



UNSAM

UNIVERSIDAD
NACIONAL DE
SAN MARTÍN

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN E INGENIERÍA AMBIENTAL

**TRATAMIENTO DE EFLUENTES AGROINDUSTRIALES A TRAVÉS DE TÉCNICAS
COMBINADAS DE ADSORCIÓN, BIOLÓGICAS Y PROCESOS AVANZADOS DE
OXIDACIÓN**

Trabajo de Tesis para optar por el título de
Doctor en Ciencia y Tecnología Mención Química

Por: Elsa G. López Loveira

Director de Tesis: Dr. Roberto J. Candal

Co-director: Dr. Gustavo A. Curutchet

Lugar de Trabajo: Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental – Universidad Nacional
de San Martín (3IA-UNSAM)

- 2017 -

Resumen

La aplicación de plaguicidas comerciales poscosecha en las industrias empacadoras fruti hortícolas genera efluentes que contienen restos de principios activos y coadyuvantes. El manejo inadecuado de estos efluentes puede provocar la contaminación de los cuerpos de agua en donde son descargados. En esta tesis se utilizó como modelo el fungicida poscosecha Xedrel 50® que contiene Imazalil (IMZ) como principio activo. El IMZ es muy tóxico para los organismos acuáticos y un probable cancerígeno para humanos.

Se emplearon diferentes técnicas en forma independiente y acoplada para el tratamiento de un efluente simulado de origen agroindustrial. Las técnicas que se usaron son procesos foto Fenton, tratamientos biológicos con microorganismos adaptados y técnicas de adsorción con arcillas modificadas.

A partir de un lodo proveniente de un decantador de una empacadora de frutas se obtuvo una comunidad de microorganismos resistentes a altas concentraciones de IMZ. Esta es capaz de degradar parcialmente el IMZ cuando el fungicida se encuentra en altas concentraciones pero no lo utiliza como única fuente de carbono y es necesario el agregado de una fuente extra para su desarrollo y mantenimiento. Debido a que la degradación biológica del IMZ no fue total, se realizó un pre tratamiento mediante procesos foto Fenton. Este tratamiento elimina por completo el IMZ a tiempos cortos y se obtienen distintos grados de oxidación y mineralización de acuerdo a la cantidad de H_2O_2 utilizada. Se generó una nueva comunidad de microorganismos a partir de la comunidad anterior que es capaz de utilizar los productos formados en el tratamiento foto Fenton como fuente de carbono, así se acoplaron los tratamientos y se disminuyó considerablemente la DQO y el COT del efluente.

Este tratamiento acoplado se escaló 400x y 1000x exitosamente utilizando un colector parabólico solar y un reactor biológico de 100 litros. Se estudió la degradación del IMZ en varios escenarios climáticos (verano, invierno, días soleados y nublados) y en todos los casos se observó la degradación del IMZ, siendo la fracción degradada función de la energía recibida. Se identificaron los ácidos oxálico, fórmico y málico como productos del tratamiento Fenton solar. Estos ácidos orgánicos son luego biodegradados por la biomasa en el tratamiento acoplado. El tratamiento Fenton solar y más aún, el tratamiento acoplado Fenton solar-biológico disminuyen apreciablemente la toxicidad del efluente determinada a través de bioensayos de toxicidad con semillas de *Lactuca Sativa*.

A su vez, se realizaron ensayos de adsorción con arcillas (MMT) y organoarcillas (OMMT) para adsorber el IMZ. La adsorción resultó más eficiente con la MMT, sin embargo con la OMMT se logró desorber y concentrar el IMZ adsorbido que luego fue tratado por procesos foto Fenton. Las OMMT se reutilizaron 3 veces en procesos de adsorción-desorción prácticamente sin perder eficiencia.

Los tratamientos acoplados tienen un gran potencial para el tratamiento de efluentes con compuestos recalcitrantes. El tratamiento foto Fenton se podría utilizar como pre tratamiento de una solución con plaguicida y luego acoplar este sistema a un tratamiento biológico para completar la degradación total del efluente. Por otro lado, la combinación de adsorción con procesos avanzados de oxidación puede resultar en una eficiente y económica alternativa de remover, concentrar y degradar contaminantes en agua, permitiendo además la reutilización del adsorbente evitando la disposición final del sólido. El uso de estas técnicas en forma acoplada brinda versatilidad y permitiría tratar un efluente en forma integral a un menor costo.

Abstract

The application of post-harvest commercial pesticides in the fruit and vegetable packaging process produce effluents containing active ingredients and coadjutants. Effluents mismanagement may pollute the water bodies where they are discharged; the appropriate treatment of waste waters is mandatory to avoid ecological damage and negative effects on human beings. In this work three methodologies: adsorption, advanced oxidation and biotreatment are proposed for the decontamination of aqueous effluents containing pesticides. These methodologies were tested by separate or combine with each other. Aqueous solutions containing the post harvest pesticide Xedrel 50® was used as a simulated effluent. Its active ingredient is Imazalil (IMZ), a fungicide, which proves to be toxic for aquatic life and is classified as likely to be carcinogenic in humans.

A consortium resistant to high concentrations of IMZ was isolated from sludge. This consortium showed capacity to partially degrade IMZ only in presence of a rich carbon and energy source. Since IMZ biodegradation was not complete, an oxidative pre treatment by photo Fenton process was applied on the simulated effluent. This process completely degraded IMZ in a short time and according to the concentration and dosage of H₂O₂, different oxidation and mineralization percentages were obtained. The original consortium was adapted to resist and degrade the organic products present in photo Fenton-oxidized IMZ water solution. Thus, a biotreatment using this consortium was coupled after the oxidative treatment. In this way, TOC and COD were decreased at levels appropriate for discharge in sewer or rivers, depending on treatment time and H₂O₂ concentration.

The coupled treatment was scaled-up 400x and 1000x successfully by using *compound parabolic concentrator* and a 100-liter biological reactor. IMZ degradation was studied in different climate sceneries (summer, winter, cloudy and sunny days); in all cases IMZ degradation was observed, which was function of the received energy. As a result of solar Fenton treatment, oxalic, formic and malic acids were identified, which were later degraded by the biomass. After solar Fenton and, even more, coupled treatments, effluents toxicity when assayed on *Lactuca Sativa* seeds significantly decreased.

Moreover, adsorption assays were made with clays (MMT) and organo clays (OMMT) to adsorb IMZ. MMT adsorption proved more efficient. However, IMZ adsorbed on OMMT was desorbed and concentrated on a small amount of water, which was later

treated by photo Fenton processes. The OMMT was reused up to 3 times in adsorption-desorption processes without losing their efficiency.

Coupled treatments show advantages for the degradation of recalcitrant organic compounds. Photo Fenton could be used to degrade the pesticides on a first stage and then be coupled with a biological treatment for total degradation. Besides, the combination of adsorption followed by oxidation treatments could become a cheap and efficient alternative to remove, concentrate and degrade pollutants in water, while the reusing of the adsorbent may avoid the waste disposal. The coupled use of these techniques provides versatility and the chance for a comprehensive effluents treatment at a lower cost.

Agradecimientos

A mi querida UNSAM, la ECyT y al 3iA por brindarme un lugar de excelencia para formarme personal y académicamente.

A Agencia de CyT por otorgarme una beca doctoral dentro del proyecto FONARSEC FS-Nano 008-2010 junto con todos los miembros del consorcio ARPAT (Alloys, Castiglione Hnos., CETMIC) que formaron parte del proyecto y a CONICET por otorgarme la beca tipo II para finalizar mi trabajo.

A mis directores Roberto Candal y Gustavo Curutchet por permitirme trabajar con ellos, enseñarme y llevarme por el apasionante camino de la investigación.

A todos los que colaboraron con este trabajo:

Martina Gamba y Rosa Torres Sanchez del CETMIC por colaborar en la caracterización de las arcillas,

Mariela Espinosa y Paola Babay de CNEA por colaborar en la caracterización de intermediarios de oxidación,

Sara Medina y Daniela Centron del IMPAM por colaborar en la identificación de microorganismos.

A mis compañeros de los labos Mar, Nati, Sofi, Vero, Lucas, Meli, Pana, Gise, Fede, Sara Agus, Fernanda, Elías, Ana, Victoria, Nacho, Patricio, Diego, Patricia, Estefania, Pamela, Martina, Flor, Cesar, Manu, Mariela, Alejandro y Margarita por su compañía, complicidad y apoyo.

A mis amigas, mi familia y Estebis por su amor, confianza e incondicionalidad.

Muchas gracias a todos!!!!

“Sin Ciencia No Hay Futuro”

Indice

Capítulo 1: Introducción general

1.1 Plaguicidas	1
1.1.2 Uso de plaguicidas en Argentina	2
1.1.3 Plaguicidas poscosecha	3
1.1.4 Envases vacíos de plaguicidas	5
1.2 Marco Normativo de Argentina	6
1.3. Problemática	8
1.3.1 Problemática ambiental	8
1.3.2 Problemática de los plaguicidas poscosecha	9
1.3.3 Problemática de los envases de plaguicidas vacíos	10
1.4 Tratamiento de efluentes	11
1.4.1 Tratamientos convencionales	11
1.4.2 Tratamientos no convencionales	11
1.4.3 Tratamientos elegidos	14
1.5 Imazalil	15
1.5.1 Información	15
1.5.2 Riesgos Toxicológicos	16
1.5.3 Modo de acción	17
1.6 Hipótesis de trabajo	17
1.7 Objetivos generales	17

Capítulo 2: Materiales y Técnicas Analíticas

2.1 Reactivos	18
2.1.1 Imazalil	18
2.1.2 Xedrel 50®	18
2.1.3 Reactivos utilizados en el tratamiento biológico	18
2.1.3.1 Solución salina	18
2.1.3.2 Medio de cultivo rico	19
2.1.3.3 Medio de cultivo rico sólido	19
2.1.4 Reactivos utilizados en el tratamiento Fenton	19
2.1.5 Materiales y reactivos utilizados en el tratamiento con arcillas	19
2.1.5.1 Arcillas	19
2.1.5.2 Organo arcillas	20
2.2 Técnicas analíticas	20
2.2.1 HPLC para la determinación de IMZ, pirimetanil (PIRM) y tiabendazol (TBZ)	20
2.2.2 HPLC para la determinación de productos finales de oxidación del IMZ en el Xedrel 50®	20
2.2.3 HPLC-MS para la identificación de intermediarios de oxidación del IMZ puro	21
2.2.4 HPLC para la determinación de aniones	21
2.2.5 Carbono orgánico total (COT)	21
2.2.6 Demanda química de oxígeno (DQO)	22
2.2.7 Determinación de H ₂ O ₂	22
2.2.8 Determinación de Fe	22
2.2.9 Cuantificación de ácidos orgánicos	22
2.2.10 Determinación de biomasa	22
2.2.10 Determinación de sólidos totales y volátiles	23
2.2.11 Determinación de sólidos sedimentables	23
2.2.12 pH	23
2.2.13 Temperatura	23

2.2.14 Radiación solar	24
2.2.15 Difracción de rayos X	24
2.2.16 Caracterización por adsorción de vapor de N ₂	24
2.2.17 Movilidad electroforética	25
2.2.18 Dispersión de rayos X de bajo y medio ángulo	25
2.2.19 Actividad lacasa	25
<u>Capítulo 3: Tratamiento Biológico</u>	
3.1 Introducción	26
3.1.1 Tratamientos biológicos	26
3.1.2 Objetivos	29
3.2 Desarrollo experimental	29
3.2.1 Aislamiento de la comunidad resistente a IMZ	29
3.2.2 Aislamiento de cepas e identificación	30
3.2.3 Isotherma de adsorción con biomasa	30
3.2.4 Ensayos de biodegradación	31
3.2.4.1 Células en suspensión	31
3.2.4.2 Células inmovilizadas	33
3.3 Resultados y discusión	35
3.3.1 Aislamiento e identificación	35
3.3.2 Ensayos de adsorción y biodegradación	37
3.3.2.1 Isotherma de adsorción	37
3.3.2.2 Comunidad con células en suspensión	38
3.3.2.3 Comunidad con células inmovilizadas	44
3.4 Conclusiones	46
<u>Capítulo 4: Tratamiento foto Fenton</u>	
4.1 Introducción	47
4.1.1 Tratamientos foto Fenton	47
4.1.2 Objetivos	52
4.2 Desarrollo experimental	52
4.2.1 Tratamiento foto Fenton de soluciones de Xedrel 50®	52
4.2.2 Tratamiento foto Fenton de una solución de Imazalil puro	55
4.3 Resultados y discusión	55
4.3.1 Tratamiento foto Fenton de soluciones de Xedrel 50®	55
4.3.2 Tratamiento foto Fenton de una solución de Imazalil puro	59
4.4 Conclusiones	65
<u>Capítulo 5: Tratamientos Acoplados foto Fenton – biológico</u>	
5.1 Introducción	66
5.1.1 Tratamientos combinados: foto Fenton-biológico	66
5.1.2 Objetivos	67
5.2 Desarrollo experimental	68
5.2.1 Aislamiento de la comunidad resistente a los intermediarios de oxidación	68
5.2.2 Aislamiento de cepas e identificación	68
5.2.3 Tratamientos acoplados foto Fenton-biológicos	68
5.3 Resultados y discusión	69
5.3.1 Aislamiento e identificación	69
5.3.2 Tratamientos acoplados foto Fenton-biológicos	70
5.4 Conclusiones	76

<u>Capítulo 6: Tratamiento con Arcillas y Organoarcillas</u>	
6.1 <i>Introducción</i>	78
6.1.1 <i>Arcillas</i>	78
6.1.2 <i>Objetivos</i>	81
6.2 <i>Desarrollo experimental</i>	81
6.2.1 <i>Síntesis de una organoarcilla (OMMT)</i>	81
6.2.2 <i>Isoterma de adsorción con arcillas y organoarcillas y adsorción a diferentes pH</i>	82
6.2.3 <i>Desorción a diferentes pH</i>	82
6.2.4 <i>Desorción y concentración</i>	82
6.2.5 <i>Reutilización de la OMMT</i>	83
6.2.6 <i>Tratamiento acoplado adsorción – foto Fenton</i>	83
6.3 <i>Resultados y discusión</i>	84
6.3.1 <i>Caracterización de las arcillas montmorillonita y organomontmorillonita</i>	84
6.3.1.1 <i>Difracción de rayos X</i>	84
6.3.1.2 <i>Dispersión de rayos X de ángulos bajos y altos (SAXS-WAXS)</i>	86
6.3.1.3 <i>Movilidad electroforética</i>	87
6.3.1.4 <i>Caracterización por adsorción de vapor de nitrógeno</i>	88
6.3.2 <i>Isotermas de adsorción y adsorción a distintos pH</i>	89
6.3.3 <i>Desorción a diferentes pH</i>	93
6.3.4 <i>Desorción-concentración</i>	96
6.3.5 <i>Reutilización de la OMMT</i>	97
6.3.6 <i>Tratamiento acoplado adsorción – foto Fenton</i>	98
6.4 <i>Conclusiones</i>	101
<u>Capítulo 7: Escala Piloto Fenton Solar – Biológico</u>	
7.1 <i>Introducción</i>	102
7.1.2 <i>Objetivos</i>	104
7.2 <i>Desarrollo experimental</i>	105
7.2.1 <i>Características de la planta piloto</i>	105
7.2.1.1 <i>Reactor solar</i>	105
7.2.1.2 <i>Reactor biológico</i>	105
7.2.2 <i>Tratamiento secuencial foto Fenton biológico en escala piloto con reactor solar</i>	106
7.2.3 <i>Bioensayos de toxicidad con semillas de Lactuca Sativa L.</i>	108
7.2.4 <i>Identificación de productos de oxidación del tratamiento Fenton solar</i>	108
7.3 <i>Resultados y discusión</i>	109
7.3.1 <i>Fenton Solar</i>	109
7.3.2 <i>Tratamiento Biológico</i>	119
7.3.3 <i>Bioensayos de toxicidad</i>	122
7.3.4 <i>Identificación de productos de oxidación del tratamiento Fenton solar</i>	124
7.4 <i>Conclusiones</i>	129
<u>Capítulo 8: Aplicación en un efluente fruti horticola</u>	
8.1 <i>Introducción</i>	131
8.1.2 <i>Objetivos</i>	136
8.2 <i>Materiales y métodos</i>	137
8.2.1 <i>Toma de muestra y efluentes recibidos</i>	137
8.2.2 <i>Caracterización del efluente</i>	137
8.2.3 <i>Efluente de trabajo y tratamientos</i>	137
8.2.3.1 <i>Efluente</i>	137
8.2.3.2 <i>Tratamiento biológico</i>	138
8.2.3.3 <i>Tratamiento foto Fenton</i>	138

8.2.3.4 Tratamiento acoplado	138
8.2.3.5 Tratamiento con arcillas	139
8.3 Resultados y discusión	139
8.3.1 Caracterización de las muestras	139
8.3.2 Tratamientos	143
8.3.2.1 Tratamiento biológico	143
8.3.2.2 Tratamiento foto Fenton	144
8.3.2.3 Tratamiento acoplado foto Fenton-biológico	145
8.3.2.4 Tratamiento con arcillas	146
8.4 Conclusiones	147
<u>Capítulo 9: Conclusiones y comentarios finales</u>	
9.1 Conclusiones y comentarios finales	148
Anexo I: Colectores Parabólicos Compuestos	151
Anexo II: Datos de los ensayos de Fenton solar en los reactores CPC	152
Bibliografía	159
Publicaciones derivadas de la tesis	169

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1 Plaguicidas

Se denomina plaguicida a “cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar plagas incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de animales, especies no deseadas de plantas o animales que causen perjuicios o que interfieran de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas no elaborados, madera o que puedan administrarse a animales para combatir insectos, arácnidos u otras pestes en o sobre sus cuerpos” (FAO, 1986). Existen distintos tipos de plaguicidas según la plaga que combaten, entre ellos, herbicidas, fungicidas, bactericidas, insecticidas, nematocidas, rodenticidas, acaricidas, etc.

La clasificación histórica los divide en plaguicidas de primera, segunda, tercera y cuarta generación. Entre los de primera generación que se utilizaron hasta 1940, se encuentran plaguicidas inorgánicos, orgánicos simples, botánicos (de origen vegetal) y fumigantes (aplicación en forma de gas). Entre los más usados se encontraban el bromuro de metilo, sulfuro de carbono, ácido cianhídrico y el óxido de etileno. Estas sustancias son muy tóxicas para todos los seres vivos, fueron descubiertas empíricamente y la mayoría ya no se usa debido a su limitada selectividad. En los de segunda generación, entre 1940 y 1970, están los plaguicidas sintéticos y neurotóxicos organoclorados, organofosforados, carbamatos, y piretroides (Casida, 1980). La mayoría de estos fueron prohibidos debido a su gran persistencia en el ambiente y por sus efectos sobre organismos no plaga. Los de tercera y cuarta generación son los plaguicidas más modernos (1970-1980) entre los que se encuentran los reguladores de crecimiento (tercera generación) y los modificadores del comportamiento de insectos (antialimentarios, repelentes, atractantes y feromonas), aceites esenciales, y toxinas microbianas.

Desde la década del 90' se busca que los plaguicidas sean más efectivos, seguros, eficaces y que tengan bajo impacto ambiental, lo que incluye que sean biodegradables (no persistentes), que tengan valores de vida media bajos tanto en agua, como suelo y aire, y baja toxicidad en especies “no blanco”.

1.1.2 Uso de plaguicidas en Argentina

La producción agropecuaria representa aproximadamente el 32% del PBI argentino, el 60% de las exportaciones, y el 90% de los alimentos que se consumen en el país (Pórfido, 2013). La Argentina se ubica en el décimo lugar de países con más superficie cultivable, según el Banco Mundial con datos de la FAO con 31 millones de hectáreas cultivadas.

La demanda de alimentos crece en el mundo y las exportaciones de Argentina son principalmente del tipo agrícola. Con el fin de elevar la producción, se emplean nuevas tecnologías, fundamentalmente el uso masivo de la siembra directa, acompañada por la aparición de nuevas maquinarias, sistemas de riego, fertilizantes, biotecnología y el uso de plaguicidas. La Argentina se caracteriza por tener un importante consumo anual de plaguicidas, muchos de los cuales son de origen nacional por síntesis o formulación y otros son importados. En los últimos años el mercado de fitosanitarios aumentó considerablemente (Figura 1.1), pasando de 500 millones de dólares a casi 2500 millones de dólares.

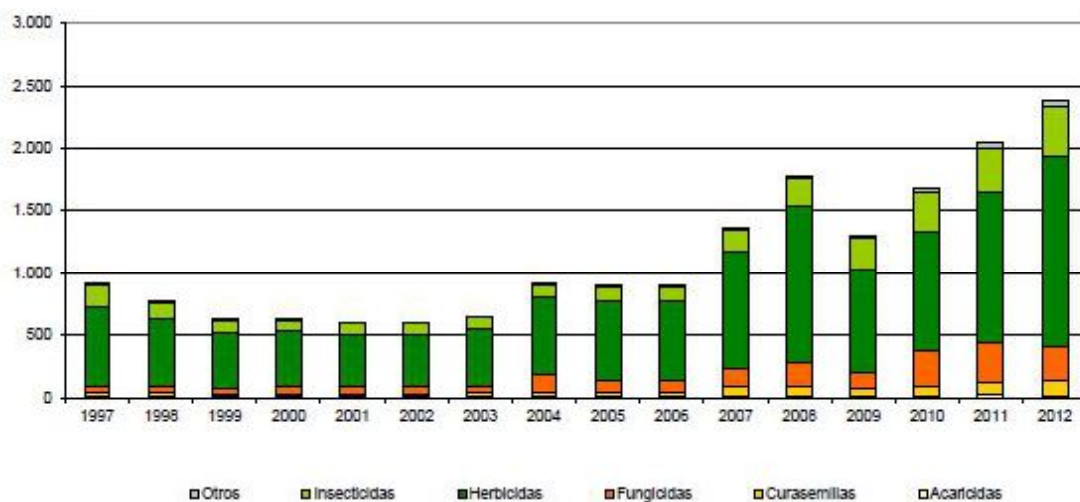


Figura 1.1 Evolución del mercado fitosanitario argentino (en millones de dólares) (Kleffmann Group Argentina, 2012).

1.1.3 Plaguicidas poscosecha

Algunos productos son cultivados todo el año, mientras que otros se tienen a disposición durante períodos breves del año, por lo que el almacenamiento de productos frescos una vez pasada la época de cosecha, es esencial para abastecer a la población. Por lo tanto, es necesario recurrir a alguna forma de almacenamiento, y los requisitos de este difieren según los cultivos. Para los productos duraderos, tales como los granos y cereales, los requisitos son relativamente sencillos, mientras que para los productos perecederos, como las frutas y hortalizas, los requisitos son más complejos, requieren cuidados especiales, estructuras especializadas y conllevan a costos más elevados, por otro lado los productos semiduraderos como las raíces y tubérculos requieren cuidados intermedios.

En la Argentina, las pérdidas ocasionadas poscosecha pueden llegar a afectar hasta el 25% de la producción; donde el mayor factor son las enfermedades ocasionadas por diversos hongos (www.casafe.org). Los agentes que causan el deterioro de los cultivos cosechados (insectos, ácaros, roedores, pájaros, hongos y bacterias con excepción de unas cuantas especies anaeróbicas) requieren humedad, oxígeno y una temperatura regular para poder multiplicarse y deteriorar en consecuencia el producto. Los agentes de deterioro se controlan manteniendo uno o más de estos factores a niveles que impidan o retarden su crecimiento o con medidas como la aplicación de fitosanitarios (*Abadía y Bartosik, 2013*).

Los tratamientos poscosecha que existen son (*FAO, 1985 y 1989*):

Reducción del contenido de humedad. El índice de actividad metabólica disminuye notablemente en la mayoría de los cereales si el contenido de humedad del grano se reduce al 14 %, y cesa prácticamente con una humedad inferior al 8 %. El secado es, por lo tanto, un tratamiento normal de los cereales y granos húmedos antes del almacenamiento.

Reducción del oxígeno. El grano a granel puede almacenarse en contenedores de cierre hermético para eliminar el O₂. En los sistemas de almacenamiento con ambiente controlado, se utiliza a menudo N₂ o CO₂ para sustituir el aire inicial presente, cuando se llena el contenedor.

Control de la temperatura. Se utilizan técnicas de refrigeración para mantener bajas las temperaturas y controlar el deterioro y conservar la integridad de los productos almacenados.

Vapor caliente. A veces se usa vapor caliente para desinfectar frutos de cítricos, mangos y papayas. El vapor de agua saturado a alta temperatura se hace circular alrededor del producto hasta que éste alcanza la misma temperatura que el vapor y se mantiene por 6 horas.

Curado. El curado de tubérculos y raíces se logra usualmente manteniendo el producto arriba de 18°C por un par de días con humedad relativa alta y después enfriando gradualmente hasta llegar a la temperatura de almacenamiento. Las cebollas cuando no se curan en el campo por secado al sol, pueden tratarse con aire seco a temperaturas más altas que las ambientales.

Irradiación. Hace muchos años se demostró que la irradiación de productos frescos con rayos gama prolonga la vida de almacenamiento, destruye insectos y patógenos y conserva la calidad de cosecha en una amplia variedad de frutas y hortalizas.

Control químico. Se utilizan fitosanitarios para el control de plagas. Para el caso de los cultivos duraderos que son almacenados en silos, las plagas principales son los insectos y los roedores. El fumigante más utilizado en la actualidad para el control de insectos es la fosfina. La fosfina es un gas letal para los insectos, capaz de eliminar todos sus estadios de desarrollo. Esta se obtiene a través de fosfuros metálicos en contacto con la humedad, y se encuentran disponibles en diferentes formulaciones comerciales, todas ellas sólidas. Para combatir roedores se utilizan cebos letales con distintos principios activos. En la fumigación de las uvas es muy común el uso del gas SO₂ en cuartos sellados o cámaras para controlar la pudrición. Los fungicidas poscosecha se aplican con mayor frecuencia en soluciones acuosas, ya sea por inmersión o como pulverizaciones y cascadas. Las soluciones pueden ser aplicadas fácilmente a productos que se mojan con otros fines, como sucede en el lavado y encerado de los cítricos o frutas de pepita como peras y manzanas, en la eliminación del látex de las bananas o en el proceso de pre enfriamiento de algunas hortalizas.

La fruta y los vegetales que llegan a los sitios de almacenamiento deben ser lavados y desinfectados ya que arrastran tierra y partículas que pueden contener inóculos de microorganismos y esporas de hongos. Este procedimiento se realiza sumergiendo la fruta y verdura en bateas con 200 mg/L de hipoclorito y se las deja por 3-4 minutos. De esta forma, se previene el desarrollo de enfermedades.

Entre los plaguicidas poscosecha que se aplican en soluciones acuosas se encuentran (*Barkai-Golan, 2001*):

- Los que corresponden a la "primera generación" de plaguicidas poscosecha que existen desde los años 60': difenil, ortofenilfenato, dicloran y butilamina, todos estos fungicidas. El fenilfenato se utiliza en varios vegetales como cítricos, peras, manzanas, duraznos, tomates, pepinos, zanahorias, batatas y pimientos, el dicloran en frutas con carozo y batatas, y el difenil y la butilamina son usados para prevenir enfermedades en cítricos.

- El Captan es un fungicida de inmersión que se utiliza en una gran variedad de frutas y hortalizas como frutillas, duraznos, papas, cherris, higos y peras. Su modo de acción es inhibir la respiración.
- Los compuestos benzimidazoles (tiabendazol, benomil, carbendazim, metiltiofanato) son fungicidas que fueron introducidos a fines de los años 60' y crearon una nueva dimensión en el control poscosecha ya que actúan inhibiendo la mitosis celular. Son utilizados para cítricos, frutas de carozo, manzanas, banana, papaya y mango. Generalmente se aplican en suspensiones acuosas o emulsiones con cera.
- Iprodione y vinclozolin son fungicidas utilizados para prevenir enfermedades en pepinos, tomates, frutillas, berenjenas, uvas, frutas de carozo y pomelos. Actúan inhibiendo la germinación de esporas y del crecimiento del micelio.
- El Imazalil fue introducido a principio de los años 70', actúa inhibiendo la biosíntesis del ergosterol, un componente esencial de la membrana de hongos. Se utiliza en cítricos, peras, manzanas, tomates, caquis y pimientos.
- Prochloraz y etaconazol actúan de modo similar al imazalil, ya que pertenecen a la misma familia (imidazol).
- La Guazatina es un fungicida de amplio espectro.
- El Fludioxonil es un fungicida que bloquea la proteína quinasa inhibiendo la germinación de esporas y el crecimiento del tubo germinativo y micelio.

1.1.4 Envases vacíos de plaguicidas

Con el aumento del consumo de fitosanitarios se genera una mayor cantidad de envases vacíos que quedan luego de la aplicación. En Argentina se estima que se utilizan 17.000.000 de envases por año que equivalen a 13.000 toneladas de plástico (www.agroindustria.gob.ar). Estos envases de plástico rígido deben ser lavados mediante la técnica de triple lavado o la de lavado a presión (Norma IRAM 12.069) utilizando agua limpia y volviendo a colocar el agua de lavado en el tanque de la pulverizadora para su uso. Esta técnica permite disminuir la concentración de producto que pueda quedar de remanente en el envase, haciendo su gestión más segura para el ambiente. Sin embargo, estos envases siguen conteniendo restos de plaguicidas y se los debe gestionar como residuos peligrosos (www.casafe.org).

1.2 Marco Normativo de Argentina que contempla la problemática relacionada con los productos químicos, en particular los plaguicidas, y su relación con el ambiente

Las normas que regulan la fabricación, importación, exportación, almacenamiento, uso y disposición final de plaguicidas en la Argentina emanan de distintas áreas del gobierno. En la elaboración y aplicación de estas normas están involucrados el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, el Ministerio de Salud y el Ministerio de Trabajo, Empleo y Seguridad Social; el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sustentable, Secretarías de Transporte y de Industria, Comercio y PyME. Desde la misma Constitución de la Nación Argentina, en la reforma de 1994, se tiene en cuenta la problemática relacionada con los productos químicos y su relación con el ambiente. Es así que en su Artículo 41 consagra expresamente la protección del medio ambiente. Este establece, entre otras cosas que todos los habitantes gozan del derecho a un ambiente sano, que las actividades productivas satisfagan las necesidades presentes sin comprometer las de las generaciones futuras y que el daño ambiental generará la obligación de recomponer.

Argentina es un país que ha incorporado varios tratados internacionales a su legislación interna como marco normativo para la protección del medio ambiente, entre ellos Argentina ratifica los convenios de Basilea, Róterdam, Estocolmo y OIT C184 con las leyes nacionales 23.922, 25.278, 26.011 y 25.739 respectivamente. El conjunto de los convenios de Basilea, Róterdam y Estocolmo abarca los elementos fundamentales de la gestión de los productos químicos peligrosos desde su producción hasta su eliminación. Estos convenios fueron auspiciados por el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA). El Convenio de Basilea (*Controlling transboundary movements of hazardous wastes and their disposal*) fue aprobado en 1989. El principal foco de atención del Convenio fue la elaboración de controles sobre los movimientos “transfronterizos” de desechos peligrosos y la formulación de criterios para su gestión ecológicamente racional. El Convenio de Róterdam (*Share Responsibility*) fue aprobado en 1998 e incorpora un mecanismo de consentimiento fundamentado previo y sistemas de intercambio de información sobre los productos químicos y plaguicidas peligrosos. El Convenio de Estocolmo (*Protecting human health and the environment for persistent organic pollutants*) fue aprobado en 2001. Se trata de una lista de productos químicos sumamente tóxicos, persistentes, bioacumulables y que se propagan a grandes distancias en el medio ambiente. El Convenio procura eliminar o restringir la producción y utilización de todos los contaminantes orgánicos persistentes producidos intencionalmente. También se propone la reducción continua y, cuando sea factible, la

eliminación de las liberaciones de contaminantes orgánicos persistentes producidos involuntariamente, como las dioxinas y los furanos. La Organización Internacional de Trabajo generó un Convenio sobre la seguridad y la salud en la agricultura en el año 2001, en el cual en uno de sus artículos trata sobre la gestión integral de los productos químicos y la reducción de los riesgos para el medio ambiente (*OIT, C184; web: pnuma.org; basel.int; pic.int; chm.pops.int*).

A partir de los lineamientos establecidos en la Constitución Nacional y en los tratados internacionales ratificados específicos en materia de sustancias químicas y sobre la protección del medio ambiente, Argentina se encuentra obligada al cumplimiento de variadas pautas. Asimismo, la tendencia actual del comercio internacional, plasmada en acuerdos comerciales, conduce a que el Estado deba observar la legislación aplicable al uso integral de plaguicidas a fin de no quedar fuera del mercado global. Las certificaciones internacionales como la *Fairtrade*, *Rainforest Alliance*, *GlobalGAP*, *UTZ Certified* e *ISO 14001* nacen por la necesidad de asegurar la inocuidad de las frutas y verduras, además de que implican prácticas que promueven el manejo agronómico sustentable más comprometido con la salud del consumidor, los trabajadores y la reducción de su impacto ambiental, siendo herramientas que permiten demostrar el cumplimiento de requisitos y estándares internacionales y de esta manera permiten vender productos en mercados cada vez más competitivos con exigencias complejas y diversas (*web: fairtrade.net; rainforest-alliance.org; globalgap.org; utz.org; iso.org*)

Argentina cuenta con normas nacionales y provinciales que regulan diversos aspectos relacionados con la protección del ambiente, protección de los recursos naturales, y relacionados con los plaguicidas. El reciente Ministerio (antes Secretaria) de Ambiente y Desarrollo Sustentable es el área del gobierno que redacta normas acerca de los plaguicidas y el ambiente, las más importantes son la Ley 25.675 “Ley General del Ambiente” que establece los presupuestos mínimos para el logro de una gestión sustentable y adecuada del ambiente, la preservación y protección de la diversidad biológica y la implementación del desarrollo sustentable; la Ley 25.612 que regula la gestión integral de residuos de origen industrial y de actividades de servicio; la Ley 25.688 que establece el “Régimen de Gestión Ambiental de Aguas” consagra los presupuestos mínimos ambientales para la preservación de las aguas, su aprovechamiento y uso racional; la Ley 24.051 y su Decreto Reglamentario 831/93 sobre la generación, transporte y disposición final de los residuos peligrosos; la Resolución SAyDS N° 515/06 que crea el Programa Nacional para la Gestión Ambiental de Sitios Contaminados (PROSICO); la Ley 26.168 que crea la Autoridad de la Cuenca Matanza Riachuelo (ACUMAR) otorgándole facultades de regulación, control y fomento respecto de las actividades industriales, la prestación de servicios públicos y cualquier otra actividad con incidencia ambiental en la

cuenca, pudiendo intervenir administrativamente en materia de prevención, saneamiento, recomposición y utilización racional de los recursos naturales; y la recientemente sancionada Ley 27.279 sobre “Gestión de Envases Vacíos de Fitosanitarios” que establece los presupuestos mínimos para la gestión integral de los envases vacíos de fitosanitarios, que en virtud de la toxicidad del producto que contuvieron, requieren de una gestión diferenciada y condicionada.

La competencia primaria sobre cuestiones relacionadas con los plaguicidas está en posesión de las provincias como principio general, de modo que las capacidades para controlar y hacer efectiva su aplicación y cumplimiento es relativa a las condiciones particulares de cada una de las jurisdicciones. Es necesario destacar que la normativa provincial no puede exigir menos que lo establecido por las normas de presupuestos mínimos nacionales y en los acuerdos internacionales. Cada provincia cuenta con normas propias acerca de plaguicidas y protección del medio ambiente. Tratan temas acerca del uso racional de los productos agrícolas, leyes de plaguicidas, uso de biocidas, leyes de envases y del triple lavado. En cuanto a la protección del medio ambiente generan límites de descarga de efluentes industriales a los cuerpos de agua, uso racional de los recursos naturales, etc. (*Pórfido, 2013*).

Por lo mostrado hasta ahora, Argentina cuenta con un amplio repertorio de leyes acerca de los plaguicidas y la protección del medio ambiente, no obstante la adopción de prácticas de control de plagas menos agresivas para la salud y el ambiente por parte de los productores es baja (*Pórfido, 2013*).

1.3 Problemática

1.3.1 Problemática ambiental

Los efluentes con contaminantes orgánicos son generados por una gran variedad de industrias, así como también provienen de hogares y de la actividad agrícola ganadera. El manejo inadecuado de esos residuos puede causar la contaminación del aire, suelos, agua subterránea y superficial.

En general, tratar efluentes industriales que contienen bajas concentraciones de contaminantes orgánicos mediante tratamientos convencionales no es económicamente viable. Por ejemplo, la eliminación de un contaminante mediante adsorción con carbón activado es eficiente pero implica la posterior recuperación del material por incineración para su reutilización

o simplemente se transfiere el contaminante de una fase a otra. Por otro lado, las sustancias que son biocidas o que no son biodegradables representan una amenaza para el medio ambiente y no pueden ser tratados por métodos biológicos convencionales.

Las demandas sociales y legales con respecto al cuidado del medio ambiente han aumentado en los últimos tiempos y requieren que los efluentes descargados al medio ambiente tengan el menor impacto posible sobre la salud humana, los recursos naturales y la biosfera. Estas demandas ocasionaron un incremento en el esfuerzo dirigido a la investigación acerca de nuevos desarrollos, más efectivos y económicos para prevenir y controlar la contaminación (*Machulek, 2012*).

1.3.2 Problemática de los plaguicidas poscosecha

Desde el punto de vista comercial, existe una presión cada vez mayor para la incorporación de las buenas prácticas en todos los eslabones de la cadena de valor, incluyendo la producción a campo, la industria manufacturera y el comercio. En su carácter de productora y exportadora de alimentos, Argentina debe anticiparse a estas tendencias para conservar sus mercados internacionales, pero sobre todo para incorporar prácticas productivas más sustentables y cuidar la salud de los consumidores argentinos y del mundo. Como parte fundamental de la cadena de valor, implementar las buenas prácticas en la etapa de poscosecha resulta imprescindible para lograr este objetivo.

A diferencia de la mayoría de los plaguicidas, que son utilizados en el campo, los plaguicidas poscosecha son utilizados en industrias empacadoras, a donde llegan las frutas y hortalizas provenientes del campo y se les aplican diferentes biocidas para aumentar su vida útil o retardar la maduración o el deterioro. Los plaguicidas en el campo pueden generar la contaminación del agua en forma difusa, ya sea por deriva en el momento de la aplicación o a través de agua de escorrentías que drenan hacia los arroyos y ríos, y a través del lixiviado alcanzando el agua subterránea. De hecho, existen numerosos trabajos de investigación que muestran niveles de contaminación por plaguicidas en ambientes acuáticos, suelos y sedimentos; en fauna silvestre y en alimentos (*Villaamil Lepori, 2013; Konstantinou, 2006*). Para prevenir la contaminación en este caso, se deben realizar prácticas de uso racional de fitosanitarios teniendo en cuenta la época del año, las precipitaciones, respetando las dosis de aplicación permitidas, el área de aplicación, etc.

En cambio, la aplicación de los plaguicidas poscosecha en las industrias generan efluentes que si no son manejados correctamente, pueden contaminar en forma puntual los cuerpos de agua donde son descargados. Es importante señalar que las formulaciones de plaguicidas además del principio activo incluyen sustancias transportadoras y/o diluyentes como agua o solventes orgánicos, aditivos e impurezas, y, en muchos casos, el potencial tóxico de estas sustancias en sí mismas puede resultar de semejante o mayor toxicidad que el propio principio activo. Además de mezcla de plaguicidas, en el proceso de empaquetamiento se utilizan detergentes para el lavado de las frutas, cera, desinfectantes, etc.

Por lo tanto, el tratamiento de estos efluentes antes de su descarga es muy importante para prevenir la contaminación.

1.3.3 Problemática de los envases de plaguicidas vacíos

En muchas ocasiones, al utilizar productos fitosanitarios surge la dificultad de decidir qué hacer con los envases vacíos que quedan luego de una aplicación. Si bien existen algunas zonas donde esta problemática está comenzando a tratarse y solucionarse mediante centros de acopio transitorio administrados por los diferentes municipios; muchas veces el productor no cuenta con la información necesaria para gestionar los envases los cuales terminan dispersados por el campo, acopiados en galpones, manipulados por recicladores no habilitados para manejar este tipo de plásticos, reutilizados, quemados, enterrados o terminan en un relleno sanitario no apto para este tipo de residuos (www.casafe.org). Todos estos destinos pueden generar la contaminación del ambiente y poner en riesgo la salud de las personas.

Recientemente se sancionó la ley 27.279 de presupuestos mínimos sobre la “Gestión de Envases Vacíos de Fitosanitarios” para la gestión integral de los mismos, ya que contuvieron un producto tóxico y por ello requieren de una gestión diferenciada.

Si se decide reutilizar el plástico de estos envases, el lavado exhaustivo de los recipientes podría generar efluentes con una gran variedad y cantidad de plaguicidas de distintos tipos, tanto precosecha como poscosecha, con diferentes acciones específicas (fungicidas, insecticidas, herbicidas, nematocidas, etc.) y de distinta peligrosidad y toxicidad.

1.4 Tratamiento de efluentes

1.4.1 Tratamientos convencionales

Existen distintos tratamientos convencionales de las aguas residuales y se los clasifica en diferentes etapas. El pre tratamiento del efluente busca acondicionarlo para facilitar los tratamientos propiamente dichos, por lo general incluyen rejillas, tamices, desarenadores y desengrasadores. El tratamiento primario o tratamiento físico químico busca reducir la materia suspendida por medio de la precipitación o sedimentación, con o sin reactivos. El tratamiento secundario o tratamiento biológico se emplea para eliminar la contaminación orgánica disuelta biodegradable. Consiste en la oxidación aerobia de la materia orgánica, en sus diversas variantes de barros activados, lechos de partículas, lagunas de oxidación y otros sistemas, o su eliminación anaerobia en digestores cerrados. Ambos sistemas producen lodos en mayor o menor medida que, a su vez, deben ser tratados para su reducción, acondicionamiento y destino final. Finalmente, el tratamiento terciario utiliza técnicas destinadas a pulir o refinar el vertido final, algunas técnicas son las de adsorción con carbón activado, arcillas, membranas de intercambio iónico, ósmosis inversa, etc. (Davis y Masten, 2005).

1.4.2 Tratamientos no convencionales

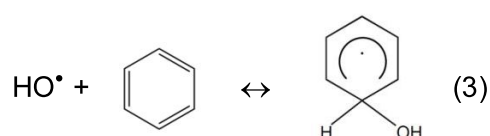
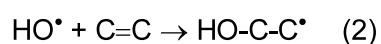
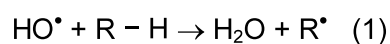
Los tratamientos no convencionales están centrados en el procesamiento de efluentes resistentes a los tratamientos tradicionales y son técnicas complementarias a las convencionales. Entre estas se encuentran, las tecnologías avanzadas de oxidación, el tratamiento biológico con microorganismos resistentes y la adsorción con arcillas modificadas, entre otras.

Tecnologías avanzadas de oxidación (TAOs). Las TAOs son técnicas que generan especies químicas altamente oxidantes en presencia comúnmente de un catalizador, un agente oxidante y energía, y se utilizan para degradar contaminantes orgánicos. Las TAOs pueden ser empleadas para degradar una gran variedad de contaminantes orgánicos, tanto compuestos alifáticos como aromáticos, fenoles, éteres, cetonas, etc. Entre las principales TAOs se encuentran: H_2O_2/UV , O_3/UV , $O_3-H_2O_2/UV$, $[TiO_2]/UV$, la fotólisis directa con vacío-UV, la reacción de Fenton o $H_2O_2-Fe(II)$ y la reacción de foto Fenton o $H_2O_2[Fe(II)/Fe(III)]/UV-Vis$. En la

mayoría de las TAOs el objetivo es generar sistemas que produzcan radicales hidroxilo $\bullet\text{OH}$. Los $\bullet\text{OH}$ son una de las especies conocidas más reactivas en una solución acuosa, solo superada por el átomo de flúor, y reacciona con la mayoría de las sustancias orgánicas de forma prácticamente no selectiva, y a velocidades muy altas, en la *Tabla 1.1* se muestran los potenciales de oxidación de los oxidantes más fuertes. Los principales modos de reacción de los $\bullet\text{OH}$ con compuestos orgánicos incluyen la abstracción del hidrógeno del carbono alifático, adición a dobles enlaces y a anillos aromáticos y la transferencia electrónica (*reacciones 1, 2 y 3*). Estas reacciones generan compuestos orgánicos radicales temporales, los cuales continúan reaccionando formando intermediarios hasta que el compuesto original desaparece por completo. Las TAOs pueden llegar a mineralizar los compuestos orgánicos y transformarlos en CO_2 , HNO_3 , H_3PO_4 , H_2O , entre otros.

Tabla 1.1 Potenciales de reducción

Oxidante	E° (V, 25 °C)
Flúor	3,03
Radical hidroxilo	2,80
Oxígeno atómico	2,42
Ozono	2,07
Peróxido de hidrógeno	1,78
Radical perhidroxilo	1,70
Permanganato	1,68
Dióxido de cloro	1,57
Ácido hipocloroso	1,49
Cloro	1,36



Desde el punto de vista del cuidado del medio ambiente, se debe asegurar que la degradación de un contaminante no produzca sustancias intermediarias tanto o más tóxicas que el compuesto original que se deseaba eliminar. Es importante que el progreso de la degradación y los productos de degradación sean caracterizados. Identificar, cuantificar todos los intermediarios, determinar la cinética de degradación y mecanismos de las reacciones individuales son objetivos muy importantes y son actualmente temas de investigación en la mayoría de las TAOs. Los efluentes industriales y aguas residuales son mezclas complejas de contaminantes y las reacciones de degradación que ocurran pueden ser muy variadas. Como consecuencia, uno o más de los compuestos o intermediarios formados pueden ser resistentes a la degradación, acumulándose en el sistema o ambiente expuesto a los mismos. Los procesos fotoquímicos y fotocatalíticos tienen un enorme potencial como una alternativa a los tratamientos convencionales para los tratamientos de contaminantes recalcitrantes en agua y en efluentes. El uso adecuado de estas tecnologías conduce a la conversión de contaminantes orgánicos peligrosos (con gran variedad de fórmulas y/o estructuras químicas) a sustancias que son menos tóxicas y/o más biodegradables. La región de la luz más comúnmente utilizada en los procesos fotoquímicos se encuentra en el intervalo de longitudes de onda 250-400 nm y corresponden a la región del espectro UV, aunque también existen TAOs que utilizan regiones del espectro visible. La luz UVA (en menor proporción) y visible son un componente natural de la radiación solar, el sol provee una fuente de energía de bajo costo, ambientalmente amigable y prácticamente inagotable para los procesos fotoquímicos, por lo tanto el uso de reactores fotoquímicos solares resulta una opción muy atractiva por su bajo costo, especialmente en regiones tropicales y subtropicales del planeta. En regiones o áreas con poca intensidad de radiación solar se podrían utilizar reactores fotoquímicos con lámparas o reactores híbridos (con lámparas y solares) (Machulek, 2012; Legrini, 1993; Pignatello, 2006; Malato, 2009; Soon, 2011; Ballesteros, 2009; Hincapie-Perez, 2006).

Tratamientos biológicos con microorganismos resistentes. Los métodos biológicos de descontaminación de aguas son los más usados históricamente por el hombre, ya que resultan los más económicos y amigables con el medio ambiente. Los microorganismos son los encargados de la transformación de las sustancias contaminantes convirtiéndolas idealmente en sustancias minerales inocuas. Las sustancias que son tóxicas o son no biodegradables no pueden ser tratadas por métodos biológicos convencionales. Sin embargo, debido al bajo costo y la versatilidad de estos procesos, hay importantes esfuerzos dedicados a encontrar microorganismos independientes o asociados a un consorcio que muestren resistencia y

capacidad de degradar compuestos recalcitrantes y tóxicos (Horvath, 1972; Providenti, 1993). El tratamiento biológico de los compuestos recalcitrantes implica el uso de cepas especiales resistentes a dichos compuestos. La adaptación de microorganismos a distintos contaminantes hace que los sitios contaminados crónicamente con esos compuestos sean los lugares de elección para el *screening* de microorganismos potencialmente útiles para un proceso de biorremediación (Ruberto, 2003).

Adsorción con arcillas modificadas. Las arcillas comprenden un grupo de minerales denominados filosilicatos cuyas propiedades fisicoquímicas dependen de su estructura cristalina, microestructura y tamaño de partícula. Generalmente las arcillas son aluminosilicatos de estructura laminar. Estas láminas desarrollan carga negativa debido a la sustitución de Si(IV) por Al(III), entre las láminas se alojan cationes (Ca^{2+} , Na^+ , etc) que mantienen la electroneutralidad. En contacto con agua las arcillas se expanden considerablemente. Estas arcillas pueden delaminarse por sustitución de los cationes interlaminares por alquilamonios cuaternarios. Estos cationes de gran tamaño se acomodan entre las láminas separándolas más que en presencia de cationes inorgánicos pequeños. Una vez intercaladas, las arcillas pueden separarse en las pequeñas láminas que las forman aplicando una fuerza de cizalla adecuada. Una vez delaminadas las partículas obtenidas son nanométricas, presentando gran área superficial y, además, adquieren hidrofobicidad debido a las cadenas alquílicas asociadas a los alquilamonios adsorbidos sobre las láminas (Pavlidou, 2008; Chin, 2001; Fu and Heinz, 2010; Park, 2011; Sarkar, 2011). Por otro lado, por su elevada área superficial las arcillas son excelentes soportes para catalizadores como Fe, Cu o TiO_2 de las TAOs. Los catalizadores soportados sobre arcillas presentan varias ventajas entre ellas, permite trabajar en un rango de pH y temperatura más amplio, son fáciles de separar y se pueden reutilizar ya que conservan su actividad catalítica durante sucesivos tratamientos (Garrido-Ramírez, 2010; Soon, 2011; Herney-Ramirez, 2010; Guz, 2014).

1.4.3 Tratamientos elegidos

Debido a que los plaguicidas son compuestos orgánicos recalcitrantes, se seleccionaron técnicas no convencionales para el tratamiento de los mismos que se detallarán en los Capítulos siguientes. Los métodos utilizados en este trabajo son el tratamiento biológico con microorganismos resistentes (Capítulo 3), el tratamiento foto Fenton (Capítulo 4), la adsorción

con arcillas y organoarcillas (*Capítulo 6*), y la combinación de estas técnicas para el tratamiento del plaguicida imazalil (*Capítulos 5, 6 y 7*).

La estrategia elegida en este trabajo consiste en emplear adsorción para separar rápida y eficientemente el contaminante del medio acuoso; oxidación avanzada (foto-Fenton) como herramienta para eliminar completamente el agente activo; tratamiento biológico con comunidades microbianas adaptadas para explorar la mineralización de los agentes activos y coadyuvantes, o la de sus productos de oxidación.

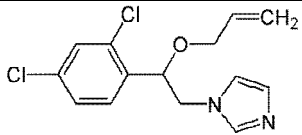
La combinación de varios tratamientos es necesaria para llegar a la eliminación total de estas sustancias recalcitrantes, minimizando su acumulación o la de sus intermediarios de reacción en otra fase o en el mismo cuerpo receptor. Asimismo, la combinación de técnicas puede ayudar a reducir los costos del tratamiento global.

