



---

**Universidad de Valladolid**

FACULTAD DE CIENCIAS

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Máster en Técnicas Avanzadas en Química.  
Análisis y Control de Calidad Químicos.

**EVALUACIÓN DE LA BIODEGRADABILIDAD  
DE DISOLVENTES VERDES EMPLEADOS EN  
LA SÍNTESIS DE POLÍMEROS**

Autor: Kenya Denisse Cornejo Palacios

Tutores: Raul Muñoz y Alberto Tena

2025

## RESUMEN

El presente estudio evalúa el potencial de biodegradación de tres disolventes verdes,  $\gamma$ -valerolactona (GVL), dimetil isosorbide (DMI) y dimetilsulfóxido (DMSO), en comparación con N-metil-2-pirrolidona (NMP), un disolvente convencional restringido por la normativa REACH debido a su toxicidad. Se aplicaron metodologías estandarizadas (OECD 301B para condiciones aeróbicas y OECD 311 para condiciones anaeróbicas) con el objetivo de determinar su viabilidad ambiental en el contexto de su uso en la síntesis de membranas poliméricas.

Los ensayos de biodegradabilidad revelaron un comportamiento diferenciado entre los disolventes analizados. Bajo condiciones anaerobias, el DMSO y la GVL mostraron altos porcentajes de biodegradabilidad (108% y 79%, respectivamente), mientras que el NMP y el DMI presentaron valores inferiores al 7%, evidenciando una limitada degradación anaerobia. Por otro lado, en condiciones aerobias, el NMP y la GVL alcanzaron una biodegradabilidad superior al 60%, considerada como "fácilmente biodegradable" según criterios OECD, destacando el GVL como una alternativa destacada por su buen rendimiento en ambos ambientes. El DMSO y el DMI mostraron una biodegradación mínima bajo condiciones aeróbicas.

Los resultados demuestran que no todos los disolventes verdes son inherentemente biodegradables y subrayan la importancia de realizar evaluaciones ambientales completas antes de su implementación. El GVL se posiciona como un disolvente promisorio para reemplazar al NMP en aplicaciones industriales, ofreciendo una combinación de bajo impacto tóxico y alta biodegradabilidad. Esta investigación contribuye al desarrollo de procesos más sostenibles alineados con los principios de la química verde y la economía circular.

**Palabras clave:** Biodegradabilidad, disolventes verdes, DMI, DMSO, GVL, NMP, OECD 301B, OECD 311, química verde, síntesis de membranas.

## ABSTRACT

This study evaluates the biodegradation potential of three green solvents,  $\gamma$ -valerolactone (GVL), dimethyl isosorbide (DMI), and dimethyl sulfoxide (DMSO), in comparison with N-methyl-2-pyrrolidone (NMP), a conventional solvent restricted by REACH regulations due to its toxicity. Standardized methodologies (OECD 301B for aerobic conditions and OECD 311 for anaerobic conditions) were applied to determine their environmental suitability for use in polymer membrane synthesis.

Biodegradability tests revealed differentiated behavior among the solvents tested. Under anaerobic conditions, DMSO and GVL showed high biodegradability percentages (108% and 79%, respectively), while NMP and DMI showed values below 7%, demonstrating limited methanogenic degradation. On the other hand, under aerobic conditions, NMP and GVL achieved biodegradability greater than 60%, considered "readily biodegradable" according to OECD criteria, with GVL standing out as a notable alternative due to its good performance in both environments. DMSO and DMI showed minimal degradation under aerobic conditions.

The results demonstrate that not all green solvents are inherently biodegradable and underscore the importance of conducting comprehensive environmental assessments before implementation. GVL is positioned as a promising solvent to replace NMP in industrial applications, offering a combination of low toxic impact and high biodegradability. This research contributes to the development of more sustainable processes aligned with the principles of green chemistry and the circular economy.

**Keywords:** Biodegradability, DMSO, DMI, green chemistry, green solvents, GVL, NMP, membrane synthesis, OECD 301B, OECD 311.

## ÍNDICE

RESUMEN.....	i
ABSTRACT .....	ii
ÍNDICE .....	iii
ÍNDICE DE TABLAS .....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS .....	v
1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1 Los disolventes en la síntesis polimérica.....	1
1.2 Sostenibilidad y los disolventes verdes .....	2
1.3 Estrategias de mitigación y alternativas verdes.....	3
1.4 Proceso de biodegradación aeróbica .....	5
1.5 Proceso de biodegradación anaeróbica.....	7
1.6 Normativas y regulaciones .....	8
2. OBJETIVOS DEL PRESENTE TRABAJO FIN DE MASTER .....	10
3. METODOLOGÍA .....	10
3.1 Selección de inóculos y disolventes. Caracterización y Origen .....	10
3.2 Montaje experimental.....	12
3.3 Técnicas analíticas.....	16
3.4 Procesamiento de resultados experimentales .....	19
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	22
5. CONCLUSIONES .....	32
6. BIBLIOGRAFÍA.....	33
ANEXOS.....	37
ANEXO A: DATOS OBTENIDOS EN LOS ENSAYOS ANAEROBICOS .....	37
ANEXO B: DATOS OBTENIDOS EN LOS ENSAYOS AEROBICOS .....	44

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición molecular y dosificación de disolventes para una carga uniforme de 5 mg C .....	21
Tabla 2. Acumulación de CO <sub>2</sub> y CH <sub>4</sub> en ensayos anaeróbicos de biodegradación de solventes .....	23
Tabla 3. Grado de biodegradabilidad de los disolventes estudiados en condiciones anaerobias .....	26
Tabla 4. Acumulación de CO <sub>2</sub> en ensayos aeróbicos de biodegradación de solventes.....	29
Tabla 5. Grado de biodegradabilidad de los disolventes estudiados en condiciones aerobias.	30

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Preparación de membranas de láminas planas y fibras huecas mediante inversión de fase .....	4
Figura 2. Ensayo de biodegradabilidad anaeróbica .....	12
Figura 3. Proceso de purgado de N <sub>2</sub> en botellas de control para ensayo anaeróbico .....	13
Figura 4. Incubador orbital empleado en el ensayo anaeróbico .....	13
Figura 5. Jeringa de muestreo para la determinación de la composición del espacio de cabeza de los biorreactores de biodegradabilidad .....	14
Figura 6. Ensayo de biodegradabilidad aeróbica .....	15
Figura 7. Incubador orbital empleado en el ensayo aeróbico .....	15
Figura 8. Equipo de medición del TOC-IC-TN .....	16
Figura 9. Estufa utilizada para la determinación de la concentración de sólidos totales .....	17
Figura 10. Mufla utilizada para la determinación de la concentración de sólidos volátiles ....	17
Figura 11. Cromatógrafo de gases equipado con detector de conductividad térmica.....	18
Figura 12. Transductor de presión.....	18
Figura 13. pH metro con electrodo de penetración .....	19
Figura 14. Producción acumulada de CO <sub>2</sub> , ensayo anaeróbico.....	22
Figura 15. Producción acumulada de metano, ensayo anaeróbico.....	23
Figura 16. Producción neta de metano, ensayo anaeróbico .....	25
Figura 17. Producción neta de dióxido de carbono, ensayo anaeróbico .....	25
Figura 18. Grado de biodegradabilidad de los disolventes estudiados en condiciones anaerobias .....	27
Figura 19. Producción acumulada de CO <sub>2</sub> , ensayo aeróbico.....	28
Figura 20. Producción neta de dióxido de carbono, ensayo aeróbico. ....	30
Figura 21. Grado de biodegradabilidad de los disolventes estudiados en condiciones aerobias .....	31

## Abreviaturas

APHA:	American Public Health Association (Asociación Americana de Salud Pública)
AWWA:	American Water Works Association (Asociación Americana de Obras de Agua)
DMAC:	N,N-dimetilacetamida
DMF:	Dimetilformamida
DMI:	Dimetil isosorbide
DMSO:	Dimetilsulfóxido
ECHA:	European Chemicals Agency
EDAR:	Estación Depuradora de Aguas Residuales
EPA:	Environmental Protection Agency
GVL:	Gama-Valerolactona
IC:	Carbono inorgánico
NMP:	N-Metil-2-pirrolidona
OECD:	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos
REACH:	Registration, evaluation, authorization, and restriction of chemicals
SST:	Sólidos suspendidos totales
SSV:	Sólidos suspendidos volátiles
ST:	Sólidos totales
SV:	Sólidos volátiles
TC:	Carbono total
TOC:	Carbono orgánico total
UE:	Unión Europea
USA:	Estados Unidos de América
WPCF:	Water Pollution Control Federation (Federación para el Control de la Contaminación del Agua)

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Los disolventes en la síntesis polimérica

Con el aumento de la conciencia ambiental, ha crecido el interés no solo por el destino final de los residuos industriales, sino también por el impacto ambiental asociado a la síntesis y procesamiento de los polímeros. Los disolventes orgánicos, componentes fundamentales en numerosos procesos químicos, han sido empleados desde principios del siglo XX en métodos tradicionales de polimerización. Dado que las reacciones químicas, en general, requieren volúmenes considerablemente mayores de disolventes en comparación con los reactivos, estos se han convertido en un tipo de producto químico de gran relevancia. De hecho, la producción anual de disolventes orgánicos a escala industrial se estima en aproximadamente 20 millones de toneladas métricas (Clarke et al., 2018).

Los disolventes en términos generales son líquidos orgánicos capaces de diluir, disolver y difundir sustancias líquidas, sólidas o gaseosas sin modificar sus propiedades químicas. Por su alta demanda, volatilidad y capacidad de solvatación los procesos realizados en fase líquida generan impactos ambientales significativos al vincularse fuertemente con las emisiones de compuestos volátiles y la producción de efluentes acuosos contaminantes. A esta problemática se suman los elevados requerimientos energéticos asociados al condicionamiento previo (principalmente destilación) y a su recuperación posterior. El consumo excesivo de disolventes tóxicos no renovables o de difícil reutilización representan un desafío crítico en términos de protección ambiental, salud y seguridad ocupacional, y un claro ejemplo de prácticas insostenibles con el medio ambiente y la salud humana. En consecuencia, la búsqueda de alternativas sostenibles para la síntesis y el procesamiento de polímeros se ha convertido en una prioridad tanto en el ámbito académico como industrial. Por esta razón, la química sostenible ha adquirido una relevancia creciente dentro de la investigación en ciencia de polímeros, ya que prácticamente todos los aspectos del proceso de polimerización, incluyendo el método sintético, el medio de reacción, los reactivos, y los atributos del polímero resultante, revelan un grado de toxicidad inherente y/o una baja biodegradabilidad (Nechifor et al., 2023).

En respuesta a estos desafíos, la Unión Europea estableció el Reglamento REACH (Registration, evaluation, authorization, and restriction of chemicals, CE 1907/2006), en vigor desde 2007, con el objetivo de mejorar la protección hacia la salud humana y el medio ambiente frente a los riesgos derivados de los productos químicos REACH exige la evaluación y regulación de sustancias químicas utilizadas en la industria, incluyendo disolventes y otros



compuestos empleados en la síntesis de polímeros, promoviendo el desarrollo de alternativas más seguras y sostenibles. Desde su implementación, el reglamento ha evolucionado para reflejar los avances científicos y el conocimiento sobre los impactos de diversas sustancias, impulsando la transición hacia prácticas industriales más responsables y alineadas con los principios de la química verde y la sostenibilidad (European Commission., n.d).

## **1.2 Sostenibilidad y los disolventes verdes**

La combinación de sostenibilidad y ecología es el futuro de los procesos industriales., En este sentido, se han llevado a cabo numerosas investigaciones orientadas al desarrollo y las aplicaciones de los denominados disolventes verdes, con el objetivo de lograr que los procesos no solo sean ecológicos, sino también económicamente favorables para su implementación escala industrial. Un proceso químico puede considerarse cualitativamente como ecológico (o más ecológico) cuando se ha identificado y alcanzado una reducción efectiva y cuantificable de su huella ambiental. En este contexto, Pollet et al. (2014) presentó la siguiente definición de disolvente verde:

*“Un disolvente verde y sostenible puede definirse como un disolvente que aborda cuestiones ambientales, contribuye a la optimización del proceso general y es rentable. Las consideraciones específicas del proceso deben incluir las velocidades de reacción, los rendimientos y la selectividad del producto, la separación del producto y las estrategias de reciclaje tanto para el catalizador como para el disolvente. (p.1034)”*

La obtención de un único disolvente que de manera universal sea sostenible y ecológico es poco probable. No obstante, se han identificado una variedad de disolventes que brindan opciones y flexibilidad para adaptarse a los requisitos y restricciones específicos de cada proceso químico. En esta categoría se encuentran los disolventes neotéricos, los cuales se están incorporando gradualmente en los procesos industriales.

La viabilidad de un disolvente reside en una serie de consideraciones en los cuales se incluyen factores técnicos de la aplicación, como el rendimiento, y factores económicos específicos del proceso, como el impacto del costo del disolvente en la competitividad del proceso. En el caso de las tecnologías basadas en solventes neotéricos, las consideraciones económicas cobran un peso aun mayor para facilitar su transición de ser un objeto de estudio a una realidad comercial generalizada. En este sentido, es fundamental equilibrar los principios de sostenibilidad con los costes energéticos que su recuperación implica, ya que estos inciden directamente en la

viabilidad del proceso. El análisis del impacto ambiental, el flujo de masa y el flujo de energía de un proceso químico pueden estimarse mediante una evaluación del ciclo de vida, razón por la cual la industria química está explorando fuentes renovables y la valorización de los residuos como principales vías para obtener disolventes sostenibles. En línea con este enfoque de origen bio-orgánico, el diseño de procesos está migrando desde el modelo "de la cuna a la tumba" hacia un paradigma de economía circular, es decir, "de la cuna a la cuna" representando un avance a la producción sostenible. “Se estima que la economía circular ahorrará más de \$340 mil millones en costos de materiales al reciclar recursos y un ahorro continuo de \$520 mil millones anuales con la implementación de procesos de economía verde dentro de la UE” (Clarke et al., 2018, p.751).

La sostenibilidad idealmente se debería de convertir en el objetivo o la característica en común de los futuros disolventes verdes los cuales, indudablemente, tendrán composiciones químicas diversas y una amplia gama de propiedades fisicoquímicas. Bajo este concepto se han desarrollado una serie de propuestas y estrategias no solo para llevar a cabo una transición a dichos disolventes verdes, sino para también mejorar sus aplicaciones.

### **1.3 Estrategias de mitigación y alternativas verdes.**

En los últimos años, ha crecido el interés por desarrollar soluciones que sean tanto altamente efectivas como respetuosas con el medio ambiente. Dentro de estas alternativas, las membranas poliméricas se destacan como una de las opciones más prometedoras para incorporar metodologías limpias en distintos procesos industriales. Las tecnologías basadas en membranas están adquiriendo un papel cada vez más relevante en la transición hacia energías sostenibles y ambientalmente amigables debido a que a diferencia de los métodos convencionales, los procesos de separación por membranas requieren menos energía, generan una menor cantidad de contaminantes y reducen el uso de productos químicos, lo que consecuentemente contribuye a la disminución de las emisiones de CO<sub>2</sub> y ayuda a mitigar el impacto ambiental. Debido a estas ventajas, su implementación en diversas áreas, como la separación de gases, el tratamiento de agua, así como en los sectores químico y farmacéutico, está en constante expansión (Karki, et al., 2024).

Sin embargo, este tipo de tecnología aún posee desafíos por enfrentar ya que, en la fabricación de membranas poliméricas se emplean disolventes apróticos dipolares como la N-metilpirrolidona (NMP), la dimetilformamida (DMF) y la N,N-dimetilacetamida (DMAC). Actualmente, el uso de estos disolventes está prohibidos o limitados a través de la normativa

REACH implementada por la Unión Europea. En el caso del NMP, la EPA (Environmental Protection Agency) en su propuesta de regulación determinó que el NMP representa un riesgo irrazonable para la salud humana bajo múltiples condiciones de uso. Sus efectos adversos incluyen pérdida fetal postimplantación por exposición a corto plazo, reducción de la fertilidad masculina y disminución de la fecundidad femenina por exposición repetida, toxicidad hepática y renal etc. Por esta razón, la EPA propone medidas regulatorias como la implementación de un programa obligatorio de protección química en el lugar de trabajo, la imposición de límites de concentración en productos de consumo y comerciales, restricciones en el tamaño de los envases, requisitos de etiquetado y notificación a lo largo de la cadena de suministro (EPA, 2024). Mientras que el NMP plantea riesgos significativos para la salud humana, especialmente para trabajadores y consumidores, la EPA determinó que también existen riesgos ambientales irrazonables asociados con su uso en las condiciones evaluadas (EPA, 2020). De forma similar, el DMAC también ha sido asociado a efectos como toxicidad hepática, reproductiva y daño renal, siendo además considerado una sustancia tóxica para la reproducción (Zhuo et al., 2018; European Chemicals Agency [ECHA], 2022). Por su parte, el DMF ha demostrado toxicidad sistémica, junto con potenciales efectos embriotóxicos y mutagénicos, aunque su impacto ambiental es limitado debido a su biodegradabilidad, baja bioacumulación y escasa persistencia en el medio (EPA, 1986).

