

**DESARROLLO DE BIOFILTROS DE RESIDUOS  
ORGÁNICOS PARA LA ELIMINACIÓN DE  
CONTAMINANTES ORGÁNICOS EMERGENTES**



**ISMAEL LIÑAN RODRÍGUEZ**

**2015**



## UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE

Se autoriza a la alumna **D. Ismael Liñán Rodríguez**, a realizar el Trabajo Fin de Máster titulado: “Desarrollo de biofiltros de residuos orgánicos para la eliminación de contaminantes orgánicos”, bajo la dirección de D. Rogelio Nogales Vargas-Machuca y D<sup>a</sup>. Esperanza Romero Taboada, debiendo cumplir las normas establecidas para la redacción del mismo que están a su disposición en la página Web específica del Master.

Orihuela, 4 de septiembre de 2015

La Directora del Máster Universitario de Investigación en Gestión, Tratamiento y Valoración de Residuos Orgánicos

Fdo.: Concepción Paredes Gil

Miguel Hernández  
CAMPUS DE ORIHUELA  
DEPARTAMENTO DE  
AGROQUÍMICA Y  
MEDIO AMBIENTE

TRIBUNAL	
FECHA:	
PRESIDENTE:	FIRMA:
VOCAL:	FIRMA:
VOCAL:	FIRMA:

## REFERENCIAS DEL TRABAJO FIN DE MASTER

### **IDENTIFICACIONES**

**Autor:** Ismael Liñán Rodríguez

**Título:** Desarrollo de biofiltros de residuos orgánicos para eliminación de contaminantes orgánicos emergentes

**Title:** Development of biofilters from organic wastes for removing emerging organic pollutants

**Director/es del TFM:** Rogelio Nogales Vargas-Machuca, Investigador científico del CSIC y Esperanza Romero Taboada, Investigadora científica del CSIC

**Año:** 2015

**Titulación:** Ingeniería Química. Universidad de Granada

**Tipo de proyecto:** Trabajos experimentales de investigación

**Palabras claves:** Biomezclas, paja, turba, alperujo, vermicompost de alperujo, diclofenaco, ibuprofeno, adsorción.

**Keywords:** Biomixtures, Straw, peat, alperujo, vermicompost from alperujo, diclofenac, ibuprofen, adsorption.

**Nº citas bibliográficas:** 54

**Nº de planos:** 0

**Nº de tablas:** 7

**Nº de figuras:** 12

**Nº de anexos:** 2

---

## RESUMEN

Los contaminantes emergentes son compuestos de uso diario e imprescindibles tanto a nivel industrial como doméstico y suponen una fuente importante de contaminación de las aguas, especialmente en el caso de los fármacos.

En los últimos años, los biofiltros o lechos biológicos están cogiendo un gran impulso como sistemas de bajo coste para la depuración de aguas contaminadas. En general los biofiltros más frecuentemente ensayados están constituidos por biomezclas de suelo con turba y paja, Sin embargo, estos sistemas aún no han sido utilizados para la eliminación de residuos de fármacos de las aguas.

Debido a que la turba es un recurso natural limitado y aprovechando la elevada producción de residuos generados por la agroindustria del olivar que existe en nuestro país, en este trabajo se plantea la sustitución de la turba por *alperujo* para elaborar diferentes biomezclas. El potencial adsorbente de estas biomezclas debe ser adecuado de modo que el compuesto no se lixivie y esté disponible para ser degradado biológicamente.

Los estudios de adsorción se llevaron a cabo mediante experimentos denominados en batch, que se basan en la agitación de una disolución acuosa conteniendo los fármacos, con una cantidad determinada de biomezcla. Transcurrido un tiempo de equilibrio necesario para alcanzar la máxima cantidad adsorbida, se determina la concentración del fármaco en el líquido sobrenadante, considerando que la diferencia de ésta y la concentración inicial es la cantidad de contaminante adsorbido. Dada la escasa solubilidad de los fármacos en agua, estos se aplicaron directamente en las biomezclas y se determinaron tras extracción con solventes la cantidad remanente. El análisis de los fármacos en solución y en la biomezcla por cromatografía líquida permite calcular las isotermas de adsorción y mediante modelos matemáticos los coeficientes de adsorción de cada fármaco en las biomezclas.

En base a los estudios de adsorción realizados se concluye que tanto el vermicompost de *alperujo* como el *alperujo* constituyen materiales adecuados alternativos a la turba, que permiten la retención de contaminantes emergentes orgánicos como son el Diclofenaco y el Ibuprofeno en las biomezclas. El comportamiento de adsorción observado en las biomezclas está influenciado por las características de los fármacos, especialmente debido a su solubilidad y valores de pKa y por el proceso de estabilización del alperujo mediante vermicompostaje, dado que la retención de los fármacos en la biomezcla con vermicompost es superior a la que lleva el *alperujo* sin compostar.

## ABSTRACT

---

Emerging contaminants are compounds of daily use and essential to both industrial and domestic level and they are an important source of water pollution, especially in the case of pharmaceuticals.

In the last years, biofilters or biological beds are taking a big boost as low-cost systems for the depuration of polluted water. Overall the most frequently biofilters tested are composed of a biomixtures of soil, peat and straw, however, these systems have not been used for removal of pharmaceuticals wastes in water.

Because the peat is a limited natural resource and using the high production of waste generated by the olive agroindustry that exists in our country, in this work the replacement of peat is posed by alperujo to develop different biomixtures. The adsorbent potential of these biomixtures must be suitable for the compound does not leach and available to be degraded biologically.

Adsorption studies were carried out by experiments denominated in batch, based on the agitation of an aqueous solution containing the pharmaceuticals, with a certain amount of biomixture. After the equilibrium time required to reach the maximum amount adsorbed, the pharmaceuticals concentration in the supernatant was determined, considering that the difference in this and the initial concentration is the amount of adsorbed contaminants. Given the low solubility of the pharmaceutical in water, these were directly applied on biomixtures and the remaining amount was determined by solvent extraction. The liquid chromatography for analysis of pharmaceuticals in solution and in the biomixture allow to calculate the adsorption isotherms using mathematical models and adsorption coefficients of each pharmaceutical in biomixture.

Based on adsorption studies carried it is concluded that both alperujo vermicompost as alperujo are suitable alternative materials peat, which capture emerging organic contaminants such as diclofenac and ibuprofen in biomixtures. The adsorption behavior observed in biomixtures is influenced by the characteristics of pharmaceuticals, especially their solubility and pKa values and the stabilization of the alperujo by vermicomposting, because the retention of pharmaceuticals in the biomixture with vermicompost is higher than the alperujo uncomposted.

---

---

<b>1. Introducción.....</b>	<b>1</b>
1.1. La problemática de los residuos orgánicos generados por la agroindustria del olivar.....	1
1.2. Vermicompostaje y vermicompost de residuos orgánicos.....	8
1.3. Contaminantes orgánicos emergentes.....	14
1.3.1. Productos farmacéuticos.....	18
1.4. Sistemas de biopurificación para la eliminación de contaminantes orgánicos.....	21
<b>2. Objetivos.....</b>	<b>27</b>
<b>3. Material y Métodos.....</b>	<b>28</b>
3.1. Residuos orgánicos agrícolas de las biomezclas y contaminantes emergentes ensayados.....	28
3.2. Desarrollo y optimización de tres biomezclas para la eliminación de los contaminantes orgánicos emergentes: a) suelo/alperujo/paja, b) suelo/vermicompost de alperujo/ restos de poda, c) Suelo/turba/paja. Análisis fisicoquímico y químico de las biomezclas obtenidas.....	31
3.3. Desarrollo y optimización de una metodología analítica para la extracción y determinación de los contaminantes emergentes (Ibuprofeno y Diclofenaco).....	33
3.2. Determinación de la capacidad de retención de los contaminantes orgánicos seleccionados por las diferentes biomezclas ensayadas, mediante experimentos de adsorción.....	35
3.5. Análisis estadístico.....	37
<b>4. Resultados y discusión.....</b>	<b>37</b>
4.1. Propiedades de interés de las biomezclas.....	37
4.2. Eficacia de recuperación del método analítico.....	38
4.3. Isotermas de adsorción.....	39
<b>5. Conclusiones.....</b>	<b>46</b>
<b>6. Agradecimientos.....</b>	<b>46</b>
<b>7. Bibliografía.....</b>	<b>47</b>
<b>8. Anexos.....</b>	<b>54</b>

---



## **1. Introducción**

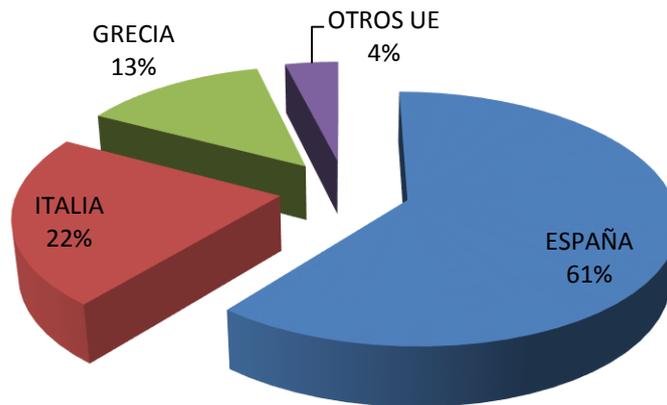
### **1.1. La problemática de los residuos orgánicos generados por la agroindustria del olivar**

Debido al continuo crecimiento de la industria agroalimentaria, en la actualidad se generan una enorme cantidad de residuos orgánicos que potencialmente pueden aprovecharse dadas sus características especiales, ya que considerarlos como un desecho irrecuperable supondría una mala gestión a nivel medio ambiental, económico y social.

Un claro ejemplo de esta problemática es el cultivo del olivo y la actividad de la industria oleícola. Esta industria tiene una gran importancia económica y social principalmente en los países de la Cuenca Mediterránea, siendo España el primer país productor de aceite de oliva en la Unión Europea (Figura 1). El olivar ocupa aproximadamente el 18% de la superficie nacional cultivada, correspondiendo para Andalucía un 60% de esa superficie y una producción en torno al 80% del total nacional de aceite de oliva. En el periodo comprendido entre los años 2009 y 2013 la producción anual de aceite en España se estimó en 1.400.360 toneladas y ha sido de 1.781.500 toneladas en la campaña 2013/2014. En España existen 1760 instalaciones industriales o almazaras para la extracción de aceite de las cuales 818 se encuentran en Andalucía (AICA, 2015).

Este sector genera una serie de residuos orgánicos y subproductos con un alto potencial de impacto ambiental, por lo que deben ser gestionados de la forma más correcta (Figura 2).

La mayoría de estos residuos se generan durante el proceso de producción del aceite de oliva. Los residuos generados en las etapas primarias de acondicionamiento son hojas y otras impurezas presentes en el fruto destinado para la preparación de la pasta usada en las operaciones de molienda y batido,



**Figura 1.** Producción media de aceite de oliva en la Unión Europea durante el año 2013 (FAO 2015)

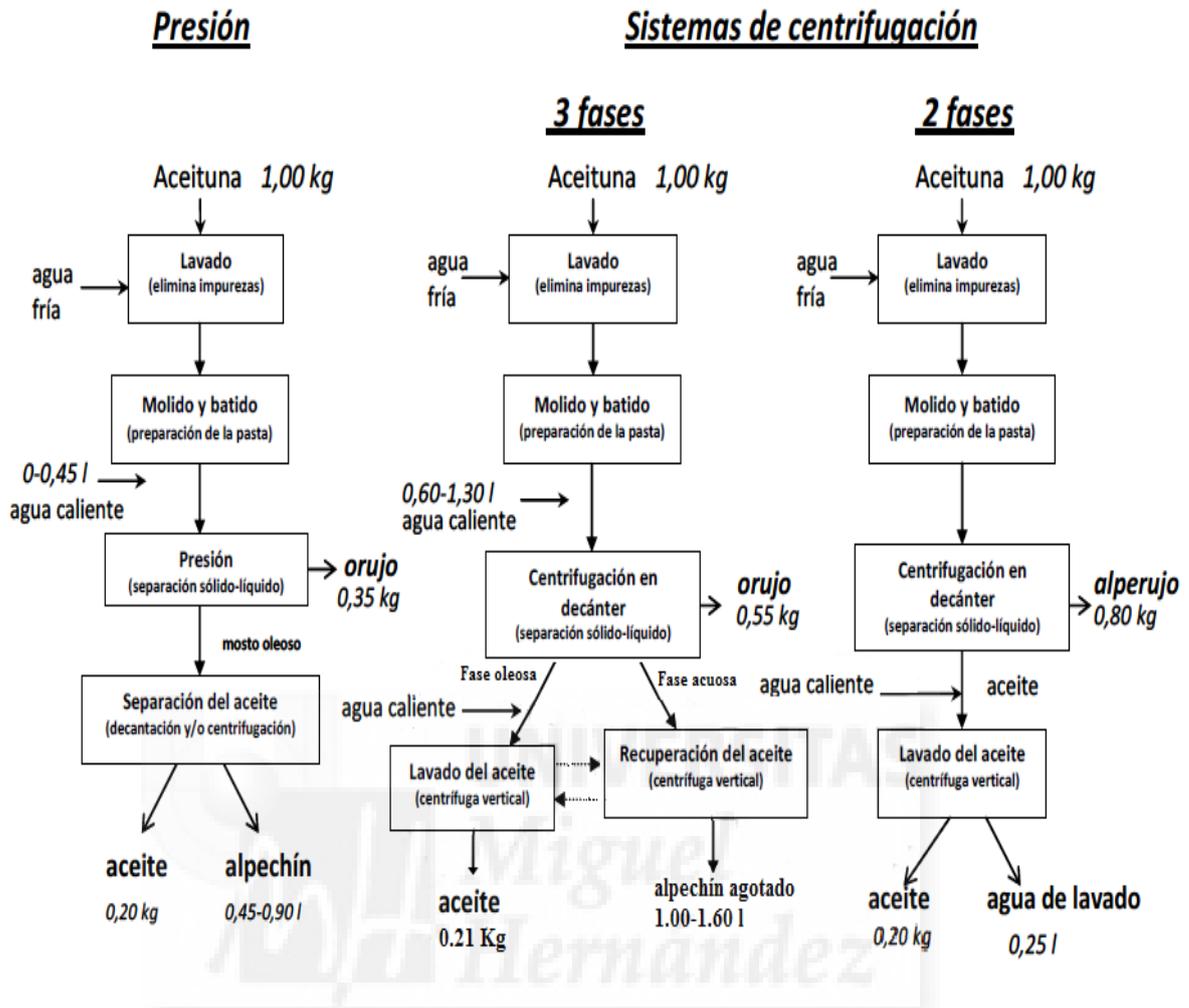


**Figura 2.** Principales residuos orgánicos y subproductos generados por la agroindustria del olivar

de las que resulta un volumen considerable de residuos. La molienda radica en la trituración del fruto con el fin de liberar el aceite alojado, fundamentalmente en la pulpa, mientras que la finalidad del batido es romper la emulsión aceite-

agua y reunir las gotas de aceite liberadas mediante la molienda. A partir de la masa batida, se separa la fase líquida de la fase sólida mediante dos métodos: presión y centrifugación. Con el primer método (sistema tradicional) la masa se coloca en soportes de filtración denominados capachos que se someten a presión, reteniendo los sólidos (orujo) y liberando el mosto oleoso (fracción líquida), el cual se somete a decantación posterior para separar la fase oleosa o se centrifuga en los sistemas más modernos.