1.5 Imazalil

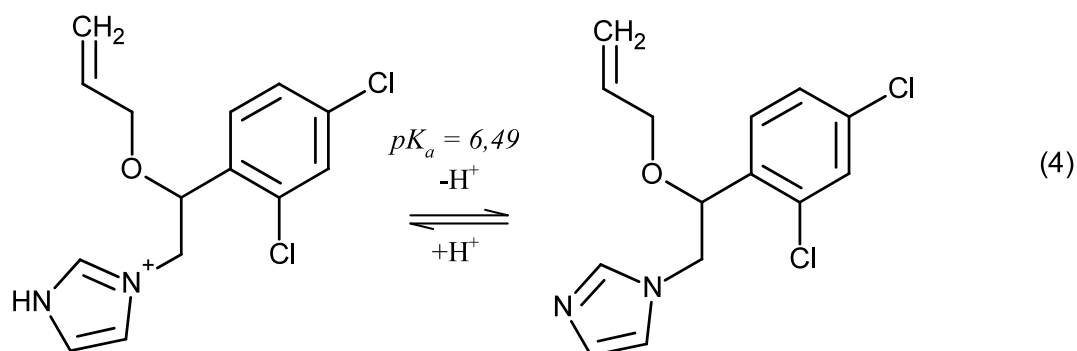
1.5.1 Información

El contaminante orgánico elegido como modelo para este trabajo fue el plaguicida Imazalil. Este compuesto se utiliza como fungicida para el tratamiento de semillas, y para cultivos pre y poscosecha. Se utiliza ampliamente en Argentina para cultivos de cítricos, peras y manzanas. En la *Tabla 1.2* se enumeran las características principales de Imazalil

Tabla 1.2 Información del Imazalil

Estructura Molecular	Formula Molecular	Masa Molecular (g/mol)	Masa Molecular de Carbono (gC/mol)	Grupo Químico
	$C_{14}H_{14}Cl_2N_2O$	297,18	168	Imidazol

Es una base débil, con un $pK_a = 6,49$ ya que un átomo de N del anillo imidazol puede protonarse, la reacción de disociación ácido-base se muestra en la *reacción 4*.



1.5.2 Riesgos Toxicológicos

El Imazalil es considerado peligroso por efectos acumulativos, genera daños en los ojos, es nocivo por inhalación e ingestión. Es muy tóxico para organismos acuáticos, puede causar efectos adversos a largo plazo en ambientes acuáticos. En la clasificación toxicológica de la Organización Mundial de la Salud (WHO) el Imazalil figura como categoría II: moderadamente peligroso. La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos lo clasifica como “probable carcinógeno en humanos”. Según el Sistema Globalmente Armonizado de Naciones Unidas (GHS) para clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas químicas, los pictogramas que se utilizan para representar al Imazalil son los que se muestran en la *Figura 1.2* y son los de corrosivo, irritación cutánea y peligroso para el medio ambiente.



Figura 1.2 Pictogramas del GHS para el Imazalil, desde la izquierda corrosivo - irritación cutánea - peligroso para el medio ambiente.

1.5.3 Modo de acción

El Imazalil es un fungicida sistémico, actúa interfiriendo en la permeabilidad celular de los hongos patógenos. Pertenece al grupo de fungicidas inhibidores de la desmetilación. Inhibe la biosíntesis del ergosterol al bloquear la desmetilación del lanostenol, un precursor del ergosterol (FAO, 2001; Santa Cruz Biotechnology, Inc., 2010; EPA, 1999; WHO, 2010).

1.6 Hipótesis de trabajo

Las tecnologías de tratamiento de contaminantes recalcitrantes elegidas, adsorción con arcillas y organoarcillas, procesos avanzados de oxidación y tratamientos biológicos con microorganismos adaptados, combinadas en forma adecuada, resultarán en una metodología eficiente para la remoción del plaguicida Imazalil contenido en un efluente. A su vez, son factibles de realizar en las regiones del país dedicadas al cultivo de cítricos en las cuales se emplea el plaguicida seleccionado como modelo de estudio. .

1.7 Objetivos generales

Evaluar la factibilidad de remediar un efluente simulado que contiene un plaguicida comercial. Para esto, se abordarán diferentes técnicas de descontaminación en forma independiente y acoplada como adsorción con arcillas y arcillas modificadas, procesos avanzados de oxidación, en particular procesos foto Fenton y tratamientos biológicos con comunidades de microorganismos resistentes.

Determinar los principales factores que afectan la eficiencia de cada proceso optimizándolos, pudiendo dar lugar a una estrategia de tratamiento de efluentes viable y económica para las industrias fruti hortícolas.

CAPÍTULO 2

MATERIALES Y TÉCNICAS ANALÍTICAS

2.1 Reactivos

2.1.1 Imazalil

Se utilizó Imazalil PESTANAL® de *Sigma Aldrich* de grado estándar analítico, en su presentación puro, para la cuantificación del mismo.

2.1.2 Xedrel 50®

Se utilizó el compuesto comercial Xedrel 50® para las distintas experiencias desarrolladas en este trabajo. Es un concentrado emulsionable (CE) con 50 % de IMZ en su composición y además coadyuvantes no informados por el fabricante. En la etiqueta del producto se muestra la composición del mismo, instrucciones, precauciones y recomendaciones de uso, información toxicológica, riesgo ambiental etc. (http://www.adama.com/argentina/es/Images/XEDREL%20Adama%20Librito%20x%201%20Litro_tcm41-50609.pdf).

2.1.3 Reactivos utilizados en el tratamiento biológico

2.1.3.1 Solución salina

Para los cultivos biológicos se utilizó la solución de nutrientes inorgánicos que se detalla a continuación en la *Tabla 2.1*. Todos los reactivos de grado analítico.

Tabla 2.1 Composición de la solución salina

Nutriente	Concentración (g/L)
K_2HPO_4	1,0
$(NH_4)_2SO_4$	2,0
$MgSO_4$	0,1
$CaCl_2$	0,01

2.1.3.2 Medio de cultivo rico

Se trata de la solución salina descrita anteriormente más el agregado de fuente de carbono y energía (FCE). La FCE utilizada fue la glucosa de grado analítico en distintas concentraciones.

2.1.3.3 Medio de cultivo rico sólido

Se trata del medio rico descrito en la *sección 2.1.3.2* con el agregado de 1,5 % de agar para solidificar el medio.

2.1.4 Reactivos utilizados en el tratamiento Fenton

Se utilizó como catalizador $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, H_2O_2 30% como oxidante, para detener la reacción se utilizaron sulfito de sodio 2M (1:2 v/v) para la determinación de COT y acetonitrilo para el IMZ (1:2 v/v), todos de grado analítico.

2.1.5 Materiales y reactivos utilizados en el tratamiento con arcillas

2.1.5.1 Arcillas

Las arcillas que se utilizaron en este trabajo son provenientes de una cantera de la Provincia de Río Negro, Argentina, fueron proporcionadas por *Castiglioni Pes y Cia*. Se trata de una montmorillonita (MMT) perteneciente a la familia de las esmectitas. Su fórmula estructural es $[(\text{Si}_{3.89}\text{Al}_{0.11})(\text{Al}_{1.43}\text{Fe}^{3+}_{0.28}\text{Mg}_{0.30})\text{O}_{10}(\text{OH})_2]\text{Na}^{+}_{0.41}$ (*Magnoli, 2008*). Tiene una capacidad de intercambio catiónico determinada a través del método del Cu-trietileneamina de 0,825 mmol/g_{arcilla} (*Gamba, 2015*).

2.1.5.2 Órgano arcillas

Para la síntesis de las órgano arcillas (OMMT), se utilizó bromuro de octadeciltrimetilamonio (ODTMA) ($C_{18}H_{37}N(CH_3)_3Br$), M_R : 392,5 g/mol de *Fluka* (Alemania), 98% de pureza. El detalle del método de síntesis se describe en el *Capítulo 6*.

2.2 Técnicas analíticas

2.2.1. HPLC para la determinación de IMZ, pirimetanil (PIRM) y Tiabendazol (TBZ)

Para la cuantificación de los plaguicidas se utilizó un equipo de cromatografía líquida de alta resolución *HPLC Shimadzu*, con una columna de fase reversa *Shim-Pack VP-ODS* de 250 mm de longitud, 4,6 μm de tamaño de partícula y 12 nm de tamaño de poro. Para el IMZ se utilizó una mezcla acetonitrilo:buffer acetato de amonio 20 mM, pH 5,5 (70%:30%) como eluyente a 1 ml/min. La detección fue a través de un detector UV-Vis a una $\lambda = 220$ nm. Intervalo de medición 0-500 mg/L. El PIRM y el TBZ se determinaron de la misma manera que el IMZ pero con una longitud de onda de 270 nm y 298 nm respectivamente.

2.2.2 HPLC para la determinación de productos finales de oxidación del IMZ en el Xedrel 50®

Para la identificación de productos de oxidación del IMZ se utilizó un equipo de cromatografía líquida de alta resolución *HPLC Thermo Scientific Accela* con detector PDA (arreglo de diodos), con una columna *Gemini 3U C6 – Phenyl 110 A* de 100 mm de longitud y 4,6 mm de diámetro, *Phenomenex*. Se utilizó buffer fosfato 25 mM 100%, como eluyente a 800 $\mu l/min$. La absorbancia de la muestra se monitoreó en particular a $\lambda = 220$ nm. Se utilizaron distintos patrones de ácidos orgánicos y se realizó adición estándar para confirmar la presencia/ausencia del compuesto en la muestra.

2.2.3 HPLC-MS para la identificación de intermediarios de oxidación del IMZ puro y del Xedrel

Se utilizó un equipo LC-MS Cuadrupolo Shimadzu LC-MS 2020 (Shimadzu, Japan) para la determinación de los intermediarios de oxidación del IMZ puro. La cromatografía se realizó con una columna *Gemini 3U C6 – Phenyl 110 A* de 100 mm de longitud y 4,6 mm de diámetro, *Phenomenex*. Se utilizó una mezcla acetonitrilo:buffer acetato de amonio 7,5 mM, pH 6,7 (50%:50%) como eluyente a 1 ml/min. El equipo cuenta con una fuente de ionización de electrospray (ESI) y los iones fueron monitoreados tanto en modo positivo como en modo negativo (ESI+ y ESI-).

2.2.4 HPLC para la determinación de aniones

Para la identificación cloruros y nitratos se utilizó un equipo de cromatografía líquida de alta resolución *HPLCKNK-500-A series de KONIK Instruments* con detector UV-Vis, y una columna de intercambio aniónico *PRP-X100 HAMILTON Phenomenex* de 250 mm de longitud, 4,1 mm de diámetro y 10 μ m de diámetro de partícula. Se utilizó como eluyente biftalato de potasio 4,5 mM 100% con un caudal de 1ml/min. La detección fue a través de UV-Vis a una λ = 265 nm. Intervalo de medición de cloruros 10-50 mg/L y de nitratos 1-2 mg/L.

2.2.5 Carbono orgánico total (COT)

Se utilizó un equipo *TOC-L Shimadzu* para la determinación del carbono orgánico total. La muestra líquida se acidifica y burbujea con aire analítico para la eliminación del carbono inorgánico de la muestra y luego se mineraliza en un horno, el CO₂ generado se detecta a través de un detector de IR. Intervalo de medición 0-125 mgC/L, (Técnica 5310, *Standard Methods*, 1992).

2.2.6 Demanda química de oxígeno (DQO)

La DQO se cuantificó a través de un método colorimétrico. Se utilizó dicromato de potasio como agente oxidante y sulfato de plata como catalizador. La digestión de las muestras se realizó en un bloque calefactor a 160 °C durante 30 minutos. La absorbancia se midió en un fotómetro *PF-11* en el rango alto (100-1500 mgO₂/L), (Técnica 5220, *Standard Methods*, 1992).

2.2.7 Determinación de H₂O₂

Para la determinación de H₂O₂ se utilizó un método colorimétrico con metavanadato de amonio (*Pupo-Nogueira, 2005*). La absorbancia de la solución se midió a una $\lambda = 450$ nm con espectrofotómetro *UV-VIS PG Instruments Ltd*. Intervalo de medición 0-3,5 mM.

2.2.8 Determinación de Fe

Las determinaciones de Fe en solución se realizaron mediante espectroscopía de absorción atómica de emisión por llama de aire-acetileno en un equipo *Sens AA, de GBC Scientific Equipment*. Intervalo de medición 2-9 mg/L.

2.2.9 Cuantificación de ácidos orgánicos

Se utilizó un kit de *Nanocolor® Ácidos Orgánicos 3000*, Ref. 985 050; los resultados se expresan en mg ácido acético/L (mgaa/L). La absorbancia se midió en un fotómetro *PF-11*, intervalo de medición 30-3000 mgaa/L.

2.2.10 Determinación de biomasa

La biomasa se determinó por turbidimetría (u.a.) y peso seco (g/L). Las mediciones de densidad óptica se realizaron en un espectrofotómetro UV-Vis *PG Instruments Ltd*. a $\lambda = 620$ nm.

Para obtener el peso seco, diferentes cantidades de biomasa se separaron del medio de cultivo por centrifugación y luego se lavaron 2 veces con agua destilada y se secaron a 80°C hasta peso constante.

2.2.10 Determinación de sólidos totales y volátiles

La determinación de los sólidos totales de una muestra se basa en una medición cuantitativa del incremento de peso que experimenta un vaso previamente tarado tras la evaporación y secado de una muestra a peso constante a 103-105°C (Técnica 2540 B, *Standard Methods*, 1992). Para determinar los sólidos volátiles, se considera la pérdida de peso de los sólidos totales de una muestra por calcinación a 550 °C en mufla (Técnica 2540 E, *Standard Methods*, 1992).

2.2.11 Determinación de sólidos sedimentables

Se utiliza el cono de *Imhoff*. De una muestra de 1 litro, se determina el volumen de sólidos que sedimentan en 10 minutos y en 2 horas. Los resultados se expresan en ml/L (Técnica 2540 F, *Standard Methods*, 1992).

2.2.12 pH

El pH se midió con un pHmetro *Hanna Instruments* HI 2211 pH/ORPmeter, con un electrodo de vidrio y un electrodo de referencia de Ag/AgCl.

2.2.13 Temperatura

La temperatura se midió con un termómetro de Hg con un intervalo de temperatura de 0 a 100°C, con una mínima división de la escala de 1°C.

2.2.14 Radiación solar

La radiación solar se registró con un radiómetro portátil *Lutrón* (Taiwán) modelo UV-340A. Rango espectral: 290 a 390 nm. Las unidades son W/m^2 .

2.2.15 Difracción de rayos X

La estructura cristalina de las muestras de arcillas se determinó por difracción de rayos X (DRX) utilizando un equipo *Siemens D5000* con radiación $CuK\alpha$ operado a 30 mA y 40 kV. El énfasis del análisis está en la determinación del espaciado interlamilar. Por este motivo, la muestra se preparó de forma tal de resaltar las señales de difracción correspondientes a la familia de planos (001). Con este fin, la muestra se coloca húmeda en el portamuestras y se equilibra a una humedad relativa del 47%. Al secarse, las plaquitas de arcilla se acomodan presentando el plano 001 paralelo a la superficie.

2.2.16 Caracterización por adsorción de vapor de N_2

El área superficial y porosidad de las muestras de arcilla se determinó por adsorción de N_2 a 77 K utilizando un equipo *Micromeritics ASAP 2020 V3.05 G*. Las muestras fueron desgasificadas por calentamiento a 150 °C bajo una corriente de Helio por 12 horas. Las muestras fueron barridas con una relación P/P_0 entre 0,0005 y 0,99.

2.2.17 Movilidad electroforética

La movilidad electroforética de las muestras de arcilla se determinó utilizando un equipo *Brookhaven 90 Plus/Bi-MAS*. 0,05 g/L de cada muestra se dispersó en KCl 1 mM y se ajustó el pH de cada suspensión con HCl ó KOH. El potencial Zeta se obtuvo a partir del software suministrado con el equipo.

2.2.18 Dispersión de rayos X de bajo y medio ángulo

Se obtuvieron dispersogramas SAXS (*Small Angle X-Ray Dispersion*) y WAXS (*Wide Angle X-Ray Dispersion*) de las muestras de arcilla en la línea D01A de SAXS en la estación de trabajo de fuente de luz sincrotrón de Brasil (LNLS), Campinas, Brasil, usando una longitud de onda de 0,155 nm y con una distancia muestra-detector de 822,837 mm. Todas las mediciones se realizaron a temperatura ambiente y se registraron con un detector 2D-CCD (MAR-USA 165 mm). Estas mediciones se realizaron por vía remota, en el marco del proyecto SAXS1-16101 aprobado por el Laboratorio Nacional de Luz Sincrotron (LNLS), Campinas, SP, Brasil.

2.2.19 Actividad lacasa

La actividad de la enzima lacasa se midió a través de un método colorimétrico. Se cuantificó a través de la oxidación del reactivo ABTS en buffer citrato de fosfato a pH 4,5. La absorbancia se midió a $\lambda = 450$ nm (*Carabajal, 2013*).

CAPÍTULO 3

TRATAMIENTO BIOLÓGICO

3.1 Introducción

3.1.1 Tratamientos biológicos

Con los avances de la biotecnología, la biorremediación se ha convertido en una de las áreas más desarrolladas en la restauración ambiental, utilizando microorganismos para reducir la concentración y toxicidad de varios contaminantes presentes en aguas o suelos, tales como hidrocarburos derivados del petróleo, hidrocarburos aromáticos policíclicos, bifenilos policlorados, esteres de ftalato, compuestos nitroaromáticos, solventes industriales, plaguicidas y metales (*Dua, 2002*). El tratamiento biológico es considerado actualmente la alternativa menos costosa para transformar los contaminantes. Diferentes microorganismos (bacterias, hongos y microalgas) catalizan la transformación del material orgánico biodegradable del efluente y lo utilizan en el proceso de su mantenimiento vital y reproducción. Se genera biomasa y compuestos inorgánicos (*Wei, 2003; Farhadian, 2008*).

Adicionalmente, la biomasa puede adsorber distintos compuestos, ya sean biodegradables o no, como los metales, contribuyendo a separarlos del medio que se busca descontaminar.

Para decidir una estrategia de tratamiento biológico se deben considerar tres principios básicos: la posibilidad de que el contaminante se transforme biológicamente a un producto menos tóxico, la biodisponibilidad del contaminante y la oportunidad de optimizar la actividad biológica (*Vidali, 2001*). Los microorganismos tienen la ventaja de utilizar sustancias orgánicas, naturales o sintéticas, como fuente de nutrientes y energía. La gran diversidad de sustratos utilizados para su crecimiento llevó a la evolución de enzimas capaces de transformar muchos compuestos orgánicos naturales o no, por una variedad de mecanismos catalíticos diferentes. La gran "biblioteca" de enzimas microbianas resultante sirve como materia prima para una mayor evolución cada vez que un nuevo producto químico se encuentra disponible (*Dua, 2002*).

Existen sustancias que son rápida y fácilmente degradadas por la mayoría de las especies microbianas que se encuentran en ambientes naturales o en las plantas de tratamiento biológico, pero existen otras que tienen una acción nociva sobre ellas o que simplemente no pueden ser degradadas ni empleadas como fuente de carbono y energía. Estas sustancias, que pueden ser de origen natural o sintético, se denominan sustancias *recalcitrantes*. En el mejor de los casos estas sustancias suelen atravesar los sistemas

biológicos de tratamiento de efluentes sin ser modificadas y aparecen en el efluente tratado. En otros casos destruyen completamente la microbiota. Sin embargo, no significa que no existan especies capaces de degradarlos o, al menos, tolerarlos incluso en altas concentraciones. El tratamiento biológico de los compuestos recalcitrantes implica el uso de cepas especiales resistentes a dichos compuestos. La adaptación de microorganismos a distintos contaminantes hace que los sitios contaminados crónicamente con esos compuestos sean los lugares de elección para la búsqueda de microorganismos potencialmente útiles para un proceso de biorremediación (*Ruberto, 2003*).

Los consorcios de microorganismos poseen ventajas con respecto a las cepas aisladas. Cada miembro de una comunidad microbiana tiene papeles significativos y puede necesitar de la presencia de otras especies o cepas para poder sobrevivir cuando la fuente de energía es limitada o reducida a fuentes de carbono complejas como los xenobióticos (*Ghazali, 2004*). Los consorcios poseen una variedad de cepas capaces de compensar la inhibición por distintos contaminantes así como también cepas especialistas en mineralizar los metabolitos producidos por co-metabolismo (*Bouchez, 1999*). Esto podría ser atribuido a los efectos de las interacciones sinérgicas entre miembros de la asociación. Es posible que una especie remueva metabolitos tóxicos de las especies que la preceden (que de otra forma podrían obstaculizar la actividad microbiana). También es posible que una segunda especie pueda degradar completamente un compuesto que la primera degradaba solo parcialmente (*Ghazali, 2004*). Un consorcio puede llevar a cabo funciones que las poblaciones individuales no pueden porque los consorcios son más robustos frente a fluctuaciones del ambiente (*Brenner, 2008*). En particular, los consorcios bacterianos son especialmente atractivos para intervenir en procesos de biodegradación de contaminantes, debido a su velocidad de crecimiento, gran adaptabilidad y presencia en condiciones ambientales extremas.

Hoy en día el estudio de los consorcios bacterianos puede abordarse de varias maneras, gracias a las nuevas técnicas basadas en la biología molecular que, junto a los estudios fisiológicos clásicos, han llevado hacia rápidas y precisas maneras para monitorear, descubrir e identificar bacterias o genes catabólicos involucrados en la degradación de xenobióticos (*Widada, 2002*). Las técnicas de identificación basadas en el aislamiento de los microorganismos tienen la desventaja de que muchos microorganismos no son cultivables. De esta manera, solo un número limitado de microorganismos aislados representa a la comunidad y no la totalidad que la conforman (*Del Panno, 2005*).

Los microorganismos pueden encontrarse como células planctónicas (en suspensión) o células inmovilizadas formando un *biofilm* sobre determinados soporte. Los *biofilms* son conjuntos de una o múltiples poblaciones que están unidas a una superficie abiótica o biótica a través de polímeros extracelulares (Hall-Stoodley, 2004). Las células en el *biofilm* están embebidas con una matriz extracelular de polisacáridos que provee a las bacterias de una protección contra distintos tipos de estrés ambiental como radiación UV, variaciones de pH, shock osmótico y desecación (Verhagen, 2011). La expresión génica en las células de un *biofilm* difiere de la expresión cuando éstas se encuentran en suspensión y ésta expresión diferente regula la formación y el desarrollo del *biofilm*. Los sistemas en *biofilm* son adecuados para el tratamiento de compuestos recalcitrantes debido a la alta biomasa microbiana y la habilidad para inmovilizar compuestos. La biorremediación es facilitada por el mejoramiento en la transferencia genética entre los organismos del *biofilm* (Singh, 2006). Las interacciones físicas y fisiológicas entre los microorganismos en el *biofilm* aumentan la disponibilidad de nutrientes, así como también la remoción de metabolitos potencialmente tóxicos. La biorremediación mediada por *biofilm* se presenta como una alternativa eficiente y segura a la remediación con microorganismos planctónicos al aumentar las posibilidades de adaptación y supervivencia de las células individuales dentro de la matriz. En las últimas décadas los reactores de *biofilm* se convirtieron en un foco de interés dentro del campo de la biorremediación (Singh, 2006).

En la literatura especializada se ha informado que varias cepas de bacterias son eficaces en la remoción de plaguicidas. *Pseudomonas sp.*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aureofaciens*, *Micrococcus lylae*, *Achromobacter sp*, *Sphingomonas sp* y *Acetobacter liquefaciens* son algunas de las cepas de bacterias que son capaces de degradar varios plaguicidas persistentes como malation, fenilurea, DDT, carbofuran, lindano, p-nitrofenol (Rathore y Nollet, 2012). Sin embargo, ninguna de las especies mencionadas presenta capacidad de degradación de IMZ. Recientemente, se reportó la biodegradación parcial de IMZ en muy bajas concentraciones (80 µg/L) a través de un reactor con biomasa inmovilizada (*biofilm*) (Jiménez-Tototzintle, 2015). A su vez, Karas en el año 2011 encontró que los hongos White Rot Fungi (WRF) (como *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* y *Phanerochaete chrysosporium*) tienen capacidad de degradar totalmente el IMZ en soluciones de 10 mg/L y parcialmente en soluciones de 50 mg/L. Sin embargo, el uso de hongos en el tratamiento biológico de este tipo de sustancias, es difícil debido a su limitada competitividad y baja capacidad para degradar otros fungicidas que

se utilizan en la industria de empaquetamiento de la fruta, como el tiabendazol (*Perruchon, 2016*). Basado en estos antecedentes, en este trabajo se busca explorar la posibilidad de emplear comunidades bacterianas en la degradación del fungicida imazalil.

3.1.2 Objetivos

Obtener una comunidad de microorganismos resistentes a altas concentraciones de IMZ (proveniente del plaguicida comercial Xedrel 50®) e identificar cepas aisladas.

Estudiar los parámetros que afectan la remoción del IMZ por la comunidad resistente en células planctónicas y formando *biofilm*.

3.2 Desarrollo experimental

3.2.1 Aislamiento de la comunidad resistente a IMZ

Con el fin de obtener microorganismos resistentes al agroquímico estudiado en este trabajo, se expusieron barros recogidos de una pileta de decantación de una industria empacadora de fruta de Río Negro a distintas concentraciones crecientes de Xedrel 50® como presión selectiva comenzando con 50 mg/L hasta 500 mg/L de IMZ. Se decidió alcanzar una concentración de 500 mg/L de IMZ, ya que esta es una de las máximas concentraciones usadas en el tratamiento poscosecha de la fruta. Se utilizaron frascos *erlenmeyer* de 250 ml, con un volumen de líquido de 100 ml, agitados a 130 rpm en un agitador orbital a 25°C de temperatura, se utilizó un *medio de cultivo rico* (ver composición en *Capítulo 2*) con micronutrientes, glucosa como fuente de carbono fácilmente asimilable y pH inicial 7,0, el cultivo se expuso a cada una de las concentraciones durante una semana. El cultivo desarrollado se utilizó como inóculo del nuevo medio de cultivo selectivo con una concentración de IMZ mayor (*Figura 3.1*).

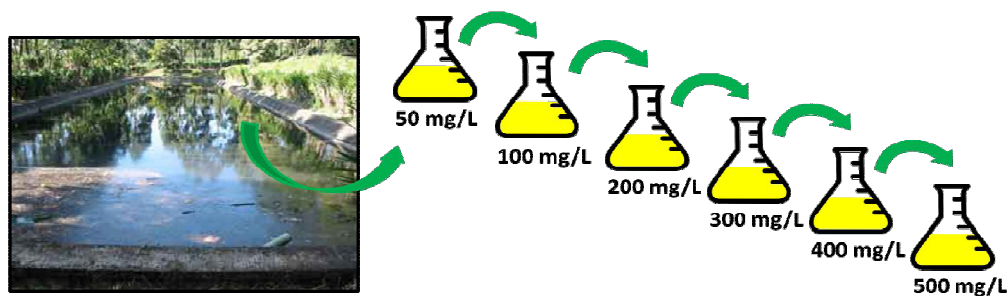


Figura 3.1 Diagrama del proceso de obtención de la comunidad resistente a Xedrel 50®.

3.2.2 Aislamiento de cepas e identificación

Se tomaron diferentes volúmenes y diluciones de la comunidad y se los plaqueó en *medio de cultivo rico sólido* (con 5 g/L de glucosa). Se seleccionaron las colonias morfológicamente distintas y se repicaron 3 veces más (estría por agotamiento). Luego se las pasó a *medio líquido rico* y se procedió a hacer la extracción de ADN con el kit *Wizard® Genomic DNA Purification* (PROMEGA). Se amplificó el gen *ADNr 16S* con *primer-forward* FD2: 5'- AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3' y el *primer-reverse* RP2: 5'- ACGGCTACCTTGTTACGACTT-3'. Para caracterizar filogénicamente las bacterias aisladas, se empleó el gen del 16S ADNr. El par de *primers* usados amplifica aproximadamente todo el gen (1300 pb). Las amplificaciones fueron realizadas en un volumen final de reacción de 25 μ l conteniendo 1U de *GoTaq* polimerasa, 0,4 μ M de cada *primer* y 200 μ M de cada dNTP. Las condiciones de ciclado térmico fueron: 95°C por 5 minutos, seguidos de 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 55°C por 30 segundos y 72°C por 1,30 minutos, con una extensión final de 5 minutos a 72°C. El producto de PCR fue purificado y se secuenciaron ambas hebras. La secuencia determinada fue comparada con la base de datos disponible GenBank/EMBL usando el programa BLAST (disponible en www.ncbi.nlm.nih.gov).

3.2.3 Isotherma de adsorción con biomasa

En estudios preliminares de adsorción, se realizaron isotermas de adsorción en el intervalo de concentraciones de 0-250 mg/L de IMZ (0, 10, 25, 50, 100 y 250) a pH natural (3,0-3,6) con biomasa de la *comunidad 1* crecida con 500 mg/L de IMZ como presión

selectiva y sin IMZ trabajando en esterilidad, todos los sistemas por duplicado. Los resultados de estos ensayos arrojaron que no hubo adsorción del IMZ en concentraciones bajas (hasta 100 mg/L de IMZ) y recién se observó adsorción con una concentración inicial de 250 mg/L de IMZ; y entre la biomasa crecida con IMZ y sin IMZ no hubo diferencias importantes. Por lo tanto en la isoterma que se realizó cubriendo un mayor rango de concentraciones de IMZ, se decidió trabajar con la biomasa de la *comunidad 1* crecida con 500 mg/L de IMZ, lo que disminuye el riesgo de contaminación y favorece las condiciones de crecimiento de la *comunidad 1*, y se utilizó como tratamiento de la biomasa una serie de 2 lavados con agua destilada previo a poner en contacto las soluciones de IMZ de la isoterma con la biomasa.

Se suspendió biomasa viva lavada en soluciones de IMZ con concentraciones iniciales en el intervalo de 0-500 mg/L (0, 25, 50, 100 200, 300, 400 y 500) a pH aproximadamente 7,0, se utilizó 1,5 g/L de biomasa y se dejó 8 hs como tiempo de exposición. La isoterma se realizó en recipientes de 50 ml con un volumen de trabajo de 25 ml y cada concentración se realizó por duplicado. Las muestras se centrifugaron luego de alcanzado el equilibrio a 15000 G durante 15 minutos. Se determinó la concentración de IMZ en las soluciones iniciales y en los sobrenadantes de acuerdo a lo descrito en el *Capítulo 2*.

3.2.4 Ensayos de biodegradación

3.2.4.1 Células en suspensión

Se realizaron ensayos en *batch* con células en suspensión en frascos *erlenmeyer* de 250 ml, con un volumen de líquido de 100 ml, agitados a 130 rpm en un agitador orbital a 25°C de temperatura, todos los sistemas se realizaron por duplicado. Se utilizó 1 % v/v de cultivo desarrollado en fase exponencial para inocular los sistemas, esta cantidad de biomasa corresponde a aproximadamente 0,005 g/L. Se utilizaron distintas cantidades de fuente de carbono (0,0; 4,5; 8,5; 10,0 g/L de glucosa), se trabajó con y sin control de pH, y con y sin IMZ (0, 50, 500 mg/L). Se determinó IMZ, pH, biomasa y COT a lo largo del tiempo en todos los experimentos de acuerdo a lo detallado en el *Capítulo 2*. Al finalizar la fase exponencial del crecimiento de la biomasa se determinó el rendimiento (Y) de la biomasa(X)/sustrato(S) de acuerdo a la siguiente ecuación 3.1

$$Y_{X/S} = \frac{(X_f - X_i)}{(S_i - S_f)} \quad \text{Ecuación 3.1}$$

A su vez, se realizaron ensayos similares a los anteriores pero con la diferencia de que se utilizaron cantidades altas de biomasa de la *comunidad 1* como inóculo de los sistemas (0,5 g/L). Se realizaron ensayos con 500 mg/L de IMZ, con y sin fuente de carbono (10 y 0 g/L de glucosa) y a pH controlado.

También se realizó un ensayo en *batch* con células en suspensión en un reactor fermentador *New Brunswick* de 5 L como se muestra en la *Figura 3.2*, con un volumen de líquido de 3 L, con agitación y aireación controlados automáticamente para que el O₂ disuelto siempre sea mayor al 20 %, la temperatura fue 25°C y se controló el pH en 6,7 por adición de una solución concentrada de NaOH. Se utilizó 1 % *v/v* de cultivo desarrollado en fase exponencial para inocular el reactor. Se utilizaron dos pulsos de fuente de carbono, el primero de 10 g/L y el segundo adicionado luego de que se agotó el primero de 5 g/L de glucosa), el ensayo se realizó con 500 mg/L de IMZ.

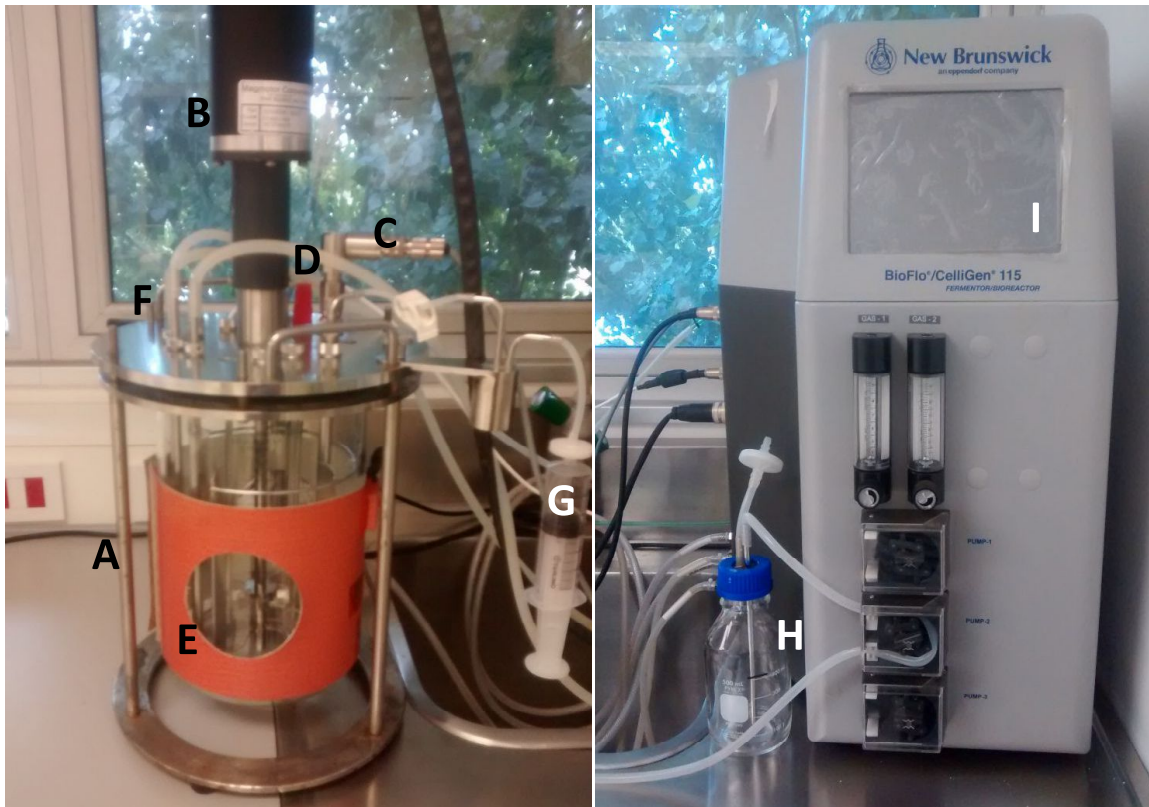


Figura 3.2 Fotografía del reactor fermentador. A) Vaso reactor. B) Motor para agitación con paletas. C) Oxímetro. D) pHmetro. E) Manta calefactora. F) Aireación. G) Toma de muestra. H) Control de pH a través de goteo con soluciones concentradas de H_2SO_4 o $NaOH$ con bombas peristálticas. I) Pantalla y control automático de parámetros.

3.2.4.2 Células inmobilizadas

Se utilizó un reactor biológico de lecho compacto cuya estructura consiste en un cilindro con entradas y salidas superiores e inferiores, y un difusor de gases por el cual se inyecta aire cumpliendo las funciones de aireación y agitación a la vez. El soporte utilizado en el reactor fue aproximadamente 450 g de vidrio triturado y tamizado entre mallas de 1 cm x 1 cm. En la *Figura 3.3* se muestra el reactor de *biofilm* con las bombas peristálticas, que le dan versatilidad para utilizar el reactor de *biofilm* inundado con rebalse alimentado por la parte inferior o por goteo superior alimentado por la parte superior.

Se promovió la formación del *biofilm* mediante renovación periódica del *medio de cultivo rico* con 500 mg/L de IMZ como presión selectiva en el reactor con soporte

inoculado con la *comunidad 1*. Esto se realizó hasta observar el establecimiento del *biofilm*.

Una vez establecido el *biofilm*, se realizaron ensayos de biodegradación en *batch*. El medio de cultivo se almacenó en una botella de 1 L, el líquido se recirculó desde la parte superior del reactor, alimentándolo por goteo, a través de una bomba peristáltica. Finalmente, el líquido sale del reactor por la parte inferior atravesando todo el *biofilm* y es reincorporado a la botella. El pH 7,0 se controló en forma continua con un equipo *Consort R305*. Se probaron distintas concentraciones de fuente de carbono (0,0; 2,5 y 10,0 g/L de glucosa), con 500 mg/L de IMZ. Se determinó IMZ y COT a lo largo del tiempo de duración de todos los sistemas. Entre cada ensayo se realizó una etapa de recuperación y regeneración del *biofilm* con *medio de cultivo rico líquido* con 500 mg/L de IMZ durante 3 días con el reactor inundado.



Figura 3.3 Fotografía del reactor de *Biofilm*. A) Columna con soporte para establecimiento del *biofilm*. B) Bombas peristálticas para alimentar con medio de cultivo y una solución de NaOH. C) Equipo Consort R305 utilizado para el control automático del pH.

3.3 Resultados y discusión

3.3.1 Aislamiento e identificación

Se utilizaron barros recolectados de una pileta de decantación de una industria empacadora de fruta como inóculo inicial y luego se realizaron sucesivos cultivos en *medio rico líquido* con concentraciones cada vez más altas de IMZ. De esta manera, se logró obtener una comunidad resistente a 500 mg/L de IMZ presente en el compuesto comercial Xedrel 50®, la cual se llamó *comunidad 1*. Como se mencionó anteriormente, se alcanzó una concentración de 500 mg/L de IMZ, ya que esta es una de las máximas concentraciones usadas en el tratamiento poscosecha de la fruta. Es de esperar encontrar microorganismos resistentes a los compuestos que se desean tratar si se utilizan inóculos provenientes de sitios contaminados con este tipo de sustancias.

Para determinar el número de especies presentes en la *comunidad 1*, este se cultivó por dilución en placas de *medio rico* sólido sin IMZ y se observaron diferencias fenotípicas entre las colonias desarrolladas (*Figura 3.4*). Se observó la predominancia de una cepa color beige. Probablemente esta cepa no sea la única que compone la *comunidad 1*, sino que fue la única cultivable en estas condiciones. Para determinar la composición global de una comunidad habría que realizar por ejemplo ensayos de *PCR-DGGE* los cuales permiten visualizar patrones de bandas que pueden ser usados para ver variaciones en la diversidad genética microbiana y arrojar un estimativo de la riqueza y abundancia de los miembros de la comunidad, este método es conocido como la huella de la comunidad ("*community fingerprinting*") y no fue posible realizarlo en este trabajo.

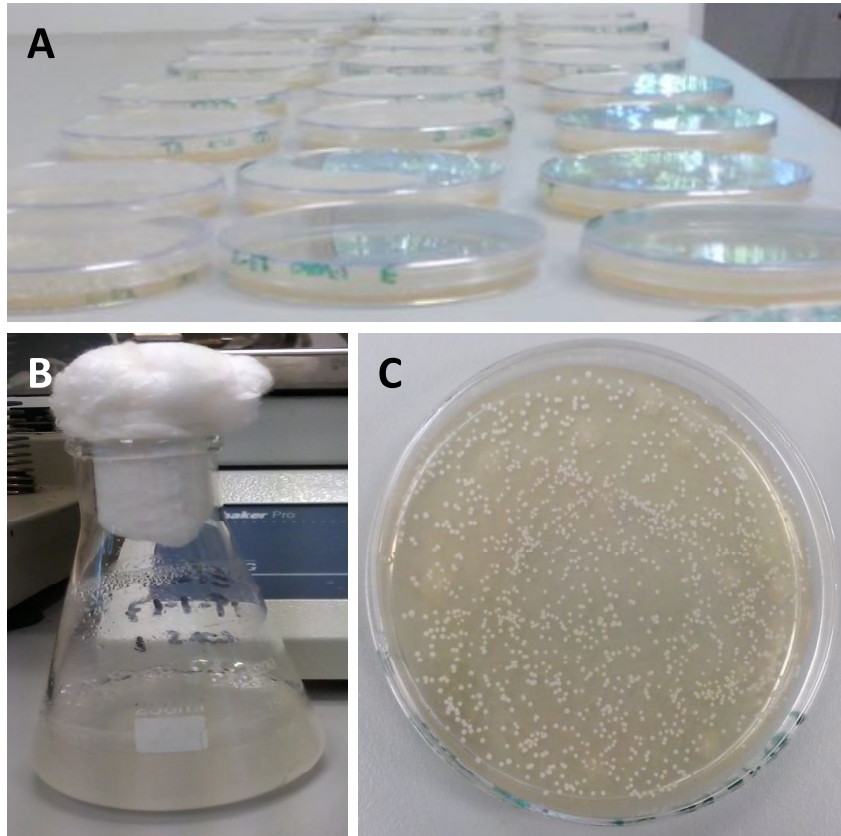


Figura 3.4 *Comunidad 1*. A) Plaqueo por dilución del *comunidad 1*. B) *Comunidad 1* crecido en medio líquido. C) Placa donde se observa la cepa beige.

A través de secuenciación de ADNr 16S se determinó que la cepa corresponde a la cepa *Burkholderia cepacia*. Esta pertenece al grupo Gram negativo y tiene un gran interés para la agroindustria, ya que se la utiliza como un agente de control biológico de hongos y a su vez tiene una extraordinaria versatilidad metabólica pudiendo degradar sustancias aromáticas cloradas (compuestos tóxicos encontrados en plaguicidas, algunos de estos posibles carcinógenos) por usarlas como fuente de carbono y energía (Holmes, 1998). También se ha reportado que se encuentra usualmente en suelos contaminados con hidrocarburos (Owsianiak, 2009; Zhang, 2007; Vandamme, 1994).

3.3.2 Ensayos de adsorción y biodegradación

3.3.2.1 Isotherma de adsorción

Se realizó una isoterma de adsorción con la biomasa de la *comunidad 1* crecida con IMZ. Los resultados mostraron que en las concentraciones de IMZ ensayadas (Figura 3.5), la adsorción no alcanzó un *plateau*. En concentraciones menores a 100 mg/L de IMZ no se observó adsorción, sino que por el contrario, hubo liberación de IMZ contenido en la biomasa usada como adsorbente. Como parte de la isoterma se realizó un punto sin IMZ y se encontró la liberación de 11 mg IMZ/g biomasa. El primer punto de la isoterma graficado es el de aproximadamente 100 mg/L de concentración de equilibrio (C_{eq}), ya que fue la concentración donde se empezó a observar adsorción. En la concentración a la que se realizaron los bioensayos (500 mg/L) el IMZ se adsorbió levemente sobre la superficie de los microorganismos, alrededor de 30 mg IMZ/g biomasa. El comportamiento de la isoterma sugiere que la biomasa tiene pocos sitios de adsorción de alta afinidad por el IMZ, lo que hace que a bajas concentraciones de IMZ no se observe adsorción, y mayor cantidad de sitios de baja afinidad que se activan solo a concentraciones altas de IMZ. Otros autores reportaron que el IMZ en muy bajas concentraciones (80 μ g/L) no es adsorbido por la biomasa en reactores de biomasa inmovilizada (Jiménez Tototzintle, 2015).

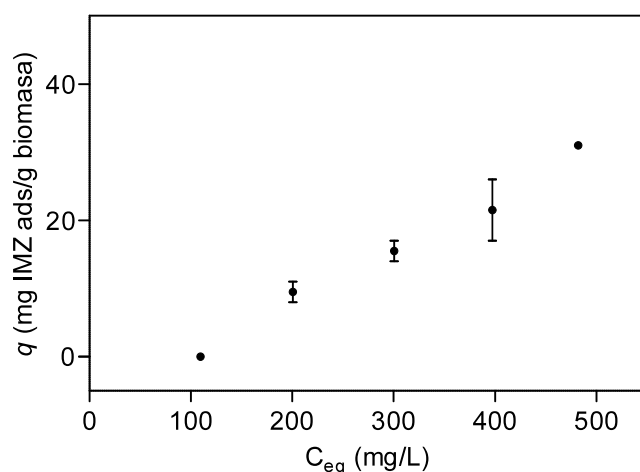


Figura 3.5 Isotherma de adsorción de IMZ con biomasa. Concentración de IMZ 0-500 mg/L; pH aproximadamente 7,0; cantidad de biomasa 1,5 g/L; tiempo de exposición 8 hs.

3.3.2.2 Comunidad con células en suspensión

Se estudió la posibilidad de degradar el IMZ y su influencia en la cinética de crecimiento de la comunidad resistente. Se realizaron ensayos en *batch* con células en suspensión con la *comunidad 1*. Se variaron las concentraciones de IMZ presente en una solución del plaguicida comercial, la cantidad de fuente de carbono fácilmente asimilable (glucosa) y el pH; todos los sistemas fueron inoculados con baja concentración de inóculo de la *comunidad 1*: 1 % v/v (0,005 g/L). Se realizó una curva de calibración donde se relacionó la turbidez de muestras de biomasa en suspensión con su peso seco de acuerdo a lo detallado en el *Capítulo 2*. Así, se obtuvo la siguiente ecuación $Y = 2,951 X$ ($R^2 = 0,996$), donde la concentración de la biomasa (X) como peso seco en g/L se relacionó con la turbidez de las muestras (Y) en u.a.. De esta forma, en los ensayos de biodegradación se midió la biomasa en el tiempo a través de la medida de turbidez siendo esta una técnica muy sencilla y rápida para cuantificar este parámetro.

En principio se expusieron los microorganismos resistentes a 500 mg/L de IMZ sin el agregado de glucosa, en este caso no se observó crecimiento de la biomasa, por lo tanto cuando el inóculo es pequeño, la biomasa no utiliza el IMZ ni los coadyuvantes del Xedrel 50® como única fuente de carbono y energía (*Figura 3.6 a*). Para el caso con 4,5 g/L de glucosa con 500 mg/L de IMZ y pH inicial 7,0 (sin control de pH), se observó que el crecimiento de la biomasa se detuvo al mismo tiempo en el que el pH descendió hasta valores cercanos a 3,0 (*Figura 3.6 b*). La disminución del pH es consecuencia de la asimilación del amonio cuando éste es la principal fuente de N del medio. A su vez, el COT disminuye levemente y se mantiene constante al mismo tiempo que el crecimiento de la biomasa se detiene. El crecimiento de la comunidad podría detenerse como consecuencia del bajo valor de pH. Para verificar esta posibilidad, se realizó un cultivo con pH inicial 3,0. En este experimento no se observó desarrollo del cultivo, lo que confirmó que el crecimiento de la biomasa se inhibe a pHs ácidos cercanos a 3,0. A su vez, estos resultados indicaron que es necesario un control del pH a lo largo del cultivo.

En los casos con 4,5 g/L de glucosa y pH controlado a valores cercanos a 7,0 a lo largo de todo el experimento, con y sin IMZ, se observó un desarrollo similar de la biomasa, con curvas de crecimiento muy parecidas en ambos sistemas, observándose un $Y^{x/s}$ de 0,22 para el caso sin IMZ y 0,24 con IMZ, con un desarrollo de la biomasa que alcanzó su máximo en 3 días y fue de 1 g/L aproximadamente. Por lo tanto, el $Y^{x/s}$ no fue afectado por la presencia de IMZ en altas concentraciones, lo que indica que la

comunidad se adaptó al fungicida y no gastó fuente de energía extra para su mantenimiento. Lo mismo ocurrió para el caso con mayor cantidad de fuente de carbono (*Figura 3.6 a*), donde se obtuvo un $Y_{x/s}$ de 0,22 y cerca de 2 g/L de biomasa. La *Figura 3.6 c* muestra que en los sistemas que contienen IMZ además de glucosa con control de pH, el COT decrece hasta valores cercanos a 500 mgC/L, lo que sugiere que el COT proveniente del Xedrel 50® no desapareció, ya que en el caso del control sin IMZ con 4,5 g/L de glucosa el COT disminuyó mucho más, alcanzando valores cercanos a 100 mgC/L. En cuanto al IMZ (*Figura 3.6 d*), solo en los casos donde se agregó fuente de carbono adicional, se observó la disminución del fungicida hasta un 50% con respecto al valor inicial. Dado que el IMZ disminuyó mientras que el COT se mantuvo cercano a la concentración inicial (aportada por el Xedrel 50®), el IMZ no fue mineralizado por la biomasa sino que probablemente fue convertido en otras especies orgánicas. Esto último es difícil de confirmar, ya que el COT aportado por el IMZ que desaparece sería como máximo 125 mgC/L (el 50 % del peso del IMZ es C) y la biomasa podría estar formando metabolitos o distintos productos de degradación, a su vez las células que mueren podrían estar liberando otros compuestos orgánicos que complicarían discernir el origen de esa carga orgánica.

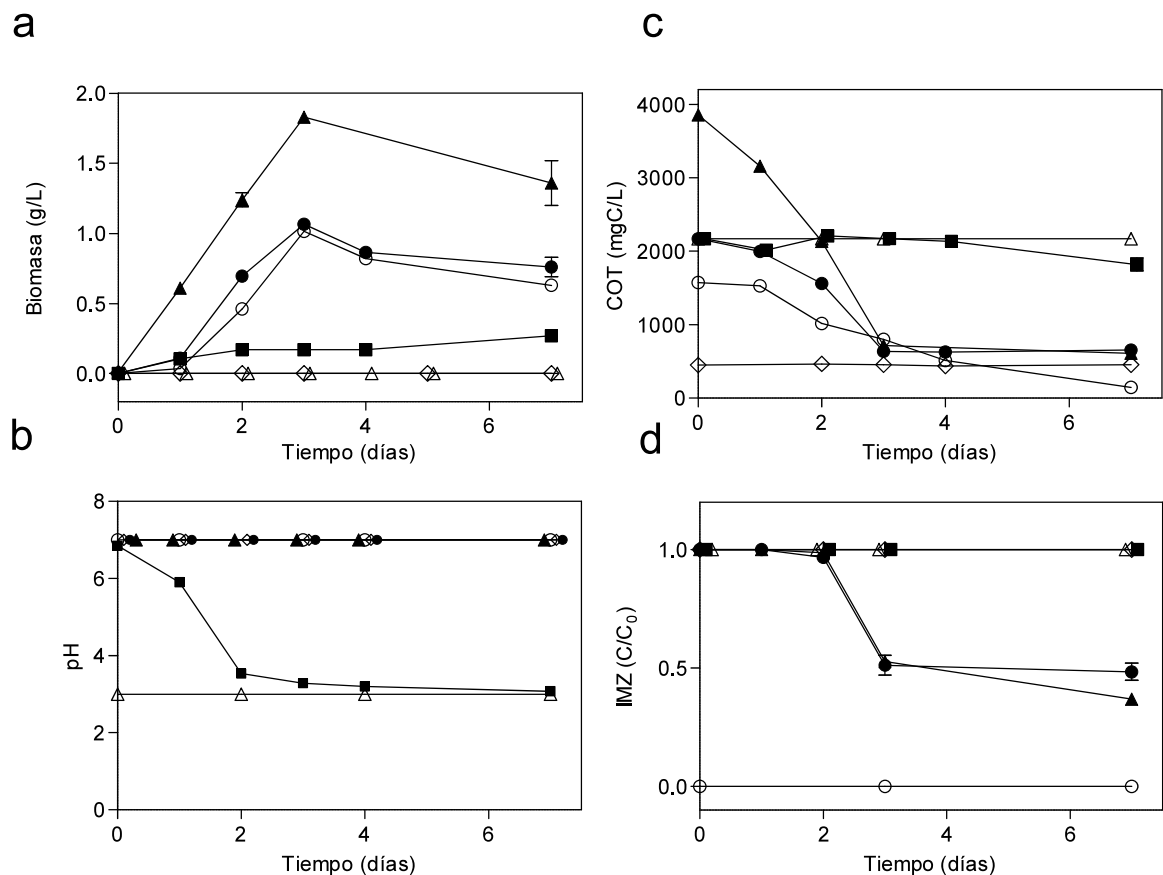


Figura 3.6 Evolución de la biomasa (a), pH (b) COT (c) e IMZ (d) durante el tratamiento biológico. 4,5 g/L glucosa, 500 mg/L IMZ, pH_i 7,0 (■); 4,5 g/L glucosa, 500 mg/L IMZ, pH_i 3,0 (△); 4,5 g/L glucosa, sin IMZ, pH 7,0 controlado (○); sin glucosa, 500 mg/L IMZ, pH 7,0 controlado (◇); 4,5 g/L glucosa, 500 mg/L IMZ, pH 7,0 controlado (●); 8,5 g/L glucosa, 500 mg/L IMZ, pH 7,0 controlado (▲).