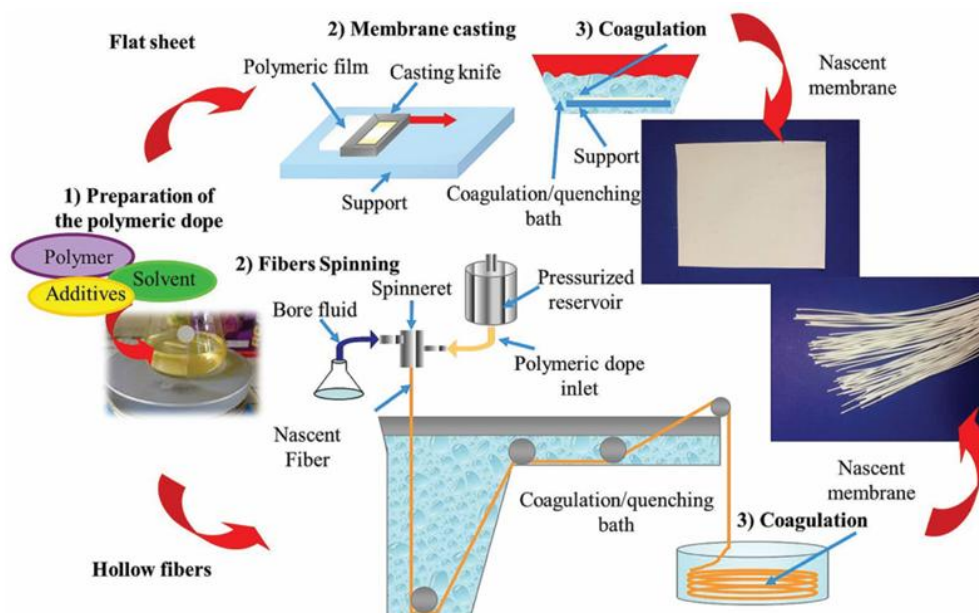


Figura 1. Preparación de membranas de láminas planas y fibras huecas mediante inversión de fase. Tomado de Figoli, A., Marino, T., Simone, S., Di Nicolò, E., Li, X. -, He, T., Tornaghi, S., & Drioli, E. (2014).

Como parte del proceso de obtención del material (Figura 1), estos disolventes inevitablemente acabaran como residuos en las disoluciones acuosas. Por lo tanto, aunque se desarrollen metodologías para separar el disolvente del agua por ejemplo, por procesos basados en membranas de separación, siempre existirá cierto porcentaje del disolvente en la corriente acuosa, representando un riesgo significativo a la salud. Ante estas restricciones, los esfuerzos por impulsar el uso de nuevos disolventes de origen biológico a partir de fuentes renovables han crecido exponencialmente.

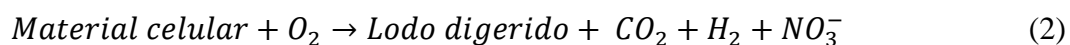
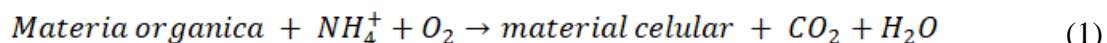
En este sentido, San José et al. (2024) desarrollo una metodología integral para identificar disolventes alternativos más seguros y sostenibles mediante una evaluación de más de 130 compuestos según criterios de salud, impacto ambiental, seguridad y viabilidad industrial. Este análisis permitió identificar diversas opciones prometedoras para reducir la dependencia de los productos petroquímicos como la  $\gamma$ -valerolactona (GVL), el dimetil isosorbide (DMI) y el dimetilsulfóxido (DMSO), los cuales no solo presentan propiedades fisicoquímicas adecuadas para la síntesis de membranas, sino que además derivan de fuentes renovables y presentan un menor riesgo toxicológico. Cabe resaltar que, aunque estos disolventes emergentes cumplen con condiciones clave para su implementación industrial. El propio estudio señala la necesidad de desarrollar evaluaciones más profundas del posible comportamiento ambiental a largo plazo, en particular por medio de ensayos de biodegradabilidad.

Esto resulta crucial para validar si estos compuestos pueden integrarse efectivamente en un modelo de química verde. En esta línea, el presente trabajo se enfoca en estudiar su potencial de biodegradación, aportando datos fundamentales para respaldar una transición real y responsable hacia una producción más sostenible de materiales poliméricos.

#### **1.4 Proceso de biodegradación aeróbica**

La degradación aeróbica es un proceso biológico en el cual los microorganismos (como bacterias y hongos) descomponen la materia orgánica en presencia de oxígeno. Este tipo de degradación es muy común en la naturaleza y en tratamientos de residuos orgánicos, como en plantas de tratamiento de aguas residuales o en compostaje. La biodegradación aeróbica tiene como uno de sus propósitos la reducción en el contenido de materia orgánica de aguas residuales o residuos sólidos. Este proceso se distingue por generar productos oxidados (dióxido de carbono, nitrato y dióxido de azufre) en lugar de metano, ácidos orgánicos, amoníaco y sulfuros (Dentel, S. K., & Qi, Y., 2014).

El proceso de biodegradación aeróbica consta de dos pasos: La oxidación directa de materia biodegradable y la respiración endógena, donde se oxida el material celular.



La oxidación directa implica la exposición de microorganismos heterótrofos aeróbicos a un entorno con una fuente de materia orgánica, que eliminan y utilizan en su mayor parte como fuente de carbono y energía. Una fracción de esta materia eliminada es utilizada para la síntesis de nuevos microorganismos lo que resulta en un aumento de la biomasa. El material restante se destina a la generación de energía metabólica y se oxida a dióxido de carbono, agua y materia soluble, proporcionando energía tanto para las funciones de síntesis como para el mantenimiento molecular (soporte vital). Esta conversión de la materia orgánica a material celular viene descrita por la primera biorreacción. Cuando la fuente externa de materia orgánica se agota, los microorganismos comienzan la respiración endógena, en el cual el material celular se oxida hasta convertirse en lodo digerido para satisfacer las necesidades energéticas de soporte vital. Este segundo proceso es descrito por la segunda biorreacción y es la reacción predominante en los sistemas aeróbicos.

Si estas condiciones, previamente descritas, se mantienen durante por un tiempo prolongado, la biomasa total disminuirá significativamente, y la fracción restante alcanzará un nivel de energía tan bajo que será biológicamente estable y adecuada para su disposición en el entorno (Roš, M., & Zupančič, G. D., 2002).

En comparación con la biodegradación anaeróbica, la biodegradación aeróbica ofrece ventajas como un menor costo de inversión, una operación más simple y segura con menor riesgo de generación de olores y explosiones de gases, una menor concentración de demanda bioquímica de oxígeno en el sobrenadante y la obtención de un producto final seguro y biológicamente estable. Sin embargo, sus desventajas incluyen un alto consumo energético debido al suministro de oxígeno para la estabilización de la materia orgánica, una baja capacidad de deshidratación del lodo digerido, menor eficiencia bajo operación a temperaturas bajas y la imposibilidad de generar subproductos útiles como el biogás (Dentel, S. K., & Qi, Y., 2014).

## 1.5 Proceso de biodegradación anaeróbica

La biodegradación anaerobia es un proceso de fermentación llevado a cabo por microorganismos en ausencia de oxígeno, que produce una mezcla gaseosa compuesta principalmente por metano y dióxido de carbono, conocida como biogás, además de una suspensión líquida o lodo, en la que se encuentran los microorganismos responsables de descomponer la materia orgánica. Este proceso de degradación anaerobia se desarrolla en cuatro etapas principales: (1) la hidrólisis, (2) la fermentación o acidogénesis, (3) la acetogénesis y (4) la metanogénesis.

La primera etapa del proceso, conocido como hidrólisis, consiste en la descomposición de compuestos orgánicos de alto peso molecular en monómeros más simples, gracias a la acción de enzimas extracelulares (exoenzimas) secretadas por bacterias hidrolíticas. Estas enzimas actúan fuera de la célula, solubilizando polímeros complejos como carbohidratos, proteínas y lípidos, y transformándolos en unidades básicas como monosacáridos, aminoácidos, ácidos grasos, purinas, pirimidinas y compuestos aromáticos simples. Los monómeros resultantes pueden ser fácilmente absorbidos por los microorganismos para su posterior utilización como fuente de energía y carbono celular en las siguientes etapas del proceso anaerobio.

La segunda etapa, conocida como fermentación o acidogénesis, implica la transformación de los monómeros generados durante la hidrólisis en compuestos intermedios de menor peso molecular como ácido acético, butírico, propiónico, valérico etc. Posteriormente, la acetogénesis también conocida como acidogénesis intermedia convierte estos ácidos grasos volátiles en acetato, hidrógeno ( $H_2$ ) y dióxido de carbono ( $CO_2$ ). Esta conversión es llevada a cabo por un grupo específico de microorganismos llamados acetógenos, que desempeñan un papel clave como precursores en la siguiente fase del proceso: la metanogénesis.

La metanogénesis constituye la última etapa del proceso anaerobio, en la cual los compuestos intermedios generados durante la acidogénesis se transforman en productos finales más simples, principalmente metano ( $CH_4$ ) y  $CO_2$ . Esta etapa es realizada por microorganismos conocidos como metanógenos, que se dividen en dos grupos principales: los metanógenos acetoclásticos, que descomponen el acetato para producir metano y  $CO_2$ , actuando como donadores y aceptores de electrones; y los metanógenos hidrogenotróficos, que utilizan hidrógeno como fuente de electrones para generar metano.

Los microorganismos involucrados en las etapas de hidrólisis y fermentación presentan un crecimiento relativamente rápido, ya que las reacciones que realizan proporcionan un mayor rendimiento energético en comparación con las que generan metano. En contraste, los metanógenos son de crecimiento lento y suelen representar el factor limitante en la velocidad del proceso. Por ello, para lograr una puesta en marcha eficaz y una operación estable de un sistema anaerobio, es fundamental mantener un equilibrio adecuado entre las poblaciones microbianas responsables de las primeras etapas y los microorganismos encargados de la metanogénesis.

En términos generales, los procesos anaerobios presentan varias ventajas frente a los aeróbicos, como la menor generación de biomasa, reducción en el consumo de energía, menores requerimientos de nutrientes, la posibilidad de recuperar energía a través del metano producido y la capacidad de operar con cargas orgánicas más altas. Sin embargo, también presentan ciertas desventajas, como la lenta tasa de crecimiento de los microorganismos, la posible necesidad de adicionar alcalinidad para regular el pH, la emisión de olores desagradables y gases corrosivos, su mayor sensibilidad a la presencia de compuestos tóxicos inhibidores, así como la obligación de realizar tratamientos adicionales para que los efluentes cumplan con las normativas de descarga (Zhang, X. J., 2014).

## **1.6 Normativas y regulaciones**

En el contexto de la evaluación ambiental de sustancias químicas, la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD) ha establecido una serie de directrices estandarizadas que permiten estudiar la biodegradabilidad de compuestos orgánicos en condiciones controladas. En este trabajo se han aplicado dos de estas metodologías: OECD 301 y OECD 311, que permiten determinar el potencial de biodegradabilidad de los disolventes en ambientes aeróbicos y anaeróbicos, respectivamente. La aplicación de estas normativas garantiza que los resultados obtenidos sean comparables, reproducibles y científicamente validados, y proporciona un marco efectivo para evaluar el comportamiento ambiental de los disolventes alternativos frente a NMP, en línea con los principios de la química verde y las exigencias normativas actuales.

### **1. Directrices de la OECD para el ensayo de productos químicos. 301 Biodegradabilidad fácil.**

El método 301 es una metodología estandarizada internacionalmente conforme a las directrices de la OECD, para evaluar la biodegradabilidad aerobia de sustancias químicas orgánicas en medio acuoso. Forma parte de las directrices de esta organización para ensayos de productos químicos y tiene como objetivo determinar si un compuesto puede clasificarse como fácilmente biodegradable en condiciones ambientales simuladas.

La serie incluye seis métodos (301 A-F), aplicables en condiciones controladas de laboratorio, que simulan ambientes acuáticos naturales mediante el uso de un medio mineral estandarizado e inóculos microbianos procedentes de aguas residuales, lodos activados u otras fuentes ambientales. Cada método se basa en parámetros analíticos específicos, como la producción de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), el consumo de oxígeno disuelto o la eliminación del carbono orgánico disuelto (DOC), lo que permite adaptar la elección del ensayo según las características fisicoquímicas del compuesto evaluado. Una sustancia se considera rápidamente biodegradable si alcanza al menos un 60 % de mineralización (como  $\text{CO}_2$  producido o ThOD) o un 70 % de remoción de DOC, dentro de una ventana de 10 días durante los 28 días de incubación.

En este trabajo se toma como referencia el enfoque del método OECD 301B (Ensayo de evolución de  $\text{CO}_2$ ), basado en la cuantificación del  $\text{CO}_2$  generado por la actividad microbiana durante la degradación del compuesto. No obstante, se realizó una adaptación metodológica, utilizando únicamente el medio mineral descrito en la norma, y determinando el  $\text{CO}_2$  liberado mediante cromatografía de gases, en lugar del sistema convencional de absorción en soluciones alcalinas. Esta modificación permitió llevar a cabo una evaluación experimental del grado de biodegradación aerobia de un disolvente orgánico, basada en el seguimiento del carbono mineralizado en el sistema. Los métodos OECD 301 son ampliamente utilizados debido a su reproducibilidad y versatilidad, y constituyen un marco riguroso para evaluar el comportamiento ambiental de compuestos orgánicos y su potencial impacto ecológico (OECD, 1992).

## **2. Directrices de la OECD para el ensayo de productos químicos. 311 biodegradabilidad anaeróbica de compuestos orgánicos en lodos digeridos: mediante medición de la producción de gas**

El método OECD 311 evalúa la biodegradabilidad anaerobia de compuestos orgánicos midiendo la producción de gases, principalmente metano ( $\text{CH}_4$ ) y dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), generados por la actividad microbiana en condiciones sin oxígeno. Este ensayo se considera



una prueba de “screening” (cribado) diseñada para determinar el potencial de degradación bajo condiciones simuladas similares a las de un digestor anaerobio.

La prueba se realiza incubando lodos anaerobios diluidos con la sustancia de ensayo en recipientes herméticos durante un período de hasta 60 días a  $35 \pm 2$  °C, y cuantificando la presión del gas generado en el espacio de cabeza. El criterio para considerar que una sustancia ha sido biodegradada de forma significativa es alcanzar al menos un 60 % de la producción teórica de gas. Es importante señalar que este método, aunque útil para comparar sustancias en condiciones estandarizadas, no simula completamente todos los compartimentos ambientales anaerobios, ya que emplea concentraciones altas de sustancia respecto al inóculo y tiempos de retención superiores a los habituales en digestores reales. No obstante, si una sustancia supera este ensayo, se considera que posee un buen potencial para ser degradada en condiciones anaerobias controladas (OECD, 2006).

## **2. OBJETIVOS DEL PRESENTE TRABAJO FIN DE MASTER**

El objetivo principal de este Trabajo de Fin de Máster es evaluar la biodegradabilidad de los disolventes DMI, DMSO y GVL, propuestos como alternativas sostenibles en la producción de membranas poliméricas, en comparación con el disolvente NMP, también evaluado en este estudio como referencia, el cual es ampliamente utilizado en la síntesis convencional pero limitado por el reglamento REACH por su grado de toxicidad. Para ello, se analizará su comportamiento en términos de biodegradabilidad en condiciones aeróbicas y anaeróbicas, aplicando metodologías normalizadas por la OECD. El estudio busca determinar el potencial de biodegradación de estos disolventes y su compatibilidad con procesos más ecológicos, en respuesta a la creciente necesidad de minimizar el uso de sustancias nocivas y sus residuos generados. Los resultados obtenidos pretenden contribuir al desarrollo de tecnologías más sostenibles dentro del campo de los materiales poliméricos y de las membranas de separación, en concordancia con los principios de la química verde y las regulaciones medioambientales actuales.

## **3. METODOLOGÍA**

### **3.1 Selección de inóculos y disolventes. Caracterización y Origen**

En los estudios de biodegradabilidad se entiende por inóculo a la comunidad microbiana activa la cual es responsable de llevar a cabo la degradación de compuestos orgánicos bajo condiciones

controladas. Por otro lado, los disolventes evaluados en este trabajo han actuado como sustratos, es decir, como fuentes primarias de carbono que tienen el potencial de ser degradados por dichos microorganismos. Analizar la interacción entre ambos elementos permite caracterizar el comportamiento ambiental de los disolventes y su idoneidad como alternativas sostenibles en procesos industriales. Adicionalmente, los ensayos se llevaron a cabo en presencia de un medio mineral cuya función es proporcionar los nutrientes inorgánicos esenciales (como nitrógeno, fósforo, sales minerales y oligoelementos) para facilitar el crecimiento microbiano asegurando de esta manera que la degradación observada se atribuya exclusivamente al compuesto de estudio y no a otras sustancias orgánicas presentes.

## **1. Disolventes**

Los disolventes seleccionados para el estudio fueron, además del disolvente convencional, NMP, utilizado como referencia, el GVL, DMSO y DMI debido a su potencial para convertirse en alternativas más sostenibles. Como se ha mencionado previamente esta elección se encuentra alineada a los resultados obtenidos por San José et al., (2024), cuyo trabajo reconoce la compatibilidad de dichos disolventes con la síntesis de polímeros y procesamiento de membranas poliméricas de alto rendimiento bajo un perfil favorable en términos de seguridad, salud e impacto ambiental. El estudio de estos disolventes frente a un proceso de biodegradación permitirá comprobar su verdadera viabilidad ambiental puesto que considerar el cumplimiento de criterios toxicológicos y un origen renovable no garantiza por sí solo un bajo impacto ambiental en las etapas finales de su vida útil. Los solventes GVL, DMI y NMP fueron adquiridos de Merck KGaA (Alemania), con una pureza de  $\geq 99\%$  en su versión anhidra. El DMSO fue donado por IMCD Pharmaceuticals (Estados Unidos [USA]), con una pureza de  $\geq 99\%$  anhidro.

## **2. Inóculos: lodos aeróbicos y anaeróbicos**

Para garantizar la representatividad y validez de los ensayos de biodegradabilidad se utilizaron inóculos frescos específicos para condiciones aeróbicas y anaeróbicas. La selección de estos inóculos se realizó considerando su disponibilidad, actividad microbiana y compatibilidad con los sistemas convencionales con los que se podrían tratar los residuos con los disolventes estudiados. Los inóculos aerobios se obtuvieron del sedimentador secundario de la línea de aguas de la Estación Depuradora de Aguas Residuales (EDAR) de Valladolid, mientras que el lodo anaerobio se obtuvo de la línea de sólidos del digestor anaerobio de lodos mixtos de la EDAR de Valladolid. Ambos inóculos fueron caracterizados en términos de su contenido de

sólidos volátiles (SV) y sólidos totales (ST), parámetros necesarios para normalizar la cantidad de biomasa utilizada en los experimentos y permitir la comparación entre condiciones (Anexos). El inoculo anaerobio se suplemento con 5 g  $\text{NaHCO}_3/\text{L}$  para aportar alcalinidad y evitar una disminución brusca del pH que inhiba el proceso de degradación anaerobia.