En función del método de separación sólido-líquido empleado, se obtienen unos residuos sólidos orgánicos en la fase sólida que son el orujo o el *alperujo*, además de la generación de aguas residuales en la fase líquida. En la actualidad, el método de separación más empleado es el de la centrifugación en dos fases, también llamado ecológico, que es más ventajoso que el tradicional, que genera aceite, agua residual o de lavado y *alperujo* u orujo húmedo. Con este sistema se efectúa la separación del aceite sin adicionar agua al decantador o con una adición mínima, dependiendo de la humedad de la aceituna a tratar, y que utilizan actualmente más del 90% de las almazaras españolas (Borja y col., 2004). Entre las ventajas de este nuevo sistema de extracción, cabe señalar que permite la obtención de un aceite más estable a la oxidación debido a su mayor contenido en agente antioxidantes (Alba y col., 1993; Ranalli y Martinelli 1995), se consigue un caudal de trabajo similar o superior al de tres fases y una importante reducción del consumo de agua (65-75%), con el consiguiente ahorro en energía de calefacción. Sin embargo, la ventaja más importante de este sistema es que no genera alpechín, reduciéndose la generación de efluente líquido básicamente al agua de lavado de los aceites y, en menor cuantía, al agua de lavado de las aceitunas y limpieza general de la maquinaria, originando como subproducto únicamente orujo de dos fases, también llamado *alperujo* (Alba y col., 1993). Como principales inconvenientes del sistema de dos fases cabe citar el aumento considerable del volumen de *alperujo* producido debido a la incorporación de la fase acuosa de la aceituna, así como el manejo y aprovechamiento del mismo.



**Figura 3.** Esquema de los sistemas de producción de aceite de oliva por prensado y por centrifugado (Albuquerque y col., 2003).

El *alperujo* es el principal residuo que se obtiene durante la extracción del aceite de oliva. Como se puede observar en la Figura 3, se sabe que por cada aceituna, el 20% se transforma en aceite de oliva y el 80% restante en *alperujo*. Considerando solo sistemas de producción de 2 fases en las almazaras, se puede estimar que en la campaña 2013/2014 en España se produjeron en torno a 7.126.000 toneladas de *alperujo*.

En cuanto a las propiedades agroquímicas de este residuo (Tabla 1), podemos decir que el *alperujo* presenta un alto contenido en agua (56%), un pH ácido (5.4) y un elevado contenido en materia orgánica (91%), gran parte de ella de

**Tabla 1.** Caracterización química del *alperujo* (Tortosa y col., 2012)

Caracterización agroquímica del orujo de oliva de dos fases ("alperujo")	
Parámetros	Alperujo
Humedad(%)	55,8
pH	5,38
CE (dS m <sup>-1</sup> )	4,64
MO (%)	90,8
Lignina (%)	34,5
Celulosa (%)	17,9
Hemicelulosa (%)	35
COT (%)	48,6
NT (g kg <sup>-1</sup> )	13,4
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg Kg <sup>-1</sup> )	63
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg Kg <sup>-1</sup> )	16
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg Kg <sup>-1</sup> )	Nd
C/N	36,3
Contenido graso (%)	9,9
Carbohidratos hidrosolubles (%)	2
Polifenoles hidrosolubles (%)	0,9
COH (%)	8,7
P (g Kg <sup>-1</sup> )	0,8
K (g Kg <sup>-1</sup> )	10,4
Ca (g Kg <sup>-1</sup> )	8
Mg (g Kg <sup>-1</sup> )	3,1
Na (g Kg <sup>-1</sup> )	0,3
S (g Kg <sup>-1</sup> )	1,1
Fe (mg Kg <sup>-1</sup> )	2429
Cu (mg Kg <sup>-1</sup> )	22
Mn (mg Kg <sup>-1</sup> )	56
Zn (mg Kg <sup>-1</sup> )	17
Pb (mg Kg <sup>-1</sup> )	4
Cr (mg Kg <sup>-1</sup> )	19
Ni (mg Kg <sup>-1</sup> )	55
Cd (mg Kg <sup>-1</sup> )	nd

naturaleza lignica (35%). Además el *alperujo* presenta un elevado contenido graso (entre un 2 y 4%) y también polifenoles hidrosolubles (0.9%), fracciones que le otorgan propiedades fitotóxicas (Albuquerque y col., 2006). El *alperujo* presenta también un contenido notable de nitrógeno total (N), mayoritariamente orgánico, lo que unido a su alto contenido en carbono orgánico total (COT)

resulta en una también elevada relación C/N. El contenido de potasio (K) es relativamente elevado, mostrando también bajos contenidos de fósforo (P), micronutrientes y metales pesados.

En base a su composición, el *alperujo* es un residuo lignocelulósico, recalcitrante a la degradación, con elevada humedad y compuestos fenólicos, por lo que puede resultar tóxico y de difícil manejo. Su vertido incontrolado puede provocar problemas medio ambientales como la coloración de las aguas, amenaza de vida acuática, formación de una película que no deje pasar los rayos de sol, deterioro y degradación del suelo, fitotoxicidad, olores desagradables, etc. Por todo ello, se hace necesario su tratamiento y gestión.

En los últimos años y debido a la mayor demanda mundial de aceite de oliva, en muchas almazaras, el *alperujo* es sometido a una segunda centrifugación con objeto de extraer entre el 40-60% del aceite contenido en este residuo quedando como residuo final el *alperujo* repasado. En algunas de ellas, además el *alperujo* es deshuesado, para utilizar los restos de hueso de aceituna como combustible en las propias calderas de las almazaras.

Los *alperujos* han sido tradicionalmente transportados a orujeras, en las que, después de su secado, son sometidos a una extracción con solventes (por lo general hexano) con objeto de extraer el denominado “aceite de orujo de oliva, cuya producción en la campaña 2013-2014 fue de 112.000 Tm, quedando al final del proceso un nuevo residuo (orujo seco y extractado u orujillo) con un contenido de humedad inferior al 18%.

El aprovechamiento energético de esta biomasa residual está afianzado en el sector, al beneficiarse de las materias primas por la producción de energía eléctrica a partir de fuentes renovables. El aprovechamiento energético contempla la combustión directa del *alperujo* y del hueso de aceituna (se puede quemar directamente en calderas para la obtención de energía térmica), la generación de energía eléctrica en ciclos de vapor, la metanización por procedimientos de digestión anaeróbica y la gasificación que utiliza orujo seco, orujillo o hueso. Algunas industrias del sector suelen utilizar la cogeneración en su proceso productivo, bien mediante motor alternativo o turbina de gas,

generando de forma simultánea energía eléctrica y térmica y aprovechando esta última en el secado del orujo. Actualmente en Andalucía existen 13 plantas que utilizan residuos de la agroindustria del olivar, fundamentalmente *alperujo*, como biomasa para la generación de energía eléctrica (Quirantes, 2015).

A parte de la utilización energética, otras vías alternativas para el aprovechamiento del *alperujo*, se basan en su empleo en alimentación animal (Molina y Yañez, 2008; Molina y col. 2009), para aplicación directa al suelo determinando sus efectos sobre las propiedades del mismo (Tejada y col., 1997; Saviozzi y col., 2001), como enmienda orgánica en el control de la erosión (Giráldez y col., 1999) y como sustrato para la producción de hongos comestibles (Pardo Núñez y López Mondejar, 2001). Igualmente se ha ensayado como sustrato para la obtención de biopolímeros de origen microbiano (Ramos-Cormenzana y col., 2001) y también se ha estudiado la viabilidad de este material como fuente de hemicelulosas mediante tratamiento alcalino para su uso como agentes espesantes, estabilizadores o emulsionantes de uso en cosméticos y en la industria farmacéutica y alimentaria.

Por último y por su mayor interés, debe citarse el aprovechamiento del *alperujo* mediante la utilización de procesos biológicos, como el vermicompostaje (Castillo-Díaz y col., 2013, Melgar y col., 2009; Nogales y col., 2008) y el compostaje (Madejón y col., 1998; Filippi y col., 2002; Baeta Hall y col., 2005; Cayuela y col., 2006 y 2010; Albuquerque y col., 2006 y 2009; Cegarra y col. 2006; Serramiá y col. 2010). En particular, el compostaje y el vermicompostaje está especialmente indicado para zonas geográficas mal comunicadas, con elevados costes de transporte del *alperujo* hasta las extractoras, y es particularmente interesante para la elaboración de abonos orgánicos utilizables en las propias explotaciones de olivo ecológico, ya que éstas soportan los elevados costes derivados de la utilización de abonos producidos a partir de materias primas “limpias” procedentes de explotaciones ecológicas agrícolas y ganaderas. Es una práctica que encaja perfectamente en las medidas

favorables para mitigar el cambio climático y en el concepto de agricultura multifuncional de la Unión Europea.

Esta última forma de aprovechamiento del *alperujo* se ha extendido notablemente en Andalucía durante los últimos años, siendo cada vez más frecuente que las propias almazaras (más de 30) que procesan la aceituna, someten el *alperujo* a técnicas de compostaje crecientemente perfeccionadas, a fin de transformarlo en abonos orgánicos de calidad para su propio autoconsumo.

El uso del compost de *alperujo* en el suelo del olivar mejora su fertilidad y el vigor de los olivos. Aplicando el compost de *alperujo* de forma regular se han observado múltiples beneficios a medio y largo plazo relacionados con el aporte de materia orgánica estable, es una excelente fuente de nutrientes, aumenta la capacidad de intercambio catiónico en el suelo, aumenta la capacidad de la tierra para retener agua y mantenerla disponible para los olivos, reduce la posibilidad de pérdida de nutrientes o arrastre tras periodos intensos de lluvia, aumenta la estabilidad de los agregados del suelo reduciéndose pérdidas por erosión y promueve el desarrollo de microorganismos del suelo. Además, las ventajas económicas de fertilizar con compost de *alperujo* sale más económico que con la fertilización convencional y se ahorran otros costes de cultivo.

## **1.2. Vermicompostaje y vermicompost de residuos orgánicos**

El vermicompostaje, lu(o)mbricompostaje o compostaje con lombrices, en sus diferentes acepciones, es un proceso biotecnológico de bajo coste que permite degradar y estabilizar residuos orgánicos bajo condiciones aerobias y mesófilas mediante la acción de ciertas especies de lombrices de tierra capaces de alimentarse del residuo a la vez que aceleran su degradación microbiana (Nogales y col., 2014). Así, en este proceso se aprovecha la capacidad detritívora de las lombrices, que ingieren, trituran y digieren el residuo orgánico, descomponiéndolo mediante la acción de sus enzimas digestivas y de la

microflora aeróbica y anaeróbica presente en el interior de su intestino (Edwards, 1988). El sustrato modificado por la acción de estas lombrices es más fácilmente degradable por los microorganismos. Por su parte, los microorganismos llevan a cabo la descomposición bioquímica del sustrato (Domínguez, 2004). Entre las lombrices y los microorganismos se establecen interacciones complejas de forma que estos últimos proporcionan alimento a las lombrices mientras que éstas, a su vez, condicionan en gran medida la estructura y funcionamiento de las comunidades microbianas del residuo (Airy y col., 2007).

Mediante el proceso de vermicompostaje (Figura 4) se obtiene a partir de residuos orgánicos el vermicompost, o también llamado humus de lombriz, que es un producto orgánico caracterizado por su valor agrícola y/o como enmendante de suelos.



**Figura 4:** *Proceso de vermicompostaje.*

La degradación, mineralización y estabilización de los residuos orgánicos causada por el vermicompostaje se refleja en una disminución de los valores de carbono orgánico total del residuo orgánico, la cual ocurre en un grado variable (entre un 10% y un 55%, respecto al contenido inicial en carbono orgánico del residuo) dependiendo de la naturaleza del residuo orgánico, su biodegradabilidad, la especie de lombriz utilizada y su densidad, así como de

las condiciones en las que se desarrolla el vermicompostaje y su duración (Nogales y col., 2014). Todos estos factores también condicionan el grado de polimerización y policondensación de la materia orgánica del residuo durante el vermicompostaje, originándose tras este proceso la aparición de compuestos similares a los ácidos húmicos y fúlvicos de los suelos (Romero y col., 2007; Plaza y col, 2008).

El vermicompostaje también suele producir un aumento general de la concentración de nutrientes vegetales en el residuo vermicompostado. Este fenómeno es consecuencia de la mineralización de la materia orgánica del residuo y de la reducción de su volumen tras el vermicompostaje, lo cual resulta en un aumento de la concentración de nutrientes en el residuo orgánico vermicompostado, especialmente apreciable en el caso del fósforo, calcio, magnesio y algunos micronutrientes (Nogales y col., 2014). Además, el vermicompostaje favorece que los elementos de la materia orgánica se mineralicen hasta formas químicas solubles que son fácilmente asimiladas por las plantas (Edwards, 1988). En el caso concreto del nitrógeno, el vermicompostaje tiene un efecto variable en su concentración observándose tanto aumentos como disminuciones, dependiendo del tipo de residuo orgánico y de las condiciones particulares del vermicompostaje, especialmente cuando éste se lleva a cabo usando sistemas que permiten el drenaje de agua contenida en el lecho orgánico. En estos sistemas de vermicompostaje, un exceso de agua aplicada causa que las formas químicas altamente solubles liberadas tras la mineralización de los residuos orgánicos pueden ser arrastradas con el agua de drenaje (Garg y Kauchik, 2005).

El éxito y la eficacia del vermicompostaje de un residuo orgánico vienen condicionados a que este posea una naturaleza y características que permitan un aceptable desarrollo de las lombrices. Las principales características a evaluar en los residuos orgánicos que van a ser vermicompostados son la humedad, estructura física, pH, contenido en carbono y nitrógeno, concentración de sales, concentración de amoniaco y amonio, concentración de sustancias tóxicas y actividad biológica (Nogales y col., 2014).

Existe un gran número de residuos orgánicos generados por diferentes actividades agrícolas, urbanas e industriales de nuestra sociedad que han sido ensayados y utilizados exitosamente en procesos de vermicompostaje. Residuos convencionales como son los estiércoles de origen animal han sido considerados como materiales orgánicos naturales y óptimos para la alimentación y desarrollo de diversas especies de lombrices, que transforman estos residuos en un material estabilizado y maduro. Existen además un gran número de residuos orgánicos, que a pesar de no ser considerados como óptimos para el desarrollo de las lombrices en condiciones naturales, han sido bioestabilizados eficazmente por medio del vermicompostaje. Sin embargo, la mayoría de estos residuos no convencionales requiere un acondicionamiento previo, e incluso su mezcla con otro residuo convencional o no convencional, con el fin de que el residuo presente las características requeridas para el adecuado desarrollo de las lombrices durante el vermicompostaje.

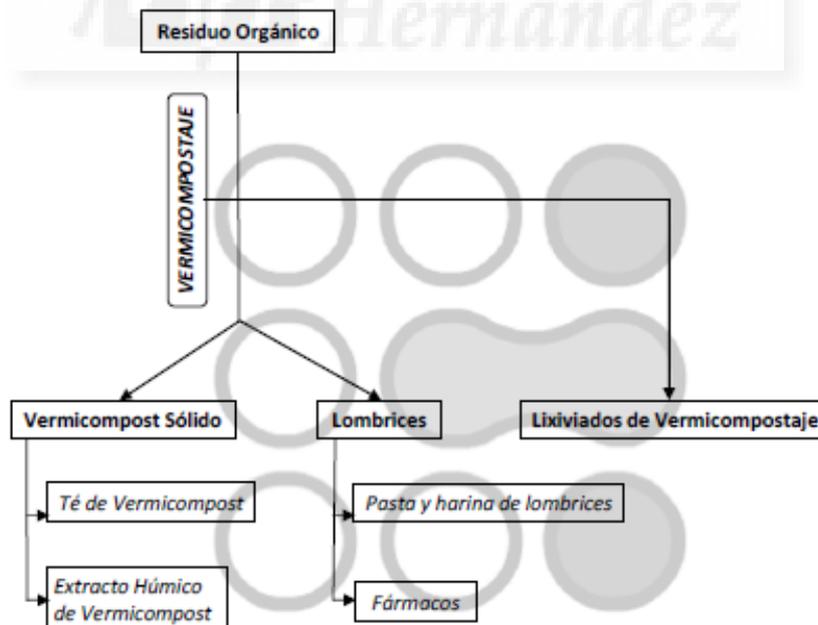
En definitiva, el proceso de vermicompostaje ha sido utilizado para la biodegradación de un gran número de residuos orgánicos, y se considera como una ecotecnología limpia, sin impacto ambiental y cuyos costes de inversión, energéticos y de mantenimiento son moderadamente bajos. Su utilización aporta los siguientes beneficios:

- Eliminación de residuos orgánicos nocivos, insalubres, molestos y de difícil gestión.
- Generación de un producto final útil (vermicompost), de gran valor como enmienda orgánica del suelo de alta calidad, que puede funcionar como abono.
- Producción de una gran biomasa de lombriz, de alto contenido proteico y de alta calidad para alimentación animal (avícola, porcino y piscícola, fundamentalmente).

