



**Efecto de los tratamientos ultrasonido, térmico a
baja temperatura y alcalino sobre la
deshidratabilidad y biodegradabilidad de lodos
secundarios de depuradora**

Autor: Maria Ruiz Hernando

Institución: Universidad de Barcelona

Otros autores: Jordi Labanda Angulo (Universidad de Barcelona); Joan Llorens Llacuna (Universidad de Barcelona)

Resumen

La generación de lodos es un asunto de gestión medioambiental destacable dentro de la Unión Europea, donde se estima que se superarán los 13 millones de toneladas (lodo seco) anuales en el año 2020. De este modo, el desarrollo de procesos para la reducción o reutilización de los lodos resulta determinante para una apropiada gestión medioambiental. Tratando por separado el lodo secundario del primario (y no la mezcla como suele hacerse) se favorece el uso del lodo secundario en agricultura, ya que el lodo secundario contiene el doble de nutrientes y menor carga contaminante que el lodo primario. No obstante, en comparación con el lodo primario, el lodo secundario cuesta más de deshidratar debido principalmente a la presencia de las sustancias poliméricas extracelulares (EPSs, por sus siglas en inglés), las cuales atrapan fuertemente el agua. Este comportamiento atribuye al lodo una elevada viscosidad. El lodo secundario es también más difícil de digerir anaeróbicamente debido a las cadenas de glicanos presentes en las paredes celulares de las bacterias. Por lo tanto, para poder deshidratar y digerir un lodo secundario será necesario acondicionarlo previamente, con el fin de solubilizar las EPSs y aumentar su biodegradabilidad.

El presente estudio tiene por objeto modificar la estructura interna de un lodo secundario mediante tratamientos para conseguir un lodo más manejable, es decir, un lodo con menos viscosidad, más concentrado y más biodegradable. Para ello se ha estudiado el efecto de tres tratamientos (ultrasonido, térmico a baja temperatura y alcalino con NaOH) sobre la reología, la deshidratabilidad, el potencial de biometanización y la higienización de lodos secundarios. Los tres tratamientos redujeron considerablemente la viscosidad del lodo debido a la solubilización de las EPSs. Así mismo, la solubilización de las EPSs facilitó la expulsión del agua confinada dentro de los flóculos del lodo, mejorando la deshidratación mediante centrifugación. El tratamiento alcalino con dosis de NaOH elevadas fue el que más EPSs solubilizó, de manera que fue el que permitió extraer más agua y el que más aumentó la producción de metano, además de higienizar el lodo. No obstante, este tratamiento tiene el inconveniente de incrementar la concentración de sodio en el digestor, lo cual podría llegar a inhibir el proceso de digestión. Los ultrasonidos fueron los que más redujeron la viscosidad, además de mejorar la deshidratación y la digestión del lodo. Sin embargo, este tratamiento no fue capaz de higienizar el lodo. El tratamiento térmico a baja temperatura aumentó ligeramente la producción de metano y permitió deshidratar e higienizar el lodo satisfactoriamente.

Palabras clave: lodo activado; tratamiento ultrasonido; tratamiento térmico; tratamiento alcalino; deshidratación; biodegradabilidad; reología

Nomenclatura

AGV	Ácidos grasos volátiles
CST	Tiempo de succión capilar
DQOt	Demanda química de oxígeno total
DQOs	Demanda química de oxígeno soluble
EPSs	Sustancias poliméricas extracelulares
LB-EPSs	EPSs débilmente unidas a la superficie de la célula
TB-EPSs	EPSs fuertemente unidas a la superficie de la célula
GPC	Cromatografía de permeación en gel
SD	Grado de solubilización
SSRC	Esporas de clostridios sulfito-reductores
SOMCPH	Colifagos somáticos
ST	Sólido total
SV	Sólido volátil

