



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE YUCATÁN

FACULTAD DE INGENIERÍA

UNIDAD DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**“TOXICIDAD DE LOS LIXIVIADOS DEL RELLENO SANITARIO DE
MÉRIDA, YUCATÁN TRATADOS CON FENTON”**

Tesis

PRESENTADO POR:

**Q.B.A. ANA MARIBEL PILAR ESCALANTE
MAÑÉ**

EN OPCIÓN AL GRADO DE

MAESTRA EN INGENIERÍA

OPCIÓN AMBIENTAL

MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO

2018

Carta de autorización de impresion

Aunque este trabajo hubiere servido para EXAMEN DE GRADO y hubiere sido aprobado por el H. SINODO, solo su AUTOR es responsable de las doctrinas emitidas en él.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada como parte del Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) para la realización de los estudios de Maestría en Ingeniería opción Ambiental.

RESUMEN

El aumento del volumen de lixiviados que se generan y acumulan en el relleno sanitario de Mérida, Yucatán constituye un riesgo de contaminación para el agua subterránea, única fuente de agua dulce para la región; por ello, la aplicación de un tratamiento costo-efectivo que reduzca su volumen y peligrosidad es necesario. Los procesos de oxidación avanzada son adecuados para aguas residuales con altas cargas de materia orgánica como los lixiviados, entre ellos, el tratamiento Fenton aplicado a estas mezclas complejas de contaminantes ha alcanzado una eficiencia de remoción de la concentración de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) de aproximadamente 75% lo cual es insuficiente para reducir la materia orgánica hasta los límites máximos permisibles que establece la normatividad para su descarga segura a los cuerpos de agua (NOM-001-SEMARNAT-1996).

Por otra parte, la evaluación toxicológica del lixiviado tratado debe complementar los datos obtenidos de la caracterización química para tener una visión equilibrada del impacto ambiental que podrían provocar estas aguas residuales en caso de fuga o derrame así como evaluar la eficiencia en la reducción de la toxicidad del tratamiento aplicado. En México existe poca información de la toxicidad de los lixiviados provenientes de los rellenos sanitarios puesto que la determinación de este parámetro no es de carácter obligatorio según la legislación vigente.

En este contexto se propuso un tratamiento Fenton de tres etapas para incrementar la oxidación de la materia orgánica e inorgánica considerando que su reducción debe tener un efecto positivo en la reducción de la toxicidad. Con este objetivo, se implementó y validó la prueba de toxicidad aguda con *Daphnia magna*. Los lixiviados del relleno sanitario fueron evaluados antes y después del tratamiento Fenton experimental. Se obtuvo una reducción de la materia orgánica y de la toxicidad de 88.34% y 64.65%, respectivamente. Según los análisis realizados los probables responsables de no haber alcanzado una mayor reducción de estos dos parámetros fueron los esteroides y el nitrógeno amoniacal por lo que se recomendó diseñar un tratamiento específico para su eliminación.

ABSTRACT

The substantial increase in volume of leachates generated and accumulated in the landfill from Mérida, Yucatán poses a threat of groundwater pollution. Since groundwater is the only source of water supply to the region, the application of a cost-effective treatment that reduces leachate volume and danger is necessary. Advanced oxidation processes are suitable for wastewater treatment with high loads of organic matter such as leachates. Among them, Fenton process applied to those mixtures of multiple pollutants has reached an efficiency removal of the Chemical Oxygen Demand (COD) of about 75%, which is insufficient to reduce the organic matter up to the maximum permissible limits established by the regulations for its safe discharge to water bodies (NOM-001-SEMARNAT-1996).

On the other hand, the toxicological evaluation of the treated leachate must complement the data obtained from the chemical characterization to have a balanced view of the environmental impact that this wastewater could cause in case of leakage or spillage as well as the reduction of the toxicity of the treatment applied. In Mexico, there is little information on the toxicity of leachates from landfills probably due to determination of this parameter not being mandatory according to current legislation.

In this context, a three-stage Fenton treatment was proposed to increase the oxidation of organic and inorganic matter, considering that its reduction must have a favorable effect on the reduction of toxicity. To this end, an acute toxicity test with *Daphnia magna* was implemented and validated. Landfill leachate was evaluated before and after the experimental Fenton treatment. A reduction of organic matter and toxicity of 88.34% and 64.65%, respectively, was obtained. According to the analytical tests carried out, the most likely responsible for not having achieved a greater reduction of these parameters were sterols and ammonia, for which designing a specific treatment for their removal was suggested.

INDICE

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Objetivos	4
1.1.1. Objetivo general.....	4
1.1.2. Objetivos específicos	4
CAPITULO 2. MARCO TEORICO	5
2.1. Residuos sólidos	5
2.1.1. Residuos sólidos urbanos.....	6
2.2. Relleno sanitario	9
2.2.1. Relleno sanitario de Mérida	11
2.3. Lixiviados	14
2.3.1. Generación de lixiviado.....	14
2.3.2. Composición del lixiviado.....	14
2.3.3. Clasificación de los lixiviados.....	16
2.3.4. Biodegradabilidad del lixiviado.....	17
2.3.5. Peligrosidad de los lixiviados	18
2.4. Tratamientos para lixiviados	23
2.5. Evaluación de la toxicidad del lixiviado	30
2.5.1. Bioensayos de toxicidad	32
2.5.2. Toxicidad del efluente tratado	36
CAPITULO 3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	39
4.2. Oxidación Fenton	61
4.3. Determinación de peróxido residual.....	65
4.4. Evaluación del efecto de la filtración.....	65
4.5. Análisis cromatográfico	66
4.6. Bioensayos de toxicidad aguda.....	70

4.6.1. Prueba rápida	70
4.6.2. Prueba exploratoria.....	71
4.6.3. Prueba definitiva	72
CAPITULO 6. RECOMENDACIONES	79
REFERENCIAS.....	80

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Desechos domésticos peligrosos	7
Tabla 2. Elementos y compuestos peligrosos encontrados en los productos domésticos	8
Tabla 3. Clasificación del relleno sanitario de acuerdo con la edad	16
Tabla 4. Compuestos orgánicos xenobióticos encontrados frecuentemente en lixiviados de rellenos sanitarios	22
Tabla 5. Efectividad del tratamiento vs. características del lixiviado	24
Tabla 6. Características de la batería de los organismos de prueba utilizados en la evaluación de toxicidad de lixiviados de rellenos sanitarios	34
Tabla 7. Condiciones de la prueba con <i>D. magna</i>	54
Tabla 8. Parámetros fisicoquímicos del lixiviado	58
Tabla 9. Calidad de los lixiviados en muestreos realizados en el relleno sanitario de Mérida, Yucatán	59
Tabla 10. Parámetros de control al inicio y por etapa de tratamiento.....	61
Tabla 11. Prueba de ANOVA para la remoción por etapas.....	64
Tabla 12. Prueba de rango múltiple	64
Tabla 13. Resultados de la determinación del peróxido residual y su equivalencia a DQO	65
Tabla 14. Compuestos orgánicos identificados en lixiviado crudo y por etapa del tratamiento experimental	67
Tabla 15. Resultados de la prueba rápida.....	71
Tabla 16. Resultados de la prueba exploratoria en el lixiviado crudo.....	71
Tabla 17. Resultados de la prueba exploratoria en el lixiviado tratado	72

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Relleno sanitario de la ciudad de Mérida	13
Figura 2. Croquis del arreglo general del relleno sanitario de la ciudad de Mérida ...	13
Figura 3. Concentración de nitrógeno en mg/L	37
Figura 4.- Diagrama general de la metodología experimental.....	39
Figura 5. Imagen satelital del área de estudio.....	40
Figura 6. Recolección de lixiviado en el relleno sanitario de la ciudad de Mérida, Yucatán.....	41
Figura 7. Eliminación del lodo.	42
Figura 8. Determinación de peróxido de hidrógeno.....	44
Figura 9. Preparación del agua dulce reconstituida	47
Figura 10. Lavado de los efipios.....	48
Figura 11. Incubación de los efipios	48
Figura 12. Transferencia de neonatos de <i>Daphnia magna</i>	51
Figura 13. Incubación de la placa de prueba	52
Figura 14. Concentraciones de metales en lixiviado crudo (LC) y tratado con Fenton (LF).....	60
Figura 15. Porcentaje de remoción acumulada de DQO por etapas	62
Figura 16. Porcentajes de remoción de DQO por etapas.....	63
Figura 17. Prueba de Fisher para remoción de DQO por etapas.....	65
Figura 18. Colestan-3-ol.....	69
Figura 19. Cromatogramas de iones	70
Figura 20. Resultados de la prueba definitiva en el lixiviado crudo	72
Figura 21. Resultados de la prueba definitiva en el lixiviado tratado.....	73
Figura 22. Análisis Probit del efecto del lixiviado crudo a las 48 horas	74
Figura 23. Análisis Probit del efecto del lixiviado tratado a las 48 horas	74
Figura 24. Análisis Probit del efecto del control positivo a las 24 horas	77

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

El acelerado crecimiento demográfico, la falta de regulación y vigilancia así como los cambios en los hábitos de consumo de la población, han incrementado la cantidad de desechos sólidos que se generan en las ciudades y que deben ser recolectados y llevados a su disposición final (Badgie *et al.* 2012; Karak *et al.* 2012; Słomczyńska y Słomczyński 2004). Los rellenos sanitarios son una opción económica y sencilla de disponer de dichos residuos de manera satisfactoria, sin embargo, por el agua proveniente de las precipitaciones pluviales y la propia humedad de los residuos en proceso de estabilización se forman lixiviados tóxicos que en caso de fugarse contribuyen a la contaminación del suelo y el agua (Clark *et al.* 2015; Pastor y Hernández 2012).

Los lixiviados son mezclas acuosas complejas que contienen una gran cantidad de sustancias contaminantes (Gupta y Singh 2007) las cuales deben ser removidas mediante un tratamiento adecuado para evitar los efectos nocivos que estas aguas residuales pueden provocar en el ser humano y los organismos, así como al ambiente (Mavakala *et al.* 2016; Tatsi *et al.* 2003).

En la actualidad se dispone de una gran variedad de tratamientos para la remoción de contaminantes en aguas residuales: de transferencia, biológicos, físicos/químicos y de filtración con membrana (Wiszniewski *et al.* 2006). De entre todos ellos, la oxidación química es el método físico/químico más ampliamente estudiado para el tratamiento de efluentes que contienen compuestos orgánicos refractarios (p. ej. los lixiviados de los rellenos sanitarios) ya que los agentes oxidantes utilizados en la mayoría de estos procesos tienen la capacidad de actuar directamente sobre los contaminantes mejorando la biodegradabilidad de los compuestos orgánicos recalcitrantes (Reneu *et al.* 2008; Wang y Xu 2012; Wiszniewski *et al.* 2006). Particularmente, los procesos de oxidación avanzada (POA's) se basan en la utilización del radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), el cual es una especie química que contiene en su estructura más de un par de electrones no apareados por lo que es altamente reactivo y no selectivo, de tal forma que puede oxidar y descomponer numerosos compuestos a CO_2 e iones inorgánicos (Halliwell 1991; Wiszniewski *et al.* 2006) debido a lo cual se utiliza como una tecnología para la

estabilización de contaminantes. Una de las alternativas más eficientes dentro de los POA's, en cuanto a la relación costo-beneficio, es la oxidación por el proceso Fenton el cual consiste en agregar peróxido de hidrógeno al agua residual en presencia de sales de hierro generando especies que son fuertemente oxidantes con respecto a compuestos orgánicos y donde el radical $\cdot\text{OH}$ es considerado como la clave para la oxidación de las especies (Li *et al.* 2010b). El proceso Fenton ofrece ventajas frente a otro tipo de tratamiento de aguas residuales como lo son: la abundancia y bajo costo del hierro y la facilidad del manejo del peróxido de hidrógeno el cual se considera ambientalmente benigno (Pignatello *et al.* 2006). Además, en el proceso Fenton homogéneo todas las especies químicas se encuentran en fase acuosa por lo que no existen limitaciones de transferencia de masa (López *et al.* 2003; Pouran *et al.* 2015).

La evaluación de la toxicidad de los efluentes obtenidos por los POA's es muy importante ya que existe la posibilidad de que la oxidación parcial de los contaminantes orgánicos resulte en la formación de intermediarios aún más tóxicos que los compuestos que les dieron origen (Cotman y Gotvajn 2010) lo que iría en contra del objetivo del tratamiento. Una forma confiable y rápida para evaluar el grado de desintoxicación alcanzado en el efluente tratado son los bioensayos (Rizzo 2011). Los bioensayos permiten determinar el potencial tóxico de un contaminante o una mezcla de contaminantes en matrices acuosas complejas como los lixiviados. Las pruebas biológicas de toxicidad se basan en la medición de la respuesta de organismos indicadores expuestos a concentraciones crecientes de un agente tóxico utilizando metodologías estandarizadas que permitan la comparación de resultados (Persoone *et al.* 2009). Los organismos invertebrados *Daphnia magna* y *Daphnia pulex*, ambas especies de agua dulce, son ampliamente utilizados para los estudios de riesgo de toxicidad acuática por su sensibilidad a los contaminantes, alta tasa de reproducción y facilidad de manipulación (Silva *et al.* 2003).

Este trabajo de investigación aborda la problemática que se presenta en el relleno sanitario de la ciudad Mérida, Yucatán en el cual los volúmenes de lixiviado tóxico generado cada vez son mayores lo que representa un riesgo potencial a la salud y al ambiente. Aunque se han realizado diversos estudios en estos lixiviados utilizando el proceso de oxidación avanzada Fenton los resultados obtenidos han sido insuficientes

para permitir la descarga segura de esta agua residual, por lo que el presente trabajo consideró la optimización de este tratamiento a través de la aplicación de tres etapas sucesivas de oxidación con la finalidad de reducir la materia orgánica, y por ende, la toxicidad de los lixiviados. En este sentido, se propuso la implementación y validación de un bioensayo de toxicidad aguda con invertebrados acuáticos que permitiera evaluar de forma rápida y sencilla la eficiencia de la reducción de la toxicidad obtenida con el tratamiento.

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo general

Evaluar la toxicidad de los lixiviados del relleno sanitario de Mérida, Yucatán tratados con el proceso de oxidación avanzada Fenton.

1.1.2. Objetivos específicos

- Optimizar el proceso Fenton homogéneo convencional mediante la aplicación de tres etapas sucesivas de oxidación.
- Realizar la caracterización preliminar de los componentes posiblemente tóxicos del lixiviado crudo y tratado.
- Implementar y validar la prueba de toxicidad aguda para la determinación de la CE₅₀ en los organismos de prueba *Daphnia magna*.
- Evaluar la eficiencia del tratamiento Fenton en la reducción de la toxicidad del lixiviado.

CAPITULO 2. MARCO TEORICO

2.1. Residuos sólidos

Un residuo sólido se define como aquel material producido por actividades humanas y que no tiene utilidad ni valor económico para el propietario o poseedor por lo que es desechado (Read 1999).

De manera general, los residuos sólidos incluyen: material degradable (papel, textiles, desechos de comida y jardinería, etc.), material parcialmente degradable (madera, pañales, pieles, etc.) y material no degradable (plásticos, metales, vidrio, pinturas, desechos electrónicos e industriales, etc.) (Gupta y Singh 2007).

Los procesos productivos y de consumo originan diferentes tipos de desechos que poseen propiedades físicas y químicas muy heterogéneas. Según Pichtel (2005) una completa clasificación de residuos incluye:

- Municipales
- Peligrosos
- Industriales
- Médicos
- Universales
- De la construcción y demolición
- Radioactivos
- De la minería
- De la agricultura

Independientemente de su tipo y origen, los residuos reflejan la utilización imperfecta e incompleta de la materia prima en crudo por el hombre lo que representa una importante fuga de recursos para el planeta además de traducirse en cuantiosas pérdidas económicas para el ser humano. Asimismo, el desaprovechamiento parcial de los recursos naturales es origen de nuevos desafíos para el desarrollo sustentable de la sociedad moderna entre los cuales el manejo eficiente de los residuos sólidos generados es una necesidad crítica y prioritaria por lo que las políticas ambientales en

materia del manejo de los residuos se han convertido en un asunto de interés social y político alrededor del mundo y origen de grandes debates (Badgie *et al.* 2012; Karak *et al.* 2012; Read 1999; Shekdar 2009).

El manejo de los residuos abarca un amplio rango de actividades desde la fuente hasta su eliminación o disposición final y se define como el proceso mediante el cual los productos generados por las actividades domésticas, negocios e industrias son recolectados, almacenados, transportados, tratados, dispuestos, reciclados o reusados (Schiopu y Gavrilescu 2010a).

A nivel internacional, la implementación de las políticas ambientales para el manejo de residuos claramente ha tenido dificultades prácticas (disponibilidad de rellenos sanitarios, costos, financiamiento, tendencias históricas en la gestión de residuos, privatización, etc.) las cuales varían de un país a otro y de región en región (Abas y Wee 2014; Read 1999).

2.1.1. Residuos sólidos urbanos

Los residuos sólidos urbanos (RSU) se definen como aquellos materiales que son desechados dentro del área urbana (Read 1999) y cuya generación puede provenir de diversas fuentes: residencial (casa habitación), comercial (oficinas, restaurantes, tiendas), institucional (hospitales, universidades, escuelas), industrial (área administrativa de fábricas y residuos no peligrosos) y área pública (calles, parques).

Debido al rápido incremento de la población, la urbanización y la industrialización, así como por los cambios en los hábitos de consumo se ha incrementado considerablemente la generación de desechos sólidos urbanos, tanto en volumen total como *per cápita* (Karak *et al.* 2012; Renou *et al.* 2008).

El destino final de los RSU en la mayoría de los países en desarrollo son los tiraderos a cielo abierto, incineración y rellenos sanitarios frecuentemente manejados o diseñados de forma incorrecta o que han llegado a su capacidad máxima (Buenrostro y Bocco 2003; Jayarama 2011; Reneu *et al.* 2008).

Por otra parte, los residuos domésticos constituyen casi dos terceras partes de los RSU de los cuales la mayoría son depositados en los rellenos sanitarios a nivel

internacional (Slack *et al.* 2004). Los residuos domésticos contienen diversas sustancias potencialmente peligrosas para la salud humana y el ambiente y provienen de productos domésticos de uso común como pinturas, productos para mantenimiento de vehículos, residuos conteniendo mercurio, productos farmacéuticos, plaguicidas para jardín, baterías, madera tratada, etc. y cuya disposición no está estrictamente controlada por regulaciones para residuos peligrosos por lo que son desechados en forma conjunta con los residuos domésticos generales (Slack *et al.* 2004). Otros generadores como hospitales e industria aportan sustancias y componentes tóxicos (Pastor y Hernández 2012) aunque, por lo general, se encuentran más regulados (Buenrostro y Bocco 2003). En la Tabla 1 se enlistan los desechos domésticos peligrosos más comunes.

Tabla 1. Desechos domésticos peligrosos

Residuos
Aerosoles
Artículos de cuidado personal
Baterías (Ni-Cd, Pb, Hg)
Destapacaños
Limpiadores de hornos
Limpiadores y abrillantadores de metales
Aceite no comestible
Aditivos para combustibles de automóvil
Solventes de grasa y óxido
Limpiadores de inyectores de combustible y carburadores
Refrigerantes de aires acondicionados
Fluidos de arranque
Pinturas, tintas, resinas y adhesivos
Diluyentes de pinturas
Removedores de pintura
Detergentes conteniendo sustancias peligrosas
Herbicidas
Plaguicidas
Fotoquímicos
Fungicidas y conservadores de maderas
Materiales que contienen asbesto
Focos fluorescentes y otros productos conteniendo mercurio como termómetros, amalgamas, barómetros
Productos farmacéuticos
Equipo eléctricos y electrónicos

Fuente: Adaptado de Pichtel (2005)

Existe una amplia variedad de sustancias potencialmente peligrosas provenientes de los desechos domésticos comunes, en la Tabla 2 se presentan algunas de estas.

Tabla 2. Elementos y compuestos peligrosos encontrados en los productos domésticos

Ingrediente	Encontrado en:
Ácido acrílico	Adhesivos
Anilina	Cosméticos (perfumes)
Óxido de arsénico III	Pinturas
Benceno	Limpiadores domésticos, cosméticos, adhesivos
Cadmio	Baterías de Ni-Cd, pinturas, químicos fotográficos
Clorando	Mascotas (polvos anti pulgas)
Fenoles clorados	Pintura de látex
Cloro benceno	Limpiadores domésticos (desengrasantes)
Hexacloroetano	Repelentes de insectos
Plomo	Baterías de autos, pinturas, barnices
Mercurio	Baterías, pinturas, lámparas fluorescentes
Metileno clorado	Limpiadores domésticos, removedores de pintura, adhesivos
Nitrobenceno	Pulidor de calzado
Plata	Baterías, químicos fotográficos
Warfarina	Control de roedores
Xileno	Fluidos de transmisión, tratamiento de máquinas (desengrasador), pinturas, adhesivos, micropelículas, cosméticos

Fuente: Adaptado de Pichtel 2005

2.1.1.1. Situación en México

Se estima que el promedio nacional de generación de residuos sólidos urbanos es de 0.86 kg/hab/d (INEGI 2016). Según datos presentados por la SEMARNAT (2012) en México se generaron alrededor de 41 millones de toneladas de RSU, lo que equivale a cerca de 112,500 toneladas diarias.

La Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos (2015) estipula que la disposición final de los residuos debería estar limitada sólo a aquellos cuya valorización o tratamiento no sea económicamente viable, tecnológicamente factible y ambientalmente adecuada; sin embargo, según datos estadísticos presentados por la SEMARNAT (2012) esto no se aplica así y un alto porcentaje de los residuos sólidos que son generados cotidianamente son llevados directamente a su disposición final sin que sean aprovechados mediante acciones de reutilización, remanufactura,

rediseño, reciclado y recuperación de materiales secundarios o de energía. De hecho, se estima que la tasa de reciclaje de los residuos sólidos municipales colectados en México es de 0.68% únicamente (Buenrostro y Bocco 2003).

En nuestro país se estima que, de la cantidad de RSU que es enviada a disposición final, el 60.54% es dispuesta en rellenos sanitarios y sitios controlados, el 15.93% en tiraderos a cielo abierto y el 2.07% restante se desconoce dónde se deposita. (SEMARNAT 2012).

2.2. Relleno sanitario

El relleno sanitario es una obra de ingeniería para la disposición de residuos sólidos que utiliza un diseño tecnológico para controlar y minimizar los impactos potenciales al ambiente. Normalmente se encuentra al nivel de suelo o contenido en lugares excavados (Sabahi *et al.* 2009) previa cuidadosa selección, diseño y preparación del sitio más adecuado para ubicarlo (Jaramillo 2002; World Health Organization/Istituto per i Rapporti Internazionale di Sanita 1993). Ahí los desechos sólidos municipales son esparcidos en delgadas capas las cuales son compactadas al menor volumen práctico el cual es recubierto periódicamente (Qasim y Chiang 1994).

Los rellenos sanitarios bien manejados son una opción económica y sencilla de disponer de dichos residuos de manera satisfactoria ya que permite la descomposición de los residuos de manera controlada hasta su transformación a residuos inertes y material estabilizado previniendo así la liberación de contaminantes al ambiente con las consecuentes afectaciones a la salud de la población y a los ecosistemas (Jaramillo 2002).

Los rellenos sanitarios cuentan con un sistema de captación y transporte de lixiviados hacia los depósitos de almacenamiento desde donde se bombean hacia las instalaciones para su tratamiento (Pitchel 2005; Schiopu y Gavrilescu 2010a). El método para manejar el lixiviado determinará el riesgo asociado con la contaminación de acuíferos subterráneos. Algunas de las prácticas para el manejo del lixiviado son: la descarga a un sistema de tratamiento de aguas residuales fuera del sitio, la evaporación natural o inducida, la recirculación y el tratamiento en el terreno (Schiopu y Gavrilescu 2010b).

La forma de manejo de lixiviados que se aplica comúnmente en los rellenos sanitarios del país y en Latinoamérica es la evaporación por radiación solar mediante la utilización de estanques o lagunas de evaporación y cuando se tiene un excedente de lixiviados se aplica en forma de riego sobre las celdas de residuos sólidos de los rellenos o se inyecta en los pozos de ventilación de biogás. La recirculación del lixiviado como método de tratamiento consiste en regresar el lixiviado al relleno con lo cual se logran algunas ventajas en el funcionamiento del relleno sanitario: se mejora la calidad del lixiviado, se reduce el volumen del lixiviado por evaporación o absorción por los desechos, se reducen los costos por conceptos de operación de tratamiento, se acorta el tiempo requerido para la estabilización, se reduce el volumen de los residuos alargando el tiempo de vida útil del relleno, etc. (Reinhart y Al-Yousfi 1996; Schiopu y Gavrilesco 2010b; Tatsi *et al.* 2003). Sin embargo, es importante señalar que, aunque la fracción orgánica de lixiviados puede ser reducida en gran medida al efectuar la recirculación, otros constituyentes del lixiviado no son removidos, o por lo menos, no en forma significativa, tales como: nitrógeno amoniacal, cloro y metales (Medina 2006). La recirculación de lixiviados es una opción muy apropiada para rellenos sanitarios ubicados en zonas de pluviometría baja, mientras que en las zonas lluviosas se reserva para determinadas épocas del año, siempre y cuando el balance hidrológico no implique generación de exceso de agua (Medina 2006).

Ventajas del relleno sanitario

El relleno sanitario es un método completo y definitivo para el confinamiento de todo tipo de desechos sólidos y tiene diversas ventajas:

- Tiene bajos costos de operación y mantenimiento.
- Evita los problemas de cenizas y materiales que no se descomponen.
- Solución para municipios agobiados por los costos, humos, olores, plagas, molestias públicas que se generan con otros métodos de eliminación de basura.
- Puede ubicarse cerca del área urbana reduciendo costos de transporte y facilitando la supervisión por parte de la comunidad.
- Permite utilizar terrenos considerados improductivos, convirtiéndolos luego en áreas recreativas (Jaramillo 2002; Schiopu y Gavrilesco 2010a).

