

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS
INDUSTRIALES Y DE TELECOMUNICACIÓN**

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA



Trabajo Fin de Grado

**RECUPERACIÓN DE FÓSFORO DE ORINA
SEPARADA EN ORIGEN MEDIANTE
PRECIPITACIÓN DE ESTRUVITA**
(Phosphorus recovery from source-separated
human urine through struvite precipitation)

Para acceder al Título de

Graduado/a en Ingeniería Química

Autor: María Sánchez Lázaro

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. La Orina humana: Recuperación de macronutrientes.	1
1.1.1. <i>La Orina</i>	1
1.1.2. <i>Reacción de hidrólisis en la orina.</i>	3
1.1.3. <i>Importancia de la recuperación del P y N de la Orina</i>	3
1.2. Precipitación de estruvita	6
1.3. Fuentes de Magnesio y Fósforo alternativas.	8
2. OBJETIVOS	11
3. METODO EXPERIMENTAL	12
3.1. Diseño Factorial de experimentos y análisis estadístico.	12
3.2. Eliminación de los macronutrientes presentes en el efluente mediante precipitación de estruvita.	13
3.2.1. Metodología experimental	13
3.2.2. <i>Análisis del Fósforo en forma de PO_4^{3-}</i>	16
3.2.3. <i>Análisis del Nitrógeno amoniacal y total</i>	18
3.2.4. <i>Análisis del Mg</i>	21
3.3. Análisis de los precipitados	22
3.3.1. Espectrofotometría Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)	22
3.3.2. Microscopia electrónica de barrido y Espectrometría de dispersión de energía de rayos X (SEM/EDX)	23
4. RESULTADOS	24
4.1. Caracterización fisicoquímica de las materias primas	24
4.2. Efecto de la ureálisis.	25
4.3. Influencia del ratio Mg:P y del pH en la precipitación de estruvita.	27
4.4. Análisis SEM-EDX y FTIR de los resultados óptimos.	32
5. CONCLUSIONES	38
6. REFERENCIAS	40

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Variables de estudio en la precipitación de estruvita.	7
Tabla 2. Búsqueda bibliográfica de posibles fuentes de Magnesio o Fósforo	8
Tabla 3. Variables de entrada y salida.....	12
Tabla 4. Cantidades de muestra utilizadas.....	15
Tabla 5. Diseño 4, Cantidades de muestra utilizadas.....	15
Tabla 6. Longitud de Onda para cada Rango de P.....	18
Tabla 7. Para determinar el tamaño de muestra según normativa	19
Tabla 8. Caracterización materias primas	24
Tabla 9. Análisis ANOVA del efecto del pH y ratio en la cantidad de precipitado	27
Tabla 10. Análisis ANOVA del efecto del pH y ratio en el Fósforo recuperado.	28
Tabla 11. Análisis ANOVA del efecto del pH y ratio en el Nitrógeno Recuperado	28
Tabla 12. Ecuaciones resultado del análisis de las Variables	29
Tabla 13. Tamaño de Partícula de algunos casos.....	35

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Caracterización de los compuestos minoritarios de orina.....	2
Figura 2. Reservas de Rocas Fosfáticas (Cooper et al,2011)	4
Figura 3. Mapa de países con reservas de Roca Fosfórica	5
Figura 4. Esquema del método experimental.	13
Figura 5. Equipo de agitación (Jar TEST	14
Figura 6. Muestras preparadas para utilizarse en el SEM-EDX.....	23
Figura 7. Evolución del pH con el tiempo.....	25
Figura 8. Evolución del Nitrógeno amoniacal y el Grado de hidrólisis con respecto del tiempo.....	26
Figura 9. Cantidad de Fósforo en la orina humana a través del tiempo.....	26
Figura 10. Esquema del Diseño de experimentos.	27
Figura 11. Diagramas de Superficie y de Pareto en el escenario I	29
Figura 12. Diagramas de Superficie y Pareto en el escenario II.	30
Figura 13. Diagramas de Superficie y de Pareto para el escenario III.....	31
Figura 14. Diagramas de Superficie y de Pareto del Escenario IV.....	32
Figura 15. Orina 100% GH Experimentos 1,3,5	33
Figura 16. Experimentos nº 3. Escenario 1,2 y 4	34
Figura 17. Experimento n1 del Escenario 4.....	35
Figura 18. FTIR de Muestra 5 de Orina 100% GH.....	36
Figura 19. FTIR de las muestras. a) Escenario 3, b) Escenario 4, c) Escenario 2, d) Escenario 1.....	37

1. INTRODUCCIÓN

La orina es la principal contribuidora de nutrientes en las corrientes de desecho con un 85-90 % del Nitrógeno total un 50-80 % del Fósforo total y un 80-90 % del Potasio (Xu *et al.*, 2018). A pesar de ser la que más nutrientes aporta en estas corrientes residuales (corrientes del hogar, municipales o de origen industrial), solo representa un 1 % en volumen de dichas corrientes (Liu *et al.*, 2013; Rubio-Rincón *et al.*, 2014)(Liu *et al.*, 2013). Estos residuos separados pueden ser reciclados para su uso en la agricultura después de un proceso de desinfección, es por ello por lo que se puede considerar la orina como una posible fuente residual de macronutrientes (Pastor, 2008).

1.1. La Orina humana: Recuperación de macronutrientes.

1.1.1. La Orina

La Orina es un líquido estéril de color ámbar que se genera en los riñones. Cada persona produce al día aproximadamente 1.4 L de orina. La orina contiene cantidades significantes de macronutrientes que requieren las plantas como el Nitrógeno y el Fósforo. Estos dos elementos son los principales causantes de la eutrofización en el mar. La recuperación de estos dos elementos evitaría el problema producido en el mar y se podría revalorizar como fertilizante.

Los elementos principales de la orina son el Nitrógeno y el Fósforo. El Nitrógeno está predominantemente en forma de urea $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$. La urea se hidroliza rápidamente en amoníaco y bicarbonato según la ecuación 1:



El Fósforo se encuentra en una cantidad >93 % en forma de fosfato. En la orina también hay otros elementos como pueden ser el Magnesio, Calcio o el Sodio. A continuación, en la **Figura 1** se representa una caracterización físico-química de los compuesto minoritarios de la orina (Randall and Naidoo, 2018). A estos compuestos hay que añadirle la Urea que se encuentra en una concentración de entre 9300 y 23300 ppm y

por tanto es el componente mayoritario. El color naranja indica máximo y el azul mínimo de concentración de la Figura 1 (leyenda)

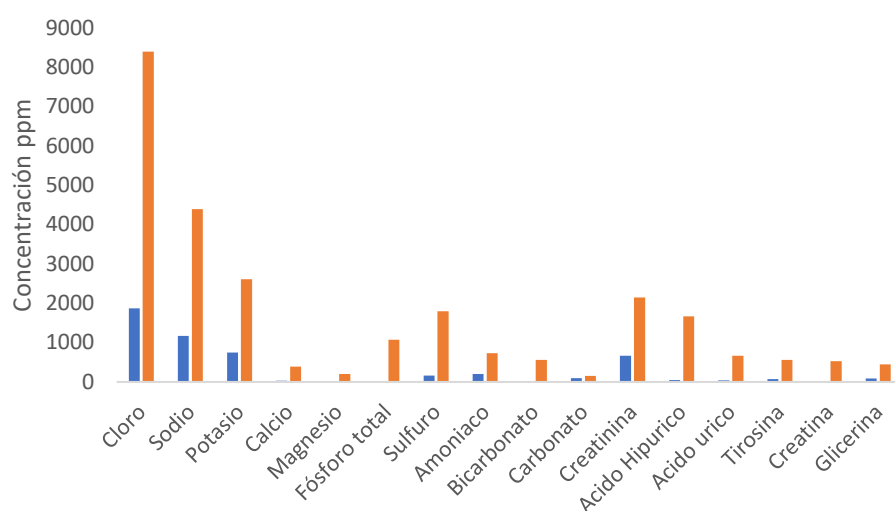


Figura 1. Caracterización de los compuestos minoritarios de orina

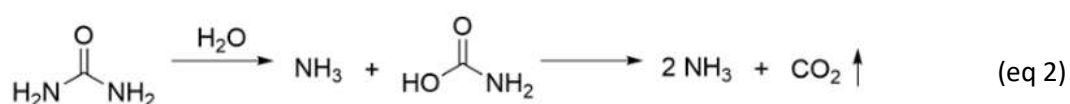
Actualmente la orina es un componente apreciado por tener alto contenido en macronutrientes. Es por ello por lo que existen varias vías de valorización para este residuo. Una de las vías de valorización más usada es la de fertilizante de forma directa, esta vía se usa en países con problemas de escasez de alimentos y agua, no es una vía que requiera ninguna técnica muy avanzada solo un control de pH y añadir los compuestos requeridos (Santos, 2016). Otra vía de valorización de la orina el de generación de biomasa, ya hace varios años que se reconoce que las microalgas tienen el potencial de proporcionar una mejor fuente de biocombustible (Chang *et al.*, 2013). Además, la orina humana se puede usar para células de combustible microbianas (MFC) que sirven como productoras de energía eléctrica y para el tratamiento de corrientes residuales. Las MFC ofrecen la ventaja única de convertir la materia orgánica que está demasiado húmeda para ser quemada en electricidad con una alta eficiencia para que esto suceda las bacterias electroactivas crecen en el ánodo degradando materia orgánica que libera electrones que viajan hasta el cátodo y es en el cátodo donde reaccionan con protones y oxígeno para producir energía eléctrica (Merino Jimenez, Greenman and Ieropoulos, 2017). Por último, mencionar la vía más desarrollada de recuperación de nutrientes para fertilizantes a partir de precipitación de estruvita, esta técnica es la que será estudiada en este trabajo por lo que se desarrollará más adelante.

La orina es recogida separada en origen. La orina se recoge una vez con un 25 %, 50 % y 100 % grado de hidrólisis (GH) , ya que se quiere observar como varía la obtención de estruvita y recuperación de Fósforo según el grado de ureálisis que tenga la orina.

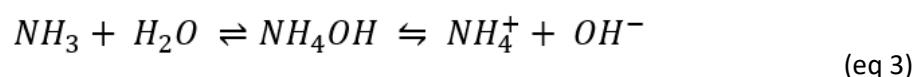
Algunos autores citan que la orina debe de estar 6 meses en reposo hasta su uso para asegurar la eliminación de cualquier actividad microbiológica (Maurer, Pronk and Larsen, 2006).

1.1.2. Reacción de hidrólisis en la orina.

La orina se hidroliza a medida que pasa el tiempo. La reacción por la que la urea pasa a amoníaco se denomina ureálisis y es un paso muy importante y necesario para la precipitación de estruvita. Esta reacción se da según la ecuación 2:



En esta ecuación los grupos amino se hidrolizan en dos etapas en serie para acabar formando amoníaco y dióxido de carbono. Una vez el amoníaco esté formado en contacto con agua puede transformarse en amonio y en hidróxido de amonio. Como se ve en la ecuación 3 la reacción es reversible por lo que la cantidad de amoníaco significa que tienes la misma cantidad de amonio o hidróxido de amonio en presencia de agua. La estruvita reacciona con amonio por lo que es importante conocer esto.



1.1.3. Importancia de la recuperación del P y N de la Orina

El Fósforo es un recurso no renovable que a día de hoy no puede ser reemplazado por ningún elemento ni compuesto que pueda ser sintéticamente creado para sustituir este componente vital en todos los procesos de la vida. Debido a esto, el interés por

recuperar el Fósforo de las aguas residuales, no solo eliminarlo, está cobrando cada vez mayor interés entre las sociedades industrializadas (Lapeña, 2013).

El uso de este componente no renovable ha aumentado constantemente en las últimas décadas. Según la Asociación Internacional de la Industria de Fertilizantes (IFA) en 2008 se extrajeron acerca de 53,5 millones de toneladas (Mt) de P_2O_5 es decir 175 Mt de Fósforo con un contenido de 30% de fosfato. Se espera que el consumo de Fósforo aumente notablemente en las próximas décadas y debido a que es un recurso no renovable el consumo conducirá a un agotamiento de los recursos de Fósforo de alto grado (Van Vuuren, Bouwman and Beusen, 2010). Las reservas de rocas fosfáticas se concentran solo en unos pocos países como se observa en la **Figura 2**. Marruecos es el país con más reserva de rocas fosfáticas seguido de China, Oriente Medio, Oeste, Sur de África y Rusia (Cooper *et al.*, 2011).

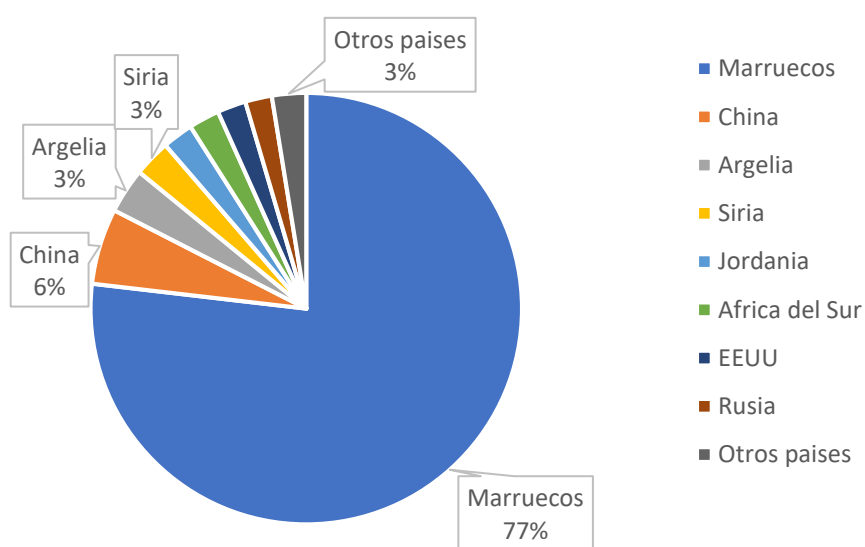


Figura 2. Reservas de Rocas Fosfáticas (Cooper *et al.*, 2011)

En la **Figura 3** se muestra el mapa del mundo con diferentes colores correspondientes a la localización de reservas de rocas fosfáticas (Ridder *et al.*, 2012). Los colores más oscuros corresponden a aquellos países con más reservas. Como se puede observar, no hay reservas de estas rocas en todo Europa exceptuando Rusia.