Estos sistemas en frascos agitados, presentan muchas limitaciones, siendo la principal, la concentración de O₂ disuelto, esta variable es de suma importancia para un cultivo y podría estar limitando el desarrollo de la comunidad y por ende, la eficiencia en la degradación del IMZ. Por este motivo se repitió el sistema con alta cantidad de fuente de carbono en el fermentador mostrado en la *Figura 3.2* donde las variables (temperatura, pH, O₂ disuelto, etc.) se pueden controlar automáticamente por el equipo, el porcentaje de O₂ se mantuvo siempre mayor al 20 %. En este caso, los resultados fueron similares a los

encontrados en los frascos, se observó un aumento de la biomasa a medida que descende el COT y un descenso en la concentración de IMZ también a medida que aumenta la biomasa, alcanzado una concentración de alrededor de 260 mg/L. Además se observó un aumento en la concentración del IMZ cuando la biomasa se queda sin fuente de carbono y empieza a morir, probablemente al morir las células se libera el IMZ adsorbido. Esto no se observó en los ensayos en *batch*, porque fueron más cortos y no se llegó a observar muerte celular.

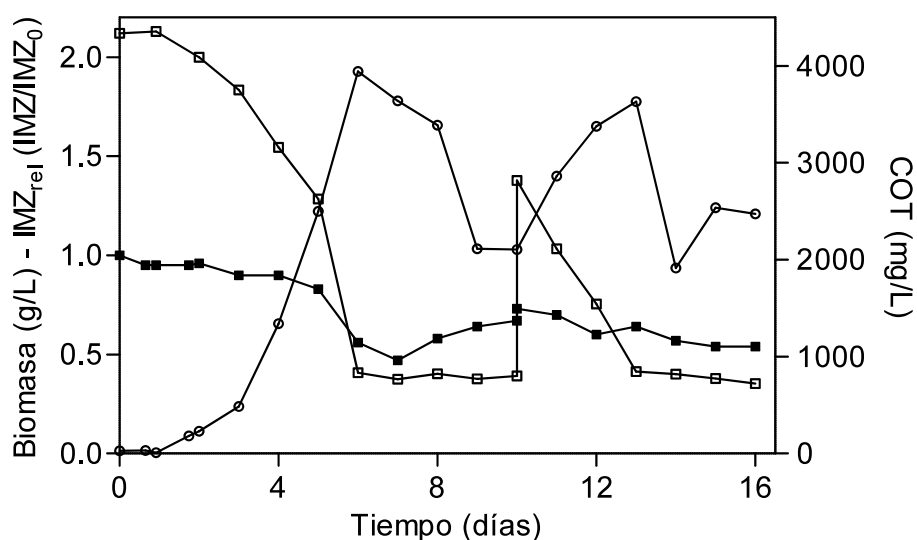


Figura 3.7 Evolución de la biomasa (○), COT (□) e IMZ (■) durante el tratamiento biológico en el fermentador con 500 mg/L de IMZ. Primer pulso: 10 g/L glucosa, segundo pulso: 5 g/L.

Por otro lado, cuando la *comunidad 1* se expuso a 50 mg/L de IMZ con 10,0 g/L de glucosa y control de pH, la biomasa se desarrolló normalmente pero no se observó disminución de la concentración del plaguicida en solución (Figura 3.8). Estos resultados sugerirían que el IMZ es solo degradado por la biomasa cuando este se encuentra en altas concentraciones, y probablemente por este motivo, en los experimentos anteriores tampoco se observó una desaparición total del mismo, sino que alcanzó una concentración final de aproximadamente 250 mg/L. Estos resultados también coinciden

con el comportamiento de la biomasa en la isoterma, donde a bajas concentraciones no hay adsorción mientras que a altas concentraciones de IMZ se observa disminución del IMZ en solución.

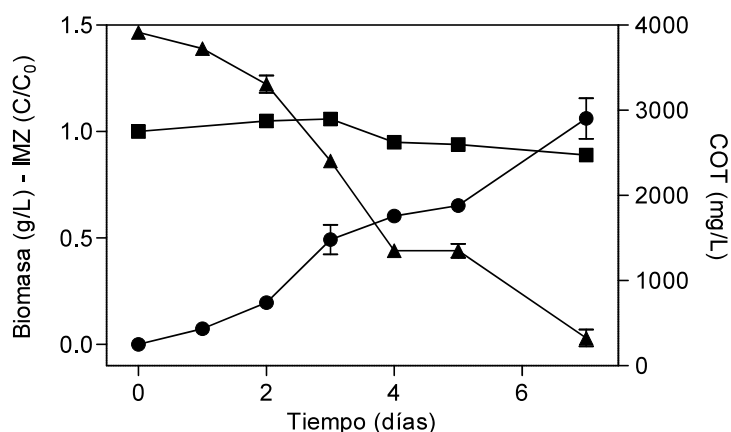


Figura 3.8 Evolución de la biomasa, COT e IMZ durante el tratamiento biológico con 50 mg/L de IMZ. IMZ (■); biomasa (●); COT (▲).

La *comunidad 1* de células en suspensión resultó resistente a altas concentraciones de IMZ, alrededor de 500 mg/L. Si bien la biomasa fue resistente, esta no fue capaz de utilizar el IMZ y coadyuvantes del Xedrel 50® como única fuente de carbono y energía cuando las células se encuentran en suspensión y el inóculo es bajo (1% v/v). Cuando la concentración de glucosa fue suficientemente alta como para formar cantidades considerables de biomasa (del orden de los g/L), el IMZ se degradó parcialmente hasta alcanzar concentraciones de alrededor de 250 mg/L en solución (50 % de degradación), mientras que para cantidades similares de biomasa en suspensión y una concentración de IMZ 10 veces menor (50 mg/L) éste se mantuvo constante en el tiempo. Estos resultados sugerirían que es necesaria una combinación de dos parámetros para que haya desaparición de IMZ, alta cantidad de biomasa y alta concentración de IMZ. Por otro lado, la *comunidad 1* está adaptada a altas concentraciones de IMZ, y probablemente concentraciones menores a 250 mg/L no le afecten y no necesiten disminuir su concentración a valores menores. Esto también se observó en el $Y_{x/s}$ de la *comunidad 1* creciendo con y sin IMZ, donde estos fueron similares.

Para determinar si la cantidad de inóculo inicial en un cultivo con células en suspensión es determinante para la desaparición del IMZ, se realizaron cultivos con células en suspensión e inóculos altos (0,5 g/L de biomasa inicial). En esta oportunidad se observó que, tanto para el cultivo con glucosa como el cultivo sin glucosa, el IMZ desapareció de la solución (Figura 3.9). Sin embargo, a medida que pasa el tiempo en el cultivo sin fuente de carbono adicional, la concentración de IMZ comienza a aumentar nuevamente y la biomasa a disminuir, esto indicaría que la biomasa incorpora el IMZ pero cuando muere por la falta de fuente de carbono, el IMZ es liberado nuevamente. Cuando hay fuente de carbono adicional, la concentración de IMZ disminuye y alcanza valores similares (300 mg/L) a los del cultivo con un inóculo inicial pequeño.

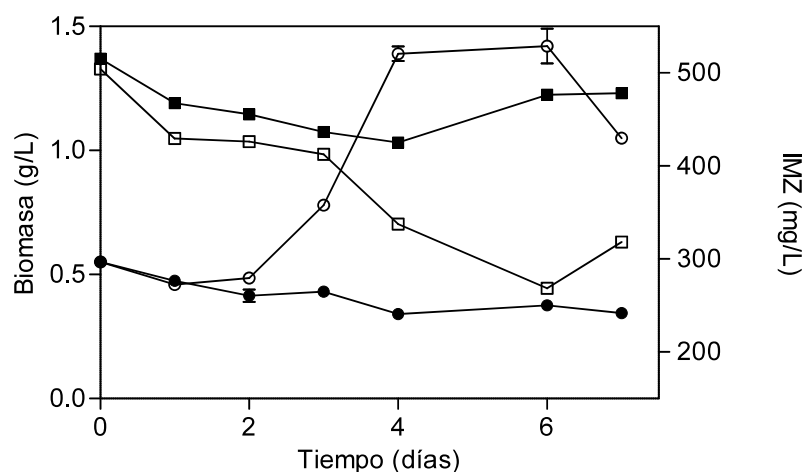


Figura 3.9 Evolución de la biomasa e IMZ durante el tratamiento biológico con un inóculo inicial alto, 500 mg/L de IMZ, con (símbolo blanco) y sin (símbolo negro) fuente de carbono adicional. IMZ (□, ■); biomasa (○, ●).

La biomasa en suspensión necesita fuente de carbono fácilmente asimilable para su crecimiento. Una vez formada una cantidad apreciable de biomasa (con o sin fuente de carbono adicional) la biomasa es capaz de disminuir la concentración de IMZ del medio, ya sea por incorporación, adsorción o degradación.

3.3.2.3 Comunidad con células inmovilizadas

Se estudió la posibilidad de degradar el IMZ con la *comunidad 1* en un sistema de células inmovilizadas. La formación del *biofilm* implicó un periodo de aproximadamente 45 días a 2 meses y la renovación periódica del *medio de cultivo rico* con 500 mg/L de IMZ como presión selectiva. En los primeros días, se observó turbidez en el sobrenadante mientras que el soporte permaneció límpido, lo que indica que la población bacteriana en el reactor de lecho compacto se encontraba principalmente en suspensión. Luego de un periodo de 20 días aproximadamente, comenzó a formarse el *biofilm*, para finalmente establecerse sobre toda la superficie del soporte alrededor de los 45 días. En la *Figura 3.3* se puede observar una foto ampliada del *biofilm* establecido. Hay que tener en cuenta que el *biofilm* se encuentra en un estado estacionario de generación y degradación de la matriz y de la biomasa.

Con el *biofilm* establecido, se realizaron ensayos en *batch* con distintas cantidades de fuente de carbono (10,0, 2,5 y 0,0 g/L de glucosa) a pH constante 7,0 y 500 mg/L de IMZ. Se observó desaparición del IMZ en todos los casos (*Figura 3.10 a*), siendo mayor en el sistema con más cantidad de fuente de carbono, alcanzando aproximadamente un 78% de degradación del IMZ. El COT disminuyó en todos los casos con agregado de glucosa y se mantuvo constante alrededor de 500 mgC/L en el caso sin fuente de carbono extra (*Figura 3.10 b*). Esta cantidad de COT sugiere que el IMZ se estaría degradando pero no mineralizando ni adsorbiendo sobre la biomasa de *biofilm*, ya que es la cantidad de COT aportada por el compuesto comercial, pero como se comentó anteriormente, esto no se podría confirmar ya que el COT es un parámetro general, y se podría estar cuantificando metabolitos, materia orgánica producto de la biomasa muerta, etc.

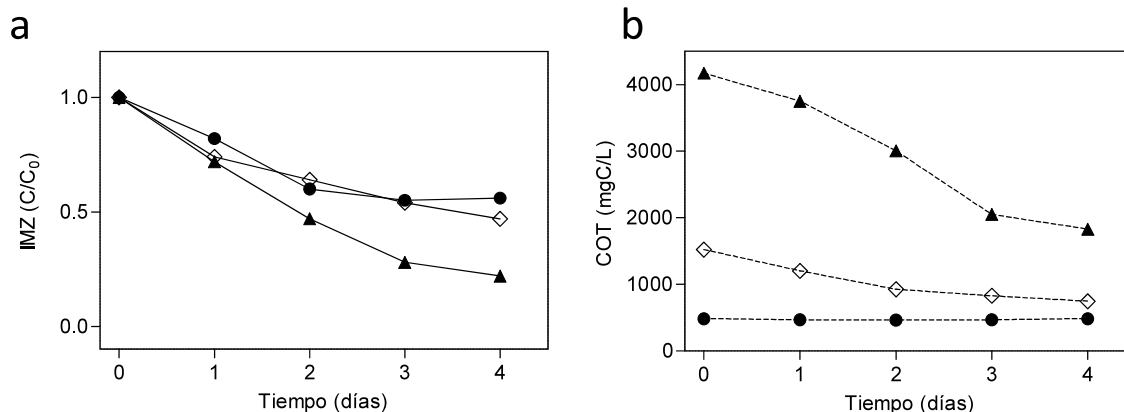


Figura 3.10 Evolución del IMZ (a) y del COT (b) en el tratamiento biológico con células inmovilizadas. Sin glucosa (●); 2,5 g/L de glucosa (◇); 10 g/L de glucosa (▲)

El *biofilm* presentó ventajas con respecto a las células planctónicas. En el caso con células inmovilizadas sin el agregado de fuente de carbono extra, se observó desaparición de IMZ, situación que no había ocurrido con los microorganismos en suspensión con bajas cantidades de inóculo aunque sí con altas cantidades de biomasa. Y a su vez con aproximadamente la misma cantidad de fuente de carbono agregada, se obtuvieron mejores resultados con los microorganismos creciendo en *biofilm*, ya que hubo un mayor porcentaje de biodegradación y a una velocidad mayor. Estas diferencias encontradas en la degradación del plaguicida por los microorganismos creciendo en suspensión y en *biofilm* podrían deberse a diferencias en la composición de las comunidades microbianas (Veraghen, 2011). A su vez, un *biofilm* tiene mayores posibilidades de biodegradar contaminantes por su capacidad de adaptación y supervivencia (Singh, 2006).

Como se mencionó en la sección 3.1, Karas (2011) comprobó que un hongo fue capaz de degradar el IMZ a pesar de su toxicidad, pero en este trabajo se demostró que una comunidad de bacterias resistente a altas concentraciones de IMZ, fue capaz de resistir y degradar parcialmente una solución con 500 mg/L de IMZ. Este valor es 10 veces mayor al reportado previamente (Karas, 2011). La cantidad de IMZ degradada fue cercana a 250 mg/L con una concentración de biomasa de 1-2 g/L.

Un estudio en detalle de los mecanismos de biodegradación está fuera del alcance de este trabajo, sin embargo la desaparición del IMZ podría deberse a un ataque

inespecífico al compuesto target (IMZ) debido a acción enzimática. Se conoce que la enzima oxidante lacasa en presencia de un mediador (lacasa/sistema mediador) degrada el fungicida pos cosecha IMZ (Maruyama, 2007), y que el complejo enzimático peroxidasa-lacasa está envuelto en la degradación inespecífica de varios plaguicidas (Karas, 2011). Existe evidencia bibliográfica de que la bacteria hallada en la *comunidad 1* y las cepas encontradas en la *comunidad 2* (como se verá en el *Capítulo 5*) presentan actividad lacasa (Kellner, 2008; Bugg, 2011). Además, a través de análisis bioinformáticos se reveló que una gran diversidad de bacterias tienen genes para la actividad de la enzima lacasa, ya que anteriormente se pensaba que esta enzima se presentaba solo en hongos (Ausec, 2011). Sin embargo, se realizaron ensayos para determinar la actividad de la enzima lacasa según lo detallado en el *Capítulo 2*, tanto en los cultivos en suspensión como en *biofilm* y no se registró actividad de dicha enzima en las condiciones estudiadas en el medio de cultivo ni en las células lisadas a través de ultrasonido.

3.4 Conclusiones

Se logró obtener una comunidad de microorganismos resistentes a 500 mg/L de IMZ presente en el plaguicida comercial Xedrel 50 ®. Se pudo identificar una cepa bacteriana perteneciente a *Burkholderia cepacia* presente en la *comunidad 1*. La comunidad fue capaz de degradar parcialmente el IMZ cuando el fungicida se encuentra en altas concentraciones, sin embargo en bajas concentraciones el IMZ no disminuye. Es necesaria fuente de carbono y energía fácilmente asimilable para obtener biomasa y lograr la degradación del IMZ con la *comunidad 1* creciendo como células en suspensión. Por otro lado, la *comunidad 1* establecida en forma de *biofilm* degrada el IMZ en forma más eficiente y a velocidades más altas que como células planctónicas.

El tratamiento biológico con la comunidad resistente a IMZ podría utilizarse para disminuir la materia orgánica biodegradable y parte del plaguicida de un efluente, sin embargo para eliminar completamente el IMZ sería necesario otro tratamiento complementario.

CAPÍTULO 4

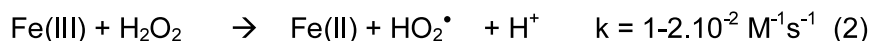
TRATAMIENTO FOTO FENTON

4.1 Introducción

4.1.1 Tratamientos foto Fenton

Las tecnologías avanzadas de oxidación (TAOs) constituyen uno de los tratamientos más promisorios para la descontaminación de efluentes con contaminantes orgánicos recalcitrantes. Como se mencionó en el *Capítulo 1*, las TAOs se basan en la generación de radicales hidroxilo OH• (entre otras especies reactivas como radicales superóxido, o “huecos” en fotocatalisis heterogénea). Los OH• son una de las especies conocidas más reactivas y esto se debe a su elevado potencial de reducción ($E^\circ = 2,80 \text{ V}$) solo superado por el átomo de flúor. Reacciona con la mayoría de las sustancias orgánicas de forma prácticamente no selectiva, y a velocidades muy altas. Los principales modos de reacción de los OH• con compuestos orgánicos incluye la abstracción del hidrógeno del carbono alifático, adición a dobles enlaces y a anillos aromáticos y la transferencia electrónica. Estas reacciones generan compuestos orgánicos radicales temporales, los cuales continúan reaccionando formando intermediarios hasta que el compuesto original desaparece por completo produciendo CO_2 , HNO_3 , H_3PO_4 , H_2O , etc.

Una de estas TAOs es el llamado proceso Fenton. Este está basado en la descomposición catalítica del H_2O_2 en presencia de Fe(II), generándose como productos Fe(III) y OH•, esta reacción se denomina reacción de Fenton (1) y fue descubierta por *H.J.H. Fenton* en 1894. A su vez, el Fe(III) puede ser reducido por H_2O_2 a Fe(II) y entrar otra vez al ciclo catalítico. Las siguientes reacciones (1 y 2) describen el proceso Fenton:



El proceso Fenton puede ser utilizado a temperatura ambiente y presión atmosférica. Emplea reactivos fácilmente disponibles, económicos y seguros para manipular, y que no causan daños en el medio ambiente.

Sin embargo, el proceso Fenton tiene dos desventajas, una relacionada con la pérdida del H_2O_2 por reacción con HO^\bullet en exceso (*reacción 3*) y por la descomposición a oxígeno molecular y agua (*reacción 4*); y por otro lado, la pérdida continua de Fe(II)/Fe(III) y la formación

de barros sólidos por precipitación de Fe(III) que precipita como oxohidróxidos férricos amorfos (*reacción 5*) a medida que el pH aumenta y pasa de ácido a neutro.



Como se mencionó anteriormente, la reacción de Fenton es fuertemente dependiente del pH de la solución debido principalmente a la especiación del Fe. El pH óptimo para la reacción es levemente por debajo de 3,0. En solución ácida el Fe(II) existe predominantemente como el ión hexahidratado $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$, que se hidroliza al aumentar el pH para dar FeOH^+ y $\text{Fe}(\text{OH})_2$ como se puede ver en la *Figura 4.1.a*. El $\text{Fe}(\text{OH})_2$ es 10 veces más reactivo que el Fe^{2+} , aumentando la tasa de la *reacción 1* para un pH superior a 3. Sin embargo lo que se observa durante la reacción de Fenton es que la velocidad tiende a ser máxima para un pH cercano a 3. Esto se debe a que a pH altos comienzan a aparecer especies de Fe (III) (*Figura 4.1.b*) que precipitan como oxohidróxidos férricos amorfos (*reacción 5*). Por otro lado, en un pH de aproximadamente 3 la mayor parte del hierro permanece soluble y la especie $\text{Fe}(\text{OH})^{2+}$ existe en una concentración mayoritaria con respecto a las otras especies de Fe (III).

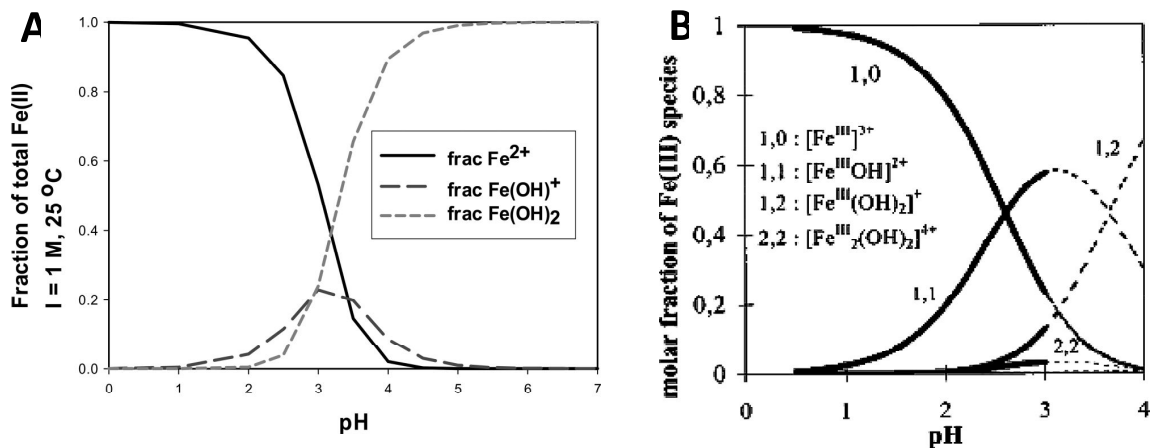
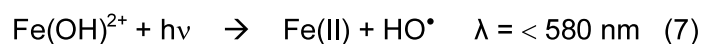


Figura 4.1 A) Especiación del Fe(II) en función del pH. B) Especiación del Fe(III) en función del pH, las regiones punteadas están supersaturadas de especies de oxohidroxidos férricos amorfos. Imágenes extraídas de *Pignatello, 2006*.

Usualmente el aumento de la cantidad de Fe, aumenta la velocidad de la reacción, sin embargo un incremento desmedido conduce a la formación de barro por la precipitación del exceso de Fe(III) en la forma de oxohidróxidos (cómo se comentó anteriormente). La concentración de H₂O₂ tiene un rol crucial en la eficiencia de degradación del proceso. Generalmente se obtiene un porcentaje de degradación de los contaminantes mayor cuanto mayor es la cantidad de H₂O₂ utilizada. Sin embargo, un exceso de H₂O₂ secuestra a los radicales HO[•] generados a través de la *reacción 3*, disminuyendo la eficiencia del proceso al desperdiciarse H₂O₂. (*Pignatello, 2006; Sychev, 1995; Gallarad, 1999*). Por otro lado, la presencia de un exceso de H₂O₂ en el efluente tratado, pone en riesgo el acoplamiento con un tratamiento biológico (tal como se discutirá más adelante).

La velocidad del proceso Fenton está limitada por la *reacción 2*, en la cual se regenera el Fe(II) que es necesario para la continuidad del ciclo. Sin embargo, el Fe(II) puede ser rápidamente producido por fotodescomposición del Fe(OH)²⁺, el cual es generado por la hidrólisis del Fe(III) (*reacciones 6 y 7*)





Este proceso se llama foto Fenton y se produce bajo iluminación con luz de longitudes de onda de hasta 550-580 nm (*Perez, 2002; Pignatello, 1999; Babuponnusami, 2014*).

El proceso foto Fenton se ha aplicado con éxito en el tratamiento de efluentes con plaguicidas. En el caso particular del IMZ, existen antecedentes que indican la posibilidad de aplicar esta técnica efectivamente, tanto en concentraciones bajas ($\mu\text{g/L}$) como en altas (mg/L) (*Jimenez, 2015; Santiago, 2013*). Algunos autores proponen la formación de ácidos orgánicos como productos de oxidación (con diferentes TAOs), los cuales son mas biodegradables que el compuesto original (*Hazime, 2012; Santiago, 2013 y 2015*), lo cual favorecería muchísimo un acoplamiento posterior con tratamientos biológicos.

Santiago y colaboradores (2013) proponen la siguiente vía de degradación del IMZ a través de fotocatalisis heterogénea con TiO_2 . Como se puede ver en la *Figura 4.2* se muestran algunos compuestos, los primeros productos de oxidación son sustancias muy parecidas al IMZ con la adición de HO^{\bullet} , y los productos finales ácidos carboxílicos como el oxálico y el malónico y compuestos inorgánicos como nitratos, amonio, dióxido de carbono y cloruros.

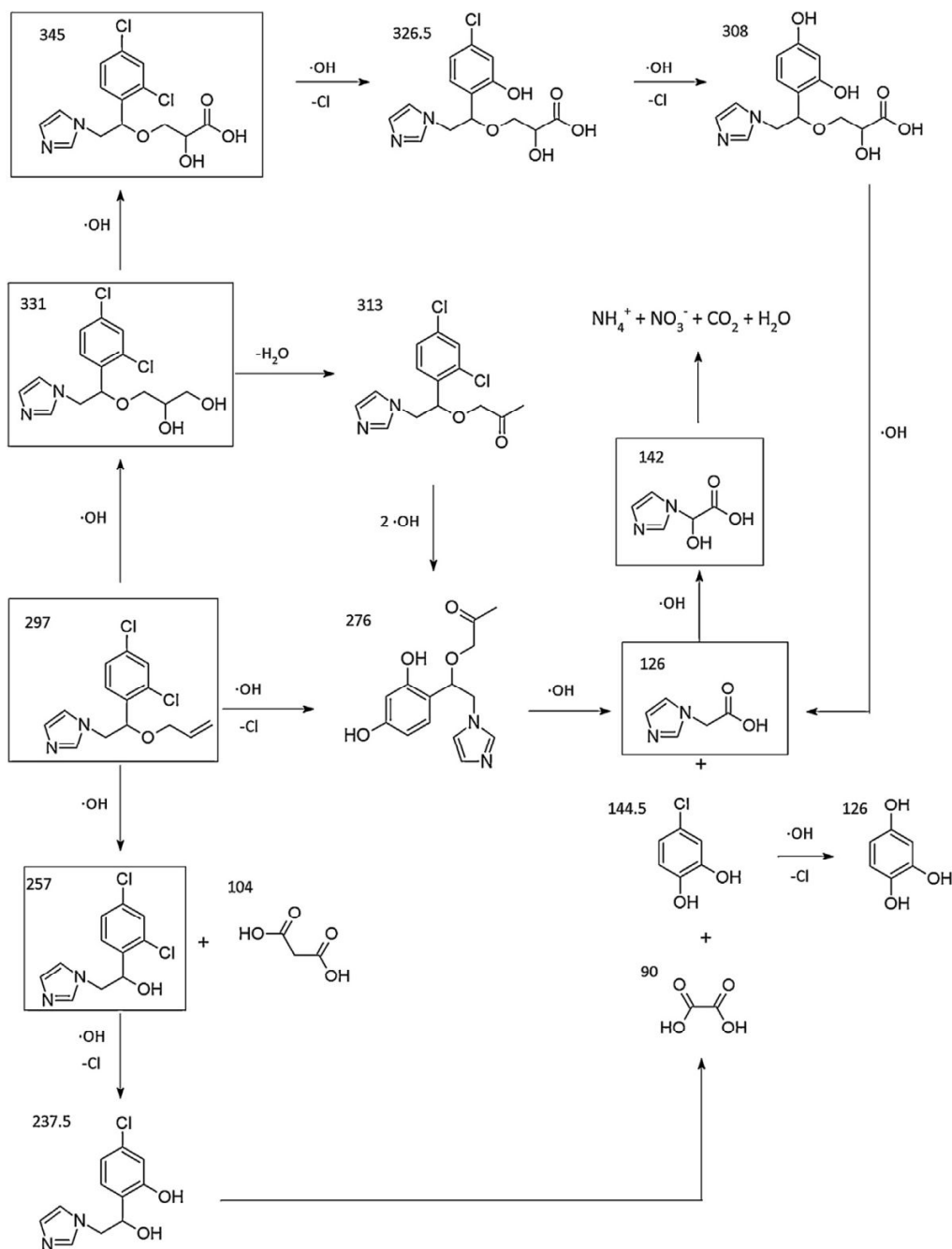


Figura 4.2 Vía de degradación del IMZ propuesta por *Santiago, 2013*.

La presencia de plaguicidas como el IMZ en efluentes acuosos puede resultar muy peligroso para la vida acuática, tal como se presentó en el *Capítulo 1*. Estos efluentes pueden generarse en el lavado de envases, en los efluentes de industrias emparadoras, en el caso de eliminar productos vencidos o en derrames entre otras posibilidades. Por eso es importante

contar con herramientas que permitan neutralizar eficientemente estos efluentes. La aplicación del proceso foto Fenton es una posibilidad atractiva por los motivos explicados anteriormente.

4.1.2 Objetivos

Oxidación de soluciones acuosas con altas concentraciones de IMZ procedente del fungicida comercial Xedrel 50® hasta su desaparición completa, analizar los grados de oxidación y mineralización de cada sistema para optimizar la concentración y el dosaje del H₂O₂.

Identificar intermediarios de oxidación producidos como consecuencia de la aplicación del proceso foto Fenton a una solución de IMZ puro.

4.2 Desarrollo experimental

4.2.1 Tratamiento foto Fenton de soluciones de Xedrel 50®

Se oxidaron parcialmente soluciones acuosas de Xedrel 50® a través de la aplicación del proceso foto Fenton. La concentración inicial de IMZ en todos los sistemas ensayados fue 500 mg/L, esta solución contiene 500 mgC/L de COT y un valor de DQO de 1350 mgO₂/L, medidos de acuerdo al *Capítulo 2*.

Como catalizador se incorporaron 0,15 mM de Fe(III) como FeCl₃·6H₂O a cada sistema. Esta concentración se seleccionó en base a la información bibliográfica disponible, en la que se utilizan concentraciones de Fe(III) cercanos a este valor para soluciones con un contenido de COT similar al de estos experimentos. No se realizaron experimentos con concentraciones más altas de Fe(III), para evitar la formación de lodos.

En lo que respecta al H₂O₂, con el objeto de optimizar su uso, se estudió el efecto de diferentes concentraciones de H₂O₂ y su dosificación. Las concentraciones finales de H₂O₂ empleadas fueron: 9, 27, 36, 40, 54 y 80 mM. Con el objeto de estudiar el efecto de la dosificación, el H₂O₂ se adicionó en etapas: 3x3 mM, 3x9 mM y 3x18 mM. Donde 3x3 mM corresponde a 3 dosis de 3 mM de H₂O₂, incorporando cada una de las dosis una vez consumida el H₂O₂ de la dosis anterior, y lo mismo para los demás casos. La concentración de H₂O₂ empleada resultó inferior a la necesaria para mineralizar completamente al IMZ, con excepción de los ensayos realizados con 80 mM. De acuerdo a la *reacción 8*, se necesita una

concentración de 55,44 mM de H₂O₂ para mineralizar completamente los 500 mg/L de IMZ. Sin embargo, con respecto al total de sustancias orgánicas presentes en el producto comercial Xedrel 50®, al no conocerse su composición, no es factible conocer con exactitud la cantidad de H₂O₂ necesaria para su mineralización estequiométrica. Como se conoce la cantidad total de carbono, pudo estimarse la cantidad máxima de H₂O₂ necesaria para mineralizarlo, considerando que el carbono se encuentra en su menor estado de oxidación (-4, en la forma de CH₄). Con esta aproximación, para 500 mgC/L (equivalente a 41,66 mM de C o de CH₄) se necesitarían 167 mM de H₂O₂.



Se realizaron diferentes controles: sin Fe(III); sin H₂O₂; sin luz y un cuarto control sin Fe(III), H₂O₂ ni luz. En todos los casos con H₂O₂ su concentración inicial fue 9 mM y en todos los casos con Fe(III) su concentración fue 0,15 mM.

Las reacciones fueron llevadas a cabo en reactores *batch*, como se muestra en la *Figura 4.3*, se trata de un frasco de vidrio *pyrex* de 600 mL de volumen envuelto en papel aluminio, iluminado desde arriba con una lámpara espiralada de luz negra *Interelec*® de 20 W, con aproximadamente 35 W/m² de radiación sobre la superficie de la solución problema. El volumen de líquido tratado fue 250 mL, se agitó magnéticamente, la temperatura se mantuvo constante a 25°C con un baño térmico, y el pH inicial de la solución fue 3,0, ajustado con H₂SO₄.

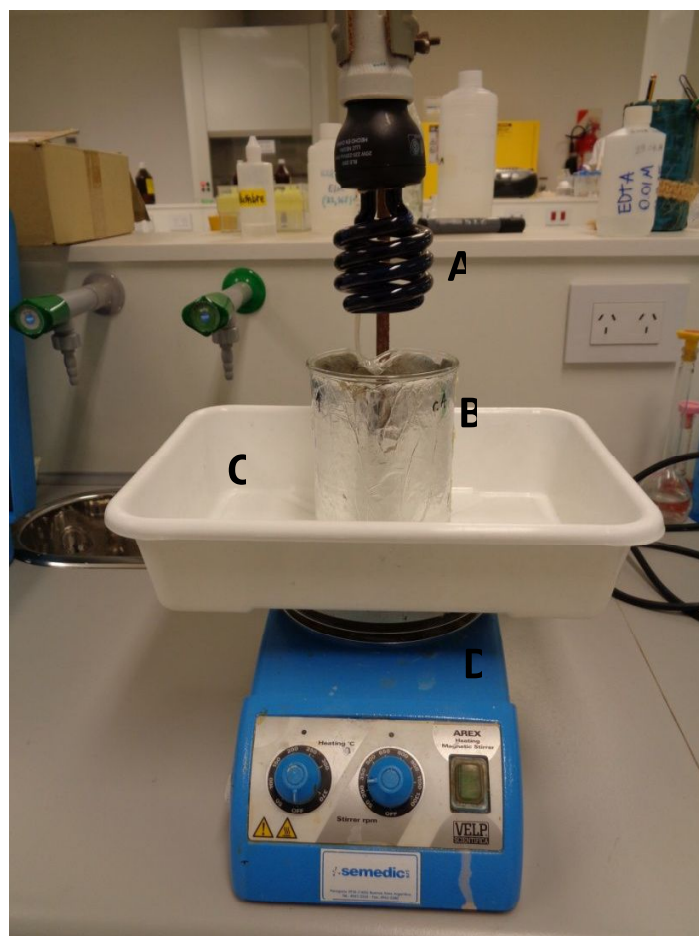


Figura 4.3 Fotografía del reactor utilizado para los tratamientos foto Fenton. A) Lámpara luz negra, B) Reactor, C) Baño térmico, D) Agitador.

Se tomaron muestras a lo largo del tratamiento para estudiar la cinética de la reacción y en cada una se determinaron concentraciones de IMZ, COT, H_2O_2 y pH. Al final del tratamiento se determinaron DQO y ácidos orgánicos, todas las determinaciones se realizaron de acuerdo a lo detallado en el *Capítulo 2*. El tratamiento foto Fenton se continuó hasta el consumo total del H_2O_2 . Todos los sistemas se realizaron por duplicado.

4.2.2 Tratamiento foto Fenton de una solución de Imazalil puro

Con el objetivo de identificar los intermediarios de oxidación del IMZ producidos a diferentes tiempos de tratamiento se oxidó parcialmente una solución acuosa de IMZ puro. Se utilizaron 100 mg/L de IMZ, se incorporaron 0,15 mM de Fe(III) como $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 9 mM de H_2O_2 , el experimento se realizó por duplicado en el sistema que muestra la *Figura 4.2* y el pH se ajustó a 3,0. Se tomaron muestras cada 15 minutos a lo largo del tratamiento para identificar intermediarios de oxidación del tratamiento foto Fenton a través de *HPLC-MS*, además se midió IMZ, COT, H_2O_2 y pH. Todas las determinaciones se realizaron de acuerdo a lo detallado en el *Capítulo 2*. El tratamiento foto Fenton se continuó hasta el consumo total de los 9 mM de H_2O_2 .

4.3 Resultados y discusión

4.3.1 Tratamiento foto Fenton de soluciones de Xedrel 50®

La *Figura 4.4* muestra la evolución de las concentraciones de IMZ y de H_2O_2 durante el tratamiento foto Fenton. Se utilizaron diferentes concentraciones y dosificación del H_2O_2 para determinar el uso más eficiente del oxidante. En todos los casos el IMZ fue completamente degradado en 4 hs, excepto en el sistema con 3 x 3 mM de H_2O_2 , ya que con la primera dosis de 3 mM de H_2O_2 no fue suficiente (*Figura 4.4.a*). La degradación del IMZ siguió una cinética de pseudo primer orden con vidas medias ($t_{1/2}$) en el intervalo de 1,5-0,4 hs dependiendo de la concentración inicial del H_2O_2 . A su vez, se realizaron diferentes controles: sin Fe(III), sin H_2O_2 , sin luz y un cuarto control sin Fe(III), H_2O_2 , ni luz y en ninguno de los casos se observó la degradación del IMZ (datos no mostrados).

En el consumo de H_2O_2 (*Figura 4.4.b*) se observan dos pendientes. La primera es una pendiente suave que se extiende desde el principio del tratamiento hasta la eliminación del IMZ. La segunda pendiente se extiende desde la eliminación del IMZ hasta el consumo total del H_2O_2 remanente. Este fenómeno puede estar asociado a los ácidos carboxílicos que se forman luego de la degradación del IMZ. Está reportado que los carboxilatos pueden complejar al Fe(III) y Fe(II). Los carboxilatos de Fe(III) fotolizan rápidamente reduciendo el Fe(III) a Fe(II) (*Nichela, 2015*). Además, los carboxilatos de Fe(II) reaccionan más rápido con H_2O_2 que el Fe(II) (*Faust, 1993*). Estos dos efectos podrían conducir al consumo más rápido del H_2O_2 observada después de la degradación del IMZ.

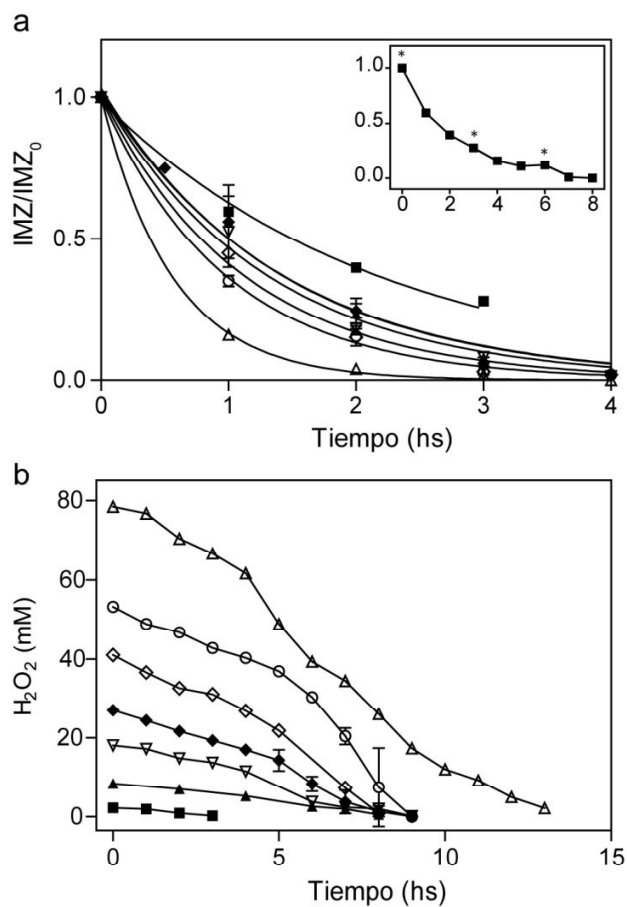


Figura 4.4. a) Evolución de la concentración de IMZ durante el tratamiento foto Fenton. b) Evolución de la concentración de H_2O_2 en cada sistema.

3 mM (■), 9 mM (▲), 18 mM (▽), 27 mM (◆), 40 mM (◇), 54 mM (○), y 80 mM (△), 3 x 3 mM (■) se encuentra en el inserto, * tiempos a los cuales se adicionaron dosis de H_2O_2 .

Al finalizar el tratamiento foto Fenton en cada sistema (cuando se consumió todo el H_2O_2) se determinaron los valores de COT, DQO y ácidos orgánicos. Los resultados se encuentran en la *Tabla 4.1*.

Tabla 4.1 Porcentajes de mineralización y oxidación, y concentración de ácidos orgánicos producidos en los diferentes sistemas

H ₂ O ₂ (mM)	Mineralización (%)	Oxidación (%)	Ácidos orgánicos (mgaa/L)
0	0	0	0
9	0	22	172
3 x 3	0	28	224
27	4	48	485
3 x 9	5	49	519
36	7	52	494
40	10	55	475
54	27	67	466
3 x 18	47	74	357
80	59	81	279

Se observó que a medida que la concentración de H₂O₂ aumenta, los porcentajes de oxidación y mineralización aumentan. La reducción de DQO es notablemente más alta que la reducción de COT. Esto indica que los compuestos orgánicos presentes en la solución se oxidaron con respecto a los compuestos originales, y solo en algunos casos llegaron a mineralizarse dependiendo de la concentración y/o la dosificación de H₂O₂ en cada caso. En los sistemas con 9 mM en total de H₂O₂ (3 x 3 mM y 9 mM) no hubo mineralización, lo que indica que la concentración del oxidante no fue suficiente para mineralizar los componentes del Xedrel 50®, aunque sí se observó una disminución en el valor de DQO. Cuando el H₂O₂ fue incorporada en dosis (3 x 3 mM, 3 x 9 mM y 3 x 18 mM) la DQO disminuyó más que en los sistemas con la misma cantidad total de H₂O₂ pero incorporada en una sola dosis (9 mM, 27 mM y 54 mM), resultados similares se observaron con el COT. Por lo tanto, la incorporación del H₂O₂ en dosis resultó más eficiente para la oxidación y mineralización que la incorporación de la misma cantidad de oxidante en una dosis simple. Resultados similares fueron reportados por otros autores en diferentes sistemas. *Yamal-Turbay (2012, 2013)* y colaboradores lograron utilizar eficientemente el H₂O₂ a través de la dosificación, lo que mejoró significativamente el rendimiento del tratamiento foto Fenton de soluciones acuosas con cafeína y tetraciclina respectivamente. Este efecto podría estar relacionado con el secuestro de los •OH por el H₂O₂

cuando se aplica una dosis inicial concentrada. Este proceso genera especies HO_2^* (reacción 3) que son menos reactivos (Pouran, 2015; Primo, 2008).

En todos los sistemas se formaron ácidos orgánicos en el intervalo de 172-519 mgaa/L (Tabla 4.1), la concentración de ácidos orgánicos formados aumentó con la concentración de H_2O_2 , alcanzando un máximo en el sistema con 3 x 9 mM de H_2O_2 . Concentraciones mayores a 27 mM de H_2O_2 llevaron a mayor mineralización y reducción de la DQO y menores concentraciones de ácidos orgánicos remanentes. Estos resultados indican que los ácidos orgánicos fueron oxidados a CO_2 con concentraciones mayores a 27 mM de H_2O_2 con la consecuente reducción de su concentración y el incremento de la mineralización. Algunos ácidos orgánicos como el acético son refractarios a este tipo de oxidaciones por su baja constante de velocidad de reacción con los $^*\text{OH}$ y se acumulan en solución (Santiago, 2015). El pH final en los sistemas fue alrededor de 2,7-2,2, la disminución del pH podría estar asociada con la formación de los ácidos orgánicos como intermediarios de reacción. Recientemente, algunos autores estudiaron las vías de degradación del IMZ puro en bajas concentraciones con diferentes TAOs (Hazime, 2012, 2013, 2014; Santiago 2013, 2014, 2015). Ellos reportaron que en los estadios más tempranos de la oxidación, varios intermediarios se forman por hidroxilación del anillo aromático o del doble enlace carbono-carbono. En los estadios finales, antes de completar la mineralización, los principales productos formados fueron ácidos carboxílicos. Santiago y colaboradores (2013), reportaron la presencia de los ácidos fórmico, acético y oxálico después de la oxidación por Fenton y foto Fenton de 50 mg/L de IMZ, la vía de degradación que propusieron se muestra en la Figura 4.2. Algunos ácidos orgánicos se podrían formar a partir de la apertura del anillo aromático de los compuestos intermediarios (Zazo, 2005). Zazo y colaboradores (2005) proponen la siguiente vía de degradación del fenol por tratamiento Fenton (Figura 4.5), como se puede observar se forman numerosos ácidos orgánicos de cadena corta. De esta misma manera se podrían formar los ácidos orgánicos encontrados en la degradación del IMZ. La degradación de IMZ por TAOs tiene un mecanismo complejo de degradación, donde los intermediarios alcanzan diferentes estados de oxidación y presentan diferentes velocidades de consumo de H_2O_2 . No se descarta la posibilidad de complejación del Fe(III) con intermediarios de oxidación, porque se conoce que los ácidos carboxílicos forman complejos con Fe(III) (Zapata, 2010a). En particular, el complejo Fe(III)-oxalato tiene un rol activo en los procesos de foto activación y pueden ayudar a la degradación de los compuestos orgánicos en solución (Santiago, 2015).

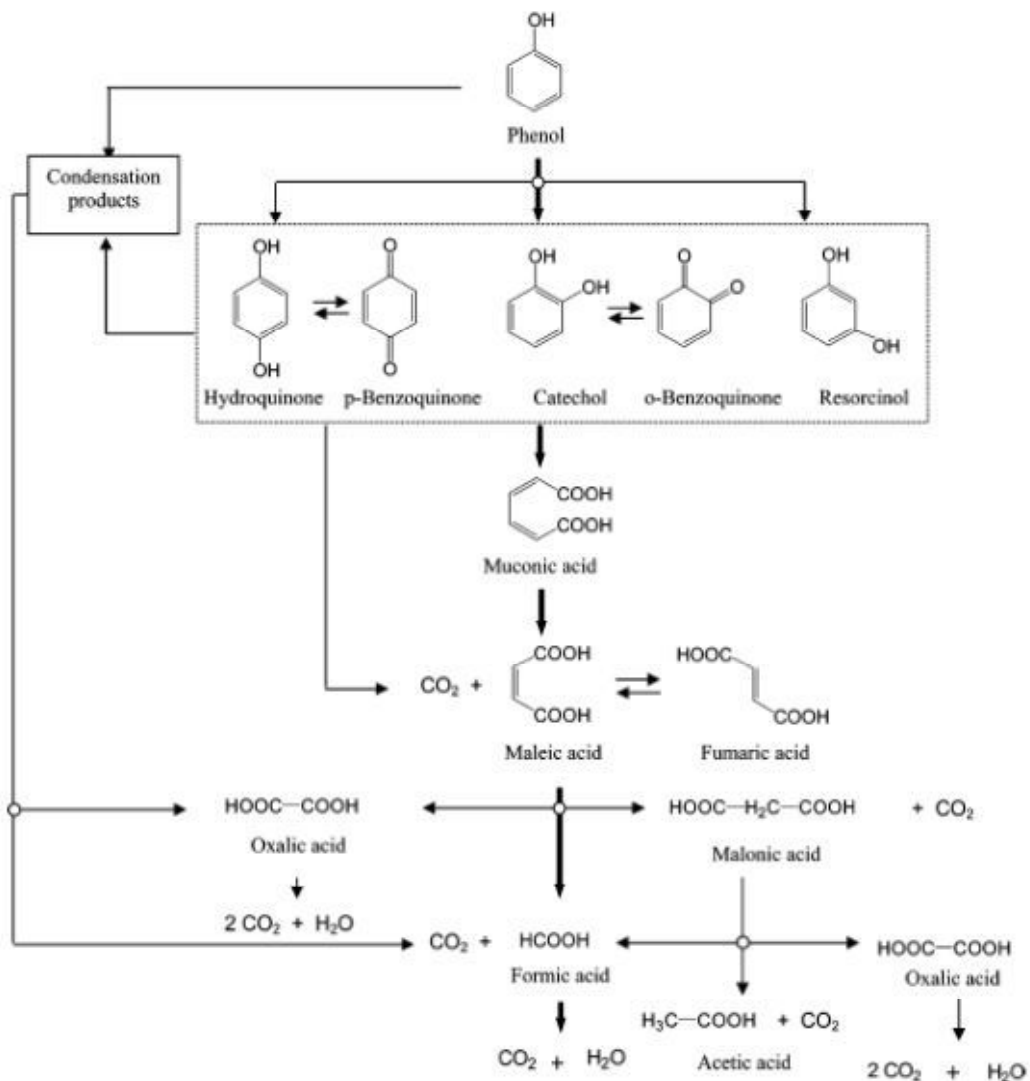


Figura 4.5 Vía de degradación del fenol propuesta por Zazo, 2005.

4.3.2 Tratamiento foto Fenton de una solución de Imazalil puro

Con el objetivo de caracterizar la degradación del IMZ en el sistema utilizado en el laboratorio, se estudiaron los intermediarios de oxidación formados a diferentes tiempos de reacción y se buscó identificarlos utilizando referencias bibliográficas. El tratamiento se extendió 3,5 hs hasta el consumo total del H₂O₂. El IMZ se degradó por completo en 90 minutos (Figura 4.6) con un t_{1/2} de 23 minutos, valor mucho menor a los encontrados anteriormente, probablemente debido a que en este caso no hay coadyuvantes en solución que compitan por

los OH^{\bullet} , y además la concentración de IMZ usada en este caso fue menor (100 mg/L). En las condiciones de análisis por *HPLC-MS* empleadas para separar el IMZ y sus productos de oxidación, se encontraron 8 principales intermediarios de oxidación en los primeros 90 minutos.

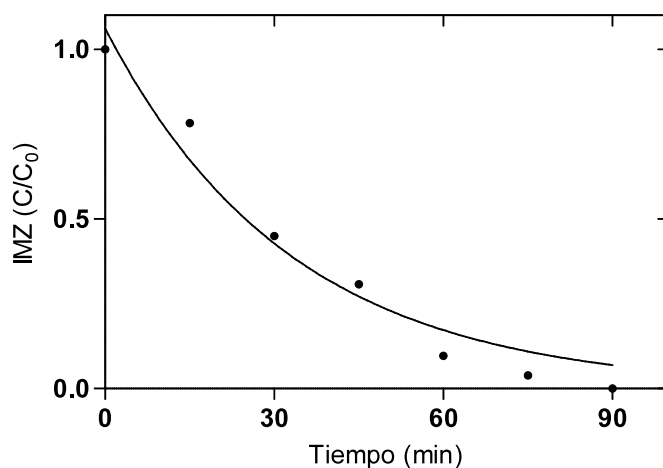


Figura 4.6. Evolución de la concentración relativa de IMZ puro en el tiempo.

La *Figura 4.7* presenta el cromatograma y el espectro de masas correspondiente al tiempo 0 de tratamiento. Se observó solo una señal, correspondiente a la molécula de IMZ, a los 9,4 minutos de elución. Este pico está conformado por los iones m/z 297 y 299 principalmente. Esta diferencia de 2 g/mol entre las dos moléculas de IMZ se debe a la isotopia del Cl, ya que en la naturaleza el Cl se encuentra como Cl^{35} en un 75% y su isótopo Cl^{37} en un 25%. Como la molécula de IMZ contiene dos átomos de Cl, el 56% de las moléculas de IMZ van a estar formadas por dos átomos de Cl^{35} , el 37,5% por un átomo de Cl^{35} y otro de Cl^{37} , y finalmente el 6,2% de las moléculas de IMZ van a contener dos átomos de Cl^{37} . A su vez, en el espectro de masas del IMZ, se ven dos señales más, la primera con una m/z principal de 338 correspondiente a un aducto formado entre el IMZ y el acetonitrilo; y la segunda correspondiente a la unión de dos moléculas de IMZ con un m/z principal de 595. Todos los primeros intermediarios encontrados, producto del tratamiento oxidativo, presentaron isotopia debida a los dos átomos de Cl, lo cual ayudo a identificarlos.