### 3.2 Montaje experimental

Con el objetivo de evaluar la biodegradabilidad de los disolventes orgánicos seleccionados, se establecieron dos metodologías experimentales diferentes para los ensayos en condiciones anaeróbicas y en condiciones aeróbicas. A continuación, se describirá a más a detalle cada procedimiento.

#### 1. Proceso de biodegradación anaeróbico

Se diseñó un experimento, basado en el estándar 311 presentado por la OECD, realizado por triplicado para garantizar la reproducibilidad de los resultados. El ensayo se realizó en botellas de 250 ml en donde, se agregaron 100 ml de medio mineral con la composición siguiente (g/L):  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.27;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 * 12\text{H}_2\text{O}$  1.12;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.53;  $\text{CaCl}_2 * 2\text{H}_2\text{O}$  0.075;  $\text{MgCl}_2 * 6\text{H}_2\text{O}$  0.10;  $\text{FeCl}_2 * 4\text{H}_2\text{O}$  0.02;  $\text{C}_2\text{H}_7\text{NO}_4$  0.001;  $\text{Na}_2\text{S} * 9\text{H}_2\text{O}$  0.10; y 10 ml de una solución madre de oligoelementos compuesto por (mg/L):  $\text{MnCl}_2 * 4\text{H}_2\text{O}$  50;  $\text{H}_3\text{BO}_3$  5;  $\text{ZnCl}_2$  5;  $\text{CuCl}_2$  3;  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 * 2\text{H}_2\text{O}$  1;  $\text{CoCl}_2 * 6\text{H}_2\text{O}$  100;  $\text{NiCl}_2 * 6\text{H}_2\text{O}$  10;  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  5, y 2 ml de lodo anaeróbico, el cual poseía bajas concentraciones de IC. Se prepararon 3 blancos, solo con lodo y medio mineral, y 3 ensayos los cuales contenían además 5 mg C/L de cada uno de los disolventes analizados, calculado a partir de su fórmula molecular y contenido teórico de carbono. El pH inicial de los medios de cultivo en los biorreactores fue de  $7.0 \pm 0.2$ .



Figura 2. Ensayo de biodegradabilidad anaeróbica

Para alcanzar condiciones anaeróbicas, las botellas se purgaron con  $N_2$  durante 2 minutos en una campana de gases. Se consideró que el purgado fue efectivo y exitoso cuando el área del oxígeno representaba menos del 10% del área del aire (lo que representaba una concentración inferior al 2%).

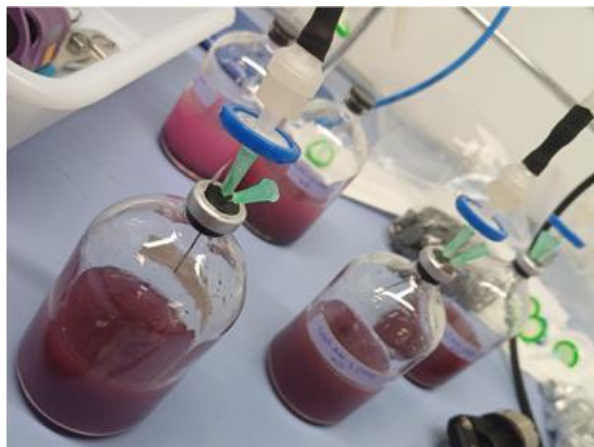


Figura 3. Proceso de purgado de  $N_2$  en botellas de control para ensayo anaeróbico

Finalmente se sellaron con septa los biorreactores y se colocaron en una cámara termostataada a  $36 \pm 1$  °C en agitación constante de 150 rpm en un incubador orbital JP Selecta (ROTABIT, España, Figura 4) durante 80 días aproximadamente.



Figura 4. Incubador orbital empleado en el ensayo anaeróbico

El seguimiento de la biodegradación se realizó a través de la medición periódica de la presión y de las concentraciones de  $CO_2$  y  $CH_4$  en el espacio de cabeza del biorreactor, hasta observar la estabilización de la curva de mineralización neta. Para ello, se efectuaron mediciones intermedias del gas producido dos veces por semana, utilizando un cromatógrafo de gases

equipado con un detector de conductividad térmica. Las muestras se tomaron directamente del espacio de cabeza de las botellas mediante una microjeringa de 100  $\mu\text{L}$  (Hamilton Co., USA, Figura 5).



Figura 5. Jeringa de muestreo para la determinación de la composición del espacio de cabeza de los biorreactores de biodegradabilidad

Una vez concluido el ensayo, se midieron el pH, y se determinaron la concentración de sólidos totales, sólidos volátiles y la concentración total de carbono orgánico e inorgánico disuelto de los ensayos con el disolvente correspondiente comparándolos con las mismas medidas tomadas de los controles sin el disolvente.

## 2. Proceso de biodegradación aeróbica

Con el objetivo de asegurar la reproducibilidad de los resultados, se diseñó un experimento por triplicado siguiendo el estándar 301B presentado por la OECD, en el cual se dictaminan las directrices para el análisis de una biodegradabilidad rápida en un medio acuoso aeróbico, mediante la prueba de evolución en la generación de  $\text{CO}_2$ . El ensayo se realizó en botellas de 250 ml en donde, se agregaron 100 ml de medio mineral el cual consiste en 4 soluciones con las siguientes composiciones (g/L): a)  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  8.50;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  21.75;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  33.40;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.50, ajustado a un pH 7.4. b)  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  36.40. c)  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  22.50. d)  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.25 en las siguientes proporciones (ml/L): 800 mL de la solución a; 1 mL de la solución b; 1 mL de la solución c y 1 mL de la solución d. Todos los reactivos químicos utilizados para la preparación del medio mineral fueron de calidad analítica. Se emplearon 2 ml de lodo aeróbico como inóculo en cada botella. Se prepararon 3 blancos, solo con lodo aeróbico y medio mineral, es decir sin ninguna adición de fuente de carbono para corregir la producción de  $\text{CO}_2$

de fondo (endógena), y 3 ensayos que contenían además inoculo y 5 mg C/L del disolvente correspondiente calculado a partir de su fórmula molecular y contenido teórico de carbono.

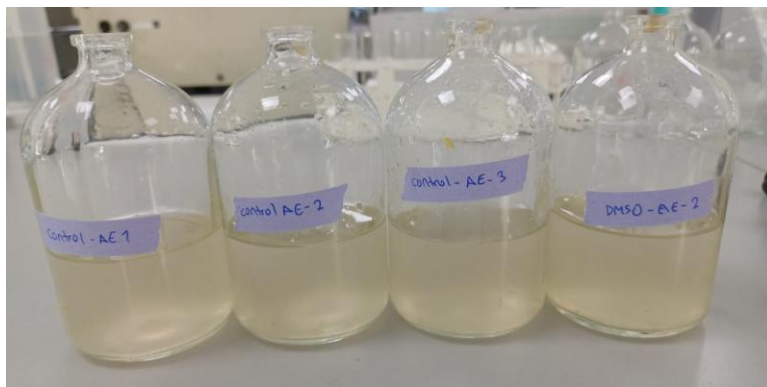


Figura 6. Ensayo de biodegradabilidad aeróbica

Los biorreactores se sellaron con septa de goma y se incubaron en una cuarto a temperatura ambiente alrededor de  $25 \pm 1$  °C en agitación suave y constante a 150 rpm en un incubador orbital JP Selecta (ROTABIT, España, Figura 7).



Figura 7. Incubador orbital empleado en el ensayo aeróbico

El curso de la biodegradación se siguió realizando los mismos puntos expuestos en el ensayo anaeróbico. Al final del ensayo se midieron el pH, y se determinó la concentración de sólidos totales, sólidos volátiles y la concentración de carbono orgánico e inorgánico disuelto de los ensayos con disolvente y los controles sin disolvente. Normalmente, la prueba dura 28 días. Sin embargo, se pueden finalizar antes de ese plazo, es decir, tan pronto como la curva de biodegradación haya alcanzado una meseta durante al menos tres determinaciones. Las pruebas

también pueden prolongarse más allá de los 28 días, para este ensayo las pruebas se dejaron en agitación constante durante 40 días aproximadamente.

### 3.3 Técnicas analíticas

A continuación, se exponen las técnicas analíticas utilizadas para cuantificar los parámetros de caracterización de los lodos activados y las suspensiones aeróbicas y anaeróbicas. Los resultados permiten determinar las composiciones iniciales y finales de los medios utilizados para los ensayos de biodegradabilidad.

#### 1. Determinación de carbono total (TC), carbono orgánico total (TOC) y carbono inorgánico (IC)

El carbono orgánico total es una medida del carbono presente en una agua residual o un residuo sólido. Se determina eliminando primero el IC y luego oxidando el carbono orgánico a  $\text{CO}_2$  para su cuantificación mediante detección infrarroja.



Figura 8. Equipo de medición del TOC-IC-TN

Para la caracterización de la mezcla de inoculación del inicio y el final del ensayo se utilizó un analizador Shimadzu TOC- VCSH (Japón, Figura 8), el cual midió concentraciones de TC, IC y TOC.

#### 2. Determinación de sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV)

La determinación de la concentración de sólidos totales consiste en la expresión aplicada a los residuos de material que quedan en un recipiente posteriormente a la evaporación de una muestra y su consecutivo secado en estufa a temperatura definida.



Siguiendo las normativas de la APHA-AWWA-WPCF se midieron las concentraciones de los sólidos totales y sólidos volátiles presentes en las muestras de lodos aerobios y anaerobios. La determinación de los sólidos totales se realizó empleando una estufa (Mettler, Alemania) a 105 °C durante un periodo de 24 horas. Los sólidos volátiles se han determinado a partir de la pérdida de peso de los residuos secos, tras el paso por la mufla (Carbolite AAF 1100, Reino Unido), al ser calcinados a 550 °C por 24 horas. El equipo utilizado se puede observar en las figuras 9 y 10.



Figura 9. Estufa utilizada para la determinación de la concentración de sólidos totales



Figura 10. Mufla utilizada para la determinación de la concentración de sólidos volátiles

### 3. Detección de analitos

Para el monitoreo de las concentraciones de los siguientes gases permanentes:  $CO_2$ ,  $N_2$ ,  $O_2$ ,  $CH_4$ , en el espacio de cabeza de los ensayos de biodegradabilidad, se utilizó un cromatógrafo de gases (Varian CP-3800, USA, Figura 11), acoplado a un detector de



conductividad térmica (GC-TCD) y se equipó con columnas CP-Molsieve 5A ( $15\text{ m} \times 0.53\text{ mm} \times 15\text{ }\mu\text{m}$ ) y CP-PoraBONDQ ( $25\text{ m} \times 0.53\text{ mm} \times 15\text{ }\mu\text{m}$ ). Las temperaturas del inyector y del detector se mantuvieron a 150 y 175 °C, respectivamente. Se utilizó helio como gas portador a  $13.70\text{ ml} \times \text{min}^{-1}$ , de esta manera se midieron los cambios en la conductividad del gas portador al interactuar con los analitos.



Figura 11. Cromatógrafo de gases equipado con detector de conductividad térmica

#### 4. Medición de presión

La presión interna de las botellas anaerobias y aerobias fue monitoreada por medio de un transductor de presión (IFM electronic PN 7097, Alemania, Figura 12) con el fin de asegurar condiciones controladas durante todo el experimento.



Figura 12. Transductor de presión

## 5. Medición de pH

Al final de cada ensayo se midió el pH de cada botella con un pH-meter BASIC 20+ (Crison, España, Figura 13), las medidas se realizaron en agitación suave para reducir al mínimo el arrastre de dióxido de carbono. Dado que la temperatura afecta la medida del pH se esperó a que el ensayo anaerobio alcanzara la temperatura ambiente antes de su medición.

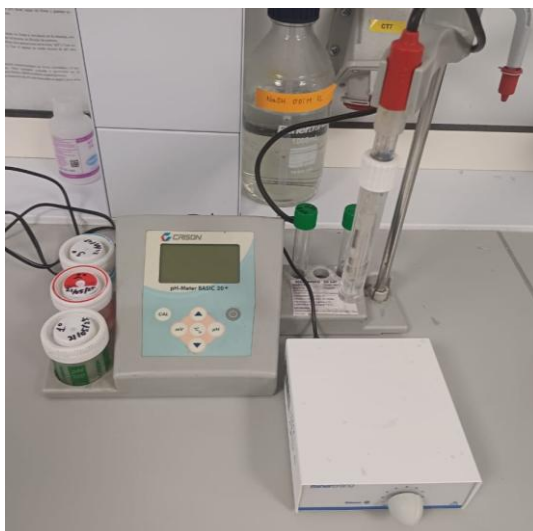


Figura 13. pH metro con electrodo de penetración

### 3.4 Procesamiento de resultados experimentales

#### 1. Balance de Carbono

El balance de carbono permite evaluar la transformación de la materia orgánica del solvente añadido durante el proceso biológico de degradación, verificando la coherencia de los datos experimentales. En este trabajo, el balance de carbono se utiliza para estimar la conversión del sustrato y como base para calcular el porcentaje de biodegradabilidad, aportando una visión integral del rendimiento del sistema.

El balance de carbono se estableció mediante la cuantificación de las principales fracciones de carbono identificadas durante el proceso. Se consideraron:

- el  $\text{CO}_2$  neto acumulado en fase gaseosa, determinado por cromatografía de gases,
- el carbono inorgánico (IC), como indicador del  $\text{CO}_2$  mineralizado en fase líquida,
- el carbono contenido en los sólidos volátiles totales, asociado tanto a biomasa microbiana que crece a partir del solvente como a residuos orgánicos no degradados, y
- el carbono orgánico residual disuelto, cuantificado mediante análisis de TOC.

Para cada parámetro experimental (TOC, IC y SV), se aplicó una corrección empleando los blancos que permite aislar el efecto del disolvente sobre el sistema, eliminando las contribuciones propias del lodo y del medio de cultivo. La expresión utilizada fue:

$$X_{Neto} = (X_{Ensayo\ final} - X_{lodo}) - (X_{Blanco\ final} - X_{lodo}) \quad (Ec.1)$$

Donde:

- $X_{Ensayo\ final}$  corresponde al valor medido en el sistema con disolvente (medio + lodo + disolvente) al final del experimento
- $X_{lodo}$  representa el valor del lodo al inicio del ensayo,
- $X_{Blanco\ final}$  es el valor medido en el sistema sin disolvente (medio + lodo) al final del experimento.

Una vez determinadas las distintas fracciones de carbono netas (inorgánico, orgánico residual y en sólidos volátiles), se procedió a calcular el carbono total recuperado sumando dichas fracciones expresadas en unidades equivalentes de carbono. Este valor se comparó con la cantidad de carbono introducida mediante el disolvente (5 mg C) con el fin de evaluar la eficiencia global del proceso y verificar el cierre del balance de carbono.

## 2. Consideraciones y factores de conversión

Para estimar las cantidades de carbono en las diferentes fracciones, se aplicaron los siguientes factores de conversión:

- La masa de sólidos volátiles, que representa tanto biomasa como resto de lisis celular, se convirtió a carbono equivalente utilizando un factor de 0.53 g C/g SV. Este valor teórico se basa en la composición elemental promedio de las bacterias, propuesta por Hoover y Porges y utilizada por Hernández et al. (2006), cuya fórmula empírica es  $C_5H_7NO_2$ . A partir de esta composición, se estima que aproximadamente el 53 % del peso seco celular corresponde a carbono orgánico.
- Para el carbono inorgánico gaseoso, se asumió que el  $CO_2$  contiene un 27.3 % de carbono en masa (factor 0.273 g C/g  $CO_2$ ), y que el  $CH_4$  contiene un 75 % de carbono en masa (factor 0.75 g C/g  $CH_4$ ).

- El volumen total del sistema experimental (medio de cultivo + lodo) se consideró constante en 0.102 L para todos los cálculos de concentración.
- La cantidad total de carbono aportado por el disolvente al inicio del experimento fue ajustada a 5 mg C por tratamiento, mediante el cálculo estequiométrico basado en la fórmula molecular y contenido de carbono de cada compuesto. Las masas y el volumen específico dosificado para alcanzar este valor se detallan en la Tabla 1, y representan el valor teórico máximo recuperable en el balance de carbono.

Tabla 1. Composición molecular y dosificación de disolventes para una carga uniforme de 5 mg C

Disolvente	Formula	Masa equivalente a 5 mg de carbono (mg)	Volumen (μl)
DMSO	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	16.27	14.8
NMP	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO	8.25	8.01
DMI	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	7.88	7.88
GVL	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	8.33	7.86

*Nota.* Los volúmenes dosificados fueron obtenidos considerando la densidad del disolvente.

Estas conversiones permitieron expresar todas las fracciones en unidades equivalentes de carbono, facilitando la comparación y el cierre del balance.

### 3. Grado de biodegradabilidad

El grado de biodegradabilidad se estimó como el porcentaje de carbono de las fracciones transformadas a formas inorgánicas gaseosas, según el tipo de metabolismo predominante en cada sistema:

En los ensayos anaerobios, la biodegradabilidad se calculó a partir de la suma del carbono emitido como CO<sub>2</sub> en fase gaseosa y del carbono contenido en CH<sub>4</sub>, ambos corregidos según su fracción de carbono en masa.

$$Biodegradabilidad (\%) = \frac{C - CO_2 + C - CH_4}{5} \times 100 \quad (\text{Ec. 2})$$

En los ensayos aerobios, se consideró la suma del carbono acumulado como CO<sub>2</sub> en fase gaseosa.

$$Biodegradabilidad (\%) = \frac{C - CO_2}{5} \times 100 \quad (\text{Ec. 3})$$

Con base en las metodologías y los cálculos previamente descritos, se exponen a continuación los resultados experimentales, acompañados de su interpretación y discusión en el contexto de los objetivos planteados

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. Biodegradación de disolventes en condiciones anaerobias en medio acuoso.

Las Figuras 14 y 15 muestran la evolución de la producción acumulada de dióxido de carbono y metano, respectivamente, durante el ensayo de biodegradación anaerobia del disolvente GVL en comparación con un control sin disolvente. En ambos casos, se observó que el tratamiento con GVL presentó una mayor producción de gases respecto al control.