No obstante las diversas ventajas que tienen los rellenos sanitarios, la operación de los mismos es un factor crítico para su sostenibilidad ambiental (Noguera y Olivero 2010) donde la utilización de los gases emitidos a la atmósfera, principalmente metano y dióxido de carbono, para generar biogás es recomendable; y la prevención y control de fugas de lixiviados tóxicos que pueden contaminar el suelo y el agua subterránea es necesaria (Gupta *et al.* 2015; Tatsi *et al.* 2003) ya que la cantidad de lixiviados que se generan depende principalmente del agua proveniente de la lluvia pudiendo llegar a fugarse al rebasar la capacidad de las lagunas de evaporación del relleno (riesgo que aumenta considerablemente en época de lluvias) y alcanzar los cuerpos de agua.

Asimismo, si no se realiza una correcta cubierta e impermeabilización de las celdas existe el riesgo de fugas de lixiviados (Schiopu y Gavrilesco 2010a). El riesgo de contaminación por lixiviado depende en gran medida del mantenimiento de la integridad de la barrera de contención y de la eficiencia del tratamiento del lixiviado (Schiopu y Gavrilesco 2010a; Schwarzbauer *et al.* 2002). Un tratamiento inefectivo o descarga del lixiviado a aguas particularmente sensibles también es un riesgo de contaminación para el acuífero (Silva *et al.* 2004) por lo que la aplicación de tratamientos efectivos para la descontaminación de los lixiviados hasta alcanzar estándares de calidad química y biológica suficientes que permitan su descarga segura al medio ambiente es necesaria y altamente deseable (NMX-AA-087-1995-SCFI; NOM-001-SEMARNAT-1996).

2.2.1. Relleno sanitario de Mérida

El relleno sanitario de la ciudad de Mérida, Yucatán es el único sitio oficial y autorizado para la disposición final de los desechos sólidos generados en la ciudad.

Como justificación para la elección del sitio para su construcción se consideraron los siguientes aspectos: se determinó un área global dentro del municipio para preseleccionar los sitios probables del proyecto, para realizar esto se tomaron en cuenta los diversos factores especificados en la Norma Oficial Mexicana NOM-083-SEMARNAT-1996 que establece las condiciones que deben reunir los sitios destinados a la disposición final de los residuos sólidos municipales. Dada la uniformidad de la morfología en la estructura del subsuelo que existe en toda la

superficie del municipio, uno de los principales criterios que se utilizó para la selección del área global fue la dirección del flujo del acuífero, así como las distancias de la zona de captación de agua potable y a las áreas naturales protegidas. Por lo tanto, el área seleccionada fue la situada fuera del anillo periférico de la ciudad, al oeste y noroeste del municipio. Dentro del área global el sitio elegido mostró ser la mejor opción debido a que los vientos dominantes proceden del este y del sureste, la dirección de flujo de agua subterránea es del sureste al noroeste (González y Gómez 2013); y cumple con todos los criterios establecidos en la norma ya referida con excepción de las características del subsuelo, ya que el tránsito de infiltración natural es mayor a lo establecido en la normatividad aunque, y de acuerdo a lo que la misma norma permite, se puede garantizar mediante obras de ingeniería que no exista conexión con los acuíferos subterráneos. Tomando esto en consideración se utilizó para su construcción una sucesión de capas de polietileno de alta densidad con la finalidad de impermeabilizar el suelo soporte y evitar la infiltración de lixiviados hacia el manto acuífero. El material filtrante se acomodó en capas de 15 cm de grava para facilitar el drenaje de los lixiviados, los cuales se evacuan mediante tuberías perforadas de polietileno de 6" de diámetro. Así, los lixiviados procedentes de los once cárcamos de las celdas que conforman el relleno sanitario se transportan a las siete lagunas de evaporación, las cuales han sido diseñadas con un sistema de triple impermeabilización, para posteriormente permitir la evaporación de los lixiviados y realizar la recirculación de los mismos en el relleno (Archundia, 2000). A pesar de no existir ningún otro tratamiento adicional, hasta la fecha no han existido mayores dificultades en cuanto a este manejo ya que en época de seca el volumen de lixiviado en las lagunas llega a niveles mínimos, que incluso no abastece para humedecer las celdas del relleno; naturalmente que en época de lluvias la cantidad acumulada de lixiviado en las lagunas alcanza el volumen crítico, por lo que se hace necesario encontrar nuevos mecanismos de tratamiento (Giácoman y Quintal 2006) por medio de los cuales se pueda reducir el volumen necesario de almacenamiento y el grado contaminante del lixiviado para evitar una eventual contaminación del manto freático el cual, por las características hidrogeológicas de la región, es muy vulnerable a la contaminación (González y Gómez 2013) debido a que el suelo está conformado de

rocas calcáreas, lo que da lugar a fracturas y fisuras haciéndolo altamente permeable, además de que el nivel freático del acuífero se encuentra a menos de 8 m de la superficie por lo que los lixiviados podrían filtrarse rápidamente hasta alcanzar el manto freático con el consecuente deterioro de la calidad del agua subterránea, única fuente de abastecimiento de agua dulce para los habitantes de la ciudad (Pérez y Pacheco 2004) así como también por las posibles afectaciones al ambiente (Foster *et al.* 2002).



Figura 1. Relleno sanitario de la ciudad de Mérida

El relleno sanitario cuenta con las instalaciones necesarias para el control del acceso así como para las actividades que ahí se realizan. La primera etapa (RS1) ya se encuentra clausurada y actualmente opera la segunda etapa (RS2) (Figura 2).



Figura 2. Croquis del arreglo general del relleno sanitario de la ciudad de Mérida

2.3. Lixiviados

Un lixiviado se define como el líquido que se genera por la liberación del agua de los propios residuos sólidos y por la percolación de agua pluvial a través de los estratos de residuos sólidos que se encuentran en fase de descomposición facilitando la transferencia de contaminantes de la fase sólida a la líquida y convirtiéndose en aguas residuales altamente contaminadas (Gupta y Singh 2007).

La apariencia física de los lixiviados de un sitio de relleno sanitario típico es de color café o negruzco y el olor es penetrante y ofensivo, el fuerte olor acre es característico de la presencia de compuestos sulfurados como es el caso del mercaptano (Mavakala *et al.* 2016; Pohontu *et al.* 2010; Schiopu y Gavrilescu 2010b).

La dificultad para encontrar el tratamiento adecuado para estos efluentes radica en su heterogeneidad en producción y composición, lo que a su vez depende de muchos factores (Kang *et al.* 2002; Rivas *et al.* 2005a).

2.3.1. Generación de lixiviado

La producción de lixiviados comienza en etapas muy tempranas del relleno y continúa hasta por décadas aún después de clausurado (Mahmud *et al.* 2011). En general, se ha encontrado que la cantidad de lixiviado es una función directa de la cantidad de agua externa que entra al relleno sanitario. De hecho, si un relleno sanitario es construido de manera adecuada, la producción de lixiviado se puede reducir sustancialmente lo cual es altamente deseable desde el punto de vista ambiental (Tchobanoglous *et al.* 1994)

2.3.2. Composición del lixiviado

El lixiviado de un relleno sanitario es un agua residual compleja (Kjeldsen *et al.* 2002; Méndez *et al.* 2005; Öman y Junestedt 2008; Uygur 2004) con considerables variaciones en su flujo volumétrico y su composición (Mor 2006; Reneu *et al.* 2008; Rivera *et al.* 2013) lo que a su vez depende de la composición de la basura que le dio origen, de los procesos de reacción bioquímica según la edad del lixiviado y de las condiciones de manejo del lixiviado. De acuerdo con lo anterior, la concentración y composición de contaminantes en el lixiviado pueden ser muy diferentes según las

condiciones antes mencionadas influyendo de manera importante la edad del relleno (Erkan y Apaydin 2015).

Asimismo, es importante señalar que las características y composición de los lixiviados varían incluso dentro de un mismo relleno sanitario dado que pueden coexistir las etapas aerobias de los frentes de trabajo de los rellenos, con las fases acidogénicas de las primeras semanas del relleno y con las metanogénicas que siguen a la fase ácida (Kjeldsen *et al.* 2002). Otro factor que interviene en la composición el lixiviado es el clima de la región, principalmente la temperatura, ya que en climas cálidos y tropicales las reacciones ocurren con mayor velocidad (Xing *et al.* 2008).

La composición específica de cada lixiviado determina su tratabilidad por lo que deberán realizarse los estudios correspondientes para cada caso en particular (Tatsi y Zouboulis 2002).

2.3.2.1. Determinaciones analíticas aplicadas a lixiviados

Según Christensen *et al.* (1994) el lixiviado puede ser caracterizado en base a cuatro grupos de contaminantes:

- Materia orgánica disuelta expresada como demanda química de oxígeno (DQO) o carbono orgánico total (COT) incluyendo el metano y el ácido acético volátil.
- Componentes orgánicos antropogénicos, asociados al uso doméstico e industrial, presentes generalmente en muy bajas concentraciones. Estos componentes incluyen hidrocarburos aromáticos, solventes clorados y fenoles, entre otros.
- Componentes macroinorgánicos como el calcio, magnesio, potasio azufre y bicarbonatos.
- Metales pesados y traza como el cadmio, cromo, cobre, manganeso, plomo y zinc.

Para la caracterización química de los lixiviados se emplean los mismos métodos empleados para las aguas residuales (APHA-AWWA-WPCF 1998).

Para determinar adecuadamente la peligrosidad de un lixiviado se debe realizar, además de la caracterización química, la caracterización toxicológica (Słomczyńska y Słomczyński 2004).

2.3.3. Clasificación de los lixiviados

Los lixiviados se pueden clasificar dependiendo del tiempo de operación del relleno sanitario, particularmente de la celda del relleno de la cual provengan.

En la Tabla 3 se presenta la clasificación de los lixiviados así como sus características más importantes según su edad. Cabe mencionar que, por las prácticas de manejo locales de lixiviados en los diferentes rellenos sanitarios, puede darse una mezcla lixiviados de diferentes edades lo que le confiere características mixtas.

Tabla 3. Clasificación del relleno sanitario de acuerdo con la edad

	Joven	Intermedio	Maduro
Edad (años)	<5	5-10	>10
pH	6.5	6.5-7.5	>7.5
DQO (mg/L)	>10,000	4,000-10,000	<4,000
DBO/DQO	>0.3	0.1-0.3	<0.1
Compuestos orgánicos	80% ácidos grasos volátiles (VFA)	5-30% VFA + ácidos húmicos y fúlvicos	Ácidos húmicos y fúlvicos
Metales pesados	Bajo-medio		Bajo
Biodegradabilidad	Importante	Media	Bajo

Fuente: Renou *et al.* 2008

Los lixiviados jóvenes tienden a ser ácidos debido a la presencia de ácidos grasos volátiles con un pH normalmente en el rango de 6-7 o más bajo. En general, los lixiviados jóvenes están más contaminados que los viejos; la DBO₅ puede alcanzar hasta 81,000 mg/L para muestras jóvenes y 4,200 mg/L para muestras viejas (Aziz *et al.* 2007; Bashir *et al.* 2009). Los lixiviados estabilizados muestran las menores propiedades de biodegradabilidad con un índice de biodegradabilidad (IB) debajo de 0.1 (Rivas *et al.* 2005b).

El desconocimiento del cambio de la concentración en función del tiempo de los contaminantes presentes en los lixiviados, constituye una causa para la carencia de métodos convencionales de tratamiento de lixiviados para alcanzar los niveles de

depuración requeridos en la conservación del medio ambiente y aportar criterios para mejorar la gestión de los rellenos sanitarios (Vásquez *et al.* 2008).

2.3.4. Biodegradabilidad del lixiviado

La biodegradación de los residuos es un término que describe la conversión de los desechos por el proceso biológico enzimático a moléculas inorgánicas simples (mineralización) y materiales biológicos. Usualmente los productos de la biodegradación son formas moleculares que tienden a ocurrir en la naturaleza. La biodegradabilidad de un compuesto está influenciada por sus características físicas, tales como solubilidad en agua, presión de vapor, así como por sus propiedades químicas incluyendo la masa molecular, la estructura molecular y la presencia de varios tipos de grupos funcionales. Con los organismos apropiados y bajo las condiciones correctas, sustancias como los fenoles que son consideradas biocidas para la mayoría de los organismos pueden someterse a la biodegradación. Las sustancias recalcitrantes o biorefractarias son aquellas que se resisten a la biodegradación y son persistentes y acumulativas en el ambiente. Tales materiales no son necesariamente tóxicos para los organismos, simplemente se resisten al ataque metabólico.

El índice de biodegradabilidad (DBO_5/DQO) refleja el estado de degradación en los lixiviados producidos y el proceso de reacción bioquímica que tiene lugar en el sitio donde se encuentran dispuestos (Vásquez *et al.* 2008). La composición del lixiviado y por lo tanto su biodegradabilidad pueden variar considerablemente de un lugar a otro y aún en el mismo sitio durante las diferentes estaciones del año. La DBO_5 decrece más rápidamente que la DQO , la cual permanece en el lixiviado debido a la presencia de material orgánico refractario (Yokoyama *et al.* 2009). Así la biodegradabilidad del lixiviado varía también con el tiempo y se ven reflejada en la relación DBO_5/DQO . En un relleno nuevo la relación estará en un rango de 0.3 o más, lo cual es indicativo de que la materia orgánica en los lixiviados es fácilmente biodegradable (0.1 a 0.3), en cambio, en los rellenos antiguos la relación se encuentra en un rango de 0.05 a 0.1, atribuido a que los lixiviados contienen ácidos húmicos y fúlvicos que no son fáciles de biodegradar. Sin embargo, aunque una cantidad considerable de la materia orgánica

recalcitrante corresponde a las sustancias húmicas y fúlvicas, que no representan un riesgo toxicológico, otra fracción pertenece a compuestos sintéticos como aromáticos, alifáticos, fenoles, compuestos alicíclicos (ácidos, alquilos, compuestos orgánicos con sustitución de nitrógeno y halógenos) y fosfatos esterificados entre los contaminantes orgánicos frecuentemente detectados (Monje y De Velázquez 2004).

2.3.5. Peligrosidad de los lixiviados

Los lixiviados de rellenos sanitarios son considerados en la normatividad mexicana como residuos peligrosos (NOM-052-SEMARNAT-2005) por lo que es necesario realizar su caracterización para conocer el potencial contaminante en cada sitio de disposición. Los lixiviados que se originan en los depósitos de los residuos sólidos municipales contienen una amplia variedad de componentes peligrosos, como metales pesados y compuestos orgánicos xenobióticos, los cuales pueden ser tóxicos, corrosivos, flamables, reactivos, carcinogénicos, teratogénicos, mutagénicos y ecotóxicos entre otros riesgos y pueden ser además bioacumulativos y persistentes (Radetski *et al.* 2004; Slack *et al.* 2004; Slack *et al.* 2005; Ward *et al.* 2002). De hecho, además de que los compuestos xenobióticos presentes en los lixiviados pueden causar efectos mutagénicos y genotóxicos en la biota acuática (disrupción endocrina y problemas reproductivos en peces), estos efectos se pueden extender a los animales y humanos a través de la cadena alimenticia (Noaksson *et al.* 2005; Sánchez *et al.* 2007; Sang *et al.* 2006). Asimismo, un incremento de afectaciones a la salud tales como bajo peso al nacer, defectos de nacimiento y ciertos tipos de cáncer han sido reportados en personas que viven cerca de rellenos sanitarios (Vrijheid 2000).

Además, es importante considerar que debido a su toxicidad los contaminantes orgánicos e inorgánicos presentes en altas concentraciones en los lixiviados tienen un efecto inhibitorio sobre los microorganismos utilizados en el tratamiento de lodos activados, por lo tanto, se dificulta el tratamiento biológico (Kilic *et al.* 2014).

Por otra parte, el nitrógeno amoniacal es producido en concentraciones más elevadas que los compuestos orgánicos xenobióticos y aunque no es clasificado como peligroso posee el potencial de actuar como uno de los contaminantes más dominantes en el

ambiente y se genera en los rellenos sanitarios que contienen residuos putrescibles (Christensen *et al.* 2001).

Los lixiviados contienen una mezcla de contaminantes tales como:

1. Contaminantes inorgánicos (amonio, calcio, magnesio, sodio, potasio, hierro, sulfatos, cloruros, metales pesados).
2. Compuestos orgánicos (materia orgánica disuelta, ácidos grasos volátiles, compuestos húmicos y fúlvicos y xenobióticos orgánicos).
3. Microorganismos patógenos (Schiopu y Gavrilescu 2010b).

Cabe mencionar que un gran número de sustancias químicas que puede esperarse estén presentes en el lixiviado se encuentran en concentraciones que están por debajo de los límites de detección de los métodos analíticos estándar. A pesar de ello, estas bajas concentraciones no eliminan la amenaza ambiental que estos representan ya que muchas sustancias que puede asumirse que son peligrosas lo son aún en pequeñas cantidades y frecuentemente tienen efectos negativos causados por sus múltiples interacciones antagónicas, sinérgicas y aditivas en los organismos vivos (Alimba *et al.* 2012; Öman y Junestedt 2008).

Mediante modernas técnicas químicas tales como cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM), cromatografía de líquidos-espectrometría de masas (CL-EM), cromatografía de líquidos-resonancia magnética nuclear (CL-RMN) ha sido posible detectar cantidades cada vez mayores de contaminantes presentes en los lixiviados, sin embargo, el instrumental y los análisis son costosos y, en varios casos, solo un pequeño porcentaje de los contaminantes orgánicos pueden ser identificados (Ma *et al.* 2005).

2.3.5.1. Contaminantes inorgánicos

Los elementos inorgánicos contenidos en el lixiviado son aquellos contaminantes que no contienen carbono y que están presentes en un amplio rango de concentraciones tales como: metales pesados (a concentraciones relativamente bajas), sales, arsénico, elementos radiactivos, etc. (Schiopu y Gavrilescu 2010b).

Debido a su naturaleza peligrosa, los metales pesados encontrados en la fracción inorgánica son de particular interés (Öman y Junestedt 2008). La presencia de los metales pesados en los lixiviados constituye un problema serio de contaminación debido a las propiedades tóxicas de esos metales (Barbier *et al.* 2005) y sus efectos adversos sobre la calidad del agua en el no poco frecuente caso de que logren alcanzar los cuerpos de agua naturales.

Los metales pesados, tales como cadmio, cromo, cobre, plomo, níquel y zinc, se pueden encontrar en los lixiviados en forma disuelta (iones libres no asociados), formando complejos orgánicos e inorgánicos o asociados a coloides siendo afectados por el pH de la disolución (Tchobanoglous *et al.* 1994).

Debido a su extrema toxicidad a los organismos vivos el cadmio, el plomo y el mercurio son considerados los tres iones metálicos más peligrosos ya que son ajenos a la vida. El cobre, hierro, manganeso, zinc y cromo son elementos traza esenciales, pero en grandes concentraciones resultan dañinos.

Es usual que en los ambientes contaminados se encuentren presentes varios metales en lugar de uno solo. Numerosos estudios han señalado que existen relaciones sinérgicas y antagónicas entre los metales tales como Cd-Zn, Cu-Ag, Cu-Mn, Cd-Se y Hg-Se. Canizares *et al.* (2000) reportaron que el cadmio y el cobre son los metales más tóxicos para los invertebrados de agua dulce mientras que el zinc es altamente tóxico para ellos.

Asimismo, el amoníaco liberado por los desechos principalmente proveniente por la descomposición de las proteínas puede estar presente en concentraciones arriba de 2,000 mg/L y puede persistir a altas concentraciones (>100 mg/L) en el lixiviado durante décadas (USEPA 1984; Christensen *et al.* 2001; Öman y Junestedt 2008; Schiopu y Gavrilescu 2010b).

El amoníaco tiene un impacto ambiental negativo a través de la toxicidad, en concentraciones mayores a 100 mg/L pueden estimular el crecimiento algal, inhibir la nitrificación y tener efectos tóxicos en organismos vivos (Schiopu y Gavrilescu 2010b). El amoníaco (NH_3) se encuentra en equilibrio químico con el amonio (pK_a 9.24 a 25°C)

y tiene un probado efecto primario de alta toxicidad, tanto aguda como subaguda, en organismos acuáticos.

La prueba de toxicidad aguda CL_{50}/CE_{50} para invertebrados de agua dulce ha sido encontrada con una variación de entre 0.53 a 22.8 mg de NH_3/L en ensayos que utilizaron 18 especies de invertebrados. La prueba de toxicidad aguda (96 h CL_{50}) para peces de agua dulce varió de entre 0.083 y 4.60 mg NH_3/L utilizando 29 especies de peces (USEPA 1989).

2.3.5.2. Contaminantes orgánicos

Los lixiviados en el relleno arrastran a su paso material soluble y en suspensión, fijo o volátil, lo que provoca que tengan elevadas cargas orgánicas. Varios estudios indican que el carbono orgánico en forma coloidal tiene el potencial de adsorber altas concentraciones de metales en su superficie, por lo que actúan como transporte de metales traza en los lixiviados (Dearlove 1993).

Estudios realizados sobre la cantidad y concentración de los químicos orgánicos en los lixiviados de los rellenos sanitarios concluyen que compuestos químicos orgánicos tóxicos y carcinogénicos están presentes en los lixiviados de los rellenos sanitarios considerados (Schiopu y Gavrilescu 2010b; una gran variedad de compuestos orgánicos xenobióticos y sus productos de degradación han sido encontrados en un amplio rango de concentraciones (Baun *et al.* 2004). En la Tabla 4 se presenta una lista de compuestos orgánicos xenobióticos encontrados frecuentemente en lixiviados de rellenos sanitarios (Christensen *et al.* 2001).

Por otra parte, debido al desarrollo de las capacidades técnicas y analíticas ha sido posible incrementar la diversidad de compuestos orgánicos identificados en los lixiviados, de forma reciente, un nuevo grupo de contaminantes clasificados como contaminantes de preocupación emergentes (CECs), entre los que se incluyen hormonas, esteroides de plantas y animales, etc., han sido estudiados en lixiviados frescos (de reciente formación, sin ningún tipo de almacenamiento) lo que es un paso importante para el entendimiento de los rellenos sanitarios como fuente de CECs (Masoner *et al.* 2016).

Tabla 4. Compuestos orgánicos xenobióticos encontrados frecuentemente en lixiviados de rellenos sanitarios

Compuesto	Rango ($\mu\text{g/L}$)
<i>Hidrocarburos aromáticos</i>	
Benceno	1-1,630
Tolueno	1-12,300
Xilenos	4-3,500
Etil benceno	4-250
Naftaleno	0.1-260
<i>Hidrocarburos halogenados</i>	
Cloro benceno	0.1-110
1-2 dicloro benceno	0.1-32
1-4 dicloro benceno	0.1-16
1,1,1,-Tricloroetano	0.1-3,810
Tricloroetileno	0.7-750
Tetracloroetileno	0.1-250
Metileno clorado	1-64
Cloroformo	1-70
<i>Fenoles</i>	
Fenol	1-1,200
Cresol	1-2,100
<i>Plaguicidas</i>	
Mecoprop ^a	2.0-9
<i>Misceláneos</i>	
Acetona	6-4,400
Diethyltalato	10-660
Di-n-butiltalato	5-15
Tri-n-butilfosfato	9-430
Camfor ^b	1.2-360

^a ácido 2-(2-metil-4-clorofenoxi) propiónico (MCP)P)

^b 1,7,7, trimetil-biciclo[2.2.1]-heptan-2-ona

Finalmente cabe destacar que, como resultado de la migración y transporte de lixiviado, cerca de 1,000 químicos orgánicos han sido hallados en aguas subterráneas contaminadas por lixiviados de los rellenos sanitarios. Más de 200 compuestos orgánicos han sido identificados como frecuentes y pueden ser considerados como contaminantes de agua subterránea con casi 35 compuestos con potencial de causar daño al ambiente y la salud del ser humano. Por ejemplo, la identificación de farmacéuticos, productos de cuidado personal y otros diversos compuestos como

ácidos alifáticos, ácidos alicíclicos, ácidos aromáticos, compuestos alifáticos neutrales, compuestos fenólicos, ésteres fosfato, ésteres ftalatos, compuestos aromáticos clorados, y compuestos heterocíclicos deberían ser sujetos a análisis de riesgo y aplicar las acciones de remediación conducentes. Durante 1990 los compuestos como el bisfenol A, ésteres ftalatos y nonilfenol considerados como posibles disruptores hormonales y más recientemente compuestos activos farmacéuticos y fragancias artificiales, aromáticos volátiles, aromáticos sulfonados, hidrocarburos volátiles clorados, fenoles y cresoles han sido identificados y son motivo de preocupación por lo que se encuentran bajo estudio (Gong *et al.* 2014; Schiopu y Gavrilescu 2010b; Yasuhara *et al.* 1997).

2.3.5.3. Patógenos

Los rellenos sanitarios ofrecen un ambiente complejo donde un amplio rango de compuestos naturales y sintéticos provee el medio para el desarrollo de una gran diversidad de organismos vivos. Las principales fuentes de patógenos son los pañuelos faciales, pañales, heces de mascotas, residuos de alimentos, etc. Además, estas aguas residuales pueden estar contaminadas con residuos industriales y biomédicos incrementando el número de microorganismos.

El lixiviado contiene bacterias (coliformes, coliformes fecales, *Pseudomona aeruginosa* y *Aeromonas hydrophila*), virus (hepatitis A y grupo de virus Norwalk), protozoarios (como *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium parvum*) que podrían ser inactivados por ciertas condiciones del relleno sanitario como alta temperatura, pH bajo, edad madura del lixiviado y las concentraciones de metales pesados.

La presencia de organismos patógenos en los lixiviados constituye una amenaza para el ambiente y las pruebas de su estrogenicidad y toxicidad son útiles para caracterizar el lixiviado, sin embargo, sus efectos están fuera del alcance de este estudio (Schiopu y Gavrilescu 2010b).

2.4. Tratamientos para lixiviados

El tratamiento significa la aplicación de procesos biológicos, físicos, térmicos o químicos que cambian las características del desecho con el fin de reducir su volumen

y peligrosidad facilitando su manejo o mejorando su recuperación (Schiopu y Gavrilesu 2010a).

Los tratamientos para lixiviados se pueden agrupar en cuatro grupos: transferencia, biodegradación, físicos/químicos y filtración de membrana (Reneu *et al.* 2008) y su efectividad en la remoción de los contaminantes depende de las características de esta agua residual, principalmente de la edad (Tabla 5).