Los vermicompost de los residuos orgánicos son considerados como abonos, fertilizantes o enmiendas orgánicas con una efectividad, en muchos casos, superior a la que ejercen los estiércoles naturales y los composts. Globalmente, el uso de estos materiales mejora las propiedades físicas del suelo (porosidad,

estabilidad de agregados, balance hídrico), aumentando su contenido en materia orgánica así como los niveles de nutrientes totales y disponibles para el cultivo. Como consecuencias, los rendimientos de cosecha aumentan, observándose incrementos apreciables de los niveles de macro y micronutrientes en las plantas cultivadas (Nogales y col., 2014).

Como ya se ha comentado, el proceso de vermicompostaje tiene como objetivo el reciclaje de residuos orgánicos en productos sólidos, estables y maduros (vermicompost sólido) que pueda ser valorizado mediante su utilización en agricultura o con fines medioambientales, control de plaguicidas en suelos, recuperación de suelos contaminados y en otras aplicaciones. Además, el vermicompostaje puede ser utilizado para obtener otros productos (Figura 5) que provienen bien del propio proceso, como son los lixiviados del vermicompostaje y las lombrices obtenidas por un aumento de la población inicial aplicada, o bien de un procesado secundario de los vermicomposts sólidos, como los té y extractos húmicos de vermicomposts (Nogales y col., 2014).



**Figura 5.** Productos finales del proceso de vermicompostaje

El vermicompost en sus diferentes acepciones se define como el producto final resultante del proceso de vermicompostaje, que presenta unas óptimas condiciones físicas, un contenido variable de materia orgánica parcialmente humidificada, con contenidos variables de nutrientes y sustancias fitorreguladoras del crecimiento y que puede ser almacenado sin posteriores tratamientos ni alteraciones. Según el Real Decreto 506/2013 (BOE num 164 del 10 de Julio del 2013) de la legislación del Reino de España sobre productos fertilizantes, el vermicompost, se incluye en el grupo 6 “Enmiendas Orgánicas” y es el producto estabilizado obtenido a partir de materiales orgánicos, por digestión con lombrices, bajo condiciones controladas, que debe cumplir una serie de requisitos para ser comercializado para su aplicación en agricultura. Además de estos requisitos, los microorganismos patógenos y las concentraciones de metales pesados contenidos en los vermicompost, correspondientes a las clases A, B y C, no deberán superar los límites establecidos a fin de evitar su transferencia al suelo y a la cadena trófica.

Los procesos de vermicompostaje se pueden desarrollar a diferentes escalas y/o sistemas. Básicamente se pueden distinguir entre, los sistemas de vermicompostaje tradicionales (en literas, hileras, canteros, camellonas, contenedores o cajas) y sistemas de vermicompostaje con alimentación continua o flujo continuo (vermicompostadores verticales modulares, verticales mecanizados o de flujo horizontal) (Nogales y col., 2014).

En los últimos años un gran interés científico y comercial ha suscitado la posibilidad de utilizar los vermicompost de estos residuos orgánicos para otros fines distintos a los exclusivos de fertilizantes orgánicos.

Diversos autores han estudiado el efecto de la aplicación de vermicompost de *alperujo* a suelos contaminados por disolventes orgánicos (Moreno y col. 2009), plaguicidas (Romero y col., 2006; Delgado-Moreno y Pena, 2007, 2009; Fernández-Bayo y col., 2009) u otros contaminantes orgánicos que plantea serios problemas de biodegradación en los suelos contaminados, consiguiendo reducciones importantes de estos contaminantes. También mejoran la fertilidad de suelos contaminados por metales pesados, favoreciendo la fijación de esos

elementos en el medio edáfico (Nogales y Benitez, 2007; Romero y col., 2005). Además, se ha observado que estos vermicomposts poseen una mayor biodiversidad microbiana que los composts de *alperujo* elaborados mediante técnicas tradicionales, pudiendo aportar una mayor capacidad metabólica proveniente de los microorganismos para la degradación de contaminantes orgánicos (Vivas y col., 2009).

### **1.3. Contaminantes orgánicos emergentes**

El término de contaminantes emergentes se utiliza para referirse a compuestos de distinto origen y naturaleza química, cuya presencia en el medio ambiente no se considera significativa en términos de distribución y/o concentración, por lo que pasan inadvertidos. No obstante, actualmente están siendo ampliamente detectados gracias al desarrollo de nuevos y más sensibles métodos de análisis que ha permitido alertar la presencia de estos contaminantes potencialmente peligrosos que tienen la capacidad de acarrear un impacto ecológico, así como efectos adversos sobre la salud.

Los contaminantes emergentes, cuyo estudio se encuentra entre las líneas de investigación prioritarias de los principales organismos dedicados a la protección de la salud pública y medio ambiental, tales como la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Agencia para la Protección del Medio Ambiente (EPA), o la Comisión Europea, se definen como contaminantes previamente desconocidos o no reconocidos como tales cuya presencia en el medio ambiente no es necesariamente nueva pero sí la preocupación por las posibles consecuencias de la misma. Los contaminantes emergentes son compuestos de los cuales se sabe relativamente poco acerca de su presencia e impacto en los distintos compartimentos ambientales, razón por la cual y a su vez consecuencia de que no hayan sido regulados, y de que la disponibilidad de métodos para su análisis sea limitada o nula. Otra particularidad de estos compuestos, es que debido a su elevada producción y consumo, y a la consecuente continua introducción de los mismos en el medio ambiente, no

necesitan ser persistentes para ocasionar efectos negativos (Petrovic y col., 2003).

Se ha establecido que estos compuestos entran en el medio ambiente a través de algunas fuentes y vías, tales como aguas residuales de tipo doméstico e industrial, de los residuos de las plantas de tratamiento, de los efluentes hospitalarios, de las actividades agrícolas y ganaderas y de los tanques sépticos, los cuales contienen un gran número de componentes orgánicos específicos y contaminantes orgánicos que se producen a diferentes concentraciones en las aguas superficiales, cuyos criterios de calidad ambiental no están diseñadas para eliminarlos, motivo de preocupación científica y para las entidades ambientales reguladoras.

Los contaminantes emergentes comprenden una amplia gama de compuestos de uso diario con aplicaciones tanto industriales como domésticas. Algunos de ellos, a raíz de las intensas investigaciones llevadas a cabo en los últimos años, han sido incluidos en la lista de sustancias prioritarias en el agua, son principalmente productos farmacéuticos, productos de cuidado personal, agentes tensioactivos, plastificantes y aditivos industriales, que no están incluidos en el monitoreo actual de programas de tratamiento de aguas; también incluyen la síntesis de nuevos compuestos químicos o cambios en el uso y disposición de los productos químicos ya existentes, de los cuales existe una limitada información disponible sobre el efecto que pueden causar en la salud humana y en el medio ambiente. Por estas razones, la mayoría de las nuevas investigaciones han centrado sus estudios en la aparición de estos contaminantes orgánicos en aguas superficiales, como las utilizadas en actividades domésticas, que luego reciben tratamiento químico; en aguas de arroyos; aguas residuales con tratamiento biológico, y en agua potable (de consumo humano), entre otras, ya que estas son más susceptibles de contener concentraciones mayores de contaminantes emergentes que en aguas subterráneas.

Los compuestos que han surgido recientemente, que se muestran en la tabla 2, con una particular relevancia son los detergentes, productos farmacéuticos,

productos de higiene personal y aditivos de gasolinas. Estos grupos de contaminantes tienen además una característica de que no necesitan ser muy persistentes en el medio ambiente para causar efectos negativos, ya que su alto grado de transformación/eliminación es compensado por su constante ingreso en el medio ambiente debido a su utilización masiva (Barceló, 2003).

Comparando la Unión Europea (UE) con otras zonas del mundo, la distribución y el saneamiento del agua tienen un desarrollo muy elevado, sin embargo persisten problemas de contaminación diversos. La UE basa su política del agua en el uso de la información científica y los datos técnicos disponibles, tomando en cuenta la variabilidad de las condiciones ambientales en las diferentes regiones de la Unión, con el objetivo de mejorar la calidad de los recursos de agua dulce que posee. La Directiva Marco del Agua 2000/60/CE,

**Tabla 2:** Contaminantes considerados como emergentes hoy en día (Barceló, 2003).

CONTAMINANTES EMERGENTES	
Grupos de compuestos	Ejemplos
<b>Productos farmacéuticos</b>	
Antibióticos( de uso humano y veterinario)	Trimetoprim,eritromicina, lincomicina, sulfametoxazol
Analgésicos y anti-inflamatorios	Codeína, ibuprofeno, acetaminofen, ácido acetil salicílico, diclofenaco, fenoprofen
Fármacos psiquiátricos	Diezapan
Anti-epilépticos	Carbamazepina
Reguladores de lípidos	Bezafibrato, ácido clofíbrico, ácido fenofíbrico
B-bloqueadores	Metopropol, propranolol, timolol
Rayos-X, contraste	Iopromide, iopamidol, diatrizoato
<b>Esteroides y hormonas</b> (anticonceptivos)	Estradiol, estrona, estriol, dietilbestrol
<b>Productos de higiene personal</b>	
Fragancias	Nitro, policíclic y macrocíclic almizele
Cremas solares	Benzofenona
Repelentes de insectos	N,N-dietiltoluamida
<b>Antisépticos</b>	Triclosan, clorofeno
<b>Detergentes y sus metabolitos</b>	Etoxilatos de Alquilfenol, alquilfenoles (nonilfenol y octilfenol), carboxilatos de alquilfenol
<b>Retardadores de llama</b>	Difenil éteres polibrominados (PBDEs), bisfenol A tetrabromo, Tris(2-cloroetil)fosfato

<b>Aditivos industriales</b>	Agentes quelantes (EDTA), sulfonatos aromáticos
<b>Aditivos de gasolinas</b>	Diaquil éteres, metil-ter-butyl éter (MTBE)
<b>Subproductos de desinfectantes</b>	Bromoácidos, bromoacetnitrilos, bromoaldehídos, cianoformaldehídos

es la directiva de la CE (actual Unión Europea, UE) que establece las bases para la protección de las aguas continentales, para los estados miembros. En esta directiva se detalla, entre otros muchos temas, la estrategia de la UE contra la contaminación del agua por determinados contaminantes o grupos de contaminantes que representen un riesgo significativo al medio acuático. Además, en esta directiva se introdujo la metodología científica para seleccionar sustancias prioritarias en función de su riesgo significativo. La primera lista de sustancias seleccionadas se incluyó en la decisión 2455/2001/CE, donde se incluyen 33 sustancias prioritarias. Esta lista de sustancias es examinada cada cuatro años, y las revisiones tienen en cuenta toda la información procedente de los estados miembros, del Comité de Toxicología, Ecotoxicología y Medio Ambiente, de la Agencia Europea de Medio Ambiente, de los programas comunitarios de investigación, de asociaciones empresariales europeas y de las organizaciones de protección del medio ambiente.

Actualmente de la última revisión de la lista de sustancias prioritarias en el agua se ha llegado a la conclusión de proceder a modificar la lista mediante la incorporación de sustancias identificadas recientemente, por ello surgió la Directiva 2013/39/UE, además se procede a adoptar medidas para lograr un buen estado químico de las aguas superficiales mediante la adopción de normas de calidad ambiental (NCA) para las sustancias prioritarias y otros contaminantes determinados. No obstante, se considera que el tratamiento de aguas residuales puede ser muy costoso. Para facilitar un tratamiento más barato y rentable, podría fomentarse el desarrollo de tecnologías innovadoras de tratamiento de aguas.

### **1.3.1 Productos farmacéuticos**

De todos los contaminantes emergentes, los que probablemente suscitan mayor preocupación y estudio en los últimos años son los fármacos. El consumo de fármacos en los países de la UE se cifra en toneladas por año, y muchos de los más usados, entre ellos los antibióticos, se emplean en cantidades similares a las de los pesticidas (Focazio y col., 2004).

Las vías principales de productos farmacéuticos en el medio ambiente son a través de la excreción humana, la eliminación de los productos no utilizados y por el uso agrícola. Una amplia presencia de productos farmacéuticos se ha detectado en aguas superficiales y subterráneas, asociada con la eliminación de las aguas residuales. Estos residuos farmacéuticos son transportados al ciclo del agua por diferentes rutas: las plantas de tratamiento de aguas residuales actúan como una puerta de entrada de estos productos a los cuerpos de agua, porque muchos de estos compuestos no son realmente retenidos en sus procesos (Ternes y col., 2002) y porque muchos residuos farmacéuticos veterinarios son descargados directamente al ecosistema. Los compuestos farmacéuticos no suelen ser biodegradables, han sido diseñados para ser lipofílicos y biológicamente persistentes, con objeto de mantener su actividad terapéutica hasta que su función específica se haya desarrollado. Estas características hacen que la preocupación sobre este tipo de contaminantes sea aún mayor.

Entre los fármacos más prescritos en medicina humana destacan los analgésicos/antiinflamatorios como el ibuprofeno y el diclofenaco, los antiepilépticos como la carbamacepina, antibióticos como la amoxicilina y el sulfametoxazol, y los  $\beta$ -bloqueantes como el metopropol. A éstos cabe añadir los, cada vez más, utilizados en veterinaria, en actividades como la acuicultura, la ganadería y la avicultura. Según las propiedades físico-químicas de los fármacos y sus metabolitos y productos de degradación, y las características de los suelos, estas sustancias pueden llegar a alcanzar las aguas subterráneas y contaminar los acuíferos o bien quedar retenidas en el suelo y

acumularse pudiendo afectar al ecosistema y a los humanos a través de la cadena trófica.

Las concentraciones a las que se han encontrado en aguas superficiales (como consecuencias de una eliminación incompleta en las plantas de depuración de aguas) o aguas subterráneas (debido a la escasa atenuación que experimentan algunos compuestos durante la filtración a través de suelos) se sitúan normalmente en el rango de  $\text{ng L}^{-1}$  o  $\mu\text{g L}^{-1}$ , mientras que en suelos y sedimentos, en donde pueden persistir durante largos periodos de tiempo, alcanzan concentraciones de hasta  $\text{g Kg}^{-1}$  (Hernando y col 2006; Díaz-Cruz y Barceló, 2005). Pero lo que ha despertado una mayor preocupación ha sido el hallazgo de algunos de ellos como el acetaminophen en aguas potables (Bedner y Maccrehan, 2006).

Debido a que los recursos de agua son limitados y el incremento de la demanda de agua, se hace necesario incrementar y extender la reutilización de las aguas residuales, lo cual lleva aparejado el problema de la persistencia de fármacos o biocidas en las aguas residuales tras sufrir un tratamiento. Esto hace, si cabe, más difícil resolver el problema de estas sustancias contaminantes ya que son necesarias y se vierten en grandes cantidades hoy en día. En la fabricación de productos medicinales humanos y veterinarios son utilizados del orden de 3000 diferentes compuestos (Ternes, 2001), lo que representa un amplio rango de estructuras químicas. Debido a este gran número de compuestos, a los que hay que añadir sus correspondientes productos de degradación, parece casi imposible desarrollar métodos eficaces de eliminación para todas estas sustancias y sus metabolitos.