Figura 3. Mapa de países con reservas de Roca Fosfórica

La posibilidad de un agotamiento del recurso de roca fosfática (fuente natural del Fósforo) es un hecho que se ha corroborado ya en varios estudios con resultados muy contrastados. En este contexto, ya el Instituto de Ecología (IOE) en 1972, informó de que el P podría agotarse antes de finalizar el silo XXI (Van Vuuren, Bouwman and Beusen, 2010). Steen muestra escenarios aún peores donde en 2050 la mitad de las reservas de Fósforo estarían agotadas. Aunque diferentes autores citan que las reseras reales de rocas fosfáticas no se conocen, prácticamente todos afirman que entre 50 y 150 años los recursos se van a agotar (Van Vuuren, Bouwman and Beusen, 2010).

Con todo esto, el interés por reciclar el Fósforo está aumentando cada vez más. Además, se reduce la concentración de este elemento en los fangos de depuradoras, lo que lo hace interesante para su aplicación en suelos agrícolas, ya que la tasa permisible de aplicación del fango podría estar limitada por el contenido de Fósforo (Pastor, 2008)

La industria de los detergentes también ha sugerido que para el año 2010 sería posible alcanzar un 25% de sustitución del Fósforo empleado actualmente por Fósforo recuperado (Steén, 2004).

Otro problema que se podría reducir con el tratamiento necesario para recuperar Fósforo de la orina es la eutrofización (proliferación de ciertas algas dañinas al medio). Aunque el problema parece menos leve en regiones en las que la depuración de aguas

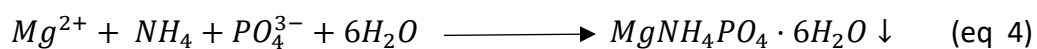
residuales parece más avanzada, todos los cuerpos de agua están conectados. La descarga no reglamentada de aguas residuales tiene implicaciones de gran alcance para la salud de todos los ecosistemas acuáticos, lo que amenaza con los servicios ecosistémicos de los que depende el bienestar humano. Métodos de depuración de corrientes y recuperación de macronutrientes como el de precipitación de estruvita han de ser desarrollados para aumentar la accesibilidad de estas tecnologías (Pastor, 2008).

1.2. Precipitación de estruvita

Una de las vías más investigadas en algunos sectores y que ya ha demostrado su viabilidad, es la recuperación del Fósforo a través de la precipitación de la estruvita. Las ventajas de la recuperación a través de este mineral es que se puede usar como fertilizante (de gran calidad) directamente o como fuente de Fósforo industrial como una solución fácilmente soluble de fosfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ (Etter *et al.*, 2011)

La ventaja de la estruvita es que es mucho más fácil de manejar que la orina debido a que reduce el volumen de la orina al 2% de la inicial y captura la mayor parte del Fósforo (>90%) y Magnesio añadido para su precipitación.

La estruvita se forma debido a la reacción del Magnesio con el fosfato en presencia de amonio según la ecuación 4. Como se pudo observar en la **Figura 1** la orina contiene más amonio que fosfato, es decir, el amonio está en exceso. Sin embargo, el Magnesio se encuentra en defecto, es decir, para que se produzca estruvita a un alto rendimiento será necesario incluir Magnesio de fuentes industriales o residuales.



En la formación de estruvita varios autores han realizado análisis sobre cuáles son las variables que más afectan a la formación de estruvita y a la recuperación de los nutrientes necesarios como se puede apreciar en la **Tabla 1** de forma resumida.

En la mayoría de los estudios sobre precipitación de estruvita realizados las variables de entrada más repetidas suelen ser ratio molar Mg:P, pH y velocidad de agitación. Esta última no será variable de estudio en este trabajo ya que a través de las referencias bibliográficas incluidas en la **Tabla 1** las variables pH y ratio eran las más estudiadas e influyentes. Es importante mencionar que no son las únicas variables que pueden

afectar en el proceso, a lo largo del tiempo se han estudiado otras muchas como pueden ser tiempo de sedimentación, diferentes fuentes de Magnesio y Fósforo, temperatura y el grado de hidrólisis de la orina. Esta última variable parece que afecta bastante a la precipitación de estruvita por lo que también será estudiada en este trabajo.

Tabla 1. Variables de estudio en la precipitación de estruvita.

REFERENCIA	OBJETIVO	VARIABLES DE SALIDA	VARIABLES DE ENTRADA
Barbosa et al. 2016	Eficacia de la precipitación de estruvita de la orina separada en origen mediante 3 fuentes de Magnesio	Tamaño del cristal; pH	Velocidad de agitación; Relaciones molares Mg:P; Tiempo de sedimentación; pH
Liu et al. 2013	Morfología y pureza de los cristales de estruvita obtenido a partir de orina hidrolizada mediante agua de mar y salmueras	Fósforo recuperado; Pureza de estruvita; Relación Mg:Ca	Relaciones molares Mg:P; pH; Diferentes fuentes de Magnesio
Dai et al., 2014	Eficacia de la precipitación de estruvita a partir de agua de mar con diferentes condiciones de entrada.	Fósforo; Calidad del Precipitado	pH; extensión de la ureálisis, y ratio Orina: Agua de Mar
Rubio-Rincón et al., 2014	Eficacia de la precipitación de estruvita a partir de agua de mar con diferentes condiciones de entrada.	Fósforo recuperado; Formación de estruvita;	Tiempo de precipitación; pH; hidrólisis de la orina; ratio Orina: Agua de Mar
Kemacheevakul, Polprasert and Shimizu, 2011	Eficacia de recuperación de Fósforo ajustando únicamente el pH de la Orina	Fósforo recuperado	pH
Nelson, Mikkelsen and Hesterberg, 2003	Cuantificar los efectos del pH y ratio en la precipitación de estruvita	Fósforo recuperado	pH y ratio molar Mg:P
Wilsenach, Schuurbiers and van Loosdrecht, 2007	P y K recuperado de la orina separada en origen por precipitación de estruvita	Fósforo recuperado y eficacia de la cristalización y obtención de cristales	Fuentes de Magnesio y diferentes ratios Mg:P
Ronteltap, 2009	Recuperación del Fósforo de la Orina Humana	Fósforo y Nitrógeno recuperados, tamaño de partícula	Temperatura y pH, Filtración de la Orina, tipo de agitación.

1.3. Fuentes de Magnesio y Fósforo alternativas.

Uno de los objetivos que se marcaron al principio para este trabajo fue el de encontrar una fuente residual que pudiera servir como fuente de Magnesio para la precipitación de estruvita. Para esto, se realizó una búsqueda de información bibliográfica sobre algunas fuentes residuales que funcionaran bien como precipitadores de estruvita. Debido a que dentro de las que podrían haber interesado no era posible su disponibilidad a corto plazo, este objetivo se vio sustituido por una fuente que sirviera como aporte adicional de Fósforo para que se convirtiera el Magnesio en el reactivo limitante.

Las fuentes de Magnesio posibles se incluyeron en la **Tabla 2** que incluye un resumen de toda revisión bibliográfica que se realizó de fuentes de Magnesio posibles, así como de aquellos datos importantes de estas.

Tabla 2. Búsqueda bibliográfica de posibles fuentes de Magnesio o Fósforo

SECTOR	Contenido en Magnesio	% P recuperado	Pureza estruvita	Relación molar Mg:P	Referencias	NH4	PO43-
Efluente de Industria de productos congelados marinos	352 ppm	85% (Requiere mucho NaOH)	-	1:1	(Rivas <i>et al.</i> , 2011)	164mg/l	78 mg/L
Agua de mar	1248ppm /1200ppm	99% / 81%	95.60%	1:1	(Lee <i>et al.</i> , 2003; Lapeña, 2013; Liu <i>et al.</i> , 2013)	-	-
Salmueras	2374ppm	99%	96.6	1:1	(Lee <i>et al.</i> , 2003; Liu <i>et al.</i> , 2013)	-	-
Sal de la evaporación de agua de mar	32000ppm/ 27500ppm	76%	-	1:1	(Lee <i>et al.</i> , 2003)/(Etter <i>et al.</i> , 2011)	-	-
Ceniza de madera	174	99%	23%	1.5:1	(Sakthivel, Tilley and Udert, 2012)	-	16.6 g/Kg
Magnesitas	26.7 mg/Kg	-	84%		(Krähenbühl, Etter and Udert, 2016)	-	-
Espinas de pescado	4.480 mg/g ceniza	95%	-	1:1 y 1.3:1	(Darwish <i>et al.</i> , 2017)	-	170mg P/g ceniza

La precipitación de estruvita ha sido estudiada durante muchos años debido a sus características idóneas para usarse como fertilizante. Por este motivo unido al hecho de que se ha estimado que los costes de fuentes puras de magnesio suponen un 75 % de los costes totales de producción de estruvita (Kataki *et al.*, 2016) hace que se planteara en este proyecto la búsqueda de diferentes alternativas de fuentes de magnesio de tipo residual.

Una fuente de Magnesio posible puede provenir del **efluente de una industria de los congelados marinos** (situada al Noroeste de España) que aportan un contenido en Magnesio no muy alto pero suficiente para poder ser usado, el problema que surge con esta fuente es que su uso requiere de un gran uso de NaOH para neutralizar el pH. Las **salmueras**, por ejemplo, a priori parecía que según referencias bibliográficas sería una buena opción debido a su gran contenido en Magnesio, sin embargo, las salmueras que se consiguieron fueron analizadas y el contenido en Magnesio en este caso en concreto fue bastante bajo. Las **cenizas de madera** fueron estudiadas como vía residual para la precipitación por Jorge Santos (2017) y concluyó que contienen un alto contenido en metales pesados que podrían contaminar la corriente de salida además de tener un contenido en ceniza bajo y baja solubilidad en agua (Santos, 2017). La **sal producida por la evaporación de agua de mar** fue estudiada mezclada con agua para ver si podría ser una buena fuente de Magnesio, esta fuente consigue iguales recuperaciones de Fósforo que el $MgCl_2$ y el agua de mar, pero sin embargo consigue remover una cantidad inferior de amoníaco (es decir, de Nitrógeno).

El agua de mar no puede incluirse dentro de fuentes residuales, pero si como un recurso renovable y prácticamente inagotable, es por eso que es una fuente para la obtención de estruvita muy valorado. Además, el agua de mar contiene un alto contenido en Magnesio y debido a la disponibilidad por cercanía (estudio realizado en Santander, España) consideramos el agua de mar la fuente principal de Fósforo en este trabajo.

Durante los experimentos se trabajó con componentes que hacían que el fuera el reactivo limitante. El Nitrógeno en forma de amoníaco es el componente en exceso en este experimento, sin embargo la estequiometría de la reacción de formación de estruvita es 1:1:1 (N:Mg:P), por ello se consideró que si una fuente sin contenido en Nitrógeno (o un contenido no muy alto) entraba en acción, se podría aumentar la

cantidad de estruvita obtenida sin aumentar la cantidad de orina y agua de mar utilizada. Por ello se planteó el uso de alguna fuente residual que tuviera una cantidad en Fósforo considerable. Basándonos en trabajos de Darwish et al. (2017) las **espinas de pescado** fueron las elegidas como aporte adicional de por su alto contenido en este elemento.

2. OBJETIVOS

Durante la realización de este trabajo se han llevado a cabo varias fases para llegar a un objetivo principal que es la obtención de fertilizante a partir de orina separada en origen usando espinas de pescado como fuente de Fósforo y agua de mar como fuente de Magnesio.

- Puesta a punto de métodos de análisis APHA (*Standard Methods for the Examination of Water and WasteWater*) para medir el Fósforo como ortofosfatos y el Nitrógeno amoniacal y total en el influente (orina separada en origen) y en el efluente una vez precipitados la mayor parte de los macronutrientes en forma de estruvita.
- Estudio del grado de hidrólisis de la orina separada en origen sobre la estruvita precipitada: recuperación de macronutrientes, cantidad de precipitado obtenido y pureza y morfología de los cristales obtenidos.
- Estudio bibliográfico para la sustitución de fuentes comerciales de Magnesio por otro tipo de fuente más económica y sostenible.
- Viabilidad de una fuente residual (espinas de pescado) como fuente de Fósforo para optimizar el proceso de obtención de estruvita.
- Análisis estadístico en 4 escenarios distintos a través de un diseño factorial de 3 variables respuesta, cantidad de precipitado, P y N recuperados frente a los parámetros de ratio molar Mg:P y pH.
- Ajuste matemático de las variables respuesta en función de los parámetros Mg:P y ratio molar Mg:P. Análisis de superficie de respuesta y análisis de los efectos múltiples e individuales estandarizados (diagramas de Pareto)
- Análisis morfológico por microscopía SEM y estructural por espectroscopia FTIR de los experimentos más significativos en cuanto a Fósforo y Nitrógeno recuperado y/o la cantidad de precipitado obtenido.

3. METODO EXPERIMENTAL

3.1. Diseño Factorial de experimentos y análisis estadístico.

Para estos análisis se trabajará con orina como fuente de Fósforo y agua de mar como fuente de Magnesio, además uno de los diseños experimentales incluirá las cenizas de las espinas de pescado como aporte adicional de Fósforo.

Como se recoge en la **Tabla 3**, las variables de entrada serán el pH, el ratio de Mg:P y el grado de Ureálisis. Como se ha observado en bibliografía el pH y el ratio son las variables del proceso que más afectan a la precipitación de estruvita y recuperación de Fósforo (Santos, 2016). Añadimos el grado de ureálisis para ver si hay un caso en el que se precipita mejor la estruvita que en el caso de orina totalmente urealizada (lo esperado). Las variables de salida que se van a tener en cuenta serán la recuperación de Fósforo y Nitrógeno en la estruvita y la cantidad de precipitado.