Tabla 5. Efectividad del tratamiento vs. características del lixiviado

Procesos	Edad del lixiviado			Remoción promedio (%)		
	Joven	Intermedio	Maduro	DBO	DQO	NTK
<i>Transferencia</i>						
Tratamiento conjunto con aguas residuales	Buena	Moderado	Pobre	Dependiendo de la planta de tratamiento de agua doméstica.		
Recirculación	Buena	Moderado	Pobre	<90	60-80	-
Lagunaje	Buena	Moderado	Pobre	80	40-95	>80
<i>Físico/químicos</i>						
Coagulación/floculación	Pobre	Moderado	Moderado	-	40-60	<30
Precipitación química	Pobre	Moderado	Pobre	-	<30	<30
Adsorción	Pobre	Moderado	Buena	<80	70-90	-
Oxidación	Pobre	Moderado	Moderado	-	30-90	-
Desgasificación	Pobre	Moderado	Moderado	-	<30	>80
<i>Biológicos</i>						
Procesos aerobios	Buena	Moderado	Pobre	>80	60-90	>80
Procesos anaerobios	Buena	Moderado	Pobre	>80	60-80	>80
Bioreactor de membrana	Buena	Moderado	Moderado	>80	>85	>80
<i>Filtración de membrana</i>						
Ultrafiltración	Pobre/ Moderado			-	50	60-80
Nanofiltración	Buena	Buena	Buena	80	60-80	60-80
Osmosis inversa	Buena	Buena	Buena	>90	>90	>90

Fuente: Reneu *et al.* 2008

El tratamiento más adecuado para cada tipo de lixiviado debe ser seleccionado de acuerdo a los objetivos del tratamiento. El cumplimiento con la normatividad aplicada a las descargas de aguas residuales es uno de los objetivos de los métodos de tratamiento de lixiviados. En México, los límites máximos permisibles de contaminantes para estas aguas residuales se encuentran establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996 en la que se señala, por ejemplo, que

para descargas en embalses naturales y artificiales, uso público urbano, la concentración de DQO no debe ser mayor a 60 mg/L (promedio diario).

2.4.1. Tratamientos físicos/químicos

Los métodos físicos/químicos más comunes son: oxidación química, adsorción, precipitación química, coagulación/floculación, sedimentación/flotación y separación de aire. Estos procesos incluyen la reducción de sólidos suspendidos, partículas coloidales, material de flotación, color y compuestos tóxicos; generalmente son utilizados como pre-tratamiento de lixiviados (Yilmaz *et al.* 2010) o bien como post-tratamiento para continuar su purificación (Méndez *et al.* 2009; Reneu *et al.* 2008).

De entre todos los tratamientos físicos y químicos disponibles para el tratamiento de aguas residuales la oxidación química es el método más ampliamente utilizado para efluentes que contienen compuestos orgánicos refractarios (p. ej. los lixiviados); dentro de estos tratamientos se encuentran los procesos de oxidación avanzada (POA's, por sus siglas en español), los cuales se definen como los procesos que generan radicales hidroxilo (Zhang *et al.* 2005).

Los POA's en los lixiviados estabilizados se utilizan para oxidar sustancias orgánicas; una alta oxidación contribuye a mejorar la biodegradabilidad de los contaminantes orgánicos recalcitrantes y los puede eventualmente transformar hasta CO₂ y H₂O (Reneu *et al.* 2008; Bautista *et al.* 2008; Wu *et al.* 2010). Si bien el tratamiento de los lixiviados es un reto debido a su heterogeneidad y a que muchas de las reacciones que ocurren entre sus constituyentes aún no están completamente comprendidas, el tratamiento de oxidación avanzada Fenton ofrece una buena alternativa para la degradación de los contaminantes ya que, a diferencia de otros tratamientos como el de filtración de membrana, no transfiere el contaminante de una fase a otra, sino que se basa en la destrucción química del contaminante (Deng y Englehardt 2006).

El tratamiento Fenton es particularmente apropiado para lixiviados maduros y altamente tóxicos (Deng y Englehardt 2006). Este proceso presenta una serie de ventajas frente a otro tipo de tratamiento de aguas residuales como son: la abundancia y bajo costo del hierro y la facilidad del manejo del peróxido, el cual se considera ambientalmente benigno (Méndez *et al.* 2010b) además de ser un proceso

tecnológicamente simple. Particularmente, el proceso Fenton homogéneo es económico ya que no requiere de una forma de energía externa como catalizador y no tiene limitación de transferencia de masa por encontrarse en la misma fase (López *et al.* 2003; Zhang *et al.* 2006). Por otra parte, el tratamiento Fenton tiene ciertas desventajas como requerir grandes volúmenes de reactivos químicos y un pH ácido para obtener una eficiencia de remoción satisfactoria además de la generación de lodo poco sedimentable (Sun *et al.* 2009).

2.4.1.2. Tratamiento Fenton

Como ya se mencionó, uno de los tratamientos físicos/químicos más prometedores para lixiviados es el de la oxidación Fenton, que consiste en la oxidación de la carga contaminante con una combinación de peróxido de hidrógeno y sulfato ferroso (reactivo Fenton), típicamente a presión atmosférica y temperatura de 20-40 °C. Este reactivo fue descubierto por Henry J. H. Fenton a finales del siglo XIX (Barbusiński 2009). Un típico tratamiento Fenton tiene cuatro etapas: oxidación, neutralización, coagulación/floculación y separación de líquidos y sólidos.

La reacción Fenton ha sido aplicada en combinación con diferentes tecnologías, como electroquímica (electro-Fenton), sonoquímica y electroquímica (sono-electro-Fenton) y luz UV artificial o natural (foto-Fenton) de acuerdo a las necesidades del agua residual a tratar, el desarrollo tecnológico y la disponibilidad de recursos (Babuponnusami y Muthukumar 2014; Hu *et al.* 2011; Neyens y Baeyens 2003; Van Aken *et al.* 2011). Sin embargo, cabe señalar que los lixiviados tratados con Fenton y sus combinaciones, como por ejemplo con ozono, todavía necesitan tratamientos adicionales para reducir la toxicidad remanente en el agua residual tratada debido a que estudios demuestran que sigue siendo considerablemente tóxica para los organismos de prueba (Goi *et al.* 2010; Gotvajn *et al.* 2011; Jarpa *et al.* 2016; Rosales 2014).

Los principales parámetros que afectan el proceso Fenton son: el pH de la solución, la cantidad de iones ferrosos, la concentración del peróxido de hidrógeno, la concentración inicial de contaminantes y la presencia de otros iones. El pH óptimo para el reactivo Fenton varía entre 2 y 4; ya que a pH más alto los iones Fe^{2+} son inestables

y son fácilmente transformados a iones Fe^{3+} , formando complejos con el hidroxilo. Por el contrario, bajo condiciones alcalinas el H_2O_2 pierde su poder oxidativo debido a su descomposición en oxígeno y agua. Debido a lo anterior, el ajuste del pH de las aguas residuales generalmente es necesaria antes del tratamiento con los procesos Fenton. Cabe mencionar que el pH ácido necesitado para la reacción de Fenton produce por sí mismo un efecto en el color del lixiviado debido a que precipita la materia coloidal suspendida lo cual trae como consecuencia la reducción de la materia orgánica tanto carbonosa como nitrogenada, produciéndose un cambio en la coloración y en la turbidez o transparencia de las muestras. Por lo tanto, mediante la variación del pH hacia la región ácida se logra reducir la concentración de la materia orgánica, fundamentalmente la que se encuentra en estado coloidal, contribuyendo con ello a obtener mejores eficiencias de remoción en el proceso global (Gíacomán y Quintal 2006; Zhang *et al.* 2006).

El incremento de las concentraciones de iones ferrosos y peróxido de hidrógeno aumenta hasta cierto punto la velocidad de degradación, sin embargo, tomando en consideración la toxicidad del peróxido de hidrógeno para varios microorganismos, el uso de cantidades excesivas de H_2O_2 podría posiblemente deteriorar la eficiencia de degradación global para los casos donde el proceso Fenton es seguido de una oxidación biológica (Stasinakis 2008).

En las condiciones óptimas del reactivo Fenton se han logrado alcanzar altas remociones de los contaminantes orgánicos en aguas residuales provenientes de diferentes tipos de industrias como la farmacéutica, alimenticia, cosmética, así como aguas residuales domésticas y lixiviados de los rellenos sanitarios, entre otros (Ikehata *et al.* 2006; Marcinowski *et al.* 2014; Naumczyk *et al.* 2014).

Méndez *et al.* (2010a) presentaron los resultados de aplicar el proceso Fenton a los lixiviados del relleno sanitario de la ciudad de Mérida. Se determinó el tiempo óptimo de reacción, los valores óptimos de pH y la dosis de reactivo Fenton, así como las dosis óptimas para el post tratamiento coagulación-floculación. Se encontró que las condiciones y dosis óptimas del proceso de oxidación son: tiempo de contacto de 20 minutos, un valor de pH igual a 4, concentraciones de H_2O_2 de 600 mg/L y Fe^{2+} de

1,000 mg/L. Los porcentajes de remoción promedio de materia orgánica, medida como DQOs con las condiciones antes mencionadas, fue de 78%, y medida como COT, del 87%.

El proceso Fenton ha sido ampliamente estudiado y combinado con otros procesos para el tratamiento de lixiviados obteniendo altas eficiencias de remoción de DQO y color en lixiviados del relleno sanitario de Mérida, Yucatán (Pietrogiiovanna 2009). May (2010) aplicó el tratamiento Fenton a lixiviados combinándolo con un posterior proceso de adsorción y obtuvo una remoción del 99.99 % de la materia orgánica y 100 % de color lo cual cumple con la normatividad (NOM-001-SEMARNAT-1996) para la descarga de esta agua residual a los cuerpos de agua, sin embargo, este procedimiento es costoso debido al alto consumo de carbón activado (Kargi y Pamukoglu 2003; Medina 2013) ya que se tratan aproximadamente 60 litros de lixiviado por kg de carbón activado lignítico que no puede ser reactivado a bajo costo (Cervantes 2015) por lo que la búsqueda de otras alternativas que aporten una mejor relación costo-beneficio es necesaria.

Las remociones de la DQO obtenidas directamente con el proceso Fenton a lixiviados se encuentran en el orden de 60 a 85 % (Baris *et al.* 2005; Lau *et al.* 2001; López *et al.* 2003; Mahmud *et al.* 2012; Méndez *et al.* 2010b; Rivas *et al.* 2005a; Trujillo *et al.* 2006; Zang *et al.* 2005). En los lixiviados del relleno sanitario de la ciudad de Mérida, Yucatán la aplicación directa del tratamiento Fenton ha alcanzado hasta el presente un porcentaje de remoción de la materia orgánica de únicamente un 75% (San Pedro 2015), lo cual es insuficiente para cumplir con la normatividad vigente (NOM-001-SEMARNAT-1996), por lo que es necesario diseñar nuevas estrategias para optimizar el proceso, ya que basándose en la capacidad que potencialmente tiene el radical $\cdot\text{OH}$ de oxidar toda materia orgánica o inorgánica sería teóricamente posible, en las condiciones adecuadas, mantener la reacción y lograr con ello una mineralización completa (Deng y Englehardt 2006).

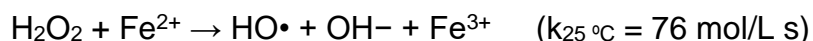
2.4.1.2.1. Fundamento de la reacción de Fenton

La reacción Fenton inicia con el catalizador de hierro (II) y el peróxido de hidrógeno en un medio ácido dando paso a la oxidación del hierro (III) y la formación de radicales

OH·; esta reacción tiene lugar de forma espontánea y en ausencia de luz. Las ecuaciones principales que describen la química de la reacción de Fenton son (Pignatello *et al.* 2006; Ramírez *et al.* 2007):

Ecuación 1

El ion ferroso inicia la reacción de descomposición del peróxido, que da como resultado la generación de los altamente reactivos radicales HO· y agua, así como de una cierta cantidad de calor, dado que la reacción global es exotérmica.



Las sucesivas etapas de la reacción (iniciación, propagación, terminación), el acoplamiento de sucesivas reacciones de oxidación y reducción, la formación simultánea de otras especies radicales con menor poder oxidante, además de las múltiples interacciones entre éstas y las restantes especies químicas que puedan estar presentes en la matriz acuosa, hacen de la comúnmente conocida como "reacción de Fenton" un sistema químico altamente complejo, cuya descripción precisa se halla aún sometida a controversia (Bautista *et al.* 2008; Barbusiński 2009).

Ecuación 2

Por otra parte, la participación del ion ferroso Fe^{2+} en la reacción de Fenton debería ser de naturaleza catalítica ya que, teóricamente, la especie oxidada Fe^{3+} reaccionaría nuevamente con el peróxido de hidrógeno, generando a su vez radicales hidroperoxilo ($\text{HO}_2\cdot$), de menor poder oxidante ($E^\circ = 1.76 \text{ V}$). En el proceso regresaría a su forma reducida, para dar comienzo de nuevo a la primera reacción:



Sin embargo, en la práctica los iones férricos Fe^{3+} formados en la primera reacción, mucho más rápida que la segunda reacción, se acumulan progresivamente en solución acuosa hasta alcanzar su producto de solubilidad, dando lugar a la aparición de precipitados de hidróxido férrico $\text{Fe}(\text{OH})_3$ de un característico tono pardo-rojizo y aspecto coloidal.

Esta particularidad de la reacción de Fenton debe ser especialmente considerada a la hora de la selección y diseño del proceso, dado que:

- Para minimizar la aparición de precipitados de hierro es preciso mantener el pH de la mezcla en torno a 3, rango en el que el hierro permanece en disolución como Fe^{2+}
- La acidificación de los efluentes exige una posterior etapa de neutralización.
- La no regeneración de Fe^{2+} obliga a su adición en continuo para el mantenimiento de la reacción.

La aparición de precipitados férricos exige una etapa de separación y de acondicionamiento y gestión final de los lodos tras la reacción de oxidación. En función del caudal de agua residual sometido a tratamiento, la gestión de los lodos puede hacer antieconómico el proceso.

Ecuación 3

$\text{HO}\cdot + \text{materia orgánica} \rightarrow \text{productos oxidados}$

En presencia de materia orgánica los radicales hidróxidos atacan las moléculas orgánicas y producen intermediarios orgánicos que pueden continuar reaccionando con los radicales hidróxidos y O_2 llevándolos a una posterior descomposición y eventual mineralización final en CO_2 , agua y otros inorgánicos (Deng y Englehardt 2006). Sin embargo cabe señalar que, en la práctica, la completa mineralización de los contaminantes orgánicos puede ser realmente muy complicada debido a que estos intermediarios pueden llegar a ser más refractarios a la oxidación que los compuestos originales (Mantzavinos y Psillakis 2004; Pignatello *et al.* 2006).

2.5. Evaluación de la toxicidad del lixiviado

Los lixiviados producen toxicidad aguda y crónica (Bernard *et al.* 1996; Deng y Englehard 2006; Schrab *et al.* 1993).). La NOM-052-SEMARNAT-2005 define a la toxicidad aguda como "el grado en el cual una sustancia o mezcla de sustancias puede provocar, en un corto periodo de tiempo o en una sola exposición, daños o la muerte de un organismo" mientras que la toxicidad crónica "es la propiedad de una sustancia o mezcla de sustancias de causar efectos dañinos a largo plazo en los organismos,

generalmente a partir de exposiciones continuas o repetidas y que son capaces de producir efectos cancerígenos, teratogénicos o mutagénicos". En términos generales, se puede afirmar que todavía se conoce poco de los efectos a la salud debido a la exposición a la mezcla de las sustancias tóxicas presentes en los lixiviados cuando éstas alcanzan los cuerpos de agua. Se ha reportado que pequeñas cantidades de lixiviado de rellenos sanitarios pueden contaminar grandes volúmenes de agua haciéndola inadecuada para uso doméstico y otros muchos propósitos (Bakare *et al.* 2000). Por otra parte, estudios realizados en ratas mostraron un efecto hepatotóxico y nerotóxico, desórdenes musculares y respiratorios, entre otros, cuando fueron expuestas a los lixiviados provenientes de un relleno sanitario (Alimba *et al.* 2012). Entre todos los órganos y los tejidos del cuerpo de los mamíferos, el riñón y el hígado parecen ser los más sensibles a los químicos tóxicos debido a su participación en el metabolismo, detoxificación, almacenamiento y excreción de las sustancias xenobióticas y sus metabolitos, por lo que son importantes órganos blanco de las lesiones inducidas por sustancias xenobióticas y metales pesados (Li *et al.* 2010a; Barbier *et al.* 2005). Es posible que los metales pesados y otros constituyentes del lixiviado y sus metabolitos puedan inducir un daño oxidativo a los hepatocitos incrementando la permeabilidad de la membrana celular y eventualmente pueden llevar a la muerte celular del hepatocito mientras que la alta capacidad del epitelio renal para transportar y acumular los metales pesados lo hace vulnerable a los metales pesados en su forma ionizada (Barbier *et al.* 2005). La implicación de estos estudios es que las poblaciones de animales y humanos expuestas a las sustancias químicas de los lixiviados pueden resultar gravemente afectadas debido a la bioacumulación y bioaumentación de los químicos peligrosos (Sánchez *et al.* 2007; Stohs y Bagchi 1995). Por otra parte, en organismos acuáticos diversos estudios han demostrado que la toxicidad del lixiviado está estrechamente ligada a la concentración de nitrógeno amoniacal (Svensson *et al.* 2005; Ward *et al.* 2002), predominantemente asociado a sus formas no ionizadas (amoniacado libre o NH_3) que incrementan sustancialmente con el aumento del pH (Isidori *et al.* 2003). La toxicidad del amonio frecuentemente se ha encontrado a concentraciones arriba de 1,000 mg $\text{NH}_3\text{-N/L}$ (Yokoyama *et al.* 2009).

La evaluación de la toxicidad es una medición directa de la respuesta global de los organismos a los efectos tóxicos producidos por los lixiviados; ya que la mezcla compleja de sustancias químicas presentes interactúa (Deguchi *et al.* 2007; Ma *et al.* 2005; Wilke *et al.* 2008) en cientos de reacciones indefinidas con los componentes celulares y procesos por lo que es necesaria una evaluación que incluya todos los efectos antagónicos, sinérgicos y aditivos que puedan verificarse en estas aguas residuales. La evaluación toxicológica junto con la caracterización química permiten obtener una visión mejor balanceada del impacto ambiental de los contaminantes provenientes de los rellenos sanitarios (Melnyk *et al.* 2014).

Desafortunadamente, en muchos países incluyendo México, el monitoreo de la calidad del agua se basa únicamente en los análisis físicoquímicos ya que la legislación no requiere de forma obligatoria la evaluación toxicológica, como consecuencia, la calidad ecológica del agua es desconocida (Melnyk *et al.* 2014). Asimismo, la presencia de sustancias altamente tóxicas en los productos de consumo requiere que se reconsidere la necesidad de incluir dentro la legislación para la caracterización de los lixiviados una evaluación ecotoxicológica más específica.

Estudios comparativos de evaluación de toxicidad realizados en Francia han concluido que la alta toxicidad de los lixiviados de los rellenos sanitarios es considerada equivalente a los lixiviados de los rellenos para desechos industriales (Ward *et al.* 2002; Bortolotto *et al.* 2009).

2.5.1. Bioensayos de toxicidad

Dada la complejidad de los lixiviados de los rellenos sanitarios la contribución de cada sustancia potencialmente tóxica es difícil de determinar de forma precisa aplicando las técnicas de identificación química estándar tal como cromatografía de gases-espectroscopía de masa (CG-EM) (Yasuhara *et al.* 1997). Una forma práctica y confiable de evaluar las respuestas complejas que la liberación de sustancias tóxicas producen en los ecosistemas acuáticos es a través de los bioensayos (Castillo 2004; Pablos *et al.* 2011).

Los bioensayos son técnicas de evaluación de los efectos tóxicos agudos o crónicos, tanto de sustancias químicas conocidas como de muestras ambientales de

composición incierta. Estas pruebas de toxicidad tienen como objetivo medir el efecto de uno o más contaminantes sobre las especies, en relación con un grupo control, y consisten en la exposición de los organismos de ensayo a concentraciones crecientes de un agente tóxico con el objetivo de determinar algún cambio en estos en un cierto período de tiempo (Larrain 1995) y se han utilizado para establecer los niveles de toxicidad de contaminantes en matrices acuosas complejas (p. ej. lixiviados).

Asimismo, los ensayos de toxicidad permiten establecer los límites permitidos para los distintos contaminantes, evaluar el impacto de mezclas sobre las comunidades de los ambientes que las reciben y son útiles para la investigación básica del fenómeno de toxicidad; establecer criterios o patrones de calidad de aguas superficiales o efluentes, la evaluación del impacto ambiental y del riesgo ecológico y el monitoreo de las condiciones de un cuerpo de agua (APHA-AWWA-WPCF 1998).

Los organismos de prueba para los bioensayos pueden ser agrupados en: microorganismos, plantas y algas, invertebrados y peces (Rizzo 2011). Se han realizado diversos análisis de toxicidad en lixiviados utilizando como organismos de prueba: bacterias (*Vibrio fischeri*), invertebrados (*Daphnia magna*, *Artemia salina*), peces (*Brachydanio rerio*), etc. (Hsieh *et al.* 2004; Goi *et al.* 2010; Sisino *et al.* 2000). Estos trabajos han confirmado el peligro potencial para el medio ambiente que representan los lixiviados provenientes de los rellenos sanitarios y la necesidad imperiosa de tratarlos para que puedan cumplir con los estándares de calidad que les permita ser desechados de manera segura a los cuerpos de agua receptores (Kalčíková *et al.* 2011).

La utilización de organismos de diferentes niveles tróficos en las pruebas de toxicidad ayuda a mejorar la evaluación de impacto ambiental del efluente a descargar en los ecosistemas acuáticos (Deguchi *et al.* 2007; Melnyk *et al.* 2014; Silva *et al.* 2004) (Tabla 6).

Por último, es importante mencionar que al implementar bioensayos y pruebas de toxicidad es necesario efectuar su estandarización la cual consiste en establecer la sensibilidad de las especies y la reproducibilidad del experimento frente a un tóxico de referencia (Silva *et al.* 2007). Lo anterior es útil para asegurarse que la respuesta de

la población expuesta a cierto agente tóxico se deba al efecto de éste y no a variaciones de la sensibilidad de los organismos. La estandarización permite comparar los resultados entre diferentes laboratorios, siguiendo una metodología común.

Tabla 6. Características de la batería de los organismos de prueba utilizados en la evaluación de toxicidad de lixiviados de rellenos sanitarios

Nivel trófico	Organismos	Punto final	Duración de la prueba
Productores	Microalgas <i>Scenedesmus subspicatus</i>	Inhibición del crecimiento	5 días
	Lenteja de agua <i>Lema minor</i>	Inhibición del crecimiento	5 días
Consumidores	Rotíferos <i>Brachionus calyciflorus</i>	Mortalidad	24 horas
	Crustáceos <i>Daphnia magna</i> <i>Ceriodaphnia dubia</i> <i>Thamnocephalus platyrus</i>	Mortalidad	24 horas
Descomponedores	Bacterias <i>Vibrio fisheri</i>	Inhibición de la fluorescencia	30 minutos
	Protozoarios <i>Spirostomon ambiguum</i>	Mortalidad	5 días

Fuente: Adaptado de Bernard *et al.* 1996

2.5.1.1. Pruebas de toxicidad aguda

Las pruebas de punto final agudo son una forma rápida de evaluar la toxicidad de un efluente y se pueden utilizar para evaluar si la toxicidad de un agua residual o lixiviado decrece con la aplicación de un tratamiento determinado (Rizzo 2011).

Se han empleado diferentes tipos de organismos para los ensayos de toxicidad, sin embargo, en la elección del organismo de prueba debe considerarse el uso final de la matriz acuosa tratada; por ejemplo los bioensayos en plantas pueden ser adecuados para caracterizar la toxicidad del efluente de las plantas de tratamiento de aguas residuales antes de su reuso en la agricultura mientras que para la descarga a los cuerpos de agua los organismos acuáticos son los más apropiados.

Los dáfidos, conocidos comúnmente como "pulga de agua", son organismos invertebrados acuáticos ampliamente utilizados para los bioensayos de toxicidad aguda ya que entre sus ventajas se encuentra su alta sensibilidad a los tóxicos, su ciclo de vida corto, su tipo de reproducción partenogénica y su facilidad de cultivarlos

en el laboratorio (Silva *et al.* 2003; Tothill y Turner 1996). Estos microcrustáceos del suborden Cladocera son organismos dulceacuícolas que responden a un gran número de agentes tóxicos de naturaleza diversa (Törökne 2004), siendo una comunidad importante en el ecosistema acuático por el papel que cumplen en el interior de la comunidad zooplanctónica, responsable de la transferencia de energía de un nivel a otro de la cadena trófica. Los neonatos miden de 1-1.5 mm de longitud y los adultos de 4-6 mm siendo ambos visibles a simple vista.

Para la realización de las pruebas de toxicidad aguda con *D. magna* los neonatos, con una edad menor de 24 horas, son expuestos a contaminantes o matrices acuosas bajo condiciones de exposición controladas donde la respuesta que se evalúa es la ausencia de movilidad o muerte del organismo después de un período de incubación determinado (24-48 horas) con el fin de determinar la concentración efectiva media sobre el 50% de la población (CE₅₀) para lo cual se realiza primeramente una prueba exploratoria. La prueba exploratoria es de utilidad tanto para discriminar entre muestras tóxicas de inocuas, así como para determinar el intervalo de concentraciones que se deben aplicar para la determinación de la CE₅₀ de una muestra en una prueba definitiva (NOM-AA-087-SCFI-2010).

Finalmente, es importante puntualizar que las pruebas de punto final crónico, como las que evalúan el crecimiento y la reproducción, son más sensibles a los efectos que pueden provocar las descargas de los lixiviados a los cuerpos de agua por lo que deberán desarrollarse para caracterizar los posibles efectos tóxicos de los contaminantes provenientes de los rellenos sanitarios dentro de las actividades de monitoreo ambiental (Rizzo 2011).