1. INTRODUCCIÓN

El tratamiento biológico mediante lodos activados es el proceso más utilizado para depurar la materia orgánica presente en el agua residual. Durante dicho proceso, la contaminación del agua residual pasa al lodo, el cual deberá ser posteriormente tratado y evacuado. De este modo, a pesar de su eficacia, el tratamiento biológico tiene el inconveniente de generar grandes cantidades de lodo. A raíz de la implantación de la Directiva 91/271/CEE (CEC, 1991), la cual establece el nivel de tratamiento que requiere el agua antes de ser descargada al medio ambiente, la producción de lodos aumentó notablemente. Por ejemplo, dicha directiva establece que el tratamiento biológico es obligatorio para aglomeraciones de más de 2000 habitantes equivalentes (HE) que descargan en aguas dulces o estuarios, y también para aglomeraciones de más de 10000 HE que descargan en aguas costeras. Las estimaciones apuntan que la producción anual de lodos en el conjunto de la unión europea será alrededor de 13 millones de toneladas (lodo seco) en el año 2020, lo cual representa un incremento del 30% respecto a la producción anual de 2005 (Milieu Ltd., WRc and RPA, 2010). En consecuencia, el desarrollo de procesos para la reducción y/o reutilización de los lodos resulta determinante para una apropiada gestión medioambiental.

El lodo secundario (también denominado lodo activado o biológico) contiene el doble de nutrientes y menor carga contaminante que el lodo primario. Por tanto, si se trata por separado el lodo secundario del primario (y no la mezcla como suele hacerse) se favorece el uso del lodo secundario en agricultura. No obstante, las características de ambos lodos son muy distintas, de manera que el tratamiento exclusivo de lodo secundario requiere ciertas atenciones. Tanto el lodo primario como el secundario se caracterizan por su elevado contenido en agua, el cual representa más del 95% del volumen del lodo (Colin and Gazbar, 1995). Por lo tanto, es fundamental deshidratar el lodo para reducir su volumen. A diferencia del lodo primario, el lodo secundario cuesta más de deshidratar debido principalmente a la presencia de las sustancias poliméricas extracelulares (EPSs, por sus siglas en inglés), las cuales atrapan fuertemente el agua. Este comportamiento atribuye al lodo una elevada viscosidad (Neyens and Baeyens, 2003). Las EPSs se componen mayoritariamente de proteínas, polisacáridos y sustancias húmicas (Frølund et al., 1996) y son el principal componente de la matriz de los flóculos del lodo (Li and Ganzarczyk, 1990). Dicha matriz suele representarse mediante una

estructura dinámica de EPSs dispuesta en doble capa: la capa interna está constituida por las EPSs fuertemente unidas a la superficie de la célula (TB-EPSs) y la capa externa por las EPSs débilmente unidas (LB-EPSs) (Li and Yang, 2007). Por otro lado, el lodo secundario es también más difícil de digerir anaeróbicamente debido a las cadenas de glicanos presentes en las paredes celulares de las bacterias. De este modo, para poder deshidratar y digerir un lodo secundario será necesario acondicionarlo previamente con el fin de (1) solubilizar las EPSs, favoreciendo así la liberación del agua retenida en la matriz de los flóculos del lodo, y (2) liberar la materia orgánica confinada en el interior de los flocos y microorganismos, aumentando así su biodegradabilidad.