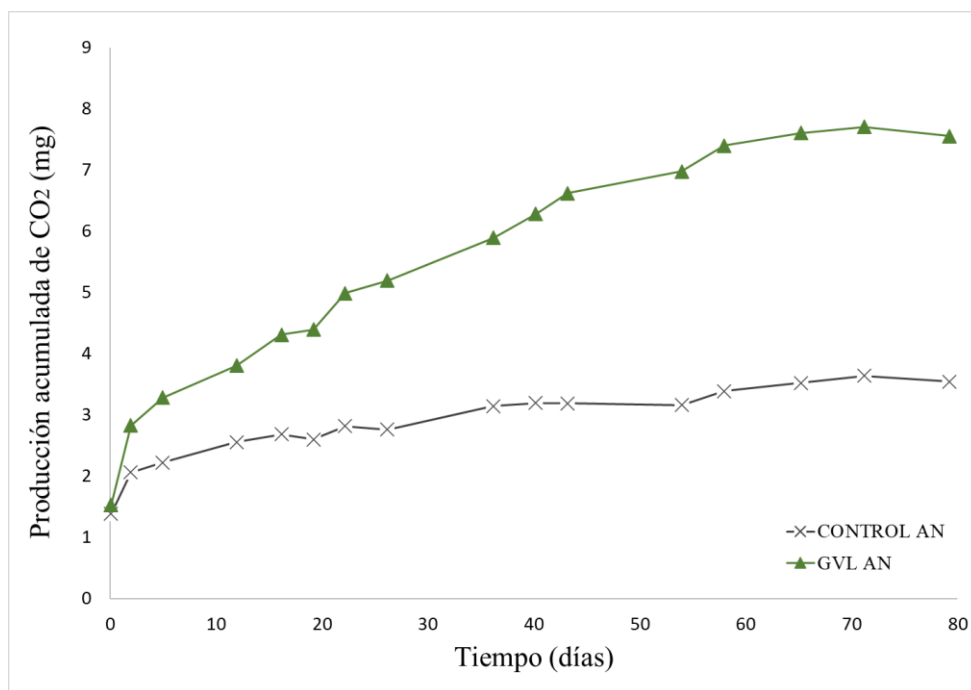


Figura 14. Producción acumulada de CO<sub>2</sub>, ensayo anaeróbico. [Elaboración propia]

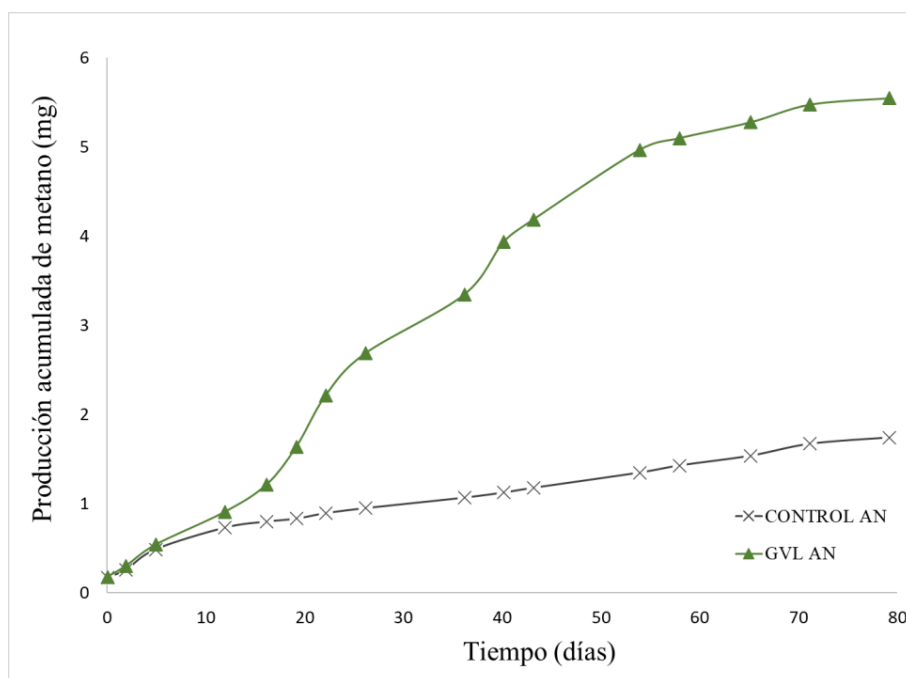


Figura 15. Producción acumulada de metano, ensayo anaeróbico. [Elaboración propia]

En el caso del  $\text{CO}_2$  (Figura 14), el GVL alcanzó una producción acumulada máxima cercana a 8 mg, mientras que el control se mantiene por debajo de 4 mg. De forma similar, la producción de  $\text{CH}_4$  (Figura 15) en presencia de GVL ascendió a aproximadamente 6 mg, en contraste con los valores del control, que no superaron los 2 mg. Estas diferencias sugieren una actividad biológica más intensa cuando se incorpora el disolvente al medio, lo cual puede atribuirse a su degradación parcial o completa bajo condiciones metanogénicas por parte de los microorganismos presentes en el inóculo anaerobio.

El resto de las gráficas correspondientes a los otros disolventes evaluados (DMSO, NMP y DMI), tanto para la producción de dióxido de carbono como de metano, se presentan en el Anexo A. No obstante, los valores de producción acumulada de  $\text{CO}_2$  y  $\text{CH}_4$  para todos los tratamientos pueden consultarse en la tabla que se muestra a continuación, la cual resume los datos obtenidos tras el ensayo anaerobio.

Tabla 2. Acumulación de  $\text{CO}_2$  y  $\text{CH}_4$  en ensayos anaeróbicos de biodegradación de solventes

Disolvente	$\text{CO}_2$ acumulado (mg)	$\text{CH}_4$ acumulado (mg)
DMSO	$8.14 \pm 0.75$	$6.00 \pm 0.21$
GVL	$7.56 \pm 1.11$	$5.54 \pm 1.16$
NMP	$3.69 \pm 0.08$	$0.87 \pm 0.19$

DMI	$3.73 \pm 0.20$	$0.62 \pm 0.06$
Control GVL	$3.54 \pm 1.83$	$1.74 \pm 0.33$
Control DMSO, NMP y DMI	$3.44 \pm 0.08$	$0.64 \pm 0.03$

Para obtener una comparación más precisa entre los distintos disolventes ensayados, se presenta a continuación la producción acumulada corregida de CO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub>, obtenida tras restar el blanco correspondiente. Esta corrección permite evaluar la contribución específica de cada disolvente a la producción de gases, eliminando interferencias propias del medio o de la actividad basal del inóculo.

En la Figura 16 se muestra la evolución de la producción neta de CH<sub>4</sub> a lo largo de 77 días para los disolventes DMSO, GVL, DMI y NMP. El DMSO presentó la mayor producción neta de metano, alcanzando un valor máximo cercano a 5.5 mg hacia el día 60, con una tendencia a estabilizarse posteriormente. El GVL mostró la segunda mayor producción acumulada de CH<sub>4</sub> con aproximadamente 3.8 mg. En cambio, los disolventes DMI y NMP mostraron una producción de metano muy baja o incluso inferior a la del control, resultando en valores netos cercanos al 0 tras la corrección con el blanco. Esto indica una escasa o nula conversión metanogénica, especialmente en el caso del DMI.

Por otro lado, la producción neta de CO<sub>2</sub> presentó un comportamiento similar; (Figura 17). El DMSO nuevamente mostró la mayor producción, con un valor final de aproximadamente 5 mg. El GVL alcanzó valores cercanos a 4 mg, evidenciando también una degradación progresiva. Por otro lado, el DMI y el NMP mostraron producciones netas de CO<sub>2</sub> bajas, con máximos alrededor de 0.1 mg.

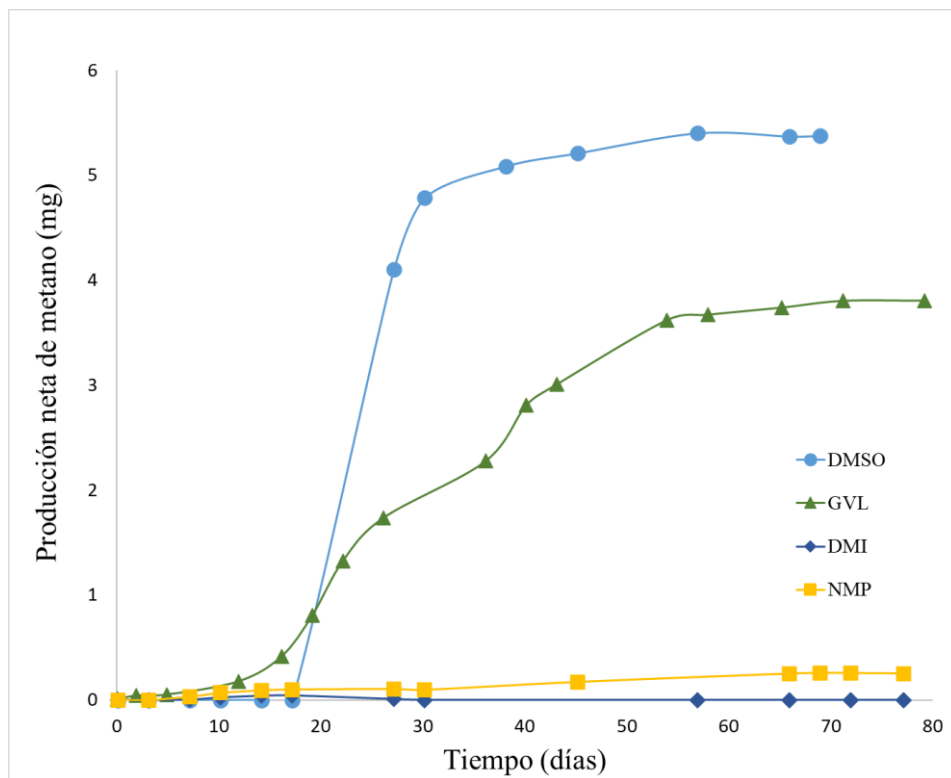


Figura 16. Producción neta de metano, ensayo anaeróbico. [Elaboración propia]

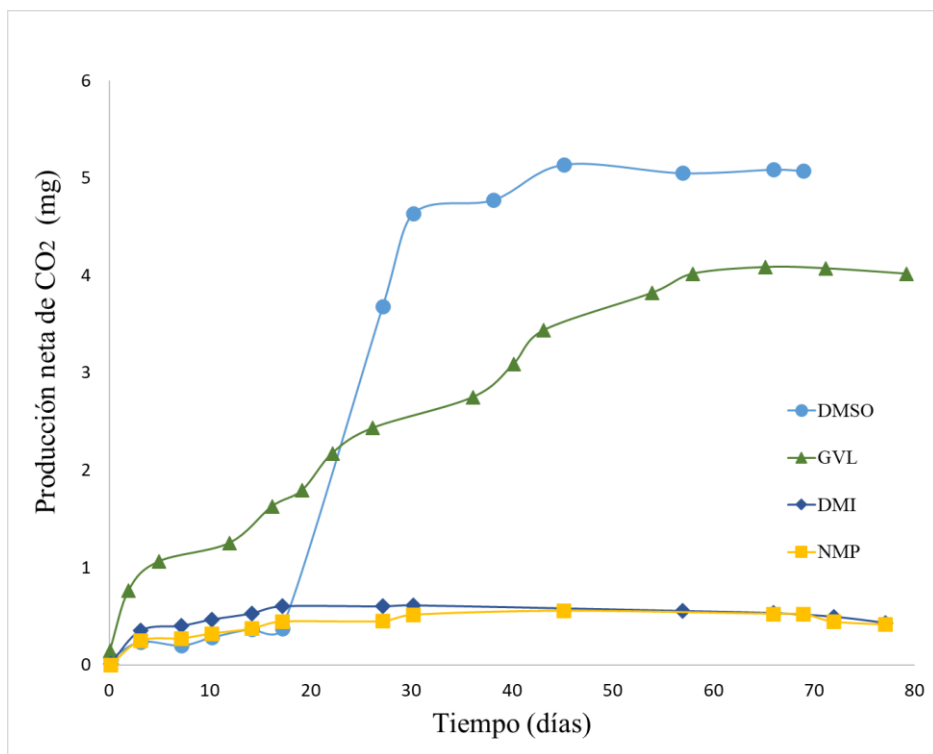


Figura 17. Producción neta de dióxido de carbono, ensayo anaeróbico. [Elaboración propia]



Para sintetizar estos resultados y facilitar su comparación, en la Tabla 3 se presenta el porcentaje de biodegradabilidad anaerobia calculado para cada disolvente, basado en la producción acumulada neta final de metano y dióxido de carbono.

Tabla 3. Grado de biodegradabilidad de los disolventes estudiados en condiciones anaerobias

Disolvente	CH <sub>4</sub> neto (mg)	CH <sub>4</sub> neto (mg C)	CO <sub>2</sub> neto (mg)	CO <sub>2</sub> neto (mg C)	Biodegradabilidad (%)
DMSO	5.38 ± 0.21	4.03	5.07 ± 0.76	1.38	108.34
GVL	3.80 ± 1.21	2.85	4.02 ± 2.14	1.10	78.97
NMP	0.25 ± 0.19	0.19	0.41 ± 0.29	0.11	6.02
DMI	0 ± 0.06	0.0	0.43 ± 0.33	0.12	2.36

Los resultados evidencian una clara distinción en la biodegradabilidad anaerobia de los disolventes evaluados. El DMSO y el GVL presentaron una elevada producción neta de CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>, lo que indica una biodegradación significativa bajo condiciones metanogénicas. El DMSO mostró una cinética más rápida y una mayor eficiencia de conversión, lo que sugiere una alta biodisponibilidad y baja toxicidad hacia los compuestos microbianos.

Por el contrario, el DMI y el NMP generaron cantidades mínimas de gases, lo que refleja una limitada biodegradación, probablemente debido a su estructura química o efectos inhibitorios sobre la microbiota.

Estas diferencias en los comportamientos de los disolventes se aprecian en la siguiente gráfica, donde se representa el grado de biodegradabilidad en función del tiempo bajo condiciones anaerobias.

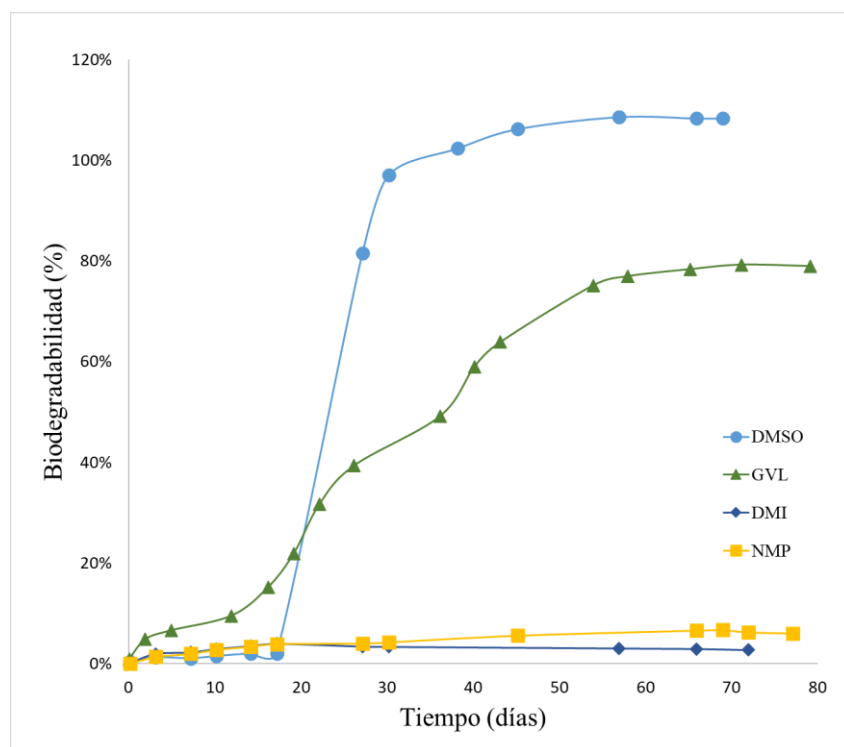


Figura 18. Grado de biodegradabilidad de los disolventes estudiados en condiciones anaerobias [Elaboración propia]

Debido a la importancia del NMP en la industria química, sobre todo en la industria de producción de polímeros, algunos autores han estudiado la biodegradabilidad de este disolvente. Si bien, estos estudios disponibles no aplican el protocolo OECD 311, varios trabajos reportan una baja eficiencia de biodegradación del NMP bajo condiciones anaerobias estrictas (sin nitrato), lo que respalda los resultados obtenidos en esta investigación. En particular, Wang et al. (2022) observaron solo un 40–60% de remoción en sistemas anaerobios sin aceptores externos, y Li et al. (2025) reportaron que la degradación anaerobia del NMP es limitada en ausencia de condiciones anóxicas, es decir, cuando no hay aceptores de electrones como el nitrato disponibles.

En contraste, el DMSO mostró una degradación completa bajo condiciones metanogénicas estrictas, alcanzando un 108% lo cual puede explicarse por la alta biodegradabilidad anaerobia del DMSO, como reporta Cheng et al. (2019), quienes lograron 100% de remoción bajo condiciones metanogénicas. En ensayos donde se cuantifican  $\text{CO}_2$  y metano, pequeñas desviaciones por sobreestimación del gas producido o subestimación del carbono inicial disponible pueden explicar valores ligeramente superiores al 100%. Para el DMI y el GVL, no se han encontrado estudios que evalúen su degradación bajo condiciones anaerobias estrictas ni aplicando protocolos estandarizados. No obstante, su comportamiento en este estudio sugiere

una limitada biodegradabilidad anaerobia, especialmente en comparación con los otros disolventes evaluados.

Conforme a los criterios de la OECD 311, solo el DMSO y la GVL podrían considerarse inherentemente biodegradables en condiciones anaerobias, mientras que el DMI y el NMP no cumplen los umbrales exigidos, sugiriendo una baja compatibilidad con procesos anaerobios convencionales.