Tabla 3. Variables de entrada y salida

VARIABLES DE ENTRADA	Descripción	Unidades	Rango
pH	El pH de la mezcla es clave en el proceso, existiendo un rango adecuado para que precipite estruvita.	-	6-10
Ratio Mg:P	Aunque la estruvita precipita con ratio 1:1 estudiamos la variación en la cantidad de precipitado o Fósforo recuperado a diferentes ratios.	mol	0.25:1-1.75:1
Grado de Ureálisis	En este trabajo se ha querido estudiar como puede afectar el grado de ureálisis de la orina en la obtención de estruvita	%	0-100
VARIABLES DE SALIDA	Descripción	Unidades	Rango
Cantidad de Precipitado	La cantidad de precipitado se pesará una vez filtrado y seco	g	-
Fósforo	Se medirá el Fósforo en el efluente para ver si la estruvita se queda con la mayor parte de este	ppm	0-1630
Nitrógeno	Se medirá para caracterizar el efluente de salida y ver si este cumple los requisitos para verter al mar		

3.2. Eliminación de los macronutrientes presentes en el efluente mediante precipitación de estruvita.

3.2.1. Metodología experimental

La metodología principal de este trabajo se puede resumir según la **Figura 4** en recogida y almacenaje de la orina, ajuste de ratio y pH, precipitación de la estruvita en el reactor y filtración para la obtención de la estruvita. Por último, está la fase de análisis de Fósforo y Nitrógeno contenido en el efluente.

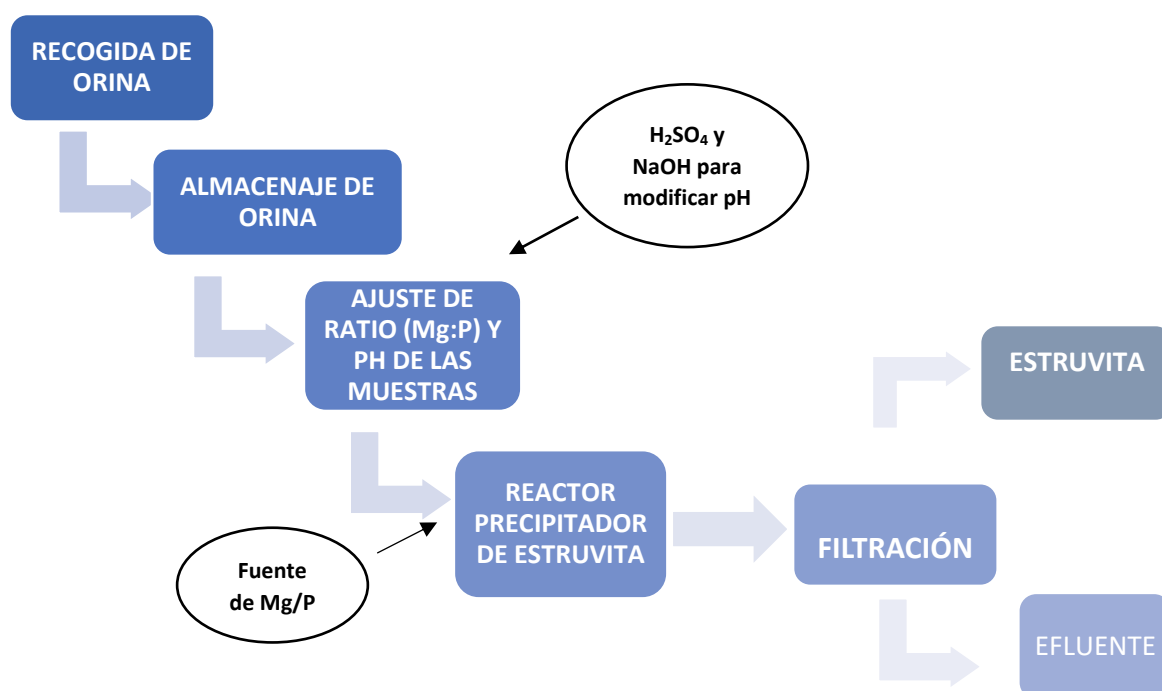


Figura 4. Esquema del método experimental.

La orina humana utilizada en este trabajo fue suministrada por una empresa. La muestra separada en origen es idónea para este estudio ya que no interfiere ningún desinfectante químico ni de ninguna clase.

El almacenaje de la orina se realizó en recipientes herméticamente sellados, a oscuras y refrigerada. Debido a un estudio previo de Jorge Santos (2017) donde analizaba la actividad microbiológica de la orina fresca, se determinó que había carencia de contaminación por e-coli y una escasa contaminación por la bacteria detectada en la orina fresca. Es decir, se podía trabajar con seguridad con una orina con tan solo 2 días

desde la recogida. En ningún caso se trabajo con orina almacenada de mas de 1 mes desde su recogida.

El almacenamiento de la orina se realizará a diferentes tiempos para cada diseño factorial ya que se requiere que la orina esté con un 25%,50% y 100% de grado de hidrólisis, correspondiente a 2,7 y 14 días desde su recogida.

Para conocer el grado de ureálisis de la orina se realizaron análisis del Nitrógeno amoniacal durante 2 semanas (14-15 días) y del pH apuntando en una tabla bien el tiempo al que se media, su pH y el Nitrógeno amoniacal que tenía esa muestra.

Para la precipitación de estruvita se mezclaron las corrientes empleadas (agua de mar, orina y espinas de pescado) en vasos precipitados de medio litro y se llevo al equipo de agitación en el cual estuvieron 1h agitando a una velocidad de 45 rpm como se puede observar en la **Figura 5**.



Figura 5. Equipo de agitación (Jar TEST)

Después de la agitación las muestras estarán 1 hora en esta de reposo para la precipitación de estruvita. Una vez transcurrido este tiempo se filtrarán las muestras con papel resma (para quitar aquellas partículas mas gruesas) y con filtros membrana Esteres Mixtos Celulosa de $0.45\ \mu\text{m}$. Los filtros y el papel resma son lavados y secados antes y después de filtrar, solo una vez ocurren estos pasos se pesarán los filtros para evitar errores por la humedad contenido en ellos al pesarlos.

Las cantidades de orina, agua de mar y espinas de pescado utilizadas para los experimentos se recogen en la **Tabla 4**. El pH de las muestras se ajusta antes de la agitación con NaOH y H₂SO₄.

Tabla 4. Cantidades de muestra utilizadas.

	Ratio Mg:P	pH	ORINA	AGUA DE MAR (mL)		
	mol	-	mL	25 % GH	50 % GH	100 % GH
1	0.25:1	10	50	16.5	8,4	5.8
2	0.25:1	6	50	16.5	8,4	5.8
3	1.75:1	10	50	115	59	40
4	1.75:1	6	50	115	59	40
5	1:01	8	50	66	34	22.9
6	1:01	8	50	66	34	22.9
7	1:01	8	50	66	34	22.9

En la **Tabla 5** se añade el otro tipo de diseño que lleva agua de mar, orina y espinas de pescado.

Tabla 5. Diseño 4, Cantidades de muestra utilizadas.

	Ratio Mg:P	pH	ORINA (mL)	AGUA DE MAR (mL)	ESPINAS DE PESCADO (mL)(*)
1	0.25:1	10	50	50	82.6
2	0.25:1	6	50	50	82.6
3	1.75:1	10	50	50	2.7
4	1.75:1	6	50	50	2.7
5	1:1	8	50	50	12.6
6	1:1	8	50	50	12.6
7	1:1	8	50	50	12.6

*Los mL de Espinas de pescado se refieren a una disolución preparada de 5 g ceniza en 250 mL que equivale a un contenido en espinas de 1626,3 mg P/L.

Una vez se ha filtrado la muestra se debe de analizar el precipitado y el efluente que queda. Conocido el Fósforo que contiene el filtrado, se puede saber que cantidad quedó en la estruvita ya que se conocía la concentración del Fósforo inicial. Los métodos de análisis para el filtrado seguirán la normativa “Standar Methods” normativa

estandarizada para análisis de aguas residuales. El procedimiento del método del Fósforo y el Nitrógeno amoniacal y total se desarrolla a continuación.

3.2.2. *Análisis del Fósforo en forma de PO_4^{3-}*

Determinación de fosfatos por colorimetría (método amarillo del ácido vanadomolibdofosfórico).

En una solución diluida de ortofosfato. El molibdato amónico, reacciona en condiciones ácidas para formar un heteropoliácido, ácido molibdofosfórico que, en presencia de vanadio, forma ácido vanadomolibdofosfórico amarillo. La intensidad del color amarillo es proporcional a la concentración de fosfatos.

❖ Reactivos

-Fósforo para patrones:

Se pesan 0.2195 g de KH_2PO_4 y se diluyen con 1000 mL de agua (para que la muestra contenga 50 ppm de Fósforo en forma de PO_4^{3-} a partir de la cual por dilución se prepararán los patrones que se necesiten) que serán suficientes para los 5 patrones que se necesitan.

-Fenolftaleína: Phenolphthalein 1% para análisis volumétrico (Pan Reac)

- H_2SO_4 y HNO_3 (95-98 % pureza el H_2SO_4 y 65 % de pureza el HNO_3)

-Vanadato-Molibdato:

Para la preparación de Vanadato-Molibdato se elaboran dos soluciones diferentes que después mezclaremos para la solución final. A estas dos soluciones las llamaremos solución A y solución B:

-Solución A: Para esta primera se disuelven 25 g de molibdato de amonio $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ en 300 mL de agua destilada.

-Solución B: Se disuelven 1.25 g de metavanadato de amonio NH_4VO_3 , y se calienta hasta hervir con 300 mL de agua destilada. A continuación, se deja enfriar y se añaden 330 mL de HCl.

Una vez que esta fría la solución B, se vierte la solución A en la B y se lleva a 1L.

-NaOH 1 M

❖ Equipo experimental utilizado:

-Espectrofotómetro CECIL 1020

-Equipo digestor.

-Material de vidrio

-Balanza analítica para la preparación de los reactivos.

❖ Procedimiento:

I. Preparación de muestras y patrones.

Se preparan patrones de Fósforo con 2,4,8,12 y 16 mg/L.

II. Digestión con Ácido Nítrico y Sulfúrico.

La cantidad de muestra a digerir se determina en función del método colorimétrico que se utilizará posteriormente, en este caso es el método colorimétrico vanadomolibdofosfórico. Este método, indica que se utilizarán 35 mL o menos del paso final de digestión y estos han de contener entre 0.05 y 1 mg de P.

Una vez hechos los cálculos, se introducen 50 mL de muestras y patrones en cada tubo de digestión (Kjeldahl de unos 300 mL).

- Se añade, 1 mL de H_2SO_4 y 5 mL de HNO_3 a cada uno de los tubos

-A continuación, comienza la digestión, primero se pone durante 30' a 130°C y después lo subo a 220°C unos 60' hasta que quede 1 mL de muestra. Se coloca 1 mL de agua en tubo aparte para comparar el volumen.

-Se deja enfriar y se añaden 20 mL de agua destilada y una gota de fenolftaleína. En el mismo tubo.

-Se añaden los mL de NaOH 1M necesario hasta que se produzca el giro de color a rosa, aproximadamente eche unos 3 mL.

-Si es necesario se puede filtrar, pero en este caso las muestras salieron muy transparentes.

-Se llevan a 100 mL con agua en un matraz aforado.

III. Método colorimétrico:

-Se cogen 35 mL de muestra (de los 100 mL).

-Se llevan los 35 mL a un matraz de 50 mL y se añaden 10 mL de Vanadato-molibdato y se enrasa con agua, lo primero es realizar el blanco ya que es el referente a la hora de medir con el espectrofotómetro.

-Por último, se mezcla y deja reposar al menos 30 minutos para medirlo con el espectrofotómetro a una onda determinada frente al blanco según la tabla 6.

Tabla 6. Longitud de Onda para cada Rango de P

P rango mg/L	Longitud de onda nm
1,0-5,0	400
5,0-10,0	420
4,0-18,0	470

IV. Recta de Calibrado y obtención de resultados

Para conocer la concentración de P en las muestras se realiza una recta de calibrado. Esta recta se realiza de forma precisa en Excel conociendo la absorbancia medida y la concentración de las muestras patrón de la que se saca una ecuación con la línea de tendencia y el error cuadrático. El error (R^2) de la ecuación debe ser aceptable >0.9 .

3.2.3. Análisis del Nitrógeno amoniacal y total

❖ Reactivos necesarios:

-Ácido bórico preparado:

Esta solución se preparó disolviendo 20 g de H_3BO_3 en agua, añadir 10 mL de la mezcla de solución indicadora, enrasar a 1 L. Preparar mensualmente.

-Mezcla de solución indicadora: Combinar A con B:

A) Disolver 200 mg de Rojo de metilo en 100 mL de isopropilo de alcohol al 95%.

B) Disolver 100 mg de azul de metileno en 50 mL de isopropilo de alcohol al 95%.

-Solución valoradora: HCl 0.1 N.

-Agente de Digestión: preparado según la normativa APHA “Standard Methods” de 2012 de aguas residuales.

Se disuelven 134 g de K_2SO_4 en 800 mL de agua. A continuación, se añaden 134 mL de ácido Sulfúrico cuidadosamente y finalmente cuando esta disolución se enfría, se enrasa con agua hasta 1L. Este agente se debe de guardar en un espacio con temperatura de unos 20°C.

❖ Equipo experimental:

-Destilador Kjeldahl manual pro-nitro M

-Bureta

-Material de vidrio (Erlenmeyer, vasos precipitados...)

-Tubos que Kjeldahl (de unos 300 mL) que se acoplen al aparato

-Equipo digestor

❖ Procedimiento:

En el caso del Nitrógeno amoniacal los pasos seguidos serán a partir de la destilación. El Nitrógeno total requiere una digestión previa.

-Preparación de muestras

Las muestras han de prepararse según la **Tabla 7**, se eligió el tamaño de muestra de 50 mL, a partir de ahí se realizaban las diluciones pertinentes. En el caso del Nitrógeno amoniacal la muestra debía de contener como máximo 25 mL debido a que es lo que admitía el equipo destilador.