2.5.1.1.1. Microbioensayos Toxkit

Aunque los ensayos convencionales de toxicidad como los realizados en peces son de gran utilidad en la evaluación de los posibles riesgos en especies similares en sus ambientes naturales, tienen algunas desventajas como problemas de estandarización, largos tiempos requeridos y la necesidad de equipo y personal especializado. Una alternativa atractiva a los ensayos convencionales son los microbioensayos Toxkit ya que superan esos inconvenientes (Rizzo 2011; Persoone *et al.* 2009). El concepto de

"microbioensayos" se refiere a ensayos biológicos a pequeña escala (miniaturizados) que ofrecen atractivas características como simplicidad, bajo costo y poca necesidad de espacio, además que se elimina la necesidad de mantenimiento y cultivo de los organismos, por lo que los microbioensayos del tipo Toxkit (nombre genérico dado a este tipo de ensayos) son una opción que va ganando popularidad para la realización de los análisis rutinarios ambientales (Blair 1991; Persoone *et al.* 2009).

La toxicidad de los lixiviados de los rellenos sanitarios de Polonia ha sido evaluada utilizando microbioensayos que se basan en la utilización de etapas larvales de invertebrados acuáticos como *Artemia franciscana*, *Daphnia magna* y *Thamnocephalus platyurus* obteniendo con resultados confiables y reproducibles con una alta correlación con las pruebas convencionales (Słomczyńska y Słomczyński 2004). Una revisión de la literatura referente a los métodos utilizados en los estudios toxicológicos indica que la tendencia internacional es la utilización de microbioensayos Toxkit desarrollados en la Universidad de Ghent en Bélgica que utilizan materiales (y biomateriales) estandarizados lo que permite obtener resultados precisos y comparables con estudios realizados en otros países (Persoone *et al.* 2009).

2.5.2. Toxicidad del efluente tratado

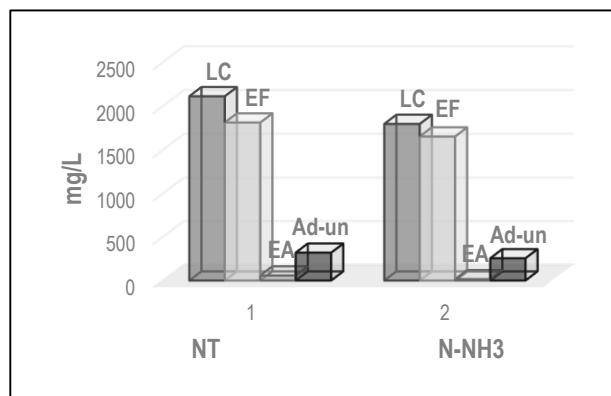
La toxicidad final del efluente de un tratamiento determinado depende de diferentes factores como: el tipo de contaminante y su concentración, la sensibilidad del organismo seleccionado para las pruebas de toxicidad, el proceso de oxidación avanzada utilizado y sus condiciones (p. ej. la concentración del oxidante) así como de la formación de compuestos intermediarios (Cotman y Gotvajn 2010; Wu *et al.* 2010).

La completa mineralización de los contaminantes orgánicos puede ser realmente muy complicada debido a la formación de intermediarios orgánicos de la oxidación que pueden ser más refractarios a la oxidación que los compuestos originales (Mantzavinos y Psillakis 2004; Pignatello *et al.* 2006). Una de las razones que pudiesen impedir la completa mineralización del COT es que las condiciones experimentales para la degradación de la amplia gama de compuestos intermediarios, que se forman

durante el proceso oxidativo, pudieran no ser las mismas para todos ellos (Arana *et al.* 2001) lo que deberá ser tomado en consideración.

Por otra parte, Konstantinou y Albanis (2003) han identificado intermediarios tóxicos como subproductos de la degradación parcial de plaguicidas y colorantes, como por ejemplo los derivados oxónicos de los insecticidas organofosforados productos de la apertura de anillos, naftoquinonas, compuestos fenólicos, ácidos orgánicos de cadena corta, etc., lo que requiere necesariamente ser monitoreado en las aguas tratadas por procesos de oxidación avanzada.

Además, particularmente en el caso del proceso Fenton, los radicales $\cdot\text{OH}$ producidos en la reacción de Fenton podrían atacar el ADN mientras que el hierro podría causar estrés oxidativo en tejidos y órganos de los mamíferos (Li *et al.* 2010a). Asimismo, el proceso Fenton no sugiere la ganancia o pérdida de nitrógeno en su forma originalmente presente en el lixiviado (Cotman y Gotvajn 2010; San Pedro 2015) lo que puede tener implicaciones en la toxicidad remanente en el lixiviado tratado por este proceso (Figura 3).



Fuente: San Pedro (2015)

Figura 3. Concentración de nitrógeno en mg/L (Especies de nitrógeno: NT=nitrógeno total; N-NH₃=nitrógeno amoniacal) del lixiviado del relleno de la Cd. de Mérida en las diferentes etapas de tratamiento. LC= lixiviado crudo; EF=efluente de Fenton; EA=Efluente de adsorción; Ad-un=adsorción única.

Por otra parte, Robles *et al.* (2012) reportaron que no existe una relación lineal entre la DQO y la toxicidad removidas en plantas de tratamiento de aguas, utilizando un proceso Fenton. Aun cuando alcanzaron remociones de 51-96% para DQO con una

reducción de 38-86% en la toxicidad. La eficiencia de remoción pareció variar de acuerdo con la cantidad de peróxido de hidrógeno presente en la muestra, lo que concuerda con el planteamiento del presente trabajo, en el que se añadieron de forma secuencial los reactivos químicos con el fin de mantener la formación del radical de hidróxido.

Finalmente, cabe mencionar que las pruebas de toxicidad aguda son un método rápido y sencillo para evaluar la efectividad de los tratamientos en la reducción de toxicidad de los lixiviados de los rellenos sanitarios (da Costa *et al.* 2018).

CAPITULO 3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

El presente trabajo se desarrolló en dos partes que constituyeron la metodología experimental con actividades específicas resumidas en la Figura 4. En los siguientes apartados se hace una descripción de cada parte de la metodología y los procedimientos analíticos que se emplearon en este trabajo.

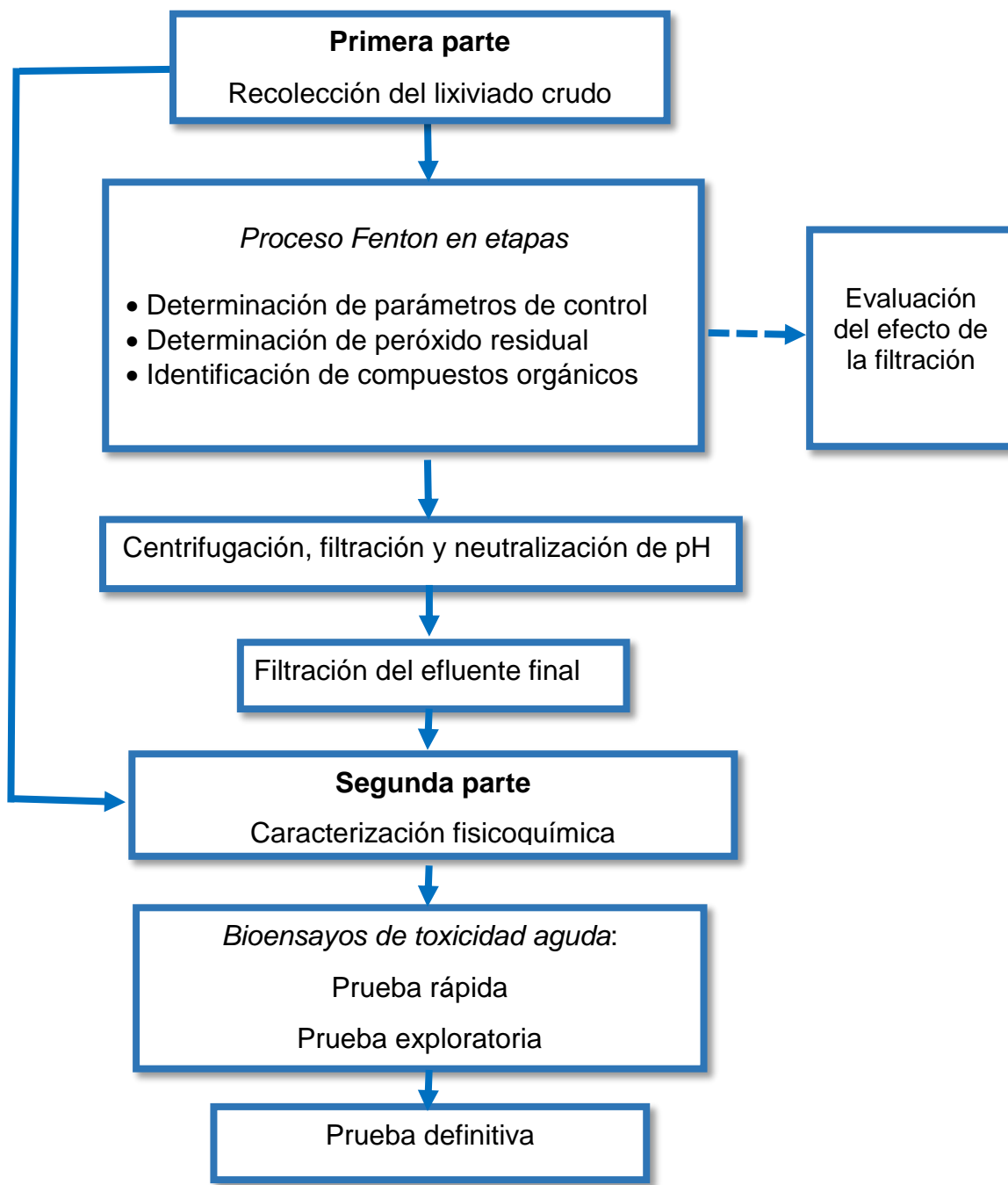


Figura 4.- Diagrama general de la metodología experimental

3.1. Área de estudio

El relleno sanitario de la ciudad de Mérida está situado en el km 1.5 de la carretera Susulá-Chalmuch en el municipio de Mérida, capital del estado de Yucatán, México. Se localiza aproximadamente a 8 km en dirección oeste del centro de Mérida, fuera del anillo periférico de la ciudad, adyacente a las plantas de composta y separación.



Figura 5. Imagen satelital del área de estudio

El relleno sanitario se ubica en una zona que presenta características geológicas uniformes con predominio de rocas calizas y una morfología tipo planicie y se encuentra a una altura de 10 metros sobre el nivel del mar (Archundia 2000).

Inicialmente, el área de atención del relleno sanitario de Mérida contó con 700,000 habitantes con una población flotante relativamente alta de 200,000 habitantes. En su primera etapa el relleno sanitario contó con una capacidad total de 3,260,000 toneladas. A la fecha, esta primera etapa se encuentra clausurada al haber alcanzado su capacidad máxima, así como haberse cumplido el plazo originalmente estimado para su operación (1997-2012); actualmente se encuentra en operación, adyacente a la

primera, una segunda etapa con una capacidad total de 5,069,000 toneladas y cuyo plazo de funcionamiento se prevé para otros 15 años (2012-2027). De las 45 ha con que cuenta en su segunda etapa se emplean 28 ha para la disposición de los residuos sólidos (comunicación personal) con el método de área en pirámide de 30 metros de altura (Archundia 2000).

3.2. Recolección de la muestra

Se realizaron dos campañas de muestreo, en los meses de septiembre y diciembre de 2017. El muestreo de lixiviado crudo se efectuó en una sección de una laguna de evaporación del relleno sanitario de la ciudad de Mérida, Yucatán colectándose en cada ocasión una muestra simple de forma manual con volumen total de 20 litros.



Figura 6. Recolección de lixiviado en el relleno sanitario de la ciudad de Mérida, Yucatán

Las muestras se conservaron en refrigeración a una temperatura de 4-8 °C durante el desarrollo de las pruebas.

3.3. Caracterización del lixiviado

Se determinaron los parámetros fisicoquímicos más relevantes para caracterizar el lixiviado crudo y tratado utilizando para ello los procedimientos de los métodos estándar (APHA-AWWA-WPCF 1998) y se calculó el índice de biodegradabilidad (IB). Los análisis fueron realizados por triplicado.

3.4. Proceso Fenton en etapas

El proceso Fenton se realizó en tres etapas consecutivas donde el efluente de cada etapa fue centrifugado y filtrado para remover los sólidos precipitados.

Primera etapa

Se determinó la concentración de la DQO en el lixiviado crudo y se calcularon, con base en ese valor, las cantidades de sulfato de hierro y peróxido de hidrógeno necesarias para mantener las relaciones de $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{H}_2\text{O}_2]$ y $[\text{DQO}]/[\text{H}_2\text{O}_2]$ reportadas como valores óptimos por Pietrogiovanna (2009) y que son de 0.6 y 9 respectivamente.

Por triplicado -en un volumen de dos litros de lixiviado crudo- se acidificó la muestra hasta pH 4 con ácido sulfúrico concentrado y se agregaron las cantidades de sulfato de hierro y peróxido de hidrógeno previamente calculadas.

El proceso de oxidación Fenton se efectuó en un equipo de jarras permitiendo un tiempo de contacto de 120 minutos a una velocidad de agitación de 80 RPM; al término de ese tiempo la muestra se centrifugó y se filtró con filtro de fibra de vidrio (tamaño del poro: $1\ \mu\text{m}$) como se ilustra en la Figura 7.



Figura 7. Eliminación del lodo

Segunda etapa

Se ajustó el efluente obtenido en la primera etapa hasta pH 4 con NaOH 1 N y en base a la concentración de la DQO en el efluente de la primera etapa se calcularon las cantidades de sulfato de hierro y peróxido de hidrógeno necesarias para mantener las relaciones de $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{H}_2\text{O}_2]$ y $[\text{DQO}]/[\text{H}_2\text{O}_2]$.

Se efectuó el proceso Fenton por 120 minutos a 80 RPM al término del cual se centrifugó el efluente y se filtró con filtro de fibra de vidrio (tamaño del poro: 1 μm).

Tercera etapa

Se ajustó el efluente obtenido en la segunda etapa hasta pH 4 con NaOH 1 N y en base a la concentración de la DQO en el efluente de la segunda etapa se calcularon las cantidades de sulfato de hierro y peróxido de hidrógeno necesarias para mantener las relaciones de $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{H}_2\text{O}_2]$ y $[\text{DQO}]/[\text{H}_2\text{O}_2]$.

Se efectuó el proceso Fenton por 120 minutos a 80 RPM al término del cual se centrifugó el efluente y se filtró con filtro de fibra de vidrio (tamaño del poro: 1 μm).

Lixiviado final

El efluente de la tercera etapa fue ajustado a pH 7 con una solución de NaOH 1 N ya que es el procedimiento requerido de forma previa a la descarga de un agua residual ácida además de que termina la reacción y ayuda a precipitar el hierro remanente (Wang *et al.* 2016b).

Se filtró la muestra con filtro de fibra de vidrio de 1 μm y se obtuvo el efluente final que se conservó a 4°C hasta la realización de las pruebas.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico del porcentaje de remoción de la DQO obtenido en cada etapa del tratamiento se efectuó un análisis de varianza (ANOVA) de efectos fijos y el método de Diferencia Significativa Mínima (DSM) de una sola vía utilizando el paquete estadístico de Statgraphics Plus, versión 5.1 para Windows. El nivel de significancia fue de $\alpha = 0.05$.

3.4.1. Parámetros de control

Como parámetros de control del proceso además de la determinación de la DQO en el efluente de cada etapa de tratamiento se realizaron las determinaciones de COT y color siguiendo los métodos estándar (APHA-AWWA-WPCF 1998). Los análisis fueron realizados por triplicado.

3.4.2. Determinación del H₂O₂ residual

Con el fin de cuantificar la posible interferencia del oxígeno inorgánico proveniente del peróxido de hidrógeno en la interpretación de los resultados de la DQO (da Costa *et al.* 2018) se realizó la cuantificación del H₂O₂ residual después de cada etapa del tratamiento experimental con el método de titulación por Iodometría.

1. Se preparó una dilución 1:20 de las muestras
2. A una alícuota de 30 ml de muestra diluida se le agregó 1 ml de solución de molibdato de amonio.
3. Se adicionó una dosis de una mezcla de ioduro de potasio y carbonato de potasio. La coloración cambió a un color azul intenso lo cual significa la presencia de peróxido residual en la muestra.
4. Se dejó reposar por 5 minutos y se efectuó la valoración con la solución de tiosulfato hasta cambio de color de azul a incoloro.



Figura 8. Determinación de peróxido de hidrógeno residual

3.4.3. Identificación de componentes orgánicos por cromatografía

Se realizó la identificación de los componentes orgánicos presentes en el lixiviado crudo, así como en los efluentes obtenidos en cada una de las tres etapas de que constó el tratamiento experimental a través del análisis de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-EM).

Se empleó el método líquido-líquido para la extracción de las muestras y las condiciones del cromatógrafo marca Thermo Scientific Modelo Trace GC ULTRA

acoplado al espectrómetro modelo ITQ 900 fueron: el programa de temperatura del horno del cromatógrafo de gases fue ajustado desde 50 °C (sostenido por 1 min) con incremento de 4° C/min hasta 220 °C (sostenido por 2 min); para posteriormente llegar hasta 300 °C (sostenido por 1 min) con una rampa de 5 °C/min. El volumen de inyección fue de 1 µL, en un inyector de temperatura programada a 220 °C en la modalidad de splitless, el gas acarreador fue helio BIP (99.99% pureza) a un flujo constante de 1 ml/min, la temperatura de la línea de transferencia fue de 270 °C, el espectrómetro de masas se utilizó en la modalidad Full Scan (50-650 m/z) y las columnas capilares utilizadas fueron HP-5MS UI (30 m x 0.250 mm x 0.25 µm). Todos los reactivos utilizados fueron grado HPLC.

3.4.4. Evaluación del efecto de la filtración

Con el fin de simplificar el procedimiento, se procedió a evaluar el efecto de la filtración del efluente tratado sobre la eficiencia de remoción de la materia orgánica en las diferentes etapas proceso Fenton experimental, para ello se realizó un ensayo de únicamente dos etapas de oxidación siguiendo el procedimiento ya descrito y se comparó el resultado obtenido con filtración y sin filtración.

Se utilizaron 6 jarras con dos litros de lixiviado crudo cada una para la primera etapa de oxidación. Para la segunda etapa se procedió de acuerdo a lo descrito en el punto 3.2.2. con la diferencia de que tres de las seis jarras no fueron filtradas después de la primera etapa. Los parámetros de control para este experimento fueron la DQO, COT y sólidos.

Análisis estadístico

Para probar si la remoción de la DQO de las muestras filtradas y las no filtradas eran significativamente semejantes se utilizó la prueba de diferencia de medias para muestras pequeñas. Formalmente se probaron las siguientes hipótesis:

$$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$$

$$H_A: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$$

Donde:

$$\mu_1 = \text{DQO del lixiviado filtrado}$$

μ_2 =DQO del lixiviado no filtrado

El estadístico de prueba fue la t de Student con $n_1 + n_2$ grados de libertad con una significancia del 95% ($\alpha = 0.05$).

3.5. Bioensayos de toxicidad

Una vez obtenido el efluente del tratamiento Fenton homogéneo de tres etapas se procedió a realizar los ensayos de toxicidad tanto en el lixiviado crudo como en el tratado para poder cuantificar la eficiencia de reducción de toxicidad del tratamiento experimental, esperada según la hipótesis de este trabajo, con relación al lixiviado crudo.

3.5.1. Pruebas de toxicidad aguda

Para las pruebas de toxicidad aguda se seleccionó como organismo indicador el microcrustáceo *Daphnia magna* estableciendo relaciones de concentración-respuesta a través del empleo, como parámetro de evaluación, de la CE_{50} 24-48 h la cual es la concentración que inmoviliza o mata al 50% de los neonatos (<24 h), después de 24 y 48 horas de exposición. El criterio de inmovilización se aplicó a aquellos neonatos que no son capaces de nadar dentro de un período de tiempo de 15 segundos a partir de haber realizado una cuidadosa agitación de líquido en que se encuentran, incluso cuando sean capaces de mover las antenas.

3.5.1.1. Preparación de reactivos y materiales biológicos

Para obtener resultados precisos y comparables con estudios realizados en otros países se utilizó una cepa de referencia, así como reactivos y materiales estandarizados a través de la utilización de un microbioensayo toxicológico comercial, Dhaptokit F Magna™ de Microbiotest, y se siguieron estrictamente las instrucciones del fabricante para el desarrollo de la prueba que incluyó el uso de controles negativo y positivo (Persoone *et al.* 1994). Cabe señalar que el procedimiento operativo estándar descrito por el fabricante se desarrolla de acuerdo con las guías de procedimientos internacionales como la guía 202 de la OECD (OECD 1993), ISO 6341:2012 (ISO 2012), guía OPPTS 850.1010 de la EPA (USEPA 1996), entre otros.

Preparación del agua reconstituida

Esta agua se utilizó para la eclosión de los efipios y como medio de dilución para la preparación de las series de diluciones del lixiviado. Para su elaboración se efectuó el siguiente procedimiento:

1. En un matraz aforado de dos litros se agregó un litro de agua desionizada y se agregaron las soluciones concentradas de NaHCO_3 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y KCl , en ese orden (Figura 9).
2. Se aforó a dos litros, se homogenizó y se conservó en refrigeración protegida de la luz.



Figura 9. Preparación del agua dulce reconstituida

Nota. Una vez refrigerada el agua dulce reconstituida, fue importante dejarla llegar gradualmente a la temperatura de prueba antes de su uso.

Pre-aireación del agua reconstituida

El agua reconstituida debe ser aireada por al menos 15 minutos antes de ser utilizada para la eclosión de los huevos de resistencia y para la preparación de las diluciones. La pre-aireación se efectuó burbujeando aire en el medio.

Eclosión de los efipios

Los viales de los efipios o huevos de resistencia partenogénicos se conservan en refrigeración hasta su uso donde permanecen viables por varios meses hasta su fecha de caducidad. Para que los huevos de *Daphnia magna* continúen su desarrollo

embriológico es necesario proporcionarles las condiciones ambientales adecuadas para lo cual se efectuó el siguiente procedimiento:

1. Cuidadosamente, se vació el contenido de un vial de los efiopios en un colador donde fueron lavados con agua purificada hasta la eliminación total del medio de conservación.
2. Se colocaron los efiopios en una caja de Petri que contenía 15 ml del agua reconstituida pre-aireada, se tapó y se identificó. El mismo proceso se realizó para un segundo vial (Figura 10).



Figura 10. Lavado de los efiopios

3. Las cajas de Petri con los efiopios se incubaron por 72 horas a una temperatura de 20-22 °C e iluminación continua de 6,000 luxes en una incubadora de baja temperatura. Para determinar la distancia de la lámpara a la parte superior de la caja de Petri para obtener las 6000 luxes recomendadas se utilizó un medidor digital de luminosidad o "luxómetro" (Figura 11).



Figura 11. Incubación de los efiopios

Alimentación de los organismos de prueba

Dos horas antes de la recolección de los organismos estos son alimentados para evitar su muerte por inanición durante el desarrollo de la prueba para lo cual se siguió el siguiente procedimiento:

1. Un vial con *Spirulina microalgae* en polvo fue llenado con agua reconstituida
2. Se agitó en un vortex para obtener una suspensión homogénea
3. Dos horas antes de la colecta se vació el contenido de un vial de la suspensión algal a cada caja de Petri, agitando cuidadosamente la caja para lograr una distribución homogénea del alimento.

3.5.1.1. Pruebas exploratorias

Se midió el porcentaje de saturación de oxígeno en las muestras ya que si éste es menor al 40% la muestra debe ser aireada por 15 minutos, en el caso del lixiviado crudo este requirió ser aireado, en contraste, el lixiviado tratado por tener residuos de peróxido de hidrógeno no necesitó ser aireado.

Se utilizaron seis concentraciones del lixiviado tratado: 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25% y 3.125%. Debido a que el color oscuro del lixiviado crudo a altas concentraciones (100% y 50%) impidió la visibilidad de los organismos se partió de una menor concentración para poder observar correctamente a los organismos: 25%, 12.5%, 6.125%, 3.125%, 1.56% y 0.78%.

Preparación de las diluciones (% v/v)

Para la preparación de las diferentes concentraciones del lixiviado se realizaron diluciones dobles seriadas:

1. Se colocaron 50 ml de agua aireada en matraces aforados de 100 ml.
2. En el primer matraz se colocaron 50 ml del lixiviado crudo o tratado para la primera concentración (50%), se homogenizó y se transfirieron 50 ml para la segunda concentración (25%) y así sucesivamente hasta la última concentración.

Prueba rápida

Debido a la limitante del tiempo, que no permite realización de dos pruebas seguidas, se realizó una prueba "pre-exploratoria" la cual se utiliza para observar la mortalidad de los organismos en un tiempo de exposición muy corto (<1 h). Cuando se observa una alta mortalidad en una concentración dada se utiliza una menor concentración para la prueba exploratoria (Törökné 2004).

Las concentraciones más altas a evaluar de cada lixiviado (crudo y tratado) fueron sometidas a la prueba rápida.

1. Se colocaron cinco organismos por caja Petri en 10 ml de la concentración a evaluar.
2. Se incubaron por una hora a una temperatura de 20-22 °C, en oscuridad.
3. Al término del tiempo de incubación se llevaron al microscopio para observar la respuesta.

Llenado de la placa de prueba

Para la evaluación de los efectos agudos (movilidad y mortalidad) estadísticamente aceptables cada concentración y control negativo se deben ensayar por cuadruplicado. Por ello, la placa de prueba tiene cuatro pozos para cada concentración a evaluar así como el control negativo. A su vez cada concentración y control negativo tiene una columna de "enjuague" con la finalidad de minimizar los efectos por dilución que el agua reconstituida, donde los organismos se encuentran, pudiera, por efecto de arrastre, alterar significativamente las concentraciones a evaluar (Figura 12).

El procedimiento se realizó de la siguiente forma:

1. Para el control negativo o blanco se colocaron 10 ml de del agua de dilución en cada uno de los 5 pozos de la fila superior de la placa de prueba (marcada como "fila X").
2. Se colocaron 10 ml de la concentración más baja en cada uno de los pozos de la segunda fila de la placa de prueba (marcada como fila 1). En la fila 2 se colocaron 10 ml a cada uno de los pozos de la segunda concentración y así sucesivamente de tal manera que las concentraciones en la placa fueran en un orden de menor a mayor.

