	3	200
0,820	0,785	0,2	5	200
0,834	0,828	0,5	1	200

R² promedio: 0,859 (0,033)

Desviación promedio: 0,049 (0,035)

$$nSplits_{interior}=10$$

R ² (Validación)	R ² (test)	Parámetros		
		<i>learning_rate</i>	<i>min_samples_leaf</i>	<i>n_estimators</i>
0,883	0,868	0,5	1	200
0,904	0,859	0,5	1	200
0,908	0,855	0,5	1	200
0,828	0,875	0,5	1	200
0,891	0,848	0,5	1	200
0,831	0,860	0,5	1	200
0,871	0,848	0,5	1	200
0,845	0,852	0,5	1	200
0,802	0,861	0,5	1	200
0,826	0,868	0,5	3	200

R² promedio: 0,859 (0,035)

Desviación promedio: 0,036 (0,016)

1.3.4. Escenario 2.3: División

E2.3.1: Fe(II)

$$nSplits_{interior}=3$$

R ² (Validación)	R ² (test)	Parámetros		
		<i>learning_rate</i>	<i>min_samples_leaf</i>	<i>n_estimators</i>
0,848	0,752	0,5	5	200
0,519	0,704	0,1	1	200
0,666	0,741	0,1	1	200
0,432	0,745	0,5	5	100
0,851	0,663	0,5	5	50
0,700	0,664	0,5	3	200
0,747	0,605	0,5	1	200
0,750	0,547	0,5	5	200
0,724	0,524	0,5	3	100
0,753	0,710	0,5	7	200

R² promedio: 0,699 (0,126)

Desviación promedio: 0,171 (0,096)

$$nSplits_{interior}=10$$

R ² (Validación)	R ² (test)	Parámetros		
		<i>learning_rate</i>	<i>min_samples_leaf</i>	<i>n_estimators</i>
0,758	0,663	0,2	1	200
0,531	0,646	0,5	7	200
0,677	0,716	0,5	7	200
0,415	0,674	0,2	3	200
0,790	0,641	0,5	7	200
0,703	0,616	0,5	5	200
0,726	0,678	0,5	1	50
0,758	0,666	0,2	3	200
0,679	0,701	0,5	7	200
0,490	0,633	0,5	1	200

R² promedio: 0,653 (0,122)

Desviación promedio: 0,105 (0,065)

E2.3.2: Fe(III)-Cit

$$nSplits_{interior}=3$$

R ² (Validación)	R ² (test)	Parámetros		
		<i>learning_rate</i>	<i>min_samples_leaf</i>	<i>n_estimators</i>
0,914	0,855	0,1	3	200
0,832	0,825	0,1	3	100
0,891	0,883	0,1	3	200
0,912	0,813	0,2	1	50
0,894	0,847	0,2	3	100
0,647	0,902	0,2	5	100
0,931	0,835	0,05	1	200
0,783	0,856	0,05	1	100
0,802	0,864	0,05	1	100
0,942	0,852	0,05	3	200

R² promedio: 0,855 (0,087)

Desviación promedio: 0,080 (0,066)

$$nSplits_{interior}=10$$

R ² (Validación)	R ² (test)	Parámetros		
		<i>learning_rate</i>	<i>min_samples_leaf</i>	<i>n_estimators</i>
0,909	0,858	0,1	3	100
0,826	0,839	0,05	3	200
0,896	0,867	0,05	3	200
0,882	0,859	0,05	3	200
0,899	0,863	0,05	1	200
0,694	0,885	0,1	3	200
0,940	0,832	0,05	3	200
0,913	0,870	0,05	3	200
0,839	0,873	0,2	3	50
0,942	0,848	0,05	3	200

R² promedio: 0,864 (0,071)

Desviación promedio: 0,063 (0,051)

E2.3.3: Sin catalizador

$$nSplits_{interior}=3$$

R² (Validación)	R² (test)	Parámetros		
		<i>learning_rate</i>	<i>min_samples_leaf</i>	<i>n_estimators</i>
0,881	0,755	0,2	7	200
0,691	0,721	0,5	7	50
0,854	0,736	0,5	1	100
0,758	0,755	0,2	7	200
0,301	0,762	0,2	3	200
0,717	0,725	0,2	1	100
0,775	0,729	0,2	7	200
0,864	0,752	0,5	7	50
0,713	0,749	0,1	1	200
0,721	0,738	0,5	7	100

R² promedio: 0,728 (0,156)

Desviación promedio: 0,095 (0,129)

$$nSplits_{interior}=10$$

R² (Validación)	R² (test)	Parámetros		
		<i>learning_rate</i>	<i>min_samples_leaf</i>	<i>n_estimators</i>
842	0,739	0,5	7	200
664	0,757	0,2	1	200
829	0,721	0,2	3	100
753	0,730	0,2	1	200
200	0,786	0,5	5	200
734	0,722	0,2	1	200
805	0,700	0,2	5	200
819	0,724	0,5	1	200
860	0,712	0,2	1	200
732	0,787	0,5	7	200