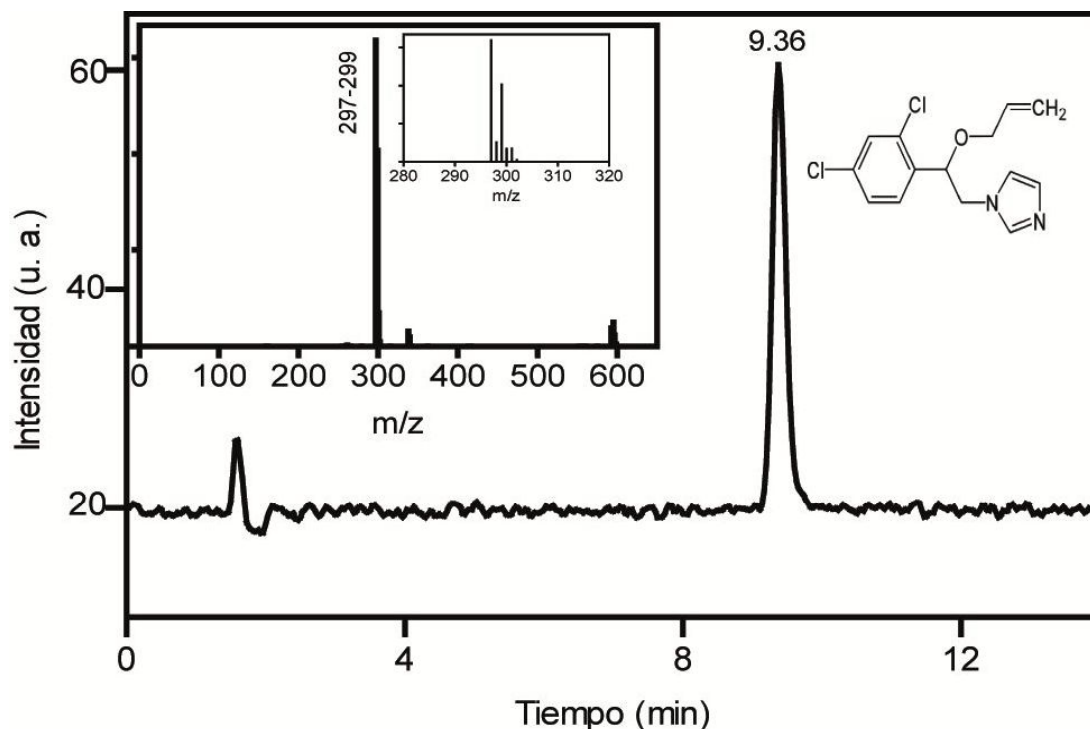


Figura 4.7 Cromatograma de masa para la muestra a tiempo 0 minutos de tratamiento foto Fenton. En el inserto: señal del espectro de masas del pico de los 9,36 minutos.

En la *Figura 4.8* se muestra la evolución de los sub productos o intermediarios encontrados a lo largo de los 90 minutos y en la *Figura 4.9* el cromatograma de la muestra correspondiente a los 60 minutos de tratamiento, este tiempo se eligió ya que en él se encontraron todos los intermediarios formados, además se detallan las m/z de cada pico en la descripción de la figura.

A tiempo 15 minutos se observó la aparición de 3 intermediarios con los siguientes valores de m/z: 313-315, 331-333, 329-331. El ion con m/z 313-315 corresponde al compuesto original IMZ monohidroxilado. La adición del $\cdot\text{OH}$ podría ser en el anillo aromático o en el doble enlace de la molécula de IMZ. Los iones con m/z 331-333 y 329-331 se asocian con la segunda hidroxilación de la molécula de IMZ, donde dos $\cdot\text{OH}$ se adicionan en el doble enlace del IMZ para el ion de m/z 331-333, mientras que para el ion con m/z 329-331 se adicionan en el anillo bencénico.

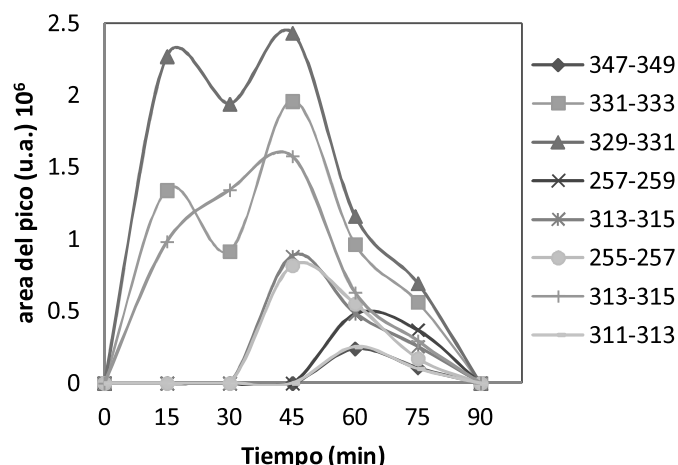


Figura 4.8 Evolución de los intermediarios encontrados en los primeros 90 minutos de reacción. Los valores para identificar a los intermediarios corresponden a la m/z de cada uno.

A los 45 minutos aparecen dos nuevos compuestos con m/z 255-257 y 313-315, el compuesto 255-257 no se logró adjudicar a ningún compuesto encontrado en bibliografía, mientras que el ion m/z 313-315 podría corresponder a la molécula de IMZ monohidroxilada, como el tiempo de retención fue menor que el otro pico de la misma masa, sería probable que este nuevo compuesto corresponda a la hidroxilación del doble enlace, ya que este compuesto es menos parecido al IMZ y debería salir más alejado del IMZ en la corrida cromatográfica.

A los 60 minutos aparecen tres nuevos picos con m/z 311-313, 347-349 y 257-259. El compuesto 311-313 sería producto de la hidroxilación del enlace éter del IMZ. El compuesto 347-349 no se logró adjudicar a ningún compuesto encontrado en bibliografía, pero podría asociarse a la hidroxilación del anillo aromático del compuesto con m/z 331-333. El compuesto con m/z 257-259 puede vincularse al producto de la fragmentación del IMZ con la pérdida de la cadena de 3 carbonos.

Finalmente a los 90 minutos, ninguno de estos intermediarios de la oxidación ni el compuesto original son detectados en estas condiciones de análisis de *HPLC-MS*, pero al mismo tiempo se detectó el 90 % del COT de la solución de 100 mg/L de IMZ, por lo tanto el IMZ se oxidó pero no se mineralizó.

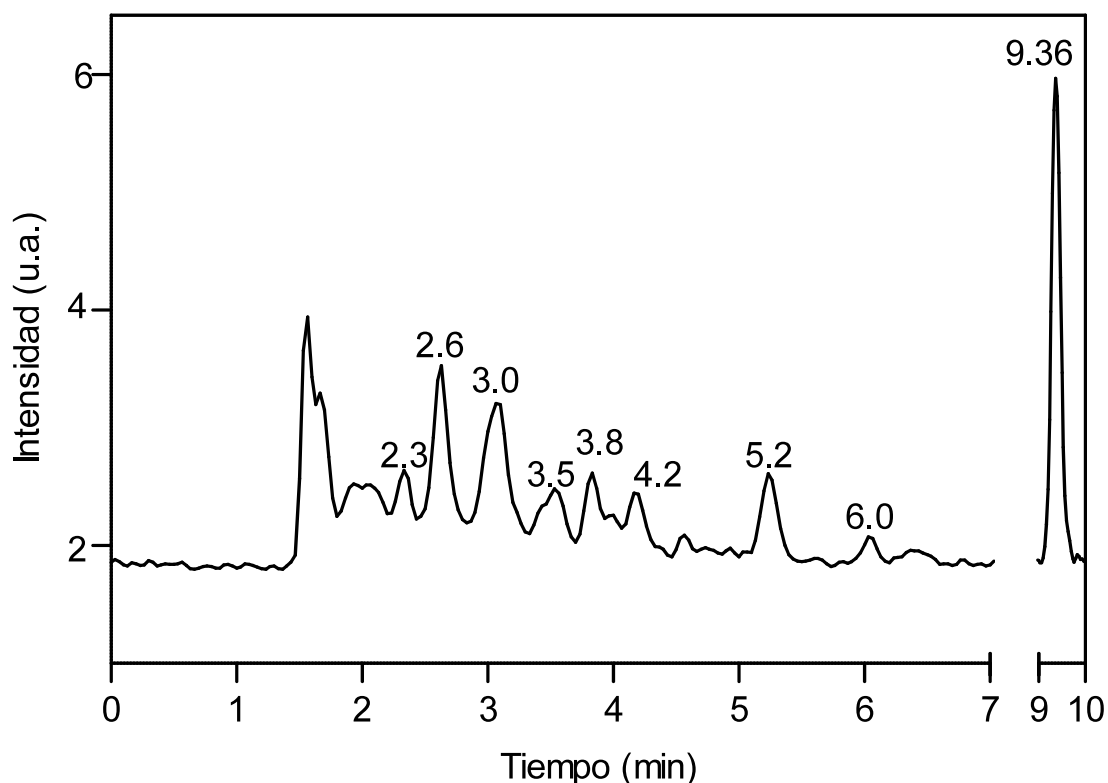


Figura 4.9 Cromatograma para la muestra a tiempo 60 minutos de tratamiento foto Fenton. Los picos corresponden a las siguientes m/z: (minutos:m/z) 2,3:347-349; 2,6:331-333; 3,0:329-331; 3,5:257-259; 3,8:313-315; 4,2:255-257; 5,2:313-315; 6,0:311-313; 9,36:297-299.

El esquema de las posibles vías de oxidación del IMZ se muestra en la Figura 4.10. Los números rojos que acompañan a cada uno de los intermediarios corresponden al Estado de Oxidación Medio Teórico (EOM-T), calculado a partir de la DQO y COT teóricos de cada molécula y utilizando la siguiente ecuación

$$EOM = 4 \frac{(COT - DQO)}{COT} \quad \text{ecuación 4.1}$$

El EOM se trata de una medida utilizada para conocer el grado de oxidación de compuestos en una mezcla compleja y se lo utiliza como un parámetro para estimar el avance

de la oxidación de un efluente determinado, en el capítulo siguiente (*Capítulo 5*) se tratará este tema con mayor profundidad.

Se observa en la *Figura 4.10* que el EOM-T aumentó (valor menos negativo) a medida que transcurrió la oxidación avanzada, generándose sustancias más oxidadas que el compuesto de partida. Estos cambios van en la misma dirección que el aumento en el porcentaje de oxidación mostrado en la *Tabla 4.1*. Como se discutirá en el *Capítulo 5*, el análisis de los EOM-T y EOM medidos experimentalmente, es una herramienta importante para determinar la extensión del tratamiento de oxidación necesario para que el sistema pueda biodegradarse, ya que el objetivo siguiente es acoplar el tratamiento foto Fenton a un tratamiento biológico para disminuir los costos globales del tratamiento total. En estos estadíos iniciales del proceso de oxidación no pudo determinarse el valor del EOM experimental de las soluciones pues el H_2O_2 interfiere en la medición de DQO sobrestimándolo, lo que arrojaría valores de EOM subestimados.

Los intermediarios detectados en la solución oxidada mostrados en la *Figura 4.10*, continúan oxidándose generando moléculas más polares y pequeñas, siendo compleja y extremadamente dificultosa su detección y caracterización por *HPLC-MS*. Sin embargo, los resultados de la *Tabla 4.1* indican la presencia de ácidos orgánicos en las soluciones provenientes de la oxidación de Xedrel 50®, resultado que puede extrapolarse a la oxidación de soluciones de IMZ puro. En coincidencia con este resultado, existen reportes bibliográficos recientes que indican que la oxidación de los intermediarios conduce a la formación de ácidos orgánicos. Como se verá más adelante, estos juegan un papel importante en el acoplamiento con un proceso biológico de remediación.

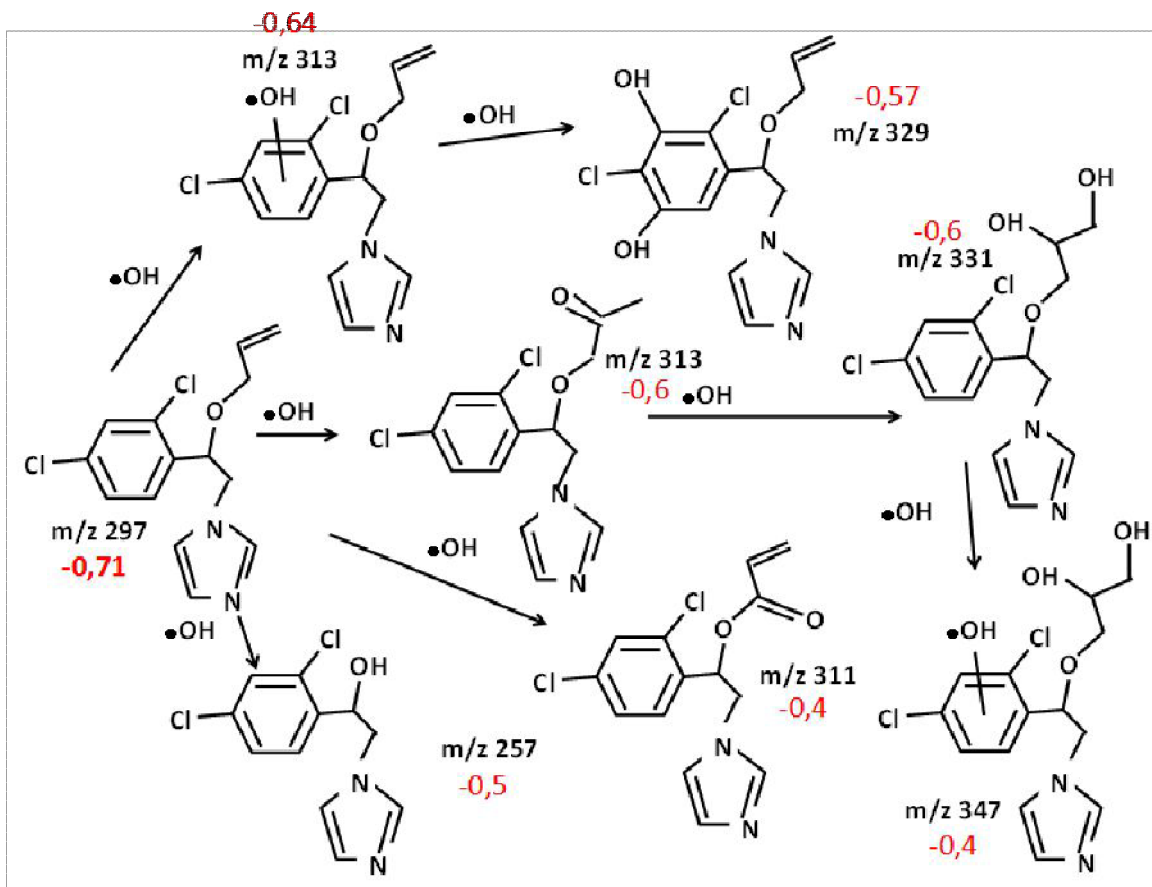


Figura 4.10 Esquema de las posibles vías de oxidación del IMZ según los intermediarios identificados y EOM-T de cada intermediario.

4.4 Conclusiones

El proceso foto Fenton logró eliminar por completo el IMZ a tiempos cortos de reacción, sin embargo el grado de mineralización de las soluciones fue bajo. Como producto del tratamiento foto Fenton se formaron ácidos orgánicos. La dosificación del H_2O_2 resultó más eficiente para la oxidación de las soluciones que la incorporación de todo el oxidante en una sola dosis. Se lograron adjudicar compuestos candidatos a varios de los primeros intermediarios de degradación del IMZ encontrados.

En vista de lo antes mencionado, el tratamiento foto Fenton se podría utilizar como pre tratamiento de una solución con plaguicida y luego acoplar este sistema a un tratamiento biológico para completar la degradación del efluente.

CAPÍTULO 5

TRATAMIENTOS ACOPLADOS:

FOTO FENTON - BIOLÓGICO

5.1 Introducción

5.1.1 Tratamientos combinados: foto Fenton-biológico

A pesar de que las TAOs tienen un gran potencial para el tratamiento de contaminantes recalcitrantes, cuando los efluentes poseen además un alto contenido de materia orgánica y se necesita reducir la DQO hasta niveles de descarga permitidos, es necesario el uso de grandes cantidades de reactivos haciendo que esta tecnología sea económicamente inaccesible. En estos casos, la combinación de las TAOs con tratamientos biológicos, dado que estos últimos son técnicas más sencillas y económicas, puede ayudar a reducir los costos. En un estudio realizado por *Ballesteros y colaboradores* en la región europea, determinaron que para el tratamiento completo de un efluente son necesarios aproximadamente decenas de euros/m³ en las TAOs, mientras que en el tratamiento biológico solo decenas de centavos de euros/m³ (*Ballesteros, 2009b*).

La clave para combinar apropiadamente las TAOs con los tratamientos biológicos es encontrar la adecuada concentración de reactivos y el tiempo de tratamiento químico para obtener un efluente con sustancias lo suficientemente biodegradables para eliminarlas durante la biorremediación. El tiempo óptimo de tratamiento está relacionado con la biodegradabilidad y la toxicidad de los productos de la oxidación generados durante el tratamiento de oxidación químico. Tiempos cortos de oxidación generan productos similares a los originales, los cuales probablemente mantienen sus características de toxicidad y baja biodegradabilidad. Por otro lado, tiempos largos de tratamiento consumen grandes cantidades de H₂O₂ y producen intermediarios muy oxidados, estos compuestos oxidados poseen bajo rendimiento para la formación de biomasa, lo que puede generar la necesidad de introducir en el sistema una fuente adicional de carbono para sustentar el crecimiento de los microorganismos (*López Loveira, 2016*). Aunque a su vez, la baja generación de biomasa significa una menor formación de barro en el proceso de remoción del carbono, lo que reduce el costo de la disposición final del residuo sólido.

Un parámetro utilizado para determinar el momento óptimo de transferencia a un tratamiento biológico es el estado de oxidación promedio (EOM), se trata de una medida utilizada para conocer el grado de oxidación de compuestos en una mezcla compleja y se lo utiliza como un parámetro para estimar la biodegradabilidad de un efluente determinado (*Blesa y Blanco Galvez, 2005; Rozas, 2010*). Esta herramienta es muy práctica, ya que

medir todos los intermediarios formados en una muestra sencilla resulta dificultoso y más aún en un efluente real, donde muchas veces ni siquiera se conoce su composición exacta. Como se presentó en el *Capítulo 4 (ecuación 4.1)*, el EOM se calcula a través de la siguiente ecuación:

$$\text{EOM} = 4 \frac{(\text{COT} - \text{DQO})}{\text{COT}} \quad \text{ecuación 5.1}$$

donde el COT y la DQO están expresados en moles de C/L y moles de O₂/L respectivamente. El EOM toma valores de +4 para CO₂, el estado más oxidado del C, y -4 para el CH₄, el más reducido (*Parra, 2000*). En el medio, el alcohol más simple CH₄O tiene un EOM igual a -2, el aldehído más simple CH₂O con un EOM igual a 0, y el ácido orgánico más simple CH₂O₂ tiene un EOM igual a +2.

5.1.2 Objetivos

Determinar las condiciones de acoplamiento entre un proceso foto Fenton y un tratamiento biológico para tratar efluentes líquidos sintéticos conteniendo imazalil, empleando una comunidad bacteriana adaptada a la presencia de productos de oxidación del principio activo.

Estudiar las transformaciones producidas en una comunidad bacteriana adaptada al IMZ cuando es expuesta a productos de oxidación del IMZ.

Determinar la extensión del tratamiento necesario para disponer el efluente tratado según normativas.

5.2 Desarrollo experimental

5.2.1 Aislamiento de comunidad resistente a los intermediarios de oxidación

Para realizar el tratamiento combinado, es necesario contar con una comunidad de microorganismos adaptados a los productos formados en el tratamiento foto Fenton. Por lo tanto, la *comunidad 1* obtenida anteriormente (*Capítulo 3*) se sometió a un nuevo proceso de selección y adaptación utilizando una solución 500 mg/L de IMZ contenido en el Xedrel 50® tratada a través de procesos foto Fenton como presión selectiva (condiciones del proceso foto-Fenton: 9 mM de H₂O₂ y 0,15 mM de Fe, la oxidación se realizó hasta la eliminación total del IMZ y el H₂O₂), con micronutrientes inorgánicos y sin el agregado de fuente de carbón externa.

5.2.2 Aislamiento de cepas e identificación

Se tomaron diferentes volúmenes y diluciones de la nueva comunidad y se los cultivó en placas en *medio rico sólido* (5 g/L de glucosa como fuente de carbono). Se seleccionaron las colonias morfológicamente distintas y se repicaron 3 veces más (estría por agotamiento). Luego se las pasó a *medio líquido rico* y se procedió tal cual lo explicado en el *Capítulo 3 sección 3.2.2* para su identificación.

5.2.3 Tratamientos acoplados foto Fenton-biológicos

Se realizaron ensayos en *batch* con células en suspensión en frascos *erlenmeyer* de 250 ml, con un volumen de líquido de 100 ml, agitados a 130 rpm en un agitador orbital a 25°C y pH constante 7,0. Todos los sistemas se trabajaron por duplicado. Se utilizó 1% de un cultivo de la *comunidad 2* desarrollado en fase exponencial para inocular los sistemas. Como medio de cultivo se utilizaron las soluciones pre oxidadas descritas en el *Capítulo 4* solo con el agregado de nutrientes inorgánicos y neutralizadas. Se determinó pH, biomasa y COT a lo largo del tiempo en todos los experimentos. Se calcularon los valores de EOM al final del tratamiento foto Fenton (*EOM final foto*), al final del tratamiento acoplado (*EOM final acop*) y los valores de EOM de la fracción mineralizada

en el tratamiento biológico (EOM_{fmb}) para todos los sistemas. Este último representa el EOM de los compuestos consumidos por la biomasa durante el tratamiento biológico. El EOM_{fmb} fue calculado a través de la siguiente ecuación

$$EOM_{fmb} = 4 \frac{(\Delta(COT) - \Delta(DQO))}{\Delta(COT)} \text{ ecuación 5.2}$$

Donde ΔCOT es $COT_{foto} - COT_{acop}$, y ΔDQO es $DQO_{foto} - DQO_{acop}$

5.3 Resultados y discusión

5.3.1 Aislamiento e identificación

La *comunidad 1* se utilizó como inóculo de una solución de 500 mg/L de IMZ contenido en el Xedrel 50®, parcialmente oxidada por aplicación de un tratamiento foto Fenton. Se requirió de un período de adaptación (o fase “lag”) de una semana. A la segunda semana de incubación se observó el crecimiento de la biomasa. De esta forma, se obtuvo la *comunidad 2*. La comunidad se cultivó en placas de *medio rico sólido* sin IMZ como se realizó en el *Capítulo 3* y se observó la predominancia de 3 cepas de colores blanco, amarillo y rosa. A través de ADNr 16S (como se detalló el procedimiento en el *Capítulo 3*) se determinó que las cepas corresponden a *Staphylococcus sp.*, *Chryseobacterium sp.*, y por último *Burkholderia sp.*

Se ha reportado que estas cepas identificadas, más la aislada e identificada de la *comunidad 1* (*Capítulo 3*), usualmente se encuentran en suelos contaminados con hidrocarburos (Owsianiak, 2009; Zhang, 2007; Vandamme, 1994). Es importante remarcar que en ausencia de IMZ pero en presencia de los intermediarios de oxidación luego del tratamiento foto Fenton de las soluciones de Xedrel 50®, hubo un desarrollo de un mayor número de especies. Esto sugiere que los productos de oxidación formados en el tratamiento foto Fenton son menos tóxicos que el IMZ.

Se ha postulado que las especies biológicas existentes han sido vinculadas por antepasados comunes, un diagrama que muestra estos vínculos se llama árbol filogenético (Robinson, 1980). Las tres cepas identificadas aquí más la aislada e identificada de la *comunidad 1* se ubicaron en un árbol filogenético junto con otras

bacterias capaces de degradar plaguicidas o encontradas en suelos contaminados. Como se mencionó en el *Capítulo 3* varias cepas de bacterias son eficaces en la remoción de plaguicidas, entre ellas *Pseudomonas sp.*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aureofaciens*, *Micrococcus lylae*, *Achromobacter sp.*, *Sphingomonas sp.* y *Acetobacter liquefaciens* que son capaces de degradar varios plaguicidas persistentes como malation, fenilurea, DDT, carbofuran, lindano, p-nitrofenol (Rathore y Nollet, 2012). En la *Figura 5.1* se puede observar qué tan distantes evolutivamente son los microorganismos aislados en este trabajo, *Chryseobacterium sp.*, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia sp.* y *Staphylococcus sp.*, con respecto a los reseñados por Rathore y colaboradores.

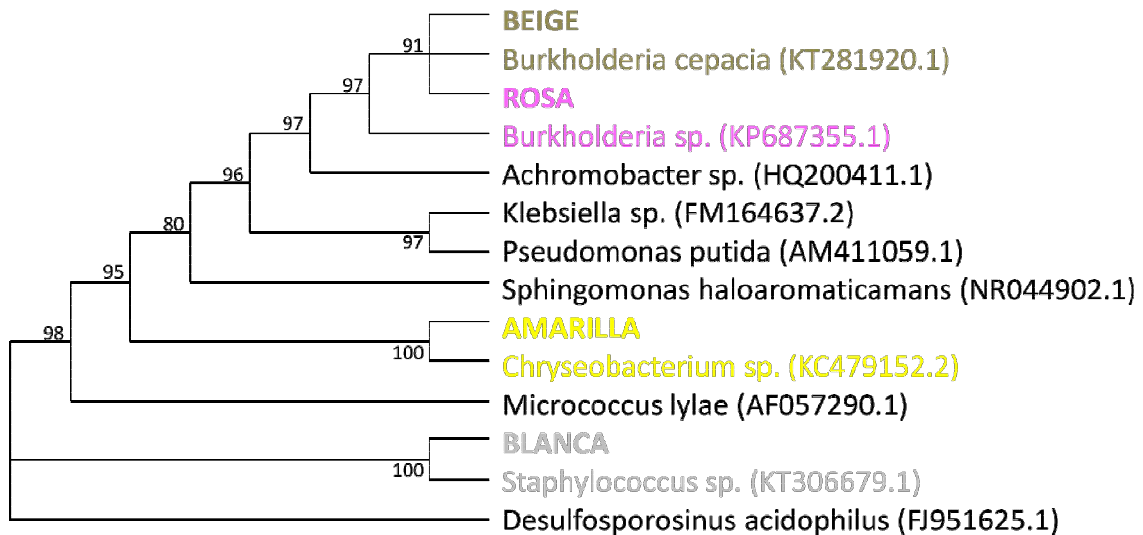


Figura 5.1 Árbol filogenético. Bacterias aisladas en las *comunidades 1 y 2* más las bacterias reportadas en bibliografía capaces de degradar plaguicidas.

La distancia entre cada cepa aislada, indica una gran diversificación genética. La diversidad que presentan las comunidades podría dar una gran flexibilidad en situaciones de estrés.

5.3.2 Tratamientos acoplados foto Fenton-biológicos

Basados en los resultados obtenidos en el capítulo anterior y para estudiar el efecto del tratamiento foto Fenton sobre la biodegradabilidad del plaguicida. Las

soluciones oxidadas por foto Fenton hasta la desaparición total del IMZ y del H_2O_2 descritas en el capítulo anterior se sometieron a tratamiento biológico en reactores *batch* con la *comunidad 2* previamente aislada. De esta manera, los tratamientos foto Fenton y biológico se acoplaron. Los sistemas que se acoplaron fueron 3x3 mM, 9 mM, 3x9 mM, 27 mM, 3x18 mM, 54 mM, 80 mM y se realizó el control sin tratamiento foto Fenton de la solución de Xedrel 50®. La *Figura 5.2* muestra la evolución temporal del COT durante el tratamiento biológico de las soluciones obtenidas luego de los diferentes tratamientos foto Fenton.

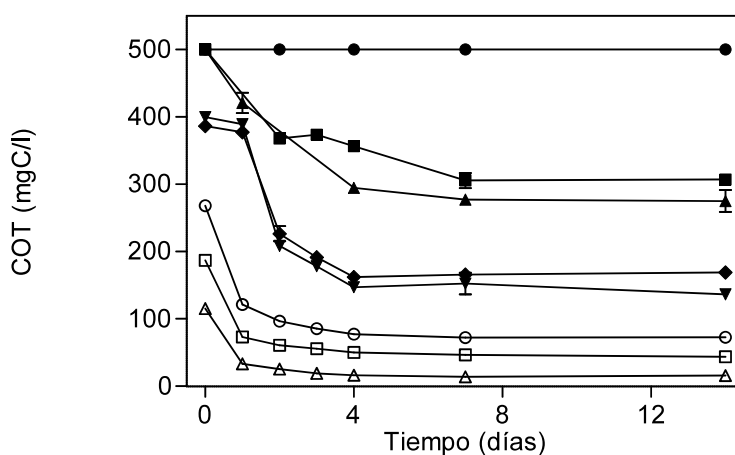


Figura 5.2 Evolución del COT durante el tratamiento biológico. Sin tratamiento foto Fenton (●), 3x3 mM (■), 9 mM (▲), 3x9 mM (▼), 27 mM (◆), 3x18 mM (□), 54 mM (○) y 80 mM (△).

La *comunidad 2* mostró capacidad de biodegradación en todos los sistemas que contenían intermediarios de oxidación del IMZ. Al final del tratamiento biológico, el COT disminuyó considerablemente, indicando que el tratamiento foto Fenton produjo intermediarios más fáciles de mineralizar que el fungicida original. La velocidad de degradación en cada sistema fue diferente dependiendo del grado de pre tratamiento foto Fenton. La velocidad de degradación inicial aumentó con la concentración de H_2O_2 que se utilizó en el tratamiento foto Fenton (la pendiente aumentó desde los sistemas con menos H_2O_2 a los sistemas con mayor cantidad utilizada). Este hecho sugiere la presencia de varios productos de oxidación, desde los intermediarios más recalcitrantes hasta los más fáciles y rápidos de biodegradar. Con bajas dosis de H_2O_2 , los intermediarios son

similares a los componentes del Xedrel 50® con un alto porcentaje de compuestos orgánicos recalcitrantes, por otro lado con altas dosis de H₂O₂, los intermediarios formados son más diferentes y biodegradables que el Xedrel 50®, sin embargo en estos casos con alta cantidad de H₂O₂, una fracción del COT se mineralizó en el tratamiento foto Fenton, por consiguiente quedó menor cantidad de fuente de carbono y energía disponible para el proceso biológico.

En los sistemas biológicos se observaron tres tendencias de acuerdo a la cantidad de H₂O₂ utilizada en el tratamiento foto Fenton. Por un lado, la cantidad de carbono biodegradado fue mayor en los sistemas con 3x9 mM, 27 mM y 54 mM de H₂O₂, los cuales mostraron entre 308 y 340 mg de carbono orgánico mineralizado (lo cual representa entre un 60 y un 80 % de la cantidad inicial en el tratamiento biológico). Por el otro, los sistemas que recibieron un pretratamiento con menor (3x3 mM, 9 mM) o mayor (3x18 mM y 80 mM) concentración de H₂O₂ mostraron menor mineralización del carbono orgánico en el tratamiento biológico (entre 192 y 235 mg). En los sistemas con 3x3 mM y 9 mM de H₂O₂ la oxidación no fue suficiente para producir compuestos biodegradables (bajo EOM, ver más adelante), y el porcentaje de mineralización fue pobre, 40-46 %. En los casos con mayor cantidad de H₂O₂, a pesar de que el porcentaje de mineralización fue alto, 83-93 %, la cantidad total de carbono orgánico mineralizado por la biomasa fue baja porque el COT inicial que ingresó al bioreactor fue bajo y con un relativamente elevado EOM.

La *Tabla 5.1* (en sus tres primeras columnas) muestra los valores de EOM de las soluciones obtenidas luego del tratamiento foto Fenton (*EOM final foto*), luego del tratamiento acoplado (*EOM final acop.*) y de la fracción mineralizada en el tratamiento biológico (*EOM fbm*) y la *Tabla 5.2* los EOM de las moléculas más simples como referencia.

Tabla 5.1 EOM luego de cada tratamiento, EOM de la fracción mineralizada por el tratamiento biológico y eficiencia en el uso del H₂O₂

Sistema	EOM final foto	EOM final acop.	EOM fbm	Ef. Foto (molCOT/molH ₂ O ₂)	Ef. acop. (molCOT/molH ₂ O ₂)
Sin foto	0,15	0,15	x	x	x
9 mM	0,56	0,31	0,86	0	1,92
3 x 3 mM	1,21	0,71	1,98	0	2,83
27 mM	1,91	0,65	2,48	0,07	1,08
3 x 9 mM	1,94	0,61	2,63	0,12	1,08
36 mM	2,00	x	x	0,11	x
40 mM	2,00	x	x	0,13	x
54 mM	2,31	0,67	2,69	0,22	0,67
3 x 18 mM	2,13	-1,44	2,87	0,38	0,75
80 mM	2,23	-3,23	2,88	0,32	0,5

Tabla 5.2 EOM de moléculas simples (con un átomo de carbono)

	<i>Estado más reducido</i>	<i>alcohol</i>	<i>aldehído</i>	<i>ácido</i>	<i>Estado más oxidado</i>
	metano	metanol	formaldehido	fórmico	dióxido de C
Molécula	CH ₄	CH ₄ O	CH ₂ O	CH ₂ O ₂	CO ₂
COT (M)	1	1	1	1	1
DQO(M)	2	1,5	1	0,5	0
EOM	-4	-2	0	2	4

Los valores de *EOM final foto* en todos los sistemas aumentaron con respecto al EOM de la solución de Xedrel 50® sin tratamiento (0,15), lo que indica que las soluciones se oxidaron en el tratamiento foto Fenton. Cuando termina el tratamiento biológico, los *EOM final acop.* de las soluciones remanentes tuvieron valores entre 0,3-0,7, por debajo

del “nivel de ácido” pero por encima del “nivel de aldehído”. Esto indica que, para estos sistemas, las mezclas de compuestos intermediarios formados con estos EOM no son biodegradables. Cuando el tratamiento foto Fenton es más fuerte (3x18 mM y 80 mM) el tratamiento biológico termina dejando compuestos más reducidos, -1,4 y -3,2. Estos resultados sugieren que los tratamientos foto Fenton con mayor cantidad de oxidante, además de producir mayor mineralización, fueron capaces de degradar el plaguicida a compuestos intermediarios más oxidados que los sistemas con menos H₂O₂. Al final del tratamiento acoplado, solo quedaron los más reducidos y recalcitrantes, que resistieron tanto el tratamiento foto Fenton como el biológico. Los *EOM_{mb}* (calculados usando el COT y la DQO consumidos por la biomasa en el tratamiento biológico, según la ecuación 5.2) ofrecen información muy importante para comprender mejor el proceso completo. Por un lado, los valores de *EOM_{mb}* de las soluciones que más se biodegradaron fueron prácticamente constantes alrededor de 2,5 y 2,9 en la mayoría de los sistemas; esto indica que los intermediarios formados en los diferentes tratamientos foto Fenton fueron similares en todos los sistemas siendo consumidos más fácilmente por la biomasa en el tratamiento biológico (nótese que en los tratamientos con bajas cantidades de H₂O₂, los ensayos con 3x3 mM y 9 mM los *EOM_{mb}* fueron menores a 2). Por el otro, los valores de *EOM_{mb}* consumidos por la biomasa se encuentran ligeramente por encima del “nivel de ácido”; esto coincide con la presencia de ácidos orgánicos en las soluciones tratadas por foto Fenton discutida en el *Capítulo 4*. A pesar de no conocerse precisamente su identidad, éstos se formaron hacia el final del tratamiento avanzado de oxidación y fueron biodegradados en el tratamiento acoplado. Entre los ácidos más comunes encontrados como productos finales de oxidación del IMZ se reportaron los ácidos fórmico, acético, oxálico y málico (*Hazime, 2012; Santiago, 2013 y 2015*).

Como respaldo a lo anterior, resulta interesante notar que en todos los sistemas ensayados el pH aumentó durante el tratamiento biológico. Probablemente este resultado fue consecuencia del consumo de los ácidos orgánicos formados en el proceso foto Fenton (*Tabla 4.1, Capítulo 4*). Debido a que la cantidad de fuente de carbono y energía fue baja, se formó poca cantidad de biomasa por lo que el efecto de acidificación por el metabolismo de la fuente de nitrógeno no fue significativo.

La *Tabla 5.1* también muestra la relación entre los moles de carbono orgánico mineralizado por mol de H₂O₂ consumido (mol COT/mol de H₂O₂) en el tratamiento foto Fenton y luego del tratamiento acoplado. Por otro lado, la *Figura 5.3* muestra los porcentajes de oxidación para los tratamientos combinados. La eficiencia en la

eliminación del COT por unidad de H_2O_2 consumida en el tratamiento acoplado (foto Fenton-biológico) decrece a medida que las dosis de H_2O_2 aumentan en el proceso foto Fenton. Una vez que el IMZ se degrada a intermediarios de oxidación, el tratamiento biológico se ocupa de la mineralización de estos. No obstante, si se quiere gastar menos reactivos disminuyendo la cantidad de H_2O_2 utilizada, el efluente queda menos degradado, con compuestos con EOM de entre 0,3 y 0,6 que no son fácilmente degradables por la biomasa en el tratamiento biológico.

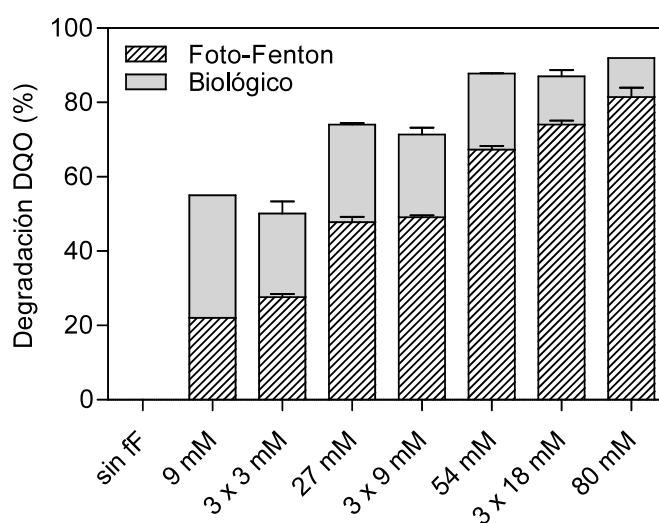


Figura 5.3 Porcentaje de degradación de la DQO en cada sistema, se encuentran diferenciados los aportes de cada tratamiento por separado.

A pesar de que en el tratamiento foto Fenton, la incorporación en dosis del H_2O_2 aumenta la eficiencia de oxidación, cuando se acoplan los tratamientos, el porcentaje de oxidación final es muy similar al utilizar la misma cantidad de H_2O_2 (por ejemplo 3x3 mM y 9 mM, 3x9 mM y 27 mM, 3x18 mM y 54 mM) (Figura 5.3).

Debe haber un compromiso entre la eficiencia en el uso del H_2O_2 y la eficiencia de todo el proceso acoplado, y esto depende principalmente de los niveles guía de descarga. A su vez, no existen niveles guía de descarga de efluentes universal debido a que cada lugar tiene características que lo hacen único. Por lo tanto, los resultados obtenidos se compararon con legislación de Argentina, en particular de la Provincia de Entre Ríos, ya

que en esta provincia el IMZ es muy usado debido a la actividad citrícola de la zona. La *Ley Provincial N° 6260* de Entre Ríos establece límites de descarga de DQO < 700 mgO₂/L para descarga en cloaca, < 400 mgO₂/L para descarga en el Río Paraná, < 250 mgO₂/L para descarga en ríos menores y < 50 mgO₂/L para descarga a arroyos. Teniendo en cuenta estos valores regulados, las soluciones de Xedrel 50® tratadas con las diferentes cantidades de H₂O₂ en el proceso foto Fenton y acopladas a procesos biológicos, pueden ser descargados en el sistema cloacal. Si el efluente se descarga en el Río Paraná, los tratamientos con 3x9 mM y 27 mM de H₂O₂ alcanzan los límites, y los niveles de DQO alcanzados por los tratamientos 3x18 mM, 54 mM y 80 mM permiten su descarga en los demás ríos de la provincia con un límite más estricto. Sin embargo, con estos tratamientos no se logró alcanzar el nivel de DQO para su descarga en arroyos (Figura 5.4).

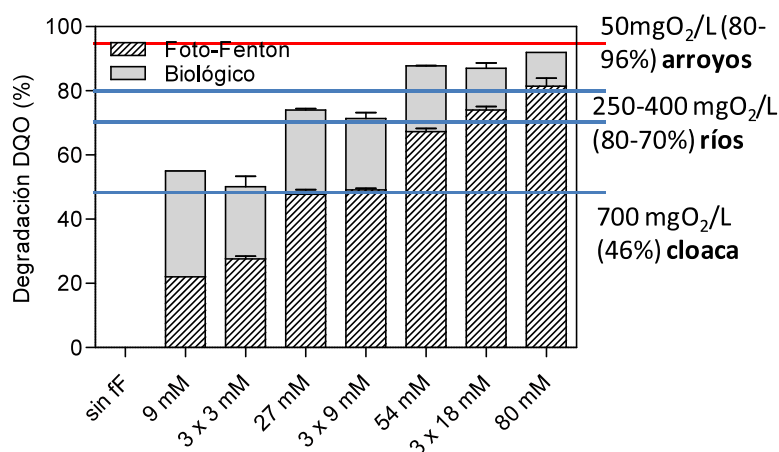


Figura 5.4 Porcentaje de degradación de la DQO en cada sistema y niveles guía de descarga de efluentes.

5.4 Conclusiones

Los tratamientos combinados son una alternativa cuando un efluente es complejo y se quieren disminuir los costos del tratamiento completo. Se lograron acoplar los tratamientos foto Fenton y biológicos, de modo tal de maximizar la eficiencia del proceso en su conjunto. El tratamiento foto Fenton eliminó por completo el IMZ y oxidó parcialmente los compuestos orgánicos, que luego el proceso biológico con la *comunidad*

2 (adaptada a la presencia de los intermediarios de oxidación del IMZ y coadyuvantes) utilizó como fuente de carbono y energía para su desarrollo, disminuyendo considerablemente la DQO y el COT al final del proceso. Se pudieron aislar e identificar 3 cepas de microorganismos presentes en la *comunidad 2*, *Staphylococcus sp.*, *Chryseobacterium sp.*, y por último *Burkholderia cepacia*.

Debido a que las soluciones de compuestos recalcitrantes no son biodegradables, estas se deben oxidar hasta obtener EOM correspondientes a una fuente de carbono aceptable para los microorganismos, ya que si la oxidación es mayor, los productos restantes tienen muy bajo valor energético, por lo tanto, se debe intentar eliminar la recalcitres del efluente sin eliminar el valor energético de la mezcla de compuestos orgánicos. En el *Capítulo 4* se mostró que en las primeras instancias del tratamiento oxidativo, los intermediarios tienen EOM parecidos a los compuestos originales ya que se tratan de los mismos compuestos con adiciones de $\cdot\text{OH}$, finalmente estos compuestos se fracturan y forman compuestos más simples como ácidos orgánicos con EOM mayores, que a su vez son una alternativa viable de fuente de carbono y energía para los microorganismos.

A medida que aumenta la cantidad de H_2O_2 utilizada en el proceso foto Fenton, el grado de oxidación es mayor pero a su vez disminuye la cantidad de fuente de carbono disponible para los microorganismos. La dosis de H_2O_2 se debe decidir teniendo en cuenta los costos y los valores de descarga permitidos en cada lugar.

Por todo lo expuesto hasta ahora, los procesos acoplados foto Fenton y biológico, muestran un gran potencial para el tratamiento de efluentes de la industria fruti hortícola.

CAPÍTULO 6

TRATAMIENTO CON ARCILLAS Y

ORGANO ARCILLAS

6.1 Introducción

6.1.1 Arcillas como adsorbentes

Las arcillas son minerales constituidos por aluminosilicatos procedentes de la descomposición de rocas. Presentan estructura laminar, constituida por unidades de tetraedros de silicio y octaedros de aluminio como se muestra en la *Figura 6.1.a*. Los tetraedros están conformados por un átomo de Si central y átomos de O en sus vértices. Cada tetraedro comparte un O con el tetraedro adyacente y se ubican de tal manera que sus bases se hallan en el mismo plano. En la capa octaédrica, los Al están unidos entre sí a través de dos O, es decir, un borde del octaedro. Las capas tetraédricas y octaédricas se unen a través de los O apicales de la capa tetraédrica con los grupos OH⁻ de los octaedros. Cada 6 grupos de OH⁻ de la capa octaédrica unidos a un tetraedro queda un grupo OH⁻ libre. La clasificación de los minerales arcillosos está ordenada en familias dependiendo de la cantidad y disposición de capas tetraédricas y octaédricas (por ejemplo 1:1, 2:1 y 2:1:1). La cantidad y disposición de las capas generan una amplia variedad de minerales semejantes con diferentes propiedades físico químicas (*Pavlidou, 2008; Bergaya, 2006*).

La suma de las láminas más los espacios interlaminares se llaman unidades estructurales, tienen un ancho de entre 7 y 18 Å dependiendo del tipo de láminas y el contenido de cada espacio interlaminares. Varias unidades estructurales apiladas constituyen una partícula de arcilla que tiene un tamaño cercano a los 2 µm.

En el caso particular de la montmorillonita (MMT), perteneciente a la familia de las esmectitas: arcillas del tipo 2:1, ocurre sustitución isomórfica. Los Si(IV) de los tetraedros pueden ser reemplazados por Al(III) y los Al(III) de los octaedros por Mg(II) o Fe(II), lo que genera un desbalance de cargas provocando una carga neta negativa. Entre cada lámina de la arcilla se encuentra un espacio interlaminares en el cual se intercalan moléculas de H₂O y cationes (M⁺) como Ca²⁺ y Na⁺, que compensan el desbalance de carga generado por las sustituciones isomórficas, lo cual las hace muy atractivas por su alta capacidad de adsorción (*Figura 6.1.b*) (*CalabyFloody, 2009*).

Otra fuente de cargas en las arcillas son los grupos OH⁻ presentes en los bordes y superficies externas de las láminas. Estos grupos pueden protonarse o deprotonarse dependiendo del pH del medio.

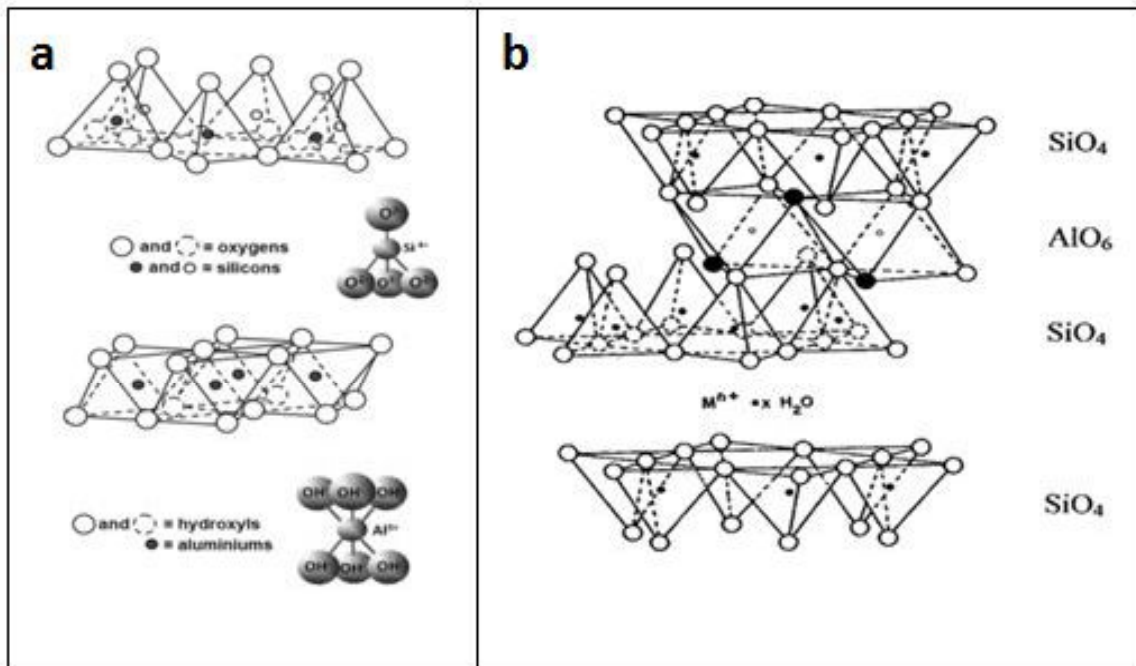


Figura 6.1 a) Estructura de los tetraedros de Si y octaedros de Al. b) Esquema de una arcilla trilaminar con su espacio interlamina (*CalabyFloody, 2009*).

Los cationes entre las láminas pueden ser fácilmente reemplazados por otros cationes inorgánicos u orgánicos que tengan mayor afinidad por las arcillas. Esta característica les confiere una gran versatilidad, generando materiales con nuevas capacidades, como por ejemplo actividad catalítica y adsorptividad específica para determinados compuestos, entre otras. En particular, el reemplazo con amonios cuaternarios alquílicos puede modificar fuertemente la capacidad de adsorción de compuestos orgánicos. Las arcillas modificadas con amonios cuaternarios son llamadas organoarcillas. La incorporación de compuestos orgánicos entre las láminas causa el incremento del espacio interlamina, lo que produce la delaminación del material, y como consecuencia el aumento del área superficial. Además, debido a las cadenas de los alquilamonios adsorbidos entre las láminas, las organoarcillas adquieren hidrofobicidad (*Pavlidou, 2008; Chin, 2001; Fu and Heinz, 2010; Park, 2011; Sarkar, 2011; Bianchi, 2013*). Por otro lado, el reemplazo de los cationes interlaminares naturales presentes en las arcillas por cationes con actividad catalítica oxidativa lleva a la formación de catalizadores heterogéneos que pueden ser utilizados en procesos avanzados de oxidación para la remoción de contaminantes en agua (*Guz L., 2014; Garrido-Ramírez, E.G., 2010; Ai Ni Soon, 2011; Herney-Ramirez J., 2010*).

La adsorción es una alternativa utilizada para separar contaminantes del agua, tanto orgánicos: colorantes, antibióticos o detergentes, como inorgánicos: metales pesados, cianuros, sulfuros. Los adsorbentes más usados son biomasa seca y molida, algas, carbón activado, zeolitas y arcillas. En la actualidad se explora la modificación y combinación de adsorbentes conocidos para obtener una mayor capacidad de adsorción, como así también la utilización de residuos de industrias lo cual tiene un valor agregado ya que lo que antes era un residuo ahora se utiliza como materia prima de otro proceso (*Bailey, 1999; Volesky, 2001; Olivelli, 2013; Namasivayam, 2002; Konstantinou, 2000*). La adsorción es ampliamente preferida por sobre otras técnicas de remoción de contaminantes del agua por su alta eficiencia, bajo costo y fácil manejo operacional (*Gamba, 2015*).

Existen muchos casos donde se utilizan distintos tipos de adsorbentes para separar el contaminante del gran volumen de efluente obteniendo excelentes resultados en el tratamiento del líquido. El principal problema asociado con las técnicas de adsorción de contaminantes es que estos no son degradados y continúan siendo potencialmente peligrosos, ya que se generan residuos sólidos que no son tratados o descontaminados y su destino final debe ser un relleno sanitario de seguridad. En estos casos el contaminante cambia de fase, a una más fácil de manejar por el menor volumen y su estado sólido. A su vez, muchos tratamientos para descontaminar el adsorbente son procesos que generan la pérdida de eficiencia del mismo y lo transforman en un material descartable (*Zhu, 2009; Omorogie, 2016*).

Las arcillas constituyen una alternativa interesante como adsorbentes reutilizables, con posibilidad de eliminar totalmente el contaminante. Esto se debe a que, por su origen mineral y su alta estabilidad química, pueden tolerar mejor los tratamientos de eliminación de los contaminantes adsorbidos sobre ellas, sin perder totalmente sus características fisicoquímicas. Esto las diferencia de otros adsorbentes, como los de origen biológico o los polímeros sintéticos, que comúnmente sufren modificaciones irreversibles al ser tratados para eliminar el contaminante. Además, como se mencionó más arriba, la incorporación de tetra-alquil amonios o de cationes de metales de transición, conduce a sistemas adsorbentes de gran versatilidad que pueden presentar actividad catalítica para la descomposición del contaminante adsorbido. En otras palabras, las arcillas tanto en forma natural como modificadas con cationes metálicos y/o alquil amonios representan una alternativa de gran potencialidad como adsorbentes reutilizables para la eliminación de contaminantes presentes en agua.