Esta situación se agrava cuando los compuestos son además de elevada polaridad (muy solubles en agua). En esta situación, la eliminación (o retención mediante adsorción en los ciclos primarios o en la biomasa) en una planta de tratamiento de aguas convencional es menor.

Todo esto ha hecho que los compuestos farmacéuticos hayan sido considerados como un problema solo recientemente (contaminantes emergentes), cuando la implantación de los tratamientos biológicos en la UE ha

sido generalizada y además, las técnicas analíticas se han desarrollado para poder detectar la presencia de estos compuestos aguas abajo de las plantas de tratamiento. Tradicionalmente los compuestos polares no eran incluidos en las campañas de monitoreo, lo que resultaba en una severa deficiencia de información de la presencia de este tipo de compuestos en el medio ambiente.

La herramienta tradicionalmente utilizada para la detección, seguimiento y control de contaminantes emergentes en agua ha sido la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC-MS). Es así que con esta herramienta y los métodos desarrollados por las agencias ambientales encargadas de evaluar y controlar la liberación de contaminantes en el agua, constituyeron procedimientos estándares de análisis y establecieron niveles de concentración.

Como se ha comentado anteriormente, muchos de los fármacos se caracterizan por ser altamente polares, lo que hace necesario el desarrollo de métodos de preparación de muestras, como son la extracción o derivación, para posteriormente analizarse. La utilización de GC-MS, para la determinación de un amplio abanico de sustancias es muy apreciada, por la reproductibilidad de los resultados y porque se cuenta con bases de datos que facilitan la identificación pero queda limitada para compuestos termolábiles, muy polares, y moléculas orgánicas de gran tamaño. Para este tipo de compuestos orgánicos se utiliza la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS), utilizada de manera generalizada en campañas de monitoreo solo recientemente. Por ello, muchos de los compuestos incluidos en la tabla 2 y otros más, solo han podido detectarse, identificarse y cuantificarse recientemente (Petrovic y Barceló 2007; Quinn y col. 2008).

En muchos casos, las consecuencias de la presencia de estas sustancias en el medio ambiente no están aún claras, pero en otros el riesgo parece evidente, y alarmante. Así, por ejemplo, el diclofenaco, aparte de afectar a los riñones en los mamíferos, se ha asociado (como consecuencia de su uso en veterinaria) con la desaparición de los buitres blancos en India y Pakistán, lo que supone un desastre ecológico (Fent y col., 2006).

Por todo ello, debido al beneficio derivado del uso de estos productos y su alta demanda, su uso no puede ser prohibido, por lo que es necesario desarrollar técnicas que permitan su eliminación de las aguas antes que se descarguen al medio ambiente y provoquen daños irreversibles medio ambientales y sobre la salud del ser humano.

#### **1.4. Sistemas de biopurificación para la eliminación de contaminantes orgánicos.**

Los sistemas de biopurificación, como son los llamados filtros biológicos o biofiltros, son dispositivos constituidos por un lecho filtrante biológicamente activo, que eliminan una amplia gama de compuestos contaminantes provenientes de una corriente de fluido (agua o aire) a través de él mediante un proceso biológico ([http://www.sinia.cl/1292/articles-49990\\_07.pdf](http://www.sinia.cl/1292/articles-49990_07.pdf)).

Esta biotecnología se puede aplicar para el control de la contaminación atmosférica mediante procedimientos no agresivos con el medio ambiente a fin de evitar el uso de productos químicos, para tratamiento de aguas residuales o potables, en acuicultura, etc.

Los biofiltros tienen una matriz (material que sirve de soporte y que deja pasar el flujo de fluido a tratar) y una capa biológica llamada biofilm. En general, el biofilm está formado por una comunidad de diferentes microorganismos (bacterias, hongos, levaduras, etc), macroorganismos (protozoos, gusanos, larvas de insectos, etc) y sustancias poliméricas extracelulares. El aspecto de la biopelícula suele ser viscoso y lodoso. La presencia de estos microorganismos provoca que la contaminación sea retenida, acumulada o destruida. El material biológico funciona como un catalizador a escala reducida.

Los sistemas vivos usados para degradar la contaminación pueden reproducirse de manera natural, además, resultan mucho más baratos y, evidentemente, tienen menos efectos negativos sobre el medio ambiente que los de base química.

Los biofiltros se pueden aplicar sobre una amplia gama de sustancias volátiles desde compuestos inorgánicos como el sulfhídrico y el amoníaco hasta compuestos volátiles orgánicos como el tolueno, xilenos o el benceno (Kennes y Thalasso, 1998).

Normalmente la biofiltración se usa para el control de olores, en donde se filtran los efluentes gaseosos para eliminar compuestos volátiles orgánicos e inorgánicos presentes en la fase gaseosa, pero también pueden usarse para tratar efluentes líquidos. Sus aplicaciones más usuales se dan en instalaciones de tratamiento ambiental (depuradoras, plantas de tratamiento y bombeo, instalaciones de compostaje, RSU...) y en procesos industriales, como la industria química, tostadoras de café, tratamiento de aves, producción de sabores y fragancias, mataderos, salas de despiece... Por ejemplo, se pueden producir biofiltros que traten olores que genera la producción de aceites de cebolla y ajo.

El biofiltro se introdujo por primera vez en Inglaterra en 1893 como un filtro percolador para el tratamiento de aguas residuales y desde entonces ha sido utilizado con éxito para el tratamiento de diferentes tipos de agua. El tratamiento biológico se ha utilizado en Europa para filtrar aguas superficiales para beber desde principios de 1900 y ahora está recibiendo más interés en todo el mundo. La biofiltración es también común en el tratamiento de aguas residuales, la acuicultura y el reciclaje de aguas grises como una forma de minimizar la reposición del agua al tiempo que aumenta la calidad del agua.

El manejo de todos los componentes integrantes de un equipo biológico es sencillo y puede ser llevado a cabo fácilmente por personal sin conocimientos específicos adicionales. Lo más esencial es la vigilancia del correcto contenido de humedad de la biomasa. La inspección y limpieza del sistema de humidificación y del ventilador presente en todos los sistemas de desodorización tampoco son complicadas.

El relleno del biofiltro puede ser de naturaleza orgánica (turba, compost, astillas de madera) o inorgánica (grava, poliestireno). El biofiltro (Figura 6) actúa, por un lado, como elemento de retención de las partículas en suspensión (efecto

mecánico) y, por otro lado, como soporte de la actividad microbiana (efecto bioquímico o microbiológico).



**Figura 6:** *Biofiltro de naturaleza orgánica para eliminación de olores*

El compost, inicialmente concebido como enmienda orgánica para mejorar la fertilidad del suelo, ha sido utilizado como sistema de biopurificación. Tiene la ventaja, respecto al suelo, de poseer una microflora más importante. Ahora bien, esta actividad biológica hace que el relleno se consuma más rápidamente, y además, debe tenerse en cuenta que el compost no es fácilmente permeable al agua, por lo que su humectación resulta difícil.

La turba constituye otro tipo de relleno de gran interés y ampliamente utilizado en sistemas biobeds para eliminar residuos de plaguicidas de las aguas de lavado de maquinaria agrícola (Castillo y col., 2008). Las turbas negras en concreto, que provienen de la acumulación de materias vegetales y residuos forestales, pueden mezclarse con el fin de obtener un mejor relleno. La naturaleza orgánica y fibrosa de la turba ofrece la doble ventaja de aportar un complemento nutritivo a la biopelícula y favorecer a una buena aireación del relleno, además, la fibra de turba de alta calidad puede garantizar hasta 10 años sin cambio de la biomasa. Como desventaja, la turba se considera un

recurso limitado y debido al mayor precio de la ésta hace que los sustratos más utilizados sean los basados en compost de origen vegetal, con el que se pueden garantizar hasta 5 años de vida.

El rendimiento global será mejor si las condiciones son constantes aunque con algo de tiempo de adaptación para que los microorganismos se acomoden también a eventuales cambios. Los rendimientos alcanzados en estos procesos dependen de la naturaleza, la concentración de los contaminantes y eventualmente otros compuestos presentes en la mezcla tratada. Suelen alcanzar elevados rendimientos y son por lo tanto comparables con los rendimientos alcanzados por otros procesos de desodorización como el lavado por vía química o los filtros de carbón activo (<http://www.camaramadrid.es/doc/linkext/7-sistemas-tratamiento-olores.pdf>).

Se ha demostrado que los sistemas biológicos retienen incluso sustancias que no son depuradas en los sistemas clásicos. Por ejemplo se ha demostrado la eliminación de hidrocarburos y disolventes orgánicos en la etapa biológica. De forma natural se favorece el desarrollo de cepas que se alimentan de los residuos a eliminar, siendo el sistema, de esta forma, auto regulable. Es una tecnología apta para emisión con niveles medios de sulfuro de hidrógeno, amoníaco, compuestos orgánicos volátiles y en general aquellas instalaciones en las que se originan olores de procesos de degradación biológica o manejo de productos orgánicos (<http://www.emison.com/biofiltracion.htm>).

En los últimos años se han ido desarrollado estos sistemas biotecnológicos de bajo coste de manera exponencial. En Suecia, durante la década del 90, se inició el desarrollo de un sistema denominado “lechos biológicos” o “biobed”, que está siendo difundido a diferentes países de Europa, África y América. Las características de esta tecnología, destinada a disminuir la contaminación por plaguicidas, se ajusta plenamente a los productores que se esfuerzan por alcanzar mayores beneficios económicos y lograr aperturas de nuevos mercados más exigentes, como también a normativas ambientales y consumidores con creciente sensibilidad por la protección del ambiente.

Un inadecuado manejo de los plaguicidas puede contaminar fuentes de agua superficial, zonas subterráneas y el suelo. Diferentes estudios junto a observaciones de terreno han identificado dos puntos críticos durante la manipulación de los plaguicidas, que pueden provocar contaminación. El primero es durante la fase de llenado del equipo de aplicación, donde suelen ocurrir derrames accidentales del producto en su máxima concentración, y el segundo durante el lavado de los residuos adheridos en la parte externa del equipo.

El lecho biológico es un sistema simple y de bajo costo, construido a nivel del suelo (figura 7), donde se estaciona un pulverizador o nebulizador durante las etapas de llenado y lavado del equipo. Contiene una matriz biológica (biomezcla) que atrapa y degrada los plaguicidas hasta llevarlos a niveles de inocuidad. La biomezcla actúa mediante procesos simultáneos de adsorción por efecto de sus componentes y de degradación microbiológica realizada por hongos y bacterias.

El lecho biológico está compuesto de una primera capa de pasto, seguido de la biomezcla constituida por suelo, turba y residuo lignocelulósico (paja de trigo o avena) en una proporción volumétrica de 25-25-50%, y finalmente una capa de gravilla. Las paredes están impermeabilizadas con hormigón y una geomembrana que las recubre. Adicionalmente cuenta con un pozo aledaño, cuya función es recibir y recircular los percolados con restos de plaguicidas hacia la superficie del lecho biológico hasta completar su degradación (Castillo y col 2008).



**Figura 7.** *Sistema biobed para recolectar los vertidos de caldo durante la preparación de cubas de tratamiento o durante las aguas de lavado de la maquinaria agrícola.*

Como inconvenientes por el uso de esta tecnología, debido a la filtración y el crecimiento de la biomasa, se produce una acumulación de materia en la matriz del filtro, este tipo de procesos de película fija están sujetos a la obstrucción y canalización del flujo. Dependiendo del tipo de aplicación y de los materiales utilizados para el crecimiento microbiano, la obstrucción puede ser controlada mediante métodos físicos y/o químicos. Siempre que sea posible, los pasos de lavado a contracorriente se pueden implementar usando aire y/o agua para interrumpir la bioacumulación y recuperar el flujo. También se pueden usar productos químicos como oxidantes o agentes biocidas. Otro aspecto a tener en cuenta es la necesidad de mantener la humedad adecuada en todo el sistema que suele ser solventado usando dispositivos de riego.

Estos procesos ofrecen las siguientes ventajas: Los costos son relativamente bajos; están sujetos a cargas variables o intermitentes y al choque hidráulico; el resultado final del tratamiento está menos influenciado por la separación de la biomasa porque la concentración en el efluente de biomasa es mucho menor

que para procesos de biomasa en suspensión; la biomasa se vuelve más especializada.

## **2. Objetivos**

Una fuente importante de contaminación de las aguas son los contaminantes emergentes. Muchos de ellos, debido al beneficio derivado de su uso, no pueden ser prohibidos, por lo que es necesario desarrollar técnicas sostenibles y de bajo coste que permitan su eliminación de las aguas antes que se descarguen al medio ambiente.

Las operaciones de tratamiento actuales implementadas en las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR), han demostrado no ser efectivas para la depuración de muchos de estos compuestos. Este hecho, junto con vertidos directos de ciertas sustancias químicas consecuencia de actividades en auge, hacen que multitud de compuestos químicos alcancen las aguas naturales. Por ello, resulta necesario ampliar las investigaciones sobre estos contaminantes proponiendo procesos de tratamientos alternativos o complementarios que logren reducir el vertido de estos compuestos a las aguas naturales.

En los últimos años se han desarrollado sistemas de bajo coste, como son el uso de los biofiltros o lechos biológicos para eliminar plaguicidas de las aguas residuales, de lavado de frutos de postcosecha (Karanios y col., 2012), etc. En general los biofiltros o lechos biológicos más frecuentemente ensayados están constituidos por una mezcla de suelo, turba y paja, aunque otros tipos de biomezclas también han sido ensayadas exitosamente. Sin embargo, estos sistemas aún no han sido utilizados para la eliminación de contaminantes orgánicos emergentes.

El Trabajo Fin de Máster (TFM) tiene como objetivo el desarrollo de biomezclas a partir de residuos de la agroindustria del olivar que permitan su utilización en sistemas de biopurificación o biofiltros con el fin de conocer su potencial para retener diferentes contaminantes orgánicos emergentes procedentes de la

industria farmacéutica. Para este fin, se pone a punto una metodología analítica de extracción y determinación de dos contaminantes emergentes (Ibuprofeno y Diclofenaco) en las diferentes biomezclas diseñadas. La capacidad adsorbente se evalúa realizando isothermas de adsorción de cada compuesto en cada biomezcla y se aplicaran modelos matemáticos de adsorción para conocer la constante de partición que regula el proceso de adsorción en cada caso. El análisis estadístico de los resultados obtenidos nos permitirá discernir y seleccionar las más efectivas para el desarrollo de sistemas de biopurificación o biofiltros de aguas residuales contaminadas por compuestos orgánicos emergentes.

### **3. Material y métodos**

#### **3.1. Materiales empleados en la preparación de las biomezclas y contaminantes emergentes ensayados**

Para la preparación de las biomezclas se utilizaron los siguientes materiales tamizados (< 4mm):

a) **Suelo (S).** Se utilizó la capa arable de un suelo clasificado como Cambisol calcárico localizado en las cercanías de Deifontes (Granada), en el Cortijo de La Parra. Las principales características del suelo fueron las siguientes, textura: franco arcillo limosa, pH: 8,1, conductividad: 0,3 dS m<sup>-1</sup>, capacidad de intercambio catiónico: 15,5 cmol<sup>+</sup> kg<sup>-1</sup>, carbonatos: 500 g kg<sup>-1</sup>, carbono orgánico total: 22,7 g kg<sup>-1</sup>, nitrógeno: 2,7 g kg<sup>-1</sup>.

b) **Turba (T).** Procedente de la turbera del Agia (Padul, Granada). pH: 4,5, conductividad: 2,93 dS m<sup>-1</sup>, carbono orgánico total: 301 g kg<sup>-1</sup>, nitrógeno: 8 g kg<sup>-1</sup>.

c) **Paja (P).** Paja procedente de un cultivo de cebada. pH: 7,8, carbono orgánico total 571 g kg<sup>-1</sup>, nitrógeno: 1,8 g kg<sup>-1</sup>.

d) **Alperujo (A)**: El alperujo fue suministrado por la empresa Romeroliva, S.L., Deifontes, Granada. pH: 5,2, conductividad: 5,6 dS m<sup>-1</sup>, carbono orgánico total: 490 g kg<sup>-1</sup>, nitrógeno: 8,2 g kg<sup>-1</sup>.

e) **Vermicompost de alperujo (V)**. El vermicompost de alperujo se obtuvo a partir de una mezcla de alperujo repasado y deshuesado y estiércol de cabra (4:1 p.s.) en litera convencional, utilizando lombrices de la especie *Eisenia fétida*. El proceso de vermicompostaje duró 5 meses y, una vez retiradas las lombrices, el material fue madurado durante 1 mes y secado. pH: 8,7, conductividad: 6,5 dS m<sup>-1</sup>, carbono orgánico total: 338 g kg<sup>-1</sup>, nitrógeno: 22 g kg<sup>-1</sup>.