Existen diversos métodos para hidrolizar el lodo, como por ejemplo el tratamiento por ultrasonido, térmico o alcalino. El tratamiento por ultrasonido hidroliza el lodo mediante la generación de burbujas de cavitación, las cuales crecen hasta un tamaño crítico y luego colapsan violentamente. El colapso cavitacional produce una poderosa fuerza hidromecánica de cizalla en la masa del líquido (en este caso el lodo) que rodea las burbujas y unos focos locales de intenso calor y de altas presiones (Bougrier et al., 2006) que dan lugar a la generación de radicales hidroxilos muy reactivos. De este modo, la desintegración del lodo por ultrasonido es debido a la combinación de las fuerzas hidromecánicas de cizalla y a los efectos sonoquímicos. El tratamiento térmico se realiza generalmente a temperaturas comprendidas entre 60 y 180 °C, ya que por encima de los 180 °C la biodegradabilidad del lodo disminuye debido a la formación de compuestos refractarios (Wilson and Novak, 2009). Los tratamientos térmicos realizados a temperaturas inferiores o igual a 100 °C se consideran tratamientos térmicos a baja temperatura. Estos tratamientos suponen un menor coste energético, pero requieren de un mayor tiempo de contacto que los realizados a temperaturas más elevadas. Además de solubilizar y mejorar la biodegradabilidad del lodo, el tratamiento térmico tiene la ventaja de higienizarlo. El tratamiento alcalino se basa en añadir un agente alcalino (por ejemplo, NaOH) al lodo durante un tiempo determinado. Durante ese tiempo, el reactivo en cuestión reacciona con las paredes celulares, lo cual provoca la ruptura de las células microbianas (Neyens et al., 2003). Así, este tratamiento también puede higienizar el lodo.

La higienización de lodos se mide mediante microorganismos indicadores. No obstante, los indicadores convencionales (como por ejemplo las bacterias fecales) tienen el inconveniente de ser poco resistentes y poco duraderos, por lo que no son representativos de los patógenos reales del lodo. Por poner un ejemplo; podría darse el caso que un lodo no mostrase presencia de *E. coli* (por lo que aparentemente estaría higienizado) y sin embargo tuviese una gran cantidad de formas resistentes de protozoos. Por este motivo, es interesante utilizar microorganismos indicadores que representen a aquellos patógenos más resistentes. Las esporas de clostridios sulfito-reductores (SSRC, por sus siglas en inglés) se han propuesto como alternativa a los ooquistes de protozoarios (Payment and Franco, 1993), mientras que los bacteriófagos de bacterias entéricas (como los colifagos somáticos; SOMCPH) se han propuesto como alternativa a los virus presentes en el agua (IAWPRC, 1991).

Por último, cabe señalar que entender el comportamiento reológico de los lodos es esencial para poder controlar los procesos de tratamiento. Como ya se ha comentado, los lodos presentan una elevada viscosidad, lo cual dificulta su manejo y representa elevados costes de bombeo. Debido a que los tratamientos antes mencionados modifican las características de los lodos, incluyendo la estructura, el tamaño de los flóculos y su composición, es evidente que inciden directamente sobre el perfil reológico de los lodos.

Los lodos se consideran fluidos no-newtonianos pseudoplásticos (Seyssiecq et al., 2007), lo cual indica que su viscosidad se reduce al incrementar el gradiente de velocidad. El modelo de Ostwald–de Waele es uno de los más utilizados para representar el comportamiento no-newtoniano de los lodos (Ratkovich et al., 2013). También existen otros modelos, como por ejemplo el modelo de Herschel-Bulkley o el de Bingham. A diferencia del modelo de Ostwald, estos modelos se caracterizan por la presencia del límite de fluencia (*yield stress*, en inglés), por debajo del cual la muestra que se está analizando no fluye. No obstante, encontrar el valor del límite de fluencia real es realmente complicado, ya que su determinación no es unívoca y puede variar según el modelo utilizado (Labanda et al., 2007).

2. OBJETO

El presente estudio tiene por objeto modificar la estructura interna de un lodo activado mediante tratamientos con el fin de conseguir un lodo más manejable, es decir, un lodo con menos viscosidad, más concentrado y más biodegradable. Para ello se ha estudiado el efecto de tres tratamientos (ultrasonido, térmico a baja temperatura y alcalino con NaOH) sobre la reología (disminución de la viscosidad), la deshidratabilidad (mejora de la deshidratación mediante centrifugación), el potencial de biometanización y la higienización (disminución de los niveles de microorganismos indicadores) de lodos secundarios.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Muestras de lodo

Las muestras de lodo activado e inóculo (lodo digerido) utilizadas en el presente estudio proceden de una depuradora municipal de la provincia de Barcelona. En la depuradora, el lodo activado se espesó mediante centrifugación. Una vez en el laboratorio, las muestras de lodo se guardaron en la nevera a 4 °C para minimizar el efecto de la actividad bacteriana.