Tabla 7. Para determinar el tamaño de muestra según normativa

mg/l	MACRO	
	Tamaño muestra mL	mg N a analizar
0-1	500	0.5
1-10	250	0.25-2.5
10-20	100	1-2
20-50	50	1-2.5
50-100	25	1.25-2.5

▪ Digestión

Esta digestión se realiza en el equipo -Se preparan las muestras a medir, en este caso las muestras han de prepararse en un matraz de más de 50 mL ya que esta será la cantidad necesaria para el paso siguiente.

-Se cogen 50 mL de las muestras preparadas y se vierten en los tubos de digestión de aproximadamente unos 300 mL y se añaden otros 50 mL de agente de digestión.

-Se ponen a calentar los tubos a 2 temperaturas, primero se ponen a 1500 °C hasta que se produzcan humos blancos. Este paso suele derivar unos 15-30 min hasta que hierve. A continuación, se pone a 400°C durante 30-60 minutos hasta que el volumen se haya reducido hasta unos pocos mL.

-Una vez que el volumen se reduce por debajo de 25 mL (mínimo) se deja enfriar evitando si es posible que se cristalice o gelatinice la muestra añadiendo agua hasta máximo 25 mL, se mezcla y se deja enfriar. En caso de que la muestra se gelatinice o solidifique se puede añadir un poco de agua destilada (miliQ) e introducir otra vez en el digestor un tiempo corto y suficiente para homogeneizar la muestra.

-Antes de la destilación se llena el tubo con agua hasta llegar a 25 mL.

▪ Destilación

-Se enciende el destilador Kjeldahl y se realiza una prueba con agua destilada para calentar el equipo. Este precalentamiento no tiene por qué durar los 8 minutos que destila el equipo, se puede parar antes. No se añadirá sosa.

-Una vez realizada la prueba se verterán 50 mL del ácido bórico indicador en el Erlenmeyer y se colocara en la salida del destilador.

En el tubo muestra se añadirán 25 mL de muestra con su correspondiente dilución (ya que se trata de orina que contiene mucha cantidad de Nitrógeno). Se coloca el tubo en su posición asegurando que este encaje bien y se programa la sosa (NaOH) que se quiere verter. En este caso se añadirán 50 mL de sosa que te asegura que se produzca la reacción correspondiente. 50 mL son 2 pitidos en el botón de NaOH. Una vez programada la sosa se dará al botón "steam".

El equipo deja de destilar a los 8 minutos aproximadamente cuando ya ha destilado unos 200 mL que sumados al ácido bórico harán unos 250 mL en el Erlenmeyer.

-El siguiente paso será con guantes de protección del calor sacar el tubo de muestra y colocarlo en el porta muestras.

▪ Valoración

-Se valora la muestra del Erlenmeyer en este caso con HCl 0.1 N hasta un color morado. (El viraje es de verde a azul y de azul a morado)

-Para calcular el Nitrógeno contenido en la muestra se aplica la ecuación 5.

$$\text{mg N} = 14 \cdot \text{Normalidad}_{\text{HCL}} \cdot \text{mL}_{\text{GASTADOS}} (\text{mL muestra} - \text{mL blanco}) \quad (\text{eq 5})$$

❖ Mantenimiento del equipo:

-Cada cierto tiempo es necesario rellenar el depósito de agua, en este se verterán 6L de agua destilada con 125 mg de cloruro sódico.

-Una vez a la semana hay que limpiar las piezas de la cal generada por la sosa.

-Una vez a la semana hay que vaciar el generador de vapor.

-Hay que rellenar el tanque de sosa al 40 % antes que se acabe ya que la sonda no llega a el nivel de abajo del todo.

3.2.4. *Análisis del Mg*

Para la medición del Mg de las espinas de bocarte y del agua de mar se uso absorción atómica de llama.

❖ Reactivos

-HNO₃

-SrCl₂

-HCl

-Inhibidor del ruido

-LaCl₃

❖ Equipo experimental utilizado

-Material de vidrio

-Espectroscopio Shimadzu AA 7000

-Micropipetas

❖ Procedimiento

- I. Preparación de los patrones y el blanco: para el blanco se llevará 1 mL de HNO_3 comercial + 4 mL de SrCl_2 a un matraz de 100 mL. Para los patrones se prepara a partir de una disolución comercial patrones de 0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,4 ppm y 1 ppm. En todos los casos se lleva a 100 mL y se añaden 4 mL de HCl y 4 del inhibidor de ruido.
- II. Preparación de las muestras: En función del volumen preparado se echará el inhibidor correspondiente a la razón de 25 μL de inhibidor por cada 25 mL de muestra analizada.
- III. Preparación del equipo siguiendo las instrucciones.
- IV. Se introducen las muestras y patrones. Se enciende la llama con la campana encendida y realizar las mediciones. En la pantalla de trabajo será importante identificar la muestra poniendo algo en la columna denominada Sample ID. En **True value** se pone el valor de los patrones y en **Conc (ppm)** se tiene la concentración de los patrones y muestras según la calibración y absorbancia que mida el equipo.

3.3. Análisis de los precipitados

3.3.1. Espectrofotometría Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier (FTIR) se utilizó para analizar los cambios potenciales en la estructura interna de los cristales de estruvita. La espectroscopía FT-IR proporciona una herramienta sensible para la detección de agua de cristalización en minerales y sus estados de unión en el cristal. Los espectros FT-IR se asignan a cuatro regiones que representan los principales picos de identificación debido a la existencia de agua en la estruvita cristalizada, que está estrechamente relacionada con los picos informados previamente en algunos compuestos hidratados inorgánicos. De acuerdo con los picos de identificación, la absorción que ocurre entre 2900 y 3600 cm^{-1} se debe a la vibración de estiramiento OH y NH. Las intensidades de las bandas entre 1500 y 1700 cm^{-1} se atribuyeron a la vibración de flexión OH y las intensidades de las bandas entre 1430 y 1475 cm^{-1} se atribuyeron a la vibración de flexión NH en el grupo de amonio. Las intensidades de las bandas entre 995 y 1070 cm^{-1} se asociaron con la vibración de estiramiento del ion fosfato. Las intensidades de la banda alrededor de 570

cm^{-1} mostraron la vibración de tijera PO_4 , mientras que las intensidades de las bandas entre 400 y 800 cm^{-1} se asociaron con enlaces metal-oxígeno (Herald *et al.*, 2017).

Las muestras para el FTIR se preparan realizando las denominadas pastillas de KBr. Estas pastillas se preparan pesando una cantidad de muestra (0,0010 g en este caso) y una cantidad de KBr (0,1000 g). Estas cantidades se mezclan y homogeneizan bien con un mortero para después pasar a el equipo que lo convierte en pastilla, para ello se pesa una cantidad de muestra mezclada de 0,0600 g. Las muestras deben de estar lo más secas posibles para que la humedad no interfiera en la espectroscopía.

3.3.2. Microscopia electrónica de barrido y Espectrometría de dispersión de energía de rayos X (SEM/EDX)

Se llevo a cabo una caracterización morfológica con el Microscopio electrónico de barrido (SEM), marca Zeiss, modelo EVO MA 15. Equipo que dispone de un sistema de microanálisis por espectroscopía de energía dispersiva (EDX) que permite determinar la naturaleza química de los materiales analizados, marca Oxford.

En cuanto a las muestras, requieren una preparación previa en la que se metaliza las muestras. Se realizó un metalizado en Oro. El equipo para metalizar las muestras es el modelo SCD 040. Las muestras para el EDX es mejor que estén sin metalizar, por ello se preparó 2 muestras de cada tipo una metalizada y otra sin metalizar como se puede observar en la **Figura 6**.



Figura 6. Muestras preparadas para utilizarse en el SEM-EDX

4. RESULTADOS

4.1. Caracterización fisicoquímica de las materias primas

Antes de comenzar los experimentos fue necesario caracterizar la orina que se tenía en términos de N_{TOT} , $N-NH_3$, pH y Fósforo. Aunque se tenía una media de lo que suele tener la orina bibliográficamente, debido a que estos parámetros pueden variar bastante en la orina humana de un individuo a la de otro (debido a la dieta alimentaria) fue necesario su análisis.

También se tuvo que analizar el Magnesio del agua de mar recogido. El agua de mar fue obtenida del Instituto Oceanográfico situado en La Maruca (Cantabria). Allí el agua se filtraba para eliminar componentes no deseados.

Por último, fue necesario realizar análisis del Fósforo para saber el contenido de este en las espinas. A partir de bibliografía encontrada se pudo conocer cómo se realizaba el análisis de Fósforo de un sólido (Darwish *et al.*, 2017).

· Caracterización de las espinas del bocarte

Las espinas del bocarte fueron proporcionadas por conservas Hoya. Para su caracterización las espinas debían calcinarse a ceniza. Para ello estuvieron 2h en la mufla a 600°C y se mezcló manualmente antes de incinerarlas otras 2h para asegurarse que el contenido orgánico estaba totalmente descompuesto.

Para conocer el Fósforo contenido en estas cenizas se realizó una digestión ácida con agua regia (33.33 % en volumen de HCl y 66.66 % de HNO_3).

La concentración de P, Mg y el pH de cada muestra se puede observar en la Tabla 8.

Tabla 8. Caracterización materias primas

	P (mg/L)	Mg(ppm)	pH	N-NH ₃ (ppm)
ORINA 25% GH	1630	-	6,2	1848
ORINA 50% GH	830	-	7,6	3304
ORINA 100% GH	695	-	8,8	6552
AGUA DE MAR	-	1189.72	-	-
ESPINAS DE PESCADO	162,63 mg P/g ceniza	-	-	-

4.2. Efecto de la ureálisis.

El pH de la Orina se vuelve básico con el paso del tiempo, esto se debe a la ureálisis donde una carbamida (urea) se transforma en ácido carbámico y finalmente en amoníaco y CO_2 . Lo primero son compuestos ácidos y el amoníaco es un compuesto básico. Es por esto que a medida que se hidroliza la orina, el pH de esta aumenta. En la **Figura 7** se puede ver la evolución del pH con el tiempo. La orina de cada individuo tiene un pH característico debido a la dieta que lleva. En este estudio la orina recogida era orina de por la mañana por ello empieza con una acidez mayor. El pH varía desde 5.8 hasta 9,10.

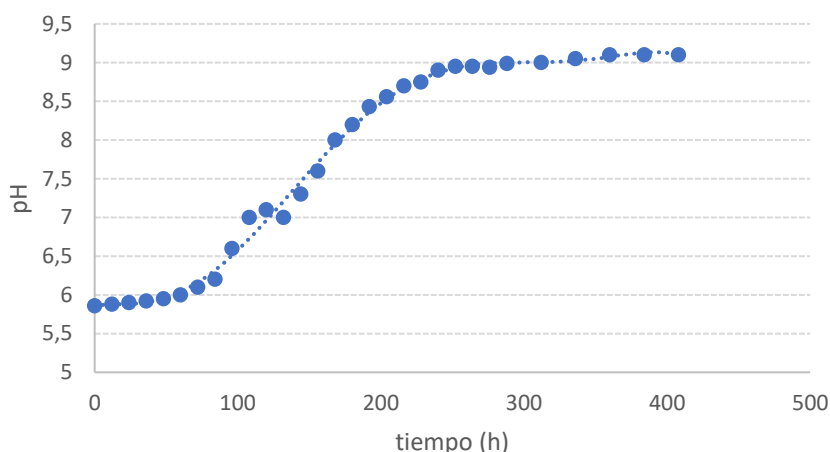


Figura 7. Evolución del pH con el tiempo

Uno de los puntos más importantes del trabajo fue determinar el grado de ureálisis (**Figura 8**). Este, es importante debido a que se quiere trabajar con orina con un 25%, 50% y un 100% de Grado de hidrolisis (GH). Además se sabe que sin el suficiente amoniaco y alcalinidad la estruvita no puede formarse eficazmente (Dai *et al.*, 2014). Para ello será necesario conocer el Nitrógeno total y el Nitrógeno amoniacal. La evolución del Nitrógeno amoniacal con el tiempo se puede apreciar en la curva de la **Figura 8**. El grado de ureálisis se consigue dividiendo el Nitrógeno amoniacal entre el total. Cuando la orina está completamente hidrolizada quiere decir que todo el Nitrógeno contenido en esta es transformado en Amoniaco. En el caso de este estudio

se hablar de orina 100 % GH, aunque el todo el Nitrógeno total no haya conseguido llegar a hidrolizarse.

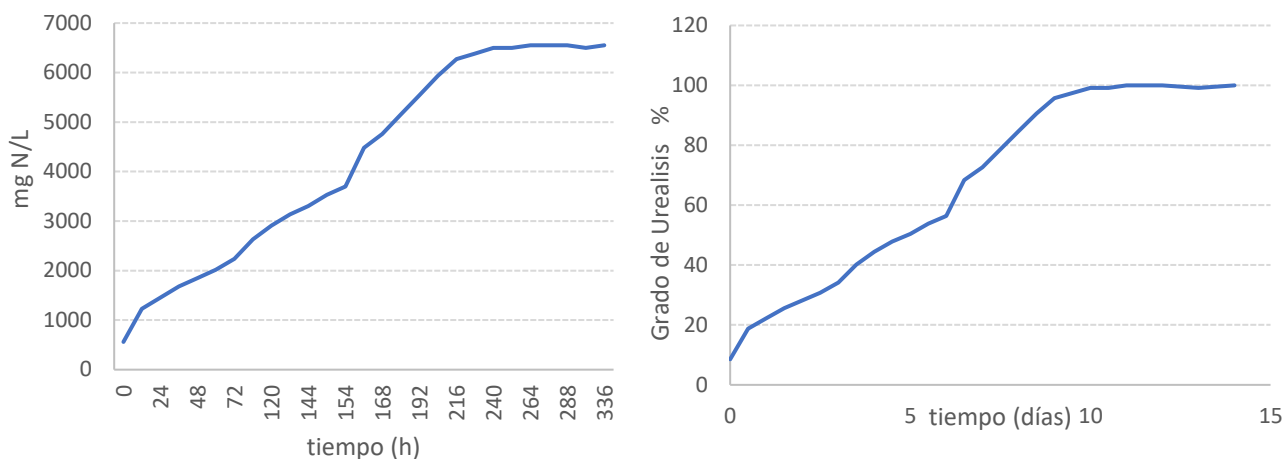


Figura 8. Evolución del Nitrógeno amoniacal y el Grado de hidrólisis con respecto del tiempo

Una vez se sabe que día la orina estará al 25,50 y 100% de grado de hidrólisis (días 2,7 y 14) hay que conocer el Fósforo contenido en la orina. El Fósforo de la orina disminuye a lo largo que pasan los días debido a que en la orina va precipitando a medida que se hidroliza estruvita. El Fósforo de la orina al 25% se estimo como el de la orina fresca. El del 50% y el del 100% se midió por el método colorimétrico y se obtuvieron los puntos señalados en la **Figura 9** correspondiente al día 14 y 7 (830 y 605ppm).