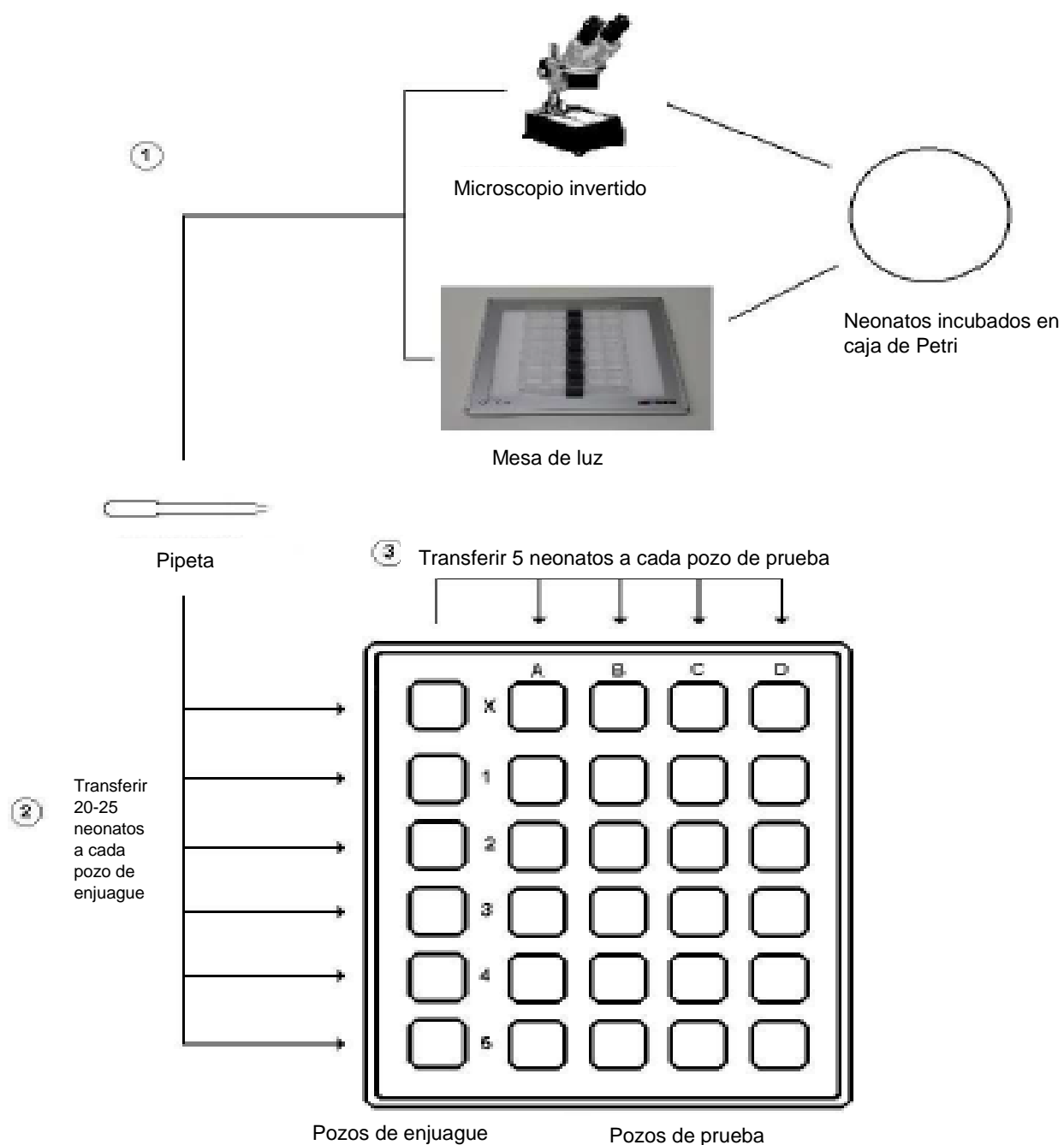


Figura 12. Transferencia de neonatos de *Daphnia magna*

Transferencia de los neonatos a los pozos de prueba

Los primeros neonatos brotaron a las 72 horas de incubación, aunque la eclosión más grande ocurrió entre las 72-80 horas de incubación aproximadamente. Puesto que los organismos no deben ser mayores a 24 horas de nacidos para el inicio de la prueba,

se procedió realizar la colección de estos durante la nonagésima hora a partir del inicio de la incubación.

La transferencia de los dáfnidos neonatos a los pozos de prueba se realizó con una pipeta Pasteur de plástico succionándolos suavemente para evitar producirles un daño mecánico. Debido al tamaño pequeño de los organismos la transferencia se realizó utilizando un microscopio de disección, así como con la ayuda de un fondo negro para mejorar el contraste entre los organismos y el fondo oscuro. La transferencia de los dáfnidos a la placa de prueba se realizó en dos pasos (Figura 12):

1. Se transfirieron de 20 a 25 dáfnidos (activamente nadando) de la caja de Petri a los pozos de enjuague en la siguiente secuencia: fila X (control negativo), fila 1, fila 2, fila 3, fila 4 y fila 5 (en el orden creciente de concentración del lixiviado). Se procuró llevar la menor cantidad de líquido durante la transferencia, así como enjuagar la pipeta entre una muestra y otra.
2. Por fila se transfirieron cinco organismos del pozo de enjuague a cada pozo de prueba. Esta transferencia se realizó en la secuencia del incremento de la concentración del lixiviado.

Para evitar la muerte por flotación ya que los dáfnidos son susceptibles de ser atrapados por la tensión superficial del medio se tuvo la precaución de no depositar a los organismos en la superficie sino dentro del medio.

Incubación de la placa de prueba

1. Se cubrió la placa de prueba con parafilm y encima se le colocó la tapa plástica.
2. Se colocó la placa de prueba en la incubadora a 20 °C, en oscuridad (Figura 13).



Figura 13. Incubación de la placa de prueba

Registro de los resultados

1. A las 24 y 48 horas de incubación se sacaron las placas de la incubadora y se colocaron sobre un papel oscuro para contar los organismos muertos o inmobilizados en relación con los de nado activo en cada pozo. Se revisaron en el microscopio invertido para constatar el estado de los organismos de forma más detallada.
2. Se registraron los datos en las hojas de trabajo y se calculó el número total de muertos o inmobilizados por concentración.

3.5.1.1.1. Determinación del intervalo de concentraciones

Al término de las 48 h se registraron las lecturas finales para definir el rango de las concentraciones necesarias para la prueba definitiva; para ello, una vez cuantificado el número de organismos muertos o inmobilizados en la prueba exploratoria se determinó el porcentaje de efecto para cada concentración aplicando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ efecto} = \frac{\text{No. de organismos muertos o inmobilizados}}{\text{No. de organismos expuestos}} \times 100$$

Con los porcentajes de efecto obtenidos se determinó el intervalo de concentraciones que sería usado para la prueba definitiva seleccionando las dos concentraciones entre las que se encontraba ubicado el 50% efecto (NMX-AA-087-SCFI-2010).

3.5.1.1.2. Condiciones para la prueba biológica con *D. magna*.

Las condiciones de ensayo se controlaron conforme a lo especificado en el procedimiento del fabricante y que se señalan en la Tabla 7.

3.5.1.2. Prueba definitiva

Como ya se mencionó, con base en los resultados que se obtuvieron en las pruebas exploratorias, se estableció el rango de las concentraciones de la muestra (v/v) para la prueba definitiva a 48 horas de exposición. Se establecieron 5 concentraciones del lixiviado (C1-C5) dentro de ese rango, además se incluyó el control negativo. Se siguió el procedimiento descrito anteriormente para el desarrollo de la prueba.

Tabla 7. Condiciones de la prueba con *D. magna*

Concepto	Condición
Tipo de prueba	Estática sin renovación
Duración	24 h y 48 h para la prueba exploratoria y 48 h para la prueba definitiva
Fotoperiodo	Oscuridad
Volumen de los pozos de prueba	10 ml
Edad de los organismos	Menos de 24 h de nacidos
Número de réplicas por dilución	4
Aireación de los recipientes de prueba	No
Número de réplicas en el control positivo	4
Número de réplicas en el control negativo	4
Número de organismos por pozo	La densidad de neonatos en los recipientes de prueba no debe ser mayor de 1 por cada 2 ml
Agua de dilución	Reconstituida dura
Temperatura	20 °C ± 2 °C
Alimentación	No
Respuesta evaluada	Inmovilidad o mortalidad a 48 h
Control negativo (sobrevivencia)	≥ 90%
Control positivo	Diicromato de potasio (K ₂ Cr ₂ O ₇)

Análisis estadístico: estimación de la CE₅₀

El parámetro de medición final (endpoint) fue la inmovilidad y muerte de los organismos de prueba. Los resultados obtenidos (% de efecto por concentración) fueron evaluados aplicando un modelo de regresión Probit para el cálculo de la CE₅₀ y sus respectivos límites de confianza al 95%, se utilizó el paquete estadístico Statgraphics Plus versión 5.1 para Windows.

El método de análisis Probit es aplicado por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (USEPA 1985) y permite estimar la CE₅₀ ajustando los datos de mortalidad mediante una técnica de probabilidad para estimar los valores que siguen una distribución logarítmica de tolerancias. El porcentaje de organismos afectados o muertos por la acción tóxica de una sustancia o efluente se transforma a unidades Probit. Esta transformación permite el ajuste a una línea de regresión, en la cual la concentración perteneciente al Probit 0.5, corresponde la concentración capaz de generar el efecto estudiado en la mitad de la población.

El ajuste del modelo de regresión Probit describe la relación entre el efecto (variable dependiente) y la concentración (variable independiente). Cuando el valor-P de la tabla de Análisis de Desviaciones es menor que 0.05, se puede afirmar que existe una

relación estadísticamente significativa entre las variables, con un nivel de confianza del 95%. Además, cuando el valor-P para los residuos es mayor o igual que 0.05, indica que el modelo no es significativamente peor que el mejor modelo posible para estos datos con un nivel de confianza del 95% o mayor.

Clasificación de la toxicidad

Con el objetivo de clasificar el lixiviado se convirtieron los valores de la CE_{50} a unidades toxicológicas las cuales se calcularon como el inverso de la CE_{50} expresado como porcentaje (Lapa *et al.* 2002). Las Unidades de Toxicidad (UT) se determinaron la fórmula:

$$1 \text{ UT} = 100/CE_{50}$$

donde:

CE_{50} es la concentración que inhibe un proceso vital en el 50% de la población expuesta de organismos de prueba.

Para la clasificación ecotoxicológica, de cuatro categorías, basadas en diferentes rangos de unidades tóxicas se usó la metodología propuesta por Lapa *et al.* 2002 y Wilke *et al.* 2008:

Clase 1. No tóxico ($UT \leq 1$)

Clase 2. Tóxico ($1 < UT \leq 10$)

Clase 3. Muy tóxico ($10 < UT \leq 100$)

Clase 4. Altamente tóxico ($UT > 100$)

Validación interna de la prueba

La condición que debe cumplirse para validar de la prueba es que el efecto (mortalidad o inmovilidad) debe ser máximo de 10% en el control negativo.

3.5.1.3. Validación de la prueba con el tóxico de referencia

Asimismo, con el fin de verificar la correcta ejecución del procedimiento y la sensibilidad de los animales de prueba es recomendable realizar la validación de la

prueba con un tóxico de referencia (Silva *et al.* 2003; Persoone *et al.* 2009). La prueba se considera válida cuando la sensibilidad de los organismos se ubica dentro de los límites de concentración del tóxico de referencia especificado en la carta control del lote de organismos utilizado y en la normatividad vigente. Según la NMX-AA-087-SCFI-2010 y el procedimiento ISO 6341:2012 referenciado por el fabricante del microbioensayo utilizado en este trabajo, el tóxico de referencia para la prueba de control de calidad debe ser el dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$). El valor de la concentración efectiva media (CE_{50}) a las 24 h se encuentra en un rango de aceptación de entre 0.6 mg/L y 2.1 mg/L (ISO 2012).

El procedimiento se realizó de la siguiente forma:

1. Para la preparación de una serie de concentraciones entre 3.2 mg/L y 0.32 mg/L se utilizaron siete matraces aforados de 100 ml.
2. Se pesaron 100 mg de dicromato de potasio en una balanza analítica y se colocaron en el matraz de "stock 1". Se aforó con agua desionizada.
3. Se transfirió 1 ml del "stock 1" al matraz del "stock 2" y se aforó a 100 ml para obtener una concentración del tóxico de 10 mg/L.
4. Se transfirieron los siguientes volúmenes del "stock 2" a los otros matraces de 100 ml:
 - 32 ml al matraz C1 (3.2 mg/L)
 - 18 ml al matraz C2 (1.8 mg/L)
 - 10 ml al matraz C3 (1 mg/L)
 - 5.6 ml al matraz C4 (0.56 mg/L)
 - 3.2 ml al matraz C5 (0.32 mg/L)
5. Se añadió el agua reconstituida hasta la marca de aforo de los matraces y se agitaron con cuidado para homogenizar su contenido.
6. Se llenó la placa de prueba con las diferentes concentraciones del tóxico de referencia siguiendo el procedimiento ya descrito para el desarrollo de la prueba.

CAPITULO 4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Caracterización

Dentro del manejo rutinario de los lixiviados del relleno sanitario de la ciudad de Mérida, Yucatán no se considera hacer una separación entre los lixiviados nuevos que ingresan a las lagunas de evaporación con los lixiviados más antiguos que ya se encuentran en ellas, por lo que éstos se mezclan de forma indiscriminada haciendo variar la calidad de esta agua residual.

Además, las prácticas de operación locales incluyen la recirculación de los lixiviados de las lagunas de evaporación hacia el relleno donde se pone en contacto con material todavía en proceso de estabilización lo que le confiere características mixtas como lo es una alta DQO (San Pedro *et al.* 2015).

Asimismo, la utilización de roca caliza (sascab) como material de cobertura tiene varios efectos como conferirle al lixiviado un pH alto debido a la presencia de carbonatos y bicarbonatos, alta dureza y actuar como filtro reteniendo las partículas grandes (Méndez *et al.* 2010). Con el fin de caracterizar el lixiviado crudo colectado de las lagunas de evaporación, así como el lixiviado sometido al tratamiento experimental se determinaron los parámetros fisicoquímicos más relevantes y los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 8.

Como era esperado, los resultados obtenidos en el lixiviado crudo correspondieron a un lixiviado maduro o estabilizado ya que presentó bajo DBO_5/DQO (0.05), fuerte color oscuro (14,300 U-Pt/Co) y alta concentración de nitrógeno amoniacal (649.7 mg/L) lo que dificultaría su tratamiento por los métodos biológicos comunes.

Otra característica notoria fue su alta conductividad (14,406.67 $\mu S/cm$) la cual fue atribuida las altas concentraciones de cloruros, sulfatos, amonio, potasio, sodio, etc. (Zhang *et al.* 2013).

Además de estas consideraciones, durante varios años se ha realizado la caracterización de los lixiviados generados en el relleno sanitario de la ciudad de Mérida, Yucatán y, como se puede observar en la Tabla 9, al comparar los resultados

de este estudio con aquellos obtenidos en muestreos anteriores se observa que los valores tienden a ser semejantes a pesar de la heterogeneidad característica de esta agua residual.

Tabla 8. Parámetros fisicoquímicos del lixiviado

Parámetro	Lixiviado crudo	Lixiviado tratado
pH	8.40	7.00
DQO _s (mg/L)	8,925.00	1,040.00
Temperatura (°C)	23.81	27.00
Conductividad (μS/cm)	14,406.70	16,930.00
DBO ₅ (mg/L)	455.00	200.0
IB (DBO ₅ /DQO)	0.05	0.19
Sólidos totales ST (mg/L)	26,368.00	25,476.00
Sólidos suspendidos totales SST (mg/L)	510.00	512.00
NTK (mg/L)	1,099.56	816.34
N-NH ₃ (mg/L)	649.70	599.76
Alcalinidad (mg/L)*	6,284.67	s/d
Color (U-Pt/Co)	14,300.00	1,920.00
COT (mg/L)	2,381.00	312.90
Turbidez (UNT)	45.00	75.80
Cromo (μg/L)	1,638.67	362.47
Plomo (μg/L)	59.78	5.04
Cadmio (μg/L)	5.93	6.10

*Como CaCO₃

s = soluble

s/d=sin dato

En contraste, algunas de las diferencias encontradas pueden ser atribuibles a la época en que se realizaron los muestreos: en temporada de lluvias, secas o ambas como por ejemplo los valores de la DQO, el nitrógeno total y el nitrógeno amoniacal encontrados en este estudio fueron menores a la mayoría de los reportados por los otros autores ya que el muestreo fue realizado en época lluviosa lo que causó un efecto de dilución.

El contenido de metales pesados (Cd, Cr y Pb) en el lixiviado muestreado fue bajo. En la Figura 14 se presentan las concentraciones de estos metales en el lixiviado crudo y en el lixiviado tratado. En ninguno de ellos y para ninguno de los metales analizados

se encuentra sobre el Límite Máximo Permissible (LMP) establecido para lixiviados en la norma NOM-052-SEMARNAT-2005 y que es de 1 mg/L para el cadmio y de 5 mg/L para el cromo y plomo, lo cual es atribuible a la influencia del material de cobertura alcalino que es utilizado en este relleno sanitario (Méndez *et al.* 2002) y que modifica la composición del lixiviado debido a que al aumentar la alcalinidad, los metales pesados pueden precipitar en forma de carbonatos e hidróxidos quedando no biodisponibles y sedimentados (Robles *et al.* 2011).

Tabla 9. Calidad de los lixiviados en muestreos realizados en el relleno sanitario de Mérida, Yucatán

Parámetro	Méndez <i>et al.</i> 2002	García 2006	Ramírez 2011	Ku 2012	Cervantes 2015
pH	8.40	8.50	8.30	8.30	8.30
Temperatura (°C)			24.30	24.30	26.90
Conductividad (µS/cm)		21,830.00	23,100.00	24,900.00	13,165.00
DBO ₅ (mg/L)	1,652.00	646.00	941.8.00	342.00	328.70
DQO (mg/L)	5,764.00	9,080.00	10,434.00	12,680.00	6,319.00
IB (DBO ₅ /DQO)	0.28	0.07	0.09	0.03	0.05
Sólidos totales ST (mg/L)	12,812.00		19,128.00		10,403.00
Sólidos suspendidos totales SST (mg/L)	73.00		357.00	192.00	24.78
NTK (mg/L)			2,159.00	12,312.00	4,990.00
N-NH ₃ (mg/L)	1,481.00		1,825.00		1,140.50
Alcalinidad (mg/L)*		6,112.00			9,316.00
Color (U-Pt-Co)			13,500.00	13,287.00	

*Como CaCO₃

Sin embargo, aparentemente la concentración de cromo total superó el límite máximo permisible para la protección de la vida acuática estipulado en la norma NOM-001-SEMARNAT-1996 que es de 1 mg/L para el cromo hexavalente y aunque el análisis realizado para cuantificación del cromo no discrimina entre sus diferentes especies químicas es destacable el efecto que tratamiento experimental tuvo sobre este elemento al disminuirlo aproximadamente 78% de su concentración inicial y ubicándolo muy por debajo del LMP.

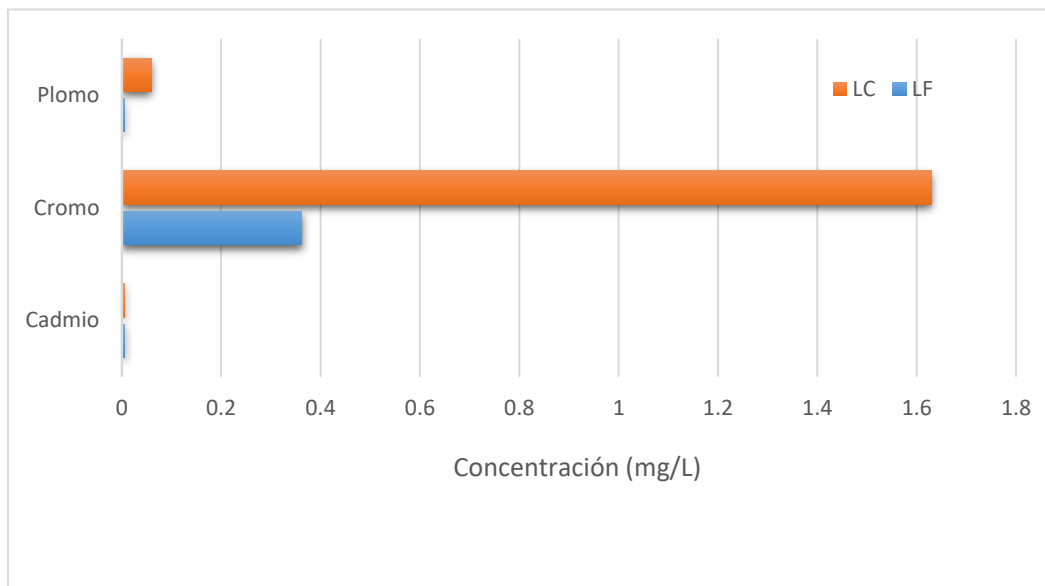


Figura 14. Metales pesados en lixiviado crudo (LC) y tratado con Fenton (LF)

En relación al nitrógeno, en la Tabla 8 se puede observar que la concentración del nitrógeno total se redujo ligeramente al pasar de 1,099.56 mg/L en el lixiviado crudo a 816.34 mg/L en el lixiviado tratado mientras que el nitrógeno amoniacal tampoco se redujo de forma importante; varios autores han reportado que a pesar de tener una capacidad oxidativa fuerte los radicales hidroxilos producidos en el proceso Fenton no modifican de forma importante las concentraciones de nitrógeno en el lixiviado (Deng y Englehardt 2006; San Pedro 2015) lo que concuerda con los resultados obtenidos en este trabajo de investigación. Por otra parte, el aumento de la conductividad eléctrica observado en el lixiviado tratado pudo ser debido a la contribución del hierro proveniente del exceso de sales de hierro utilizado en el tratamiento Fenton (Deng y Englehardt 2006; Hermosilla *et al.* 2009; Lin y Chang 2000).

Finalmente, respecto a la reducción de la materia orgánica, que fue uno de los objetivos principales de este trabajo experimental, se observó una disminución de la DQO y el COT de forma paralela lo que confirma el efecto positivo que el tratamiento Fenton tiene sobre la degradación de la materia carbonosa de origen orgánico. Además, la DBO₅ también reflejó una reducción de su concentración al pasar de 455 a 200 mg/L (Tabla 8).

Si bien con el tratamiento experimental aplicado no se redujo la DQO a la concentración permisible establecida por la normatividad vigente para la descarga de aguas residuales a los cuerpos de agua (NOM-001-SEMARNAT-1996), el aumento del índice de biodegradabilidad que se obtuvo (0.19) podría facilitar la degradación de la materia orgánica en un tratamiento biológico posterior (Zhang *et al.* 2013).

4.2. Oxidación Fenton

La determinación de los parámetros de control se realizó al inicio y después de cada una de las etapas de las que constó el tratamiento experimental y los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 10.

Tabla 10. Parámetros de control al inicio y por etapa de tratamiento

Parámetro	Inicio	Efluente primera etapa	Efluente segunda etapa	Efluente tercera etapa
Color (U-Pt-Co)	14,300.00	818.00	992.00	1,920.00
DQO _s (mg/L)	8,925.00	2,160.00	1,373.00	1,040.00
COT (mg/L)	2,381.00	480.20	349.80	312.50

Estos resultados reflejan que se alcanzó una alta eficiencia en la remoción de color bajo las condiciones experimentales: el color del lixiviado crudo disminuyó considerablemente en la primera etapa del tratamiento como consecuencia de la oxidación de la materia orgánica (Deng y Englehardt 2006, Monje y De Velázquez 2004; Sang 2008; Yilmaz *et al.* 2010), sin embargo, en las etapas siguientes se pudo observar un ligero aumento en la coloración de los efluentes lo cual puede ser indicativo que la coloración remanente después de la oxidación se debió principalmente a la presencia de hierro por lo cual dicho efecto en la coloración del efluente podría ser despreciado (Primo *et al.* 2008).

En la Figura 15 se presentan los porcentajes de remoción de la materia orgánica que se obtuvieron por etapa de tratamiento: en la primera etapa fue de 75.79%, similar al que ha sido reportado por otros autores en esta agua residual (San Pedro 2015; May 2017); para la segunda etapa el porcentaje de remoción acumulado fue de 84.61%

mientras que para la tercera -y última etapa- fue de 88.34% lo cual representó un incremento neto del 12.55% sobre el proceso Fenton convencional (de una sola etapa). Este incremento neto es semejante al 10% obtenido en el experimento de Hermosilla *et al.* (2009) donde los reactivos químicos fueron añadidos de modo continuo para el mantenimiento de la reacción oxidativa. Además, la realización del proceso Fenton por etapas mejora su desempeño ya que la dosificación puntual de hierro favorece la formación de flóculos permitiendo una mejor sedimentación mientras que el ajuste del pH previene la extrema acidificación del lixiviado causada por la reacción de hidrólisis del hierro (Carra *et al.* 2014).

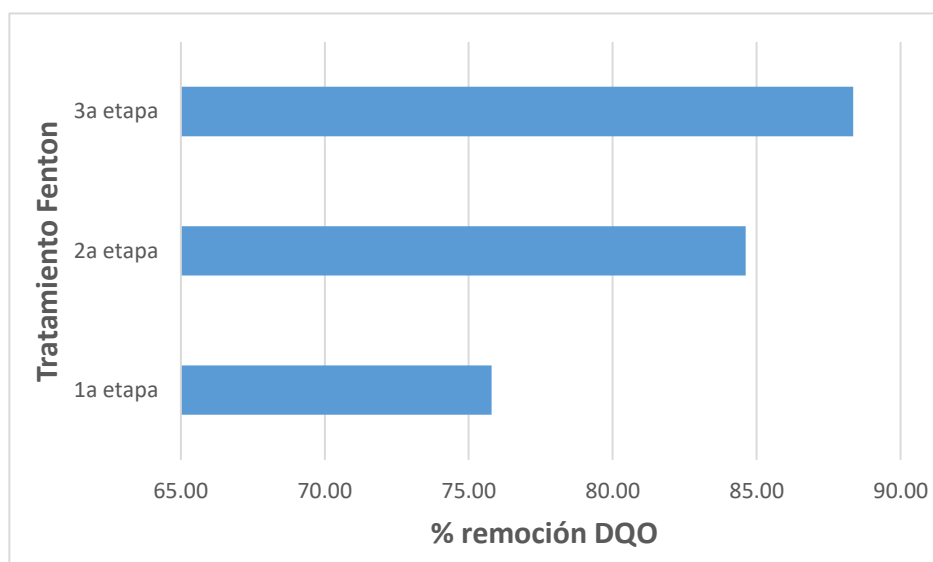


Figura 15. Porcentaje de remoción acumulada de DQO por etapas.