3.2. Tratamientos realizados

Los tratamientos realizados fueron el ultrasonido, el térmico a baja temperatura y el alcalino con NaOH. El dispositivo de ultrasonido utilizado fue el HD2070 ultrasonic homogenizer (Sonopuls Bandelin), el cual opera a una frecuencia de 20 kHz y tiene una potencia máxima de 70 W. Para realizar el tratamiento se fijó una potencia determinada y se ultrasonizó siempre el mismo volumen de lodo a diferentes tiempos de tratamiento. El nivel de tratamiento se midió en términos de energía específica (E_s):

$$E_s = \frac{P \cdot t}{m \cdot ST} \quad (1)$$

donde P es la potencia, t es el tiempo de ultrasonificación, m es la masa de lodo y ST el contenido de sólidos totales de la muestra de lodo. Las E_s estudiadas en el presente trabajo fueron 5000, 11000 y 27000 kJ/kg ST. Durante la ultrasonificación, la muestra se refrigeró con hielo para evitar el incremento de temperatura debido al tratamiento.

Para el tratamiento térmico se realizaron dos ensayos diferentes. El tratamiento térmico para el estudio de la reología y deshidratabilidad del fango se realizó en un reactor (Autoclave Engineers) muy bien cerrado para evitar pérdidas de agua por evaporación. Las temperaturas estudiadas fueron 60, 80 y 90 °C. El tratamiento se aplicó durante 1h y consistió en 30 minutos de calentamiento hasta la temperatura deseada más 30 minutos de mantenimiento de dicha temperatura. Durante este tiempo, el lodo fue sometido a agitación para garantizar la homogeneidad del tratamiento. El tratamiento para el estudio de la higienización y el potencial de biometanización se llevó a cabo en un baño termostático (Huber Polystat CC2) a 80 °C. El tratamiento se aplicó durante 15 minutos y consistió en 10 minutos de calentamiento hasta la temperatura deseada más 5 minutos de mantenimiento de dicha temperatura.

El tratamiento alcalino consistió en añadir NaOH al lodo y pasadas 24 horas neutralizar con HCl en un rango de pH de 6.5-7.5. Las concentraciones de NaOH fueron 35.3, 70.6 y 157 g NaOH/kg ST. Los valores de pH de estas concentraciones justo después de añadir el NaOH fueron 9.9 ± 0.9 , 11.2 ± 0.6 y 12.5 ± 0.2 , y pasadas 24 horas (antes de la neutralización) fueron 6.9 ± 0.2 , 9.1 ± 0.7 y 12.3 ± 0.2 , respectivamente.

3.3. Estudio reológico

El reómetro utilizado fue un reómetro de control de esfuerzo (Haake RS300). La geometría utilizada fue un cono de 4° y una placa estacionaria de 35 mm.

La muestra de lodo se sometió a un gradiente de velocidad fijo durante 15 minutos, tiempo suficiente para alcanzar el equilibrio. Los gradientes aplicados fueron 5, 30, 125 y 300 s^{-1} . La evolución de la viscosidad con el tiempo se ajustó siguiendo una ecuación de primer orden, lo que permitió determinar la viscosidad en estado estacionario. Finalmente, las viscosidades en estado estacionario se ajustaron mediante el modelo de Ostwald-de Waele:

$$\eta_e = K \dot{\gamma}^{n-1} \quad (2)$$

donde η_e es la viscosidad en estado estacionario, $\dot{\gamma}$ es el gradiente de velocidad (s^{-1}), K es el índice de consistencia ($Pa \cdot s^n$) y n es el índice de comportamiento al flujo (-).