Se prepararon tres biomezclas (Figura 8) constituidas por el suelo, material orgánico (*alperujo*, vermicompost de *alperujo* o *turba*) y un estructurante orgánico (paja) en una proporción determinada en volumen:

- *Biomezcla (STP)*: Suelo:Turba:Paja (25:25:50) o (1:1:2)
- *Biomezcla (SAP)*: Suelo:Alperujo:Paja (25:25:50) o (1:1:2)
- *Biomezcla (SVP)*: Suelo:Vermicompost de alperujo:Paja (25:25:50) o (1:1:2)

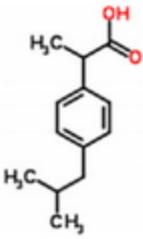
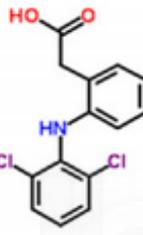
Cada una de las biomezclas colocadas en bandejas de plástico fueron estabilizadas en invernadero durante 1 mes al 85% de su capacidad de campo bajo condiciones controladas (23-25°C, 60% humedad) (véase Anexo I). Después del periodo de estabilización, las biomezclas se secaron al aire y homogeneizaron antes de su utilización como adsorbentes de los contaminantes orgánicos.



**Figura 8.** Biomezclas ensayadas

Se ensayaron dos contaminantes orgánicos emergentes: Ibuprofeno y Diclofenaco, ambos fármacos pertenecen a la casa Sigma Aldrich con una pureza  $\geq 98\%$  y  $98,5\%$ , respectivamente. Sus propiedades físico-químicas vienen recogidas en la tabla 3 Con estos fármacos se prepararon soluciones patrón en acetona a una concentración de  $1 \text{ g L}^{-1}$ . Las soluciones experimentales se obtuvieron por dilución de la solución patrón. Todos los solventes usados son presenta la suficiente calidad para ser analizados mediante un equipo HPLC.

**Tabla 3.** Propiedades físico-químicas de los contaminantes emergentes seleccionados

Compuesto	Propiedades físico-químicas						
	Estructura química	Solubilidad (mg/L)	Peso molecular (Da)	pK <sub>a</sub>	Volumen molar (m <sup>3</sup> /mol)	Constante de Henry (adimensional)	Log D <sub>ow</sub> <sup>a</sup>
Ibuprofeno		41,1	206	4,4	182,1	6,20 x 10 <sup>-6</sup>	1,10
Diclofenaco		17,8	295	4,0	206,8	1,94 x 10 <sup>-10</sup>	1,17

N: neutral

<sup>a</sup> Dow se calcula como  $D_{ow} = \frac{K_{ow}}{1+10^{pH-pK_a}}$

### 3.2. Desarrollo y optimización de tres biomezclas para la eliminación de los contaminantes orgánicos emergentes: a) suelo/alperujo/paja, b) suelo/vermicompost de alperujo/ paja, c) Suelo/turba/paja. Análisis fisicoquímico y químico de las biomezclas obtenidas.

Se realizó la determinación de la capacidad de campo (%CC) de las biomezclas mediante el método de las placas de Richard (véase Anexo I). En dicho método se colocaron las muestras de biomezcla, con la ayuda de unos cilindros de plástico, en distintas zonas de una placa porosa y fueron saturadas de agua. A continuación la placa porosa con las muestras se coloca dentro de una olla metálica que está conectada a un compresor y se somete a una presión de -0,33 bares. Cuando se iguala la presión que suministramos a la fuerza de succión, el agua sale de la muestra. Finalmente la CC (%) se obtiene de la siguiente ecuación:

$$CC(\%) = \frac{W_{SH} - W_{SS}}{W_{SS}} \cdot 100$$

Donde:

CC (%): Contenido gravimétrico de humedad en el suelo expresado en %.

WSH: Peso de la muestra de suelo húmedo sometido a -0,33 bares de tensión.

WSS: Peso de la muestra de suelo secada a 105 °C hasta peso constante.

También se ha calculado el contenido de carbono orgánico total (CO) de las biomezclas mediante el método tradicional. El método está basado en una oxidación incompleta del carbono orgánico con una cantidad conocida de dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ), que reacciona con el carbono de la biomezcla y lo oxida transformándolo en  $CO_2$ . Después se determina la cantidad de oxidante que no ha reaccionado mediante valorización con una solución de sal de Mohr [ $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \times 6H_2O$ ] y así se puede estimar la cantidad que ha reaccionado con el carbono. Para llevar a cabo dicho procedimiento en primer lugar se pesan 0,2 g de biomezcla, se lleva a un Erlenmeyer de 500 ml y se adicionan 50 ml de  $K_2Cr_2O_7$  1 N y 50 ml de  $H_2SO_4$  concentrado agitándolo suavemente y dejándolo reposar durante 30 minutos. Posteriormente se afora en un matraz de 250 ml. Se toma una alícuota de 50 ml y se diluye en el Erlenmeyer de 250 ml a 150 ml (añadiendo, por tanto, 100 ml de agua destilada). Finalmente se añaden 7 gotas de indicador y se valora con una solución de sal de Mohr 0,5 N hasta apreciar un cambio de color de pardo oscuro a verde intenso. El indicador se preparó previamente a la valorización poniendo en un crisol los 0,2 g de ácido fenilantánico y unas gotas de  $Na_2CO_3$  al 0,2 %. A continuación se trituró hasta formar una pasta y luego se añadió el resto de la solución de  $Na_2CO_3$ .

El %CO se ha calculado mediante la siguiente ecuación:

$$\%CO = (V_b - V_m) \times F$$

Donde:

$V_b$ ; gasto de sal de Mohr en blanco.

V<sub>m</sub>: gasto de sal de Mohr en muestra

F = (0,0015 x 5 x 100 x 1/0,77 x f) / (peso muestra)

f = gasto teórico / gasto real

También se puede estimar la cantidad de materia orgánica (% MO) de la muestra aplicando la siguiente ecuación:

$$\%MO = \%CO \times 1,724$$

### **3.3. Determinación y optimización de una metodología analítica para la extracción y determinación de los contaminantes emergentes (Ibuprofeno y Diclofenaco).**

Para conocer la eficacia de recuperación del método de extracción en las biomezclas se ensayaron diferentes metodologías de extracción y determinación analítica de los contaminantes emergentes usados basándose en el método Quechers simplificado. En función de los resultados obtenidos de recuperación de contaminantes se decidió por el siguiente método:

Se pesan 0,5 g de muestra en un tubo de 50 ml, se le añaden 0,25 mL de solución patrón estándar de cada fármaco y se deja evaporar. A continuación se añaden 0,5 ml de agua MilliQ, se agita durante 1 minuto y se deja un tiempo para que se adsorba (2h). Seguidamente, se añade 0,6 g de la mezcla Quechers provista en el kit, se vuelve a agitar durante 1 minuto en vortex y posterior centrifugación a 3000 rpm durante 5 min, a 20°C, para separación del extracto. Tras la centrifugación se recogen 0,2 mL de la capa de acetonitrilo que contiene el contaminante.

La mezcla Quechers empleada en la extracción de los fármacos de las biomezcla son de Agilent Technologies y contiene una mezcla de sulfato de magnesio, cloruro de sodio, citrato de sodio, ácido cítrico y sodio.

Para la determinación analítica de estos compuestos se desarrolló un método cromatográfico para la determinación simultánea de los dos fármacos. Para ello se usó un cromatógrafo líquido de alta resolución (Agilent series 1100 liquid

chromatograph) equipado con un detector de ultravioleta diodos en cadena (DAD). La columna analítica es una Zorbax Rx-C8 2.1x150 mm empaquetada con diisopropil n-octil (5 $\mu$ m) y con un cartucho guarda columna Eclipse XDB-C8 (2,1 x 12,5 mm i.d.) relleno con el mismo material. Las condiciones establecidas son: Volumen de inyección de 10 $\mu$ l y temperatura de 40°C. La fase móvil es una mezcla de acetonitrilo-agua en las siguientes condiciones (Tabla 4):

**Tabla 4:** Condiciones establecidas para fase móvil.

Tiempo (min)	Acetonitrilo (%)	Agua (%)	Flujo mL min <sup>-1</sup>
0	50	50	0,2
10	50	50	0,2
11	50	50	0,4
15	50	50	0,4
16	50	50	0,2
18	50	50	0,2

Las curvas de calibración se obtuvieron al inyectar por triplicado soluciones de los fármacos a 0,2, 0,5, 1, 2, 5 y 10 mg L<sup>-1</sup>. En este rango de concentración se obtuvieron curvas con un coeficiente de regresión de 0,999.

Las longitudes de onda fijadas para la determinación del Diclofenaco e Ibuprofeno son 275 nm y 220 nm y los tiempos de retención de 8,66 y 9,25 minutos, respectivamente.

### **3.4. Determinación de la capacidad de retención de los contaminantes orgánicos seleccionados por las diferentes biomezclas ensayadas, mediante experimentos de adsorción.**

Para la realización del experimento de adsorción de los contaminantes orgánicos sobre cada una de las biomezclas se ha usado la metodología clásica *batch*. En este método se mezclan y agitan una determinada cantidad de biomezcla con disoluciones de diferentes concentraciones de contaminante y se mantienen en contacto hasta alcanzar el equilibrio del proceso de adsorción a una temperatura dada (20°C). Para conocer ese tiempo de equilibrio previamente se realizaron cinéticas de adsorción. Las cinéticas de adsorción fueron ensayadas a diferentes tiempos de agitación (0,5, 1h, 3h...24h, 48h y 72h) con una disolución de 10 mg/l de contaminante orgánico.

Para determinar la capacidad de retención que tienen los contaminantes orgánicos en las biomezclas se realizó el siguiente procedimiento: Se toman 0,5 g de la biomezcla estudiada y se añade un volumen determinado de la solución patrón de cada fármaco por separado. Posteriormente se adicionan 25 mL de una solución de cloruro cálcico 0,01M que contiene un 0,01% de azida sódica para evitar la degradación microbiana del compuesto durante el proceso. De este modo las concentraciones de estos compuestos son de 0,5 mg L<sup>-1</sup>, 1 mg L<sup>-1</sup>, 4 mg L<sup>-1</sup>, 8 mg L<sup>-1</sup> y 10 mg L<sup>-1</sup>. Estas suspensiones se agitan durante 24 h en oscuridad en cámara termostatzada a 20°C. Transcurridas las 24 h, las muestras se centrifugan durante 15 minutos a 3000 rpm y a 20°C. La determinación de estos compuestos se realizó tanto en el sobrenadante como en la biomezcla previa extracción. Para el análisis en las muestras de la biomezcla decantada se puso a punto un método de extracción con Quechers para conocer la eficacia de extracción que se describe anteriormente en el apartado 3.3. Las soluciones finales de la muestra se diluyendo 1:1 con agua MilliQ y se pasan por filtros de 0,45 µm (Syringe filter, Bylon, Fisherbrand, Fisher Scientific) antes de proceder a su análisis cromatográfico.

Las isotermas de adsorción se obtienen representando la cantidad del contaminante unido a la superficie de la biomezcla como una función del

contaminante presente en la disolución a la temperatura dada. Para explicar las isothermas de adsorción obtenidas finalmente en el ensayo se aplican las ecuaciones matemáticas correspondientes, a un modelo lineal y el modelo no lineal de Freundlich.

El modelo lineal viene representado por la siguiente ecuación:

$$C_s = K_d C_L$$

Donde:

$C_s$ : concentración de contaminante adsorbido en la biomezcla,  $\mu\text{g g}^{-1}$

$C_L$ : concentración de fármaco en el sobrenadante,  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

$K_d$ : es la constante de adsorción, coeficiente de distribución o coeficiente de partición,  $\text{mL g}^{-1}$

El modelo no lineal de Freundlich se representa con la siguiente ecuación:

$$C_s = K_f C_L^{1/n}$$

Donde:

$C_s$ : concentración de contaminante adsorbido en la biomezcla,  $\mu\text{g g}^{-1}$

$C_L$ : concentración de fármaco en el sobrenadante,  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

$K_f$ : constante de adsorción de Freundlich,  $\mu\text{g}^{1-1/n} \text{g}^{-1} \text{mL}^{1/n}$

$1/n$ : constante de linealidad de Freundlich.

Las constantes de Freundlich se obtienen aplicando logaritmo decimal a la ecuación anterior, por lo que quedaría:

$$\log C_s = \log k + 1/n \log C_L$$

### 3.5. Análisis estadístico

Se ha realizado un ajuste estadístico de los datos experimentales a los modelos de adsorción propuestos mediante análisis de regresión.

También se han realizado análisis estadísticos de las variables para ver si existe relación de las constantes de adsorción con las propiedades de las biomezclas (carbono orgánico) y de los fármacos (solubilidad y pKa).

Para la realización de los análisis se ha usado el programa estadístico SPSS (IBM SPSS statistic 21).

## 4. Resultados y discusión

### 4.1. Propiedades de interés de las biomezclas

La tabla 5 muestra los resultados obtenidos de contenido en carbono orgánico en las biomezclas y su capacidad de campo calculados según los métodos analíticos descritos en el apartado 3.2.

**Tabla 5.** Contenido en carbón orgánico y capacidad de campo de las biomezclas de suelo-turba-paja (STP), suelo-Vermicompost de alperujo-paja (SVP) y suelo-alperujo-paja (SAP).

Biomezcla	C.O.± DE* (%)	Capacidad de campo (%)
STP	14,46 ± 0,92	67,40
SVP	11,77 ± 0,18	75,04
SAP	14,57 ± 0,44	71,89

\*Desviación estándar.

El contenido en carbono juega un papel importante en la retención de contaminantes en el suelo y es de esperar que contribuya a la retención de estos compuestos en las biomezclas (Santos-Buelga y col., 1992)

#### 4.2. Eficacia de recuperación del método analítico

En la Figura 9 se muestran las recuperaciones obtenidas mediante el método de extracción comentado en el apartado 3.3. Como se puede observar, las recuperaciones son entorno al 100% en todos los casos. Dichas recuperaciones son necesarias para conocer la cantidad de contaminante que es adsorbida por la biomezcla en los posteriores ensayos de adsorción. La mayor ventaja de este método, aparte del tiempo y el esfuerzo, es que el extracto final puede analizarse directamente por cromatografía líquida con una simple dilución.