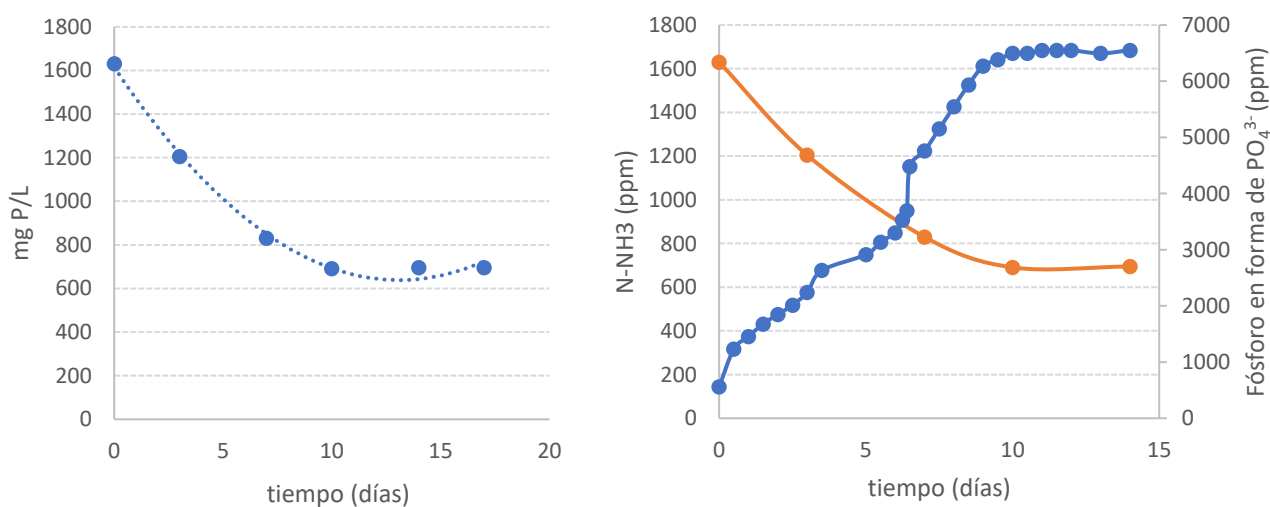


Figura 9. Cantidad de Fósforo en la orina humana a través del tiempo

4.3. Influencia del ratio Mg:P y del pH en la precipitación de estruvita.

En la **Figura 10** se puede observar el diseño factorial de los 4 escenarios (Orina al 25,50, 100% GH y 100 % GH + Espinas de Pescado realizados. Además de un diagrama de quesos donde se puede ver como a medida que aumenta el grado de hidrólisis asciende el Nitrógeno amoniacal y descende la concentración de fosfatos.

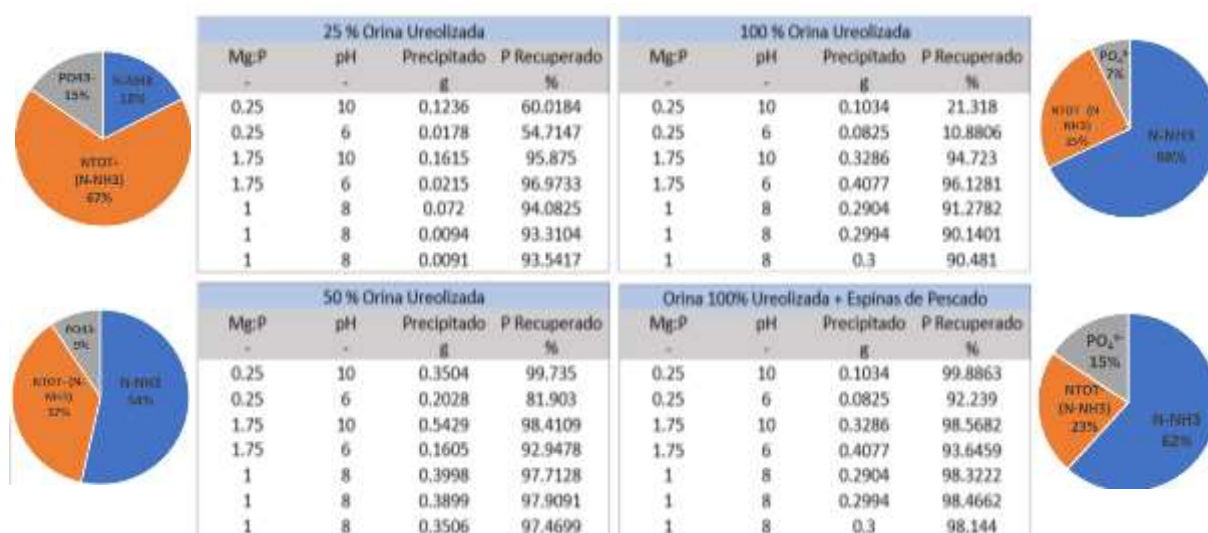


Figura 10. Esquema del Diseño de experimentos.

Las **Tablas 9,10 y 11** contiene el análisis ANOVA realizado para cada variable de salida (Cantidad de precipitado, Fósforo y Nitrógeno recuperados).

Para la cantidad de precipitado, las variable más significativa es pH para el caso de orina al 25 % y 100 % GH + espinas de pescado y ratio para el caso de orina al 50 % y 100% GH. En la tabla se muestran el R², Error estándar y absoluto. La R² es la variabilidad del ajuste realizado, el error estándar la desviación de los residuos y el absoluto el valor promedio de los residuos.

Tabla 9. Análisis ANOVA del efecto del pH y ratio en la cantidad de precipitado

	CANTIDAD DE PRECIPITADO (g)			
	O. 25% GH	O. 50 % GH	O. 100% GH	O. 100% + ESP.
PROMEDIO	0,0593	0,3771	0,2589	11,919
A: Mg:P	0,0208 (+)	0,1964(+)	0,2752 (+)	1,92844 (-)
B: pH	0,1229 (+)	0,1437 (+)	0,0291 (-)	1,9495(+)
AB	0,0171 (+)	0,00395 (-)	0,05 (-)	1,0360 (-)
ERROR ESTÁNDAR	0,0485	0,0216	0,050	0,518
R ²	69,12 %	97, 69 %	91,30 %	87,96 %
ERROR ABSOLUTO	0,029	0,010	0,032	0,335

Para el caso de Fósforo recuperado las variables más significativas son, ratio para el caso de orina al 25 y 50 % GH y pH para los otros dos casos como se muestra en la **Tabla 10**.

Tabla 10. Análisis ANOVA del efecto del pH y ratio en el Fósforo recuperado.

	P. RECUPERADO			
	O. 25% GH	O. 50 % GH	O. 100% GH	O. 100% + ESP.
PROMEDIO	0,8407	0,9515	0,7071	0,7704
A: Mg:P	0,3906(+)	0,0487 (+)	0,7932(+)	0,0004(+)
B: pH	0,0021 (+)	0,1164 (+)	0,0451(+)	0,0628(+)
AB	0,0032(-)	0,0618 (-)	0,0593 (-)	0,0137 (-)
ERROR ESTÁNDAR	12,667	3,368	26,364	1,685
R²	76,19%	85,03 %	75,27 %	82,92 %
ERROR ABSOLUTO	8,203	2,179	17,08	1,089

Por último, para el Nitrógeno recuperado las variables que más afectan son, pH y ratio para orina al 50 % GH y 100 %+ Espinas y, ratio molar para los otros dos casos.

Tabla 11. Análisis ANOVA del efecto del pH y ratio en el Nitrógeno Recuperado

	N. RECUPERADO (%)			
	O. 25% GH	O. 50 % GH	O. 100% GH	O. 100% + ESP.
MODELO	0,3241	0,3241	0,4754	0,4827
A: Mg:P	0,3370(+)	0,337 (+)	0,3127(+)	0,0739(+)
B: pH	0,0137 (-)	0,0085 (+)	0,3531(+)	0,0506(+)
AB	0,0002 (-)	0,0198 (-)	0,1303(-)	0,0271(+)
ERROR ESTANDAR	3,685	3,300	7,313	1,213
R²	88, 191%	97,22%	93,72 %	95,19 %
ERROR ABSOLUTO	2,384	1,943	4,427	0,654

Por último, gracias a estas tablas y a los diagramas de Pareto de las **Figuras 11,12,13 y 14** se puede decir que para la cantidad de precipitado la variable más significativa es el ratio, para el Fósforo recuperado sería el pH y para el Nitrógeno ambas variables afectan significativamente, aunque en mayor medida el ratio.

La **Tabla 12** contiene las ecuaciones que ha dado el análisis. Con ellas conociendo las variables de entrada se puede obtener la cantidad de precipitado, P y N recuperados para cada diseño de experimentos. Todas ellas se ajustaron con polinomios de orden 1, y aunque en algunos casos el coeficiente de R² no es muy alto (**Tablas 9,10 y 11**), no es posible realizar un ajuste mayor (de orden 2 por ejemplo) partiendo de 7 experimentos y teniendo grados de libertad.

Tabla 12. Ecuaciones resultado del análisis de las Variables

	PRECIPITADO	P RECUPERADO	N RECUPERADO
ORINA 25 %	$-0.155 - 0.032*A + 0.025*B + 0.006*AB$	$45.280 + 34.573*A + 1.594*B - 1.067*AB$	$72.379 + 11.6467*A - 0.335*pH - 0.007*AB$
ORINA 50 %	$-0.052 + 0.142*A + 0.037*B - 0.001*AB$	$52.128 + 19.737*A + 4.973*B - 2.062*AB$	$13.519 + 17.187*A - 0.446*B + 0.66*AB$
ORINA 100 %	$2,57*10^{-4} + 0,317*A + 0.009*B - 0,017*AB$	$-7.006 + 68.683*A + 3.103*B - 1.975*AB$	$-78.675 + 55.593*A + 13.171*B - 4.343*AB$
ORINA 100% + ESPINAS	$-2.377 + 1,477*A + 0.607*B - 0,345*AB$	$80.8 + 3.67*A + 2.026*B - 0.455*AB$	$40.45 - 2.29*A + 0.362*B + 0.902*AB$

*A=Mg:P; B=pH; AB= Mg:P*pH

Escenario I: Orina 25 % Grado de Hidrólisis

Los valores óptimos para la cantidad de precipitado son un **ratio de 1.75:1** y un **pH de 10**; para el **Fósforo recuperado**, **ratio de 1.5:1** y **pH entre 6 y 10**. En el caso de la **recuperación de Nitrógeno** estos valores son el de **ratio 1.5:1** y **pH entre 6 y 10**. En la **Figura 11** se representan los diagramas de Pareto y de superficie para la cantidad de precipitado, Nitrógeno y Fósforo recuperado.

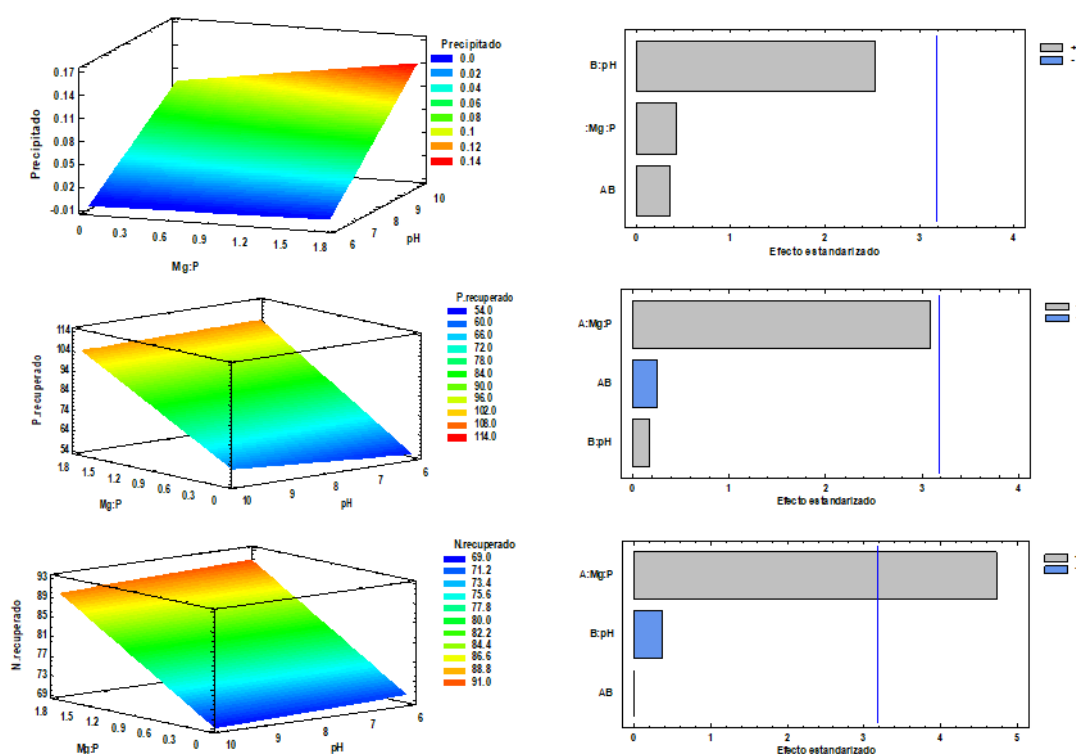


Figura 11. Diagramas de Superficie y de Pareto en el escenario I

Escenario II: Orina al 50 % GH

En este caso, como se observa en la **Figura 12**, los valores óptimos para **cantidad de precipitado** en cuanto a **ratio y pH** serán en torno a **1.75: 1 y 10** al igual que en el escenario anterior. Para el **Fósforo recuperado** el óptimo de estas variables está en **pH 10** y cualquier ratio entre los experimentados. Para el **Nitrógeno** afecta en mayor medida el **ratio** molar siendo el óptimo en **1.75:1**, el pH no es una variable que afecte mucho.