3.4. Valoración de la deshidratabilidad mediante centrifugación

Los tubos de la centrífuga se llenaron con aproximadamente 12 g de lodo (se anotó el peso exacto) y posteriormente se centrifugaron a 2500 g durante 15 minutos. Tras la centrifugación se extrajo el sobrenadante generado y se volvieron a pesar los tubos de la centrífuga. La diferencia entre el peso inicial y el peso obtenido tras extraer el sobrenadante corresponde al agua extraída del lodo mediante centrifugación. El agua extraída se expresó como porcentaje:

$$\%_{\text{Agua extraída}} = \frac{W_{\text{inicial}} - W_{\text{después extraer el sobrenadante}}}{W_{\text{inicial}}} \cdot 100 \quad (3)$$

3.5. Extracción y caracterización de las EPSs

3.5.1. Protocolo de extracción de las EPSs

La muestra de lodo se centrifugó a 2000 g durante 10 min. El sobrenadante se descartó, mientras que el lodo sedimentado restante se enrasó hasta alcanzar el volumen inicial utilizando una solución tampón (pH 7) compuesta de Na_3PO_4 , NaH_2PO_4 , NaCl , y KCl en proporciones molares de 2:4:9:1 (Frølund et al., 1995). La conductividad de la solución tampón se ajustó a la conductividad de las muestras de lodo activado. La suspensión (lodo + solución tampón) se centrifugó a 5000 g durante 15 min y seguidamente se recogió el sobrenadante, la materia orgánica soluble del cual fue la fracción LB-EPS. Este paso se repitió una vez más para conseguir un mayor lavado de LB-EPSs del lodo. A continuación, el lodo sedimentado se enrasó de nuevo hasta alcanzar el volumen inicial utilizando la ya mencionada solución tampón y se sometió a ultrasonificación (HD2070 ultrasonic homogeniser, Sonopuls Bandelin) durante 10 min. Finalmente, la suspensión se centrifugó a 20000 g durante 20 min y seguidamente se recogió el sobrenadante, la materia orgánica soluble del cual fue la fracción TB-EPS. Ambas fracciones de EPS se filtraron mediante un filtro de 0,45 mm de baja retención de proteína (PVDF). En resumen, al final del proceso de extracción se obtuvieron 8 fracciones de EPSs: 2 fracciones (LB-EPS y TB-EPSs) x 4 lodos (1 no tratado + 3 tratados). El protocolo de extracción se realizó por triplicado.

3.5.2. Caracterización de las EPSs

Las EPSs se caracterizaron en base al contenido de proteína y polisacárido, los cuales se midieron mediante espectrofotometría (Perkin Elmer UV/VIS Lambda 20 spectrophotometer). El protocolo utilizado para cuantificar los polisacáridos fue el de la antrona, utilizando glucosa como estándar (Frølund et al., 1996). Las proteínas se midieron mediante el protocolo de Lowry, utilizando albúmina de suero bovino (BSA) como estándar (Lowry et al., 1951). Estos análisis se realizaron por triplicado para cada extracción.

3.5.3. Distribución de los pesos moleculares de las proteínas

La distribución de pesos moleculares de las proteínas en las EPSs se llevó a cabo mediante cromatografía de permeación en gel (GPC, por sus siglas en inglés). Se utilizó un cromatógrafo (Waters Alliance 2695) equipado con dos columnas en serie (Ultrahydrogel 500, 10 μm , 7.8 x 300 mm y Ultrahydrogel 250, 6 μm , 7.8 x 300 mm). La fase móvil consistió en una solución tampón de fosfato 50 mM que contenía 0,9% de NaCl . Las proteínas se midieron a 280 nm (detector Waters 2996 photo diode array). La calibración de los pesos moleculares se realizó utilizando 5 estándares de proteínas: beta-amilasa: 200000 Da; albúmina de suero bovino: 66000 Da; anhidrasa carbónica: 29000 Da; citocromo c: 12400 Da; y el aminoácido 3,4-dihydroxy-DL-fenilalanina: 197 Da.