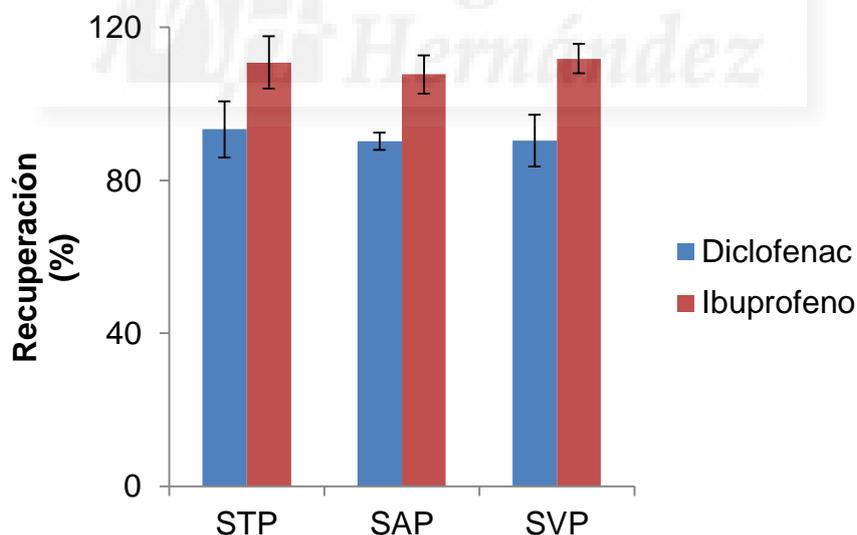


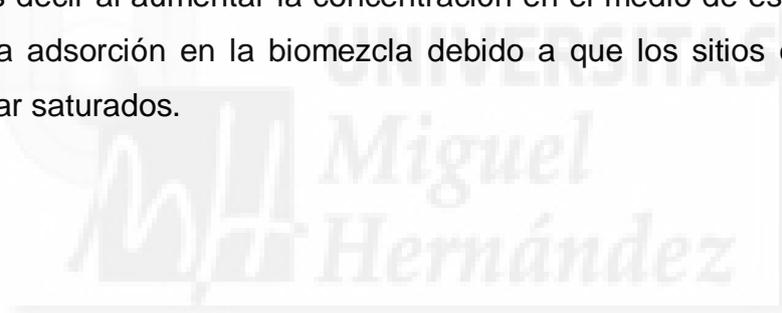
Figura 9: Recuperaciones obtenidas del método de extracción.

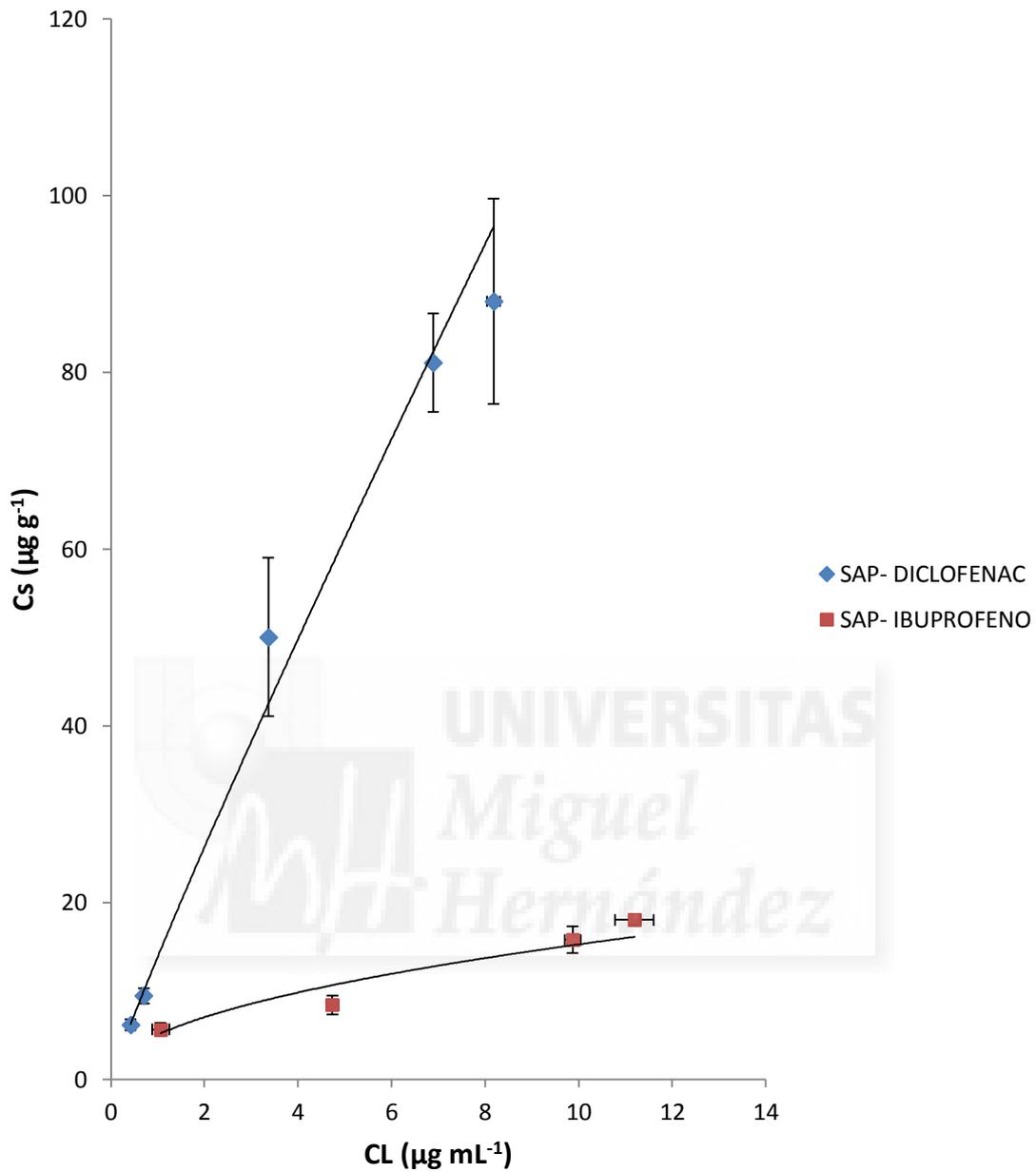
### **4.3. Isotermas de adsorción**

En las figuras 10, 11 y 12 se presentan los datos obtenidos para las isotermas de adsorción de Freundlich y en la tabla 6 las constantes de adsorción obtenidas.

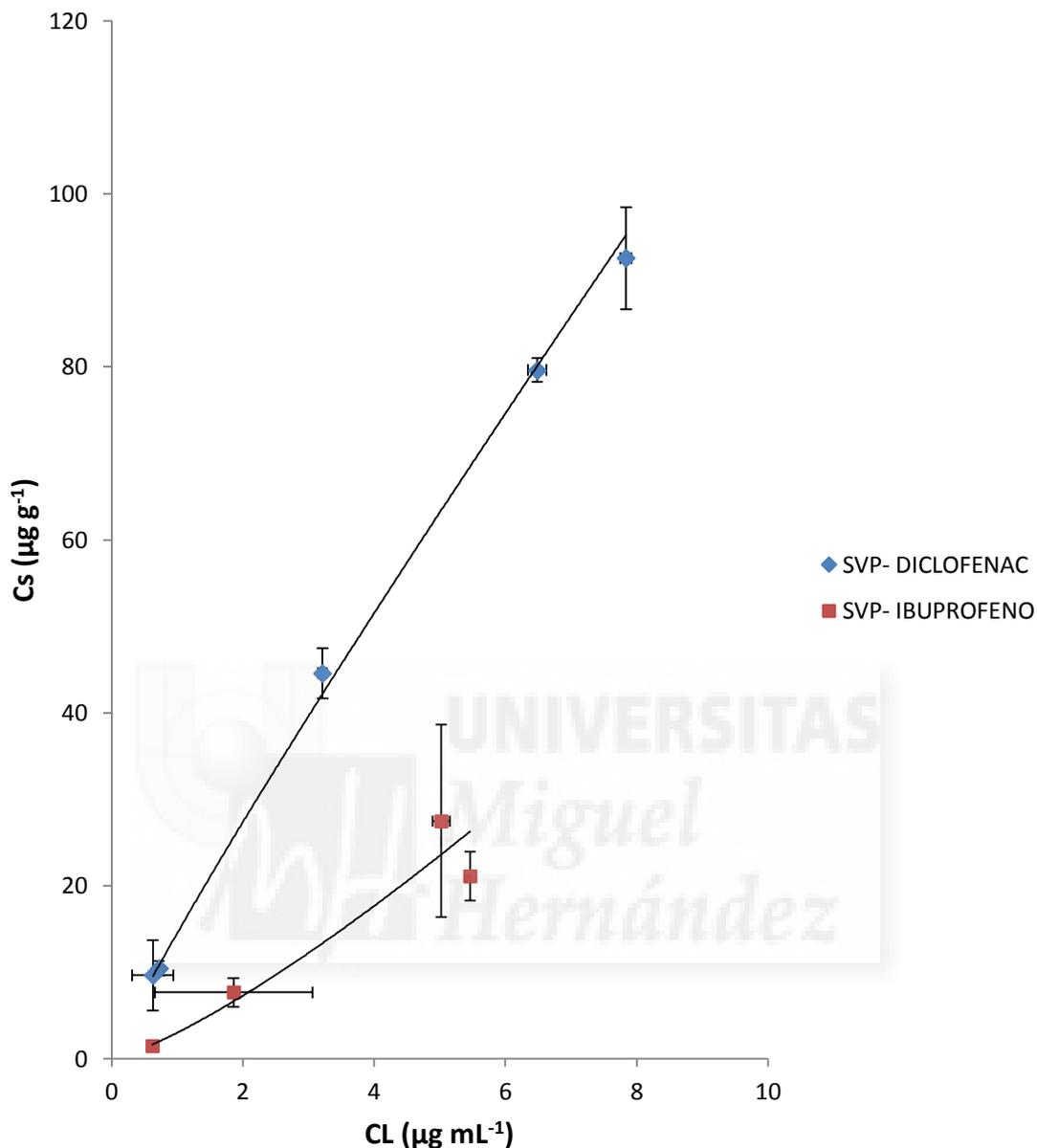
Las constantes de adsorción han sido calculadas siguiendo los métodos descritos en el apartado 3.4 y están basadas en los datos analíticos que se recogen en el Anexo II obtenidos del equipo HPLC.

Se aprecia que en todos los casos el Diclofenaco se adsorbe en mayor cantidad que el Ibuprofeno. De hecho la isoterma obtenida para el Ibuprofeno presenta una pendiente menor que la isoterma del Diclofenaco. En todos los casos la linealidad de las isotermas revela que son de tipo L de la clasificación de Giles. Es decir al aumentar la concentración en el medio de estos fármacos disminuye la adsorción en la biomezcla debido a que los sitios de adsorción llegan a estar saturados.

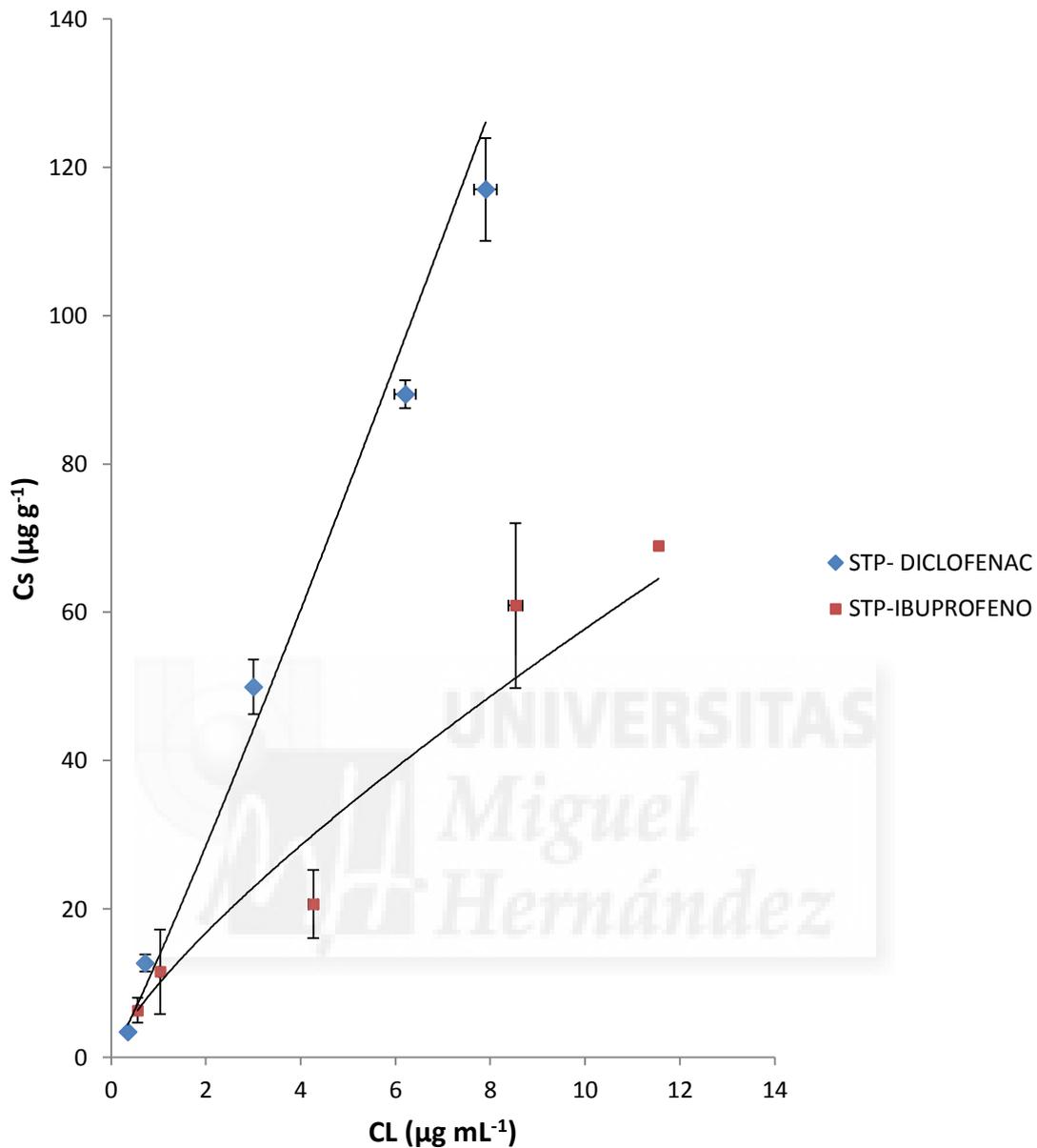




**Figura 10:** Isotermas de adsorción del Diclofenaco e Ibuprofeno en la biomezcla de suelo, alperujo y paja (SAP). Los símbolos representan los datos experimentales y las líneas corresponden al ajuste con el modelo de Freundlich.



**Figura 11:** Isotermas de adsorción del Diclofenaco e Ibuprofeno en la biomezcla de suelo, vermicompost de alperujo y paja (SVP). Los símbolos representan los datos experimentales y las líneas corresponden al ajuste con el modelo de Freundlich.



**Figura 12:** Isotermas de adsorción del Diclofenaco e Ibuprofeno en la biomezcla de suelo, turba y paja (STP). Los símbolos representan los datos experimentales y las líneas corresponden al ajuste con el modelo de Freundlich.

La tabla 6 muestra un resumen de los resultados de las variables más significativas obtenidas en los ensayos de adsorción. Además se presentan los coeficientes de determinación por aplicación de los modelos de regresión lineal y de Freundlich (no lineal).

**Tabla 6:** Coeficiente de adsorción lineal  $K_d$ , de Freundlich  $K_f$ , normalizado con el contenido en carbono orgánico  $K_{oc}$  y coeficientes de determinación para Diclofenaco e ibuprofeno en la biomezcla tradicional de suelo:turba:paja (STP) y en las biomezclas con suelo:alperujo:paja (SAP) y suelo:vermicompost de alperujo:paja (SVP).