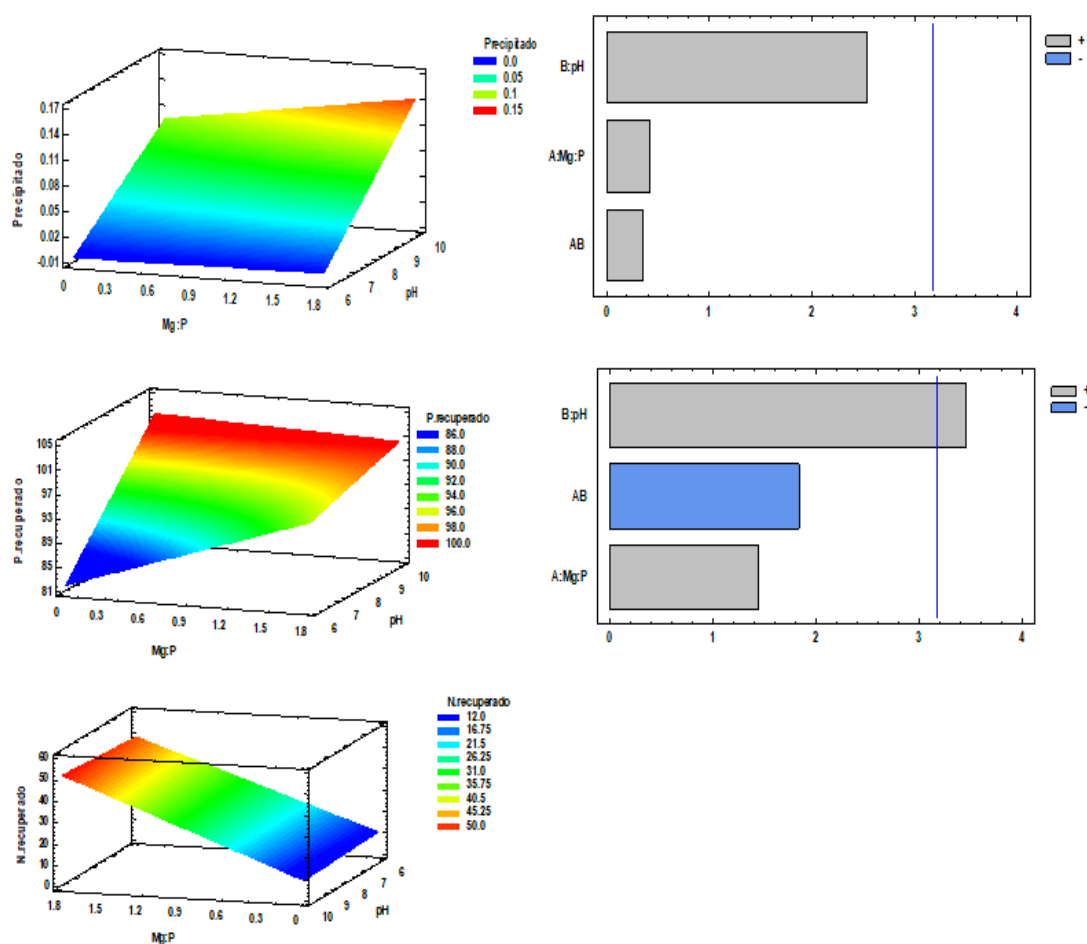


Figura 12. Diagramas de Superficie y Pareto en el escenario II.

Escenario III: Orina al 100 % GH

Para la cantidad de precipitado (como se observa en la **Figura 13**) el mejor **ratio** se consigue con **1.75:1** pero, el pH es mejor en este caso con **pH** bajo en torno a **6**; para la **recuperación de Fósforo** el mejor **ratio** es de **1.8:1** y cualquier pH (no tiene mucho efecto en este caso el pH); para el **Nitrógeno** recuperado el óptimo es de un **pH 10** y **ratio 1.75:1**.

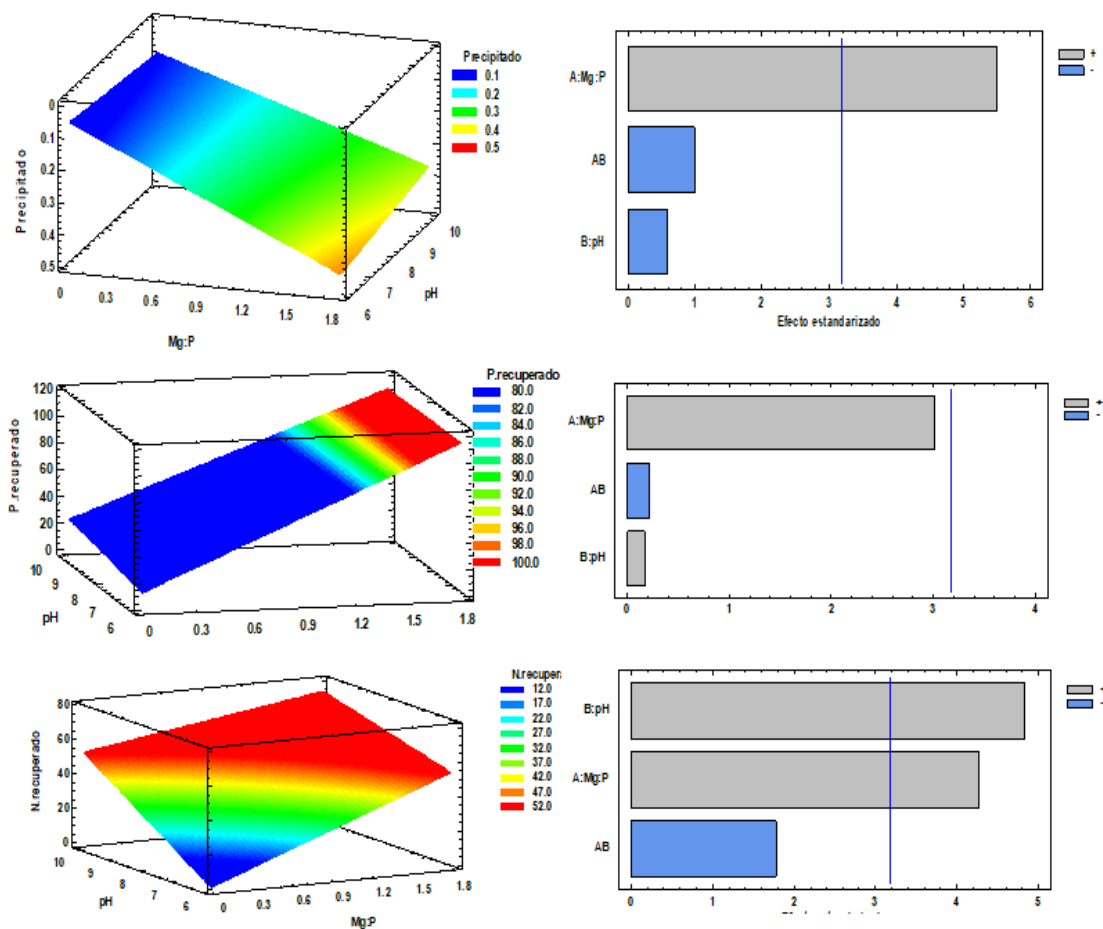


Figura 13. Diagramas de Superficie y de Pareto para el escenario III

Escenario IV: Orina al 100% GH + Espinas de Pescado

En este último caso en el que se usaron espinas de pescado se puede observar según la **Figura 14** que el mejor ratio para el que se conseguía mayor cantidad de precipitado es un ratio por debajo de 1. Esto, que no tiene mucho sentido se puede explicar ya que, en el método experimental, en el caso 1 y 2 (ratios 0.25:1) se necesitó echar mucha sosa. Al verter la sosa para modificar el pH, se formó una especie de precipitado ya antes de agitar. Esto puede deberse a que precipitara alguna sal inorgánica. Es decir, que, aunque el diagrama de superficie estime que el mejor ratio es ese no se puede decir con seguridad debido a esas interferencias en el método experimental. Para ver a que mejor ratio se produce la precipitación se acudirá o bien a la recuperación de fósforo o al FTIR o SEM; para la cantidad de **Fósforo recuperado** prácticamente cualquier ratio es bueno y el **pH óptimo** es de **10**; en cuanto al **Nitrógeno** sus óptimos son **pH 10 y ratio 1.75:1**.

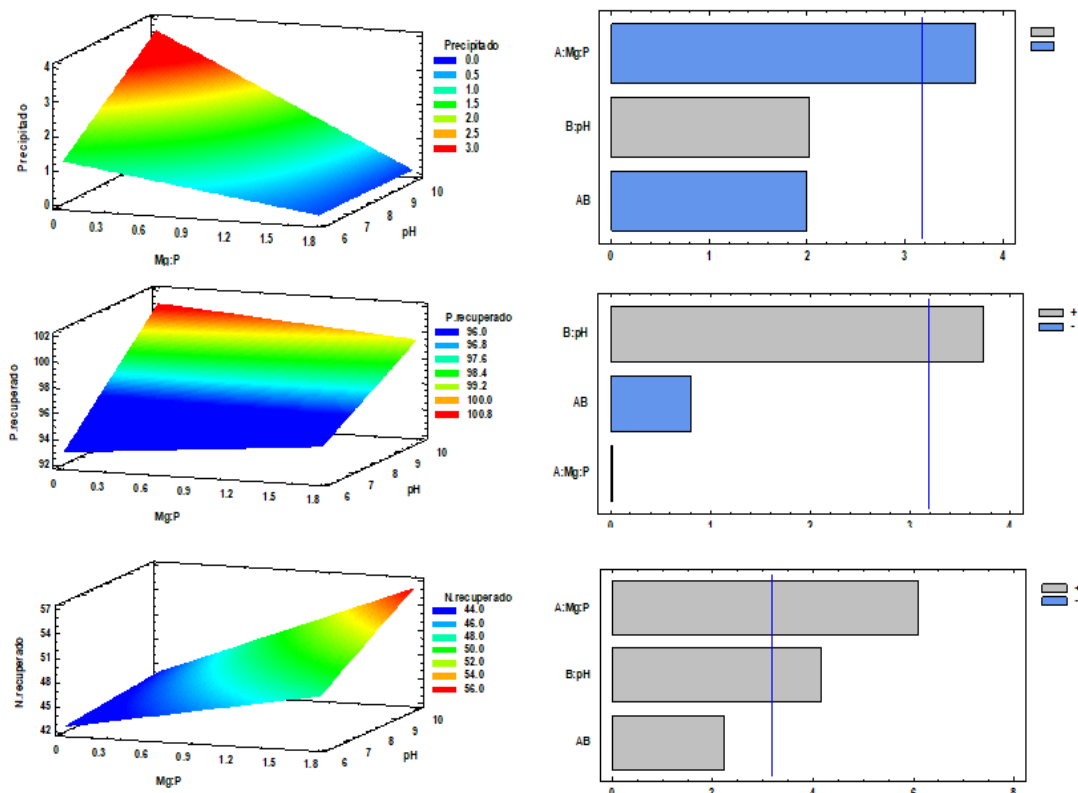


Figura 14. Diagramas de Superficie y de Pareto del Escenario IV

4.4. Análisis SEM-EDX y FTIR de los resultados óptimos.

El último análisis que se realizó fue el análisis SEM-EDX y FTIR de aquellos resultados que habían resultado ser óptimos.

SEM-EDX

En este análisis morfológico se pudo observar el tamaño de partícula de los cristales para cada experimento y también a simple vista cuales no eran cristales. Con el EDX se obtuvo la composición química aproximada de esos experimentos. Es aproximada ya que con este método solo mides la proporción de los elementos en un determinado 'lugar' de las muestras. Digamos que solo sabes el contenido en un punto (cantidad de precipitado pequeña) y no en general. A pesar de no ser general sí que puede dar una idea de que componentes está formado el precipitado. En este caso el O, N, P y Mg estaba presente en todas las muestras lo que indica que puede haberse formado estruvita.

Este análisis solo se realizó para los óptimos de cada escenario y para algún caso singular

que interesaba. Se analizaron los experimentos nº 3 de cada escenario ya que en estos siempre se obtenían muy buenos resultados. Y, se analizó también el experimento 1 del escenario 4 en el que se usaban espinas de pescado. Se eligió medir este experimento en concreto porque como ya se ha explicado en el diseño de experimentos hubo interferencias en el momento de modificar el pH de la muestra. En las **Figuras 15 y 16** están las imágenes de la microscopía donde mejor puede apreciarse el cristal y además el análisis EDX realizado (a su derecha). En la **Figura 15** se encuentran los análisis SEM y EDX de la Orina 100% GH, en todos ellos se puede observar como hay cristal formado, gracias al EDX se ve como las proporciones de N,Mg,P son parecidas. El tamaño del cristal formado se puede apreciar que es mayor en el caso del experimento nº 3 (el del medio de la **Figura 15**).