R² promedio: 0,717 (0,180)

Desviación promedio: 0,126 (0,156)

1.3.5. Escenario 3

$$nSplits_{interior}=3$$

R^2 (Validación)	R^2 (test)	Parámetros		
		<i>learning_rate</i>	<i>min_samples_leaf</i>	<i>n_estimators</i>
0,796	0,752	0,2	3	200
0,837	0,735	0,5	1	100
0,816	0,741	0,2	3	200
0,848	0,750	0,5	5	200
0,734	0,734	0,2	3	200
0,828	0,727	0,2	3	200
0,803	0,726	0,5	1	200
0,725	0,705	0,2	1	200
0,678	0,734	0,5	5	200
0,841	0,729	0,5	5	200

R^2 promedio: 0,791 (0,055)

Desviación promedio: 0,069 (0,036)

$$nSplits_{interior}=10$$

R^2 (Validación)	R^2 (test)	Parámetros		
		<i>learning_rate</i>	<i>min_samples_leaf</i>	<i>n_estimators</i>
0,809	764	0,5	3	200
0,862	764	0,5	3	200
0,802	791	0,5	3	200
0,848	776	0,5	5	200
0,757	0,784	0,5	3	200
0,860	0,772	0,5	1	200
0,803	0,791	0,5	1	200
0,743	0,78	0,5	1	200
0,709	0,798	0,2	3	200
0,839	0,781	0,5	3	200

R^2 promedio: 0,8003 (0,050)

Desviación promedio: 0,054 (0,030)

ANEXO IV. Eliminación de contaminantes en agua residual real a escala piloto

- Eliminación de contaminantes mediante los tratamientos aplicados a escala piloto para el tratamiento de un efluente secundario real.

[H₂O₂] = 1,5 mM; λ = 365 nm; Ozonizador al 10%

Concentración (ng/L)	PMS/UV-A		UV-A		PMS (1,5mM)		PMS (1,5mM) /H ₂ O ₂ /UV-A		O ₃		PMS/O ₃		PMS (0,5mM) /H ₂ O ₂ /UV-A	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Inicial
4-AA	164	40	567	62	1323	68	2527	63	375	0	210	0	144	76
4-AAA	1336	298	1280	672	914	751	2074	656	1337	0	971	0	892	649
4-FAA	2535	302	2130	930	1527	1424	3094	1198	2407	0	2541	0	2027	1388
4-MAA	0	0	81	0	95	0	183	0	51	0	0	0	0	0
9-Acridinecarboxylic_acid	70	80	67	72	50	93	89	81	92	0	96	0	120	116
Acetanilide	10	127	0	182	0	252	0	189	0	44	0	0	95	292
Acridone	37	0	43	31	44	40	56	33	44	17	44	0	39	45
Amisulpride	195	0	269	130	230	0	347	0	312	0	241	0	229	0
Amitriptyline	0	0	36	5	19	0	24	0	23	0	0	0	0	0
Antipyrine	80	0	87	0	205	0	260	0	85	0	94	0	0	66
Atenolol	218	0	231	161	187	70	348	47	263	0	219	0	228	58
Benzotriazole	2172	1073	1260	831	731	1113	1146	1183	1160	0	862	0	967	1233
Caffeine	599	274	239	236	259	253	304	270	282	249	326	306	270	248
Carbamazepine	179	120	165	130	105	133	168	122	174	0	161	0	154	166
Carbamazepine-epoxide	24	0	23	13	9	0	28	0	19	0	20	0	28	0
Cetirizine	148	0	168	0	107	0	160	0	205	0	114	0	0	0
Citalopram	46	0	158	71	133	0	162	0	124	0	88	0	97	0
Dextromethorphan	6	0	12	0	12	0	16	0	12	0	12	0	12	0