Cabe señalar que el valor del porcentaje de remoción alcanzado en este experimento para la DQO (88.34%) igualó o incluso superó por un pequeño margen a los valores máximos de remoción reportados por otros autores para el proceso Fenton convencional en lixiviado viejo o mixto (Hermosilla *et al.* 2009; Wang *et al.* 2016b; Zhang *et al.* 2013) por lo que puede ser considerado como una optimización del proceso. Sin embargo, desde el punto de vista económico y de operación, si se toma en cuenta que la remoción adicional de la materia orgánica que aporta la segunda (8.82) y la tercera etapa (3.73), respectivamente, es cada vez menor, se podría estimar que la realización de una tercera etapa bajo estas condiciones experimentales no ofrecería, desde este punto de vista, una relación-costo beneficio suficientemente

satisfactoria para ser incluida como parte del proceso (Figura 16). La disminución de la capacidad del proceso de degradación se explica al considerar que la mayor remoción obtenida durante la primera etapa es debida a la mineralización de la materia orgánica fácilmente oxidable presente en el lixiviado mientras que las sustancias más recalcitrantes permanecen en las etapas posteriores y aunque pueden ser oxidadas no son mineralizadas por completo por lo que el valor de la DQO no disminuye de forma importante (Carra *et al.* 2013).

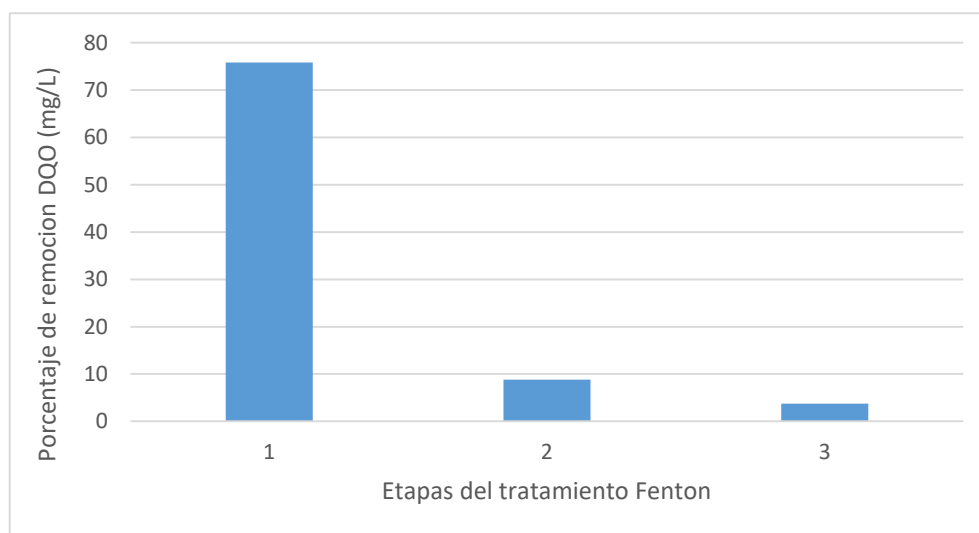


Figura 16. Porcentajes de remoción de DQO por etapas

Con el fin de comprobar lo anteriormente descrito se determinó como parámetro de control además de la DQO, el COT. Como se puede observar en la Tabla 10, el porcentaje total de remoción acumulado medido como COT (86.87%) fue similar al medido como DQO (88.34%), aunque este primero es ligeramente menor, lo cual es indicativo que las moléculas grandes de materia orgánica del lixiviado fueron divididas en moléculas más pequeñas, aunque no completamente mineralizadas a dióxido de carbono y agua, esta conclusión es consistente a la previamente reportada por Zhang *et al.* (2005) y Zhang *et al.* (2013). De hecho, el proyecto de modificación de la NOM-001-SEMARNAT-1996 (PROY-NOM-001-SEMARNAT-2017) contempla la utilización del parámetro del COT en sustitución de la DQO para medir la carga orgánica contaminante ya que permite obtener resultados más confiables y que caracterizan mejor a la descarga de aguas residuales.

Finalmente, los resultados encontrados sugieren que la materia orgánica recalcitrante a la oxidación pudiese requerir de diferentes condiciones de tratamiento para incrementar su remoción o su combinación con otras tecnologías como el foto-Fenton (Carra *et al.* 2014).

Análisis estadístico

Los resultados del análisis estadístico indicaron que las diferencias entre las etapas del proceso de oxidación fueron significativas. Los resultados de la prueba de ANOVA se presentan en la Tabla 11.

Tabla 11. Prueba de ANOVA para la remoción por etapas

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	240.67	2	120.33	541.50	0.00
Intra grupos	1.33	6	0.22		
Total (Corr.)	242.00	8			

Posteriormente, se aplicó la prueba de rango múltiple y se encontró que las tres etapas fueron significativamente diferentes (Tabla 12).

Tabla 12. Prueba de rango múltiple

Etapas	Casos	Media	Grupos Homogéneos
1	3	75.66	X
2	3	84.33	X
3	3	88.00	X

Asimismo, se observó en el gráfico de Fisher que, con un 95% de confianza, las diferentes etapas tuvieron resultados de remoción estadísticamente significativas siendo la tercera etapa la que obtuvo la más alta remoción acumulada (Figura 17).

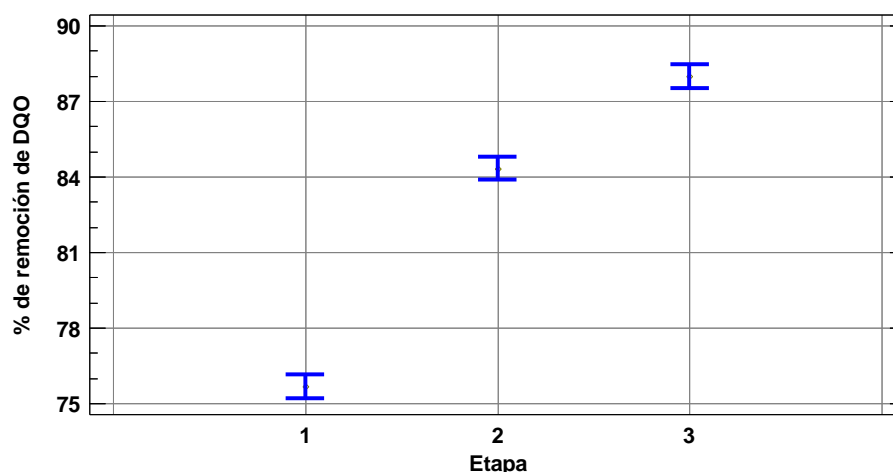


Figura 17. Prueba de Fisher para remoción de DQO por etapas

4.3. Determinación de peróxido residual

Los resultados que se obtuvieron con la medición del peróxido residual se presentan en la Tabla 13 así como su equivalencia a DQO.

Tabla 13. Resultados de la determinación del peróxido residual y su equivalencia a DQO

Fenton	DQO (mg/L)	Peróxido residual (mg/L)	Equivalencia a DQO (mg/L)
1ª etapa	2,160.00	46.60	23.30
2ª etapa	1,373.00	26.60	13.30
3ª etapa	1,040.00	20.00	10.00

Como se puede observar, el peróxido remanente representa una interferencia de aproximadamente 1% sobre el valor medido de la DQO lo que sugiere que puede ser despreciado para estas condiciones de ensayo, a diferencia de lo reportado por da Costa *et al.* (2018) quienes reportaron que la concentración residual del peróxido de hidrógeno interfería con las determinaciones de DQO por lo que debía ser cuantificado para corregir los valores.

4.4. Evaluación del efecto de la filtración

Los datos experimentales obtenidos en el ensayo del efecto de la filtración aportan suficiente evidencia para afirmar que no existe diferencia significativa en las remociones de materia orgánica (DQO y COT) entre el lixiviado filtrado y el no filtrado,

por lo que no se recomienda realizar la filtración entre las etapas con el fin simplificar el proceso y reducir costos.

4.5. Análisis cromatográfico

En el análisis cromatográfico del lixiviado crudo y tratado se encontró una amplia variedad de compuestos, reflejo de heterogeneidad característica de esta agua residual además cabe señalar que algunos de ellos pueden ser producto de degradación de moléculas más grandes (Barnes *et al.* 2004; Kang *et al.* 2002; Masoner *et al.* 2016). En la Tabla 14 se presentan los compuestos orgánicos identificados así como sus posibles fuentes; como se puede observar, la mayoría son fitoquímicos que pueden provenir de residuos de jardinería así como restos de alimentos de origen vegetal y medicamentos herbolarios, entre otros, ya que se estima que aproximadamente más del 50% de los RSU que son generados y desechados en los rellenos sanitarios está conformado de materia orgánica (Buenrostro y Bocco 2003; Karak *et al.* 2012; Paramanatham y Murugesan 2014), por lo que se podría considerar que, al ser compuestos de origen natural, su potencial de contaminación es mínimo (Kang *et al.* 2002).

Sin embargo, algunos de los compuestos identificados son contaminantes tóxicos que junto con el amoníaco y un amplio rango de composiciones complejas, contribuyen a conferir peligrosidad al lixiviado (Clark *et al.* 2015; Eggen *et al.* 2010; Masoner *et al.* 2016; Zhang *et al.* 2008), tal es el caso del Bisfenol A que fue encontrado en el lixiviado crudo y en el efluente de la primera etapa del proceso Fenton. El bisfenol A es un importante carcinógeno y estrógeno ambiental frecuentemente encontrado en los lixiviados de otros rellenos sanitarios alrededor del mundo (Coors *et al.* 2003; Masoner *et al.* 2016) y que ha sido anteriormente identificado en lixiviados del relleno sanitario de Mérida, Yucatán (San Pedro *et al.* 2015; Ramírez *et al.* 2013); por ser considerado un disruptor endocrino su presencia es de interés para la salud pública y el ecosistema (Asakura *et al.* 2004; Barnes *et al.* 2004; Gong *et al.* 2014; Ramakrishnan *et al.* 2014), de hecho, diversos estudios de toxicidad realizados en este tipo de aditivos del plástico han encontrado que tiene la capacidad de producir un efecto tóxico agudo (inmovilidad) a la *Daphnia magna* (Bejgarn *et al.* 2015, Lithner *et al.* 2009).

Tabla 14. Compuestos orgánicos identificados en lixiviado crudo y por etapa del tratamiento experimental

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Fuente
<i>Lixiviado crudo</i>		
5,8,11–heptadecatrieno-1-ol	15.41	Residuos vegetales
Linolenina	15.77	Residuos vegetales
Acido benzoico	18.96	Residuos vegetales, suelo, productos de limpieza, medicamentos
Ácido propanoico	21.79	Residuos vegetales
10-metil-8-tetradeceno-1 ol acetato	23.87	Residuos vegetales
Bisfenol A -	29.02	Plásticos, resinas sintéticas, retardante de flama en artículos electrónicos
Forbol	29.12	Residuos vegetales
1, 1, 1, 3, 3, 3–hexafluoropropano	30.15	Extintores, refrigerantes
3-n-hexilheptadecano	32.81	Residuos vegetales
17-Pentatriaconteno	33.90	Residuos vegetales
Rodopina	37.43	Residuos vegetales
Colest-20(22)-ene-3,6-diona, (5 α)	37.59	Tejidos corporales y plasma sanguíneo de los vertebrados, heces
<i>Efluente Fenton 1a. etapa</i>		
Piridina	11.71	Herbicidas, insecticidas, fungicidas adhesivos, colorantes, pinturas, explosivos, desinfectantes, fármacos
n-heptano	13.22	Limpiadores, agroquímicos, combustibles
Acido indol-3-acético	13.66	Residuos vegetales
N,N-Dimetilisopropilamina	13.90	Residuos industriales
Bisfenol A dimetacrilato	15.00	Plásticos, resinas dentales
Colest-20(22)-ene-3,6-diona, (5 α)	39.10	Tejidos corporales y plasma sanguíneo de los vertebrados, heces
<i>Efluente Fenton 2a. etapa</i>		
Acido n-heptanoico	18.26	Residuos vegetales, fragancias, alimentos procesados
Astaxantina	20.38	Residuos vegetales
Fucoxantina	20.48	Residuos vegetales
Colest-20(22)-ene-3,6-diol, (3 β ,5 α ,6 α)-	29.09	Tejidos corporales y plasma sanguíneo de los vertebrados
Metil 13-metil eicosanoato	31.66	Alimentos procesados, residuos vegetales
Heptadecano	33.89	Residuos vegetales
17-Pentatriaconteno	35.96	Residuos vegetales
3-etil-5-octadecano	38.83	Solvente, residuos industriales

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Fuente
<i>Efluente Fenton 3a. etapa</i>		
Acetamida	10.61	Plásticos, pegamentos, explosivos, fármacos, papel, disolvente industrial
Colestan-3-ol	13.04	Tejidos corporales y plasma sanguíneo de los vertebrados, heces

Otra sustancia de interés encontrada en el efluente de la primera etapa de oxidación Fenton fue la piridina la cual puede utilizarse como ingrediente activo de plaguicidas y que forma parte de la lista de sustancias bajo vigilancia de la Environmental Protection Agency por su posible efecto como disruptor endocrino (EPA 2009). Asimismo, la piridina se encuentra en la lista de componentes tóxicos de la NOM-052-SEMARNAT-2005.

Por otra parte, la presencia de esteroides en el lixiviado crudo (Barnes *et al.* 2004, Eggen *et al.* 2010; Ramakrishnan *et al.* 2014; Ramirez *et al.* 2013; Zhang *et al.* 2008) y en el efluente de todas las etapas del tratamiento, como el colestano-3-ol identificado en el efluente final, sugiere que por sus estructuras complejas y altos pesos moleculares (Figura 18) resultaron refractarios a la oxidación, tal como lo reportaron Ramirez *et al.* (2013) quienes lograron disminuir el colestano únicamente en un 5% con un proceso Fenton de una etapa aplicado a lixiviados del relleno sanitario de Mérida, Yucatán. De forma contraria, San Pedro *et al.* (2015) reportaron su eliminación con una sola etapa de oxidación lo cual posiblemente se debió a diferencias en la concentración inicial de este componente, que en el caso del estudio de San Pedro *et al.* (2015), pudo haber sido menor en el lixiviado crudo al momento de ser muestreado. La presencia de productos de degradación del colesterol reflejó el efecto del tratamiento Fenton sobre la estructura de las moléculas complejas mediante la ruptura de largas cadenas moleculares dando lugar a intermediarios parcialmente oxidados. Con todo, en base a los resultados obtenidos en el presente análisis, se podría concluir que la presencia de compuestos carbonosos de alto peso molecular muy probablemente impidió la reducción de la DQO hasta el límite permisible por la normatividad para la descarga

de efluentes a cuerpos de agua el cual no debe ser mayor de 60 mg/L (promedio diario) (NOM-001-SEMARNAT-1996).

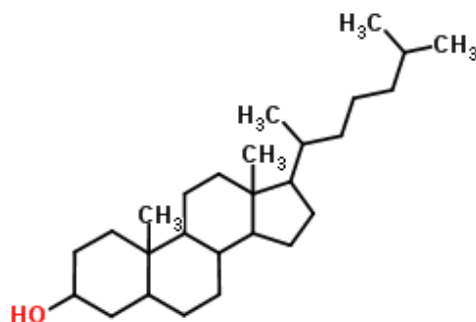


Figura 18. Colestan-3-ol

Asimismo, cabe señalar que tomando en cuenta que la abundancia relativa de cada componente se calculó comparando el área promedio bajo el pico con el área total, se observó en los cromatogramas obtenidos una gran variabilidad en la capacidad de resolución de las sustancias químicas individuales en función de sus abundancias relativas las cuales pueden aumentar o disminuir en la medida que son transformadas por el proceso de oxidación; sin embargo, y aunque las concentraciones individuales de muchos constituyentes se encuentren por debajo de los límites de detección de la técnica, el efecto de esta mezcla compleja puede seguir siendo detectable a través de los bioensayos por lo que la combinación de ambos procedimientos permiten una mejor evaluación de un lixiviado en específico (Wang *et al.* 2016b).

En la Figura 19 se observó una clara tendencia a la disminución de las sustancias orgánicas identificadas en función de la etapa de tratamiento donde la degradación secuencial de los componentes del extracto conllevaría a una menor toxicidad y estrogenicidad (Olivero *et al.* 2008; Ramakrishnan *et al.* 2014; Wang *et al.* 2016a); por ejemplo el bisfenol A, dejó de ser detectado a partir de la segunda etapa de oxidación (Ramírez *et al.* 2013; San Pedro *et al.* 2015).

Finalmente, la presencia de la acetamida en el efluente final es de particular interés ya que, aunque su abundancia relativa no fue lo suficientemente alta para ser detectada en el lixiviado crudo y en el efluente de las primeras dos etapas del tratamiento, su

presencia deberá ser tomada en cuenta para diseñar estrategias para eliminarla ya que se trata de una sustancia tóxica.

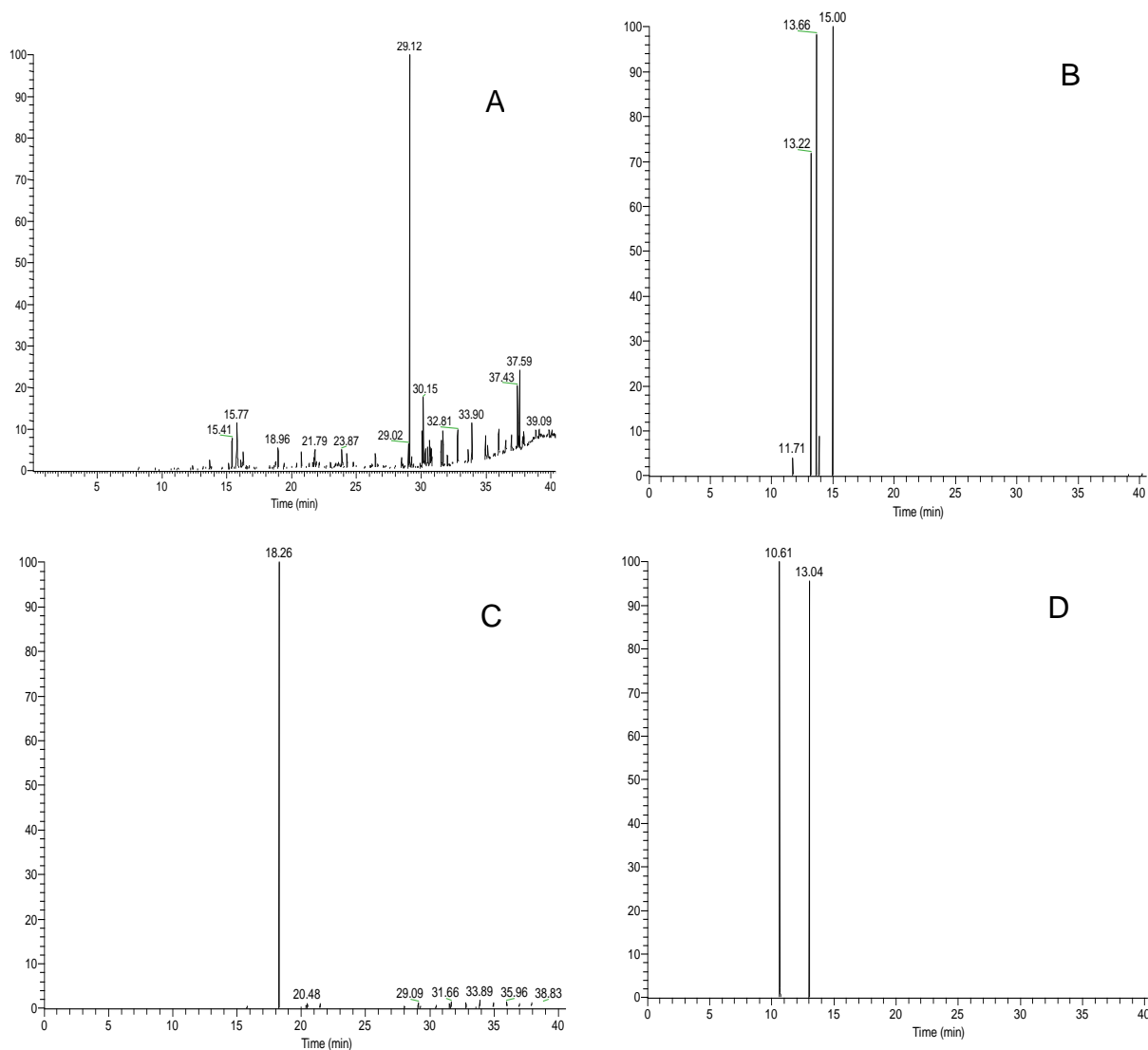


Figura 19. Cromatogramas de iones (full scan, 60-600 m/z) de las muestras tomadas: A = lixiviado crudo; B = primera etapa; C = segunda etapa; D = efluente final

4.6. Bioensayos de toxicidad aguda

4.6.1. Prueba rápida

Para la prueba rápida se probaron dos concentraciones: la concentración de 25% de lixiviado crudo y la concentración de lixiviado tratado de 100% y los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 15.

Debido a que al término de la prueba había una mortalidad del 100% en las concentraciones analizadas se procedió seleccionar para la prueba exploratoria una serie de concentraciones a partir de una concentración menor.

Tabla 15. Resultados de la prueba rápida

Lixiviado	% concentración	% mortalidad
Crudo	25	100
Tratado	100	100

4.6.2. Prueba exploratoria

En la prueba exploratoria para el lixiviado crudo se evaluó un rango de las concentraciones de 12.50 y 0.78, realizándose 5 diluciones geométricas (C1-C5). En la Tabla 16 se presentan los resultados obtenidos en esta prueba.

Tabla 16. Resultados de la prueba exploratoria en el lixiviado crudo

Lixiviado crudo	% concentración	% efecto 24 h	% efecto 48 h
C1	12.50	100	100
C2	6.25	0	10
C3	3.12	0	0
C4	1.56	0	0
C5	0.78	0	0
Control negativo	0.00	0	0

Se observó que para los tiempos de exposición de 24 y 48 h las dos concentraciones entre las que se encontró el 50% de efecto que fueron C1 (12.50%) y C2 (6.25%) por lo que esos valores fueron seleccionados para establecer un nuevo rango de concentraciones para la prueba definitiva.

Por otra parte, en el lixiviado tratado se evaluaron diluciones entre las concentraciones de 50% y 3.12% y cuyos resultados se presentan en la Tabla 17. Como se puede observar, las dos concentraciones entre las que se encontró el 50% de efecto fueron C2 (25%) y C3 (12.5%) por lo que esos valores fueron seleccionados para establecer un nuevo rango de concentraciones para la prueba definitiva.

De forma preliminar, se observó que la concentración del lixiviado tratado para encontrar el 50% de efecto fue mayor que la concentración del lixiviado crudo necesaria para alcanzar ese mismo efecto lo cual constituyó un primer indicio de que sí hubo una reducción en la toxicidad del lixiviado por efecto del tratamiento experimental tal como era esperado.

Tabla 17. Resultados de la prueba exploratoria en el lixiviado tratado

Lixiviado tratado	% concentración	% efecto 24 h	% efecto 48 h
C1	50.00	100	100
C2	25.00	100	100
C3	12.50	0	0
C4	6.25	0	0
C5	3.12	0	0
Control negativo	0.00	0	0

4.6.3. Prueba definitiva

Para la prueba definitiva se probaron cinco concentraciones -por cuadruplicado- en los correspondientes rangos seleccionados en las pruebas exploratorias para cada lixiviado. En las Figuras 20 y 21 se ilustran los resultados expresados como porcentajes de efecto respecto de la concentración de lixiviado, que se obtuvieron para el lixiviado crudo y tratado, respectivamente, en la prueba definitiva a 24 y 48 horas.

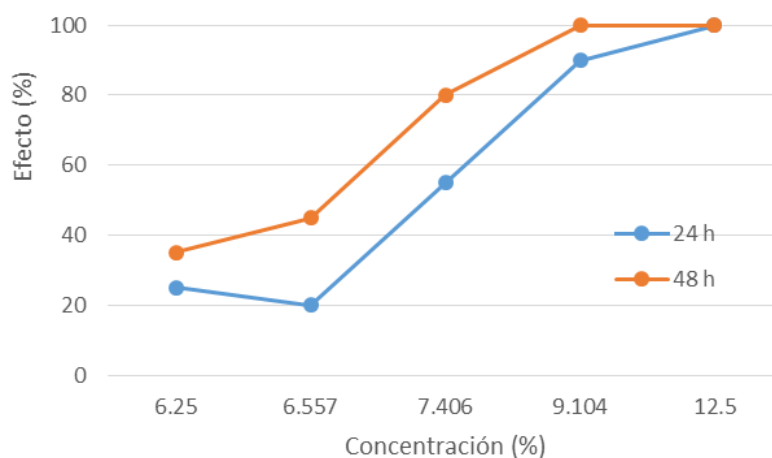


Figura 20. Resultados de la prueba definitiva en el lixiviado crudo

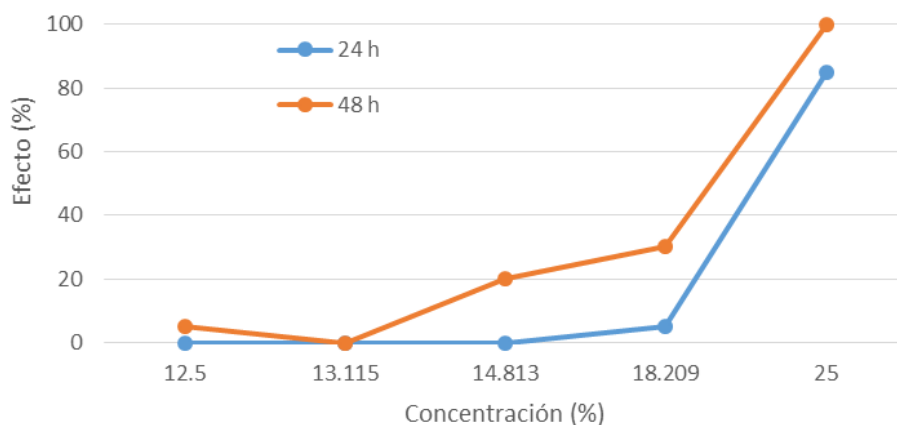


Figura 21. Resultados de la prueba definitiva en el lixiviado tratado

Como se puede observar, las curvas porcentaje de efecto a 24 y 48 horas exhibieron un comportamiento semejante siendo que en este último se observó un mayor efecto sobre los organismos de prueba lo que coincidió con los períodos de exposición que han sido estandarizados por procedimientos internacionales como el método EPS1/RM/11 de la Environment Canada que establece que el tiempo de exposición para obtener resultados concluyentes debe ser estrictamente el de 48 horas (Persoone *et al.* 2009).