3.6. Valoración de la higienización

3.6.1. Recuento de *E. coli* y SSRC

Se mezclaron 5-10 g de lodo con PBS (pH 7.2) en proporciones 1:10 (m/v). La solución se homogeneizó mediante agitación (900 osc/min durante 30 min) y finalmente se centrifugó (300 g durante 3 min, 4 °C). El sobrenadante obtenido tras la centrifugación se utilizó para hacer el recuento de *E. coli* y SSRC. Los análisis se realizaron por duplicado y se hicieron varias diluciones.

El recuento de *E. coli* se realizó mediante la siembra en placa en agar Chromocult (Merck, Germany) complementado con un suplemento selectivo para *E. coli*/coliformes. Las placas se incubaron toda la noche a 44 °C y pasado este tiempo se contaron las colonias de color azul oscuro y violeta, las cuales corresponden a la *E. coli*.

Para el recuento de las SSRC fue necesario someter las muestras a un choque térmico de 80 °C durante 10 min. Posteriormente las muestras se sembraron anaeróticamente por inoculación en masa en un medio de agar selectivo (*Clostridium perfringens*) y se incubaron toda la noche a 44 °C. Pasado este tiempo se contaron las esferas de color negro, las cuales corresponden a las SSRC.

3.6.2. Recuento de SOMCPH

Se mezclaron 5-10 g de lodo con una solución (pH 7.2) que contenía un 10% de extracto de carne (Becton Dickinson, France) en proporciones 1:10 (m/v). La solución se homogeneizó mediante agitación (900 osc/min durante 30 min) y finalmente se centrifugó (4000 g durante 30 min, 4 °C). El sobrenadante se filtró por 0,22 µm y se utilizó para analizar los SOMCPH siguiendo la norma ISO 10705-2 (Anonymous, 2000).

3.7. Potencial de biometanización

El potencial de biometanización se midió en condiciones mesófilas siguiendo el procedimiento descrito por Angelidaki et al. (2009). Los ensayos de biometanización se realizaron por triplicado en botellas de 115 mL cerradas con un septum de PTFE/butilo. Las botellas se llenaron con inóculo (lodo digerido) y lodo activado en proporción de ratio 2 en base al contenido de sólidos volátiles (SV) de las muestras. Antes de sellar las botellas se rociaron con nitrógeno gas durante un minuto (3 L/min). Finalmente, las botellas se colocaron en un baño a 37 ± 1 °C. Las botellas se mezclaron manualmente dos veces al día. La producción de biogás se midió mediante un vacuómetro modelo Ebro - VAM 320 (previamente se había descargado la sobrepresión). El contenido de metano del biogás generado se analizó utilizando un cromatógrafo (Shimadzu GC-2010+ gas chromatograph) equipado con una columna capilar (Carboxen®-1010 PLOT) y un detector de conductividad térmica.

3.8. Otras técnicas analíticas

Los ST y los SV se cuantificaron mediante el método normalizado 2540 G (APHA, 2005). Para dar el valor final de los ST y SV se tuvo en cuenta las pérdidas de ácidos grasos volátiles (AGV) durante la determinación de los sólidos.

La demanda química de oxígeno total (DQOt) y la demanda química de oxígeno soluble (DQOs) se cuantificaron mediante el método normalizado 5220 D (APHA, 2005). La DQOt se midió directamente sobre las muestras de lodo y la DQOs se midió sobre el sobrenadante obtenido tras centrifugar las muestras a 1252 g durante 10 minutos. Antes de realizar la medición de la DQOs, el sobrenadante se filtró por un filtro de 0,45 mm de celulosa regenerada (CHM[®] SRC045025Q).

El pH se midió utilizando una sonda de pH Crison 5014T.