Biomezcla-Contaminante	$K_d \pm ES$ , $ml\ g^{-1}$	$R^2$	$K_f \pm ES$ , $\mu g^{1-1/n}\ g^{-1}\ ml^{1/n}$	$1/n \pm ES$	$R^2$	OC $\pm ES$ (%)	$K_{oc}$
SAP- Diclofenaco	$10,78 \pm 0,68^a$	0,95	$13,80 \pm 0,57^a$	$0,92 \pm 0,29$	0,99	$14,57 \pm 0,44$	74,01
SVP- Diclofenaco	$11,63 \pm 0,29^a$	0,99	$14,29 \pm 0,33^a$	$0,92 \pm 0,02$	0,99	$11,77 \pm 0,18$	98,82
STP- Diclofenaco	$14,59 \pm 0,43^b$	0,99	$13,33 \pm 0,90^b$	$1,08 \pm 0,05$	0,98	$14,46 \pm 0,92$	100,89
SAP- Ibuprofeno	$1,24 \pm 0,08^c$	0,96	$5,02 \pm 0,49^c$	$0,48 \pm 0,05$	0,89	$14,57 \pm 0,45$	8,54
SVP- Ibuprofeno	$4,63 \pm 0,87^d$	0,74	$3,79 \pm 0,81^c$	$1,05 \pm 0,17$	0,80	$11,77 \pm 0,18$	39,34
STP- Ibuprofeno	$6,29 \pm 0,59^d$	0,91	$9,44 \pm 1,06^c$	$0,79 \pm 0,07$	0,91	$14,46 \pm 0,92$	43,52

\* Las letras en superíndice indican diferencias significativas entre las constantes

Para el caso de las isotermas lineales, los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) obtenidos varían entre 0,91 y 0,99, excepto para el caso de la adsorción de ibuprofeno en SVP, que presenta un valor de 0,74.

Para el caso de las isotermas no lineales de Freundlich, los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) obtenidos varían entre 0,89 y 0,99, excepto para el caso de la adsorción de ibuprofeno en SVP, que presenta un valor de 0,80. Los valores

del coeficiente de determinación más bajos corresponden a las isothermas de adsorción del ibuprofeno con SAP, SVP y STP. Por otro lado, los valores calculados para el coeficiente  $1/n$  son menores que 1 o próximos a 1, lo que quiere decir que las isothermas son prácticamente lineales al rango de concentraciones ensayado y presentan poca curvatura (Green y Karickhoff, 1990).

Comparativamente, aunque ambos modelos se ajustan bien a las isothermas obtenidas, se observa un mejor ajuste a la isoterma de Freundlich que al modelo lineal, especialmente para el caso del Ibuprofeno.

Cuando se comparan los valores de los coeficientes de distribución obtenidos para los fármacos en las distintas biomezclas, se observa claramente que existe una gran diferencia de comportamiento según el fármaco usado. El Diclofenaco presenta valores de  $K_d$  más altos que el Ibuprofeno. Lo que quiere decir que el ibuprofeno comparativamente tiene menor afinidad por las biomezclas que el Diclofenaco. Este comportamiento puede atribuirse a las diferentes propiedades físico-químicas de cada fármaco. De hecho el Ibuprofeno es 2 veces más soluble en agua que el Diclofenaco (Tabla 3). Asimismo es de esperar que el ibuprofeno con menor tamaño molecular pueda difundir por la matriz de la biomezcla más fácilmente que el Diclofenaco y retenerse en puntos de adsorción más internos.

El contenido en carbono orgánico de la biomezcla es similar en SAP y STP (tabla 6) pero el valor de la  $K_d$  para el Diclofenaco es mayor para STP, no obstante con Freundlich la  $K_f$  es similar. El coeficiente de adsorción normalizado de la  $K_d$  con el contenido en carbono ( $K_{oc}$ ) revela una gran variabilidad en los  $K_{oc}$  de Diclofenaco con las biomezclas y sigue el orden de la  $K_d$ :

$$\text{STP-D} > \text{SV-D} > \text{SAP-D}$$

Lo que indica que el contenido en materia orgánica de la biomezcla no es el principal factor que explicaría la diferente capacidad adsorbente de las biomezclas. De hecho en el vermicompost de *alperujo* que es un material más

estabilizado que el alperujo presenta valores de  $K_d$  y  $K_f$  mayores que para el alperujo fresco. Por lo que es de esperar que la calidad o grado de humificación del material orgánico empleado en las biomezclas también afecte al grado de adsorción de los fármacos.

Para el ibuprofeno el comportamiento de la adsorción con el contenido en C.O. de las biomezclas es similar al descrito para el Diclofenaco.

La tabla 7 muestra los % de adsorción de contaminantes orgánicos obtenidos para cada una de las biomezclas ensayadas. En dicha tabla se puede apreciar lo que ya se ha comentado anteriormente.

**Tabla 7:** Resultados de % de adsorción del contaminante orgánico en la biomezcla.

Biomezcla-Contaminante	%ads $\pm$ DE
SAP-Diclofenaco	21,33 $\pm$ 2,47
SVP-Diclofenaco	24,05 $\pm$ 4,16
STP-Diclofenaco	20,28 $\pm$ 3,96
SAP- Ibuprofeno	5,77 $\pm$ 0,59
SVP- Ibuprofeno	4,49 $\pm$ 1,27
STP- Ibuprofeno	17,54 $\pm$ 4,66

Se realizó adicionalmente una matriz de correlación relacionando el coeficiente de adsorción  $K_d$  con las variables independiente CO% de la biomezcla, pKa y solubilidad de los fármacos. De dicho análisis se observó una correlación de Pearson significativa ( $p < 0.05$ ) de la  $K_d$  para las variables pKa y solubilidad.

## 5. Conclusiones

- El empleo del modelo no-lineal de Freundlich proporcionó mejores resultados en el ajuste de isothermas de adsorción para cada uno de los experimentos. Dado que los valores de  $1/n$  obtenidos son próximos a 1, podemos decir que el modelo lineal se puede considerar también apto para explicar las isothermas de adsorción obtenidas.
- El Diclofenaco se adsorbe en general bastante bien en las biomezclas ensayadas, especialmente en la biomezcla STP seguida de SVP y SAP. El Ibuprofeno presenta menores valores de constantes de distribución ya que la mayor parte del fármaco queda en la fase líquida.
- En cuanto a las biomezclas, se puede concluir que el uso de estos residuos de la agroindustria del olivar resultan de interés de cara al desarrollo de biofiltros para retención de este tipo de fármacos, destacando el uso del vermicompost de alperujo, ya que su biomezcla con el suelo y la paja proporciona unos resultados de adsorción similares a los proporcionados por la biomezcla de turba, recurso natural limitado y escaso en nuestro país.
- El comportamiento de adsorción observado en las biomezclas está influenciado también por las características de los fármacos, especialmente debido a su solubilidad y valores de pKa.

## 6. Agradecimientos

El presente estudio ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad a través del Proyecto I+D (CTM2013-44271-R) cofinanciados con fondos FEDER y perteneciente al Programa Estatal de Investigación, Desarrollo e Innovación Orientada a los Retos de la Sociedad, en el marco del Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación 2013-2016.

## **7. Bibliografía**

AICA (2015). Agencia de Información y Control Alimentarios. Disponible en página WEB: [www.aica.gob.es](http://www.aica.gob.es)

Aira M., Monroy F., Domínguez J. (2007). Earthworms strongly modify microbial biomass and activity triggering enzymatic activities during vermicomposting independently of the application rates of pig slurry. *Science of the Total Environment Journal*, 385: 252-261

Alba J., Hidalgo F., Martínez F., Ruiz M.A., Moyano M.J., (1993). Procesos de elaboración: nuevas técnicas de centrifugación. *Actas VI Simposium Científico-Técnico Expoliva 93, Jaén. Dossier Oleo*, 2: 40-59.

Albuquerque J.A., González J., García D., Cegarra J., (2004). Agrochemical characterisation of “alperujo”, a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Bioresource Technology.*, 91: 195-200

Albuquerque J.A., González J., García D., Cegarra J., (2006). Measuring detoxification and maturity in compost made from “alperujo”, the solid by-product of extracting olive oil by two-phase centrifugation system. *Chemosphere* 64 (3): 470-477

Albuquerque J.A., Bautista-Carrascosa I., Lidon A. (2009). Co-composting an animal fatty-proteinaceous waste with a solid lignocellulosic by-product from the olive oil industry (“Alperujo”). *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 84(6): 918-926.

Baeta-Hall L., Céu Sàágua M., Lourdes Bartolomeu M., Anselmo A., Fernanda Rosa M. (2005). Biodegradation of olive oil husks in composting aerated piles. *Bioresource Technology*, 96:69-78.

Barceló D., Petrovic M., González S., (2003). Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. *Trends in Analytical Chemistry*, 22, 10: 685-696

Bedner M., MacCrehan W.A., (2006): Transformation of acetaminophen by chlorination produces the toxicants 1,4-benzoquinone and N-acetyl-p-benzoquinone imine. *Science of the Total Environment Journal*. 40(2): 516-22.

Benitez E., Sainz H., Melgar R. (2002): Vermicomposting of a lignocellulosic waste from olive oil industry: A pilot scale study. *Waste management & research*, 20(2): 134-142.

Borja R., Rincón B., Raposo F., Sánchez E., Martín A., (2004). Assessment of kinetic parameters for the mesophilic anaerobic biodegradation of two-phase olive pomace. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 53:71-78.

Castillo M.P., Torstensson L., Stenstrom J. (2008). Biobeds for environmental protection from pesticide use, a review. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56: 6206-6219.

Castillo-Diaz, J.M., Romero, E., Nogales, R. (2013). Dynamics of microbial communities related to biochemical parameters during vermicomposting and maturation of agroindustrial lignocellulose wastes. *Bioresource Technology*, 146, 345-354.

Cayuela M.L., Sanchez-Monedero M.A., Roig A. (2006). Evaluation of two different aeration systems for composting two-phase olive mill wastes. *Process biochemistry*, 41 (3): 616-623.

Cayuela M.L., Sanchez-Monedero M.A., Roig A. (2010). Two-phase olive mill waste composting: enhancement of the composting rate and compost quality by grape stalks addition. *Biodegradation*, 21(3): 465-473.

Cegarra J., Albuquerque J.A., González J. (2006). Effects of the forced ventilation on composting of a solid olive-mill by-product (“alperujo”) managed by mechanical turning. *Waste management* 26(12): 1377-1383.

Delgado-Moreno L., Pena A. (2009). Compost and vermicompost of olive cake to bioremediate triazines-contaminated soil. *Science of the environment*, 407(5): 1489-1495.

Delgado-Moreno L., Pena A. (2007). Organic amendments from olive cake as a strategy to modify the degradation of sulfonylurea herbicides in soil. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(15): 6213-6218.

Díaz-Cruz M.S, Barceló, D. (2005) LC-MS2 trace analysis of antimicrobials in water, sediment and soil. *Trends Analytical Chemistry* 24:645–657

Domínguez J., 2004. State of the art and new perspectives on vermicomposting research. En: Edwards, C.A. (Ed). *Earthworm Ecology*, second edition: 401-424.

Edwards C.A. 1988. Breakdown of animal, vegetable and industrial organic wastes by earthworms. *Earthworms in Waste and Environment Management*. Edwards and E.F. Neuhauser (Eds): 21-31.

FAO (2015). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Disponible en la página WEB: <http://www.fao.org/home/es>

Fent K., Weston A.A., Caminada D.,(2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic toxicology* 76(2): 122-159.

Filippi C., Bedini S., Levi-Minzi R., Cadelli R., Saviozzi A. (2002). Co-composting of olive mil by-products: Chemical and microbiological evaluations. *Compost Science & Utilization*, 10(1): 63-71.

Focazio M.J., Kolpin D.W, Furlong E.T., (2004). Occurrence of human pharmaceuticals in water resources of the United States: A Review. *Pharmaceuticals in the Environment*, 91-105.

Garg V.K., Kaushik P. (2005). Vermistabilization of textile mill sludge spiked with poultry droppings by an epigeic earthworm *Eisenia foetida*. *Bioresource Technology*, 96 (9): 1063-1071.

Green R.E. y Karickhoff S.W., (1990). Sorption estimates for modelling. *Pesticides in the soil environment: processes, impacts and modeling*, 79-101.

Giráldez J.V, De Luna E., Venceslá A., (1999). Análisis de la eficacia del alperujo en la protección del suelo contra la erosión. Foro olivar y Medio Ambiente. Actas IX Simposium Científico-Técnico Expoliva 99. Jaén, España.

Hernando M.D., Mezcuca M., Fernandez-Alba A.R., Barceló D., (2006). Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta* 69(2): 334-342.

<http://www.emison.com/biofiltracion.htm>

<http://www.camaramadrid.es/doc/linkext/7-sistemas-tratamiento-olores.pdf>

Karanasios E., Tsiropoulos, N.G. Karpouzas, D.G. (2012). On-farm biopurification systems for the depuration of pesticide wastewaters: Recent biotechnological advances and future perspectives. *Biodegradation* 23(6):787-802.

Kennes C., Thalasso F. (1998). Waste gas biotreatment technology. *Journal of chemical technology and biotechnology* 72(4): 303-319.

Madejón E., Díaz M.J., López R., Cabrera F. (2001). Co-composting of sugarbeet vinasse: influence of the organic matter nature of the bulking agents used. *Bioresource Technology*, 76 (3): 275-278.

Madejón E., Galli E., Tomato U. (1998). Composting of wastes produced by low water consuming olive mill technology. *Agrochimica*, 42 (3-4): 135-146.

Molina Alcaide E., Yáñez Ruiz D.R. (2008). Potential use of olive by-products in ruminant feeding: A review. *Animal Feed Science and Technology* 147:247-264.

Molina-Alcaide E., Moumen A., Martín-García I., Carro M.D. (2009) Comparison of bacterial pellets and microbial markers for the estimation of the microbial nitrogen and amino acids flows from single flow continuous culture fermenters fed diets containing two-stage olive cake. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 93:527-537

Melgar, R., Benítez, E., Nogales R (2009). Bioconversion of wastes from olive oil industries using the epigeic earthworm *Eisenia Andrei*. Journal Environmental Science & Health, Part B., 44, 488-495

Moreno B., Vivas A., Nogales R. (2009). Restoring biochemical activity and bacterial diversity in a trichloroethylene-contaminated soil: the reclamation effect of vermicomposted olive wastes. Environmental Science and Pollution Research, 16(3): 253-264.

Nogales R., Benitez E. (2006). Absorption of zinc and lead to *Dittrichia viscosa* grown in a contaminated soil amended with olive-derived wastes. Bull. Environmental. Contamination and Toxicology, 76: 538-544

Nogales R., Saavedra M., Benitez E. (2008). Recycling of wet olive cake “alperujo” through treatment with fungi and subsequent vermicomposting. Fresenius Environmental Bulletin 17(11A): 1822-1827.

Nogales, R., Romero, E., Fernández-Gómez, M. (2014). Vermicompostaje: procesos, productos y aplicaciones. 172 p. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. ISBN: 978-84-8476-693-3

Pardo Núñez J., López Mondejar C. (2001). Aprovechamiento del alperujo de la industria del aceite de oliva para la producción de hongos comestibles. Actas III Jornadas Técnicas del champiñón y otros hongos comestibles en Castilla-La Mancha. Iniesta (Cuenca), España.

Plaza C., Nogales R, Senesi N., Benitez E., Polo A. (2008). Organic matter humification by vermicomposting of cattle manure alone and mixed with two-phase olive pomace. Bioresource Technology 99: 5085–5089.

Petrovic M., Barceló D., (2007). LC-MS for identifying photodegradation products of pharmaceuticals in the environment. TRENDS IN ANALYTICAL CHEMISTRY, 26, 486.

Quirantes López, M. (2015). Propuestas para la reutilización agrícola de las cenizas generadas en la obtención de energías renovables a partir de biomasa

residual. Tesis Doctoral de la Universidad de Granada. 388 p. Directores: R. Nogales y E. Romero.