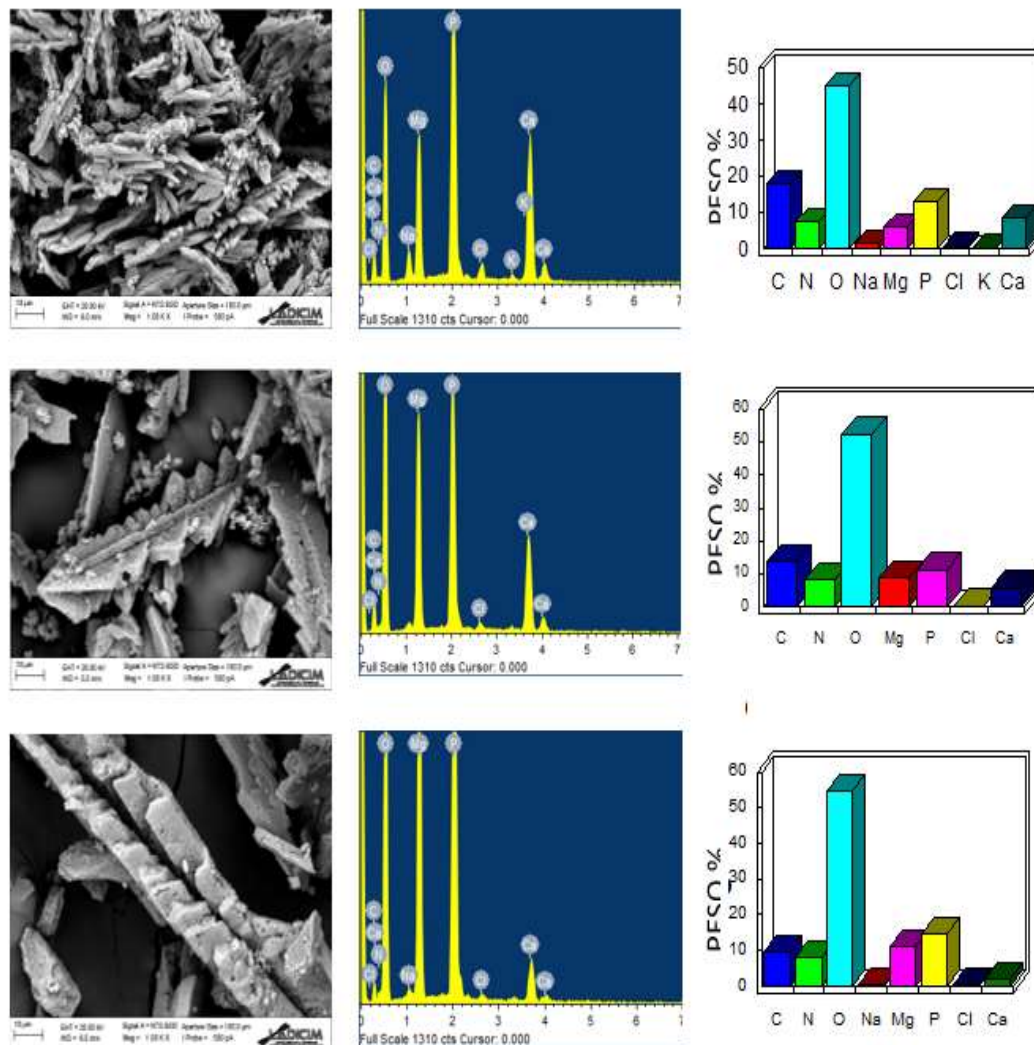


Figura 15. Orina 100% GH Experimentos 1,3,5

En la **Figura 16** se muestran los experimentos n° 3 de los casos de orina 25 %, 50 % y 100 % de Grado de ureálisis + Espinas de pescado. En el primer caso se trata de orina en la que poco nitrógeno se ha transformado en amoníaco por lo que es normal que sea el peor escenario entre ellos. No se observa formación de cristales. En el segundo caso de la figura ocurre algo parecido, no se ve formación de cristales. Por último, en el caso de las espinas de pescado (último caso de la **Figura 16**) si se ven cristales con lo que podrían ser impurezas o bien cristal roto por roce. Es decir, por el análisis del SEM los mejores resultados serían los de la **Figura 15** y el último caso de la **Figura 16**.

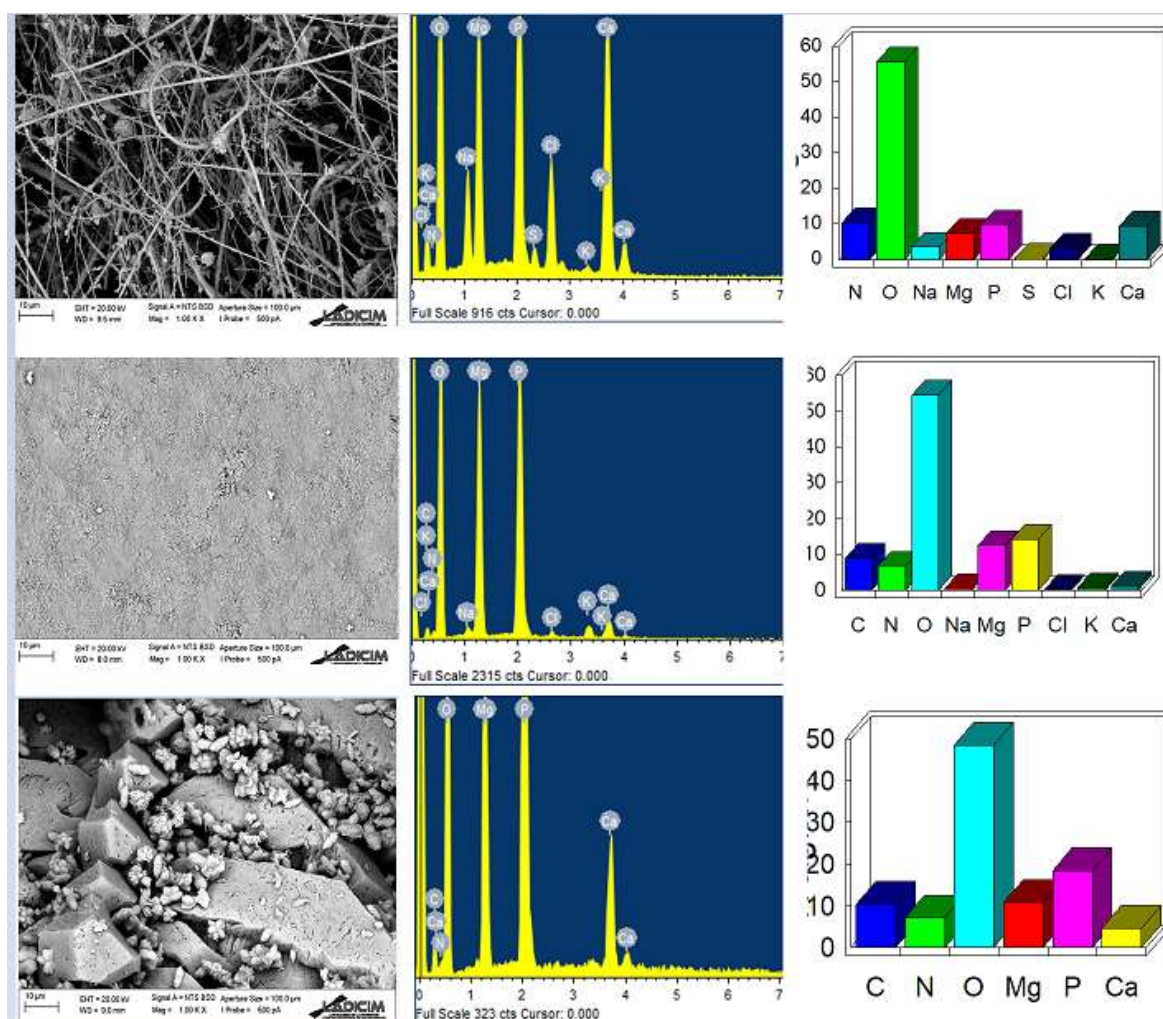


Figura 16. Experimentos n° 3. Escenario 1,2 y 4

Por último, parecía importante introducir el caso (**Figura 17**) que se comentaba de las espinas de pescado en el experimento n° 1 donde el ratio Mg:P es 0.25:1. En este caso, se puede ver que en vez de cristales hay como una especie de “arena o arcilla”.

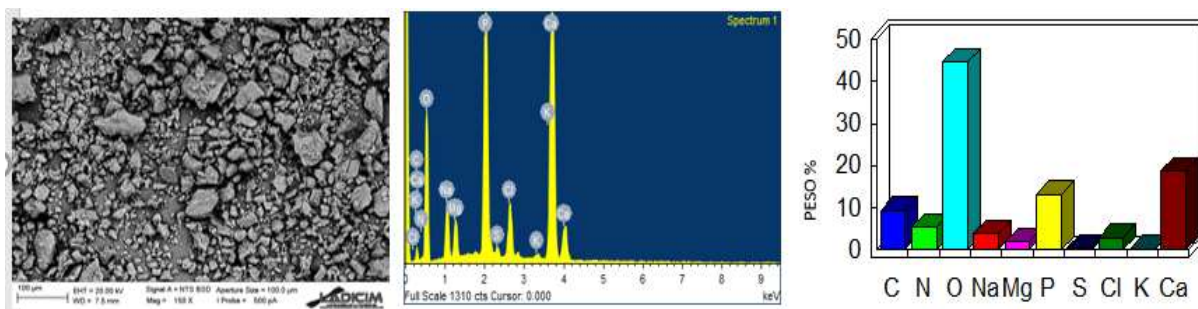


Figura 17. Experimento n1 del Escenario 4

Para calcular el tamaño de partícula se usó la escala de la imagen a la que estaban hechos los aumentos y se hizo manualmente (**Tabla 13**). En el caso de Orina al 25 % no hay formación de cristales. El caso de Orina 100 % GH + Espinas, Orina 100 % GH y Orina al 50 % GH de los experimentos nº 1, aunque llegue a un tamaño considerable, la media representativa en cuanto a cantidad de cristales a ese tamaño se ajustaría más al tamaño mínimo. Sin lugar a duda el mejor escenario se da en el último caso.

Tabla 13. Tamaño de Partícula de algunos casos.

	Orina 100% GH			Orina 25 % GH	Orina 50 % GH	Orina 100% GH + Espinas de Pescado	
Nº EXPERIMENTO	1	3	5	3	3	1	3
TAMAÑO MÍNIMO (µm)	30	50	100	-	15	25	90
TAMAÑO MÁXIMO (µm)	150	150	200	-	145	100	530

FTIR

La primera figura (**Figura 18**) que se muestra es el experimento 5 del escenario 3 (orina 100 % GH). Se ha escogido esta porque se ven claramente los picos de los grupos funcionales. Tal y como se explicó en la metodología experimental, la longitud de onda para cada grupo era: 1500-1700 para los OH; 1430-1475 para los NH; 995-1070 el PO_4^{3-} y entre 400-800 el Oxígeno. A continuación, en la **Figura 19** se mostrarán todos los FTIR de aquellas muestras óptimas o interesantes. Son los experimentos 1,3 y 5 de cada escenario (en ese orden). Como se puede apreciar en todas se han hallado los grupos funcionales que aseguran las formación de estruvita. Aunque haya estruvita no en todas

ellas tiene por qué haber una cantidad alta de estruvita, es decir, puede haberse formado un 1 % de estruvita y el resto ser impurezas u otros compuestos que han precipitado. Pero en el peor de los casos la corriente residual (efluente) se habría limpiado.

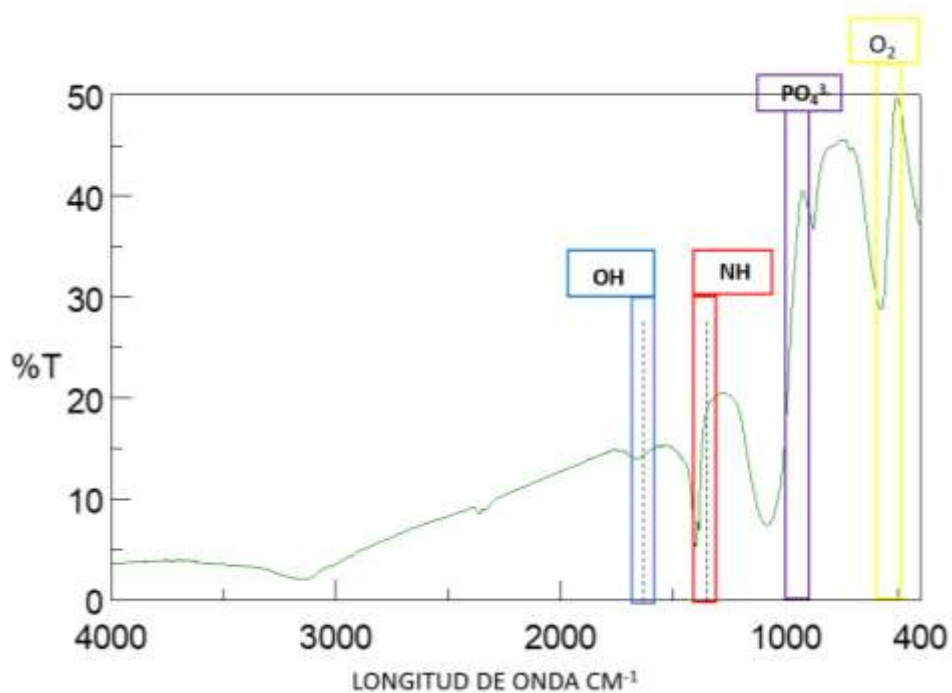


Figura 18. FTIR de Muestra 5 de Orina 100% GH

En el escenario 1, de orina al 25% GH solo se pudo realizar pastillas de KBr para medir el FTIR en el experimento 1 y 3. Esto se debe a que en el resto de los experimentos no precipitó suficiente como para poder realizarlo. A pesar de que la **Figura 19** no sea del todo correcta ya que al principio en todas se produce un ascenso que no debería de estar, para interpretar unos resultados es suficiente con saber que picos pueden corresponder a los grupos funcionales y si los hay.