Los AGV individuales (acetato, propionato, butirato y valerato) se analizaron mediante un cromatógrafo (HP 5890-Series II) equipado con una columna capilar (Nukol[™]) y un detector de ionización de llama (Astals et al., 2012).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Efecto de los tratamiento sobre la viscosidad

Tanto el lodo no tratado como los lodos tratados mostraron comportamiento pseudoplástico; es decir, su viscosidad disminuyó potencialmente al aumentar el gradiente de velocidad. La Fig. 1 muestra este comportamiento para el lodo no tratado y para una condición de cada tratamiento. Como puede observarse, los resultados experimentales se ajustan muy bien al modelo de Ostwald-de Waele (Ecuación 2). La Tabla 1 muestra los parámetros obtenidos del ajuste del modelo de Ostwald-de Waele; el índice de consistencia, K , y el índice de comportamiento al flujo, n . El índice de consistencia es una medida de la firmeza media de la muestra; así, cuanto mayor es el valor de K , mayor es la viscosidad. El índice de comportamiento al flujo está ligado a la dependencia de la viscosidad con el gradiente; así, $n < 1$ en fluidos pseudoplásticos, $n = 1$ en fluidos newtonianos y $n > 1$ en fluidos dilatantes. Al aumentar la intensidad de los tratamientos el índice de consistencia disminuyó mientras que el índice de comportamiento aumentó (aunque siempre quedó por debajo de la unidad), lo cual indica que los lodos perdieron parte de su pseudoplasticidad y se volvieron menos viscosos con los tratamientos.

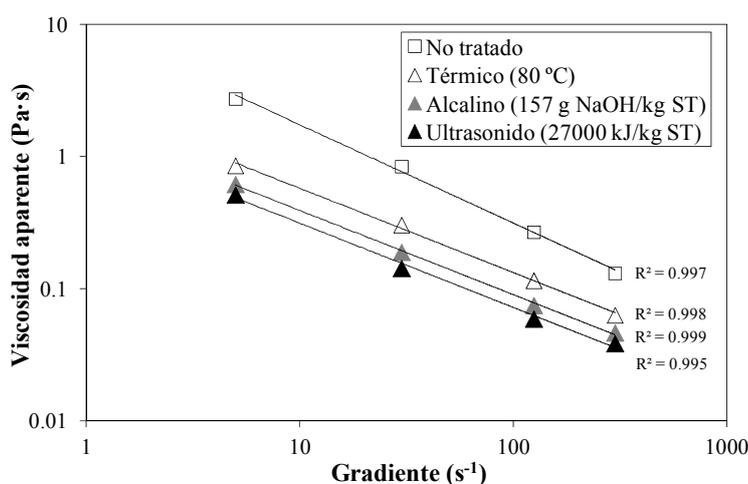


Fig. 1. Viscosidad en estado estacionario en función del gradiente de velocidad. Las líneas continuas corresponden al ajuste del modelo de Ostwald-de Waele.

Tabla 1. Parámetros reológicos obtenidos del ajuste del modelo de Ostwald-de Waele.

	K (Pa sⁿ)	n (-)	R²[¹] (-)
Lodo sin tratar	9.67	0.256	0.9971
Ultrasonido (kJ/kg ST)			
5000	4.56	0.261	0.9983
11000	2.67	0.311	0.9985
27000	1.36	0.392	0.9954
Térmico (°C)			
60	2.83	0.337	0.9998
80	2.50	0.362	0.9981
90	2.15	0.371	0.9904
Alcalino (g NaOH/kg ST)			
35.3	7.38	0.222	0.9996
70.6	4.84	0.257	0.9975
157	1.70	0.363	0.9990

[¹] Coeficientes de correlación para los parámetros de Ostwald-de Waele.