Estos datos aportaron evidencia de que el tratamiento experimental redujo la toxicidad del lixiviado crudo tal como fue planteado en la hipótesis de investigación. Cabe señalar que el tiempo de tratamiento Fenton de 120 minutos pudo ser un factor importante en la reducción o probable eliminación del efecto tóxico de los productos intermediarios del proceso de oxidación los cuales pueden ser incluso más tóxicos que los contaminantes primarios si no se permite un tiempo de contacto lo suficientemente largo (Wang *et al.* 2016b).

4.6.3.1. Análisis estadístico de los resultados

Con base a los resultados obtenidos en la prueba definitiva a 48 horas se realizó el análisis Probit para obtener el valor de la $CE_{50-48 h}$ para el lixiviado crudo y el lixiviado tratado, con un intervalo de confianza del 95%, y que se presentan en las Figuras 22 y 23, respectivamente. Los coeficientes de correlación obtenidos entre el efecto

observado y la concentración del lixiviado estuvieron en un rango entre 0.80 y 0.87 lo que se consideró como satisfactorio (Persoone *et al.* 1994).

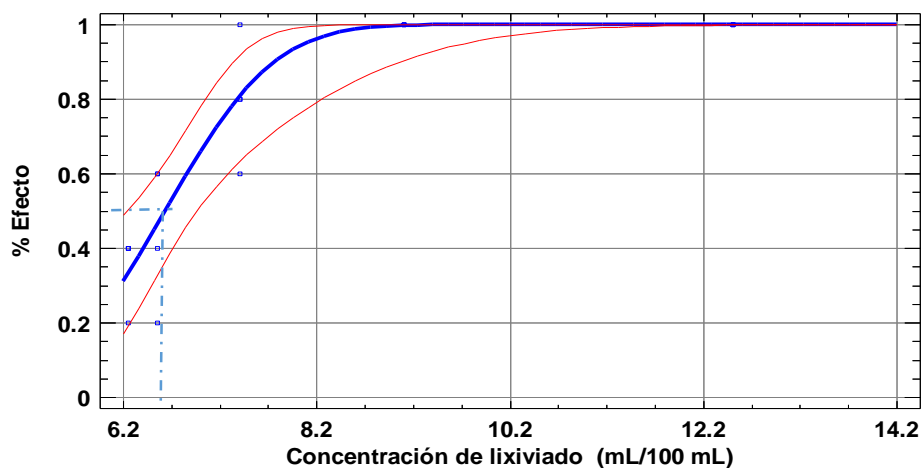


Figura 22. Análisis Probit del efecto del lixiviado crudo a las 48 horas ($\alpha = 0.05$) para la obtención de la EC_{50-48h} . Valor-P = 0.0000

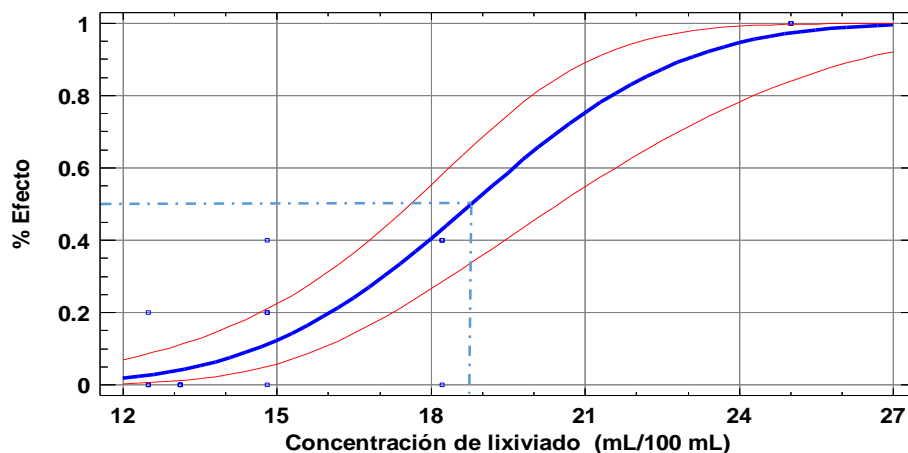


Figura 23. Análisis Probit del efecto del lixiviado tratado a las 48 horas ($\alpha = 0.05$) para la obtención de la EC_{50-48h}

El resultado del análisis estadístico arrojó un valor de EC_{50-48h} para el lixiviado crudo de 6.63 % $p < 0.05$ muy similar al valor reportado por Wang *et al.* (2016) y que transformado a unidades tóxicas fue equivalente a 15.07 lo cual correspondió a una clasificación ecotoxicológica de clase 3: "muy tóxico" ($10 < UT \leq 100$); esta categoría

de toxicidad para lixiviado crudo coincidió con la encontrada por otros autores en esta agua residual (Mannarino *et al.* 2010; Silva *et al.* 2004). Entre ellos, Mannarino *et al.* (2010) reportaron de 32 a 64 UT para *D. similis*, y aunque en su caso no hay normatividad brasileña que establezca los límites de toxicidad para efluentes utilizando este organismo, la Ley Administrativa No. 017 de Santa Catarina State Environment Foundation (FATMA 2002) establece un límite máximo de toxicidad de 1 UT para *Daphnia magna* en efluentes provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas por lo que considerando la similitud entre los organismos podría utilizarse un valor de referencia para otro tipo de aguas residuales como los lixiviados de los rellenos sanitarios

La alta toxicidad del lixiviado crudo fue debida al hecho que contiene una mezcla compleja de componentes, algunos de ellos son considerados tóxicos o muy tóxicos, lo cual ha sido ampliamente documentado (Clark *et al.* 2015). La posibilidad de efectos sinérgicos entre sus componentes debe ser también considerada y es frecuentemente referida como un factor en la toxicidad de los lixiviados en los rellenos sanitarios (Aguayo *et al.* 2004).

Por otra parte, el análisis estadístico de los datos del lixiviado tratado obtuvo un valor EC_{50-48h} de 18.79 % $p < 0.05$ lo que fue equivalente a 5.32 UT y que lo ubicó dentro de la clase 2 de la clasificación ecotoxicológica correspondiente a "tóxico" ($1 < UT \leq 10$). En México, el proyecto de modificación a la norma NOM-001-SEMARNAT-1996 (PROY- NOM-001-SEMARNAT-2017) propone establecer como límite permisible de toxicidad aguda para la descarga de aguas residuales vertidas a cuerpos receptores un valor menor o igual a 5 UT; por lo que considerando este criterio se podría concluir que a través del tratamiento experimental aplicado en este trabajo de investigación se estaría cerca de cumplir con la normatividad para este parámetro.

En otro orden de ideas, los valores CE_{50-48h} encontrados en el lixiviado no tratado y en el lixiviado tratado reflejaron una reducción del efecto tóxico de 64.65%. El coeficiente de correlación obtenido en el lixiviado tratado (80%) sugirió que hay una fuerte relación entre la disminución de la toxicidad y el tratamiento experimental, lo que concordó con lo reportado por Olivero *et al.* (2008) quienes documentaron

estadísticamente la dependencia de la toxicidad en función de la DQO. La reducción de la toxicidad obtenida por el proceso Fenton puede considerarse como una ventaja cuando se utiliza como un pre-tratamiento ya que previene la intoxicación en los microorganismos que intervienen en los procesos biológicos (da Costa *et al.* 2018).

Sin embargo, y a pesar de que se ha demostrado las relaciones estadísticamente significativas entre la toxicidad y la DQO, otras variables pueden ser responsables de los efectos observados en el organismo de prueba *Daphnia magna*. Por ejemplo, la toxicidad de varios rellenos sanitarios de Suiza y Lituania ha sido atribuida a componentes de amonio/amoniaco (Svensson *et al.* 2005). Por lo tanto, es muy probable que la toxicidad remanente en este estudio sea efecto del nitrógeno amoniacal (NH_4^+) así como otros componentes del lixiviado los cuales pueden tener efectos sinérgicos difíciles de determinar por la complejidad de esta mezcla (Barrios *et al.* 2017; Kjeldsen *et al.* 2002) por lo que es imperativo encontrar tecnologías de tratamiento apropiadas para reducir los compuestos nitrogenados y las sustancias traza de los influentes hasta alcanzar las "concentraciones de no efecto observado" (NOEC) en las especies locales claves con el objetivo de proteger la biodiversidad acuática y las funciones importantes del ecosistema (Filby *et al.* 2010).

En resumen, los resultados de este estudio aportaron evidencia a favor de que el tratamiento Fenton puede ser considerado como un método apropiado de tratamiento de lixiviado y la viabilidad de las pruebas de toxicidad aguda para la evaluación de sus niveles de toxicidad. Asimismo, caber destacar la importancia de la aplicación de un tratamiento para lixiviados con un enfoque analítico integrado (químico+biológico) (da Costa *et al.* 2018; Ma *et al.* 2005; San Pedro *et al.* 2015; Wang *et al.* 2016b) que permita su reducir la toxicidad hasta niveles ambientalmente seguros y que incluso se orienten hacia el reaprovechamiento del recurso hídrico (Schwarzenbach *et al.* 2010).

4.6.3.1. Prueba de validación con el tóxico de referencia

El valor de la $\text{EC}_{50-24 \text{ h}}$ para el dicromato de potasio fue de 0.77 mg/L el cual se encontró dentro del rango de respuesta aceptable recomendado por el fabricante y la normatividad, validando la prueba. En la Figura 24 se muestran el resultado del análisis estadístico. Este resultado obtenido en este trabajo coincidió con los resultados de

otros países que han participado en ensayos inter e intra laboratorios y que han logrado obtener reproducibilidad, repetitividad y precisión satisfactorias utilizando este microbioensayo (Persoone *et al.* 2009) lo que lo convierte en una herramienta confiable para la obtención de resultados de toxicidad aguda y que puede ser implementada de forma sencilla adhiriéndose estrictamente al protocolo de prueba.

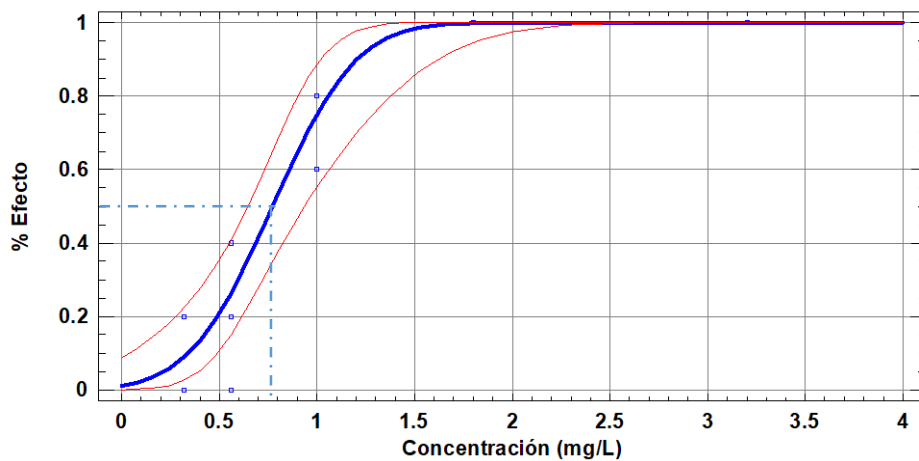


Figura 24. Análisis Probit del efecto del tóxico de referencia a las 24 horas ($\alpha = 0.05$) para la obtención de la EC₅₀-24h

CAPITULO 5. CONCLUSIONES

El tratamiento Fenton experimental de tres etapas incrementó en un 12.55% la remoción de la materia orgánica en comparación con el tratamiento convencional de una sola etapa de oxidación.

De manera general, el tratamiento de tres etapas redujo la presencia de componentes orgánicos e inorgánicos lo que podría contribuir a la disminución de la toxicidad de los lixiviados.

El nitrógeno amoniacal, probable responsable de la toxicidad remanente, se redujo únicamente 7.68% con el proceso Fenton.

La prueba de toxicidad aguda (EC_{50}) utilizando como organismo de prueba *Daphnia magna* es una herramienta rápida, sencilla y confiable de evaluar la toxicidad aguda del lixiviado además de que la utilización de organismos y materiales estandarizados y validados permite la comparación de sus resultados con otros estudios.

La EC_{50} -48 h obtenida reflejó una reducción del 64.65% de la toxicidad de los lixiviados tratados.

El lixiviado tratado obtenido en este estudio aún no es considerado apto para ser descargado en los cuerpos de aguas naturales.

CAPITULO 6. RECOMENDACIONES

Evaluar otras condiciones del proceso Fenton específicas para las sustancias orgánicas remanentes en el lixiviado tratado.

Realizar un análisis con cromatografía líquida (HPLC) para determinar las especies orgánicas remanentes y sus concentraciones para proponer, un su caso, el tratamiento más adecuado para eliminarlo.

Probar un tratamiento posterior a la oxidación Fenton para reducir las concentraciones de nitrógeno amoniacal: adsorción con carbón activado o humedales artificiales.

Se recomienda incluir en las pruebas de toxicidad aguda al menos un productor primario además del consumidor acuático (Wilke *et al.* 2008)

Se recomienda realizar pruebas de punto final crónico.

REFERENCIAS

- Abas M. A., Wee S. T. (2014). Municipal solid waste management in Malaysia: An insight towards sustainability. Disponible en: https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=2714755.
- Aguayo S., Munoz M. J., de la Torre A., Roset J., de la Peña E., Carballo M. (2004). Identification of organic compounds and ecotoxicological assessment of sewage treatment plants (STP) effluents. "Science of the Total Environment", 328(1-3), 69-81.
- Alimba C. G., Bakare A. A., Aina O. O. (2012). Liver and kidney dysfunction in wistar rats exposed to municipal landfill leachate. "Resources and Environment", 2(4), 150-163.
- APHA-AWWA-WPCF. (1998). Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington DC, USA: American Public Health Association/ American Water Works Association/ Water Environment Federation 20 th edition.
- Arana J., Rendón E. T., Rodríguez J. D., Melián J. H., Díaz O. G., Peña J. P. (2001). Highly concentrated phenolic wastewater treatment by the Photo-Fenton reaction, mechanism study by FTIR-ATR. "Chemosphere," 44(5), 1017-1023.
- Archundia L. (2000). Diseño, construcción y operación de rellenos sanitarios sobre material cárstico. El caso de Mérida, Yucatán. XXII Congreso Interamericano de AIDIS, (págs. 6-7). Porto Alegre, Brasil.
- Asakura H., Matsuto T., Tanaka N. (2004). Behavior of endocrine-disrupting chemicals in leachate from MSW landfill sites in Japan. "Waste Management", 24(6), 613-622.
- Aziz H. A., Alias S., Adlan M. N., Asaari A. H., Zahari M. S. (2007). Colour removal from landfill leachate by coagulation and flocculation processes. "Bioresource Technology", 98(1), 218-220.
- Babuponnusami A., Muthukumar K. (2014). A review on Fenton and improvements to the Fenton process for wastewaters treatment. "Journey of Environmental Chemical Engineering", 2(1), 557-572.
- Badgie D., Samah M. A., Manaf L. A., Muda A. B. (2012). Assessment of Municipal Solid Waste Composition in Malaysia: Management, Practice and Challenges. "Polish Journal of Environmental Studies", 21(3), 539-547.
- Barbier O., Jacquillet G., Tauc M., Cougnon M., Poujeol P. (2005). Effect of heavy metals on, and handling by, the kidney. "Nephron Physiology", 99(4), p105-p110.
- Barbusiński K. (2009). Henry John Horstman Fenton-short biography and brief history of Fenton reagent discovery. Chemistry-Didactics-Ecology-Metrology, 14.
- Baris C., Bulent M., Bulent I. (2005). Landfill leachate management in Istambul: applications and alternatives. "Chemosphere", (59), 819 -829.

- Barrios J. J., Flohr L., Melegari S. P., da Costa C. H., Fuzinato C. F., de Castilhos Jr A. B., Matias W. G. (2017). Correlation between acute toxicity for *Daphnia magna*, *Aliivibrio fischeri* and physicochemical variables of the leachate produced in landfill simulator reactors. "Environmental technology", 38(22), 2898-2906.
- Bashir M. J., Isa M. H., Kutty S. R. M., Awang Z. B., Aziz H. A., Mohajeri S., Farooqi I. H. (2009). Landfill leachate treatment by electrochemical oxidation. "Waste Management", 29(9), 2534-2541.
- Baun A., Ledin A., Reitzel L. A., Bjerg P. L., Christensen T. H. (2004). Xenobiotic organic compounds in leachates from ten Danish MSW landfills—chemical analysis and toxicity tests. "Water research", 38(18), 3845-3858.
- Bautista P., Mohedano A. F., Casas J., Zazo J. A., Rodriguez J. J. (2008). An overview of the application of Fenton to industrial wastewaters treatment. "Journal of Chemical Technology and Biotechnology", 83: 1323-1338.
- Bejgarn S., MacLeod, M., Bogdal C., Breitholtz M. (2015). Toxicity of leachate from weathering plastics: An exploratory screening study with *Nitocra spinipes*. "Chemosphere", 132, 114-119.
- Bernard C., Guido P., Colin J., Le Dû-Delepierre A. (1996). Estimation of the hazard of landfills through toxicity testing of leachates—I. Determination of leachate toxicity with a battery of acute tests. "Chemosphere", 33(11), 2303-2320.
- Bortolotto T., Bertoldo J. B., da Silveira F. Z., Defaveri T. M., Silvano J., Pich C. T. (2009). Evaluation of the toxic and genotoxic potential of landfill leachates using bioassays. "Environmental toxicology and pharmacology", 28(2), 288-293.
- Blaise C. (1991). Microbiotests in aquatic ecotoxicology: characteristics, utility, and prospects. "Environmental Toxicology", 6(2), 145-155.
- Buenrostro O., Bocco G. (2003). Solid waste management in municipalities in Mexico: goals and perspectives. "Resources, conservation and recycling", 39(3), 251-263.
- Canizares R. O., Martínez F., Espinosa F. (2000). Acute Toxicity to *Daphnia magna* of Effluents containing Cd, Zn, and a Mixture Cd-Zn, after metal removal by *Chlorella vulgaris*. "Environmental Toxicology", 15(3) 160-164.
- Castillo G. (2004). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas; estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. IDRC/IMTA.
- Carra, I., Malato, S., Jiménez, M., Maldonado, M. I., & Pérez, J. S. (2014). Microcontaminant removal by solar photo-Fenton at natural pH run with sequential and continuous iron additions. "Chemical Engineering Journal", 235, 132-140.
- Christensen T. H., Kjeldsen P., Albrechtsen H. J. R., Heron G., Nielsen P. H., Bjerg P. L. Holm, P. E. (1994). Attenuation of landfill leachate pollutants in aquifers. "Critical Reviews in Environmental Science and Technology", 24(2), 119-202.

- Christensen T. H., Kjeldsen P., Bjerg P. L., Jensen D. L., Christensen J. B., Bau, A., Heron G. (2001). Biogeochemistry of landfill leachate plumes. "Applied geochemistry", 16(7), 659-718.
- Cervantes G.A. (2015). Regeneración del carbon activado del proceso Fenton-Adsorción al tratamiento de lixiviados. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Yucatán, México.
- Coors A., Jones P. D., Giesy J. P., Ratte H. T. (2003). Removal of estrogenic activity from municipal waste landfill leachate assessed with a bioassay based on reporter gene expression. "Environmental science & technology", 37(15), 3430-3434.
- Cotman M., Gotvajn A. Ž. (2010). Comparison of different physico-chemical methods for the removal of toxicants from landfill leachate. "Journal of Hazardous Materials", 178(1), 298-305.
- Clarke B. O., Anumol T., Barlaz M., Snyder S. A. (2015). Investigating landfill leachate as a source of trace organic pollutants. "Chemosphere", 127, 269-275.
- da Costa F. M., Daflon S. D. A., Bila D. M., da Fonseca F. V., y Campos J. C. (2018). Evaluation of the biodegradability and toxicity of landfill leachates after pretreatment using advanced oxidative processes. "Waste Management". *In press*.
- Dearlove J. P. L. (1993). Geochemical interaction processes between landfill clay liners and leachate. In Geoconfine 93. Symposium international (pp. 33-37).
- Deguchi Y., Toyozumi T., Masuda S., Yasuhara A., Mohri S., Yamada M., Kinoshita N. (2007). Evaluation of mutagenic activities of leachates in landfill sites by micronucleus test and comet assay using goldfish. "Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis", 627(2), 178-185.
- Deng Y., Englehardt J. D. (2006). Treatment of landfill leachate by the Fenton process. "Water research", 40(20), 3683-3694.
- Eggen T., Moeder M., Arukwe A. (2010). Municipal landfill leachates: a significant source for new and emerging pollutants. "Science of the Total Environment", 408(21), 5147-5157.
- Erkan H. S., Apaydin O. (2015). Final treatment of young, middle-aged, and stabilized leachates by Fenton process: optimization by response surface methodology. "Desalination and Water Treatment", 54(2), 342-357.
- FATMA Fundação do Meio Ambiente (2002) Ordinance No. 17 – Establishes acute toxicity maximum limits for effluent of different origins (in Portuguese). Florianópolis, Brazil.
- Filby A. L., Shears J. A., Drage B. E., Churchley J. H., Tyler C. R. (2010). Effects of advanced treatments of wastewater effluents on estrogenic and reproductive health impacts in fish. "Environmental science & technology", 44(11), 4348-4354.

- Foster S., Hirata R., Gómez D. D., D'Elia M., Paris M. (2002). Protección de la calidad del agua subterránea - guía para empresas de agua, autoridades municipales y ambientales. Washington D.C., USA: World Bank.
- García R.B. (2006). Remoción de material orgánica en lixiviados usando el proceso de oxidación Fenton y coagulación-floculación. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Yucatán, México.
- Giácoman G., Quintal C. A. (2006). Influencia del cambio en el potencial de hidrógeno (pH) en la disminución de contaminantes y metales pesados del lixiviado de un relleno sanitario. In Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, 30 (pp. 1-10). AIDIS.
- Goi A., Veressinina Y., Trapido M. (2010). Fenton Process for Landfill Leachate Treatment: Evaluation of Biodegradability and Toxicity. "Journal of Environmental Engineering" 136 (1), 913-922.
- Gong Y.F., Tian H., Wang L.J., Yu S.P., Ru S.G. (2014) An integrated approach combining chemical analysis and an in vivo bioassay to assess the estrogenic potency of a municipal solid waste landfill leachate in Qingdao. "Plos one", 9(4), e95597.
- González R., Gómez R. (2013). Two in one leachate plume in a karstic aquifer. "Environmental earth sciences", 68(7), 1945-1953.
- Golbaz S., Jafari A. J. Kalantari R. R. (2013). The study of Fenton oxidation process efficiency in the simultaneous removal of phenol, cyanide, and chromium (VI) from synthetic wastewater. "Desalination and Water Treatment", 51(28-30), 5761-5767.
- Gotvajn A. Z., Zagorc-Končan J., Cotman M. (2011). Fenton's oxidative treatment of municipal landfill leachate as an alternative to biological process. "Desalination", 275(1), 269-275.
- Gupta S. K. Singh S. K. (2007). Assessment of the efficiency and economic viability of various methods of treatment of sanitary landfill leachate. "Environmental Monitoring Assessment", 135 (1-3), 107-117.
- Gupta N., Yadav K. K., Kumar, V. (2015). A review on current status of municipal solid waste management in India. "Journal of Environmental Sciences", 36, 206-217.
- Halliwel B. (1991). Drug antioxidant effects. "Drugs", 42(4), 569-605.
- Hermosilla D., Cortijo M., Huang C. P. (2009). Optimizing the treatment of landfill leachate by conventional Fenton and photo-Fenton processes. "Science of the Total Environment", 407(11), 3473-3481.
- Hsieh C. Y., Tsai M. H., Ryan D. K., Pancorbo O. C. (2004). Toxicity of the 13 priority pollutant metals to *Vibrio fischeri* in the Microtox® chronic toxicity test. "Science of the Total Environment", 320(1), 37-50.
- Hu X., Wang X., Ban Y., Ren B. (2011). A comparative study of UV-Fenton, UV-H₂O₂ and Fenton reaction treatment of landfill leachate. "Environmental Technology", 32(9), 945-951.

- Ikehata K., Jodeiri Naghashkar N., Gamal El-Din M. (2006). Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation processes: a review. "Ozone: Science and Engineering", 28(6), 353-414.
- INEGI. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. (2016). Disponible en:
http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2016/ambiente2016_0.pdf.
- Isidori M., Lavorgna M., Nardelli A., Parrella A. (2003). Toxicity identification evaluation of leachates from municipal solid waste landfills: a multispecies approach. "Chemosphere", 52(1), 85-94.
- Jaramillo J. (2002). Guía para el diseño, construcción y operación de rellenos sanitarios manuales. Colombia: Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente (OPS/CEPIS).
- Jarpa M., Rozas O., Salazar C., Baeza C., Campos J. L., Mansilla H. D., Vidal G. (2016). Comparison of the chemical precipitation, UV/H₂O₂ and Fenton processes to optimize removal of chronic toxicity from kraft mill effluents. "Desalination and Water Treatment", 57(30), 13887-13896.
- Jayarama P. (2011). Municipal solid waste managements: processing, energy recover, global examples. India: Taylor and Francis Group, CRC Press.
- Kalčíková G., Vávrová M., Zagorc-Končan J., Žgajnar Gotvajn A. (2011). Evaluation of the hazardous impact of landfill leachates by toxicity and biodegradability tests. "Environmental technology", 32(12), 1345-1353.
- Karak T., Bhagat R. M., Bhattacharyya P. (2012). Municipal solid waste generation, composition, and management: the world scenario. "Critical Reviews in Environmental Science and Technology", 42(15), 1509-1630.
- Kargi F., Pamukoglu M. Y. (2003). Simultaneous adsorption and biological treatment of pre-treated landfill leachate by fed-batch operation. "Process Biochemistry", 38(10), 1413-1420.
- Kang K. H., Shin H. S., Park H. (2002). Characterization of humic substances present in landfill leachates with different landfill ages and its implications. "Water research", 36(16), 4023-4032.
- Kilic M. Y., Yonar T., Mert B. K. (2014). Landfill Leachate Treatment by Fenton and Fenton-Like Oxidation Processes. "CLEAN–Soil, Air, Water", 42(5), 586-593.
- Kjeldsen P., Barlaz M. A., Rooker A. P., Baun A., Ledin A., Christensen T. H. (2002). Present and long-term composition of MSW landfill leachate: a review. "Critical reviews in environmental science and technology", 32(4), 297-336.
- Konstantinou I. K., Albanis T. A. (2003). Photocatalytic transformation of pesticides in aqueous titanium dioxide suspensions using artificial and solar light: intermediates and degradation pathways. "Applied Catalysis B: Environmental", 42(4), 319-335.