## 2. Biodegradación de disolventes en condiciones aerobias en medio acuoso.

La Figura 19 muestra la producción acumulada de  $\text{CO}_2$  (mg) del GVL durante 66 días bajo condiciones aerobias comparadas con el blanco llevado a cabo con lodo activo sin solvente. Se observa que la producción de  $\text{CO}_2$  en el control fue progresiva pero limitada, alcanzando un valor máximo cercano a los 10 mg al finalizar el ensayo. En cambio, la condición con GVL mostró una producción significativamente mayor, con una cinética acelerada durante los primeros 25 días, seguida de una meseta alrededor de los 24–25 mg hacia el día 60.

Este comportamiento evidenció una clara actividad microbiana impulsada por la presencia de GVL, indicando una alta biodegradabilidad de este disolvente bajo condiciones aerobias. El contraste entre ambas curvas confirma que el incremento en la producción de  $\text{CO}_2$  estuvo directamente relacionado con la metabolización del GVL por parte del inóculo.

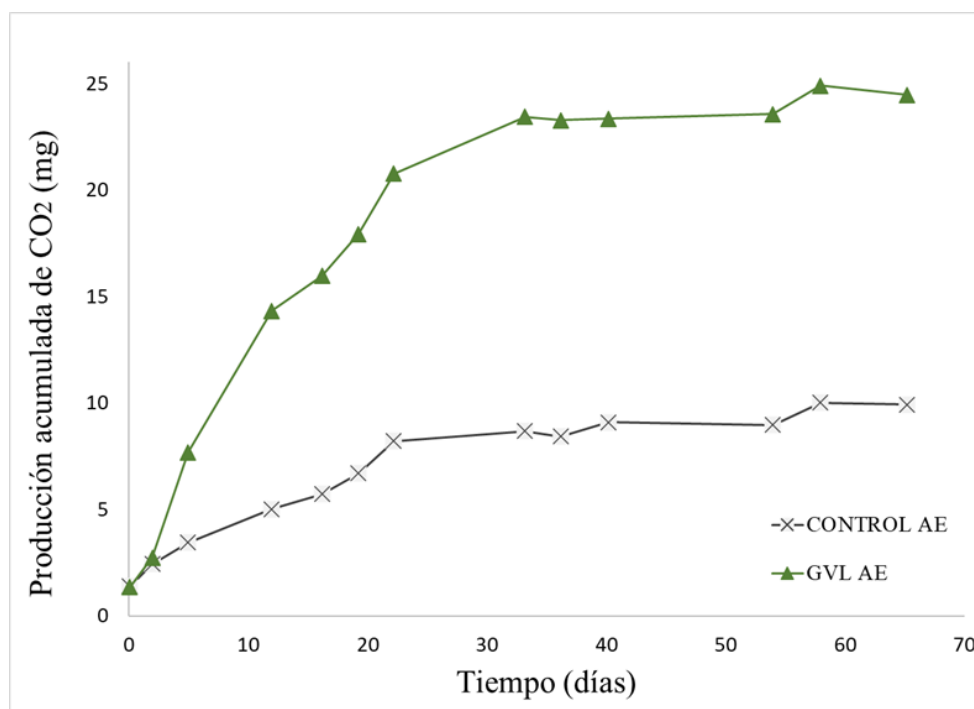


Figura 19. Producción acumulada de  $\text{CO}_2$ , ensayo aeróbico. [Elaboración propia]

Las gráficas correspondientes a los otros disolventes evaluados (DMSO, NMP y DMI), así como sus respectivos controles, se presentan en el Anexo B. No obstante, para facilitar la interpretación global, en la siguiente tabla se resumen los valores de producción acumulada de CO<sub>2</sub> al finalizar los ensayos:

Tabla 4. Acumulación de CO<sub>2</sub> en ensayos aeróbicos de biodegradación de solventes

Disolvente	CO <sub>2</sub> acumulado (mg)
DMSO	9.07 ± 0.06
GVL	24.46 ± 2.28
NMP	26.15 ± 2.01
DMI	8.07 ± 0.06
Control GVL	9.92 ± 0.78
Control DMSO, NMP y DMI	7.44 ± 0.10

Para obtener una comparación más precisa entre los distintos disolventes ensayados, se presenta a continuación la producción acumulada corregida de CO<sub>2</sub>, obtenida tras restar el blanco correspondiente.

La Figura 20 muestra la evolución de la producción neta de CO<sub>2</sub> (mg) durante un periodo de 37 días bajo condiciones aerobias, utilizando como únicos sustratos cuatro disolventes: DMSO, GVL, DMI y NMP. Se observa que el NMP presentó la mayor producción de CO<sub>2</sub>, alcanzando un valor cercano a los 19 mg en los primeros 20 días y mostrando una meseta hacia el día 25. El GVL también registró una producción considerable, con una tendencia sostenida que alcanzó los 15 mg hacia el final del ensayo. Por otro lado, el DMSO y el DMI presentaron producciones significativamente menores, con valores máximos que no superaron los 2 mg de CO<sub>2</sub>, manteniéndose prácticamente constantes tras los primeros 30 días.

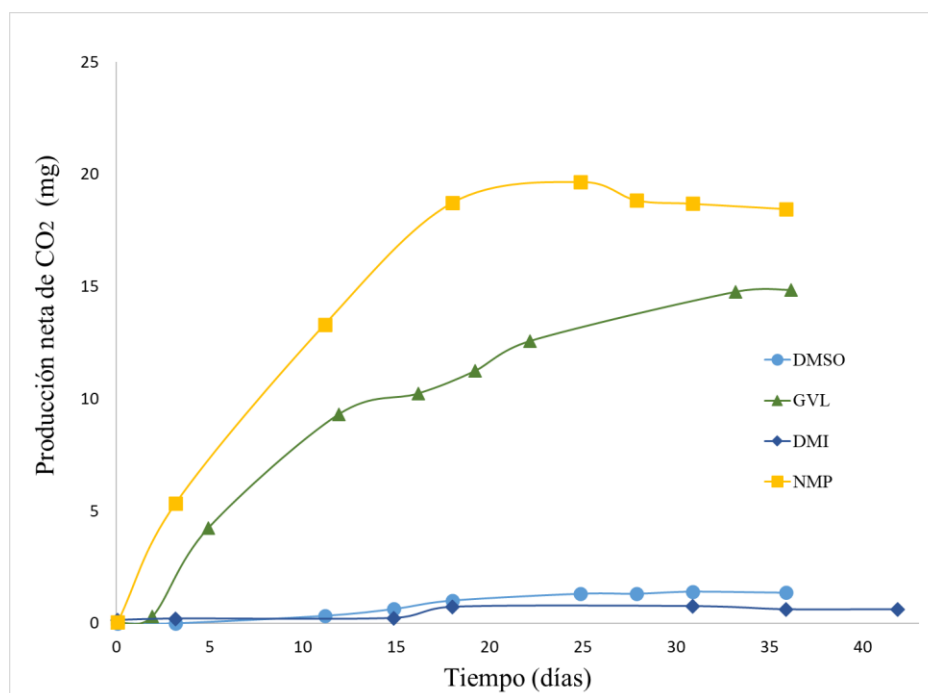


Figura 20. Producción neta de dióxido de carbono, ensayo aeróbico. [Elaboración propia]

Los resultados indican una diferenciación clara en el comportamiento de biodegradación aerobia entre los disolventes evaluados. El NMP y el GVL evidenciaron una mineralización sustancial, reflejada en la alta producción acumulada de  $\text{CO}_2$ , lo cual sugiere una alta biodisponibilidad y un eficiente metabolismo por parte del inóculo bacteriano aerobio. En particular, el NMP presentó una cinética rápida y una mineralización temprana, alcanzando una fase estacionaria hacia el día 25, lo que sugiere una rápida asimilación y mineralización del compuesto. En contraste, la baja producción de  $\text{CO}_2$  observada para el DMSO y el DMI sugiere una resistencia a la degradación aerobia, posiblemente por una baja afinidad enzimática, toxicidad directa o estructura química poco susceptible a la oxidación biológica.

Para sintetizar estos resultados y facilitar su comparación, en la Tabla 5 se presenta el porcentaje de biodegradabilidad aerobia calculado para cada disolvente, basado en la producción acumulada neta de dióxido de carbono durante el ensayo.

Tabla 5. Grado de biodegradabilidad de los disolventes estudiados en condiciones aerobias

Disolvente	$\text{CO}_2$ neto (mg)	$\text{CO}_2$ neto (mg C)	Biodegradabilidad (%)	Referencia (%)
DMSO	$1.37 \pm 0.08$	0.37	7.48	31 <sup>a</sup>
GVL	$14.54 \pm 2.41$	3.97	79.42	70 – 93 <sup>b</sup>

NMP	18.46 ± 2.01	5.04	100.78	90 <sup>c</sup>
DMI	0.63 ± 0.12	0.17	3.42	0 <sup>d</sup>

Nota. <sup>a</sup>ECHA (2023a). <sup>b</sup>Kerkel et al. (2021, p 2967). <sup>c</sup>ECHA (2023b). y <sup>d</sup>National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme. (2004). Todos los datos de referencia tienen como base un periodo de 28 días.

Estas diferencias en los comportamientos de los disolventes se aprecian en la siguiente gráfica, donde se representa el grado de biodegradabilidad en función del tiempo bajo condiciones aerobias.

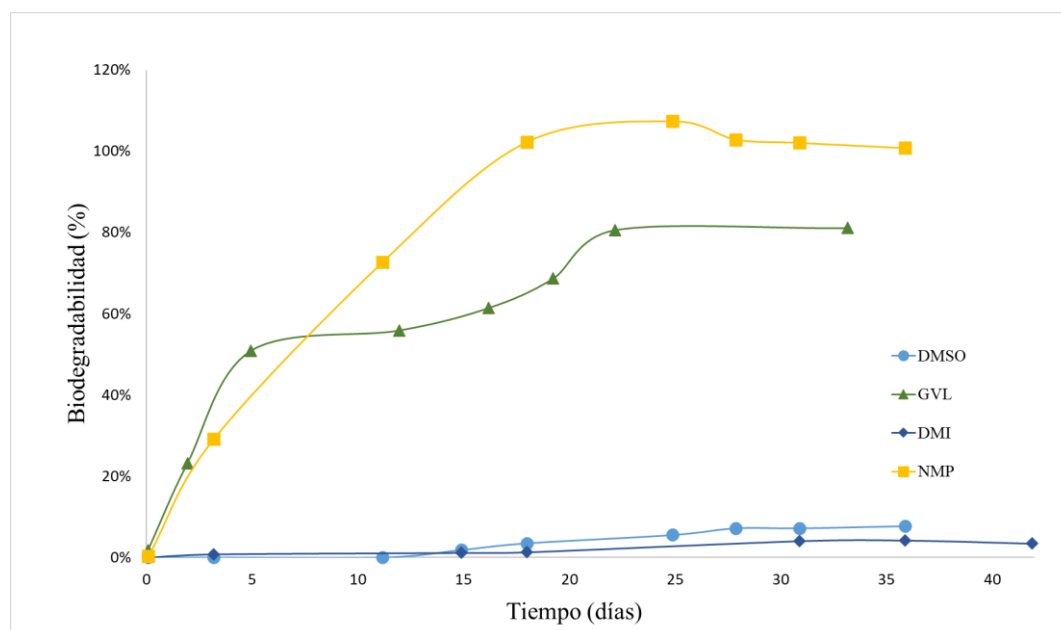


Figura 21. Grado de biodegradabilidad de los disolventes estudiados en condiciones aerobias. [Elaboración propia]

De los compuestos evaluados como posible alternativa al uso de NMP, el GVL mostró el comportamiento más favorable, con un 79.42% de biodegradabilidad, concordando con el rango reportado en la literatura (70–93%), lo que respalda su clasificación como disolvente verde y fácilmente biodegradable.

En el caso de NMP, aunque el valor de referencia se sitúa en torno al 90%, se obtuvo un porcentaje de biodegradabilidad de 100.78%. Este valor, que excede el límite teórico del 100%, podría deberse a errores experimentales o a la presencia de carbono adicional no atribuido al compuesto. No obstante, dado que supera ampliamente el umbral del 60% en 28 días establecido por la OCDE, puede considerarse fácilmente biodegradable en condiciones

aerobias. Por el contrario, DMSO y DMI presentaron valores muy bajos de biodegradabilidad (7.48 % y 3.42 %, respectivamente). En el caso del DMI, este resultado concuerda con los datos de referencia que reportan una degradación nula. Para el DMSO, si bien se han reportado valores de biodegradabilidad de hasta 31 %, la baja transformación observada en este estudio podría deberse a diferencias en las condiciones experimentales, como el tipo de inóculo, la concentración utilizada o la ausencia de microorganismos adaptados. Esto resalta aún más, la necesidad de realizar estudios normalizados de biodegradabilidad que permita comparar los resultados experimentales de diferentes grupos de investigación. Esta baja mineralización indica una escasa degradación por vía aerobia, lo que sugiere una resistencia significativa a la biodegradación microbiana en las condiciones del ensayo

Con base en estos resultados, y siguiendo los criterios de biodegradabilidad aerobia establecidos por la OECD (OECD 301), el NMP y el GVL podrían considerarse como compuestos inherentemente biodegradables en condiciones aerobias, mientras que el DMSO y el DMI no evidencian un comportamiento que indique una degradación significativa dentro del periodo de evaluación.

## **5. CONCLUSIONES**

Los resultados obtenidos en los ensayos aeróbicos y anaeróbicos revelan diferencias significativas en el comportamiento de biodegradación de los disolventes evaluados. El GVL demostró una alta biodegradabilidad en ambos sistemas, consolidándose como una alternativa ambientalmente favorable al NMP. Por su parte, el DMSO mostró buena degradación en condiciones anaerobias, pero una escasa transformación aerobia. En cambio, el DMI evidenció una biodegradabilidad muy limitada en ambos entornos, lo que restringe su aplicabilidad como disolvente verde desde la perspectiva de su destino ambiental final. Estos hallazgos refuerzan la necesidad de integrar ensayos de biodegradabilidad en la validación de disolventes sostenibles para la síntesis de materiales poliméricos.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

Clarke, C. J., Tu, W. C., Levers, O., Bröhl, A., & Hallett, J. P. (2018). Green and Sustainable Solvents in Chemical Processes. *Chemical reviews*, 118(2), 747–800. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00571>

Dentel, S. K., & Qi, Y. (2014). Management of sludges, biosolids, and residuals. En S. Ahuja (Ed.), *Comprehensive water quality and purification* (pp. 223–243). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382182-9.00049-9>

Cheng, H., Liu, C., Lei, Y., Chiu, Y., Mangalindan, J., Wu, C., Wu, Y., & Whang, L. (2019). Biological treatment of DMSO-containing wastewater from semiconductor industry under aerobic and methanogenic conditions. *Chemosphere*, 236, 124291. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.07.022>

European Chemicals Agency. (2022). Annex XV Restriction Report. Proposal for a Restriction. Substance Names(s): N,N-Dimethylacetamide (DMAC) and 1- Ethylpyrrolidin-2-One (NEP). <https://echa.europa.eu/documents/10162/a3b07a9a-1144-9507-69a0-ebfed72b1baa>

European Chemicals Agency. (2023a). Dimethyl sulfoxide (DMSO) - Registration Dossier: 5.3.2. Biodegradation: Screening information data set. <https://echa.europa.eu/bg/registration-dossier/-/registered-dossier/15007/5/3/2>

European Chemicals Agency. (2023b). N-Methyl-2-pyrrolidone (NMP) - Registration Dossier: 5.3.2. Biodegradation: Screening information data set. <https://echa.europa.eu/es/registration-dossier/-/registered-dossier/15493/5/3/2>

European Commission. (n.d.). REACH regulation. [https://environment.ec.europa.eu/topics/chemicals/reach-regulation\\_en](https://environment.ec.europa.eu/topics/chemicals/reach-regulation_en)

Environmental Protection Agency. (1986). Health And Environmental Effects Profile for N,N-Dimethylformamide. EPA/600/X-86/141 (NTIS PB88219662). <https://cfpub.epa.gov/ncea/risk/recordisplay.cfm?deid=42581>



Environmental Protection Agency. (2020). Risk evaluation for n-methylpyrrolidone (NMP) (CASRN 872-50-4). [https://www.epa.gov/sites/default/files/2020-12/documents/1\\_risk\\_evaluation\\_for\\_n-methylpyrrolidone\\_nmp\\_casrn\\_872-50-4.pdf](https://www.epa.gov/sites/default/files/2020-12/documents/1_risk_evaluation_for_n-methylpyrrolidone_nmp_casrn_872-50-4.pdf)

Environmental Protection Agency. (2024). n-Methylpyrrolidone (NMP); Regulation Under the Toxic Substances Control Act (TSCA). Federal Register, 89(116), 51134–51194. <https://www.federalregister.gov/documents/2024/06/14/2024-12643/n-methylpyrrolidone-nmp-regulation-under-the-toxic-substances-control-act-tsca>

Figoli, A., Marino, T., Simone, S., Di Nicolò, E., Li, X. -, He, T., Tornaghi, S., & Drioli, E. (2014). Towards non-toxic solvents for membrane preparation: A review. *Green Chemistry*, 16(9), 4034–4059 [Figura]. <https://doi.org/10.1039/C4GC00613E>

Hernandez, J. E., Bachmann, R. T., & Edyvean, R. G. (2006). A cost-benefit analysis of methods for the determination of biomass concentration in wastewater treatment. *Anaerobe*, 12(5-6), 254–259. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2006.09.005>

Karki, S., Hazarika, G., Yadav, D., & Ingole, P. G. (2024). Polymeric membranes for industrial applications: Recent progress, challenges and perspectives. *Desalination*, 573, 117200. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2023.117200>

Kerkel, F., Markiewicz, M., Stolte, S., Müller, E., & Kunz, W. (2021). The green platform molecule gamma-valerolactone—ecotoxicity, biodegradability, solvent properties, and potential applications. *Green Chemistry*, 23(8), 2962-2976. <https://doi.org/10.1039/D0GC04353B>

Li, N., Han, X., Lv, H., Jin, Y., & Yu, J. (2025). Biodegradation of N-methyl-2-pyrrolidone (NMP) in wastewater: A review of current knowledge and future perspectives. *Journal of Cleaner Production*, 486, 144452. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2024.144452>

Nechifor, M., Tanasă, F., & Teacă, C. A. (2023). Green solvents in polymer synthesis. En *Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science* (pp. 51-84). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95156-2.00002-7>

National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme. (2004). Full public report: Arlasolve DMI (STD/1052). Department of Health and Ageing (Australia). <https://www.industrialchemicals.gov.au/sites/default/files/STD1052%20Public%20Report%20PDF.pdf>

OECD. (1992). OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 3: Test No. 301B: Ready Biodegradability – CO<sub>2</sub> Evolution Test. Organization for Economic Co-operation and Development. <https://doi.org/10.1787/9789264070384-en>

OECD. (2006). OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 3: Test No. 311: Anaerobic Biodegradability of Organic Compounds in Digested Sludge by Measurement of Gas Production. Organization for Economic Co-operation and Development. <https://doi.org/10.1787/9789264015088-en>

Pollet, P., Davey, E. A., Ureña-Benavides, E. E., Eckert, C. A., & Liotta, C. L. (2014). Solvents for sustainable chemical processes. *Green Chemistry*, 16(3), 1034-1055. <https://doi.org/10.1039/C3GC42302F>

Roš, M., & Zupančič, G. D. (2002). Thermophilic aerobic digestion of waste activated sludge. *Acta Chim. Slovenica*, 49(4).