Existen algunos trabajos donde se realizaron con altas eficiencias ensayos de adsorción de IMZ sobre carbón activado comercial, carbón activado fabricado con un residuo de la agroindustria (*Martín-González, 2014; Hu, 1998*) y sobre arcillas y órgano-arcillas (*Gamba,*

2015). Pero hasta la actualidad no hay investigaciones sobre el tratamiento del sólido soportando el IMZ o una reutilización del adsorbente.

6.1.2 Objetivos

A partir de la MMT, sintetizar una órganoarcilla (OMMT) con una sal de amonio cuaternaria.

Realizar ensayos de adsorción y desorción del IMZ con MMT y OMMT. Estudiar la posibilidad de reutilización.

Caracterizar la estructura y superficie de las arcillas antes y después de la adsorción y desorción.

Realizar un tratamiento acoplado adsorción-desorción-foto Fenton para realizar un tratamiento total del contaminante IMZ.

6.2 Desarrollo experimental

6.2.1 Síntesis de una órganoarcilla (OMMT)

Sobre una solución de octadeciltrimetilamonio (ODTMA) de 6,83 g/L a 60°C se agregaron lentamente 10 g de montmorillonita (MMT) con agitación mediana. Se dejó en agitación durante 2 hs a esa temperatura. Seguidamente se dejó reposar durante 24 hs. El sólido se separó por centrifugación y se lavó varias veces con agua hasta observar que el sobrenadante contenía bajo COT (10-30 mgC/L). Se dejó secar el sólido por 48 hs a 80°C en estufa. Una vez seco, el sólido se molió en mortero. La cantidad de ODTMA agregado correspondió al 211 % de la capacidad de intercambio catiónico (CIC) de la MMT que es 0,825 mmol/g arcilla. De este 211 % de la CIC, se determinó que solo el 137 % queda retenido en la OMMT a través de la cuantificación de carbono orgánico total en el sólido por *Gamba (2015)*, el resto de ODTMA quedó en el sobrenadante y se eliminó con los sucesivos lavados.

6.2.2 Isotherma de adsorción con arcillas y organoarcillas y adsorción a diferentes pH

Se realizaron isotermas de adsorción de IMZ puro y Xedrel 50® con MMT y OMMT. Las concentraciones iniciales de IMZ, tanto puro como en el compuesto comercial, estuvieron en el intervalo de 0-500 mg/L (10, 25, 50, 100, 250, y 500) a pH alrededor de 6,0. Se utilizó 1 g/L de MMT o de OMMT manteniéndose 12 hs en agitación a 130 rpm y 25°C. La isoterma se realizó en recipientes de 50 ml con un volumen de trabajo de 25 ml. Cada concentración se realizó por duplicado. Las muestras se centrifugaron luego de alcanzado el equilibrio a 15000 rpm durante 15 minutos. La masa de IMZ adsorbido por las arcillas se determinó por diferencia entre la concentración de IMZ en las soluciones iniciales y en las soluciones una vez alcanzado el equilibrio.

Para los experimentos de adsorción, 500 ml de soluciones con 100 mg/L de IMZ de Xedrel 50® se incubaron con 1 g/L de MMT y OMMT a diferentes pH 3,0, 5,0, 7,0, 9,0 y 11,0. Las adsorciones se realizaron en *erlenmeyers* de 500 ml agitados magnéticamente a 350 rpm por 12 hs a 25°C. Una vez alcanzado el equilibrio, se determinaron las concentraciones de IMZ y COT.

6.2.3 Desorción a diferentes pH

Luego de realizar los experimentos de adsorción, los sólidos (tanto MMT como OMMT) obtenidos en las condiciones de adsorción más eficientes para cada caso, se separaron por centrifugación y se resuspendieron en agua destilada en el volumen original (500 ml). La resuspensión se llevó a cabo con diferentes pH 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0, 9,0 y 11,0 (obtenidos con H₂SO₄ o NaOH) en *erlenmeyers* agitados magnéticamente a 350 rpm por 2 hs a 25°C. Luego se determinaron la concentración de IMZ y COT.

6.2.4 Desorción y concentración

La fase sólida fue separada por centrifugación y resuspendida en agua destilada usando el 10 % del volumen original (50 ml), se realizó en *erlenmeyers* de 50 ml y se llevó a pH 3,0 con H₂SO₄, pH en el cual la desorción fue más eficiente. La suspensión concentrada (10 g/L de

OMMT) se agitó magnéticamente a 350 rpm durante 2 hs a 25°C. Luego se determinaron la concentración de IMZ y COT.

6.2.5 Reutilización de la OMMT

Para determinar la posibilidad de reutilizar el adsorbente, la misma OMMT se empleó sucesivas veces en ciclos de adsorción-desorción-concentración. Para los experimentos de adsorción, 500 ml de soluciones conteniendo 100 mg/L de IMZ proveniente de Xedrel 50® se incubaron con 1 g/L de OMMT a pH 7,0 en *erlenmeyers* de 500 ml. Estos se agitaron magnéticamente a 350 rpm por 12 hs a 25°C, una vez alcanzado el equilibrio, se cuantificó IMZ y COT remanente. La fase sólida fue separada por centrifugación y se resuspendió en agua destilada usando el 10 % del volumen original (50 ml), se realizó en *erlenmeyers* de 50 ml y se llevó a pH 3,0 con H₂SO₄. La suspensión concentrada (10 g/L de OMMT) se agitó magnéticamente a 350 rpm durante 2 hs a 25°C. Luego se determinaron la concentración de IMZ y COT. Este proceso de adsorción-desorción se repitió 3 veces.

6.2.6 Tratamiento acoplado adsorción – foto Fenton

Las soluciones acuosas concentradas provenientes de la desorción del IMZ desde las OMMT, se trataron por aplicación del proceso foto Fenton. La concentración de IMZ en todos los sistemas ensayados fue alrededor de 507 mg/L, esta solución contiene aproximadamente 263 mgC/L de COT. A las suspensiones con OMMT, se le incorporaron 0,15 mM de Fe(III) como FeCl₃.6H₂O y 18 mM de H₂O₂. Por otro lado, se realizó el mismo experimento separando a la OMMT de la solución. A su vez se realizaron controles solo con luz; luz y H₂O₂; Fe(III) y luz; y Fe(III) y H₂O₂ en oscuridad, todos con OMMT en suspensión. Por otro lado, también se realizó un control con el producto de adsorción de una solución de 100 mg/L de IMZ con MMT, el sólido se concentró 10 veces y se dejó en suspensión, ya que no presentó desorción del IMZ adsorbido.

Las reacciones fueron llevadas a cabo en reactores *batch*, como se muestra en la *Figura 4.2 del Capítulo 4*, se trata de un frasco de vidrio *pyrex* de 600 ml de volumen envuelto en papel aluminio, iluminado desde arriba con una lámpara espiralada de luz negra *Interelec®* de 20 W, con aproximadamente 35 W/m² de radiación. El volumen de líquido fue 75 ml, se agitó

magnéticamente, la temperatura se mantuvo constante a 25°C con un baño térmico, y el pH inicial fue 3,0. Este pH fue necesario para la completa desorción del IMZ e ideal para el tratamiento foto-Fenton. Se tomaron muestras a lo largo del tratamiento para estudiar la cinética de la reacción y en cada una se determinaron concentraciones de IMZ, COT, H₂O₂ y pH.

6.3 Resultados y discusión

6.3.1 Caracterización de las arcillas montmorillonita y organomontmorillonita

6.3.1.1 Difracción de rayos X

La incorporación de ODTMA a la MMT se puede estudiar a través del aumento del espaciado basal (espesor de la tricapa de Si-Al-Si más el espacio interlaminar), evaluado por la posición de la reflexión del plano d_{001} con la ecuación de Bragg 6.1

$$n\lambda = 2 d_{001} \text{sen}\theta \quad \text{ecuación 6.1}$$

En la *Figura 6.2* se observa el difractograma de rayos X de muestras de MMT y OMMT en la región $3^\circ \leq 2\theta \leq 10^\circ$. En esta región se manifiestan las difracciones relacionadas con el espaciado interlaminar, correspondiente a la familias de planos cristalinos con orientación (001). La MMT presentó un espaciado basal de 1,24 nm, que corresponde a un espacio interlaminar de 0,29 nm, ya que el espesor de la tricapa Si-Al-Si es de 0,97 nm (*Emmerich, 2001*). En la OMMT se observó un sistema interlaminar heterogéneo que dió origen a tres picos de difracción, dos de ellos desplazados hacia ángulos menores respecto al pico correspondiente de la MMT, lo que indica un aumento de la distancia interlaminar por el intercambio de los átomos de Na⁺ originales de la MMT por las moléculas de ODTMA. Se observó un aumento de 1,24 nm a 1,44 nm y 2,02 nm, que corresponden a espacios interlaminares de 0,47 nm y 1,05 nm, por la incorporación del ODTMA en el espacio interlaminar de la MMT.

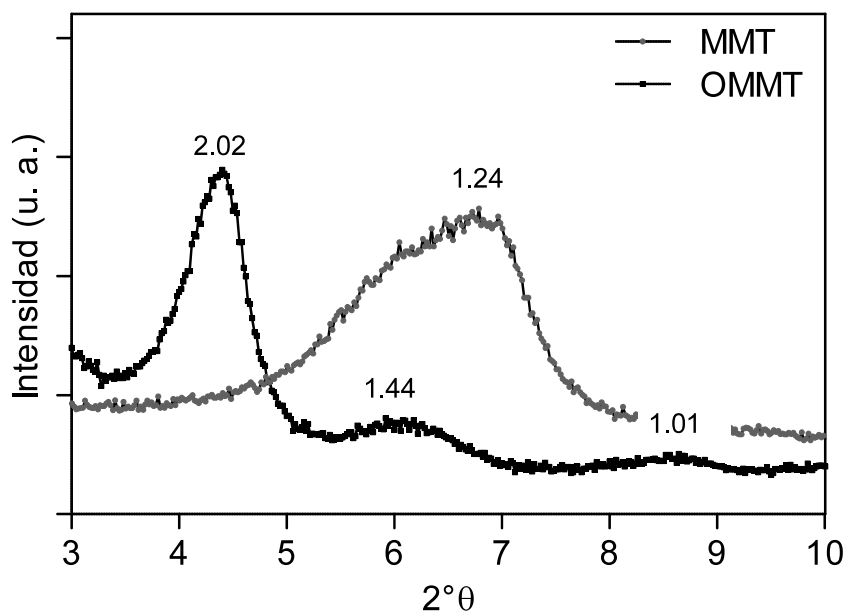


Figura 6.2 Difractograma de rayos X de MMT y OMMT. Solo se muestra la región de valores de 2θ comprendida entre 3 y 10° , donde se manifiestan las señales correspondientes a los planos (001).

En la *Figura 6.3* se pueden ver las distintas conformaciones de los cationes en la intercapa. Dependiendo de la densidad de carga de la arcilla y de la proporción de la CIC ocupada, las cadenas de alquilamonio pueden adoptar arreglos en monocapa, bicapa, pseudotricapa o el arreglo tipo parafina (*Bonczek, 2002*).

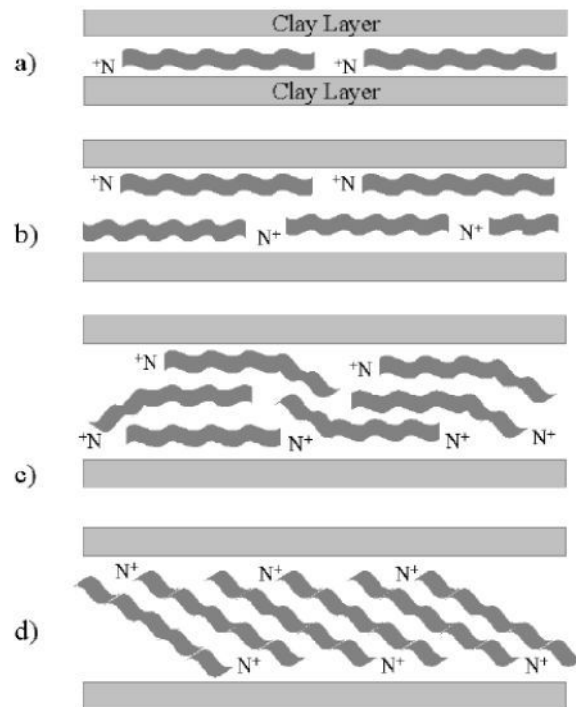


Figura 6.3 Potenciales conformaciones de los cationes en la intercapa. a) monocapa (1,37 nm) b) bicapa (1,77 nm) c) pseudotricapa (2,17 nm) d) arreglo tipo parafina (> 2,2 nm) (Bonczek, 2002).

El espaciado de 0,47 nm puede asignarse al arreglo de la cadena alquílica del ODTMA en forma de monocapa entre las láminas de arcilla, y el de 1,05 nm a un arreglo bi o trilaminar del ODTMA. El tercer pico corresponde a un espaciado basal de 1,01 nm y a un espacio interlaminar de 0,04 nm. Este valor es menor al de la MMT, lo que indicaría un colapso de las capas generado por la entrada del surfactante y simultánea remoción de los iones inorgánicos con su esfera de hidratación (Gamba, 2015).

6.3.1.2 Dispersión de rayos X de ángulos bajos y altos (SAXS-WAXS)

La dispersión de rayos X de bajo y medio ángulo son técnicas que permiten determinar cambios en la estructura de los materiales organizados en la escala de los nanómetros, los cuales no son detectables por las técnicas de difracción de rayos X convencionales, y por lo tanto aportan información complementaria. Los resultados obtenidos por SAXS para la MMT se

corresponden con los obtenidos por DRX. Para el caso de la OMMT, a través de SAXS se detectaron tres espacios basales diferentes de 1,48 nm, 1,99 nm y 6,04 nm, que coexisten en la OMMT y corresponden a los espacios interlaminares de 0,51 nm, 1,05 nm y 5,07 nm. Los dos primeros valores se corresponden con los encontrados a través de DRX. El mayor espacio interlaminar encontrado, correspondería al arreglo de las moléculas de ODTMA en la intercapa según el modelo de parafina (He, 2006; Bianchi, 2013). Además, en este caso se observa que hay una dispersión de datos, dada por distintos espesores, lo que avala el modelo de parafina, ya que es un arreglo más irregular.

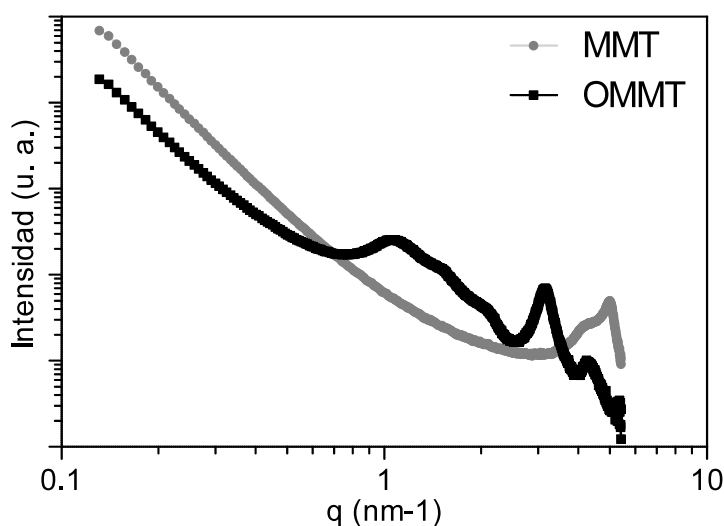


Figura 6.4 Dispersogramas WAXS y SAXS de MMT y OMMT.

6.3.1.3 Movilidad electroforética

En la *Figura 6.5* se observa la movilidad electroforética de las arcillas (expresada como potencial Zeta) en función del pH de la suspensión y esta da información sobre la distribución de los iones en la interface sólido/líquido, e indirectamente, sobre la carga superficial del mineral. El potencial Zeta de la MMT es negativo y se mantuvo prácticamente constante en todo el rango de pH estudiado, la independencia del pH es un comportamiento típico de este tipo de arcillas, cargadas negativamente debido a las sustituciones isomórficas (Durán, 2000). En el caso de la OMMT, debido a la incorporación de grandes cantidades de ODTMA, el potencial y el signo de la carga electroforética superficial cambiaron notablemente. Gamba(2015) reportó un

aumento del potencial Zeta a medida que aumenta la carga del ODTMA en la MMT. El cambio de signo del potencial Zeta a valores positivos recién se da con la carga de ODTMA utilizada en este trabajo e indica que el ODTMA además de incorporarse en la intercapa, se adsorbe en la superficie externa y los bordes de la arcilla.

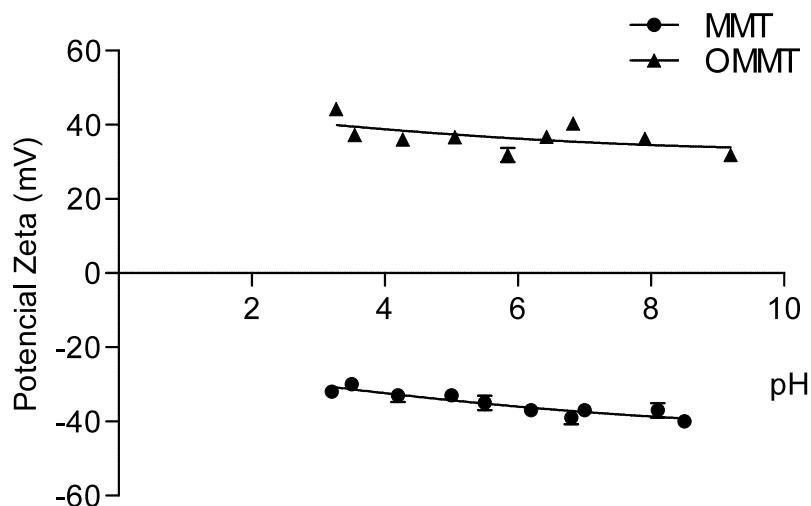


Figura 6.5 Potencial Zeta en función del pH para la MMT y OMMT.

6.3.1.4 Caracterización por adsorción de vapor de nitrógeno

Se determinaron el área superficial y la porosidad de las arcillas a través de adsorción de vapor de N_2 . La *Tabla 6.1* muestra las características superficiales de las arcillas obtenidas por el método BET (*Brunauer, 1938*), la distribución de tamaño de poros utilizando el modelo de Barrett-Joyner-Halenda (BJH) (*Barrett, 1951*), calculado a partir de la isoterma de desorción y considerando poros en forma de rendija; y el volumen total de poros utilizando el método de *Guruvitch* a una presión relativa de 0,95.

Tabla 6.1 Área superficial BET, tamaño de poro y volumen total de poros

	MMT	OMMT
Área BET (m ² /g)	46	1
Tamaño de poro (Å)	25	56
Volumen total de poros (cm ³ /g)	0,06	0,003

El área BET de la MMT patagónica utilizada en este trabajo se encuentra en el orden de otras montmorillonitas como la de Apache County, Arizona, USA con 65,2 m²/g (*Dogan, 2006*). Por otro lado, la OMMT muestra un área BET muchísimo menor que la de la MMT, esto debe a que el espacio interlaminar de la MMT es ocupado por la entrada de los iones alquilamonio. El tamaño de poro aumentó en la OMMT, esto está relacionado con el aumento del espaciado interlaminar de la arcilla que se observó por DRX y SAXS, dado por la incorporación de las grandes moléculas orgánicas. Y el volumen total de poros en la OMMT es muy bajo, probablemente porque los poros están totalmente ocupados por los alquilamonios.

6.3.2 Isotermas de adsorción y desorción a distintos pH

Se realizaron isotermas de adsorción con MMT y OMMT con IMZ puro e IMZ proveniente del Xedrel 50®. Se utilizaron los modelos de *Langmuir* y *Freundlich* para correlacionar los datos experimentales. Los modelos de *Langmuir* y *Freundlich* son los más utilizados para la descripción de las isotermas de adsorción en fase líquida (*Altenor, 2009*). El modelo de *Langmuir* propone la adsorción sobre una superficie homogénea con la formación de una monocapa, sin interacción entre las moléculas de adsorbato, y se describe a través de la siguiente ecuación

$$Q_{eq} = \frac{(q_{max} \times C_{eq})}{(K_d + C_{eq})} \quad \text{ecuación 6.2}$$

donde q_{\max} representa la capacidad máxima de adsorción y K_d la constante de desorción. El modelo de *Freundlich* sugiere una adsorción sobre una superficie heterogénea con interacción entre las moléculas adsorbidas, y la ecuación 6.3 describe este modelo

$$Q_{eq} = \left(K_f \times C_{eq}^{1/n} \right) \quad \text{ecuación 6.3}$$

donde K_f es la constante de *Freundlich* asociada a la capacidad de adsorción y n es la constante de *Freundlich* asociada a la intensidad de adsorción.

El modelo de *Langmuir* es el que mejor ajusta a los datos experimentales obtenidos en las isotermas. En la *Figura 6.6* se muestran las isotermas con el ajuste al modelo de *Langmuir* y en la *Tabla 6.2* las constantes y coeficientes de cada sistema. Se observó que entre las adsorciones, con ambas arcillas, del IMZ puro y el Xedrel 50® no hubo diferencias muy importantes, por lo tanto los coadyuvantes presentes en el Xedrel 50® no interferirían ni competirían marcadamente con el IMZ por los sitios de adsorción de las arcillas. Por otro lado, las MMT presentaron una q_{\max} mayor que las OMMT, probablemente debido a que el ODTMA de las OMMT este ocupando sitios de adsorción que podrían ocuparse por el IMZ. Al pH de adsorción, aproximadamente 6,0, una gran parte del IMZ se encuentra con carga positiva por la protonación del grupo imidazol, lo que favorecería el intercambio catiónico de este por los cationes intercambiables de la MMT. El IMZH^+ se adsorbe más sobre la MMT que tiene carga negativa, como se observó a través del potencial Zeta, que sobre la OMMT que presenta carga positiva en todo el rango de pH (*Figura 6.4*). La adsorción del IMZH^+ sobre la OMMT podría ser consecuencia tanto de la presencia de sitios negativos remanentes sobre la arcilla (un potencial Zeta positivo no significa que no existan sitios negativos en la arcilla, si no que en promedio predominan los sitios positivos), como de interacciones entre los fragmentos orgánicos del ODTMA y el IMZ/ IMZH^+ .

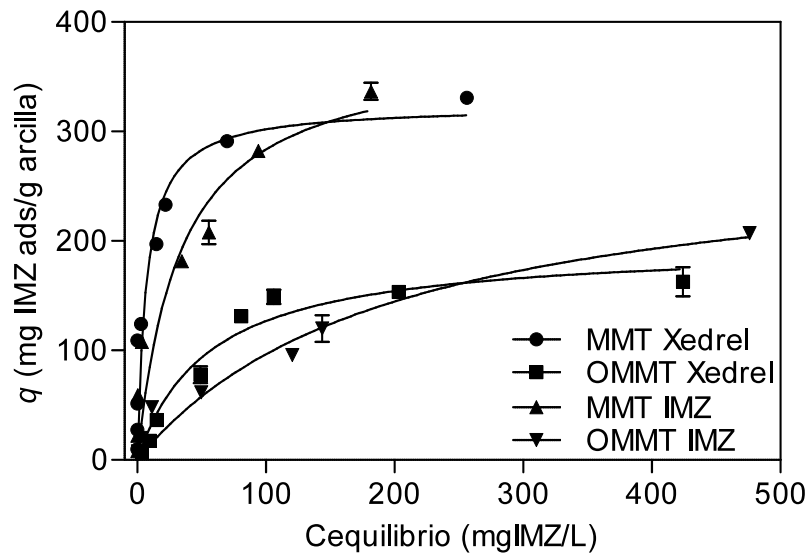


Figura 6.6 Isotermas de adsorción del IMZ y Xedrel con MMT y OMMT.

Tabla 6.2 Parámetros de correlación del modelo de *Langmuir* para las isotermas de adsorción

Muestra	q_{max} (mg/g)	K	R^2
MMT Xedrel	323,5	7,15	0,84
OMMT Xedrel	202,1	64,55	0,93
MMT IMZ	377,5	33,07	0,90
OMMT IMZ	288,5	198,9	0,94

Las capacidades de adsorción del IMZ dadas por las arcillas son algo menores a las encontradas por carbón activado en las mismas condiciones de adsorción donde *Martín-González (2014)* obtuvo entre 397-411 mg/g de capacidad. No obstante, en todos los casos, las arcillas, tanto MMT como OMMT, estarían en condiciones de adsorber prácticamente el 100 % del fungicida, ya que las concentraciones de IMZ encontradas en los efluentes agroindustriales, 1-38 mg/L de IMZ (*Santiago, 2013; López Loveira, 2016*) son mucho menores a las utilizadas en este trabajo.

Se realizaron adsorciones a diferentes pH para estudiar la dependencia de la adsorción del IMZ con el pH del medio, los resultados se muestran en la *Figura 6.7*. Para el caso de la MMT (1 g/L) en una solución de 100 mg/L de IMZ, el fungicida se adsorbió completamente a pH

ácido y neutro, en cambio a pH más básicos esta eficiencia de adsorción disminuyó. A pH alcalinos los grupos Si-OH de los bordes de la arcilla que son dependientes del pH, están completamente o parcialmente desprotonados y esto podría resultar en la menor eficiencia de adsorción del IMZ que a estos pH se encuentra en su mayoría con carga neutra, y por lo tanto disminuiría la atracción.

En cambio la OMMT, a pH ácidos no adsorbe el IMZ debido a la repulsión electrostática, ya que tanto el IMZ como la OMMT se encuentran cargadas positivamente. La eficiencia de adsorción de la OMMT aumenta a pH neutro y alcalinos, con eficiencias de alrededor del 50 %.

La eficiencia de adsorción de cada arcilla demostró ser dependiente del pH del medio, en general la MMT tuvo una eficiencia de adsorción mayor que la OMMT, salvo a pH muy alcalinos (11,0).

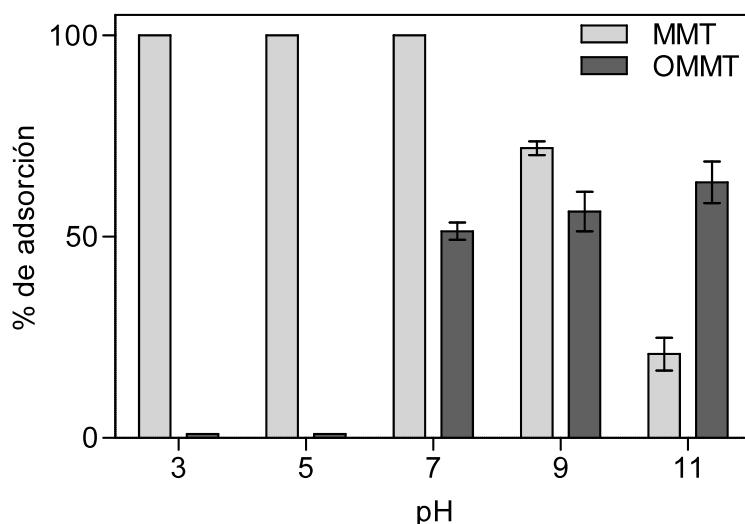


Figura 6.7 Porcentajes de adsorción a diferentes pH con MMT y OMMT (arcillas 1 g/L, IMZ 100 mg/L).

Este mecanismo está relacionado con la naturaleza química de los sorbatos que tienen diferentes formas estructurales (molecular y forma iónica) en soluciones a diferentes pHs (Zhu, 2009). Por ejemplo, las capacidades de adsorción de taninos y fenoles sobre una organoarcilla a pH altos son débiles (Anirudhan, 2006; Yang, 2003). Anirudhany colaboradores (2006) mostró que la eficiencia de adsorción de taninos sobre bentonita modificada con

hexadeciltrimetilamonio puede alcanzar un 99 % a pH 4 y cuando se lo hace a pH 8 solo adsorbe un 40 %.

6.3.3 Desorción a diferentes pH

Para evaluar la posibilidad de reutilizar los materiales adsorbentes, se realizaron estudios de desorción. Con los sólidos de las arcillas obtenidos luego de la adsorción de una solución de 100 mg/L de IMZ a pH 7,0, se realizaron desorciones a distintos pH manteniendo la misma relación de volúmenes.

La MMT mostró una parcial y baja desorción del IMZ solo a pH alcalinos, la adsorción del IMZ sobre la MMT resultó prácticamente irreversible en un amplio rango de pH. En cambio, el IMZ se desorbió de la OMMT a pH ácidos, aumentando la eficiencia hasta el 100 % a pH 3,0 (Figura 6.8). Estos resultados estarían relacionados con la protonación del IMZ a pH ácidos y la carga positiva de la OMMT, lo cual producen una repulsión electrostática.

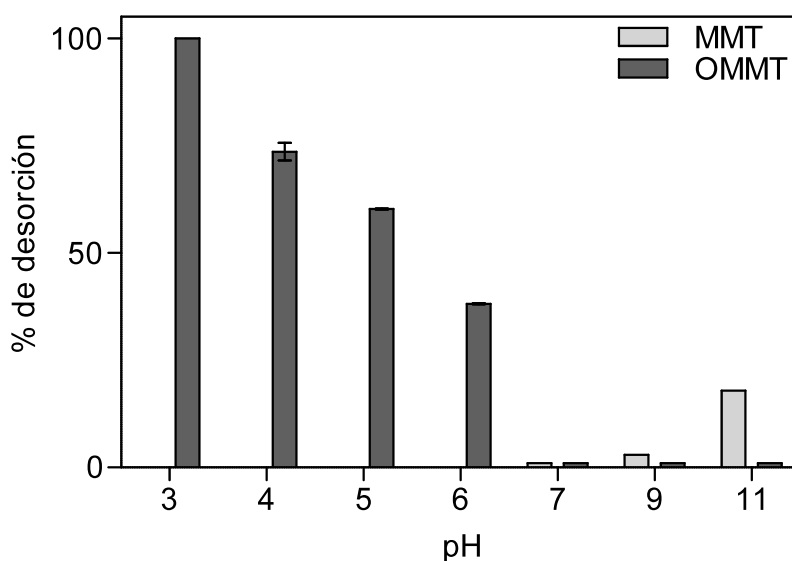


Figura 6.8 Porcentajes de desorción a diferentes pH con MMT y OMMT (arcillas 1g/L, volumen 500 ml de agua al pH indicado).

Los resultados obtenidos indican que las MMT son más eficientes como adsorbentes del IMZ pero a su vez las OMMT logran desorber el 100 % de lo adsorbido. Regenerar las organoarcillas luego de la adsorción es de gran importancia durante su aplicación en el control de la contaminación. Se reportaron varios métodos para regenerar las OMMT gastadas como la degradación biológica, foto oxidación, extracción o desorción química, extracción supercrítica, desorción térmica, etc. (Zhu, 2009). En cuanto a la desorción química, Bouraada (2008) utilizó acetona con una gran eficiencia para desorber safranina (un colorante) de una hidrotalcita modificada con dodecil sulfato de sodio o dodecil benceno sulfonato de sodio. Un tratamiento básico con una solución de NaOH se utilizó con eficiencia para desorber taninos (Anirudhan, 2006) y fenol (Yang, 2003) de organoarcillas. En el sistema OMMT/IMZ la desorción se consigue con un simple cambio de pH, lo que representa una ventaja operativa importante.

Se estudiaron por SAXS los cambios estructurales en las arcillas antes y después de la adsorción y desorción de IMZ. En las Figuras 6.9 y 6.10 se puede observar que las MMT aumentan su espacio interlaminar en 0,5 nm por la entrada del IMZ a pH 7,0. Después del proceso de desorción a pH a 3,0 el espaciado interlaminar de la MMT permanece igual, confirmando que el IMZ no se desorbe de la MMT por el cambio de pH. Para el caso de la OMMT, la incorporación del IMZ no genera cambios en los espacios encontrados originalmente en la OMMT, sin embargo se observa mayor dispersión de la señal en el espacio interlaminar de 1,05 nm, el IMZ podría estar desordenando la estructura de la OMMT. Al desorber el IMZ, aunque este se desorbe el 100%, la OMMT no vuelve a su configuración original, probablemente el desorden del ODTMA en la intercapa de la arcilla sea irreversible.

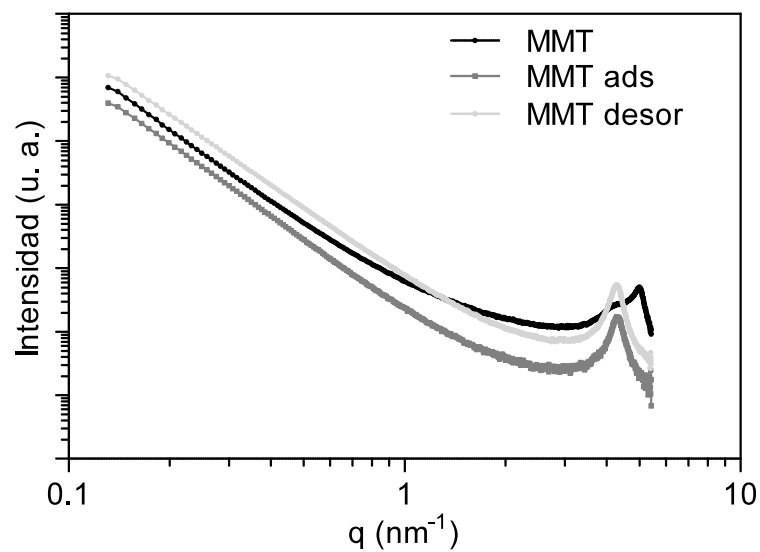


Figura 6.9 Dispersogramas WAXS y SAXS de MMT, MMT con IMZ a pH 7,0 y MMT luego de la desorción a pH 3,0.

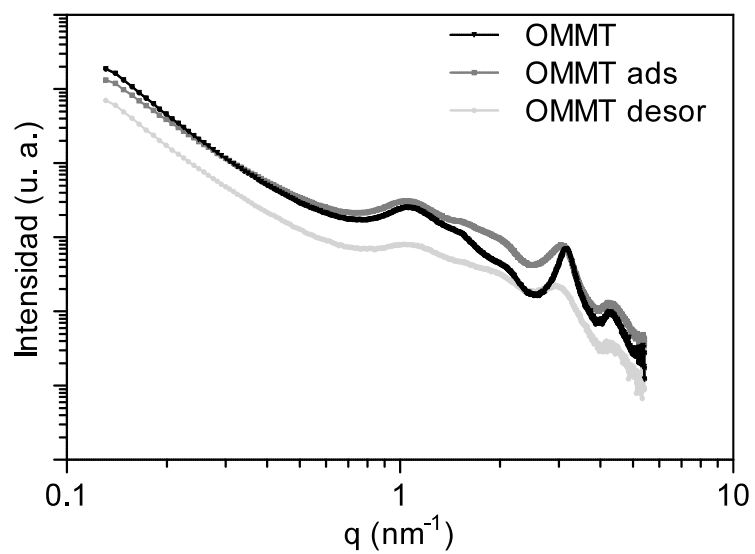


Figura 6.10 Dispersogramas WAXS y SAXS de OMMT, OMMT con IMZ a pH 7,0 y OMMT luego de la desorción a pH 3,0.

6.3.4 Desorción-concentración

Con los resultados obtenidos sobre desorción de IMZ de la OMMT, se estudió la posibilidad de desorber el IMZ adsorbido en las OMMT en el 10 % de volumen original con el objetivo de tratar el fungicida en un menor volumen y a su vez reutilizar el adsorbente.

Las OMMT con el IMZ adsorbido, se separaron y resuspendieron en el 10 % del volumen original de agua acidificada a pH 3,0 con H₂SO₄. Luego se cuantificó IMZ en la solución. Los resultados mostraron que fue posible desorber el fungicida en el 10 % del volumen original (*Figura 6.11*). La concentración adsorbida de IMZ incorporando 1 g/L de OMMT a una solución de 100 mg/L fue 53 ± 6 mg/L; al desorber se encontró una concentración de IMZ de 507 ± 63 mg/L, prácticamente todo el IMZ fue desorbido de la organoarcilla. Por otro lado, el COT adsorbido de la solución de 100 mg/L de IMZ fue 31 ± 6 mg/L y el desorbido 263 ± 26 mg/L. Estas concentraciones de COT adsorbido y desorbido y concentrado corresponden al COT aportado por el IMZ (el 56 % de su peso es carbono).

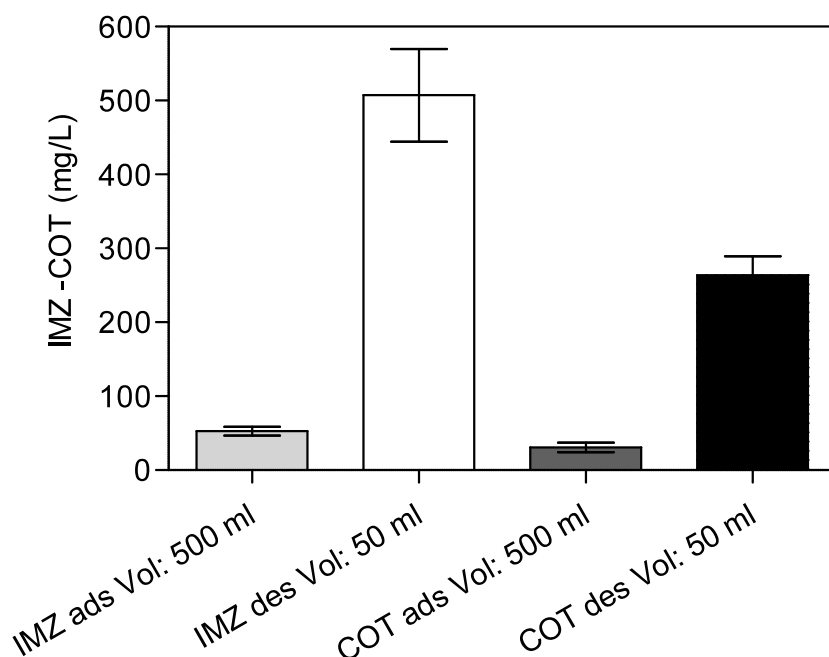


Figura 6.11 Adsorción y desorción de una solución de 100 mg/L de IMZ con 1 g/L de OMMT.

6.3.5 Reutilización de la OMMT

Finalmente se utilizó la misma OMMT en procesos de adsorción-desorción para evaluar la factibilidad de reutilización del material adsorbente. Se realizaron 3 procesos de adsorción-desorción consecutivos y se observó que la OMMT no perdió eficiencia a lo largo de los sucesivos usos (*Figura 6.12*).

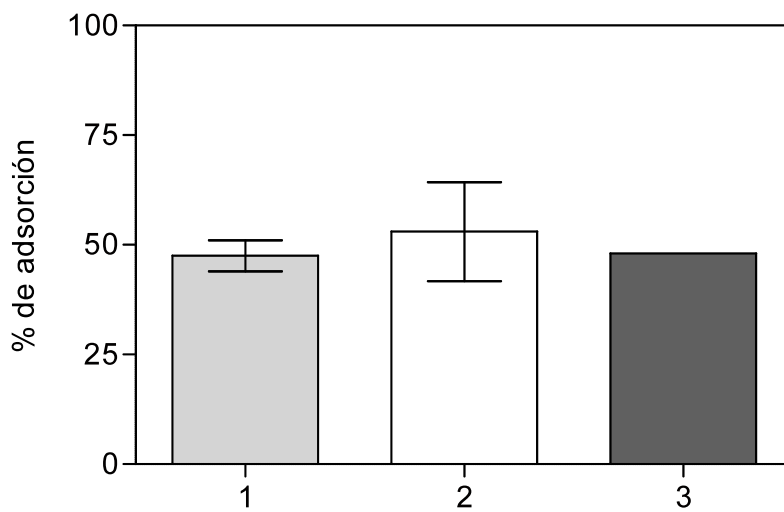


Figura 6.12 Adsorciones sucesivas con una misma OMMT (1 g/L).

Se debe notar que en el método de desorción química, tanto la capacidad de adsorción de las OMMT regeneradas y la eficiencia de desorción de los adsorbatos decrecerá gradualmente a medida que continúan los diferentes ciclos de reutilización (*Zhu, 2009*). *Bouraada (2008)*, encontró que luego de 2 ciclos de regeneración, las OMMT mantuvieron la eficiencia de remoción de la safranina por encima del 85 %, que corresponde a la misma eficiencia de la OMMT original. *Yang (2003)* reportó que luego de 4 ciclos la eficiencia de adsorción del fenol en la organoarcilla decrece de 99,7 % a 88 % y la eficiencia de desorción decrece de 95,7 % a 87,3 %.

6.3.6 Tratamiento acoplado adsorción - foto-Fenton

Se realizó un tratamiento acoplado adsorción-desorción-concentración-foto Fenton para realizar un tratamiento total del contaminante IMZ. Se realizaron dos tipos de experimentos: i) se aplicó el proceso foto Fenton sobre la solución conteniendo el IMZ desorbido (concentrado 10 veces respecto a su concentración en la solución inicial) y la OMMT remanente. Se incorporó 0,15 mM de Fe(III) como $\text{FeCl}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, se acidificó a pH 3,0 con H_2SO_4 y se incorporó 18 mM de H_2O_2 . Se utilizó un reactor iluminado como el descrito en el *Capítulo 4* ii) se separó la OMMT remanente y se procedió como en i).

En la *Figura 6.13* se presentan la evolución temporal relativa de IMZ (concentración inicial aproximadamente 500 mg/L) y de COT durante la aplicación del proceso foto Fenton en los dos tipos de experimentos realizados. Los resultados indican que el método foto Fenton es eficiente para eliminar el IMZ, eliminándose el 100 % en menos de 5 horas en el sistema con OMMT en suspensión, y en dos horas en el caso donde se separó la OMMT. La mejora observada al separar la OMMT está relacionado con un mejor aprovechamiento de la luz y a la ausencia de ODTMA (proveniente de la OMMT) que pudiera competir por los OH^* generados.

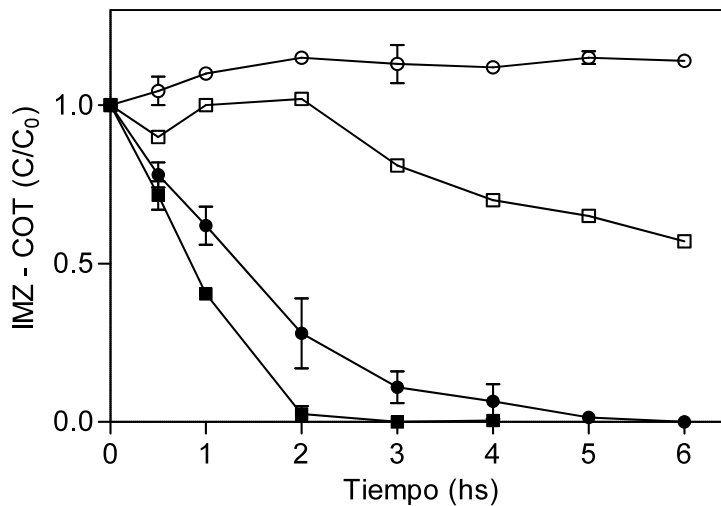


Figura 6.13 Evolución de la concentración relativa de IMZ y COT en el tiempo para los sistemas con OMMT y sin OMMT. IMZ sin OMMT (■) y con OMMT (●), COT sin OMMT (□) y con OMMT (○).

Los controles realizados (*Figura 6.14*) mostraron que prácticamente no hay degradación de IMZ, salvo en el control con Fe y luz en ausencia de H₂O₂, donde se observó eliminación de IMZ, probablemente como consecuencia de la formación de hidroxilo complejos de Fe(III) foto activos (*Kwan, 2003*).

En cuanto al consumo de COT (*Figura 6.13*) se observó claramente que la mayor eliminación del COT en solución se logra cuando se separa la OMMT antes de aplicar el tratamiento foto Fenton. En este caso, luego de un período de meseta, que finaliza cuando todo el IMZ se degradó, comienza el proceso de mineralización. Estos resultados sugieren que, una vez eliminado el IMZ, los radicales se emplean en la oxidación y posterior mineralización de los intermediarios oxidados. Cuando el proceso foto Fenton se aplica en presencia de OMMT se observa un ligero pero continuo aumento del COT, que puede asociarse con la oxidación y posterior eliminación a la solución del ODTMA incorporado a la MMT.

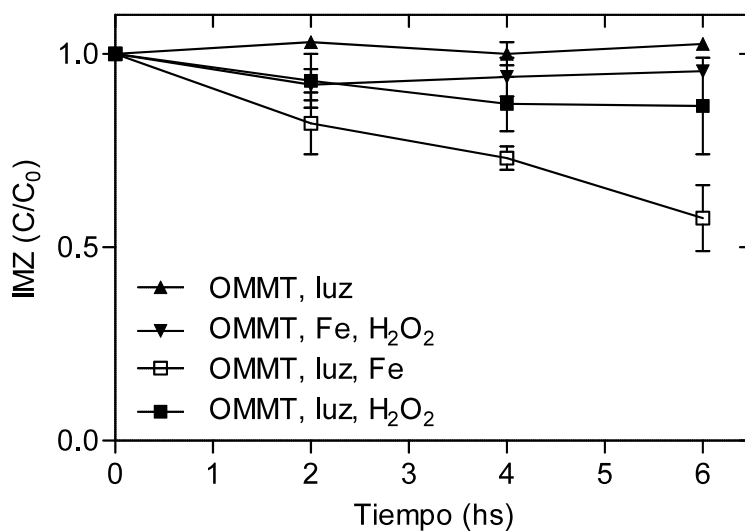


Figura 6.14 Evolución de la concentración relativa de IMZ en el tiempo para los diferentes controles.

Algunos autores utilizan la oxidación foto asistida para la regeneración de las organoarcillas gastadas (*Zhu, 2009; Omorogie, 2016*). *Mogyorósi (2002)* e *Ilisz (2002)* utilizaron arcillas modificadas con hexadecilpiridina para la adsorción de 2-clorofenol y utilizaron fotocatalisis heterogénea con TiO₂ para la mineralización del 2-clorofenol y la regeneración de

la organoarcilla, sus resultados mostraron que la estructura y composición de la organoarcillas no se vió afectada por la fotocatalisis y esta pudo ser reutilizada. Por otro lado, algunos autores sintetizan las organoarcillas con fotocatalizadores incluidos, por ejemplo *Xiong (2007)* utilizó arcillas modificadas con dodecilsulfonato a las que les agregó el fotocatalizador ftalociananosulfonato de paladio, para adsorber triclorofenol. Luego los fenoles adsorbidos sobre la organoarcilla, pudieron ser directamente degradados por la foto activación de los catalizadores, *Xiong (2007)* reportó que las organoarcillas pudieron ser reutilizadas en varios procesos de adsorción y degradación.

Adicionalmente se realizó un experimento control empleando MMT como adsorbente. 1 g/L de MMT adsorbió aproximadamente 40 mg/L de COT proveniente de una solución de 100 mg/L de Xedrel. Esta arcilla se resuspendió en el 10 % del volumen original a pH 3 y se aplicó un proceso foto Fenton incorporando Fe(III) y H₂O₂ en las mismas concentraciones y condiciones que en los experimentos detallados más arriba. Debe notarse que en el caso de que todo el COT adsorbido se libere a la solución, su valor máximo sería de 400 mg/L. Como consecuencia del tratamiento foto Fenton se observó un aumento constante en el tiempo del COT (*Figura 6.15*), y después de 10 horas de tratamiento foto Fenton el COT llegó a valores de alrededor de 279 mg/L sin alcanzar un *plateau*. Por otro lado, no se detectó IMZ en solución. Si bien probablemente el IMZ y los coadyuvantes adsorbidos se degradaron en parte y desorbieron (lo cual explica el aumento de COT en solución), el proceso de eliminación de COT fue mucho más lento que cuando se utiliza como adsorbente la OMMT.

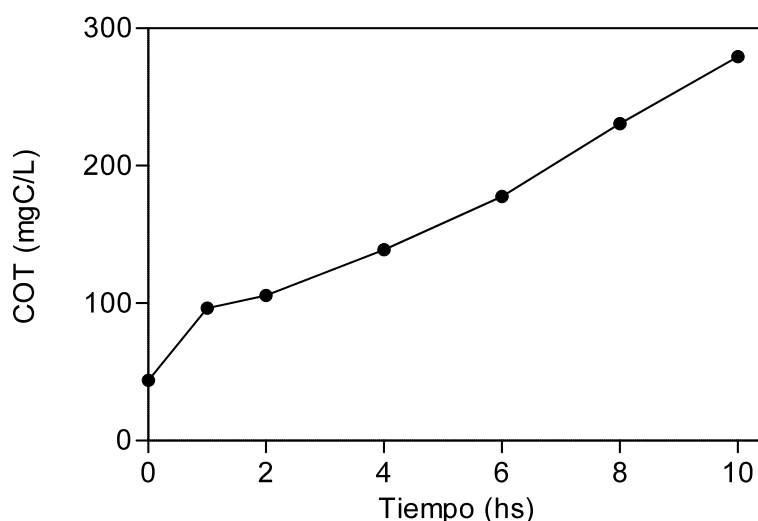


Figura 6.15 Evolución del COT en el tiempo para el control con MMT.

6.4 Conclusiones

El empleo de arcillas del tipo de las bentonitas simples o modificadas con alquilamonio cuaternarios resultó efectivo para la remoción de IMZ y parte de los coadyuvantes presentes en el Xedrel 50®. La adsorción resultó fuertemente dependiente del pH (principalmente en el caso de la OMMT), provocando notorias modificaciones en el espaciado interlaminar. Esto indica que la adsorción ocurre no solo en los sitios disponibles en la superficie de las partículas, sino también en su interior. La capacidad de adsorción de ambos tipos de adsorbentes fue muy buena, solo algo inferior a la registrada para otros adsorbentes convencionales.

En el caso de la OMMT, la presencia de ODTMA condujo a un adsorbente reversible y reutilizable para el IMZ, en un intervalo de pH que presenta utilidad práctica (intervalo 3-6). Este desarrollo es muy relevante porque es la base para la preparación de sistemas adsorbentes que permitan la destrucción total del contaminante retenido y, a la vez, su reutilización. El contaminante pudo desorberse en un volumen de solución 10 veces menor que el original, sobre el cual se aplicó un proceso foto Fenton que condujo a la eliminación total del componente activo y a buena parte del COT que lo acompaña. El proceso de oxidación fue más eficiente cuando se aplicó luego de remover la OMMT, pero aun en su presencia pudo eliminarse completamente.

En líneas generales puede concluirse que el uso de OMMT para adsorber contaminantes en agua y luego desorberlos en un menor volumen es un método promisorio para separar los contaminantes, especialmente si se encuentran en concentraciones bajas, y concentrarlos para luego realizarles un tratamiento en volúmenes más reducidos y poder reutilizar el adsorbente. A través de procesos foto Fenton, es posible tratar el líquido concentrado producto de la desorción de la OMMT. Los resultados son mejores al separar la OMMT de la suspensión, ya que la luz no es dispersada ni existen otros compuestos orgánicos que puedan competir con el IMZ por los OH^\bullet . La combinación de adsorción con procesos avanzados de oxidación pueden resultar una eficiente y económica alternativa de remover, acumular, concentrar y degradar contaminantes en agua.

CAPÍTULO 7

ESCALA PILOTO: FENTON SOLAR - BIOLÓGICO

7.1 Introducción

Al escalar un proceso, tanto biológico como una TAOs se deben tener en cuenta muchas variables que en la escala de laboratorio son muy sencillas de controlar o utilizar. Por ejemplo, en el laboratorio controlar el pH, la temperatura, el uso de una cantidad limitada de reactivos y fuentes de luz es sencillo. En cambio, en escala piloto la cantidad de reactivos utilizados, el control de las variables y las fuentes de energía juegan un papel crucial a la hora de elegir un método para tratar los efluentes. De esta misma forma, en una industria se evalúa el tipo de tratamiento del efluente en todas sus etapas, para minimizar el costo y a su vez cumplir con la legislación vigente.

Los tratamientos biológicos son extensamente utilizados en la actualidad en escala industrial tanto en empresas como en plantas depuradoras de efluentes domésticos. Como se comentó anteriormente, los métodos biológicos son los más económicos y son utilizados siempre que sea posible. La característica esencial de un biorreactor es que el diseño del mismo proporcione un sistema adecuado de aireación y agitación logrando cubrir las necesidades metabólicas de los microorganismos, el consumo de energía debe ser tan bajo como sea posible, debe tener un sistema de control eficiente de pH, temperatura y O_2 disuelto, para su construcción deben emplearse materiales económicos, entre otras cosas.