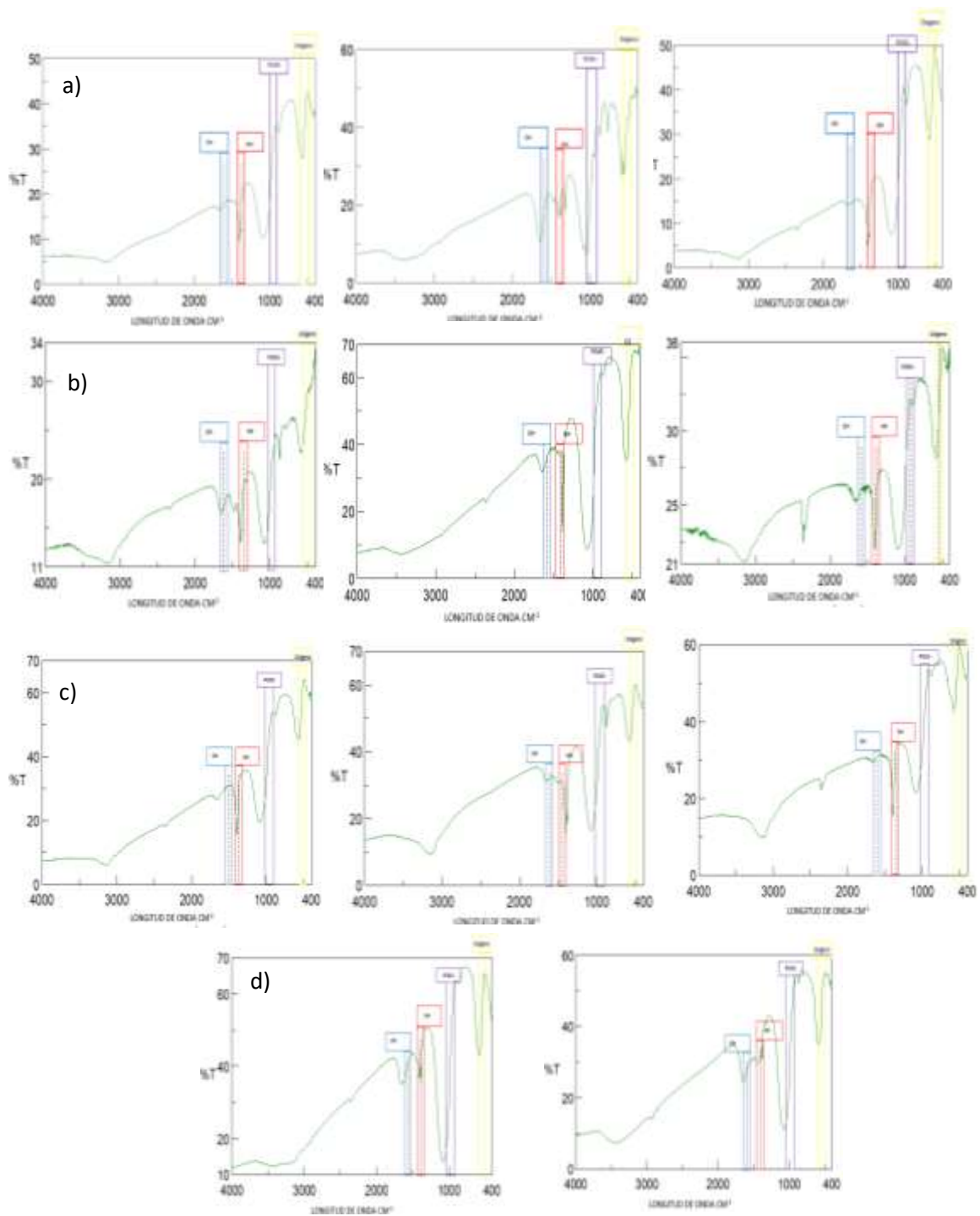


Figura 19. FTIR de las muestras. a) Escenario 3, b) Escenario 4, c) Escenario 2, d) Escenario 1

5. CONCLUSIONES

1) Este trabajo se ha realizado con objeto de investigar la eficacia de la precipitación de estruvita con agua de mar a diferentes pH, ratio Mg:P y grado de ureálisis, como variables de entrada y como variables de salida: recuperación de Fósforo, Nitrógeno amoniacal, Nitrógeno total, cantidad y calidad de precipitado, en base a análisis morfológico y estructural.

2) El grado de ureálisis de la orina, en base a la evolución de, $[\text{PO}_4^{3-}]$, $[\text{NH}_3]$ y pH durante 17 días, se obtuvo un **valor constante de pH al llegar a 9.10**, alcanzando un **máximo de Nitrógeno amoniacal de 6572ppm a los 11 días**. Por lo tanto se puede considerar que el porcentaje de orina que se puede hidrolizar sin necesidad de utilizar aditivos que ayuden a acelerar y mejorar el proceso, es a los 11 días, tomándose este punto como orina ureolizada al máximo o, lo que es lo mismo, **100% de GH**.

3) Se sustituyeron las fuentes comunes y comerciales de Magnesio probadas en estudios previos del grupo de investigación (MgCl_2 , MgO y $\text{Mg}(\text{OH})_2$) por agua de mar. El agua de mar es una fuente renovable y con un contenido en Magnesio alto. Además, no requiere ningún tratamiento especial. También se eligieron espinas de bocarte de una conservera ya que por localización (Cantabria) se tiene una gran cantidad de estas disponibles durante todo el año y un volumen alto. El Fósforo contenido en las espinas es alto y tras el estudio realizado se puede apreciar que es un proceso viable.

4) Se analizaron estadísticamente 4 diseños experimentales correspondientes a los 4 escenarios propuestos (25 % ,50 % ,100 % y 100 % GH + Espinas de Pescado), a través de un diseño factorial de la cantidad de precipitado, Fosforo y Nitrógeno recuperado en función de los parámetros pH y ratio. Finalmente, se concluyó que el mejor escenario es el de **Orina 100 % GH + Espinas de pescado** con **pH 10** y ratio **1.75:1** (esto se observó en los diagramas de superficie) alcanzando una recuperación de Fósforo de casi un 99 % y asegurando la formación de estruvita como precipitado gracias al FTIR.

5) El análisis estadístico mediante los diagramas de Pareto muestra que en la mayoría de los casos el **ratio de Mg:P** era la variable que más afectaba al proceso en cuando a **cantidad de precipitado**, en **cantidad de Fósforo recuperado** la variable que más afectaba al proceso era el **pH** y en el **Nitrógeno recuperado ambas variables** eran

significativas ($p < 0.05$) con un nivel de confianza superior al 95 %. Se hizo un ajuste matemático de las variables respuesta en función de pH y ratio a través de polinomios de orden 1. Los coeficientes de regresión (R^2) de las ecuaciones obtenidas están entre 69,12 % y 97,67 %.

6) El análisis SEM-EDX muestra para comprobar que la estruvita se había formado ya que los componentes que precipitaban en mayor proporción eran **O (55,6 %)**, **N (10,3%)**, **P(9,8 %)** y **Mg (7,4 %)**. En el caso del experimento con ratio 1,75:1 y pH 10 de Orina al 100 % GH + Espinas de Pescado los cristales formados tenían un tamaño mayor ($> 150 \mu\text{m}$). Además, analizando a diferentes aumentos los precipitados, se observó anomalías en aquellas muestras de las que teóricamente no se podía obtener tanta cantidad de precipitado. El análisis FTIR se realizó para asegurar que lo que había precipitado estaba en forma de estruvita. Este análisis se realizó en aquellas muestras que se creían, por los resultados obtenidos, óptimos. En la mayoría de los casos el FTIR muestra claramente aquellos grupos funcionales que aseguran formación de estruvita.

6. REFERENCIAS

APHA (2012) “Standard methods for the examination of water and waste water”, 22nd ed. American Public Health Association, Washington, DC

Chang, Y. *et al.* (2013) ‘Cultivation of *Spirulina platensis* for biomass production and nutrient removal from synthetic human urine’, *Applied Energy*. Elsevier Ltd, 102, pp. 427–431. doi: 10.1016/j.apenergy.2012.07.024.

Cooper, J. *et al.* (2011) ‘The future distribution and production of global phosphate rock reserves’, *Resources, Conservation and Recycling*. Elsevier B.V., 57(January), pp. 78–86. doi: 10.1016/j.resconrec.2011.09.009.

Dai, J. *et al.* (2014) ‘An exploratory study on seawater-catalysed urine phosphorus recovery (SUPR)’.

Darwish, M. *et al.* (2017) ‘Waste bones ash as an alternative source of P for struvite precipitation’, *Journal of Environmental Management*, 203, pp. 861–866. doi: 10.1016/j.jenvman.2016.02.033.

Etter, B. *et al.* (2011) ‘Low-cost struvite production using source-separated urine in Nepal’, *Water Research*. Elsevier Ltd, 45(2), pp. 852–862. doi: 10.1016/j.watres.2010.10.007.

Herald, E. *et al.* (2017) ‘Preparation of struvite from desalination waste’, *Journal of Environmental Chemical Engineering*. Elsevier B.V., 5(2), pp. 1666–1675. doi: 10.1016/j.jece.2017.03.005.

Kataki, S. *et al.* (2016) ‘Phosphorus recovery as struvite: Recent concerns for use of seed, alternative Mg source, nitrogen conservation and fertilizer potential’, *Resources, Conservation and Recycling*. Elsevier B.V., 107, pp. 142–156. doi: 10.1016/j.resconrec.2015.12.009.

Kemacheevakul, P., Polprasert, C. and Shimizu, Y. (2011) ‘Phosphorus recovery from human urine and anaerobically treated wastewater through pH adjustment and chemical precipitation’, *Environmental Technology*, 32(7), pp. 693–698. doi: 10.1080/09593330.2010.510537.

Krähenbühl, M., Etter, B. and Udert, K. M. (2016) 'Pretreated magnesite as a source of low-cost magnesium for producing struvite from urine in Nepal', *Science of the Total Environment*. Elsevier B.V., 542, pp. 1155–1161. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.08.060.

Lapeña, A. (2013) 'Estruvita a Partir De La Orina Y El Agua De Mar'.

Lee, S. I. *et al.* (2003) 'Removal of nitrogen and phosphate from wastewater by addition of bittern', *Chemosphere*, 51(4), pp. 265–271. doi: 10.1016/S0045-6535(02)00807-X.

Liu, B. *et al.* (2013) 'Characterization of induced struvite formation from source-separated urine using seawater and brine as magnesium sources', *Chemosphere*. Elsevier Ltd, 93(11), pp. 2738–2747. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.09.025.

Maurer, M., Pronk, W. and Larsen, T. A. (2006) 'Treatment processes for source-separated urine', *Water Research*, 40(17), pp. 3151–3166. doi: 10.1016/j.watres.2006.07.012.

Merino Jimenez, I., Greenman, J. and Ieropoulos, I. (2017) 'Electricity and catholyte production from ceramic MFCs treating urine', *International Journal of Hydrogen Energy*. Elsevier Ltd, 42(3), pp. 1791–1799. doi: 10.1016/j.ijhydene.2016.09.163.

Nelson, N. O., Mikkelsen, R. L. and Hesterberg, D. L. (2003) 'Struvite precipitation in anaerobic swine lagoon liquid: Effect of pH and Mg:P ratio and determination of rate constant', *Bioresource Technology*, 89(3), pp. 229–236. doi: 10.1016/S0960-8524(03)00076-2.

Pastor, L. (2008) 'Microsoft Word - TESIS_Laura Pastor.doc', pp. 1–295. Available at: papers2://publication/uuid/6B827EFD-E5BB-4CC5-8E14-69F7E86896A1.

Randall, D. G. and Naidoo, V. (2018) 'Urine: The liquid gold of wastewater', *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6(2), pp. 2627–2635. doi: 10.1016/j.jece.2018.04.012.

Ridder, M. De *et al.* (2012) *Risks and Opportunities in the Global Phosphate Rock Market: Robust Strategies in Times of Uncertainty, ... pdf (accessed on 18 October 2013* doi: Report No 17/12/12, ISBN/EAN: 978-94-91040-69-6.

Rivas, L. S. *et al.* (2011) 'Recuperación de fósforo mediante cristalización de estruvita en

efluente de industria de productos congelados marinos', *Tecnología del Agua*, 31(335), pp. 26–35.

Ronteltap, M. (2009) 'Phosphorus recovery from source-separated urine through the precipitation of struvite', (18134), pp. 1–111. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004.

Rubio-Rincón, F. J. *et al.* (2014) 'Seawater for phosphorus recovery from urine', *Desalination*. Elsevier B.V., 348, pp. 49–56. doi: 10.1016/j.desal.2014.06.005.

Sakthivel, S. R., Tilley, E. and Udert, K. M. (2012) 'Wood ash as a magnesium source for phosphorus recovery from source-separated urine', *Science of the Total Environment*. Elsevier B.V., 419, pp. 68–75. doi: 10.1016/j.scitotenv.2011.12.065.

Santos, J. (2016) 'Revisión de potenciales vías de recuperación de recursos de la orina humana.'

Santos, J. (2017) 'Formación de fertilizante basado en estruvita a partir de orina humana separada en origen'.

Steén, I., (2004.) '*Phosphorus recovery in the context of industrial use. In: Phosphorus in Environmental Technologies: Principles and Applications*', ed. E. Valsami Jones, IWA publishing, London, UK, 339-357

Van Vuuren, D. P., Bouwman, A. F. and Beusen, A. H. W. (2010) 'Phosphorus demand for the 1970-2100 period: A scenario analysis of resource depletion', *Global Environmental Change*. Elsevier Ltd, 20(3), pp. 428–439. doi: 10.1016/j.gloenvcha.2010.04.004.

Wilsenach, J. A., Schuurbiers, C. A. H. and van Loosdrecht, M. C. M. (2007) 'Phosphate and potassium recovery from source separated urine through struvite precipitation', *Water Research*, 41(2), pp. 458–466. doi: 10.1016/j.watres.2006.10.014.

Xu, K. *et al.* (2018) 'Recovery of ammonium and phosphate from urine as value-added fertilizer using wood waste biochar loaded with magnesium oxides', *Journal of Cleaner Production*. Elsevier Ltd, 187, pp. 205–214. doi: 10.1016/j.jclepro.2018.03.206.