San José, E., de la Viuda, M. R., Carmona, F. J., Soto, C., Palacio, L., Prádanos, P., Hernández, A., & Tena, A. (2024). Green dipolar aprotic solvents for the dynamic polycondensation of high-performance polyimide membranes. *Green Chemistry*, 26(24), 11984–12007. <https://doi.org/10.1039/D4GC04279D>

Wang, J., Chi, Q., Zhang, R., Wu, X., Jiang, X., Mu, Y., Tu, Y., & Shen, J. (2022). Evaluation of N-methylpyrrolidone bio-mineralization mechanism and bacterial community evolution under denitrification environment. *Journal of Cleaner Production*, 343, 130945. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.130945>

Zhang, X. J. (2014). 3.7 - anaerobic process. In S. Ahuja (Ed.), *Comprehensive water quality and purification* (pp. 108–122). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382182-9.00046-3>

Zhuo, M., Abass, O. K., & Zhang, K. (2018). New insights into the treatment of real N, N-dimethylacetamide contaminated wastewater using a membrane bioreactor and its membrane fouling implications. *RSC advances*, 8(23), 12799-12807. <https://doi.org/10.1039/C8RA01657G>

## ANEXOS

### ANEXO A: DATOS OBTENIDOS EN LOS ENSAYOS ANAEROBICOS

#### Ensayo anaeróbico de GVL

- a) Determinación de carbono total (TC), carbono orgánico total (TOC) y carbono inorgánico (IC)

Tabla A1: Parámetros iniciales y finales usados para el GVL

	mg/L	TOC	TC	IC
Inicial	Lodos anaeróbicos GVL	6.881	17.78	10.90
Final	Control GVL AN 1	9.347	26.04	16.69
	Control GVL AN 2	9.043	24.44	15.4
	Control GVL AN 3	8.754	25.16	16.4
	GVL_AN1	8.001	28.8	20.8
	GVL_AN2	8.528	32.67	24.15
	GVL_AN3	8.114	33.57	25.45

- b) Determinación de solidos totales (ST) y solidos volátiles (SV)

Tabla A2: Caracterización inicial de los lodos anaeróbicos

Muestra	Sólidos totales (ST) (g/Kg)	Sólidos volátiles (SV) (g/Kg)
Lodos anaeróbicos GVL	22.60	14.62

Tabla A3: Caracterización final del ensayo anaeróbico del GVL

Muestra	Sólidos totales (ST) (g/Kg)	Sólidos volátiles (SV) (g/Kg)	pH
Control AN GVL 1	1.63	0.71	7.42
Control AN GVL 2	1.57	0.78	7.43

Control AN GVL 3	1.58	0.73	7.42
GVL_AN1	1.60	0.70	7.28
GVL_AN2	1.57	0.75	7.32
GVL_AN3	1.59	0.73	7.32

c) Determinación de CO<sub>2</sub> y metano

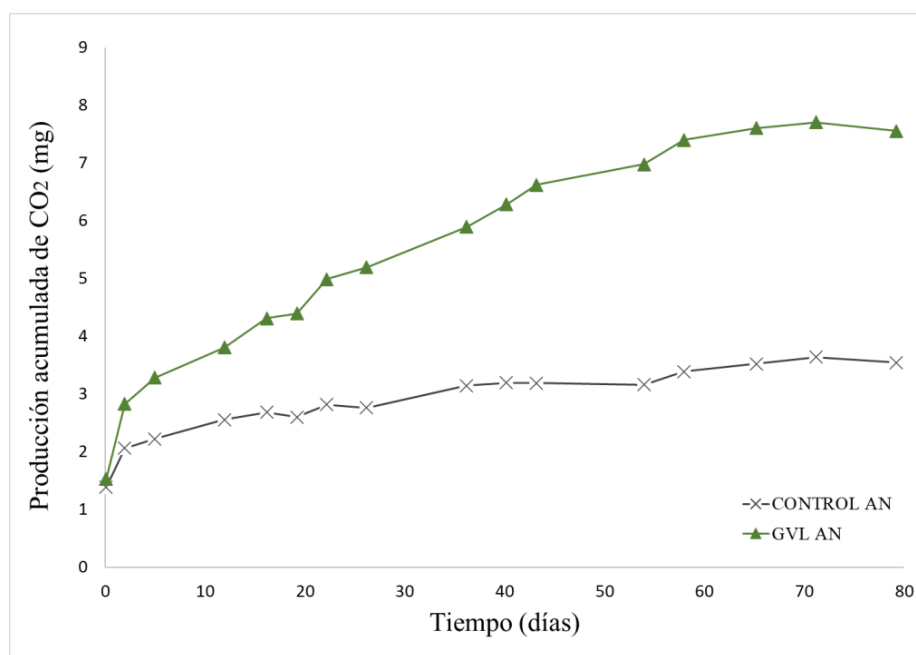


Figura A1. Producción acumulada de CO<sub>2</sub> para ensayo anaeróbico del GVL

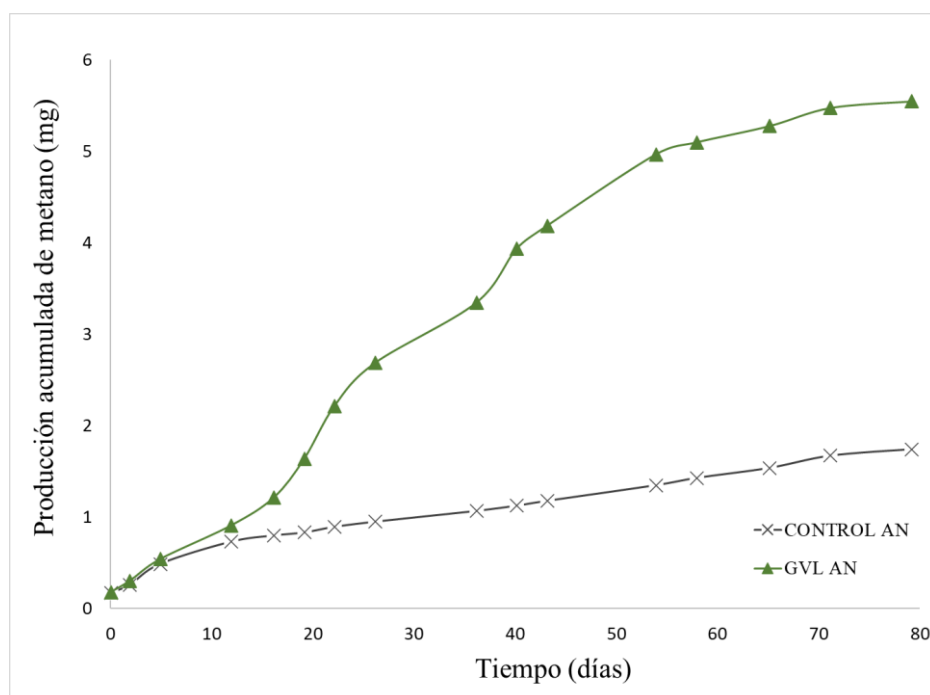


Figura A2. Producción acumulada de metano para ensayo anaeróbico del GVL

## Ensayo anaeróbico del DMSO, NMP y DMI

- a) Determinación de carbono total (TC), carbono orgánico total (TOC) y carbono inorgánico (IC)

Tabla A4: Parámetros iniciales y finales usados para el DMSO, NMP y DMI

	mg/L	TOC	TC	IC
Inicial	Lodos anaeróbicos	8.43	24.50	16.07
Final	Control AN 1	8.097	25.20	17.10
	Control AN 2	7.471	24.43	16.96
	Control AN 3	7.080	24.28	17.20
	NMP_AN1	134.1	152.2	18.16
	NMP_AN2	215.1	236.2	21.10
	NMP_AN3	126.8	147.9	21.07
	DMI_AN1	158.0	178.1	20.15
	DMI_AN2	178.0	199.9	21.98
	DMI_AN3	197.7	218.2	20.50
	DMSO_AN1	14.71	36.57	21.86
	DMSO_AN2	13.27	35.66	22.39

- b) Determinación de sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV)

Tabla A5: Caracterización inicial de los lodos anaeróbicos

Muestra*	Sólidos totales (ST) (g/Kg)	Sólidos volátiles (SV) (g/Kg)
Lodos anaeróbicos	22.315	13.78

Tabla A6: Caracterización final del ensayo anaeróbico del DMSO, NMP y DMI

Muestra	Sólidos totales (ST) (g/Kg)	Sólidos volátiles (SV) (g/Kg)	pH
Control AN 1	1.51	0.57	7.31
Control AN 2	1.44	0.52	7.36
Control AN 3	1.46	0.57	7.36

DMSO_AN1	1.63	0.70	7.08
DMSO_AN2	1.58	0.59	7.10
NMP_AN1	1.47	0.60	7.34
NMP_AN2	1.55	0.65	7.36
NMP_AN3	1.47	0.51	7.35
DMI_AN1	1.49	0.59	7.37
DMI_AN2	1.57	0.68	7.34
DMI_AN3	1.57	0.69	7.34

c) Determinación de CO<sub>2</sub> y metano DMSO

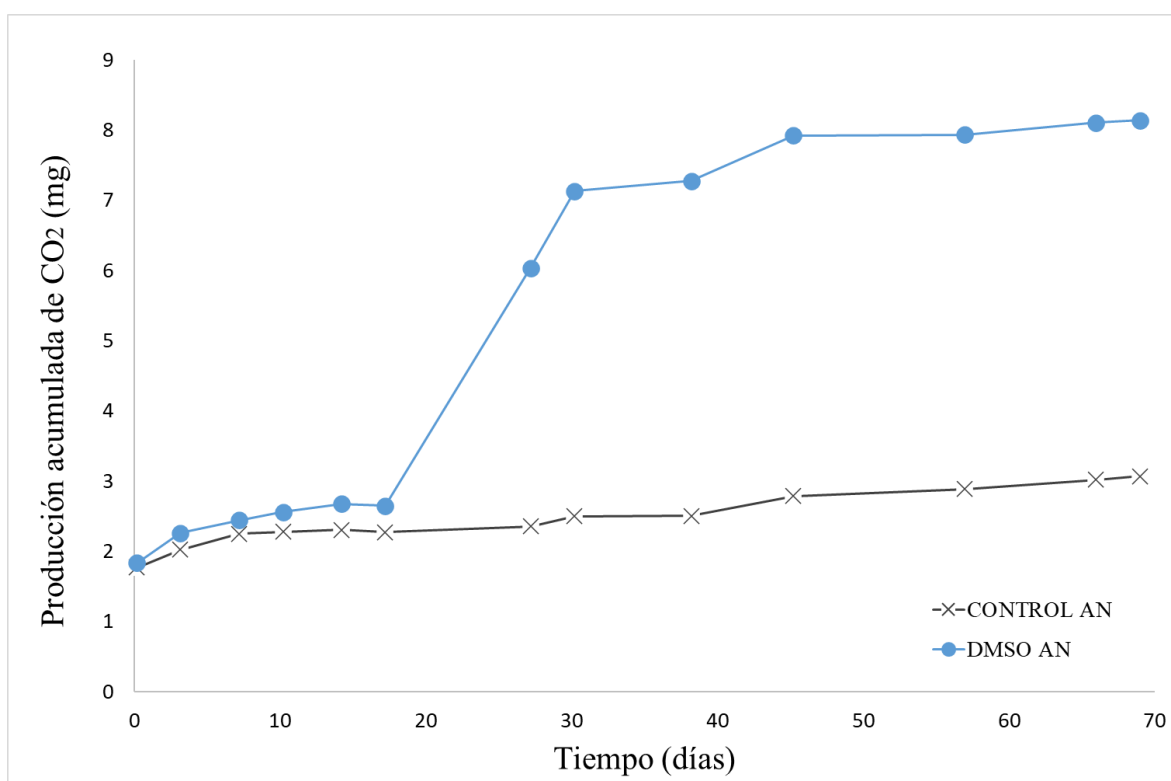


Figura A3. Producción acumulada de CO<sub>2</sub> para ensayo anaeróbico del DMSO