Las TAOs se estudian en profundidad a escala de laboratorio, habiéndose conseguido notables avances en la determinación de las cinéticas y mecanismos de oxidación de numerosos contaminantes orgánicos e inorgánicos. En lo que respecta a sus aplicaciones en escala piloto o incluso industriales, si bien el avance es menor, se conocen aplicaciones en diferentes lugares del globo, principalmente para el tratamiento de aguas conteniendo plaguicidas (España) o colorantes (Colombia).

Las TAOs que emplean luz solar como fuente de iluminación resultan atractivas porque disminuyen el costo energético. En estas aplicaciones, el diseño del colector solar juega un rol fundamental. Hasta el presente se han realizado (y realizan) numerosos trabajos en búsqueda de la optimización de colectores solares. Los modelos de colectores solares más difundidos son: colectores no concentradores (*Non- Concentrating collectors*), colectores concentradores (*Concentrating collectors*), y los colectores parabólicos concentradores (*Compound parabolic concentrators*) (CPC) (*Figura 7.1*). Los colectores concentradores son grandes reactores parabólicos con un cilindro angosto en el centro por donde circula el líquido a tratar, concentran 10 veces la radiación solar pero son costosos y el volumen que pueden tratar es pequeño. Los colectores no concentradores son reactores muy económicos pero tienen baja eficiencia. Los

colectores CPC se presentan como la mejor alternativa para el tratamiento de efluentes, ya que tienen varias ventajas, como un flujo turbulento, no hay sobrecalentamiento del líquido, pueden utilizar tanto radiación directa como difusa, son de bajo costo, la luz reflejada por los CPC es distribuida alrededor de todo el tubo incluyendo la parte de atrás, por lo tanto toda la circunferencia del tubo es iluminada (Alfano, 2000; Malato, 2002, 2007). En el Anexo I se detallan más características de los fotorreactores especialmente los reactores CPC.



Figura 7.1. a) Colector no concentrador. b) Colector concentrador. c) Colector Parabólico Compuesto.

En La Mojonera, Almería (España) se encuentra la primera planta de tratamiento Fenton solar comercial del mundo, está en funcionamiento desde el año 2004, allí se tratan líquidos de lavado de envases vacíos de plaguicidas. Esta consta de una superficie total de 150 m² de CPC. El líquido se utiliza para lavar los envases hasta que su concentración de COT alcanza los 100 mgC/L, luego se eliminan los lodos por filtración, se agrega Fe y se ajusta el pH. El sistema es operado por lotes en los CPC, después del tratamiento, el agua tratada es retornada al sistema de lavado de envases. La planta tiene una capacidad de operación de 1875 m³ anuales (Blanco Gálvez, 2005).

La mayoría de los estudios informados sobre aplicación de TAOs solar corresponden a regiones de alta irradiación solar como se puede ver en la Figura 7.2 más cercanas al trópico

que la Ciudad de Buenos Aires. Por lo tanto, evaluar experimentalmente la posibilidad de realizar este tipo de tratamiento a estas latitudes es una tarea pendiente, necesaria para establecer la factibilidad de aplicar esta técnica en el conurbano bonaerense y ciudades localizadas en latitudes cercanas.

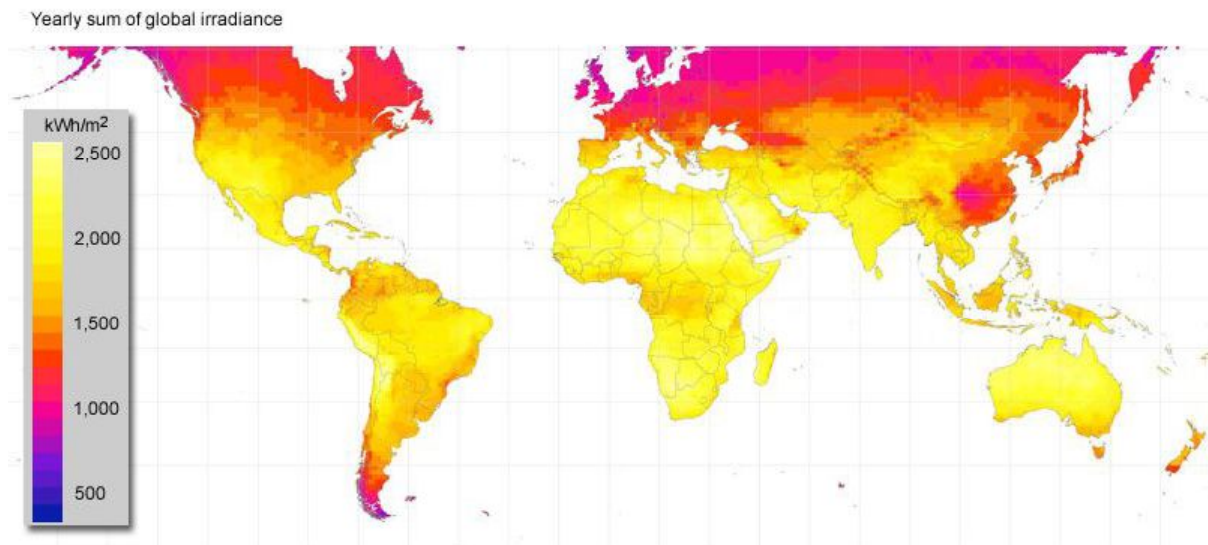


Figura 7.2 Distribución anual de la radiación solar global promedio sobre la Tierra (Extraído de www.greenrhinoenergy.com).

7.1.2 Objetivos

Acoplar el tratamiento Fenton solar con el tratamiento biológico para desarrollar un método alternativo para el tratamiento del efluente con IMZ en escala piloto basado en los resultados obtenidos en escala de laboratorio y examinar la respuesta al cambio de escala.

Estudiar la dependencia de la velocidad de degradación del IMZ con la radiación solar en distintas épocas del año, en días a pleno sol y nublados, para determinar experimentalmente la factibilidad de aplicar esta metodología en la latitud del Partido de San Martín, Provincia de Buenos Aires.

7.2 Desarrollo experimental

7.2.1 Características de la planta piloto

7.2.1.1 Reactor solar

El equipo instalado en la terraza del Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental de la Universidad Nacional de San Martín fue provisto por la empresa Solu-Techno (Perú) (*Figura 7.1.c*). Se trata de un reactor solar tipo CPC el cual es capaz de capturar la radiación solar directa y difusa (*Malato, 2002; Bandala, 2004*). Se encuentra montado en una plataforma fija con orientación NE inclinada a $34,5^\circ$ correspondiente a la latitud del Partido de San Martín, ya que la eficiencia máxima de captación anual se consigue con un ángulo de inclinación del colector sobre la horizontal equivalente a la latitud del lugar de emplazamiento (*Blesa y Sánchez, 2004; Navntoft, 2012*). Está formado por 4 paneles con 4 tubos de borosilicato de 1,5 m de largo y 50 mm de diámetro cada uno, cada tubo tiene un colector parabólico de aluminio. El reactor tiene un tanque reservorio de un volumen total de 100 L, y el volumen interior total de todos los cilindros es de 40 L. El líquido recircula constantemente a un caudal de 40 L/min mediante una bomba centrífuga.

7.2.1.2 Reactor biológico

El reactor biológico de la planta piloto tiene un volumen de 200 L, cuenta con un agitador con paleta estándar que alcanza 400 rpm, aireador alimentado por una compresor de aire y control de pH con electrodo de pH acoplado a bombas electromagnéticas a diafragma para alimentar con ácido y base según corresponda, el ambiente se encuentra climatizado (*Figura 7.3*).

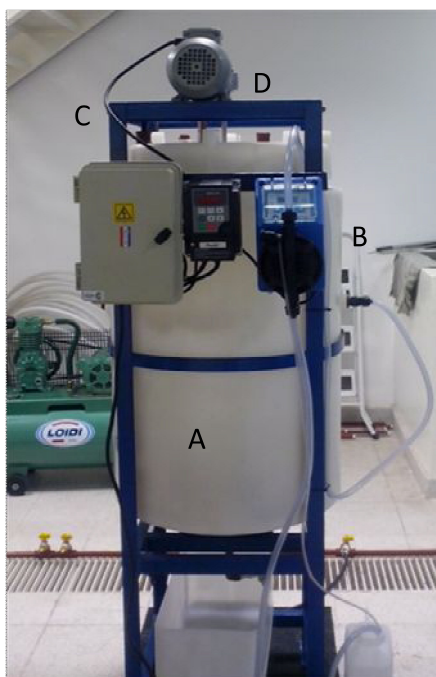


Figura 7.3 Imagen de uno de los reactores biológicos de la planta piloto. A) Reactor de 200 L. B) Bomba para control de pH. C) Agitador. D) Entrada de aire comprimido.

7.2.2 Tratamiento secuencial foto Fenton-biológico en escala piloto con reactor solar

Basados en los resultados obtenidos en los experimentos de tratamiento acoplado foto Fenton – biológico del *Capítulo 5*, se realizó el tratamiento en escala piloto. Se emplearon soluciones acuosas conteniendo 500 mg/L de IMZ y 500 mg/L de COT proveniente de Xedrel 50®. Estas soluciones se expusieron a un tratamiento de oxidación por aplicación del proceso foto Fenton bajo iluminación solar, por lo tanto es llamado Fenton solar, y se emplearon las siguientes condiciones: 0,15 mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 27 mM de H_2O_2 , pH 3,0 (ajustado con H_2SO_4). De acuerdo a los resultados de los *Capítulos 4 y 5* se decidió utilizar 27 mM de H_2O_2 , ya que con esta cantidad se alcanzaron altos porcentajes de degradación de la DQO y el COT y el oxidante se utilizó en forma más eficiente en el proceso global (acoplado).

La reacción de Fenton solar se realizó en el reactor CPC detallado anteriormente. La cinética de la reacción se estudió tomando muestras a diferentes tiempos, y se determinó en cada una la concentración de plaguicida, COT, H_2O_2 , pH, Fe, temperatura y radiación solar de acuerdo a las técnicas detalladas en el *Capítulo 2*. El tratamiento Fenton solar se extendió hasta el consumo total del H_2O_2 . Se realizaron experimentos a pleno sol en verano e invierno,

días nublados en verano e invierno, de esta forma se estudiaron los escenarios extremos posibles que pueden suceder en la región de Buenos Aires si esta tecnología se utilizase, algunas de las principales condiciones se detallan en *la Tabla 7.1* y además en el *Anexo II* se pueden consultar fechas y horarios, tiempos de duración, irradiación, etc. de todos los ensayos realizados. Además, se realizaron experimentos en día soleado de verano con el agregado del oxidante H₂O₂ en 3 dosis de 9 mM cada una, en día soleado de verano utilizando el doble de concentración de catalizador Fe(III) 0,3 mM, y diferentes controles en día soleado de verano (sin H₂O₂ ni Fe, solo H₂O₂, solo Fe y Fenton térmico sin luz (reactor tapado)).

Tabla 7.1 Condiciones de cada ensayo en el reactor solar

Sistema	Irradiación promedio del día W/m ²	Temperatura promedio del día °C	Temperatura máxima del líquido °C
Soleado verano	51	28	43
Nublado verano	20	26	35
Soleado invierno	28	12	25
Nublado invierno	11	14	23

Para las soluciones preoxidadas en el reactor CPC en día soleado en verano e invierno, se realizó un cultivo *batch* de células en suspensión en un reactor de 200 L con un volumen de trabajo de 100 L con agitación a 200 rpm y aireación, el pH se ajustó y se mantuvo en 7,0 y la temperatura fue 24°C constante. A las soluciones tratadas por Fenton solar, se les adicionaron nutrientes inorgánicos (1,0 g/L de (NH₄)₂SO₄, 0,5 g/L de K₂HPO₄, 50 mg/L de MgSO₄ y 5 mg/L de CaCl₂), no así, fuente de carbono extra. Las soluciones se inocularon con 5% v/v de la comunidad de microorganismos resistentes, *comunidad 2* (ver *Capítulo 5*). Se tomaron muestras periódicamente y se midió COT y DQO. En el caso correspondiente al experimento realizado en verano soleado se midieron sólidos totales, volátiles, biomasa y sólidos sedimentables de acuerdo a lo detallado en el *Capítulo 2*. El esquema del proceso global se muestra en la *Figura 7.4*.

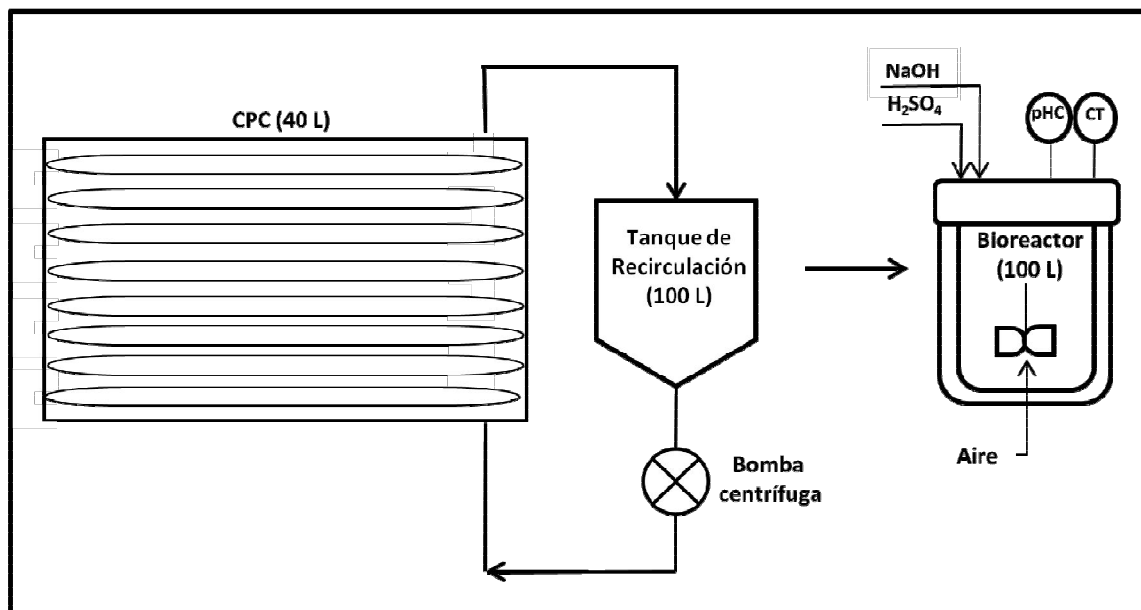


Figura 7.4. Esquema global de la planta piloto.

7.2.3 Bioensayo de toxicidad con semillas de *Lactuca sativa L.*

Se realizaron bioensayos de toxicidad aguda con semillas de *Lactuca sativa L.* para evaluar la toxicidad en los diferentes estadios del tratamiento (*Standard Methods 18th Edition, 1992*). Para realizar este test, se introdujeron membranas de papel en placas de *Petri* de 9 cm de diámetro y se mojaron con 4 ml de las muestras a pH 7,0. Un total de 15 semillas se distribuyeron uniformemente sobre el papel y se realizaron 5 replicas de cada uno. Luego de 5 días en oscuridad a 24 ± 2 °C se midieron las longitudes de las raíces e hipocotilos. Se analizaron las muestras puras (sin dilución) para determinar si las soluciones resultan inhibitorias en comparación con los controles de agua destilada. Se utilizó *Student T-test* para analizar la información con un $p \leq 0,05$.

7.2.4 Identificación de productos de oxidación del tratamiento Fenton solar

A través de *HPLC*, se utilizaron distintos patrones de ácidos orgánicos y compuestos inorgánicos para identificar los productos de oxidación del Xedrel 50® luego del tratamiento Fenton solar.

Además, con *HPLC-MS* se buscaron los primeros intermediarios de oxidación del IMZ hallados en el *Capítulo 4*. En el *Capítulo 2* se presentan las condiciones experimentales de análisis.

7.3 Resultados y discusión

7.3.1 Fenton Solar

Para estudiar el efecto del catalizador, el oxidante y la iluminación por separado se realizaron una serie de controles en el reactor CPC. En la *Figura 7.5* se presentan los resultados correspondientes a los controles realizados durante días de verano soleados (con irradiación solar similar en todos los casos). Como se observa en la figura, no hubo degradación apreciable de IMZ en el control sin el agregado de Fe(III) ni H_2O_2 , lo que indica que en estas condiciones el IMZ no fue fotolizado por la radiación solar al ser expuesto durante 4 horas. En los otros casos, la velocidad de degradación fue lenta, degradándose solo el 20 % del IMZ en 4 hs. Estos resultados mostraron que la contribución en la degradación de IMZ de la fotólisis, del proceso Fenton térmico (con el reactor tapado) y la oxidación con uno solo de los reactivos (Fe(III) y luz o H_2O_2 y luz) es baja.

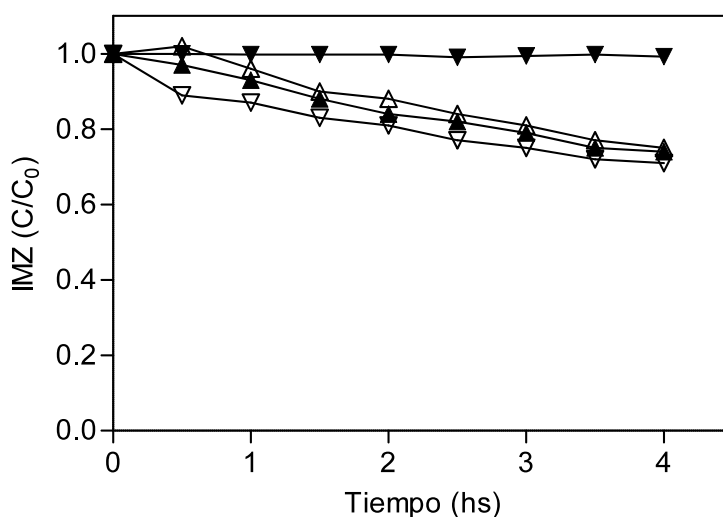


Figura 7.5 Evolución de la concentración relativa de IMZ en los controles del tratamiento Fenton solar. Sin H_2O_2 (▲), sin Fe (▽), Fenton Térmico (△), sin Fe ni H_2O_2 (▼).

Los tratamientos Fenton solar se realizaron en verano e invierno, en días soleados y nublados para estudiar la dependencia de la velocidad de degradación del IMZ con respecto a la radiación solar, y se extendieron hasta la eliminación completa del H_2O_2 en los casos soleados, en los casos en días nublados los experimentos se extendieron durante 4 horas como los controles. Realizar ensayos en diferentes escenarios es útil, ya que la mayoría de las investigaciones científicas para el tratamiento solar de efluentes están realizadas en días soleados y despejados (Navntoft, 2009).

Los experimentos realizados en días soleados, tanto en verano como en invierno, mostraron una degradación total del IMZ. La radiación solar en invierno es mucho más baja que en verano, pero suficiente para degradar todo el IMZ en 6 hs mientras que en verano se degradó totalmente en 4 hs, cabe mencionar que en invierno se necesitaron 2 días consecutivos para completar la degradación total del IMZ (Figuras 7.6 y 7.7). La cinética de degradación del IMZ en los días soleados puede ser aproximada a una cinética de pseudo primer orden, con un $t_{1/2}$ de 1 hs en verano y 2,5 hs en invierno. En los días nublados, tanto en verano como en invierno, la radiación fue mucho más baja e irregular y los $t_{1/2}$ de cada época del año fueron más altos que en los días soleados.

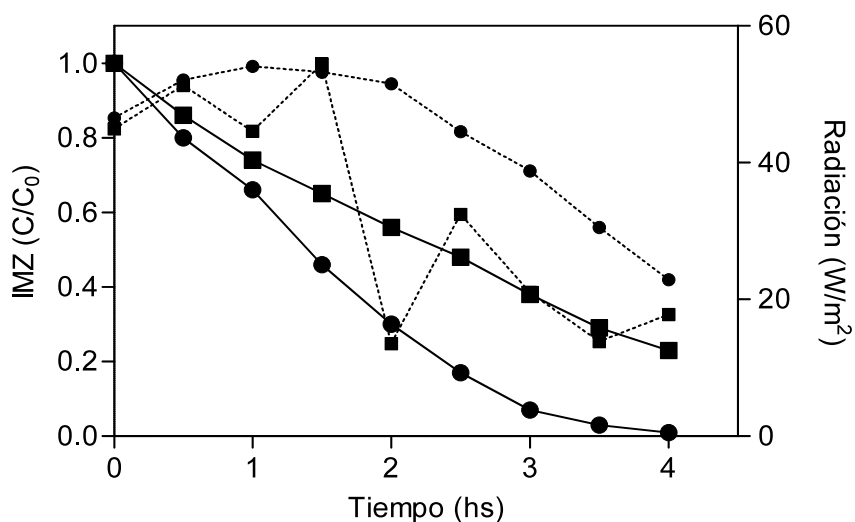


Figura 7.6 Evolución temporal de la concentración relativa de IMZ y de la radiación en verano en día soleado (●) y en día nublado (■). En línea punteada se muestra la radiación.

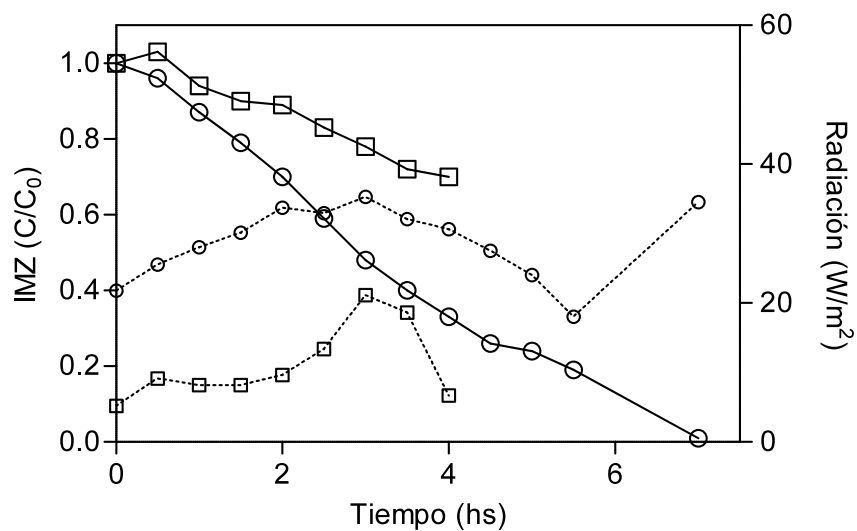


Figura 7.7 Evolución temporal de la concentración relativa de IMZ y de la radiación en invierno en día soleado (○) y en día nublado (□). En línea punteada se muestra la radiación.

En la *Tabla 7.2* se muestran parámetros cinéticos $t_{1/2}$ y el porcentaje de disminución de DQO y COT luego del consumo total del H_2O_2 , así como también en la *Figura 7.8* se muestra la evolución del COT de los ensayos en días soleados.

Tabla 7.2 Valores de $t_{1/2}$, DQO y COT luego de los tratamientos Fenton solar en las diferentes condiciones

	$T_{1/2}$ nublado	$T_{1/2}$ soleado	Disminución DQO _{soleado}	Disminución COT _{soleado}
	(hs)	(hs)	(%)	(%)
Verano (1 dosis)	2,2	1,0	19	8
Invierno (1 dosis)	7,0	2,5	46	10

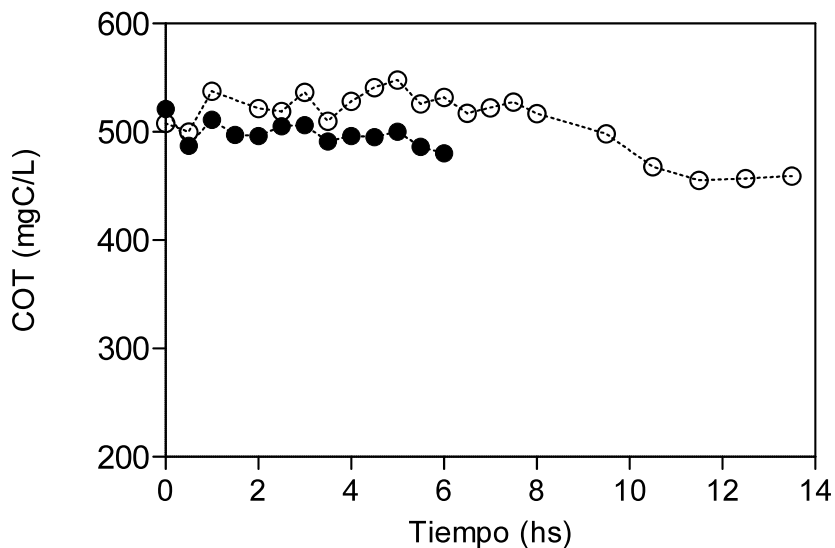


Figura 7.8 Evolución temporal del carbono orgánico total en día soleado en verano (●), en día soleado en invierno (○).

La disminución del COT tanto en verano como en invierno fueron bajas y similares, por lo tanto, a pesar de que el IMZ se eliminó completamente, solo una pequeña parte del carbono orgánico presente en el efluente se mineralizó. En cambio, tal como se muestra en la *Tabla 7.2*, en la oxidación hubo grandes diferencias entre las épocas del año. Se determinó una disminución del 19 % del DQO en verano, pero del 46 % en invierno, indicando que los intermediarios de oxidación formados se encuentran más oxidados que los compuestos originales y que en invierno el grado de oxidación fue mayor que en verano. Es importante destacar que a pesar de que la degradación del IMZ ocurrió en tiempos más cortos en verano que en invierno, la disminución de COT y DQO en invierno utilizando la misma cantidad de H_2O_2 fue mayor. Estos resultados sugieren que el H_2O_2 es utilizada en forma más eficiente en invierno que en verano.

Resultados similares (degradación total del contaminante y disminución parcial del COT) fueron reportados por *Malato y colaboradores (2007)* donde lograron degradar en una planta industrial de colectores CPC por tratamiento Fenton solar (Fe(II) 20 mg/L, H_2O_2 siempre por encima de 150 mg/L, pH 2,8) 500 mg/L de metilfenilglicina, mineralizando parcialmente el efluente, en 7 horas ellos observaron un aumento de la temperatura del líquido de 21 a 37°C y una aumento de la irradiación solar de 16 a 30 W/m^2 con un promedio de 22,9 W/m^2 (incluyendo un período de 1,5 horas parcialmente nublado).

La Figura 7.9 muestra la variación en el tiempo de la concentración de H₂O₂ de los experimentos en días soleados de verano e invierno, los “saltos” que se observan corresponden con el almacenamiento de la solución durante la noche, donde la concentración del H₂O₂ decreció como consecuencia de la reacción de Fenton. Claramente, el H₂O₂ se consumió mucho más rápido en verano que en invierno, a pesar de que la cantidad de H₂O₂ fue la misma en ambos casos (27 mM). En verano se consumió prácticamente en 6 hs de iluminación mientras que en invierno le llevó 13,5 hs. Debe notarse que en verano la temperatura alcanzada del líquido fue 43°C mientras que en invierno 25°C. Las temperaturas más altas alcanzadas en verano podrían haber llevado a la pérdida de H₂O₂ por auto descomposición en O₂ y H₂O y debido al consumo de los •OH por parte del H₂O₂ de acuerdo a la *reacción 1* (Arsene, 2011; Pouran, 2015; Primo, 2008).

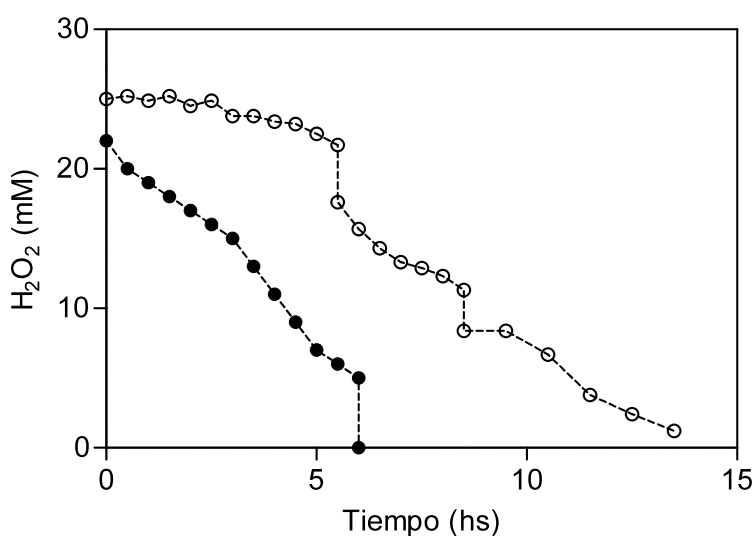
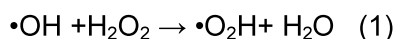
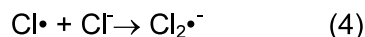
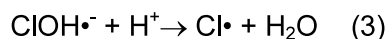


Figura 7.9 Evolución temporal de la concentración de H₂O₂ en días soleados en verano (●) y en invierno (○).

Se realizaron ensayos cambiando la dosificación del H₂O₂, como se realizó en escala de laboratorio con luz artificial, y otro ensayo duplicando la concentración de catalizador (Fe(III)) para estudiar los efectos en los cambios de dosificación del oxidante y concentración del catalizador con una fuente de radiación natural (solar). De acuerdo a los resultados obtenidos

para el consumo del H₂O₂ en día soleado en verano, se decidió agregar la misma cantidad de oxidante pero en 3 dosis de 9 mM cada una. En la *Figura 7.10* se puede observar la evolución temporal del IMZ y del H₂O₂, en la *Figura 7.11* la evolución temporal del COT y en la *Tabla 7.3* los porcentajes de degradación de COT y DQO para este caso cuando se alcanzó el consumo total del H₂O₂. Con 3 dosis de 9 mM de H₂O₂, el ensayo tuvo una duración mayor que con solo una sola dosis de 27 mM, pero la degradación de COT y DQO fue mayor al dosificar el H₂O₂. El IMZ se degradó por completo luego de 7 hs de irradiación con un t_{1/2} de 2,2 hs, y la DQO y el COT decrecieron 41 % y 16 % respectivamente. Además se observó que la velocidad de consumo de H₂O₂ en cada dosificación aumentó, esto también se encontró en escala de laboratorio (*Capítulo 4*). El consumo del oxidante cada vez más rápido podría deberse al efecto secuestrante de los cloruros que se liberan por la degradación del IMZ, los cloruros consumen •OH de acuerdo a las reacciones 2, 3 y 4 (*Santiago, 2014*). Como se verá más adelante en este capítulo (*sección 7.3.4*), se encontraron cloruros en solución tratada.



Por otro lado, como se discutió en el *Capítulo 4* los carboxilatos pueden complejar al Fe(III) y Fe(II). Los carboxilatos de Fe(III) fotolizan rápidamente reduciendo el Fe(III) a Fe(II), además, los carboxilatos de Fe(II) reaccionan más rápido con H₂O₂ que el Fe(II) (*Faust, 1993; Nichela, 2015*). Todo esto podría acelerar el consumo del H₂O₂. Como se verá más adelante en este capítulo, se encontraron ácidos carboxílicos en la solución tratada.

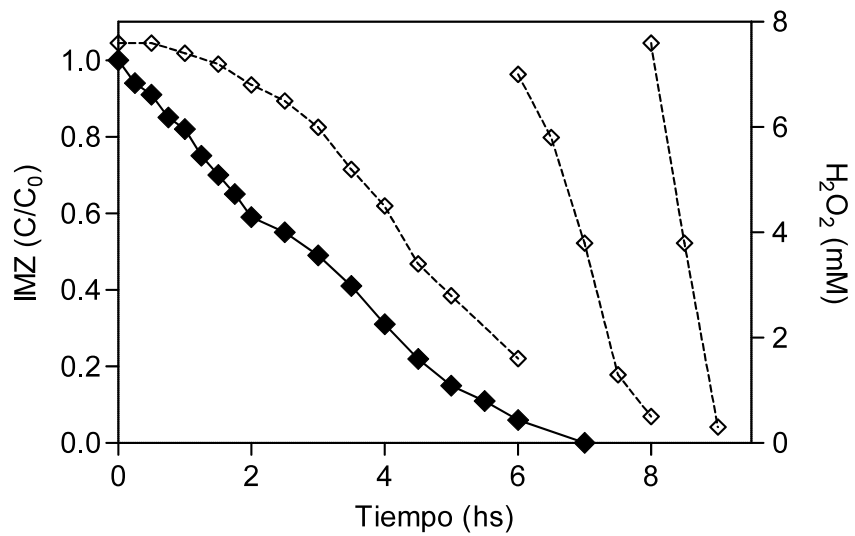


Figura 7.10 Evolución temporal de la concentración en el tratamiento Fenton solar con 3 dosis de H₂O₂ en día soleado en verano. IMZ (◆), H₂O₂ (◇).

Tabla 7.3 Valores de $t_{1/2}$, DQO y COT luego de los tratamientos Fenton solar en las diferentes condiciones

	$T_{1/2}$ nublado	$T_{1/2}$ soleado	Disminución DQO _{soleado}	Disminución COT _{soleado}
	(hs)	(hs)	(%)	(%)
Verano (3 dosis)	-	2,2	41	16
Verano (doble Fe)	-	1,0	40	3

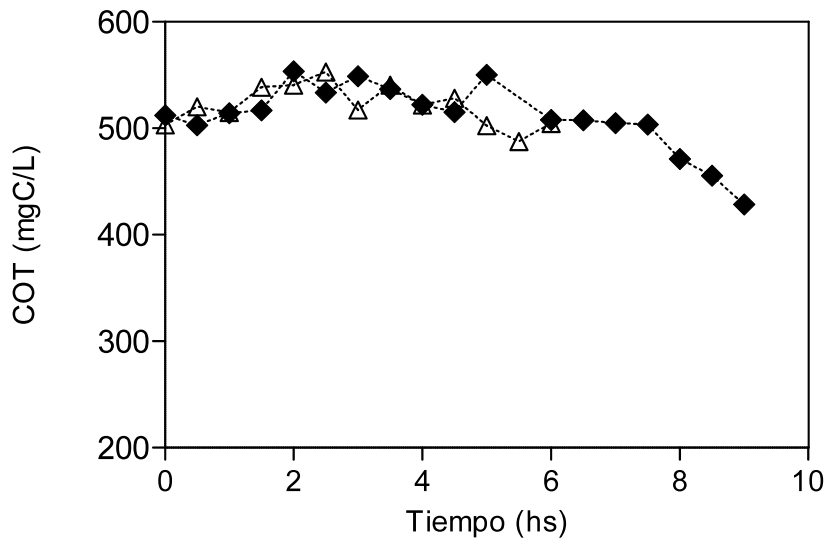


Figura 7.11 Evolución temporal del carbono orgánico total en día soleado verano con 3 dosis de H₂O₂ (◆), y en día soleado de verano duplicando la concentración de catalizador (△).

De esta manera se observa que el uso del H₂O₂ en dosis en los días soleados de verano es más lento pero alcanza grados de degradación mayor, lo que indicaría que usar el H₂O₂ en dosis resulta más eficiente.

Se realizó un experimento en las mismas condiciones de verano soleado con una dosis de H₂O₂ de 27 mM pero duplicando la cantidad de catalizador, por lo tanto se utilizaron 0,3 mM de Fe(III). Los resultados se muestran en la *Figura 7.12 y 7.11* y en la *Tabla 7.3*.

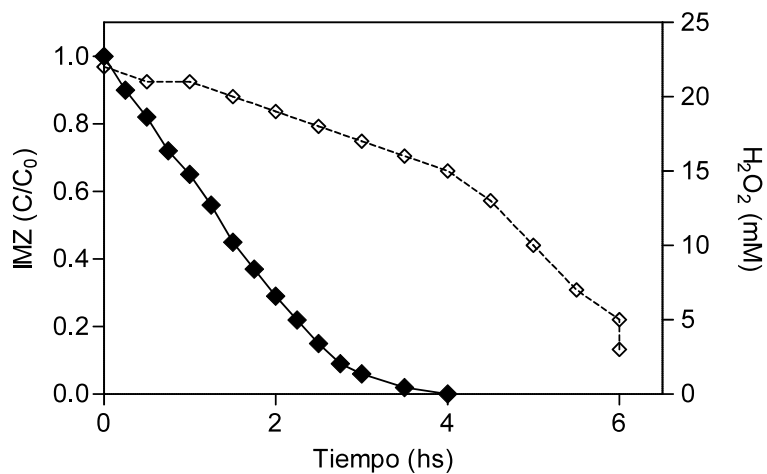


Figura 7.12 Evolución temporal de la concentración en el tratamiento Fenton solar duplicando la concentración de catalizador en día soleado en verano. IMZ (◆), H₂O₂ (◇).

Empleando el doble de la concentración de catalizador, el IMZ se degradó por completo en 4 hs de irradiación con un $t_{1/2}$ de 1,0 hs, y la DQO y el COT decrecieron 40% y 3% respectivamente. La degradación de IMZ fue muy similar a la que se obtuvo con la mitad de Fe en las mismas condiciones (ver *Figura 7.6*) pero en este caso (con 0,3 mM de Fe) la disminución del valor final de DQO fue notablemente mayor (40 % frente al 19 % obtenido en el sistema con menos Fe(III), ver *Tabla 7.2* y *7.3*). Este resultado indica que la oxidación fue mucho mayor. No obstante, el porcentaje de mineralización siguió siendo bajo (ver *Tabla 7.3*).

En todos los ensayos donde hubo degradación del IMZ, el pH disminuyó a valores entre 2,2 y 2,4. Esta disminución del pH, como se comentó en el *Capítulo 4*, podría estar relacionada con la formación de ácidos orgánicos como productos de la oxidación del Xedrel 50® (*Hazime, 2012, Dunia, 2013*). *Dunia* y colaboradores reportaron la formación de ácidos carboxílicos como fórmico, acético y oxálico durante procesos Fenton y foto Fenton en efluentes con 50 mg/L de IMZ. Por consiguiente, se cuantificaron ácidos orgánicos (de acuerdo a la técnica detallada en el *Capítulo 2*) medidos como mg/L de ácido acético al final de los ensayos realizados cuando el H₂O₂ se consumió totalmente. En la *Tabla 7.4* se resumen los resultados. En días soleados en verano y en invierno se formaron 418 mg/L y 498 mg/L, respectivamente. Esos resultados están en concordancia con el porcentaje de disminución de DQO en cada caso, ya que en invierno se alcanzaron mayores porcentajes de disminución. En el ensayo donde se incorporó el H₂O₂ en 3 dosis de 9 mM, se midieron los ácidos orgánicos formados en el momento de agotamiento de cada dosis de oxidante, determinándose 234 mg/L, 376 mg/L y 467 mg/L. Estos resultados

indican que los ácidos se forman como consecuencia del tratamiento Fenton solar y se acumulan en la solución. Finalmente, se formaron 390 mg/L de ácidos orgánicos en el ensayo utilizando el doble de concentración de Fe(III), a pesar de mostrar un gran descenso de la DQO, la cantidad de ácidos orgánicos medidos son similares a los del experimento con la mitad de catalizador, posiblemente este resultado esté dado por el consumo de los ácidos orgánicos formados que se complejan con el Fe y finalmente se degradan (Santiago, 2015; Zapata, 2010a).

Tabla 7.4 Concentración de ácidos orgánicos formados luego de los tratamientos Fenton solar en las diferentes condiciones

	Ácidos Orgánicos (mgaa/L)
Verano (1 dosis)	418
Invierno (1 dosis)	498
Verano (3 dosis)	234, 376, 467
Verano (doble Fe)	390

La Figura 7.13 muestra la degradación del IMZ en función de la energía recibida en días nublados y soleados, tanto en verano como en invierno con 27 mM de H₂O₂ en una sola dosis y 0,15 mM de Fe(III). La energía recibida se calculó según la siguiente ecuación:

$$ER = (I_{t_n} + I_{t_{n+1}})/2 * \Delta t + ER_{t_n} \quad \text{ecuación 7.1}$$

Donde ER es energía recibida (J/m²), I es irradiancia (W/m²) y t es tiempo (s)

Se observaron pequeñas diferencias entre todos los sistemas, lo que indica que la degradación del IMZ está asociada con la energía recibida. Las diferencias podrían ser debidas a las diferentes temperaturas alcanzadas por las soluciones en cada ensayo. Varios autores reportaron el efecto de la temperatura en las TAOs, donde aumenta la velocidad de reacción entre 2,5 y 5 veces cuando la temperatura aumenta de 20°C a 35°C y de 20°C a 40°C respectivamente (Gernjak, 2006; Sagawe, 2001). Aproximadamente 0,8 mg/L de IMZ se degradaron por cada KJ/m² de energía recibida.

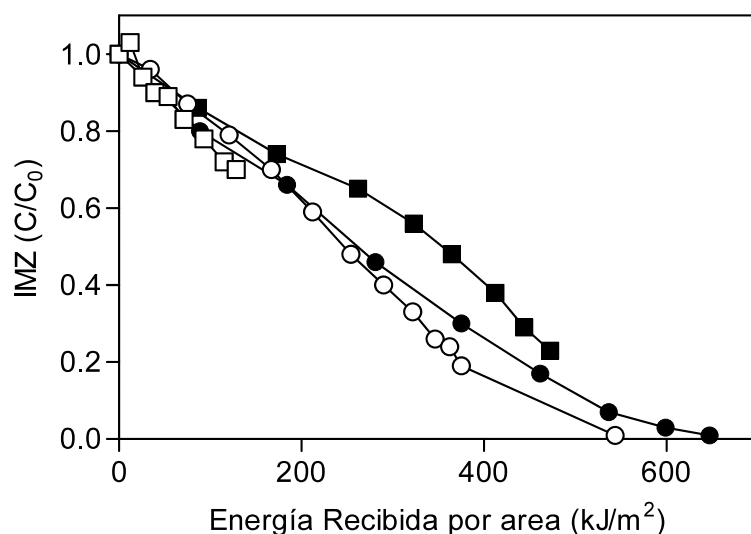


Figura 7.13 Evolución de la concentración relativa de IMZ en función de la energía recibida en verano en día soleado (●) y en día nublado (■), y en invierno en día soleado (○) y en día nublado (□).

7.3.2 Tratamiento Biológico

Luego del tratamiento Fenton solar, las soluciones resultantes se neutralizaron y suplementaron con el agregado de micronutrientes inorgánicos (*solución salina* detallada en el *Capítulo 2*), para poder aplicar el tratamiento biológico en escala piloto.

En escala de laboratorio (*Capítulo 3*) se observó que en la solución de plaguicida comercial sin tratamiento foto Fenton y sin el agregado de fuente de carbono adicional inoculada con 1 % v/v de la *comunidad 1* en un sistema con células en suspensión (condiciones de baja biomasa en suspensión), el COT y el IMZ permanecían constantes durante el tratamiento biológico, por lo tanto este control no se repitió en escala piloto.

La *Figura 7.14* muestra la evolución del COT durante el tratamiento biológico de soluciones de Xedrel 50® expuestas a tratamientos Fenton solar realizados en diferentes condiciones (y el control sin tratamiento foto Fenton). Los valores de DQO, COT y ácidos orgánicos determinados al final del tratamiento biológico se resumen en la *Tabla 7.5*. En todos los sistemas tratados previamente por Fenton solar, el COT y la DQO disminuyeron luego del

tratamiento biológico. Este resultado indica que como consecuencia del proceso de oxidación se formaron sustancias más biodegradables que el compuesto original. El mayor porcentaje de biodegradación ocurrió en los primeros 4 días

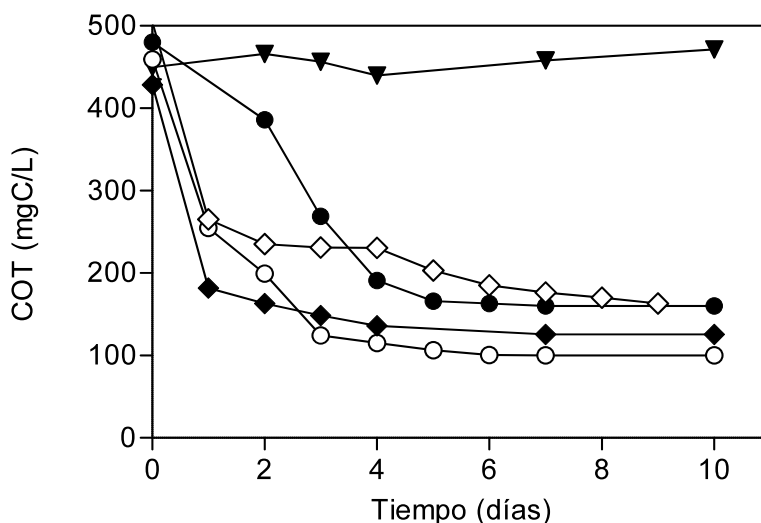


Figura 7.14 Evolución temporal de la concentración de COT en el tratamiento biológico con tratamiento Fenton solar previo en días soleados. Sin tratamiento foto Fenton (en escala de laboratorio) (▼); verano, 27 mM de H₂O₂ y 0,15 mM de Fe(III) (●); verano, 27 mM de H₂O₂ y 0,3 mM de Fe(III) (◊); invierno, 27 mM de H₂O₂ y 0,15 mM de Fe(III) (○); verano, 3x9 mM de H₂O₂ y 0,15 mM de Fe(III) (◆).

Tabla 7.5 Valores de DQO, COT y ácidos orgánicos luego del tratamiento acoplado Fenton solar-biológico en las diferentes condiciones

	Disminución COT (%)	DQO (mg/L)	Ácidos Orgánicos (mgaa/L)
Verano (1 dosis)	69	375	99
Invierno (1 dosis)	80	216	54
Verano (3 dosis)	71	229	76
Verano (doble Fe)	68	273	104

En invierno el COT y la DQO disminuyeron más que en las mismas condiciones pero en verano. Sin embargo, cuando el H₂O₂ fue incorporada en dosis en verano, los resultados fueron

mejores y similares a los de invierno. Por último, el sistema en verano utilizando el doble de concentración de Fe(III) el COT alcanzó valores semejantes a los obtenidos en todas las condiciones de verano pero la disminución de DQO fue mayor que en verano, por lo tanto más cantidad de catalizador favorece la oxidación y formación de sustancias biodegradables. A su vez, se midieron los ácidos orgánicos formados en el tratamiento Fenton solar luego del tratamiento biológico y la mayoría de estos fueron consumidos por la biomasa. Nuevamente el más eficiente fue el sistema en invierno (aunque fue más lento).

Para el sistema en verano día soleado, se midieron otros parámetros importantes a tener en cuenta en el momento de la descarga. Los resultados se muestran en la *Tabla 7.6* y están comparados con legislación. Además, se midieron el peso seco de la biomasa, sólidos totales y sólidos volátiles y se obtuvieron 75 mg/L, 3,31 g/L y 2,83 g/L respectivamente.

Tabla 7.6 Valores de algunos parámetros legislados del efluente tratado a través de Fenton solar - biológico en verano soleado y límites guía de descarga

Parámetro	Efluente tratado	Límites de descarga		Legislación
		A colectora cloacal	A curso de agua	
pH	7	7-10 5,5-10	6,5-10 5,5-10	Res. 001/07 Acumar Ley 6260 Entre Ríos
DQO (mgO ₂ /L)	375	700 definido por prestador del servicio	< 250 < 400 Río Paraná < 250 Río Uruguay < 50 Arroyos	Res. 001/07 Acumar Ley 6260 Entre Ríos
Fe (mg/L)	3	< 10	< 2	Res. 001/07 Acumar
Sólidos sedimentables en 10 min (ml/L)	0,9	< 0,1 < 5	<0,1 < 5	Res. 001/07 Acumar Ley 6260 Entre Ríos
Sólidos sedimentables en 2 horas (ml/L)	1	< 5	< 1	Res. 001/07 Acumar

Con esta información, el efluente estaría en condiciones de descarga a colectora cloacal en cuanto a la DQO, al Fe y a los sólidos sedimentables en 2 horas.

7.3.3 Bioensayo de toxicidad

Se realizaron bioensayos de toxicidad con las muestras en los diferentes estadios del tratamiento acoplado del ensayo en día soleado, tanto en verano como en invierno. Las muestras analizadas fueron la solución de Xedrel 50® con 500 mg/L de IMZ, la solución luego del tratamiento Fenton solar y la solución luego del tratamiento acoplado Fenton solar-biológico. Todas las muestras se neutralizaron a pH 7,0. Se realizó un control con agua destilada a pH 7,0.

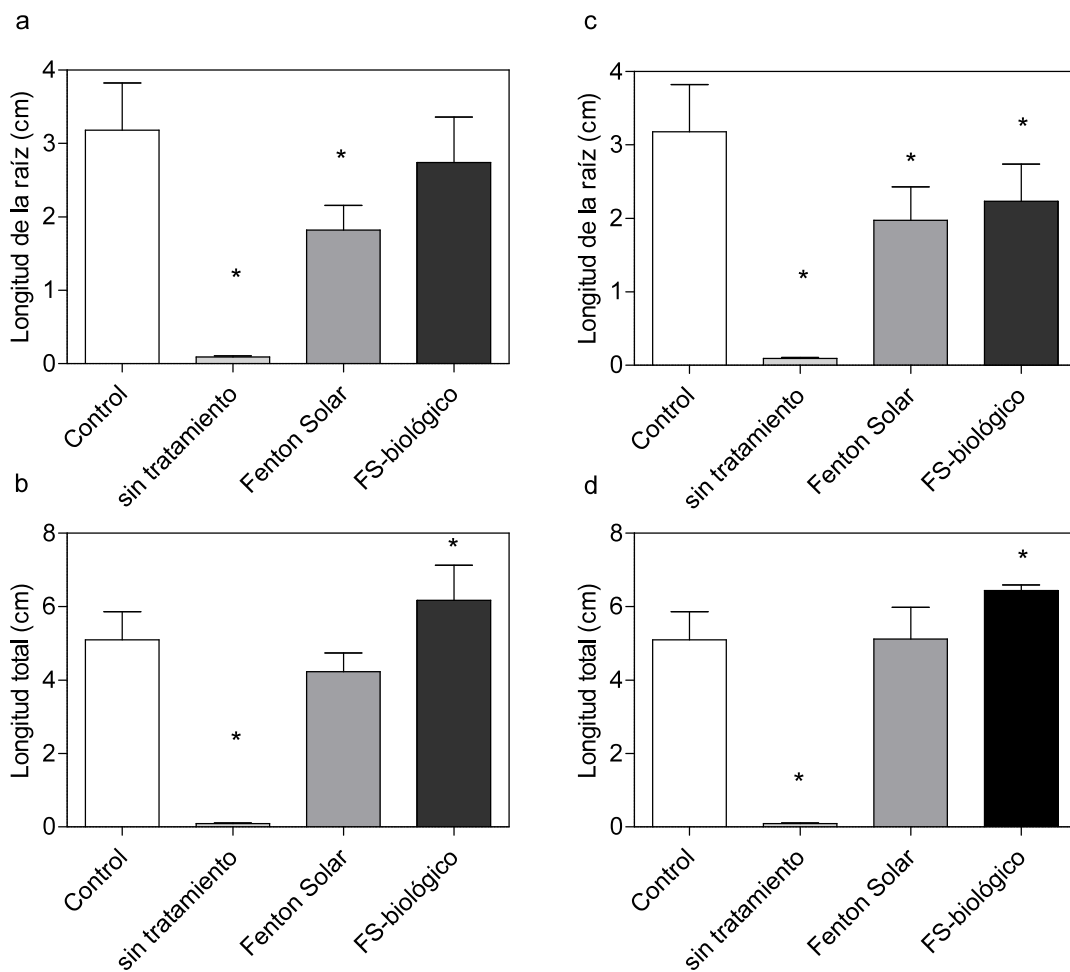


Figura 7.15 Variación en la elongación de la raíz y elongación total de *Lactuca sativa L.* expuesta a diferentes muestras en invierno (a, b) y verano (c, d): control con agua destilada, solución de Xedrel 500 mg/L IMZ sin tratamiento, solución tratada a través de Fenton solar y tratamiento acoplado FS-bio. (*) muestras con diferencias significativas (t-test, $p \leq 0,05$) con respecto al control.