- Ku L.D. (2012). Caracterización de los sólidos generados en la aplicación del proceso Fenton-Filtración-Adsorción a lixiviados. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Yucatán, México.
- Lapa N., Barbosa R., Morais J., Mendes B., Méhu J., Oliveira, J. S. (2002). Ecotoxicological assessment of leachates from MSWI bottom ashes."Waste Management", 22(6), 583-593.
- Larrain A. (1995). Criterios ecotoxicológicos para evaluar alteraciones ambientales y establecer parámetros de control: Importancia de los Bioensayos de Toxicidad. "Revista Ciencia y Tecnología del Mar". Cona (Nº Especial): 39-47.
- Lau I. W. C., Wang P., Fang H. H. P. (2001). Organic removal of anaerobically treated leachate by Fenton coagulation. "Journal of Environmental Engineering", (July), 666 – 669.
- Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos. Diario Oficial de la Federación publicada el 22 de mayo de 2015.
- Li H., Han M., Hou L., Li G., Sang N. (2010a). Landfill leachate ingestion induces protein oxidation and DNA–protein crosslinks in mouse viscera. "Journal of hazardous materials", 174(1), 54-58.
- Li W., Zhou Q., Hua T. (2010b). Removal of organic matter from landfill leachate by advanced oxidation processes: a review. "International Journal of Chemical Engineering", 2010.
- Lin S. H., Chang C. C. (2000). Treatment of landfill leachate by combined electro-Fenton oxidation and sequencing batch reactor method. "Water Research", 34(17), 4243-4249.
- Lithner D., Damberg J., Dave G., Larsson Å. (2009). Leachates from plastic consumer products—screening for toxicity with Daphnia magna. "Chemosphere", 74(9), 1195-1200.
- López A., Pagano M., Volpe A., Di Pinto A. (2003). Fenton's pre-treatment of mature landfill leachate. "Chemosphere", (54), 1005-1010.
- Ma M., Li J., Wang Z. (2005). Assessing the detoxication efficiencies of wastewater treatment processes using a battery of bioassays/biomarkers. "Archives of environmental contamination and toxicology", 49(4), 480-487.
- Mahmud K., Hossain M. D., Ahmed S. (2011). Advanced landfill leachate treatment with least sludge production using modified Fenton process. "International Journal of Environmental Sciences", 2(1), 259.
- Mahmud K., Hossain M. D., Shams S. (2012). Different treatment strategies for highly polluted landfill leachate in developing countries. "Waste Management", 32(11), 2096-2105.
- Manaf L. A., Samah M. A. A., Zukki N. I. M. (2009). Municipal solid waste management in Malaysia: Practices and challenges. "Waste management", 29(11), 2902-2906.

- Mannarino C. F., Ferreira J. A., Moreira J. C., Bila D. M., Magalhães D. P. (2010). Assessment of combined treatment of landfill urban solid waste leachate and sewage using Danio rerio and Daphnia similis. "Bulletin of environmental contamination and toxicology", 85(3), 274-278.
- Mantzavinos D., Psillakis E. (2004). Enhancement of biodegradability of industrial wastewaters by chemical oxidation pre-treatment. "Journal of Chemical Technology and Biotechnology", 79(5), 431-454.
- Masoner J. R., Kolpin D. W., Furlong E. T., Cozzarelli I. M., Gray J. L. (2016). Landfill leachate as a mirror of today's disposable society: pharmaceuticals and other contaminants of emerging concern in final leachate from landfills in the conterminous United States. "Environmental toxicology and chemistry", 35(4), 906-918.
- Mavakala B. K., Le Faucheur S., Mulaji C. K., Laffite A., Devarajan N., Biey E. M., Poté J. (2016). Leachates draining from controlled municipal solid waste landfill: Detailed geochemical characterization and toxicity tests. "Waste Management", 55, 238-248.
- May A. (2010). Optimización del proceso de adsorción de un tratamiento de lixiviados Fenton-filtración-adsorción. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Yucatán, México
- May A. A., Mendez R. I., Barceló I. D., Solís H. E., Giacomán G. (2017). Leachate Treatment by Heterogeneous Fenton on an Activated Carbon Substrate with Fe (II) Impregnated. "Journal of Environmental Protection", 8(04), 524.
- Medina A. (2013). Carbón activo modificado para el tratamiento de lixiviados. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Yucatán, México.
- Medina A. (2006) La recirculación de los lixiviados y sus efectos en la compactación de rellenos sanitarios. Tesis de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Melnyk A., Kuklińska K., Wolska, L., Namieśnik J. (2014). Chemical pollution and toxicity of water samples from stream receiving leachate from controlled municipal solid waste (MSW) landfill. "Environmental research", 135, 253-261.
- Méndez R., Cachon S., Sauri M., Quintal C., Castillo B. (2002). Influencia del material de cubierta en la composición de los lixiviados en un relleno sanitario. "Ingeniería Revista Académica", 6(002), 7-12.
- Méndez R. I., Castillo B. E., Sauri R. M., Quintal F. C., Giacomán G., Jimenez B. (2005). Physico-chemical treatment of Merida landfill leachate for oxygen demand reduction by coagulation. "Waste Management and Research", 23(6) 560-564.
- Méndez R., Castillo E., Sauri M., Quintal C., Giacomán G., Jiménez B. (2009) Comparación de cuatro tratamientos fisicoquímicos de lixiviados. "Revista Internacional de Contaminación Ambiental", 25 (3), 133-145.
- Méndez R., Pietrogiovanna J., Santos B., Sauri M., Giacomán G., Castillo E. (2010a). Determinación de la dosis óptima de reactivo Fenton en un tratamiento de

- lixiviados por Fenton-adsorción. "Revista Internacional de Contaminación Ambiental", 26 (3), 211-220.
- Méndez R., García R., Castillo E. Sauri M. (2010b). Tratamiento de lixiviados por oxidación Fenton. "Ingeniería e Investigación", 80-85.
- Monje I., De Velasquez, M. O. (2004). Removal and transformation of recalcitrant organic matter from stabilized saline landfill leachates by coagulation–ozonation coupling processes. "Water research", 38(9), 2359-2367.
- Mor S. K. (2006). Leachate characterization and assessment of groundwater pollution near municipal solid waste landfill site. "Environmental Monitoring and Assessment", 118(1-3), 435–456.
- Naumczyk J., Bogacki J., Marcinowski P., Kowalik P. (2014). Cosmetic wastewater treatment by coagulation and advanced oxidation processes. "Environmental technology", 35(5), 541-548.
- Neyens E., Baeyens J. (2003). A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. "Journal of Hazardous materials", 98(1), 33-50.
- Noaksson E., Linderoth M., Tjärnlund U., Balk L. (2005). Toxicological effects and reproductive impairments in female perch (Perca fluviatilis) exposed to leachate from Swedish refuse dumps. "Aquatic toxicology", 75(2), 162-177.
- Noguera K. M., Olivero J. T. (2010). Los rellenos sanitarios en Latinoamérica: caso colombiano. "Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales", 34(132), 347-356.
- NOM-001-SEMARNAT-1996. (1996). Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Diario Oficial de la Federación. Publicada el 6 de enero de 1997.
- NOM-052-SEMARNAT-2005. (2005) Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos. Diario Oficial de la Federación. Publicada el 23 de junio de 2006.
- NOM-083-SEMARNAT-2003. (2003). Especificaciones de protección ambiental para la selección del sitio, diseño, construcción, operación, monitoreo, clausura y obras complementarias de un sitio de disposición final de residuos sólidos urbanos y de manejo especial. Diario Oficial de la Federación. Publicada el 20 de octubre de 2004.
- NMX-AA-087-1995-SCFI (1995). Que establece el método de prueba de toxicidad aguda con Daphnia magna Strauss (Crustacea-Cladocera). Secretaria de Comercio y Fomento Industrial (SCFI). México, D.F., 1995.
- OECD Organisation for Economic Co-operation and Development (1984). OECD Guideline for testing of chemicals 202. Disponible en <https://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/1948249.pdf>
- Öman C. B., Junestedt C. (2008). Chemical characterization of landfill leachates—400 parameters and compounds. "Waste management", 28(10), 1876-1891.

- Olivero J., Padilla, C., De la Rosa, O. (2008). Relationships between physicochemical parameters and the toxicity of leachates from a municipal solid waste landfill. "Ecotoxicology and environmental safety", 70(2), 294-299.
- Primo O., Rivero M. J., Ortiz I. (2008). Photo-Fenton process as an efficient alternative to the treatment of landfill leachates. "Journal of hazardous materials", 153(1), 834-842.
- Pablos M. V., Martini F., Fernandez C., Babin M. M., Herraes I., Miranda J., Tarazona J. V. (2011). Correlation between physicochemical and ecotoxicological approaches to estimate landfill leachates toxicity. "Waste Management", 31(8), 1841-1847.
- Paramanantham M., Murugesan A. (2014). GC-MS analysis of Holarrhena antidysentrica Wall flower. "Int J Sci Eng Technol Res", 3(3), 631-5.
- Pastor J., Hernandez A. J. (2012). Heavy metals, salts and organic residues in old solid urban waste landfills and surface waters in their discharge areas: Determinants for restoring their impact. "Journal of environmental management", 95, S42-S49.
- Pérez R., Pacheco J. (2004). Vulnerabilidad del agua subterránea a la contaminación de nitratos en el estado de Yucatán. "Ingeniería", 8(1), 33-42.
- Persoone G., Baudo R., Cotman M., Blaise C., Thompson K. C., Moreira-Santos M., Han T. (2009). Review on the acute Daphnia magna toxicity test—Evaluation of the sensitivity and the precision of assays performed with organisms from laboratory cultures or hatched from dormant eggs. "Knowledge and management of aquatic ecosystems", (393), 01.
- Persoone G., Janssen C., De Coen, W. (1994). Cyst-based toxicity tests X: comparison of the sensitivity of the acute Daphnia magna test and two crustacean microbiotests for chemicals and wastes. "Chemosphere", 29(12), 2701-2710.
- Pietrogiiovanna J. (2009). Tratamiento de lixiviados por Fenton-adsorción. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Yucatán, México.
- Pichtel J. (2005). Waste management practices: municipal, hazardous, and industrial. CRC press.
- Pignatello J. J., Oliveros E., MacKay A. (2006). 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.
- Pohontu C., Cretescu I., Secula M. S., Paduraru C., Tofan L., Macoveanu M. (2010). Integrated treatment of leachate from municipal waste solid landfill. "Environmental Engineering & Management Journal" (EEMJ), 9(1).
- Pouran S. R., Aziz A. A., Daud W. M. A. W. (2015). Review on the main advances in photo-Fenton oxidation system for recalcitrant wastewaters. "Journal of Industrial and Engineering Chemistry", 21, 53-69.
- PROY-NOM-001-SEMARNAT-1996. (1996). Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos

receptores propiedad de la nación. Diario Oficial de la Federación. Publicada el 5 de enero de 2018.

- Qasim S. R., Chiang W. (1994). Sanitary landfill leachate: generation, control and treatment. Texas, USA: CRC Press.
- Radetski C. M., Ferrari B., Cotelle S., Masfaraud J. F., Ferard J. F. (2004). Evaluation of the genotoxic, mutagenic and oxidant stress potentials of municipal solid waste incinerator bottom ash leachates. "Science of the total environment", 333(1), 209-216.
- Ramakrishnan A., Blaney L., Kao J., Tyagi R. D., Zhang T. C., Surampalli R. Y. (2015). Emerging contaminants in landfill leachate and their sustainable management. "Environmental Earth Sciences", 73(3), 1357-1368.
- Ramírez D.R. (2011). Determinación de compuestos orgánicos removidos en un tratamiento de lixiviados utilizando el proceso Fenton-Filtración-Adsorción. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Yucatán, México.
- Ramírez D. R., Castillo E. R., Méndez R. I., Sauri M. R., Barceló M., Marrufo J. M. (2013). Determination of organic compounds in landfill leachates treated by Fenton-Adsorption. "Waste management", 33(2), 390-395.
- Read A. D. (1999). Making waste work: making UK national solid waste strategy work at the local scale. "Resources, conservation and recycling", 26(3), 259-285.
- Reinhart D. R., Basel Al-Yousfi A. (1996). The impact of leachate recirculation on municipal solid waste landfill operating characteristics. "Waste Management & Research", 14(4), 337-346.
- Reneu S., Givaudan J., Poulain S., Dirassouyan F. Moulin P. (2008). Landfill leachate treatment: Review and opportunity. "Journal of Hazardous Materials", 150 (3), 468-493.
- Rizzo L. (2011). Bioassays as a tool for evaluating advanced oxidation processes in water and wastewater treatment. "Water research", 45(15), 4311-4340.
- Rivas F.J., Beltrán F., Carvalho F., Acedo B., Gimeno O. (2005a). Stabilized leachates: sequential coagulation-flocculation + chemical oxidation process. "Journal of Hazardous Materials", Vol. B16, pp. 95-102.
- Rivas J. F., Beltrán F., Carvalho F., Gimeno O., Frades J. (2005b) Study of different integrated physical-chemical + adsorption processes for landfill leachate remediation. "Industrial and Engineering Chemistry Research", 44, 2871-2878.
- Rivera E., Barba L., Torres P. (2013). Determinación de la toxicidad de lixiviados provenientes de residuos sólidos urbanos mediante indicadores biológicos. "Afinidad", 70(563).
- Robles F., Morales Y., Piña A. B., Espíndola O., Tovar L. R., Valencia G. (2011). Medición de pH y cuantificación de metales pesados en los lixiviados del relleno sanitario más grande de la zona metropolitana de la ciudad de México. "Universidad y ciencia", 27(2), 121-132.

- Robles D., Montoya S. M., Avelar F. J., Jauregui J., Rodríguez F. J., Rico R. (2012). Assessment of the quality and toxicity of the discharges of a wastewater treatment plant and alternatives to improve its operation. "Journal of Environmental Science and Health" Part A, 47(4), 589-597.
- Rosales A.G. (2014). Procesos de oxidación avanzada tipo Fenton con y sin luz solar para el tratamiento de lixiviados pretratados de rellenos sanitarios. Tesis de maestría. México D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- San Pedro L., Méndez R., Rojas M., Barceló M., Castillo E., Sauri M., Marrufo J. (2015). Evaluación de los procesos de adsorción y Fenton-adsorción para el tratamiento de lixiviados de relleno sanitario. "Revista Mexicana de Ingeniería Química", 14(3), 486-492.
- Sabahi A. E., Rahim A. S., Zuhairi W., Nozaily A. F., Alshaebi F. (2009). The characteristics of leachate and groundwater pollution at municipal solid waste landfill of Ibb city, Yemen. "American Journal of Environmental Science", 5 (3) 256-266.
- Sánchez A., Peñarroja C., Ribeiro C.A., Nadal J. (2007) Bioaccumulation of metals and effects of a landfill in small mammals. Part II. The wood mouse, Apodemus sylvaticus. "Chemosphere" 70 (2007) 101–119.
- Sang N., Li G., Xin X. (2006). Municipal landfill leachate induces cytogenetic damage in root tips of *Hordeum vulgare*. "Ecotoxicology and Environmental Safety", 63 (3) 469–473.
- Sang Y.M., Gu Q.B., Sun T.C., Li F.S. (2008). Color and organic compounds removal from secondary effluent of landfill leachate with a novel inorganic polymer coagulant. "Water Science and Technology", 58, 1423–1432
- San Pedro L. (2015). Tratamiento de lixiviados mediante Fenton-adsorción. Tesis de doctorado. Universidad Autónoma de Yucatán, México.
- Schiopu A. M., Gavrilescu M. (2010a). Municipal solid waste landfilling and treatment of resulting liquid effluents. "Environmental Engineering & Management Journal" (EEMJ), 9(7).
- Schiopu A. M., Gavrilescu M. (2010b). Options for the treatment and management of municipal landfill leachate: common and specific issues. "CLEAN–Soil, Air, Water", 38(12), 1101-1110.
- Schwarzbauer J., Heim S., Brinker S., Littke R. (2002). Occurrence and alteration of organic contaminants in seepage and leakage water from a waste deposit landfill. "Water Research", 36(9), 2275-2287.
- Schrab G. E., Brown K. W., Donnelly K. C. (1993). Acute and genetic toxicity of municipal landfill leachate. "Water, Air, & Soil Pollution", 69(1), 99-112.
- Schwarzenbach, R. P., Egli, T., Hofstetter, T. B., Von Gunten, U., & Wehrli, B. (2010). Global water pollution and human health. "Annual Review of Environment and Resources", 35, 109-136..

- SEMARNAT. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (2012). Residuos. Disponible en: http://apps1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_12/pdf/Cap7_residuos.pdf.
- Shekdar A.V. (2009). Sustainable solid waste management: An integrated approach for Asian countries. "Waste Manage", 29(4), 1438.
- Slack R., Gronow J., Voulvoulis N. (2004). Hazardous components of household waste. "Critical reviews in environmental science and technology", 34(5), 419-445.
- Slack R. J., Gronow J. R., Voulvoulis N. (2005). Household hazardous waste in municipal landfills: contaminants in leachate. "Science of the total environment", 337(1), 119-137.
- Silva A. C., Dezotti M., Sant'Anna G. L. (2004). Treatment and detoxification of a sanitary landfill leachate. "Chemosphere", 55(2), 207-214.
- Silva J., Fuentealba C., Bay-Schmith E., Larrain A. (2007). Estandarizacion del bioensayo de toxicidad aguda con *Daphnia chilensis* usando un toxico de referencia. "Gayana (Concepción)", 71(2), 135-141.
- Silva J., Torrejón G., Bay-Schmith E., Larrain A. (2003). Calibración del bioensayo de toxicidad aguda con *Daphnia pulex* (Crustacea: Cladocera) usando un tóxico de referencia. "Gayana (Concepción)", 67(1), 87-96.
- Sisino C., Oliveira-Filho E., Dufrayer J., Moreira J. (2000). Toxicity Evaluation of a Municipal Dump Leachate Using Zebrafish Acute Tests. "Environmental contamination and toxicology", 64(1), 107-113.
- Słomczyńska, B. y Słomczyński T. (2004). Physico-chemical and toxicological characteristics of leachates from MSW landfills. "Polish Journal of Environmental Studies", 13(6), 627-637.
- Stasinakis, A. S. (2008). Use of selected advanced oxidation processes (AOPs) for wastewater treatment—a mini review. "Global NEST journal", 10(3), 376-385.
- Stohs S. J., Bagchi D. (1995). Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. "Free radical biology and medicine", 18(2), 321-336.
- Sun J., Li X., Feng J., Tian X. (2009). Oxone/Co²⁺ oxidation as an advanced oxidation process: comparison with traditional Fenton oxidation for treatment of landfill leachate. "Water research", 43(17), 4363-4369.
- Svensson B. M., Mathiasson L., Mårtensson L., Bergström S. (2005). Artemia salina as test organism for assessment of acute toxicity of leachate water from landfills. "Environmental monitoring and assessment", 102(1-3), 309-321.
- Tatsi A. A., Zouboulis A. I. (2002). A field investigation of the quantity and quality of leachate from a municipal solid waste landfill in a Mediterranean climate (Tressaloniki, Greece). "Advances in Environmental Research", 6(3), 207-219.
- Tatsi A. A., Zouboulis A. I., Matis K. A., Samaras P. (2003). Coagulation-flocculation pretreatment of sanitary landfill leachates. "Chemosphere", 53(7), 737-744.

- Tchobanoglous G., Theisen H., Vigil S. A. (1994). *Gestión integral de residuos sólidos*. Madrid, España: Vol 1. Mc Graw Hill.
- Törökné A. (2004). Sensitivity evaluation of the Daphtoxkit and Thamnotoxkit microbiotests on blind samples. "Journal of Applied Toxicology", 24(5), 323-326.
- Tothill I. E., Turner A. P. F. (1996). Developments in bioassay methods for toxicity testing in water treatment. "TrAC Trends in Analytical Chemistry", 15(5), 178-188.
- Trujillo D., Font X., Sánchez A. (2006). Use of Fenton reaction for the treatment of leachate from composting of different wastes. "Journal of Hazardous Materials", B138, 201-204.
- USEPA. United States Environmental Protection Agency. (1984). Ambient water quality criteria for ammonia 440/5-85-001. US Environmental Protection Agency, Criteria and Standards Division, Washington, DC.
- USEPA. United States Environmental Protection Agency (1989). Ambient water quality criteria for ammonia (saltwater) 440/5-88-004. US Environmental Protection Agency, Criteria and Standards Division, Washington, DC.
- USEPA. United States Environmental Protection Agency (1996). Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.1010 Aquatic Invertebrate Acute Toxicity Test, Freshwater Daphnids.
- USEPA. United States Environmental Protection Agency (2009). Final List of Initial Pesticide Active Ingredients and Pesticide Inert Ingredients to be Screened Under the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act Disponible en: <https://www.regulations.gov/document?D=EPA-HQ-OPPT-2004-0109-0080>.
- USEPA. United States Environmental Protection Agency. (1985). Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms. EPA/600/4-85/013. U.S.A. Environmental Protection Agency (USEPA). Washington, DC.
- Uygur A. K. (2004). Biological nutrient removal from pre-treated landfill leachate in a sequencing batch reactor. "Journal of Environmental Management", 71 (1), 9-14.
- Van Aken P., Lambert N., Degrève J., Liers S., Luyten J. (2011). Comparison of different oxidation methods for recalcitrance removal of landfill leachate. "Ozone: Science & Engineering", 33(4), 294-300.
- Vásquez J. D., Urina B. R., García F. F., Camargo Y. (2008). Análisis de la calidad bioquímica de lixiviados producidos por residuos de diferentes edades. "RE'TAKVN-Revista de la Facultad de Ingeniería", 1(1), 14.
- Vrijheid M. (2000). Health effects of residence near hazardous waste landfill sites: a review of epidemiologic literature. "Environmental health perspectives", 108(Suppl 1), 101.

- Wang J. L., Xu L. J. (2012). Advanced oxidation processes for wastewater treatment: formation of hydroxyl radical and application. "Critical Reviews in Environmental Science and Technology", 42(3), 251-325.
- Wang, G., Lu, G., Yin, P., Zhao, L., & Yu, Q. J. (2016a). Genotoxicity assessment of membrane concentrates of landfill leachate treated with Fenton reagent and UV-Fenton reagent using human hepatoma cell line. "Journal of hazardous materials", 307, 154-162.
- Wang G., Lu G., Zhao J., Yin P., Zhao L. (2016b). Evaluation of toxicity and estrogenicity of the landfill-concentrated leachate during advanced oxidation treatment: chemical analyses and bioanalytical tools. "Environmental Science and Pollution Research", 23(16), 16015-16024.
- Ward M. L., Bitton G., Townsend T., Booth M. (2002). Determining toxicity of leachates from Florida municipal solid waste landfills using a battery-of-tests approach. "Environmental toxicology", 17(3), 258-266.
- Wilke B. M., Riepert F., Koch C., Kühne T. (2008). Ecotoxicological characterization of hazardous wastes. "Ecotoxicology and Environmental Safety", 70(2), 283-293.
- Wiszniewski J., Robert D., Surmacz-Gorska J., Miksch K., Weber J. V. (2006). Landfill leachate treatment methods: A review. "Environmental Chemistry Letters", 4(1), 51-61.
- World Health Organization/Istituto per i Rapporti Internazionali di Sanita. (1993). Urban solid waste management. Firenze, Italia.: Iris.
- Wu Y., Zhou S., Qin F., Peng H., Lai Y., Lin Y. (2010). Removal of humic substances from landfill leachate by Fenton oxidation and coagulation. "Process Safety and Environmental Protection", 88(4), 276-284.
- Xing W., Ngo H. H., Kim S. H., Guo W. S., Hagare P. (2008). Physico-Chemical Processes for Landfill Leachate Treatment: Experiments and Mathematical Models. "Separation Science and Technology", 43(2), 347-361.
- Yasuhara A., Shiraishi H., Nishikawa M., Yamamoto T., Uehiro T., Nakasugi O., Ono Y. (1997). Determination of organic components in leachates from hazardous waste disposal sites in Japan by gas chromatography–mass spectrometry. "Journal of Chromatography A", 774(1), 321-332.
- Yilmaz, T., Aygün A., Bertay A., Nas B. (2010). Removal of COD and colour from young municipal landfill leachate by Fenton process. "Environmental technology", 31(14), 1635-1640.
- Yokoyama L., Campos J.C., Moura D.A.G., Costa A.P.M., Cardillo L. (2009). Ammonia removal from landfill leachates by air stripping. Twelfth International Waste Management and Landfill Symposium, Cagliari, Italia, October 5-9.
- Zhang C., Wang Y., Qi S. (2008). Identification and significance of sterols in MSW landfill leachate. "Journal of Chromatography B", 874(1-2), 1-6.

- Zhang G., Qin L., Meng Q., Fan Z., Wu D. (2013). Aerobic SMBR/reverse osmosis system enhanced by Fenton oxidation for advanced treatment of old municipal landfill leachate. "Bioresource technology", 142, 261-268.
- Zhang H., Choi H. J., Huang C. P. (2005). Optimization of Fenton process for the treatment of landfill leachate. "Journal of Hazardous Materials", 125(1), 166-174.
- Zhang H., Choi H. J., Huang, C. P. (2006). Treatment of landfill leachate by Fenton's reagent in a continuous stirred tank reactor. "Journal of hazardous materials", 136(3), 618-623.