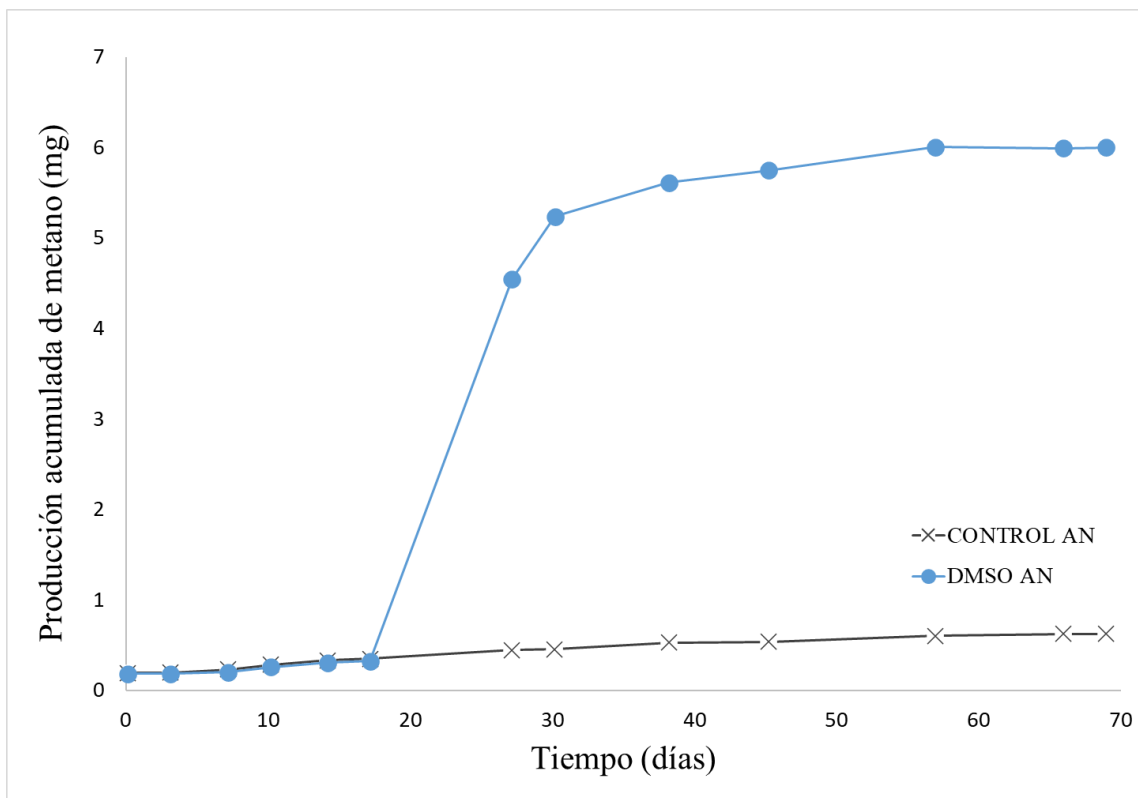


Figura A4. Producción acumulada de metano para ensayo anaeróbico del DMSO

d) Determinación de CO<sub>2</sub> y metano NMP

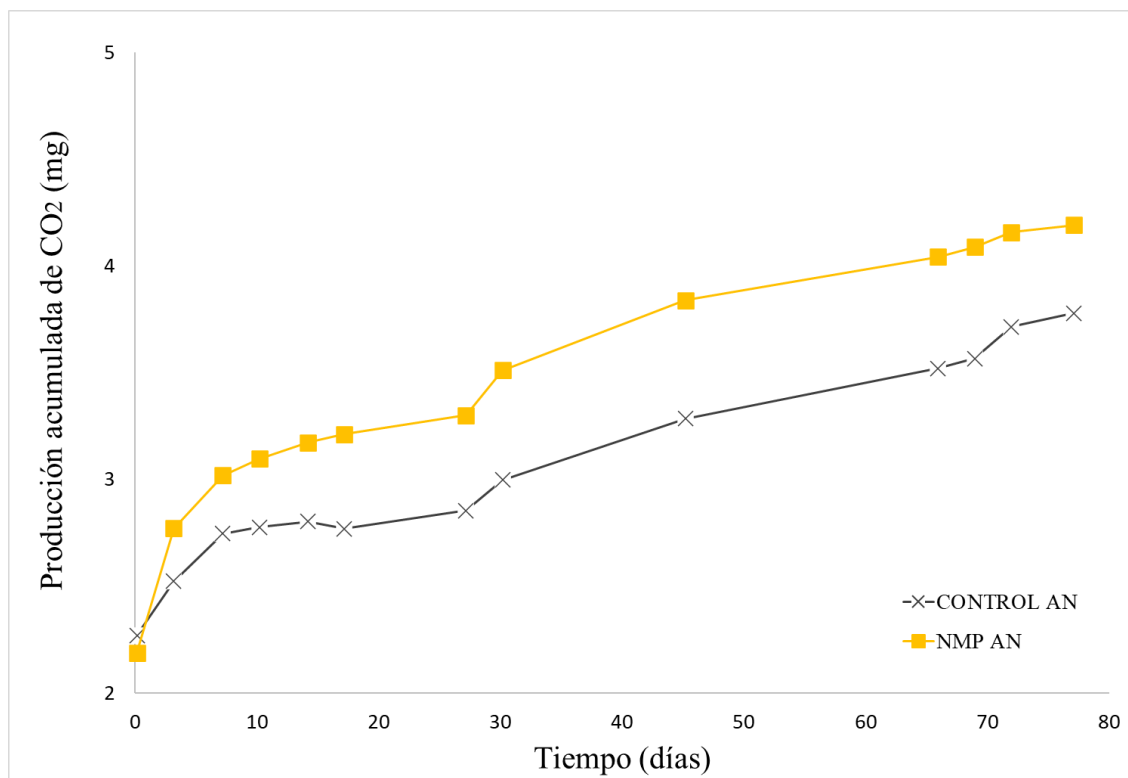


Figura A5. Producción acumulada de CO<sub>2</sub> para ensayo anaeróbico del NMP



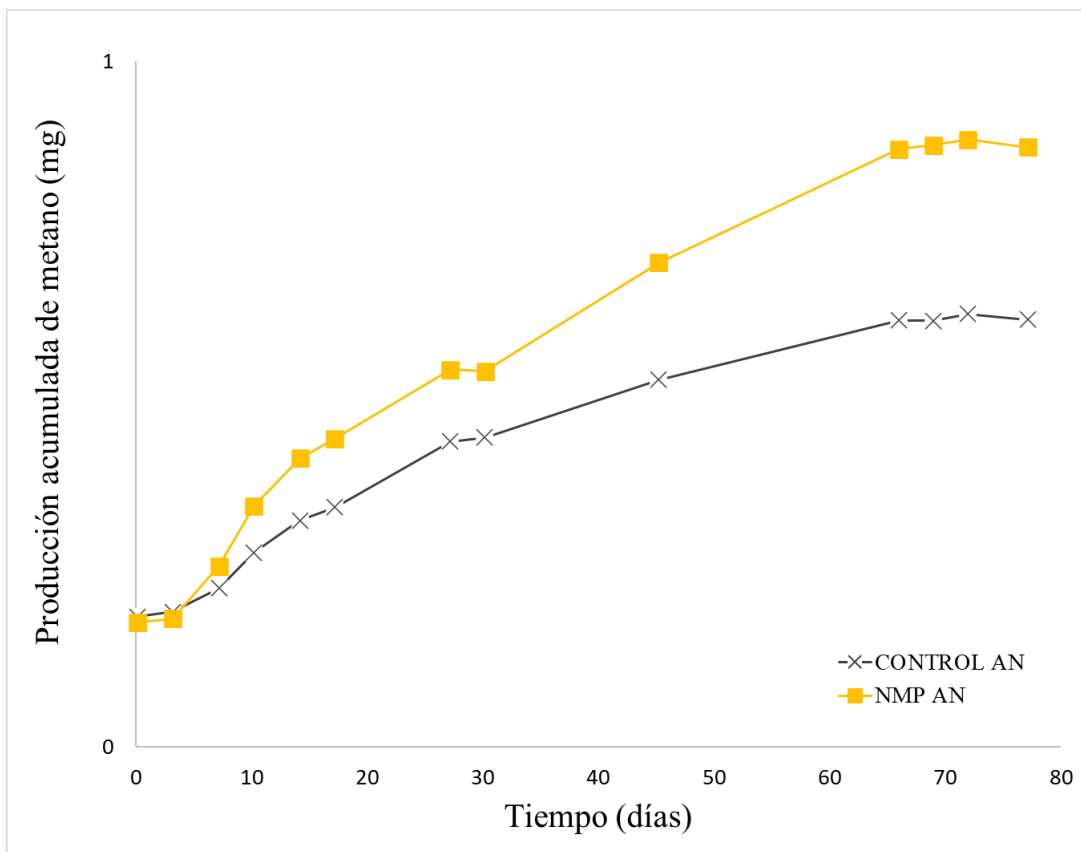


Figura A6. Producción acumulada de metano para ensayo anaeróbico del NMP

e) Determinación de CO<sub>2</sub> y metano DMI

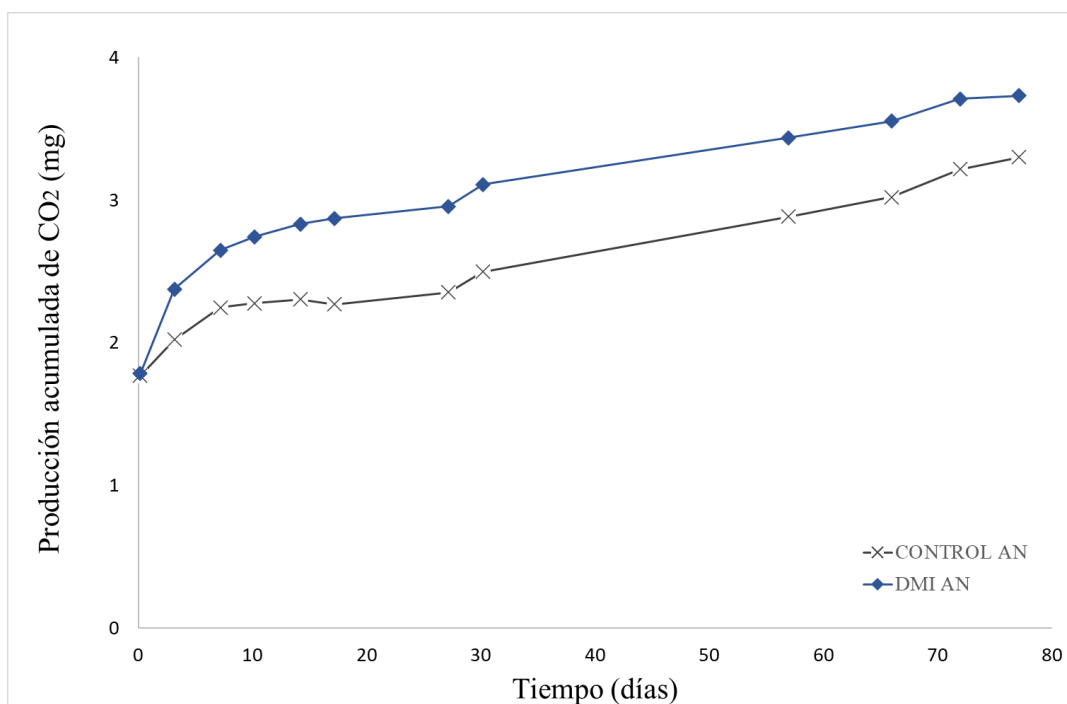


Figura A7. Producción acumulada de CO<sub>2</sub> para ensayo anaeróbico del DMI

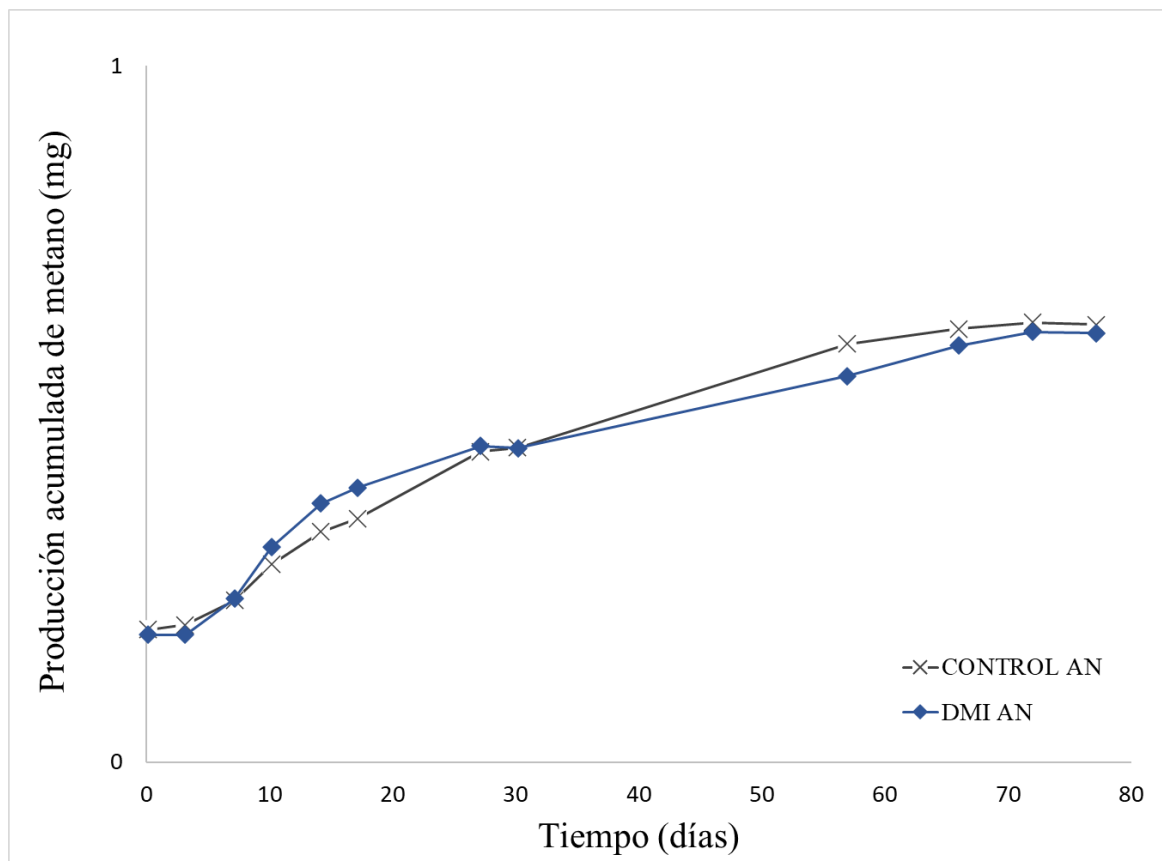


Figura A8. Producción acumulada de metano para ensayo anaeróbico del DMI

## ANEXO B: DATOS OBTENIDOS EN LOS ENSAYOS AEROBICOS

### Pruebas aeróbicas del GVL

- a) Determinación de carbono total (TC), carbono orgánico total (TOC) y carbono inorgánico (IC)

Tabla B1: Parámetros iniciales y finales usados para el GVL aerobio

	mg/L	TOC	TC	IC
Inicial	Lodos aeróbicos GVL	132.9	133.3	0.4229
Final	Control AE GVL 1	136.8	158.5	21.67
	Control AE GVL 3	141.2	159.3	18.12
	GVL_AE1	137.3	166.5	29.22
	GVL_AE2	134.8	166.4	31.55
	GVL_AE3	138.0	168.0	30.01

- b) Determinación de solidos totales (ST) y solidos volátiles (SV)

Tabla B2: Caracterización inicial de los lodos aeróbicos

Muestra	Sólidos suspendidos totales (SST) (g/L)	Sólidos suspendidos volátiles (SSV) (g/L)
Lodos aeróbicos	9.37	9.90

Tabla B3: Caracterización final del ensayo aeróbico del GVL

Muestra	Sólidos totales (ST) (g/Kg)	Sólidos volátiles (SV) (g/Kg)	pH
Control AE GVL 1	1.06	0.38	6.88
Control AE GVL 3	1.09	0.42	6.80
GVL_AE1	1.11	0.43	6.47
GVL_AE2	1.10	0.41	6.45
GVL_AE3	1.10	0.43	6.44

c) Determinación de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>

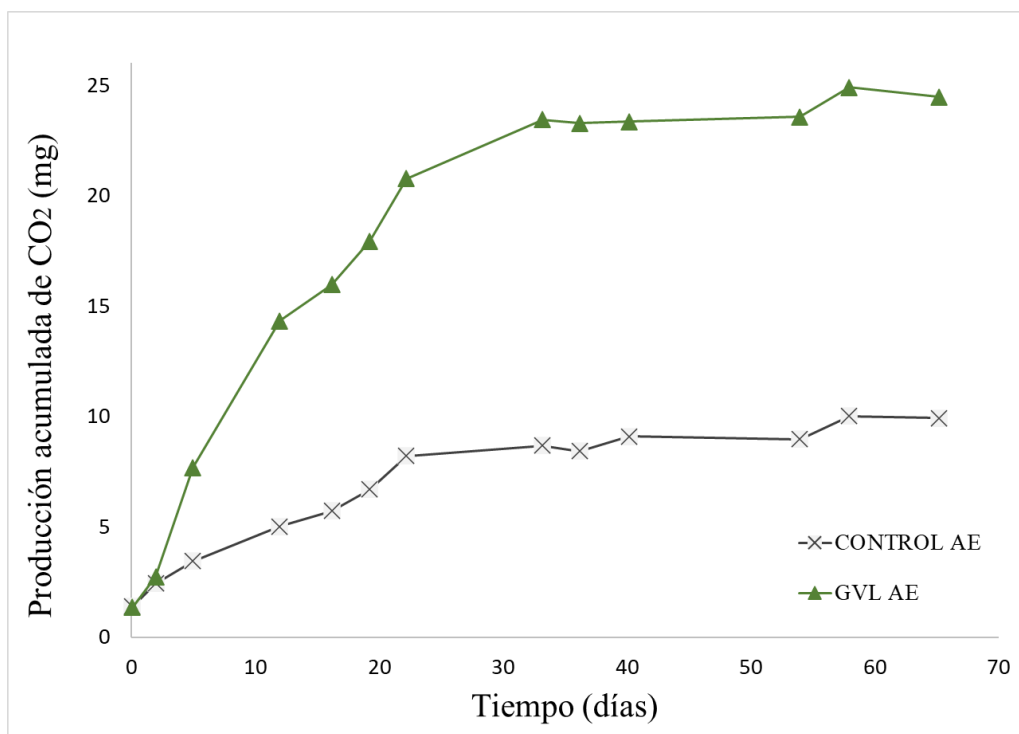


Figura B1. Producción acumulada de CO<sub>2</sub> para ensayo aeróbico del GVL

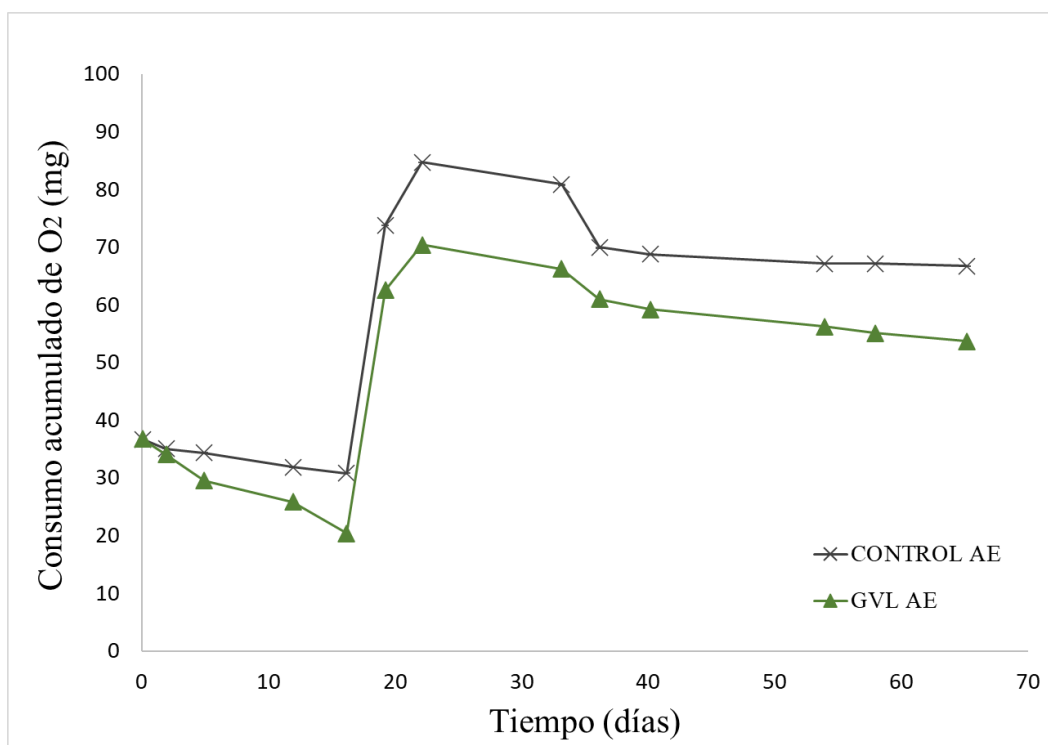


Figura B2. Consumo acumulado de O<sub>2</sub> para ensayo aeróbico del GVL

## Pruebas aeróbicas del DMSO, NMP y DMI

- a) Determinación de carbono total (TC), carbono orgánico total (TOC) y carbono inorgánico (IC)

Tabla B4: Parámetros iniciales de los lodos aeróbicos usados para el DMSO, NMP y DMI

	mg/L	TOC	TC	IC
Inicial	Lodos aeróbicos	140.8	144.2	3.452
Final	Control AE 1	147.4	164.2	16.82
	Control AE 2	152.9	169.7	16.83
	Control AE 3	146.7	161.1	14.36
	DMSO_AE1	193.1	207.1	13.91
	DMSO_AE2	187.6	199.8	12.12
	DMSO_AE3	189.9	205.2	15.30
	NMP_AE1	145.4	176.8	31.42
	NMP_AE2	145.2	181.9	36.61
	NMP_AE3	147.5	178.3	30.79
	DMI_AE1	207.6	223.4	15.77
	DMI_AE2	205.4	221.6	16.18
	DMI_AE3	225.8	239.5	13.68

- b) Determinación de sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV)

Tabla B5: Caracterización inicial de los lodos aeróbicos

Muestra	Sólidos totales (ST) (g/Kg)	Sólidos volátiles (SV) (g/Kg)
Lodos aeróbicos	4.10	2.66

Tabla B6: Caracterización final del ensayo aeróbico del DMSO, NMP y DMI

Muestra	Sólidos totales (ST) (g/Kg)	Sólidos volátiles (SV) (g/Kg)	pH
Control AE 1	1.11	0.47	6.62