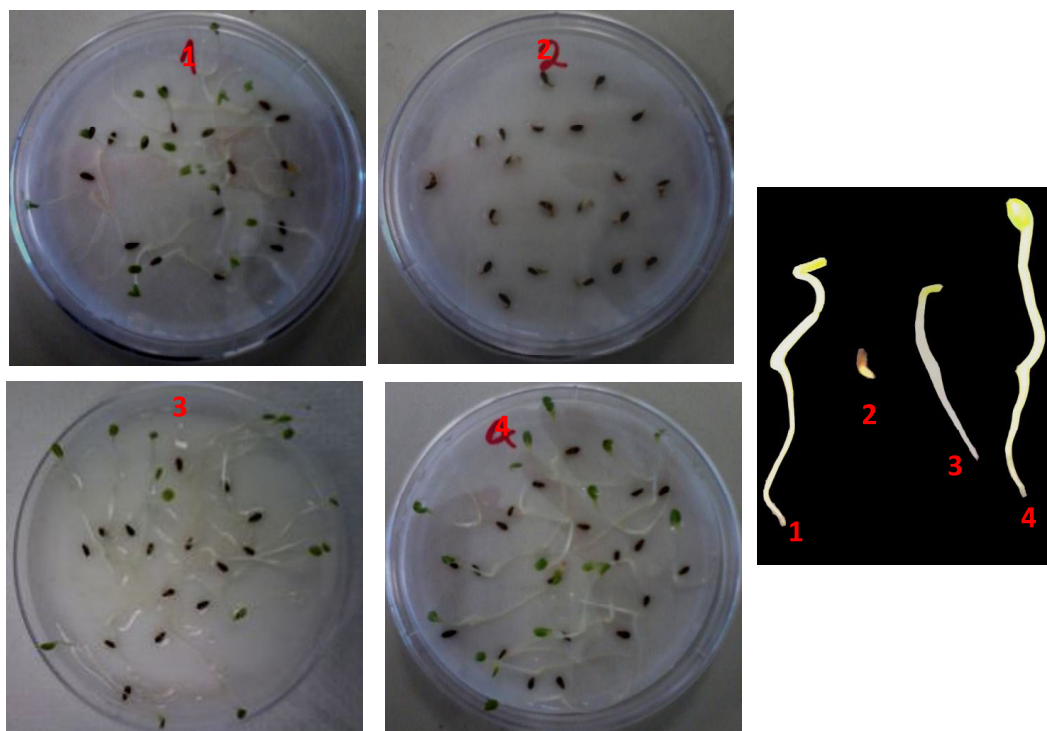


Figura 7.16 Imágenes de las placas con las semillas expuestas a las diferentes muestras. A la izquierda 1: control con agua destilada, 2: solución de Xedrel 500 mg/L IMZ sin tratamiento, 3: solución tratada a través de Fenton solar en verano y 4: tratamiento acoplado FS-bio. A la derecha se muestra la imagen de un ejemplar de cada sistema.

La Figura 7.15 muestra la elongación de la raíz y total de la plántula de *Lactuca sativa* L. y la Figura 7.16 imágenes de las semillas y las plántulas. Como se puede ver, en presencia de la solución de Xedrel 50® con 500 mg/L de IMZ, las semillas no pudieron germinar (raíz menor a 5 mm), en cambio en presencia de las soluciones tratadas a través de Fenton solar y/o tratamiento acoplado las semillas germinaron. Por lo tanto, las soluciones de Xedrel 50® sin tratar resultaron tóxicas para las semillas de *Lactuca sativa* L. ya que inhibieron la germinación. Se realizaron comparaciones de a pares con el control mediante el test estadístico t. Se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre la elongación de las raíces expuestas a los tratamientos Fenton solar tanto en invierno como en verano y las muestras de los tratamientos acoplados (solo en verano) comparadas con el control. En verano e invierno, la elongación de la raíz se inhibió con la muestra luego del tratamiento Fenton Solar (Figura 7.15 a y b), y luego del tratamiento biológico la raíz elongó mas, lo que indica que la inhibición disminuyó. Estos resultados muestran que la toxicidad del Xedrel 50® sobre *Lactuca sativa* L.

decrece notablemente luego del tratamiento Fenton solar y combinados (FS-biológico). Sin embargo, si se tiene en cuenta la elongación total de la plántula, las diferencias del control con las soluciones tratadas por Fenton solar, tanto en invierno como en verano, no son significativas y en el tratamiento combinado, las plántulas elongaron significativamente más que las del control. Probablemente la estimulación de la elongación del hipocotilo se deba a los micronutrientes agregados para el tratamiento biológico. A pesar de que estos resultados evidencian muy bien la toxicidad del compuesto comercial y la disminución de la misma luego de los tratamientos realizados, son necesarios más estudios para determinar si el efluente tratado podría utilizarse para regar los campos o simplemente ser descargado a algún cuerpo de agua. Un conjunto de bioensayos sería necesario para el proceso de toma de decisión.

7.3.4 Identificación de productos de oxidación del tratamiento Fenton solar

En general, a medida que avanza la oxidación a través de los procesos Fenton, el compuesto original se empieza a oxidar, formando intermediarios más polares, grandes e inestables que se rompen dando lugar a la formación de otros compuestos. Estos intermediarios son más pequeños, están oxidados, tienen grupos carboxilos, carbonilos, e hidroxilos y son más polares. Por lo tanto, las condiciones de separación e identificación de estos son muy diferente a las que se utilizan para separar los compuestos originales.

A través de *HPLC* con una columna de fenilo y una fase móvil inorgánica (método detallado en *Capítulo 2*), se lograron separar distintos compuestos de las muestras luego del tratamiento Fenton solar y tratamiento acoplado Fenton solar-biológico. En la *Figura 7.17* se presentan cromatogramas correspondientes a las soluciones obtenidas después del tratamiento Fenton solar, del tratamiento acoplado, una solución salina y una muestra de agua, señalándose los compuestos encontrados.

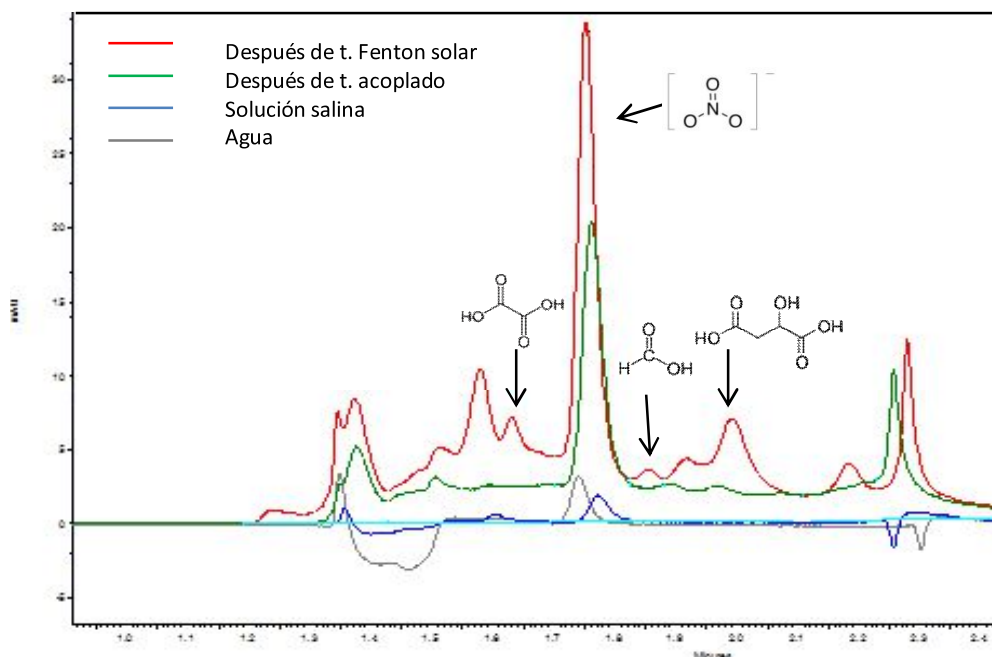


Figura 7.17 Cromatogramas de las muestras tratadas por Fenton solar y tratamiento acoplado, además la solución salina y agua. $\lambda = 220 \text{ nm}$.

Se lograron identificar 4 sustancias presentes en las muestras tratadas. Se encontraron aproximadamente 100 mg/L de ácido málico, 10 mg/L de ácido oxálico, y no se pudo cuantificar el ácido fórmico porque se encuentra muy solapado con los otros picos. El pico más grande que se observa y además lo tienen todas las muestras corresponde al nitrato. Aunque se encuentra en muy baja concentración, debido a su elevada absorptividad molar a longitudes de onda baja ($\lambda = 220 \text{ nm}$), presenta señales de gran intensidad. Para corroborar la presencia de nitratos, estos se cuantificaron a través de *HPLC* con una columna de intercambio iónico específica para aniones. La muestra luego del tratamiento Fenton solar contiene 1,2 mg/L de nitratos (la concentración que se detectaba en el *HPLC* con columna de fenilo) y 132 mg/L de cloruros, que es prácticamente todo el cloruro de la muestra (119 mg/L proveniente de los 500 mg/L de IMZ más 16 mg/L de los 0,15 mM de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), por lo tanto ningún átomo de Cl forma parte de los compuestos orgánicos que quedan en la muestra. Este resultado es de suma importancia pues indica que no quedan compuestos clorados en el efluente final, es conocido que los compuestos orgánicos clorados son más recalcitrantes y tóxicos.

En la *Figura 7.17* se observa que después del tratamiento acoplado, las sustancias presentes en la solución proveniente del tratamiento Fenton solar desaparecen, reforzando la

observación realizada en cuanto al consumo de ácidos orgánicos, disminución de COT y DQO por parte de la biomasa en el tratamiento biológico.

Los estados de oxidación medios (EOM) de los compuestos formados luego del tratamiento Fenton solar en general, tienen valores más altos que el efluente original, siendo 3, 1 y 2 para los ácidos oxálico, málico y fórmico respectivamente. Estos compuestos se encuentran entre los “niveles de aldehído y ácido”, tienen menor poder energético como fuente de carbono y energía porque están más oxidados pero son más biodegradables que los originales, y son los que finalmente consume la biomasa.

Por otro lado, se analizaron las muestras de los primeros tiempos de oxidación en el tratamiento Fenton solar y se compararon con las muestras del tratamiento foto Fenton del IMZ puro (*Capítulo 4*). Los resultados se muestran en las *Figuras 7.18* y *7.19*. En la *Figura 7.18* se comparan muestras de IMZ y Xedrel 50® a tiempo inicial, un tiempo intermedio y tiempo final. A tiempo cero en los dos casos se observa solo el pico de IMZ. A un tiempo intermedio se ven los picos de los primeros intermediarios de oxidación formados. En el caso del Xedrel 50® los picos están más solapados, esto se podría deber a la formación de intermediarios de los coadyuvantes del compuesto comercial o tal vez los picos no se logran separar bien debido a la complejidad de la matriz de la muestra. A tiempo final de ambas muestras se puede observar que el IMZ desaparece completamente al igual que los primeros intermediarios de oxidación. La *Figura 7.19* muestra los primeros intermediarios formados en ambas muestras a tiempos cortos y se puede observar que tanto en el IMZ puro como en el compuesto comercial, se forman los mismos primeros intermediarios de oxidación, ya que se observan los mismos patrones de cromatogramas, por lo tanto los coadyuvantes del compuesto comercial no afectarían las vías de degradación del IMZ.

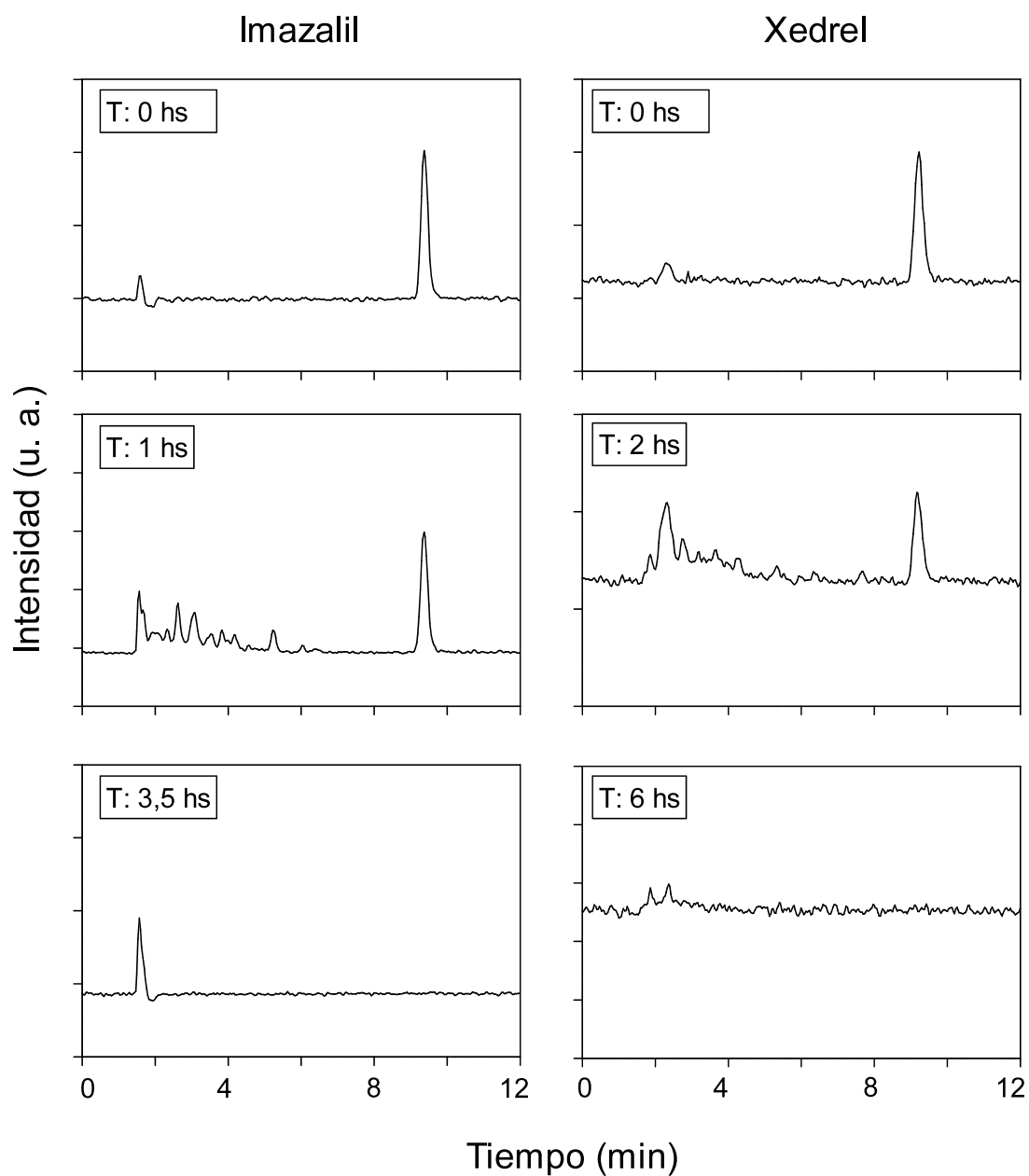


Figura 7.18 Cromatogramas de las muestras de IMZ (izq) y Xedrel 50® (der) a distintos tiempos de tratamiento. $\lambda = 220 \text{ nm}$.

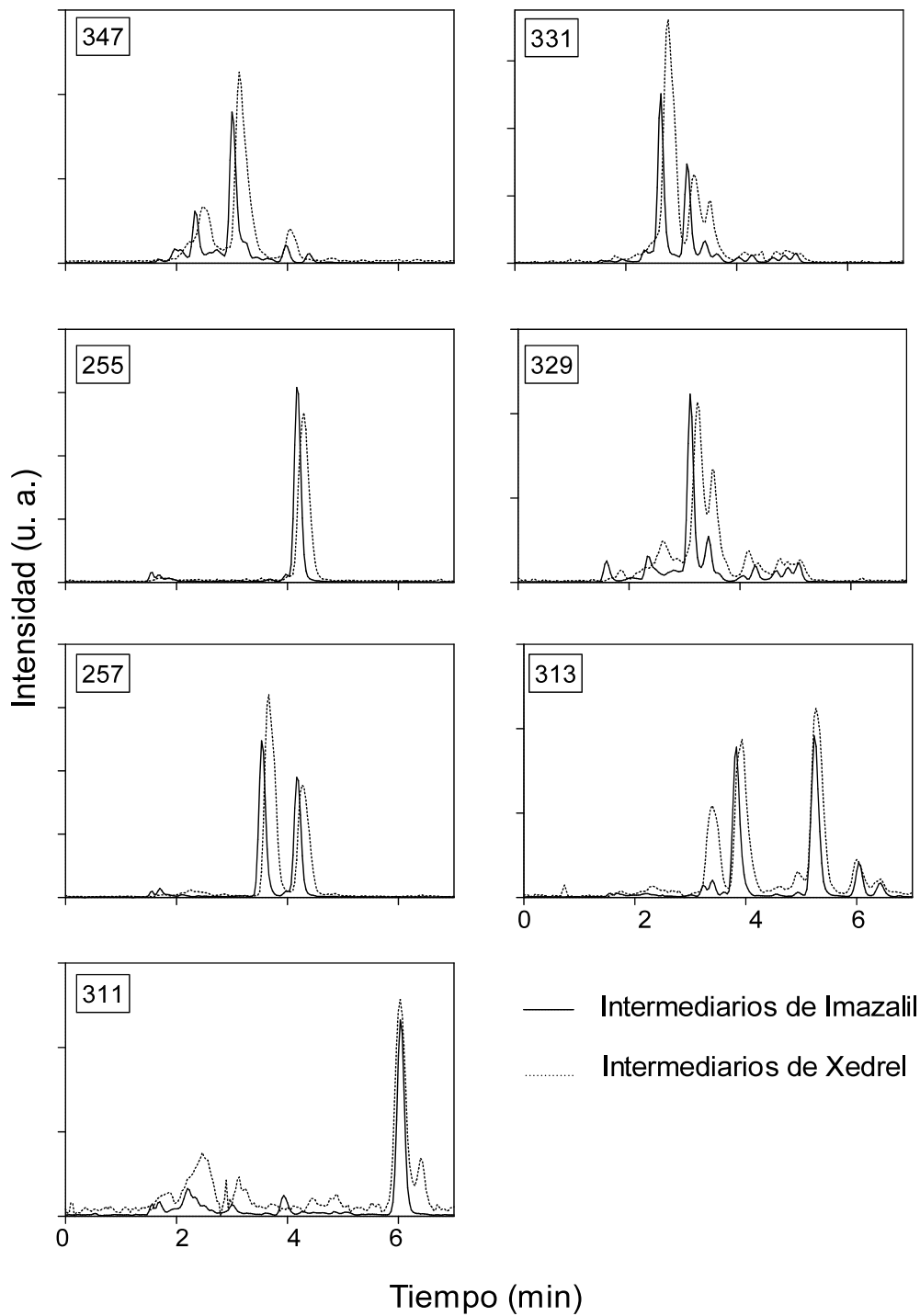


Figura 7.19 Cromatogramas de los intermediarios encontrados en las muestras de IMZ y Xedrel. Los valores enmarcados dentro de las figuras corresponden a la masa mayoritaria de cada compuesto. $\lambda = 220 \text{ nm}$.

En cuanto a los EOM de los intermediarios de oxidación encontrados a tiempos cortos de reacción, corresponden a valores más oxidados que el IMZ pero muy similares. El IMZ tiene un EOM igual a -0,71 y los EOM de los intermediarios se encuentran entre -0,64 y -0,4. Un análisis más exhaustivo de los EOM de los diferentes intermediarios se realizó en los *Capítulos 4 y 5*.

7.4 Conclusiones

Para estudiar la factibilidad de tratar un efluente industrial se deben realizar investigaciones en el laboratorio, seguido de ensayos en una escala intermedia o escala piloto y finalmente y con los parámetros obtenidos a través de la investigación, realizar el diseño de la planta industrial de tratamiento de efluentes. En el presente trabajo, las investigaciones en el laboratorio (*Capítulos 3, 4 y 5*) sirvieron de base y modelo para escalar el proceso a nivel de piloto, ya que los resultados se reprodujeron exitosamente. El tratamiento foto Fenton se escaló 400x y el biológico 1000x.

Se estudiaron varios escenarios extremos (verano, invierno, días soleados y nublados) que pueden suceder cuando se trabaja bajo condiciones ambientales en la zona de Buenos Aires. Cuando la radiación es alta (verano soleado) el IMZ se degradó rápidamente sin embargo el COT y la DQO no presentaron grandes descensos. En invierno soleado, la velocidad de degradación de IMZ fue más lenta pero aumentó la eficiencia en el uso del H₂O₂, ya que se obtuvieron menores concentraciones de DQO y COT luego del tratamiento Fenton solar. La degradación del IMZ es proporcional a la energía recibida. Se demostró que en verano es más eficiente la incorporación del H₂O₂ en pequeñas dosis que en una sola mayor. Aquí se demuestra la importancia de aplicar una TAOs antes del tratamiento biológico, ya que aumenta significativamente la biodegradabilidad de los productos de oxidación, muchos de ellos ácidos orgánicos como oxálico, málico y fórmico. En el tratamiento biológico de las soluciones preoxidadas, la DQO y el COT decrecen notablemente. Además los coadyuvantes no interfieren en las vías de degradación del IMZ, ya que se encontraron los mismos primeros intermediarios de oxidación que con el IMZ puro.

La toxicidad del Xedrel 50® sobre *Lactuca sativa* disminuye apreciablemente luego del tratamiento Fenton solar y más aún, luego del tratamiento acoplado Fenton solar-biológico.

Aquí se demuestra que los procesos acoplados tienen un gran potencial para el tratamiento de efluentes con compuestos recalcitrantes como el IMZ, y la factibilidad de aplicar las tecnologías solares en esta región del país.

CAPÍTULO 8

**APLICACION EN UN EFLUENTE FRUTI
HORTICOLA**

8.1 Introducción

Considerando la importancia de estudiar la aplicabilidad de las tecnologías generadas en el presente trabajo, durante el desarrollo del mismo nos pusimos en contacto con una empresa empacadora de cítricos de la Provincia de Entre Ríos, que utiliza Imazalil en el tratamiento poscosecha de la fruta.

El tratamiento poscosecha de los cítricos consta de los siguientes pasos:

1) Las frutas llegan a la planta de empaquetado en *bines* (grandes cajones) procedentes de distintos campos.

2) *Drencher* (mojado por lluvia) de los cítricos (*Figura 8.1*). Se utilizan 2000 litros de agua; herbicida 2,4 D 30 cm³; fungicida guazatina 2,5 litros; fungicida tiabendazol (TBZ) 2 litros; desinfectante amonio cuaternario Germacert 1,2 litros; fungicida azoxistrobina 1,4 litros; fungicida pirimetanil (PIRM) 2 litros. El caldo se utiliza para 150 *bines*, luego se descarta. Durante un día de mucho trabajo se pueden hacer hasta 6 caldos. Luego del *drencher* la fruta se deja en reposo por 24hs.



Figura 8.1 *Drencher*.

3) Volcado de fruta en cinta transportadora (*Figura 8.2*).



Figura 8.2 Volcado de fruta.

4) Descarte manual de frutas sin proceso de tratamiento con hipoclorito.

5) Mojado de fruta a través de lluvia con hipoclorito de sodio 900 ml en 300 litros de agua.

6) Se sumerge la fruta en una batea de 3500 litros con 100 kilos de bicarbonato de sodio y 10 litros de hipoclorito de sodio (200 mg/L) disposición SENASA, durante 4 minutos. La batea de hipoclorito se hace a primera hora del día y se descarga al final de la jornada (*Figura 8.3*).



Figura 8.3 Fruta en la batea con hipoclorito 200 mg/L.

- 7) Lavado de fruta con detergente o jabón neutro Wassington 2,5 litros en 200 litros de agua.
- 8) Enjuague.
- 9) Aspersión con fungicida **IMZ** 1 litro; PIRM 1 litro cada 200 litros de agua (*Figura 8.4*).

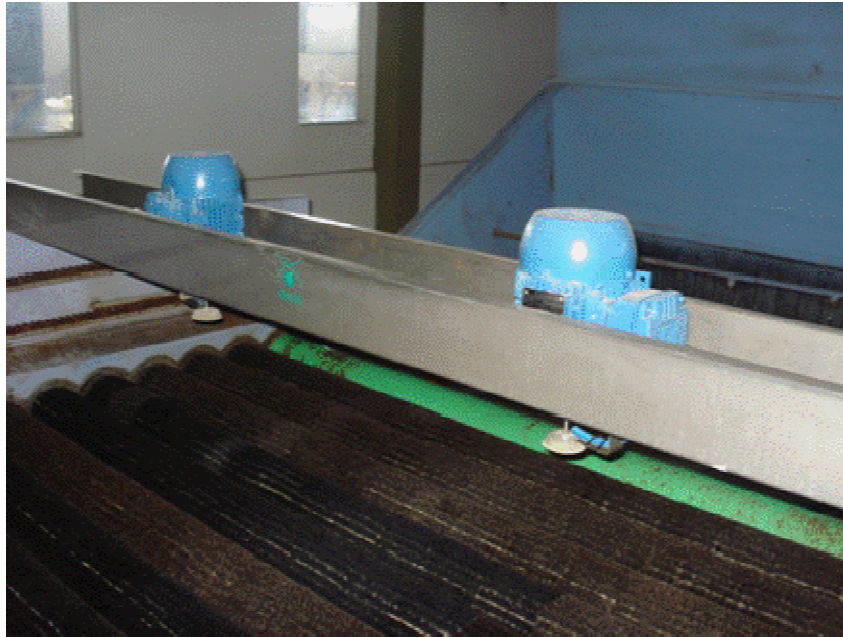


Figura 8.4 Aspersores.

10) Secado en pretúnel a 50-55 °C.

11) Encerado con 200 litros de cera Wassington; 50 litros de agua desmineralizada; 1,5 litros de fungicida **IMZ**, herbicida 2,4 D 100 ml, azoxistrobina 500 cm³ (Figura 8.5).



Figura 8.5 Sector de encerado.

12) Secado en túnel 40-45 °C.

13) Segunda selección manual de fruta con proceso (comerciales, línea de primera, etc) (Figura 8.6).

14) Calibrado, embalado, palletizado (Figura 8.6).

15) Guardado en precámara, cámara a 4-6 °C (Figura 8.6).



Figura 8.6 Selección, embalado y cámara fría.

16) Desverdizado con humedad y temperatura > 20 °C y también desverdizado en frío. Las cámaras de frío presentan una temperatura inferior a 6 °C.

17) Exportación a Canadá, Rusia y Europa. La fruta se transporta en barco durante 2 meses en cámara fría. La planta posee dos líneas de trabajo en paralelo, hay un sector destinado a la venta en Europa que no utiliza aminas por una disposición legal de la comunidad europea.

Todos los efluentes son recolectados en un colector principal que descarga en los colectores municipales (*Figura 8.7*), salvo el líquido del *drencher* que se descarga directo en los colectores municipales (no hay planta de tratamiento de efluentes en la empresa ni en el pueblo). Los efluentes se descargan a un arroyo, que finalmente llega al Río Uruguay.



Figura 8.7 Toma de muestra del colector general.

8.1.2 Objetivos

Caracterizar el efluente de la empresa mediante determinaciones analíticas y luego sobre este, probar los tratamientos estudiados en el laboratorio: biodegradación, tratamiento foto Fenton, tratamientos acoplados foto Fenton-biológico, y adsorción y desorción.

8.2 Materiales y métodos

8.2.1 Toma de muestra y efluentes recibidos

Se realizó un muestreo para analizar la variabilidad del efluente durante un día de proceso completo para determinar la representatividad del proceso de toma de muestra y caracterizar el efluente en distintos momentos de la jornada laboral. Se tomaron muestras periódicamente durante dos días provenientes del colector general (*Figura 8.7*). Además se tomaron muestras del caldo *drencher*, ya que este se elimina sin entrar en contacto con el colector general y del colector general cuando descargan la batea de hipoclorito al final de la jornada.

8.2.2 Caracterización del efluente

Se determinaron las siguientes características en cada muestra: pH, conductividad, COT, DQO y DQO del efluente agitado con el contenido de sólidos (DQO_{ea}), y los plaguicidas IMZ, pirimetanil (PIRM) y Tiabendazol (TBZ), todas de acuerdo a las técnicas detalladas en el *Capítulo 2*.

8.2.3 Efluente de trabajo y tratamientos

8.2.3.1 Efluente

Se utilizó efluente representativo de una jornada laboral, se mezclaron muestras tomadas a diferentes tiempos simulando una ecuilización del efluente. Si bien, algunas muestras contenían IMZ en solución, se decidió agregar 50 mg/L de IMZ para poder estudiar con mayor detenimiento la degradación de este plaguicida en la matriz compleja que representa el efluente real. Además como el efluente es variable en el tiempo, es posible que en ciertos momentos haya liberación de concentraciones altas de IMZ.

8.2.3.2 Tratamiento biológico

Se realizaron ensayos en *batch* con células en suspensión en frascos *erlenmeyer* de 250 ml, con un volumen de líquido de 100 ml, agitados a 130 rpm en un agitador orbital a 25°C de temperatura y pH constante 7,0, todos los sistemas se realizaron por duplicado. Se utilizó 2 % v/v de cultivo de la *comunidad 1* desarrollado en fase exponencial para inocular los sistemas. Como medio de cultivo se utilizó el efluente real con el agregado de nutrientes inorgánicos. Se determinó IMZ, pH, DQO y COT a lo largo del tiempo de acuerdo a lo detallado en el *Capítulo 2*.

8.2.3.3 Tratamiento foto Fenton

Las reacciones fueron llevadas a cabo en reactores *batch* de 600 ml, como se mostró en la *Figura 4.2*, iluminado desde arriba con una lámpara espiralada de luz negra *Interelec*® de 20 W, con aproximadamente 35 W/m² de radiación. El volumen de líquido tratado fue 250 mL, se agitó magnéticamente, la temperatura se mantuvo constante a 25°C con un baño térmico, y el pH inicial de la solución fue 3,0, ajustado con H₂SO₄. Se utilizaron 0,15 mM de Fe(III) como catalizador y 9 mM de H₂O₂ como oxidante.

Se tomaron muestras a lo largo del tratamiento para estudiar la cinética de la reacción y en cada una se determinaron concentraciones de IMZ, COT, H₂O₂ y pH y al final del tratamiento se determinó la DQO, todas las determinaciones se realizaron de acuerdo a lo detallado en el *Capítulo 2*. El tratamiento foto Fenton se continuó hasta el consumo total del H₂O₂. Los ensayos se realizaron por duplicado.

8.2.3.4 Tratamiento acoplado

Se realizaron ensayos en *batch* con células en suspensión en frascos *erlenmeyer* de 250 ml, con un volumen de líquido de 100 ml, agitados a 130 rpm en un agitador orbital a 25°C y pH constante 7,0. Todos los sistemas se trabajaron por duplicado. Se utilizó 2 % de un cultivo de la *comunidad 2* desarrollado en fase exponencial para inocular los sistemas. Como medio de cultivo se utilizó el efluente preoxidado solo con el agregado de nutrientes inorgánicos y neutralizados. Se determinó pH y COT a lo largo del tiempo en los sistemas y DQO al final del experimento.

8.2.3.5 Tratamiento con arcillas

Para los experimentos de adsorción, 25 ml de efluente se incubaron con 1 g/L de MMT y OMMT al pH del efluente (6,7). Las adsorciones se realizaron en tubos de 50 ml agitados a 130 rpm por 12 hs a 25°C. Una vez alcanzado el equilibrio, se determinaron las concentraciones de IMZ y COT.

Luego de realizar las adsorciones, los sólidos (tanto MMT como OMMT) obtenidos se separaron por centrifugación y se resuspendieron en agua destilada en el volumen original (25 ml). La resuspensión se llevó a cabo a pH 3,0 en tubos agitados a 130 rpm por 2 hs a 25°C. Luego se determinaron la concentración de IMZ y COT.

8.3 Resultados y discusión

8.3.1 Caracterización de las muestras

Se recibieron en el laboratorio un total de 16 muestras, las cuales se describen a continuación, en la *Figura 8.8* se muestran los aspectos de las mismas y en la *Tabla 8.1* se muestra la caracterización química.

Muestra 1: efluente del 15-7-2015 proveniente del colector general 0 hs de proceso

Muestra 2: efluente del 15-7-2015 proveniente del colector general 1,5 hs de proceso

Muestra 3: efluente del 15-7-2015 proveniente del colector general 3 hs de proceso

Muestra 4: efluente del 15-7-2015 proveniente del colector general 4,5 hs de proceso

Muestra 5: efluente del 15-7-2015 proveniente del colector general 6 hs de proceso

Muestra 6: efluente del 15-7-2015 proveniente del colector general 8,50 hs de proceso con eliminación de hipoclorito de sodio

Muestra 7: efluente del 15-7-2015 proveniente del caldo *drencher* utilizado en 150 bins de fruta

Muestra 8: efluente del 21-7-2015 proveniente del colector general 0 hs de proceso

Muestra 9: efluente del 21-7-2015 proveniente del colector general 1,5 hs de proceso

Muestra 10: efluente del 21-7-2015 proveniente del colector general 3 hs de proceso

Muestra 11: efluente del 21-7 proveniente del colector general 4,5 hs de proceso

Muestra 12: efluente del 21-7-2015 proveniente del colector general 6 hs de proceso

Muestra 13: efluente del 21-7-2015 proveniente del colector general 7,5 hs de proceso

Muestra 14: efluente del 21-7-2015 proveniente del colector general 8,5 hs de proceso

Muestra 15: efluente del 21-7-2015 proveniente del colector general 8,50 hs de proceso con eliminación de hipoclorito de sodio

Muestra 16: efluente del 21-7-2015 proveniente del caldo *drencher*

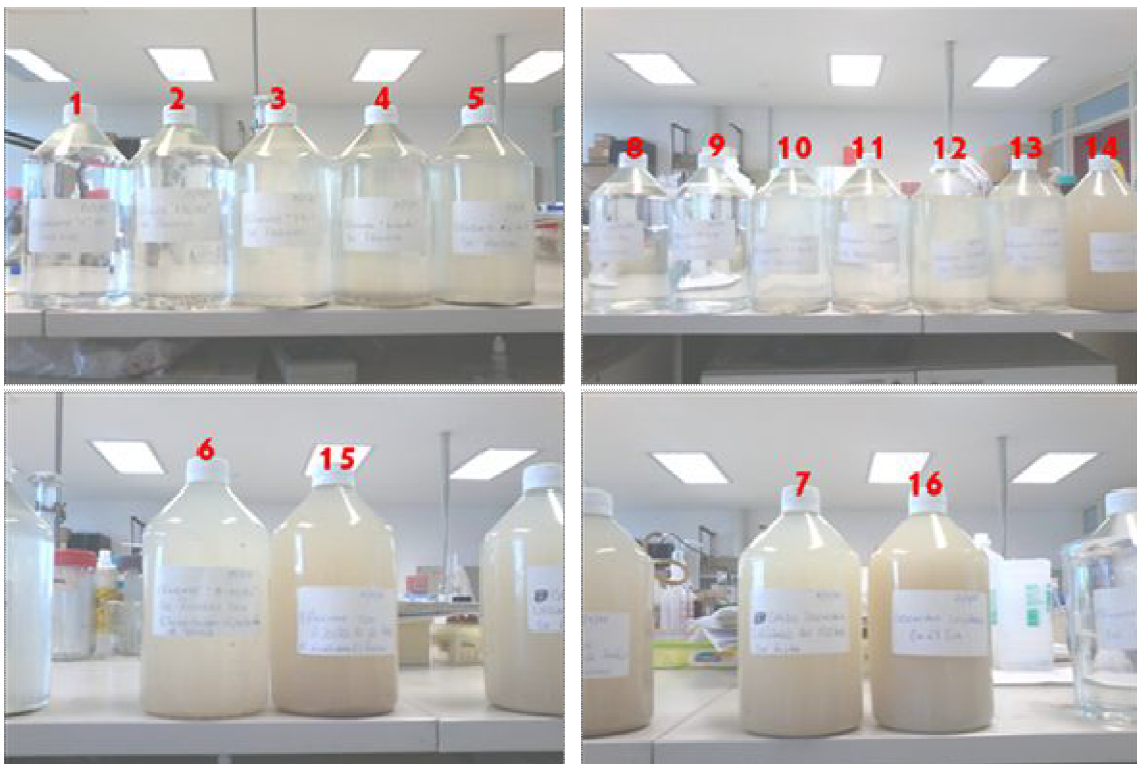


Figura 8.8 Imágenes de los efluentes recibidos.

A simple vista (*Figura 8.8*) las muestras tienen aspectos muy diferentes, a medida que pasan las horas de ambas jornadas de trabajo, las muestras se tornan más turbias, blancas y con mayor cantidad de sedimento. Las muestras del caldo *drencher* fueron las más turbias y coloreadas en ambos días.

Tabla 8.1 Caracterización de las muestras de efluente real proveniente de una planta empacadora de Entre Ríos

Muestra	pH	Conductividad (microS)	COT (mgC/L)	DQO (mgO ₂ /L)	DQO _{ea} (mgO ₂ /L)	TBZ (mg/L)	PIRM (mg/L)	IMZ (mg/L)
1	7,19	435	2,73	<100	<100	x	x	0
2	7,02	607	3,8	<100	<100	x	x	0
3	6,92	929	19,67	274	332	x	x	2
4	6,95	730	13,78	<100	<100	x	x	2
5	6,79	932	26,13	249	383	x	2	3
6	6,7	1006	48,84	460	1296	x	2	11
7	6,99	830	907,75	2957	3797	0	96	x
8	7,11	412	6,7	<100	<100	x	x	1
9	7,11	418	3,45	<100	<100	x	x	1
10	6,94	896	8,21	204	269	x	x	3
11	6,91	903	8,49	<100	<100	x	x	1
12	6,7	644	6,88	<100	<100	x	x	2
13	6,94	864	13,26	204	288	x	x	2
14	6,78	630	86,71	747	3337	x	4	17
15	6,77	1196	75,06	712	4217	x	2	15
16	6,75	570	1800	5136	6061	0	204	x

Los resultados de las determinaciones analíticas arrojaron valores que coinciden con el aspecto de las muestras. Los efluentes de las primeras horas de ambas jornadas tienen valores bajos de carga orgánica, tanto de COT como de DQO, y en general se encuentran dentro de los límites de descarga a ríos ($DQO \leq 250-400 \text{ mgO}_2/\text{L}$). Las muestras con hipoclorito y bicarbonato de sodio presentan altos valores de DQO pero bajos valores de COT (muestras 6 y 15), probablemente el hipoclorito este interfiriendo con las mediciones de DQO. Las muestras del *drencher* (7 y 16) presentan valores muy altos de estos parámetros (muy por encima de los valores de descarga permitidos).

En cuanto a las concentraciones de plaguicidas en el caldo *drencher*, se determinó que el TBZ se encuentra ausente en la solución que se descarga, no así el PIRM que se encontró en muy altas concentraciones (100-200 mg/L). En las demás muestras se encontraron concentraciones relativamente bajas de IMZ (0-17 mg/L) y PIRM (2-4 mg/L).

En general el efluente es homogéneo y con baja carga orgánica durante la jornada. Presenta picos de DQO en los momentos en que se descarga el líquido de la pileta con hipoclorito y bicarbonato, como se dijo anteriormente este aumento aparente sería debido a la oxidación de los cloruros.

El sedimento y el material coloidal suspendido en los efluentes presentan una carga contaminante apreciable, lo cual se observa a partir de los datos de DQO con la muestra centrifugada y sin centrifugar (DQO y DQO_{ea}). Esta observación es de fundamental importancia dado que evaluar solamente la fracción soluble de la descarga puede llevar a subvalorar los parámetros de contaminación.

Una muestra muy importante es el líquido proveniente del *drencher*, ya que posee la mayor cantidad de carga observada y representa un alto porcentaje del volumen descargado diario.

Como se comentó en la *sección 8.2.3.1* se utilizó efluente representativo de una jornada laboral, el día elegido fue el 21-7-15, ya que tenía un número mayor de muestras tomadas durante el día, por lo tanto se mezclaron las muestras de la 8 a la 14. A pesar de que estas muestras contenían IMZ en diferentes concentraciones (1-17 mg/L) se decidió agregar 50 mg/L de IMZ para poder estudiar con mayor detenimiento la degradación de este plaguicida en la matriz compleja que representa el efluente real. Además como en la planta empacadora el efluente es variable en el tiempo, es posible que en ciertos momentos haya liberación de concentraciones más altas de IMZ. Por otro lado, se decidió no utilizar las muestras del *drencher* porque en este tratamiento no se utiliza IMZ, y tampoco las muestras con hipoclorito, ya que este oxidante podría matar a la biomasa en el tratamiento biológico.

Una vez mezcladas las muestras y con IMZ agregado se midieron IMZ, COT, DQO y DQO_{ea}, los datos se muestran en la *Tabla 8.2*. La concentración de IMZ a pH 3,0 fue 54 mg/L y a pH natural (6,7) 34 mg/L, esta diferencia de concentraciones podría estar dada por la adsorción del IMZ sobre el material particulado del efluente favorecido a pHs cercanos a la neutralidad. Por otro lado, también podría deberse a que el IMZ a pH neutro no esté totalmente solubilizado y al centrifugar la muestra para su análisis parte de este quede en el pellet, sin embargo se debe tener en cuenta que el IMZ en el efluente simulado tiene muy alta solubilidad a pHs ácidos y neutros. La DQO del efluente agitado (DQO_{ea}) es mucho más alta que la DQO del efluente centrifugado, esto indica que el material en suspensión contiene mucha materia orgánica.

Tabla 8.2 Caracterización del efluente real

IMZ (pH 6,7) (mg/L)	IMZ (pH 3,0) (mg/L)	COT (mgC/L)	DQO (mgO ₂ /L)	DQO _{ea} (mgO ₂ /L)
34	54	74,7	245	755

8.3.2 Tratamientos

Basados en los resultados y conclusiones obtenidas en los capítulos anteriores, se realizaron con el efluente real ensayos de biodegradación, tratamiento foto Fenton, tratamientos acoplados foto Fenton-biológico, adsorción y desorción, los resultados se muestran a continuación.

8.3.2.1 Tratamiento biológico

Para el ensayo de biodegradación el efluente se suplementó con el agregado de micronutrientes inorgánicos (*solución salina* detallada en el *Capítulo 2*) para aplicar el tratamiento biológico con la *comunidad 1* resistente a IMZ obtenida en el *Capítulo 3*. En este caso no se observó disminución del IMZ ni del COT (*Figura 8.9*). Esto indicaría que el efluente no contiene compuestos biodegradables en solución que la biomasa pueda utilizar como fuente de carbono y energía. Sin embargo, el efluente contiene material en suspensión (no disuelto) con un alto contenido de materia orgánica, entonces no se podría descartar que la biomasa este consumiendo parte de ese material orgánico, ya que a través de la técnica para cuantificar COT solo se tiene en cuenta el carbono orgánico en solución.

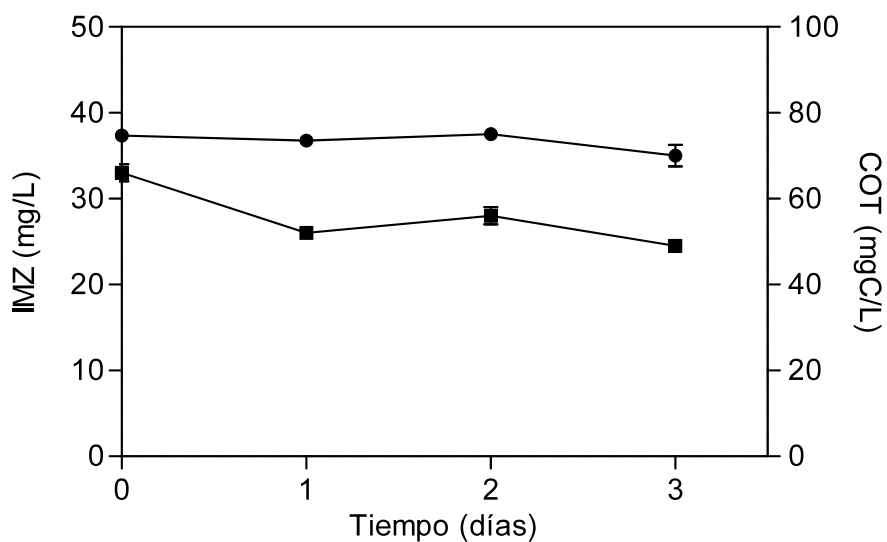


Figura 8.9 Evolución temporal del IMZ y del COT en el tratamiento biológico con la *comunidad* 1. (■) IMZ, (●) COT.

8.3.2.2 Tratamiento foto Fenton

El tratamiento foto Fenton logró degradar totalmente el IMZ en 2 horas con un $t_{1/2}$ de 0,44 hs (Figura 8.10). Por otro lado, el COT aumentó en el tiempo, esto mismo se observó en el Capítulo 6 cuando se realizó el tratamiento foto Fenton de MMT con IMZ adsorbido, lo que estaría indicando la liberación por oxidación de compuestos orgánicos adheridos al material en suspensión. La DQO_{ea} disminuyó 56 % alcanzando valores de alrededor de 330 mgO_2/L .

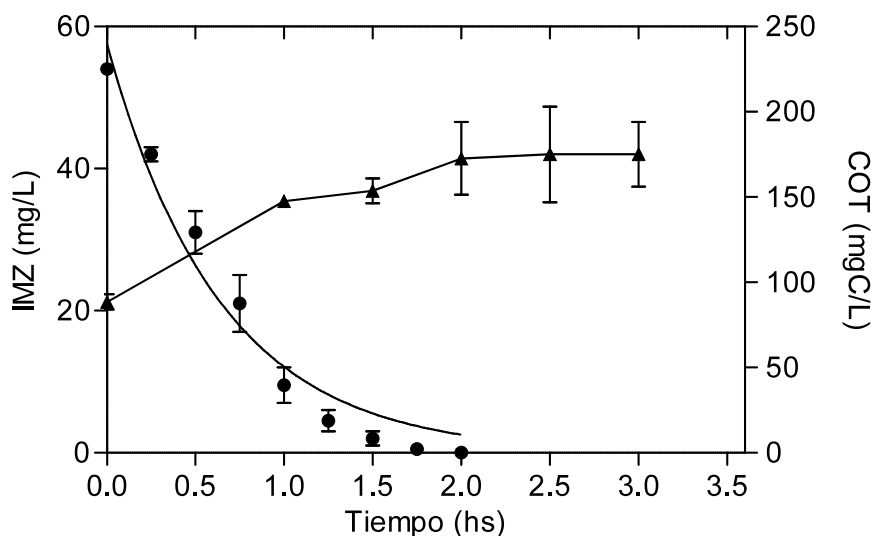


Figura 8.10 Evolución temporal del IMZ y del COT en el tratamiento foto Fenton, 0,15 mM Fe(III) y 9 mM H₂O₂. (●) IMZ, (▲) COT.

El $t_{1/2}$ en este caso es del orden de los encontrados en el *Capítulo 4*, sin embargo la concentración de IMZ aquí es 10 veces menor, esta diferencia en la velocidad de degradación del IMZ podría deberse a la matriz compleja del efluente real que interfiere, tanto por la dispersión de la luz debido al material en suspensión como al consumo de los $\cdot\text{OH}$ por parte de la materia orgánica que contiene el efluente.

8.3.2.3 Tratamiento acoplado foto Fenton-biológico

El efluente tratado por foto Fenton se acopló a un tratamiento biológico con el agregado de micronutrientes, se neutralizó e inoculó con la *comunidad 2* resistente a los intermediarios de oxidación del Xedrel 50® obtenida en el *Capítulo 5*. En este caso se observó una gran disminución del COT, indicando que luego del tratamiento foto Fenton se obtuvieron compuestos que la biomasa es capaz de biodegradar (*Figura 8.11*). Resultados similares se obtuvieron en el *Capítulo 5*. La DQO_{ea} también disminuyó y alcanzó valores de aproximadamente 183 mgO₂/L.

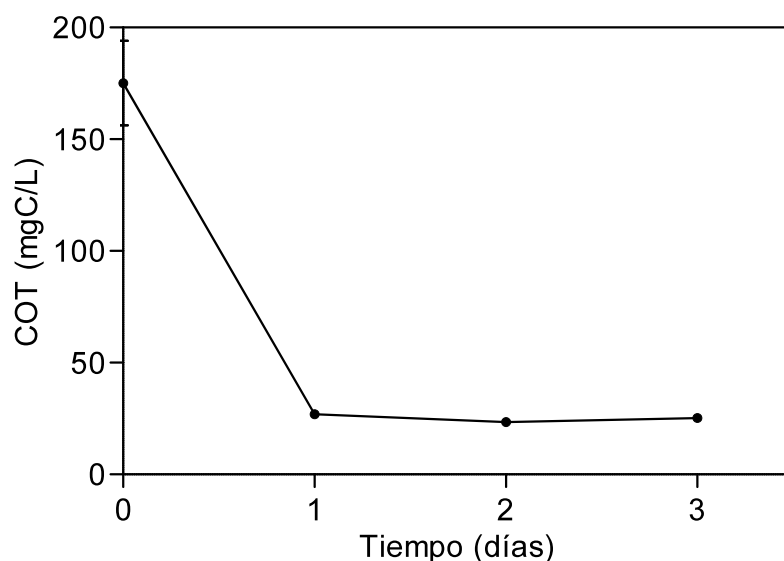


Figura 8.11 Evolución temporal del COT en el tratamiento acoplado foto Fenton-biológico con la comunidad 2. (●) COT.

8.3.2.4 Tratamiento con arcillas

Finalmente se realizaron ensayos de adsorción y desorción del efluente real con MMT y OMMT. La adsorción se realizó a pH natural del efluente, aproximadamente 6,7 y la desorción a pH ácido (3,0), estos son los pHs donde se obtuvieron los mejores resultados en los estudios realizados en el *Capítulo 6*. Como se puede observar en la *Figura 8.12* la MMT adsorbe mucho más que la OMMT, prácticamente todo el IMZ es adsorbido por la MMT (94 %) y el 40 % por la OMMT. Al realizar el tratamiento ácido para desorber el IMZ en el mismo volumen inicial (sin concentración), se observó que la desorción de la MMT fue nula, en cambio en el caso de la OMMT se cuantificó más IMZ del que la OMMT adsorbió anteriormente (por eso el % de desorción es mayor a 100 %) el porcentaje de desorción fue 307 % (la OMMT adsorbió 13,5 mg/L de IMZ, y al desorber se encontraron 41,5 mg/L de IMZ). Esta diferencia se debe a que la concentración de IMZ en solución es dependiente del pH, ya sea por adsorción en el material en suspensión del efluente o por solubilidad, como se mencionó anteriormente (*Tabla 8.2*) la concentración de IMZ en el efluente a pH 6,7 fue 34 mg/L y a pH 3,0 fue 54 mg/L. Las MMT y

OMMT se comportaron de igual manera en el efluente simulado (*Capítulo 6*) que en el efluente real.

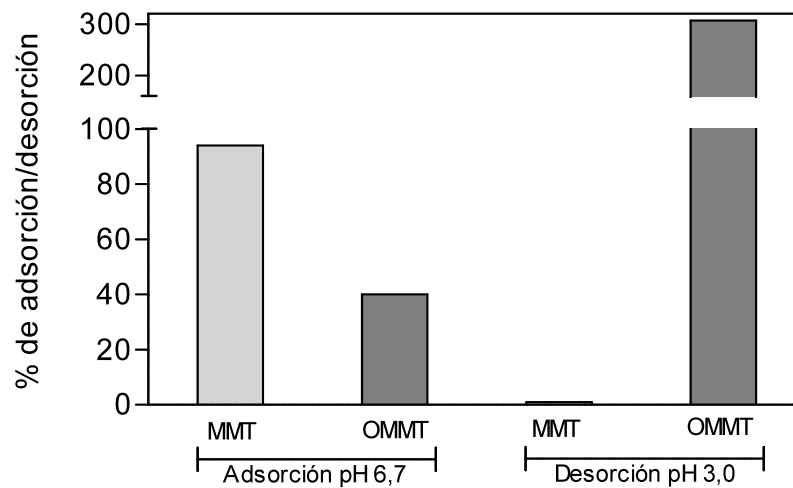


Figura 8.12 Porcentajes de adsorción y desorción a pH 6,7 y 3,0 respectivamente con MMT y OMMT (arcillas 1 g/L).