Quinn B., Gagné F., Blaise C. (2008). An investigation in to the acute and chronic toxicity of eleven pharmaceuticals (and their solvents) found in wastewater effluent on the cnidarians, *Hydra attenuate*. *Science of the Total Environment*, 389(2-3): 306-314.

Ramos-Cormenzana A., Aguilera M.A, Monteoliva-Sánchez M., (2001). *Paenibacillus jamilae* una solución en la biorremediación de los residuos de la molturación de la aceituna. En: *Improlive 2000. Presente y futuro del alpeorujo*. Editorial Complutense, S.A.

Ranalli A., Martinelli N. (1995). Integral centrifuges for olive oil extraction, at the third millenium threshold. Transformation yields. *Grasas y Aceites*, 46 (4-5): 255-263

Romero, E., Benítez, E., Nogales, R. (2005). Suitability of wastes from olive-oil industry for initial reclamation of a Pb/Zn mine tailing. *Water, Air and Soil Pollution*, 165(1-4), 153-165.

Romero E., Salido A., Cifuentes C., Fernández JD., Nogales R. (2006). Effect of vermicomposting process on pesticide sorption capability using agro-industrial wastes. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 86 (3-4): 289-297.

Romero E., Plaza C., Senesi N., Nogales R., Polo A. (2007). Humic acid-like fractions in raw and vermicomposted winery and distillery wastes. *Geoderma* 139 (3-4): 397-406.

Santos-Buelga M.D., Sanchez-martin M.J., y Sanchez-Camazano M., (1992). Effect of dissolved organic matter on the adsorption of ethofumesate by soil and their componentes. *Chemosphere* 25(5): 727-734

Saviozzi A., Levi-Minzi R., Cardelli R., Biasci A., Riffaldi R., (2001). Suitability of moist olive pomace as soil amendment. *Water, Air and Soil Pollution*, 128(1-2): 13-22

Serramia A., Sanchez-Monedero M.A., Fernandez-Hernandez A. (2010). Contribution of the lignocellulosic fraction of two-phase olive-mill wastes to the degradation and humification of the organic matter during composting. *WASTE MANAGEMENT*, 30(10): 1939-1947.

Tejada M., Ruiz J.L., Dobao M., Benítez C., González J.L., (1997). Evolución de parámetros físicos de un suelo tras la adición de distintos tipos de orujos de aceituna. *Actas de Horticultura*, 18: 514-518.

Ternes T. (2001). Analytical methods for the determination of pharmaceuticals in aqueous environmental samples. *Trends in Analytical Chemistry*, 20 (8), 419-434.

Ternes T., Meisenheimer M., Mcdowell D., Sacher F., Braunch H-J., Haist-Gulde B., Preuss G., Wilme U., Zulei-Seibert N. (2002). Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. *Environmental Science and Technology*, 36 (17): 3855-3863

Vivas A., Moreno B., García-Rodríguez S., Benítez E., 2009. Assessing the impact of composting and vermicomposting on bacterial community size and structure, and microbial functional diversity of an olive-mill waste. *Bioresource Technology*, 100: 1319-1326.

## 8. Anexos

### ANEXO I: Cantidad de agua a añadir a las biomezclas para estabilización, capacidad de campo y punto de marchitez.

- **Capacidad de Campo**

Se denomina Capacidad de Campo a la cantidad de agua humedad que es capaz de retener el suelo una vez saturado o tras haber sido mojado abundantemente y después dejado drenar libremente, evitando pérdida por evapotranspiración hasta que el potencial hídrico del suelo se estabilice (alrededor de 24 a 48 horas luego de la lluvia o riego).

Corresponde aproximadamente al contenido de agua que retiene una muestra de suelo saturada y luego sometida a una tensión de -0,33 bares. Aunque es dependiente del tipo de suelo que tan representativo de la realidad sea este método de laboratorio, por lo que otros autores han propuesto diferentes tensiones para diferentes suelos.

Se obtiene de la siguiente manera:

$$CC(\%) = \frac{W_{SH} - W_{SS}}{W_{SS}} \cdot 100$$

Donde:

CC (%): Contenido gravimétrico de humedad en el suelo expresado en %.

WSH: Peso de la muestra de suelo húmedo sometido a -0.33 bares de tensión.

WSS: Peso de la muestra de suelo secada hasta peso constante a 105 °C.

Los resultados para las mezclas estudiadas fueron los siguientes:

<b>CÁLCULO DE CAPACIDAD DE CAMPO</b>					
<b>0.33 bar</b>					
<b>Id</b>	<b>biomezcla</b>	<b>P(vacio), g</b>	<b>P(humedo),g</b>	<b>P(seco),g</b>	<b>CC (%)</b>
46	S+Al+Pj(1:1:2)	74.1416	80.0411	77.3691	82.79
43	S+Al+Pj(1:1:2)	77.9760	85.2249	82.2097	71.22
47	S+Al+Pj(1:1:2)	77.4940	84.0016	81.5195	61.66
44	S+VAI+Pj(1:1:2)	76.2331	83.5915	80.3331	79.47
48	S+VAI+Pj(1:1:2)	79.6076	88.0514	84.3904	76.55
45	S+VAI+Pj(1:1:2)	74.5396	84.6686	80.4907	70.20

Una capacidad de campo del 27% significa que 100 g de tierra seca retienen 27 g de agua.

De ensayos anteriores ya se conocía la capacidad de campo de la mezcla S:T:Pj. A continuación se muestran las capacidades de campo medias para cada una de las biomezclas:

CC  $_{S:T:Pj}$  = 67.40 %

CC  $_{S:A:Pj}$  = 71.89 %

CC  $_{S:VA:Pj}$  = 75.04 %

- **Punto de Marchitez Permanente**

Buena parte del agua retenida en la Capacidad de Campo puede ser utilizada por las plantas, pero a medida que el agua disminuye se llega a un punto en que la planta no puede absorberla, es el punto de humedad mínima en la cual una planta no puede seguir extrayendo agua del suelo y no puede recuperarse de la pérdida hídrica aunque la humedad ambiental sea saturada. En este estado se dice que el suelo está en el punto de marchitez permanente.

Este punto se estima como el contenido de agua retenida en el suelo tras ser sometido a una tensión de -15 bares.

Se obtiene de la siguiente manera:

$$PM(\%) = \frac{W_{SH} - W_{SS}}{W_{SS}} \cdot 100$$

Donde:

PM (%): Punto de marchitez permanente expresado en %.

WSH: Peso de la muestra de suelo húmedo sometido a -15 bares de tensión.

WSS: Peso de la muestra de suelo secada hasta peso constante a 105 °C.

Los resultados para las mezclas estudiadas fueron los siguientes:

<b>CÁLCULO DE PUNTO DE MARCHITEZ PERMANENTE</b>					
<b>15 bar</b>					
<b>Id</b>	<b>biomezcla</b>	<b>P(vacio), g</b>	<b>P(humedo), g</b>	<b>P(seco), g</b>	<b>PM (%)</b>
6	S+Al+Pj(1:1:2)	53.5538	63.7745	60.9850	37.54
5	S+Al+Pj(1:1:2)	59.5090	67.3114	65.1761	37.68
4	S+Al+Pj(1:1:2)	59.5657	67.3096	64.9016	45.13
3	S+VAI+Pj(1:1:2)	53.0604	62.6474	59.6948	44.50
2	S+VAI+Pj(1:1:2)	56.8423	64.9664	62.4174	45.72
1	S+VAI+Pj(1:1:2)	54.5742	63.0304	60.1146	52.63

Una marchitez del 12% significa que, cuando se alcanza la marchitez de la planta, el suelo tiene 12 g de agua por 100 g de tierra seca. El agua útil (disponible) por la planta sería, pues, 12 g de agua por 100 g de tierra seca.

De ensayos anteriores ya se conocía el punto de marchitez permanentes de la mezcla S:T:Pj. A continuación se muestran los puntos de marchitez medios obtenidos para cada una de las biomezclas:

$$PM_{S:T:Pj} = 42.44 \%$$

$$PM_{S:A:Pj} = 40.11 \%$$

$$PM_{S:VA:Pj} = 47.62 \%$$

- **Preparación de las biomezclas.**

Se preparan tres biomezclas para la realización de los ensayos posteriores de adsorción-desorción. Todas estarán preparadas con una relación volumen de 1:1:2, donde el doble corresponde al material estructurante empleado o paja. Para la preparación de las mezclas se ha tomado como referencia de volumen un cubo de plástico llenado hasta una marca.

Todos los materiales están secos y tamizados por 4 mm excepto el alperujo que tiene cierta humedad.

Los pesos de las biomezclas en seco se muestran en las siguientes tablas:

<b>BIOMEZCLA STP</b>	
Suelo de la parra	4214.98 g
Turba	2850.80 g
Paja de cebada	1286.38 g

<b>BIOMEZCLA SAP</b>	
Suelo de la parra	4214.98 g
Alperujo húmedo	4107.82 g
Paja de cebada	1286.38 g

<b>BIOMEZCLA SVP</b>	
Suelo de la parra	4214.98 g
Vermicompost de alperujo	1978.91 g
Paja de cebada	1286.38 g

- **Cálculo de la cantidad de agua a añadir en las biomezclas**

Se estima una cantidad de agua a añadir del 85% de la capacidad de campo calculada anteriormente para cada una de las biomezclas antes de poner a estabilizar en el invernadero. La estabilización durará 1 mes.

Hay que tener en cuenta que el alperujo tiene humedad, por lo que se preparará la biomezcla teniendo en cuenta esto, y además, posteriormente se le restará a la cantidad de agua que ya contiene la biomezcla (calculada tras 24h a 105°C) al peso total de la biomezcla para así obtener el peso seco total.

En la siguiente tabla se muestra a modo resumen los resultados obtenidos:

<b>Biomezcla</b>	<b>Peso seco, Kg</b>	<b>CC</b>	<b>CC*0.85</b>	<b>Vol. Agua, L</b>
<b>STP</b>	8.352	79.29	67.40	5.63
<b>SAP</b>	8.436	71.89	57.51	2.99
<b>SVP</b>	7.480	75.04	60.33	4.79

Durante el mes de estabilización se irá regando periódicamente para mantener en las biomezclas el mismo contenido aproximado de agua y así poder corregir las pérdidas provocadas por la evaporación.

**ANEXO II: Ensayos de adsorción.**

A continuación se recogen los resultados analíticos obtenidos en el cromatógrafo (HPLC) tras los ensayos de adsorción. Los resultados correspondientes a cada pareja de biomezcla-contaminante muestran las concentraciones del contaminante orgánico en la fase acuosa (water) y en la biomezcla (biomixture) para un volumen de inyección determinado.

<b>SAPJ-DICLOFENAC</b>					
Repetición	Conc. Inicial ppm	Water		Biomixture	
		Conc.(ng/μl)	Vol. Inj, μl	Conc.(ng/μl)	Vol. Inj, μl
1	0.5	0.4276	10	0.2542	10
2	0.5	0.4192	10	0.3092	10
3	0.5	0.4153	10	0.2771	10
1	1	0.6238	10	0.3852	10
2	1	0.7223	10	0.4608	10
3	1	0.7625	10	0.4341	10
1	4	3.3520	10	2.0053	10
2	4	3.3677	10	2.0479	10
3	4	3.3712	10	2.7284	10
1	8	6.8210	10	3.8186	10
2	8	6.8938	10	3.3737	10
3	8	6.9557	10	3.7968	10
1	10	8.2675	10	3.4368	10
2	10	8.0183	10	4.0071	10
3	10	8.2542	10	4.4823	10

SAPJ-IBUPROFENO					
Repetición	Conc. Inicial ppm	Water		Biomixture	
		Conc.(ng/μl)	Vol. Inj, μl	Conc.(ng/μl)	Vol. Inj, μl
1	0.5			No signal	10
2	0.5	0.6050	10	No signal	10
3	0.5	0.6179	10	No signal	10
1	1	0.8722	10	0.2704	10
2	1	1.0809	10	0.2969	10
3	1	1.2401	10	0.3454	10
1	4	4.7845	10	0.3906	10
2	4	4.6004	10	0.4721	10
3	4	4.8232	10	0.4991	10
1	8	10.0443	10	0.8420	10
2	8	9.7023	10	0.7740	10
3	8	9.8602	10	0.9350	10
1	10	11.3266	10	0.9648	10
2	10	11.5206	10	0.9896	10
3	10	10.7222	10	0.9628	10

SVPJ-DICLOFENAC					
Repetición	Conc. Inicial ppm	Water		Biomixture	
		Conc.(ng/μl)	Vol. Inj, μl	Conc.(ng/μl)	Vol. Inj, μl
1	0.5	0.6888	10	0.4855	10
2	0.5	0.8238	10	0.5900	10
3	0.5	0.3774	10	0.2345	10
1	1	0.7317	10	0.4786	10
2	1	0.7464	10	0.5093	10
3	1	0.7039	10	0.4338	10
1	4	3.1454	10	1.9471	10
2	4	3.2233	10	2.1685	10
3	4	3.2768	10	1.9378	10
1	8	6.3259	10	3.5304	10
2	8	6.5881	10	3.6368	10
3	8	6.5395	10	3.6429	10
1	10	7.7690	10	3.8825	10
2	10	7.8137	10	4.3698	10
3	10	7.9305	10	4.3160	10

SVPJ-IBUPROFENO					
Repetición	Conc. Inicial ppm	Water		Biomixture	
		Conc.(ng/μl)	Vol. Inj, μl	Conc.(ng/μl)	Vol. Inj, μl
1	0.5	No signal	10	No signal	10
2	0.5	0.5686	10	No signal	10
3	0.5	0.6119	10	No signal	10
1	1	0.6508	10	0.1133	10
2	1	0.6409	10	0.0629	10
3	1	0.5691	10	0.0776	10
1	4	2.4964	10	0.3829	10
2	4	2.6042	10	0.5346	10
3	4	0.4780	10	0.3688	10
1	8	5.1765	10	1.9259	10
2	8	4.9460	10	1.8662	10
3	8	4.9411	10	0.8196	10
1	10	5.4329	10	1.1283	10
2	10	5.4640	10	1.3594	10
3	10	5.4940	10	1.0591	10

STPJ-DICLOFENAC					
Repetición	Conc. Inicial ppm	Water		Biomixture	
		Conc.(ng/μl)	Vol. Inj, μl	Conc.(ng/μl)	Vol. Inj, μl
1	0.5	0.3605	10	0.2877	10
2	0.5	0.3561	10	0.3279	10
3	0.5	0.3596	10	0.3392	10
1	1	0.7218	10	0.5532	10
2	1	0.7032	10	0.5696	10
3	1	0.7372	10	0.6533	10
1	4	3.0045	10	2.2113	10
2	4	2.9733	10	2.4529	10
3	4	3.0388	10		
1	8	5.9471	10	4.1395	10
2	8	6.2965	10	4.2756	10
3	8	6.3744	10	4.1081	10
1	10	7.7080	10	5.3060	10
2	10	8.1672	10	5.2511	10
3	10	7.8243	10	5.8373	10

<b>STPJ-IBUPROFENO</b>					
Repetición	Conc. Inicial ppm	Water		Biomixture	
		Conc.(ng/μl)	Vol. Inj, μl	Conc.(ng/μl)	Vol. Inj, μl
1	0.5	0.5727	10	1.1214	10
2	0.5	0.5761	10	1.2581	10
3	0.5	0.5421	10	1.8349	10
1	1	1.0288	10	1.5044	10
2	1	1.0255	10	2.9986	10
3	1	1.0583	10	1.2426	10
1	4	4.3726	10	2.8736	10
2	4	4.2278	10	2.0326	10
3	4	4.1970	10	1.9595	10
1	8	8.3720	10	3.2285	10
2	8	8.5703	10	4.0540	10
3	8	8.6617	10	2.8466	10
1	10	11.2947	10	3.8222	10
2	10	11.8074	10	10.7273	10