Control AE 2	1.19	0.54	6.69
Control AE 3	1.20	0.52	6.71
DMSO_AE1	1.14	0.47	6.64
DMSO_AE2	1.14	0.45	6.64
DMSO_AE3	1.14	0.45	6.63
NMP_AE1	1.14	0.47	6.69
NMP_AE2	1.14	0.47	6.64
NMP_AE3	1.14	0.47	6.65
DMI_AE1	1.23	0.57	6.72
DMI_AE2	1.30	0.82	6.73
DMI_AE3	1.18	0.51	6.78

c) Determinación de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> DMSO

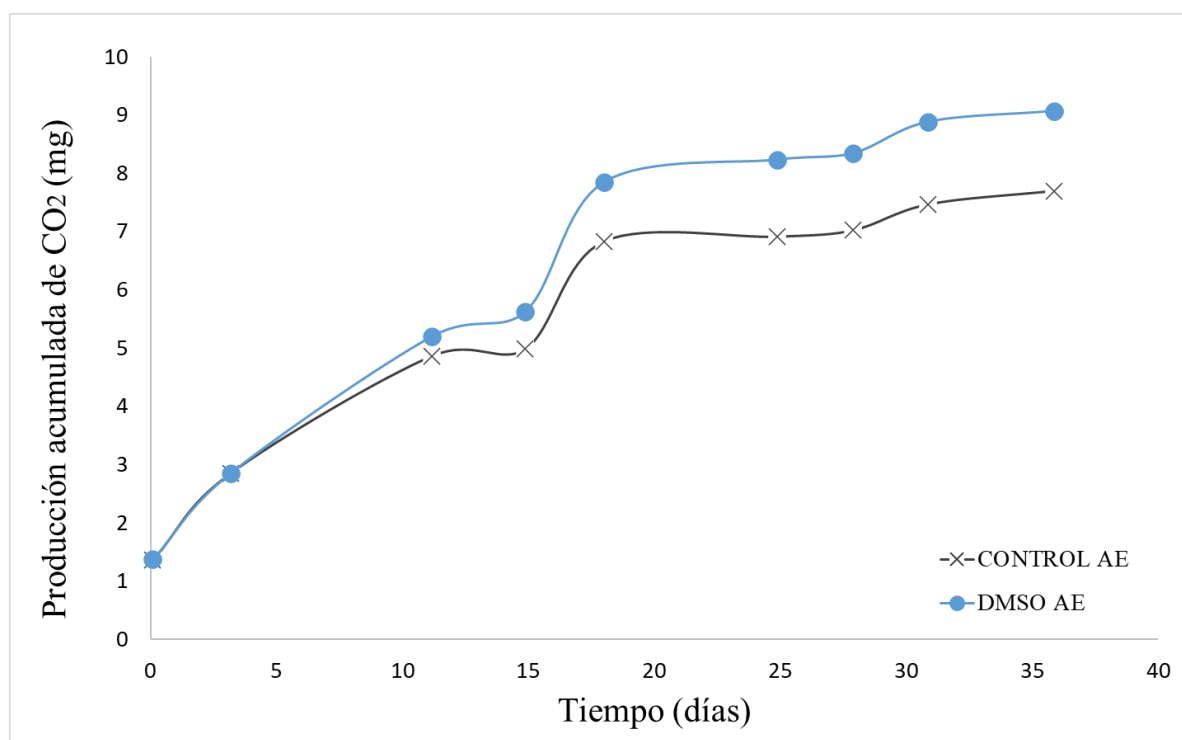


Figura B3. Producción acumulada de CO<sub>2</sub> para ensayo aeróbico del DMSO

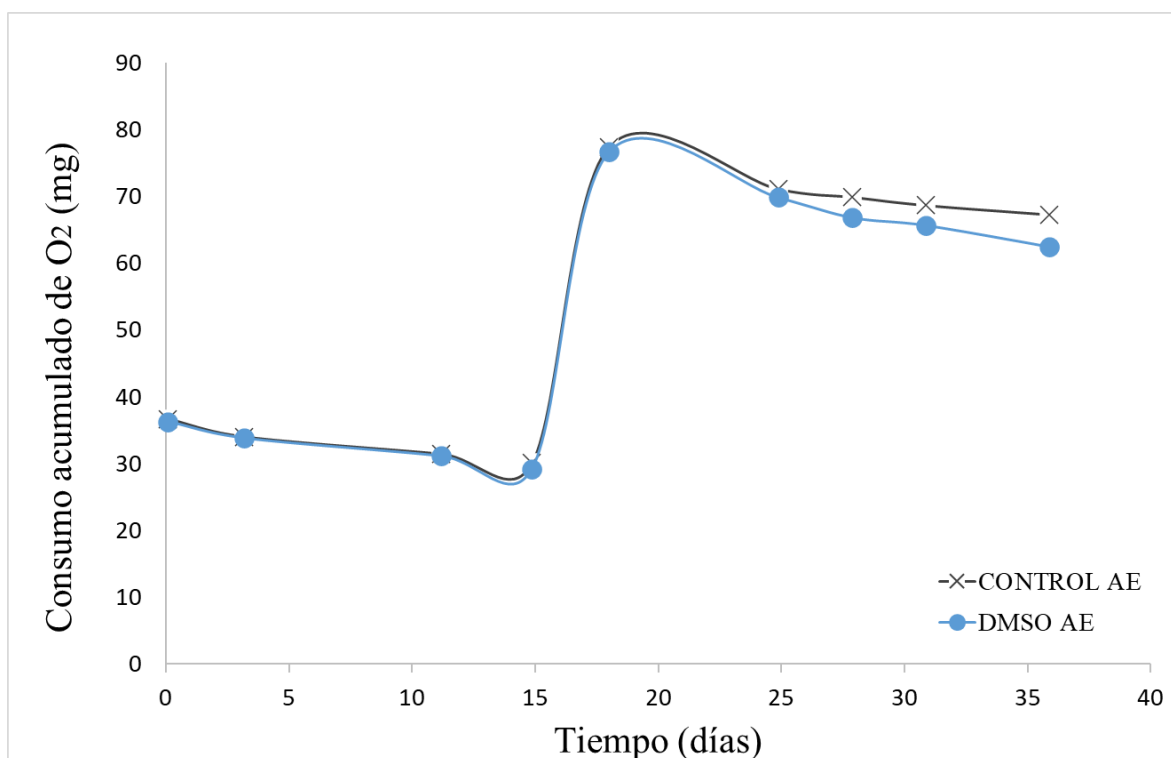


Figura B4. Consumo acumulado de  $O_2$  para ensayo aeróbico del DMSO

d) Determinación de  $CO_2$  y  $O_2$  NMP

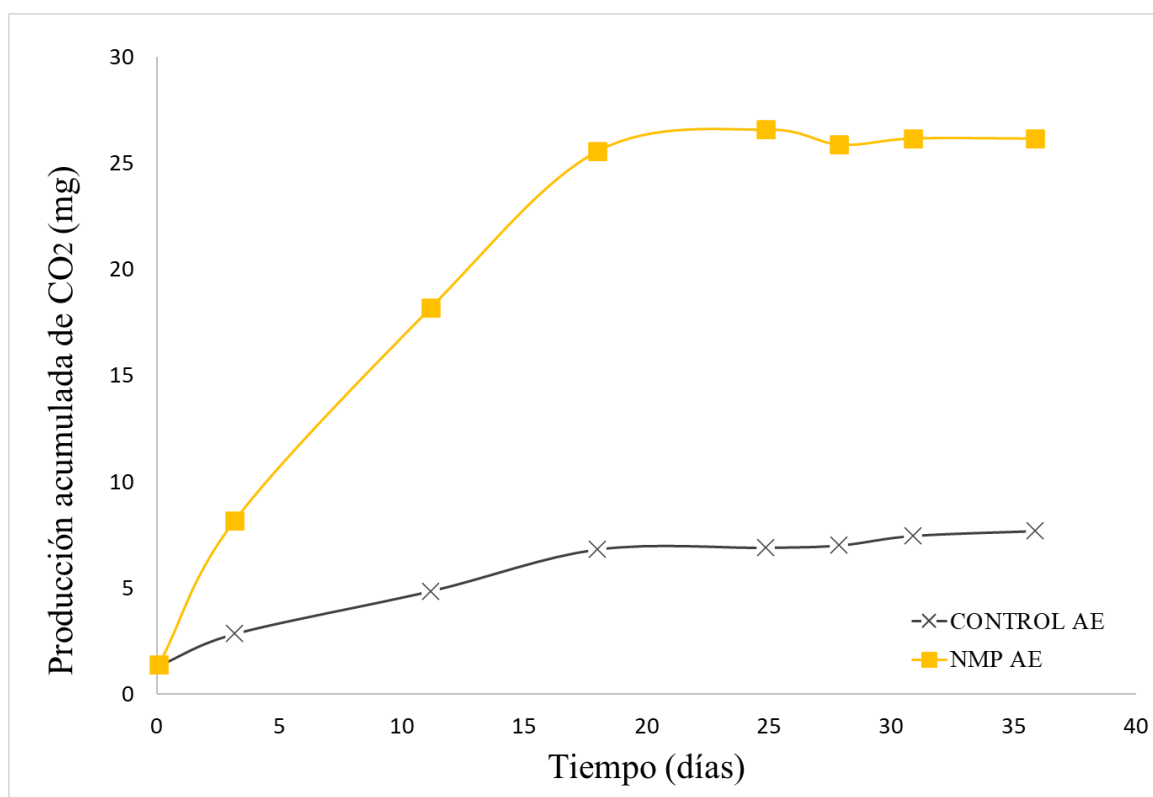


Figura B5. Producción acumulada de  $CO_2$  para ensayo aeróbico del NMP

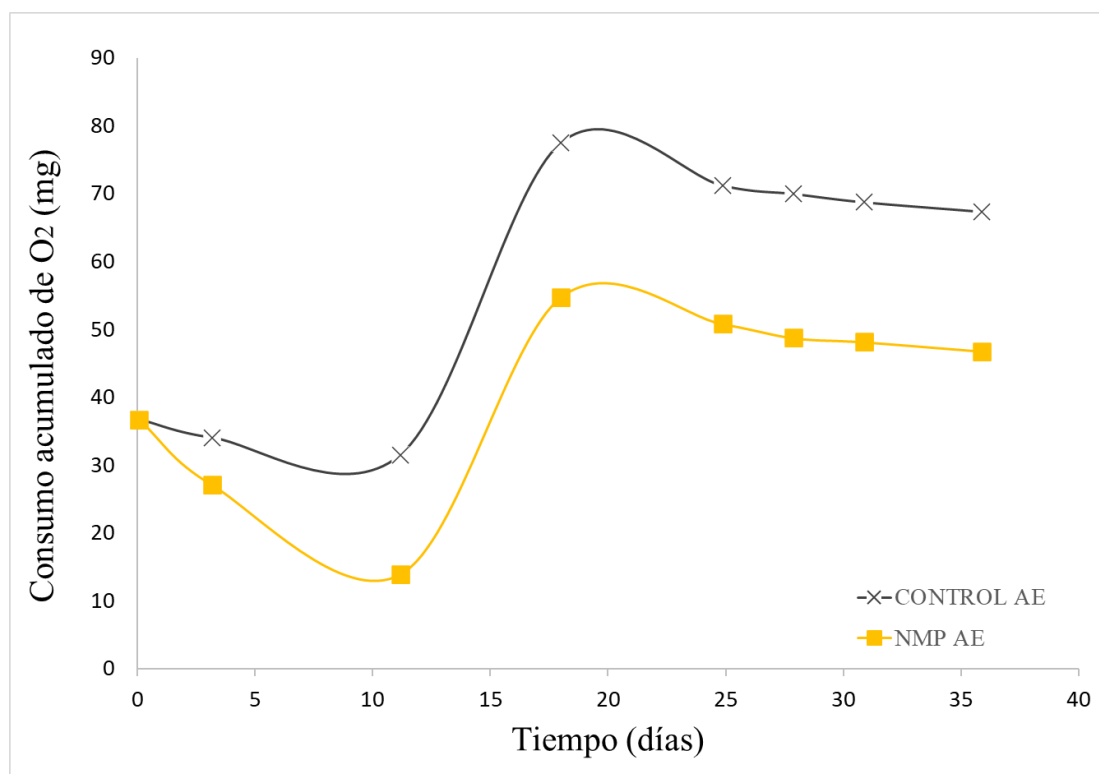


Figura B6. Consumo acumulado de O<sub>2</sub> para ensayo aeróbico del NMP

e) Determinación de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> DMI

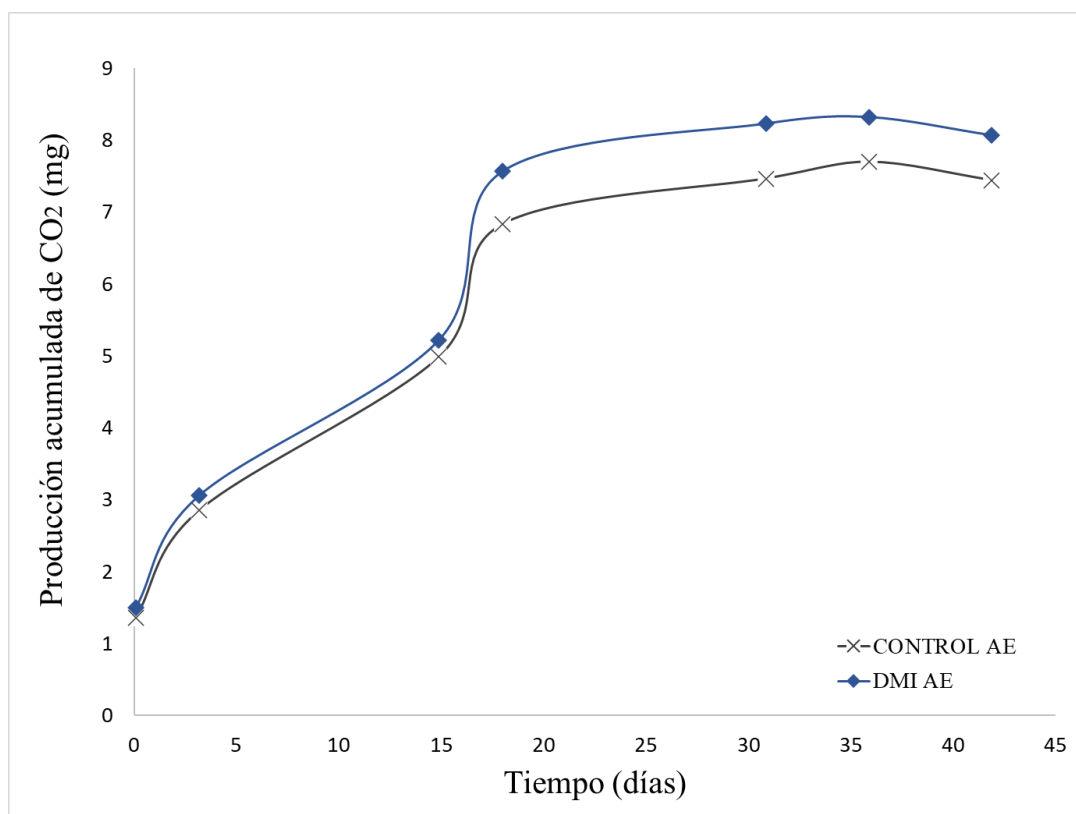


Figura B7. Producción acumulada de CO<sub>2</sub> para ensayo aeróbico del DMI



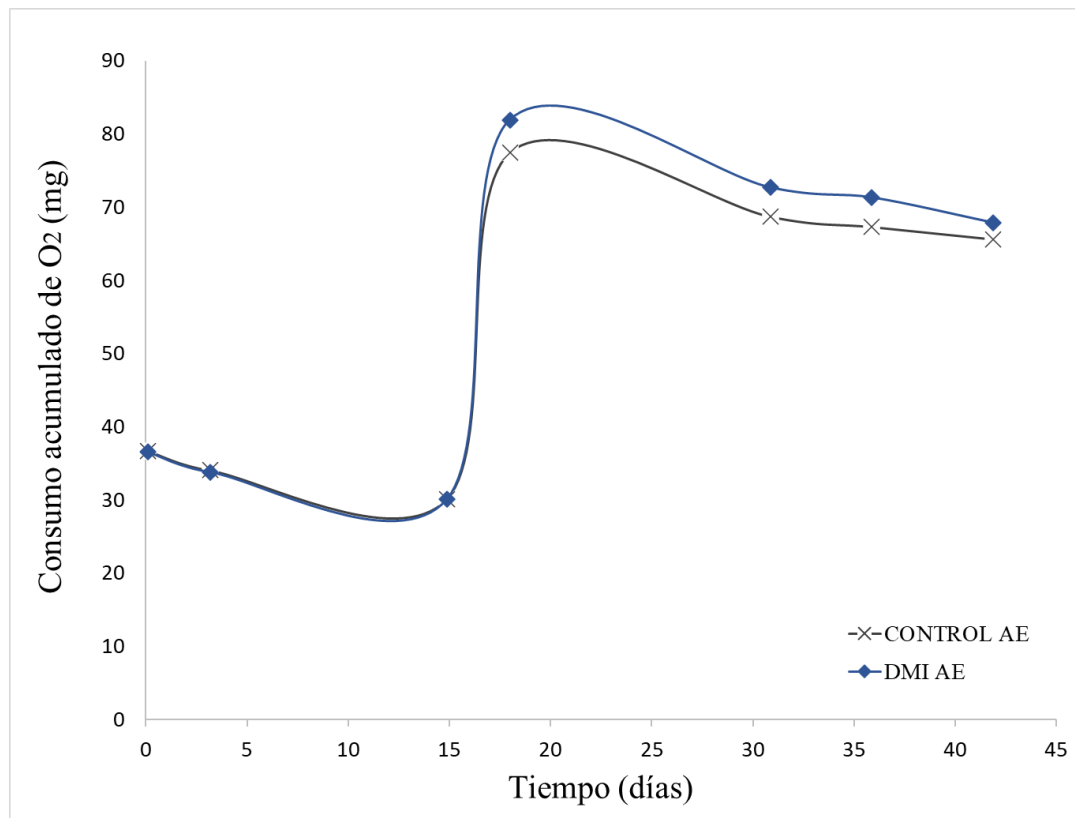


Figura B8. Consumo acumulado de O<sub>2</sub> para ensayo aeróbico del DMI