8.4 Conclusiones

Los ensayos preliminares sobre el efluente real de la industria fruti hortícola demostraron la capacidad y eficiencia de tratamiento de las técnicas desarrolladas en el laboratorio. Los estudios en el efluente simulado sirvieron como modelo para luego trabajar en una matriz más compleja como lo es el efluente real. Se demostró que es factible la aplicación combinada de procesos fisicoquímicos, fotocatalíticos y microbiológicos para el tratamiento de efluentes reales.

Si bien, estas primeras pruebas para el tratamiento del efluente real fueron muy sencillas y preliminares, fue de suma importancia realizarlas para analizar la aplicabilidad de los métodos propuestos en este trabajo sobre matrices más complejas, como los efluentes de las industrias empacadoras de frutas, y de esta manera prevenir la contaminación.

CAPÍTULO 9

CONCLUSIONES Y COMENTARIOS FINALES

9.1 Conclusiones y comentarios finales

Durante el desarrollo de la presente Tesis Doctoral se demostró la factibilidad de la aplicación combinada de procesos fisicoquímicos, fotocatalíticos y microbiológicos para el tratamiento de efluentes acuosos simulados conteniendo el fungicida de aplicación poscosecha imazalil (IMZ) (presente en el formulado comercial Xedrel 50®). La exploración del sistema bajo estudio se realizó primero a escala de laboratorio, de forma tal de determinar cuáles son los parámetros que definen la eficacia de los diferentes procesos, y cómo deben ajustarse para poder combinarlos eficazmente. Los resultados de laboratorio generaron la información y los conocimientos básicos para extender los tratamientos propuestos a una escala mayor. Adicionalmente, los resultados obtenidos fueron aplicados al tratamiento de un efluente real adicionado con IMZ.

En la búsqueda de un proceso de base microbiológica para degradar IMZ presente en agua, se aislaron comunidades microbianas de barros de una planta de decantación de efluentes acuosos conteniendo plaguicidas poscosecha. Fue posible aislar y caracterizar parcialmente una comunidad resistente a altas concentraciones de IMZ (y coadyuvantes presentes en el producto Xedrel 50®), con capacidad para degradar parcialmente IMZ en presencia de una fuente de carbono de fácil asimilación (junto con otros micronutrientes). Cuando la comunidad estuvo establecida en forma de *biofilm* no fue necesario el agregado de fuente de carbono extra y las eficiencias de remoción de IMZ fueron mayores a tiempos menores, sin embargo, la remoción tampoco fue total. Estos resultados indicaron que no es factible aplicar un tratamiento biológico para eliminar completamente el IMZ presente en altas concentraciones.

Por aplicación del proceso de oxidación avanzada denominado foto Fenton a soluciones conteniendo concentraciones elevadas de IMZ (hasta 500 mg/L), fue posible degradar el contaminante en un tiempo relativamente corto. El valor de demanda química de oxígeno (DQO) de la solución disminuyó notablemente, con una eficiencia dependiente de la dosificación de H₂O₂. Esta disminución de DQO fue consistente con el aumento en la concentración de ácidos orgánicos en solución. La incorporación del H₂O₂ en dosis mejoró el rendimiento con respecto a la aplicación del total en una sola dosis inicial. Por otro lado, no fue posible disminuir el valor de carbono orgánico total (COT) aún a tiempos de tratamiento largos, lo que indica la existencia de procesos químicos que frenan el avance de la reacción (por ejemplo la complejación del Fe(III) por productos de oxidación) y/o la formación de subproductos algo resistentes a la oxidación por este proceso (como

el ácido acético). Exponiendo la comunidad microbiana aislada al efluente tratado a través de foto Fenton sin el agregado de fuente de carbono externa, se obtuvo una nueva comunidad microbiana. Empleando esta comunidad fue posible reducir la carga orgánica en las soluciones provenientes del tratamiento foto Fenton. Se demostró que la reducción de la carga orgánica por el proceso biológico está ligado a la extensión del tratamiento oxidativo. La determinación del estado de oxidación medio (EOM) resultó una herramienta útil para determinar el grado de oxidación necesario para un buen acoplamiento con el reactor biológico. Para el caso de los efluentes simulados estudiados en este trabajo, los subproductos de oxidación con EOM entre 2,5 y 2,9 pudieron mineralizarse durante el tratamiento biológico; mientras que el valor de EOM óptimo a la salida del proceso de oxidación fue ligeramente superior a 1,9. Dependiendo de la legislación local y/o de las características del cuerpo receptor, la extensión del tratamiento de oxidación (comúnmente más costoso que el biológico) debe regularse de forma tal que el efluente de salida del reactor biológico cumpla con las especificaciones necesarias. De esta manera se optimizan costos y tiempos de tratamiento.

El uso de adsorbentes como la montmorillonita (MMT), permitió una rápida eliminación del contaminante presente en agua. Esta adsorción es prácticamente irreversible, generándose un residuo sólido que contiene el contaminante concentrado y que necesita disponerse correctamente. La modificación de la MMT por incorporación de un alquilamonio cuaternario (Octadecil-trimetil-amonio -ODTMA-), condujo a un adsorbente para el IMZ dependiente del pH, siendo posible adsorber el IMZ a pH 7,0 y desorberlo a pH 3,0. De esta manera se obtuvo un sistema capaz de remover el IMZ presente en agua, desorberlo en un volumen más pequeño para obtener una solución concentrada y, seguidamente, degradarlo por aplicación de un tratamiento foto Fenton. El adsorbente pudo reutilizarse al menos 3 veces antes de perder capacidad de adsorción.

El aumento de escala de los procesos anteriores necesita una fuente de luz económica para minimizar los costos del proceso de oxidación. En este trabajo se demostró la factibilidad de utilizar luz solar para degradar IMZ por foto Fenton en la latitud correspondiente a San Martín, Pcia. De Buenos Aires. Este proceso pudo aplicarse en diferentes escenarios climáticos en estaciones extremas, siendo el grado de degradación dependiente de la energía recibida. En invierno el proceso es más lento, pero el uso del H_2O_2 es más eficiente. Estos resultados indican que, de acuerdo a la estación, deben emplearse diferentes estrategias de tratamiento que permitan una mayor cantidad de energía recibida y el uso más eficiente del oxidante. El proceso de oxidación condujo a la

degradación total del componente activo, baja de la DQO y una notable disminución de la toxicidad de la solución evaluada por el test de *Lactuca sativa*. Es remarcable que la radiación solar en la región del AMBA resultó adecuada para el tratamiento de este tipo de efluentes por foto Fenton, siendo este trabajo el primero realizado en escala piloto a la latitud correspondiente a esta región.

En vista de lo antes mencionado, los tratamientos acoplados tienen un gran potencial para el tratamiento integral de efluentes con compuestos recalcitrantes como el IMZ. El tratamiento foto Fenton puede utilizarse como pre tratamiento de una solución con plaguicida y luego acoplar este sistema a un tratamiento biológico para completar la degradación del efluente. Por otro lado, la combinación de adsorción con procesos avanzados de oxidación puede resultar en una eficiente y económica alternativa para remover, acumular, concentrar y degradar contaminantes en agua, permitiendo además la reutilización del adsorbente evitando o minimizando la disposición final del sólido contaminado. El uso de estas técnicas en forma acoplada brinda versatilidad y permitiría tratar un efluente en forma completa optimizando costos.

Ensayos preliminares sobre un efluente proveniente de la industria fruti hortícola demostraron la capacidad y eficiencia de tratamiento de estas técnicas desarrolladas en el laboratorio sobre una matriz más compleja como lo es un efluente real.

No solo para no quedar afuera del mercado global, sino también por las demandas sociales y legales, la industria nacional agrícola debe prevenir la contaminación de los recursos naturales y provocar el menor impacto posible sobre la salud humana. En este trabajo se proponen una serie de técnicas novedosas que pueden ser utilizadas para tratar los efluentes y prevenir la contaminación. No obstante, las condiciones de tratamiento se deben adaptar a las regulaciones locales, teniendo en cuenta características particulares de cada efluente y de cada región.

Anexo I: Colectores Parabólicos Compuestos

El desarrollo de la tecnología de fotocátalisis solar se inició a finales de los años 80, partiendo de los diseños y sistemas ya existentes para procesos térmicos de baja y media temperatura. Básicamente las modificaciones iniciales de estos equipos existentes consistieron en el reflector solar y en el receptor, dado que éste debe ser transparente a la luz para poder introducir los fotones dentro del fluido que se quiere tratar.

Los colectores cilíndricos parabólicos compuestos (CPC) han resultado ser una de las mejores opciones tecnológicas para aplicaciones solares de fotocátalisis. Estos colectores solares estáticos, están constituidos por una superficie reflectante que sigue una forma involuta alrededor de un reactor cilíndrico y han demostrado aportar una de las mejores ópticas para sistemas de baja concentración (*Blesa y Sánchez, 2004*).

El factor de concentración de los colectores solares es definido como la relación entre el área de apertura del colector y el área de absorción. El área de apertura es el área que intercepta la radiación y el área de absorción es el área del componente que recibe la radiación solar (*Malato, 2004*).

Aunque estos colectores CPC no poseen seguimiento solar alguno, pueden alcanzar un factor de concentración de hasta unos 10 soles gracias a la forma geométrica de su superficie reflectiva. Para aplicaciones de fotocátalisis pueden ser diseñados con un factor de concentración 1, con lo que, gracias al diseño particular del reflector, prácticamente la totalidad de la radiación UV que llega al área de apertura del colector CPC (tanto la directa como la difusa, independientemente ésta última de la dirección con que llega) es reflejada hacia el reactor, iluminando la parte interior del reactor tubular (*Figura I.1*). Además, la forma tubular del reactor permite una fácil impulsión y distribución del agua a tratar, simplificando la parte hidráulica de la instalación. La estructura puede ser un simple marco soporte del fotorreactor con tubos conectados (*Blesa y Sánchez, 2004*). El material del tubo debe ser inerte, poseer alta transmitancia y ser rígido, algunos plásticos como fluoropolímeros o varios tipos de vidrios con bajo contenido de hierro como borosilicato o cuarzo aunque este último es muy costoso y sería inviable un reactor de este material (*Malato, 2004*). Los reflectores CPC están generalmente hechos de aluminio pulido, ya que el aluminio es el único metal que refleja eficientemente la radiación UV del espectro solar (*Malato, 2004*).

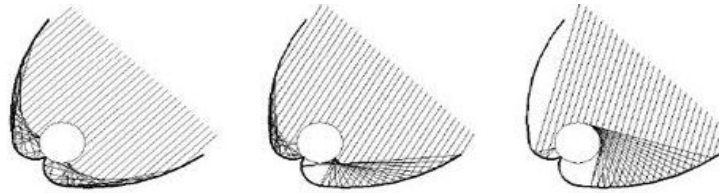


Figura I.1 Radiación solar reflejada en un colector CPC. Toda la luz que llega a la apertura del colector será reflejada sobre el reactor si el ángulo de incidencia es menor del ángulo de aceptación del CPC. Extraído de *Blesa y Sanchez, 2004*.

La eficiencia máxima de captación anual, para colectores estáticos sin seguimiento, se consigue con un ángulo de inclinación del colector sobre la horizontal equivalente a la latitud del lugar de emplazamiento. Es importante resaltar también que en estos reactores sin concentración se tiene una relación lineal entre la velocidad de la reacción y la intensidad de irradiación incidente.

El factor de concentración (C) del CPC está dado por:

$$C = 1/\text{sen}\theta_a = a/2\pi r$$

Los valores normales para el ángulo de aceptación θ_a para aplicaciones fotocatalíticas, están entre 60 y 90 grados (*Figura I.2*). El rango amplio de θ_a permite coleccionar radiación directa y gran parte de la difusa. Un caso especial es cuando θ_a es 90 grados y C es igual a 1. Cuando esto ocurre, toda la radiación UV que alcanza el área de apertura del CPC (no solo la directa) puede ser coleccionada y redirigida al reactor. Si el CPC es diseñado con un θ_a de 90 grados, toda la radiación solar incidente difusa puede ser coleccionada. La luz reflejada por el CPC es distribuida en todo el tubo, y la luz incidente en el fotoreactor es la misma que estaría incidiendo sobre una placa plana (*Malato, 2004*).

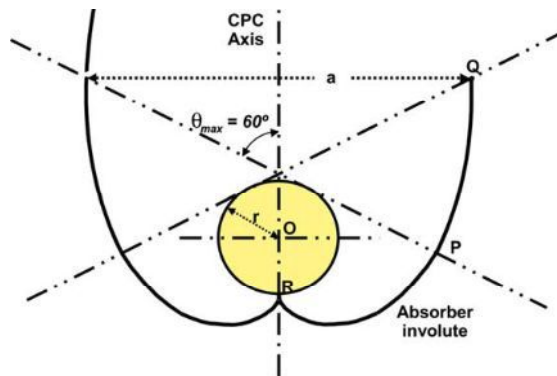


Figura I.2 Reactor Cilindro Parabólico Compuesto. La sección Q-P es la curva que refleja los rayos extremos (paralelos a la dirección Qa) tangentes al tubo y la sección P-R involuta al tubo absorbente. Extraído de *Malato, 2004*.

Anexo II: Datos de los ensayos de Fenton solar en los reactores CPC

Ensayo: Verano nublado

Fecha	Hora	Tiempo (hs)	T liquido °C	Irradiancia W/m ²	Energía Recibida J/m ²
03-02-2015	10:30	0	27	44.9	0
		0.5	31	51.3	86580
		1	33	44.6	172890
		1.5	34	54.4	261990
		2	34	13.5	323100
		2.5	34	32.4	364410
		3	34	21.0	412470
		3.5	35	13.8	443790
		4	34	17.8	472230
5	33	11.5	524970		
6	32	10.4	564390		

Ensayo: Verano soleado

Fecha	Hora	Tiempo (hs)	T liquido °C	Irradiancia W/m ²	Energía Recibida J/m ²
24-02-2015	11:00	0	32	46.5	0
		0.5	36	52.1	88740
		1	39	54.1	184320
		1.5	41	53.2	280890
		2	42	51.5	375120
		2.5	43	44.5	461520
		3	43	38.8	536490
		3.5	43	30.5	598860
		4	42.5	22.9	646920
		4.5	42.5	16.6	682470
		5	41	12.2	708390
		5.5	40.5	9.5	727920
6	40	7.2	742950		

Ensayo: Invierno nublado

Fecha	Hora	Tiempo (hs)	T liquido °C	Irradiancia W/m ²	Energía Recibida J/m ²
10-07-2015	11:20	0	14	5	0
		0.5	16	8.5	12150
		1	17.5	7.2	26280
		1.5	18	7.4	39420
		2	19	8.8	54000
		2.5	20	10.4	71280
		3	22	14.1	93330
		3.5	23	10.2	115200
		4	23	4.8	128700

Ensayo: Invierno soleado

Fecha	Hora	Tiempo (hs)	T liquido °C	Irradiancia W/m ²	Energía Recibida J/m ²
17-07-2015	10:30	0	14	16.7	0
		0.5	16	21.4	34290
		1	19	24.3	75420
		1.5	21	25.9	120600
		2	22	25.8	167130
		2.5	24	24.4	212310
		3	24	22	254070
		3.5	25	18	290070
		4	24	17.4	321930
20-07-2015	12:40	4.5	23	9.8	346410
		5	23	8	362430
		5.5	22	5.9	374940
		6	19	24.3	374940
		6.5	20	23.2	417690
		7	22	20	456570
		7.5	23	14.3	487440
		8	23	12.1	511200
		8.5	23.5	8.8	530010
21-07-2015	11:10	8.5	24	6.2	543510
		9.5	15	20.5	543510
		10.5	18	26.9	628830
		11.5	21	23.8	720090
		12.5	22	17.8	794970
		12.5	21	10.4	845730

13.5 17 5.8 874890

Ensayo: Verano soleado 3 dosis de H₂O₂

Fecha	Hora	Tiempo (hs)	T liquido °C	Irradiancia W/m ²	Energía Recibida J/m ²
07-01-2016	10:45	0	30	47.8	0
		0.25		49.9	43965
		0.5	34	52.1	89865
		0.75		53	137160
		1	37	52	184410
		1.25		53.7	231975
		1.5	38	52.1	279585
		1.75		50	325530
		2	39	47.8	369540
		2.5	41	46.6	454500
		3	40.5	43.2	535320
		3.5	40	35.9	606510
		4	39	29.1	665010
		4.5	37	21.8	710820
		5	36	17	745740
5.5		13	772740		
13-01-2016	10:20	6	34	11.2	794520
		6	28	42.6	794520
		6.5	32	48	876060
		7	34	52.5	966510
		7.5	37	54	1062360
13-01-2016	12:30	8	38	52.2	1157940
		8	38	52.2	1157940
		8.5	39	47.4	1247580
		9	40	39.1	1325430

Ensayo: Verano soleado doble de Fe(III)

Fecha	Hora	Tiempo (hs)	T liquido °C	Irradiancia W/m ²	Energía Recibida J/m ²
17-03-2016	10:50	0	30	42	0
		0.25	33	44.3	38835
		0.5	33	46.5	79695
		0.75	35	46.6	121590
		1	36	47	163710

1.25	38	47.3	206145
1.5	38	47.4	248760
1.75	38.5	44.6	290160
2	39	43.7	329895
2.25	39.5	43	368910
2.5	40	40.2	406350
2.75	40.5	35.7	440505
3	40	32.5	471195
3.5	40	27.3	498105
4	40		510390
4.5	39	15.5	517365
5	39	10.6	529110
5.5	38	8.3	537615
6	37	5.9	544005

Ensayo: Verano soleado sin Fe(III) ni H₂O₂

Fecha	Hora	Tiempo (hs)	T liquido °C	Irradiancia W/m ²	Energía Recibida J/m ²
30-01-2015	11:20	0	24	54.2	0
		0.5	27	56.1	99270
		1	29	51.1	195750
		1.5	30	55.8	291960
		2	30	46.4	383940
		2.5	30	46.7	467730
		3	31	28	534960
		3.5	30	19.9	578070
		4	31	15.7	610110

Ensayo: Verano soleado sin Fe(III)

Fecha	Hora	Tiempo (hs)	T liquido °C	Irradiancia W/m ²	Energía Recibida J/m ²
02-02-2015	11:55	0	31	54.3	0
		0.5	34	53.3	96840
		1	36	51.3	190980
		1.5	37	44.6	277290
		2	38	39	352530
		2.5	38	30.5	415080
		3	37	24.1	464220

3.5	37	18	502110
4	36	13.6	530550

Ensayo: Verano soleado sin H₂O₂

Fecha	Hora	Tiempo (hs)	T liquido °C	Irradiancia W/m ²	Energía Recibida J/m ²
06-03-2015	11:05	0	27	48.8	0
		0.5	31	52	90720
		1	33	54.1	186210
		1.5	35	52.5	282150
		2	36	48.9	373410
		2.5	37	42.5	455670
		3	38	36.9	527130
		3.5	37	25.7	583470
		4	37	20.9	625410

Ensayo: Verano soleado Fenton Térmico

Fecha	Hora	Tiempo (hs)	T liquido °C	Irradiancia W/m ²	Energía Recibida J/m ²
30-03-2015	12:30	0	31	0	0
		0.5	33	0	0
		1	35	0	0
		1.5	37	0	0
		2	39	0	0
		2.5	38	0	0
		3	38	0	0
		3.5	37	0	0
		4	35	0	0

Bibliografía

Artículos y libros

Abadía Bernadette y Bartosik Ricardo editores. Manual de buenas prácticas en poscosecha de granos: hacia el agregado de valor en origen. INTA. Buenos Aires, 2013.

Alfano, O. M., Bahnemann, D., Cassano, A. E., Dillert, R., and Goslich, R. Photocatalysis in water environments using artificial and solar light. *Catalysis today*, 58(2), 199-230, 2000.

Anirudhan, T. S., and Ramachandran, M. Adsorptive removal of tannin from aqueous solutions by cationic surfactant-modified bentonite clay. *Journal of Colloid and Interface Science*, 299(1), 116-124, 2006.

Arsene D, Petronela C., Catrinescu M. C., Apopei P., Barjoveanu G., Teodosiu C. Combined oxidation and ultrafiltration processes for the removal of priority organic pollutants from wastewaters. *Environmental Engineering and Management Journal* 10, 12: 1967-1976, 2011.

Ausec, L., Zakrzewski, M., Goesmann, A., Schlüter, A. and Mandic-Mulec, I. Bioinformatic analysis reveals high diversity of bacterial genes for laccase-like enzymes. *PLoS One*, 6 (10), e25724, 2011.

Babuponnusami, A. and Muthukumar, K. A review on Fenton and improvements to the Fenton process for wastewater treatment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2 (1), 557-572, 2014.

Bailey, S. E., Olin, T. J., Bricka, R. M., and Adrian, D. D. A review of potentially low-cost sorbents for heavy metals. *Water research*, 33(11), 2469-2479, 1999.

Ballesteros Martín, M., Pérez, J. S., López, J. C., Oller, I. and Rodríguez, S. M. Degradation of a four-pesticide mixture by combined photo-Fenton and biological oxidation. *Water Research*, 43 (3), 653-660, 2009a.

Ballesteros Martín, M., Pérez, J. S., Sánchez, J. G., López, J. C. and Rodríguez, S.M. Effect of pesticide concentration on the degradation process by combined solar photo-Fenton and biological treatment. *Water research*, 43 (15), 3838-3848, 2009b.

Bandala Erik R., Arancibia-Bulnes Camilo A., Orozco Sayra L., Estrada Claudio A. (2004). Solar photoreactors comparison based on oxalic acid photocatalytic degradation. *Solar Energy* 77- 5: 503 – 512.

Barkai-Golan R. *Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables: Development and Control*. Elsevier, 2001.

Barrett, E.P., Joyner, L.G. and Halenda, P.P. 'The Determination of Pore Volume and Area Distributions in Porous Substances. I. Computations from Nitrogen Isotherms'. *Journal of the American Chemical Society*, 73 (1):373-380, 1951.

Bergaya, F., and Lagaly, G. General introduction: clays, clay minerals, and clay science. *Developments in clay science*, 1, 1-18, 2006.

Bianchi, A. E., Fernández, M., Pantanetti, M., Viña, R., Torriani, I., Sánchez, R. T., and Punte, G. ODTMA⁺ and HDTMA⁺ organo-montmorillonites characterization: New insight by WAXS, SAXS and surface charge. *Applied Clay Science*, 83, 280-285, 2013.

Blanco Gálvez. *Solar Safe Water*, Capítulo 17: El reactor solar fotocatalítico: estado del arte, 2005.

Blesa y Sánchez editores. Eliminación de contaminantes por fotocatalisis heterogénea. Editorial CIEMAT, Madrid, 2004.

Blesa, M A. and Blanco Galvez, J. Solar Safe Water: Tecnologías solares para la desinfección y descontaminación del agua. Escuela de Posgrado UNSAM, San Martín, 2005.

Bonczek, J. L., Harris, W. G., and Nkedi-Kizza, P. Monolayer to bilayer transitional arrangements of hexadecyltrimethylammonium cations on Na-montmorillonite. *Clays and Clay Minerals*, 50(1), 11-17, 2002.

Bouchez, M., Blanchet, D., Bardin, V., Haeseler, F., & Vandecasteele, J. P. Efficiency of defined strains and of soil consortia in the biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) mixtures. *Biodegradation*, 10(6), 429-435, 1999.

Bouraada, M., Lafjah, M., Ouali, M. S., and de Menorval, L. C. Basic dye removal from aqueous solutions by dodecylsulfate-and dodecyl benzene sulfonate-intercalated hydrotalcite. *Journal of Hazardous Materials*, 153(3), 911-918, 2008.

Brenner, K., You, L., and Arnold, F. H. Engineering microbial consortia: a new frontier in synthetic biology. *Trends in biotechnology*, 26(9), 483-489, 2008.

Brunauer, S., Emmett, P.H. and Teller, E., (1938). 'Adsorption of Gases in Multimolecular Layers'. *Journal of the American Chemical Society*, 60 (2):309-319.

Bugg, T. D., Ahmad, M., Hardiman, E. M. and Singh, R. The emerging role for bacteria in lignin degradation and bio-product formation. *Current opinion in biotechnology*, 22(3), 394-400, 2011.

Calabi Floody, M., Theng, B. K. G., Reyes, P., and Mora, M. L. Natural nanoclays: applications and future trends—a Chilean perspective. *Clay Minerals*, 44(2), 161-176, 2009.

Carabajal, M., Kellner, H., Levin, L., Jehmlich, N., Hofrichter, M., & Ullrich, R. The secretome of *Trametes versicolor* grown on tomato juice medium and purification of the secreted oxidoreductases including a versatile peroxidase. *Journal of biotechnology*, 168(1), 15-23, 2013.

Casida, J. E. Pyrethrum Flowers and Pyrethroid Insecticides. *Environmental Health Perspectives*, 34, 189-202, 1980.

Chin, I. J., Thurn-Albrecht, T., Kim, H. C., Russell, T. P. and Wang, J. On exfoliation of montmorillonite in epoxy. *Polymer*, 42 (13), 5947-5952, 2001.

Davis L. Mackenzie and Masten J. Susan. Ingeniería y ciencias ambientales. McGraw-Hill Companies, Inc. 2005.

Del Panno, M. T., Morelli, I. S., Engelen, B., and Berthe-Corti, L. Effect of petrochemical sludge concentrations on microbial communities during soil bioremediation. *FEMS Microbiology Ecology*, 53(2), 305-316, 2005.

Dogan, A. U., Dogan, M., Onal, M., Sarikaya, Y., Aburub, A., and Wurster, D. E. Baseline studies of the clay minerals society source clays: specific surface area by the Brunauer Emmett Teller (BET) method. *Clays and Clay Minerals*, 54(1), 62-66, 2006.

Dua, M., Singh, A., Sethunathan, N., and Johri, A. Biotechnology and bioremediation: successes and limitations. *Applied microbiology and biotechnology*, 59(2-3), 143-152, 2002.

- Duran, J. D. G., Ramos-Tejada, M. M., Arroyo, F. J. and Gonzalez-Caballero, F. Rheological and electrokinetic properties of sodium montmorillonite suspensions: I. Rheological properties and interparticle energy of interaction. *Journal of Colloid and Interface Science*, 229(1), 107-117, 2000.
- Emmerich, K., Plötze, M., and Kahr, G. Reversible collapse and Mg 2+ release of de- and rehydroxylated homoionic cis-vacant montmorillonites. *Applied Clay Science*, 19(1), 143-154, 2001.
- EPA. Draft Guidelines for Carcinogenic Assessment. Environmental Protection Agency, United States, 1999.
- FAO. International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides. Rome, 1986.
- FAO. Manual para el mejoramiento del manejo poscosecha de frutas y hortalizas. Parte II: Control de calidad, almacenamiento y transporte. Santiago de Chile, 1989.
- FAO. Prevención de pérdidas de alimentos poscosecha: manual de capacitación. Roma, 1985.
- FAO. Specifications and evaluations for plant protection products, Imazalil. 2001.
- Farhadian, M., Vachelard, C., Duchez, D., and Larroche, C. In situ bioremediation of monoaromatic pollutants in groundwater: a review. *Bioresource Technology*, 99(13), 5296-5308, 2008.
- Faust, B.C., & Zepp, R.G. Photochemistry of aqueous iron (III)-polycarboxylate complexes: roles in the chemistry of atmospheric and surface waters. *Environmental Science & Technology*, 27 (12), 2517-2522, 1993.
- Fu, Y. T. and Heinz, H. Cleavage energy of alkylammonium-modified montmorillonite and relation to exfoliation in nanocomposites: influence of cation density, head group structure, and chain length. *Chemistry of Materials*, 22 (4), 1595-1605, 2010.
- Gallard, H., De Laat, J., and Legube, B. Spectrophotometric study of the formation of iron (III)-hydroperoxy complexes in homogeneous aqueous solutions. *Water Research*, 33(13), 2929-2936, 1999.
- Gamba, M., Flores, F. M., Madejová, J., and Torres Sánchez, R. M. Comparison of Imazalil Removal onto Montmorillonite and Nanomontmorillonite and Adsorption Surface Sites Involved: An Approach for Agricultural Wastewater Treatment. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 54(5), 1529-1538, 2015.
- Garrido-Ramírez, E. G., Theng, B. K. G. and Mora, M. L. Clays and oxide minerals as catalysts and nanocatalysts in Fenton-like reactions—a review. *Applied Clay Science*, 47 (3), 182-192, 2010.
- Gernjak, W., Fuerhacker, M., Fernández-Ibañez, P., Blanco, J., and Malato, S. Solar photo-Fenton treatment—Process parameters and process control. *Applied Catalysis B: Environmental*, 64(1), 121-130, 2006.
- Ghazali, F. M., Rahman, R. N. Z. A., Salleh, A. B., and Basri, M. Biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 54(1), 61-67, 2004.
- González-Bahamón, L. F., Hoyos, D. F., Benítez, N., and Pulgarín, C. New Fe-immobilized natural bentonite plate used as photo-Fenton catalyst for organic pollutant degradation. *Chemosphere*, 82(8), 1185-1189, 2011.

Guz, L., Curutchet, G., Sánchez, R. T. and Candal, R. Adsorption of crystal violet on montmorillonite (or iron modified montmorillonite) followed by degradation through Fenton or photo-Fenton type reactions. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2 (4), 2344-2351, 2014.

Hall-Stoodley, L., Costerton, J. W., and Stoodley, P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature reviews microbiology*, 2(2), 95-108, 2004.

Hazime, R., Ferronato, C., Fine, L., Salvador, A., Jaber, F. and Chovelon, J.M. Photocatalytic degradation of imazalil in an aqueous suspension of TiO_2 and influence of alcohols on the degradation. *Applied Catalysis B: Environmental*, 126, 90-99, 2012.

Hazime, R., Nguyen, Q.H., Ferronato, C., Huynh, T.K.X., Jaber, F. and Chovelon, J.M. Optimization of imazalil removal in the system $\text{UV/TiO}_2/\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ using a response surface methodology (RSM). *Applied Catalysis B: Environmental*, 132, 519-526, 2013.

Hazime, R., Nguyen, Q.H., Ferronato, C., Salvador, A., Jaber, F. and Chovelon, J.M. Comparative study of imazalil degradation in three systems: UV/TiO_2 , $\text{UV/K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ and $\text{UV/TiO}_2/\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$. *Applied Catalysis B: Environmental*, 144, 286-291, 2014.

Herney-Ramirez, J., Vicente, M. A. and Madeira, L. M. Heterogeneous photo-Fenton oxidation with pillared clay-based catalysts for wastewater treatment: a review. *Applied Catalysis B: Environmental*, 98 (1), 10-26, 2010.

Hincapié Pérez, M., Peñuela, G., Maldonado, M. I., Malato, O., Fernández-Ibáñez, P., Oller, I. and Malato, S. Degradation of pesticides in water using solar advanced oxidation processes. *Applied Catalysis B: Environmental*, 64 (3), 272-281, 2006.

Holmes, A., Govan, J., and Goldstein, R. Agricultural use of Burkholderia (*Pseudomonas*) cepacia: a threat to human health?. *Emerging infectious diseases*, 4(2), 221, 1998.

Horvath, R. S. Microbial co-metabolism and the degradation of organic compounds in nature. *Bacteriological Reviews*, 36 (2), 146, 1972.

Hu, J. Y., Aizawa, T., Ookubo, Y., Morita, T., and Magara, Y. Adsorptive characteristics of ionogenic aromatic pesticides in water on powdered activated carbon. *Water Research*, 32(9), 2593-2600, 1998.

Ilisz, I., Dombi, A., Mogyorósi, K., Farkas, A., and Dékány, I. Removal of 2-chlorophenol from water by adsorption combined with TiO_2 photocatalysis. *Applied Catalysis B: Environmental*, 39(3), 247-256, 2002.

Jiménez, M., Ignacio Maldonado, M., Rodríguez, E.M., Hernández-Ramírez, A., Saggiaro, E., Carra, I. and Sánchez Pérez, J.A. Supported TiO_2 solar photocatalysis at semi-pilot scale: degradation of pesticides found in citrus processing industry wastewater, reactivity and influence of photogenerated species. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 90 (1), 149-157, 2015.

Jiménez-Tototzintle, M., Oller, I., Hernández-Ramírez, A., Malato, S. and Maldonado, M.I. Remediation of agro-food industry effluents by biotreatment combined with supported $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2$ solar photocatalysis. *Chemical Engineering Journal*, 273, 205-213, 2015.

Karas, P.A., Perruchon, C., Exarhou, K., Ehaliotis, C. and Karpouzas, D.G. Potential for bioremediation of agro-industrial effluents with high loads of pesticides by selected fungi. *Biodegradation*, 22 (1), 215-228, 2011.

Kellner, H., Luis, P., Zimdars, B., Kiesel, B. and Buscot, F. Diversity of bacterial laccase-like multicopper oxidase genes in forest and grassland Cambisol soil samples. *Soil Biology and Biochemistry*, 40 (3), 638-648, 2008.

Kleffmann Group Argentina. Mercado argentino de productos fitosanitarios. Argentina, 2012.

Konstantinou, I. K., Albanis, T. A., Petrakis, D. E., and Pomonis, P. J. Removal of herbicides from aqueous solutions by adsorption on Al-pillared clays, Fe-Al pillared clays and mesoporous alumina aluminum phosphates. *Water Research*, 34(12), 3123-3136, 2000.

Konstantinou, I. K., Hela, D. G., and Albanis, T. A. The status of pesticide pollution in surface waters (rivers and lakes) of Greece. Part I. Review on occurrence and levels. *Environmental Pollution*, 141(3), 555-570, 2006.

Kwan, W. P., and Voelker, B. M. Rates of hydroxyl radical generation and organic compound oxidation in mineral-catalyzed Fenton-like systems. *Environmental science & technology*, 37(6), 1150-1158, 2003.

Legrini, O., Oliveros, E., and Braun, A. M. Photochemical processes for water treatment. *Chemical reviews*, 93 (2), 671-698, 1993.

Ley Provincial 6260: De prevención y control de la contaminación por parte de las industrias.

López-Loveira, E., Ariganello, F., Medina, M. S., Centrón, D., Candal, R., & Curutchet, G. Degradation alternatives for a commercial fungicide in water: biological, photo-Fenton, and coupled biological photo-Fenton processes. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-11, 2016.

Machulek Jr. A., et al. Fundamental Mechanistic Studies of the Photo-Fenton Reaction for the Degradation of Organic Pollutants. In: T. Puzyn ed. *Organic Pollutants Ten Years After the Stockholm Convention-Environmental and Analytical Update*, Rijeka, Croatia, InTech, 2012.

Magnoli, A. P., Tallone, L., Rosa, C. A., Dalcerro, A. M., Chiacchiera, S. M., and Sanchez, R. M. T. Commercial bentonites as detoxifier of broiler feed contaminated with aflatoxin. *Applied Clay Science*, 40(1), 63-71, 2008.

Malato S., Blanco J., Vidal A., Ritcher T. Photocatalysis with solar energy at a pilot plant scale. *Applied Catalysis B: Environmental* 37: 1-15, 2002.

Malato, S., Blanco, J., Alarcón, D. C., Maldonado, M. I., Fernández-Ibáñez, P., and Gernjak, W. Photocatalytic decontamination and disinfection of water with solar collectors. *Catalysis Today*, 122(1), 137-149, 2007.

Malato, S., Blanco, J., Maldonado, M. I., Oller, I., Gernjak, W., and Pérez-Estrada, L. Coupling solar photo-Fenton and biotreatment at industrial scale: Main results of a demonstration plant. *Journal of Hazardous materials*, 146(3), 440-446, 2007.

Malato, S., Fernández-Ibáñez, P., Maldonado, M. I., Blanco, J. and Gernjak, W. Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: recent overview and trends. *Catalysis Today*, 147 (1), 1-59, 2009.

Martín-González, M. A., González-Díaz, O., Susial, P., Araña, J., Herrera-Melián, J. A., Doña-Rodríguez, J. M., and Pérez-Peña, J. Reuse of Phoenix canariensis palm frond mulch as biosorbent and as precursor of activated carbons for the adsorption of Imazalil in aqueous phase. *Chemical Engineering Journal*, 245, 348-358, 2014.

Maruyama, T., Komatsu, C., Michizoe, J., Sakai, S., & Goto, M. Laccase-mediated degradation and reduction of toxicity of the postharvest fungicide imazalil. *Process Biochemistry*, 42 (3), 459-461, 2007.

Mogyorósi, K., Farkas, A., Dékány, I., Ilisz, I. and Dombi, A. TiO₂-based photocatalytic degradation of 2-chlorophenol adsorbed on hydrophobic clay. *Environmental science & technology*, 36(16), 3618-3624, 2002.

Namasivayam, C., and Kavitha, D. Removal of Congo Red from water by adsorption onto activated carbon prepared from coir pith, an agricultural solid waste. *Dyes and pigments*, 54(1), 47-58, 2002.

Navntoft, C., Dawidowski, L., Blesa, M. A., Fernandez-Ibanez, P., Wolfram, E. A., & Paladini, A. UV-A (315–400nm) irradiance from measurements at 380nm for solar water treatment and disinfection: Comparison between model and measurements in Buenos Aires, Argentina and Almería, Spain. *Solar Energy*, 83(2), 280-286, 2009.

Navntoft, L. C., Fernandez-Ibañez, P., and Garreta, F. UV solar radiation on a tilted and horizontal plane: Analysis and comparison of 4 years of measurements. *Solar Energy*, 86(1), 307-318, 2012.

Nichela, D. A., Donadelli, J. A., Caram, B. F., Haddou, M., Nieto, F. J. R., Oliveros, E., and Einschlag, F. S. G. Iron cycling during the autocatalytic decomposition of benzoic acid derivatives by Fenton-like and photo-Fenton techniques. *Applied Catalysis B: Environmental*, 170, 312-321, 2015.

OIT, C184. Organización Internacional del Trabajo, Convenio 184. Convenio relativo a la seguridad y la salud en la agricultura.

Olivelli, M. S., Curutchet, G. A., and Torres Sánchez, R. M. Uranium uptake by montmorillonite-biomass complexes. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 52(6), 2273-2279, 2013.

Omorogie, M. O., Babalola, J. O., and Unuabonah, E. I. Regeneration strategies for spent solid matrices used in adsorption of organic pollutants from surface water: a critical review. *Desalination and Water Treatment*, 57(2), 518-544, 2016.

Owsianiak, M., Chrzanowski, Ł., Szulc, A., Staniewski, J., Olszanowski, A., Olejnik-Schmidt, A.K., and Heipieper, H.J. Biodegradation of diesel/biodiesel blends by a consortium of hydrocarbon degraders: effect of the type of blend and the addition of biosurfactants. *Bioresource Technology*, 100 (3), 1497-1500, 2009.

Park, Y., Ayoko, G. A. and Frost, R. L. Application of organoclays for the adsorption of recalcitrant organic molecules from aqueous media. *Journal of Colloid and Interface Science*, 354 (1), 292-305, 2011.

Parra, S., Sarria, V., Malato, S., Péringer, P. and Pulgarin, C. Photochemical versus coupled photochemical–biological flow system for the treatment of two biorecalcitrant herbicides: metobromuron and isoproturon. *Applied catalysis B: environmental*, 27 (3), 153-168, 2000.

Pavlidou, S., and Papispyrides, C. D. A review on polymer–layered silicate nanocomposites. *Progress in polymer science*, 33 (12), 1119-1198, 2008.

Perez, M., Torrades, F., Domenech, X. and Peral, J. Fenton and photo-Fenton oxidation of textile effluents. *Water research*, 36(11), 2703-2710, 2002.

Perruchon, C., Patsioura, V., Vasileiadis, S. and Karpouzas, D.G. Isolation and characterisation of a *Sphingomonas* strain able to degrade the fungicide ortho-phenylphenol. *Pest management science*, 72 (1), 113-124, 2016.

Pignatello, J.J., Liu, D. and Huston, P. Evidence for an additional oxidant in the photoassisted Fenton reaction. *Environmental Science & Technology*, 33(11), 1832-1839, 1999.

Pignatello, J.J., Oliveros, E. and MacKay, A. Advanced Oxidation Processes for Organic Contaminant Destruction Based on the Fenton Reaction and Related Chemistry. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 36 (1), 1-84, 2006.

Pórfido, Osvaldo Daniel y colaboradores. Los plaguicidas en la República Argentina. 1^{ra} edición, Buenos Aires, Ministerio de Salud de la Nación, 2013.

Pouran, S.R., Aziz, A.A. and Daud, W.M.A.W. Review on the main advances in photo-Fenton oxidation system for recalcitrant wastewaters. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 21, 53-69, 2015.

Primo, O., Rivero, M.J. and Ortiz, I. Photo-Fenton process as an efficient alternative to the treatment of landfill leachates. *Journal of hazardous materials*, 153 (1), 834-842, 2008.

Providenti, M. A., Lee, H., & Trevors, J. T. Selected factors limiting the microbial degradation of recalcitrant compounds. *Journal of industrial Microbiology*, 12 (6), 379-395, 1993.

Pupo-Nogueira, R. F., Oliveira, M. C., and Paterlini, W. C. Simple and fast spectrophotometric determination of H₂O₂ in photo-Fenton reactions using metavanadate. *Talanta*, 66(1), 86-91, 2005.

Rathore H.S. and Nolle L.M.L., eds. *Pesticides: Evaluation of Environmental Pollution*. CRC Press, 2012.

Robinson, D. F., and Foulds, L. R. Comparison of phylogenetic trees. *Mathematical biosciences*, 53(1-2), 131-147, 1981.

Rozas, O., Contreras, D., Mondaca, M. A., Pérez-Moya, M., and Mansilla, H. D. Experimental design of Fenton and photo-Fenton reactions for the treatment of ampicillin solutions. *Journal of hazardous materials*, 177(1), 1025-1030, 2010.

Ruberto, L., Vazquez, S. C., and Mac Cormack, W. P. Effectiveness of the natural bacterial flora, biostimulation and bioaugmentation on the bioremediation of a hydrocarbon contaminated Antarctic soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 52(2), 115-125, 2003.

S. Altenor, B. Carene, E. Emmanuel, J. Lambert, J.-J. Ehrardt, S. Gaspard, Adsorption studies of methylene blue and phenol onto vetiver roots activated carbon prepared by chemical activation, *J. Hazard. Mater.* 165 1029– 1039, 2009.

Sagawe, G., Lehnard, A., Lübber, M., and Bahnemann, D. The insulated solar Fenton hybrid process: fundamental investigations. *Helvetica Chimica Acta*, 84(12), 3742-3759, 2001.

Santa Cruz Biotechnology, Inc. MSDS Imazalil. USA, 2010.

Santiago, D.E., Araña, J., González-Díaz, O., Alemán-Dominguez, M.E., Acosta-Dacal, A.C., Fernandez-Rodríguez, C. and Doña-Rodríguez, J.M. Effect of inorganic ions on the photocatalytic treatment of agro-industrial wastewaters containing imazalil. *Applied Catalysis B: Environmental*, 156, 284-292, 2014.

Santiago, D.E., Araña, J., González-Díaz, O., Henríquez-Cárdenes, E., Ortega-Méndez, J.A., Pulido-Melián, E. and Pérez-Peña, J. Treatment of wastewater containing imazalil by means of Fenton-based processes. *Desalination and Water Treatment*, 1-13, 2015.

Santiago, D.E., Doña-Rodríguez, J.M., Araña, J., Fernández-Rodríguez, C., González-Díaz, O., Pérez-Peña, J. and Silva, A.M. Optimization of the degradation of imazalil by photocatalysis: Comparison between commercial and lab-made photocatalysts. *Applied Catalysis B: Environmental*, 138, 391-400, 2013.

Sarkar, B., Megharaj, M., Xi, Y. and Naidu, R. Structural characterisation of Arquad® 2HT-75 organobentonites: surface charge characteristics and environmental application. *Journal of hazardous materials*, 195, 155-161, 2011.

Singh, R., Paul, D., and Jain, R. K. Biofilms: implications in bioremediation. *Trends in microbiology*, 14(9), 389-397, 2006.

Soon, A.N., and Hameed, B.H. Heterogeneous catalytic treatment of synthetic dyes in aqueous media using Fenton and photo-assisted Fenton process. *Desalination*, 269 (1), 1-16, 2011.

Standard Methods for the examination of water and wastewater, 18th edition, 1992.

Sychev, A. Y., and Isak, V. G. Iron compounds and the mechanisms of the homogeneous catalysis of the activation of O₂ and H₂O₂ and of the oxidation of organic substrates. *Russian Chemical Reviews*, 64(12), 1105-1129, 1995.

Vandamme, P., Bernardet, J.F., Segers, P., Kersters, K. and Holmes, B. NOTES: New Perspectives in the Classification of the Flavobacteria: Description of *Chryseobacterium* gen. nov., *Bergeyella* gen. nov., and *Empedobacter* nom. rev. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 44 (4), 827-831, 1994.

Verhagen, P., De Gelder, L., Hoefman, S., De Vos, P., and Boon, N. Planktonic versus biofilm catabolic communities: importance of the biofilm for species selection and pesticide degradation. *Applied and environmental microbiology*, 77(14), 4728-4735, 2011.

Vidali, M. Bioremediation. an overview. *Pure and Applied Chemistry*, 73(7), 1163-1172, 2001.

Villaamil Lepori, E. C., Mitre, G. B., y Nassetta, M. Situación actual de la contaminación por plaguicidas en Argentina. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29, 25-43, 2013.

Volesky, B. Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. *Hydrometallurgy*, 59(2), 203-216, 2001.

Wei, Y., Van Houten, R. T., Borger, A. R., Eikelboom, D. H., and Fan, Y. Minimization of excess sludge production for biological wastewater treatment. *Water Research*, 37(18), 4453-4467, 2003.

WHO. The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification 2004. World Health Organization, 2010.

Widada, J., Nojiri, H., and Omori, T. Recent developments in molecular techniques for identification and monitoring of xenobiotic-degrading bacteria and their catabolic genes in bioremediation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 60(1-2), 45-59, 2002.

Xiong, Z., and Xu, Y. Immobilization of palladium phthalocyaninesulfonate onto anionic clay for sorption and oxidation of 2, 4, 6-trichlorophenol under visible light irradiation. *Chemistry of materials*, 19(6), 1452-1458, 2007.

Yamal-Turbay, E., Graells, M., and Pérez-Moya, M. Systematic assessment of the influence of hydrogen peroxide dosage on caffeine degradation by the photo-Fenton process. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 51(13), 4770-4778, 2012.

Yamal-Turbay, E., Jaén, E., Graells, M., and Pérez-Moya, M. Enhanced photo-Fenton process for tetracycline degradation using efficient hydrogen peroxide dosage. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 267, 11-16, 2013.

Yang, L., Zhou, Z., Xiao, L., and Wang, X. Chemical and biological regeneration of HDTMA-modified montmorillonite after sorption with phenol. *Environmental science & technology*, 37(21), 5057-5061, 2003.

Zapata, A., Malato, S., Sánchez-Pérez, J.A., Oller, I. and Maldonado, M.I. Scale-up strategy for a combined solar photo-Fenton/biological system for remediation of pesticide-contaminated water. *Catalysis Today*, 151(1), 100-106, 2010b.

Zapata, A., Oller, I., Rizzo, L., Hilgert, S., Maldonado, M.I., Sánchez-Pérez, J.A. and Malato, S. Evaluation of operating parameters involved in solar photo-Fenton treatment of wastewater: Interdependence of initial pollutant concentration, temperature and iron concentration. *Applied Catalysis B: Environmental*, 97(1), 292-298, 2010a.

Zazo, J. A., Casas, J. A., Mohedano, A. F., Gilarranz, M. A., and Rodriguez, J. J. Chemical pathway and kinetics of phenol oxidation by Fenton's reagent. *Environmental science & technology*, 39(23), 9295-9302, 2005.

Zhang, R.L., Huang, G.Q., Lian, J.Y., Li, X.G. Degradation of MTBE and TEA by a new isolate from MTBE-contaminated soil. *Journal of Environmental Sciences*, 19 (9), 1120-1124, 2007.

Zhu, R., Zhu, J., Ge, F., and Yuan, P. Regeneration of spent organoclays after the sorption of organic pollutants: A review. *Journal of environmental management*, 90(11), 3212-3216, 2009.

Páginas web

www.pnuma.org Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente

www.fairtrade.net

www.rainforest-alliance.org

www.globalgap.org

www.utz.org

www.iso.org

www.basel.int Convención de Basilea

www.pic.int Convención de Róterdam

chm.pops.int Convención de Estocolmo

www.adama.com/argentina/es/Images/XEDREL%20Adama%20Librito%20x%201%20Litro_tcm41-50609.pdf Etiqueta de Xedrel 50®

www.agroindustria.gob.ar

www.casafe.org

www.ncbi.nlm.nih.gov *Base de datos genética*

www.greenrhinoenergy.com

Publicaciones derivadas de la tesis

Artículos publicados en revistas internacionales

López-Loveira, E., Ariganello, F., Medina, M. S., Centrón, D., Candal, R., & Curutchet, G. Degradation alternatives for a commercial fungicide in water: biological, photo-Fenton, and coupled biological photo-Fenton processes.

Environmental Science and Pollution Research, 1-11, 2016.

Flores, F. M., **Loveira, E. L.**, Yarza, F., Candal, R., & Sánchez, R. M. T. Benzalkonium Chloride Surface Adsorption and Release by Two Montmorillonites and Their Modified Organomontmorillonites.

Water, Air, & Soil Pollution, 228(1), 42, 2017.

Trabajos presentados en congresos

1er Workshop de Nanoarcillas y sus aplicaciones. “Adsorción de cloruro de benzalconio sobre distintas nanoarcillas”. **E. López Loveira**, M. Flores, G. Curutchet, R. Candal, R. M. Torres Sánchez. Lugar: La Plata, Buenos Aires, Argentina, Octubre 2013. Sesión posters.

EAAOP3. “Treatment of Water Containing Imazalil by Clay Adsorption Followed by Advanced Oxidation”. **E. López Loveira**, M. Gamba, R. Torres Sánchez, G. Curutchet, R. Candal. Almería, España, Octubre 2013. Sesión posters.

VII EPOA. “Tratamiento de Aguas conteniendo el Pesticida Imazalil mediante Adsorción Sobre Arcillas seguida de Tratamientos Avanzados de Oxidación”. R. Candal, **E. López Loveira**, M. Gamba, R. Torres Sánchez, G. Curutchet. Arrecife, Brasil, Octubre 2013. Sesión presentación oral (15 minutos) a cargo de R. Candal.

4ISEBE. “Increased biodegradability of the fungicide imazalil after photo Fenton treatment”. **Elsa López Loveira**, Federico Ariganello, Roberto Candal, Gustavo Curutchet. Ciudad de México, México, Septiembre 2014. Sesión presentación oral (15 minutos) a cargo de R. Candal.

Terceras Jornadas Interdisciplinarias. Ciclo del Agua en Agroecosistemas. “Aumento de la biodegradabilidad del fungicida imazalil luego del tratamiento FotoFenton”. **Elsa López Loveira**, Federico Ariganello, Roberto Candal, Gustavo Curutchet. Facultad de Veterinaria, UBA. Buenos Aires, Argentina, Noviembre 2014. Sesión presentación oral (15 minutos).

CONAGUA. Congreso Nacional del Agua. “Aumento de la biodegradabilidad del fungicida imazalil luego del tratamiento FotoFenton en planta piloto solar”. **Elsa López Loveira**, Sofía Fantoni, Roberto Candal, Gustavo Curutchet. Paraná, Entre Ríos, Argentina, Junio 2015. Sesión presentación oral (15 minutos).

VIII EPOA-II CIPOA. “Increased biodegradability of the fungicide imazalil after photo Fenton treatment in a pilot plant”. Roberto Candal, **Elsa López Loveira**, Sofía Fantoni, Gustavo Curutchet. Belo Horizonte, Brasil, Noviembre 2015. Sesión presentación oral (15 minutos) a cargo de R. Candal.

AA2015. Argentina y Ambiente. “Eliminación de imazalil por tratamiento Fenton solar – biológico”. Elsa López Loveira, Sofía Fantoni, Roberto Candal, Gustavo Curutchet. Ciudad de Buenos Aires, Argentina, Diciembre 2015. 1: Sesión presentación oral (15 minutos).