Concentración (ng/L)	PMS/UV-A		UV-A		PMS (1,5mM)		PMS (1,5mM) /H ₂ O ₂ /UV-A		O ₃		PMS/O ₃		PMS (0,5mM) /H ₂ O ₂ /UV-A	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Inicial
Eprosartan	43	24	0	0	28	40	75	32	0	0	0	0	0	0
Famotidine	30	0	30	0	30	0	76	0	40	0	14	0	0	0
Fenofibric_acid	109	28	0	0	45	70	148	48	0	0	0	0	0	0
Flecainide	76	0	301	182	188	6	363	0	232	0	96	0	150	0
Fluoxetine	0	0	16	9	16	5	18	0	17	0	0	0	7	0
Gabapentin	750	374	791	548	604	829	1175	822	931	65	562	18	563	524
Indomethacin	71	0	71	59	65	0	81	0	69	0	63	0	59	53
Iomeprol	130	81	0	0	806	1009	2480	1623	872	191	751	103	1051	742
Iopamidol	66	35	2082	1514	2110	2057	3501	1813	682	176	832	28	853	509
Iopromide	603	0	1907	1434	2006	2353	3046	1931	2632	753	2137	0	1894	2073
Irbesartan	2823	1013	2719	1291	1777	1774	2919	853	2301	0	1423	0	1339	1775
Ketoprofen	250	82	121	86	328	410	670	265	112	0	82	0	65	37
Labetalol	0	0	11	0	9	0	16	0	0	0	14	0	12	0
Lamotrigine	785	441	1128	673	846	607	1273	517	1205	239	990	226	971	970
Lidocaine	164	0	98	0	104	0	150	0	135	0	91	0	0	0
Mefenamic_acid	25	0	27	0	22	21	27	0	20	0	20	0	20	19
Memantine	31	22	37	26	23	28	39	31	35	0	36	0	35	31
Mepivacaine	18	0	46	0	41	0	59	0	34	0	25	0	0	0
Metoclopramide	11	0	13	7	12	0	19	0	16	0	11	0	10	0
N-Desmethylocitalopram	60	57	105	96	98	78	107	68	106	0	77	0	86	76
Nicotinamide	2452	78	94	117	92	93	83	125	91	188	127	83	125	99
Nicotine	1224	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nicotinic acid	435	0	129	0	167	109	232	0	305	180	0	52	0	0

Concentración (ng/L)	PMS/UV-A		UV-A		PMS (1,5mM)		PMS (1,5mM) /H ₂ O ₂ /UV-A		O ₃		PMS/O ₃		PMS (0,5mM) /H ₂ O ₂ /UV-A	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Inicial
O-Desmethyltramadol	995	0	1133	678	813	39	1288	16	1385	0	1110	0	1057	19
O-Desmethylvenlafaxine	1644	0	1851	970	1009	50	2345	35	1991	0	1730	0	1436	33
Oxcarbazepine	30	0	32	22	22	0	31	0	40	4	27	0	31	0
Oxypurinole	3961	2055	3901	2456	2672	3513	4796	3317	5243	390	4048	0	4432	4185
Paraxanthine	182	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33	0
Primidone	296	162	354	236	200	282	326	260	379	0	329	0	341	276
Propanolol	0	0	41	14	28	0	49	0	38	0	14	0	22	0
Sertraline	0	0	40	6	19	0	34	0	12	0	0	0	5	0
Sotalol	17	0	23	18	11	0	31	0	46	0	31	0	27	0
Sulpiride	366	0	414	143	394	0	569	0	532	0	431	0	391	0
Telmisartan	268	125	296	163	197	323	335	69	188	0	47	0	104	76
Tramadol N-oxide	0	770	0	62	0	1283	0	1224	0	22	0	0	0	1345
Tramadol	857	0	1009	707	676	0	1303	0	1117	0	906	0	951	0
Trazodone	13	0	33	0	28	0	43	0	13	0	0	0	0	0
Trigonelline	359	272	252	237	0	321	0	292	0	823	431	537	514	447
Valsartan	679	320	382	289	732	892	1271	676	236	0	132	0	136	110
Venlafaxine	342	0	394	248	325	0	441	0	422	0	326	0	370	0
Azithromycin	182	0	572	0	473	0	633	0	592	0	335	0	0	95
Ciprofloxacin	337	0	1003	0	473	0	1516	0	892	0	550	0	316	0
Clarithromycin	0	0	115	0	33	0	154	0	94	0	47	0	0	0
Clindamycin	45	0	52	0	35	0	54	0	27	0	6	0	0	0
Erithromicyn	0	0	23	0	10	0	14	0	15	0	153	0	0	0
Levofloxacin	394	0	447	0	526	0	647	0	834	0	683	0	195	0

Concentración (ng/L)	PMS/UV-A		UV-A		PMS (1,5mM)		PMS (1,5mM) /H ₂ O ₂ /UV-A		O ₃		PMS/O ₃		PMS (0,5mM) /H ₂ O ₂ /UV-A	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Inicial
Metronidazol	69	38	99	58	49	56	92	49	57	0	61	0	65	47
Sulfamethoxazole	191	122	242	143	224	175	338	163	312	102	232	105	188	264
Sulfapyridine	77	0	114	0	71	36	81	0	107	0	77	0	56	62
Trimethopim	105	0	126	68	89	33	122	0	137	0	112	0	101	38
Carbendazim	411	155	162	125	152	190	225	171	229	0	175	0	192	165
Imidacloprid	202	131	197	119	123	115	145	75	180	0	150	60	202	151
Isoproturon	40	41	0	0	37	41	37	37	40	0	0	0	0	39
Terbutryn	55	36	29	0	24	18	39	5	22	0	32	0	7	5
Thiabendazole	146	17	28	24	23	36	31	24	36	0	28	0	20	26