La Fig. 2 muestra la viscosidad en estado estacionario correspondiente a un gradiente de 125 s^{-1} para el lodo sin tratar y los lodos tratados. La viscosidad se redujo tras los tratamientos, especialmente después del ultrasonido; la viscosidad se redujo casi un 80% con respecto al lodo sin tratar al aplicar una E_s de 27000 kJ/kg ST. Esta disminución de la viscosidad se asocia a la disminución del tamaño de partícula. En un trabajo anterior, se observó que el tratamiento por ultrasonidos a una E_s de 27000 kJ/kg ST mostró la mayor reducción del tamaño de partícula (Ruiz-Hernando et al., 2014a), lo cual se traduce en una mayor disgregación de los flóculos del lodo (debilitando así las fuerzas de unión entre los flóculos) y, por lo tanto, en la reducción de la viscosidad (Pham et al., 2009). Por el contrario, las concentraciones más bajas del tratamiento alcalino fueron las que menos redujeron la viscosidad. En cuanto al tratamiento térmico, la reducción fue similar para las tres temperaturas analizadas. El tratamiento térmico a 80 °C y el alcalino a elevada concentración (157 g NaOH/kg ST) también redujeron el tamaño de partícula, pero en menor medida que el ultrasonido (Ruiz-Hernando et al., 2014a).

En resumen, los tratamientos permitieron reducir la viscosidad del lodo, facilitando el bombeo y los tratamientos posteriores. Por ejemplo, la reducción de la viscosidad permite doblar la carga de materia seca (aproximadamente un 8-12% ST) en el digester anaerobio, manteniendo el proceso de digestión estable (www.cambi.com). Además, un lodo con baja viscosidad será más fácil de mezclar, lo cual supondrá un menor consumo de energía de agitación durante la digestión.

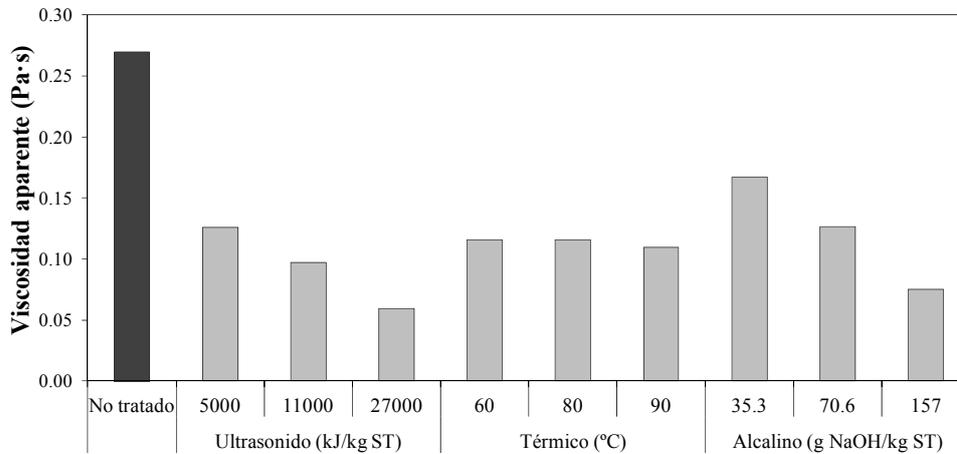


Fig. 2. Viscosidad en estado estacionario a un gradiente de 125 s^{-1} .

4.2. Efecto de los tratamientos sobre la deshidratación

4.2.1. Valoración de la deshidratación mediante centrifugación

Como ya se ha comentado en la introducción, los lodos presentan un elevado contenido en agua (más del 95% del volumen del lodo es agua), por lo que es fundamental deshidratar el lodo para reducir su volumen. La Fig. 3 muestra la cantidad de agua que fue posible extraer del lodo sin tratar y de los lodos tratados tras centrifugarlos a 2500 g durante 15 minutos. Al comparar la cantidad de agua extraída de los lodos tratados con respecto al lodo sin tratar pueden identificarse aquellas condiciones de tratamiento que mejoran o empeoran la deshidratación. Así, las tres condiciones del tratamiento térmico mejoraron la deshidratación, especialmente las temperaturas más altas (80 y 90 °C). En cambio, sólo las condiciones más intensas del tratamiento por ultrasonidos (27000 kJ/kg ST) y del alcalino (157 g NaOH/kg ST) permitieron mejorar la deshidratación.

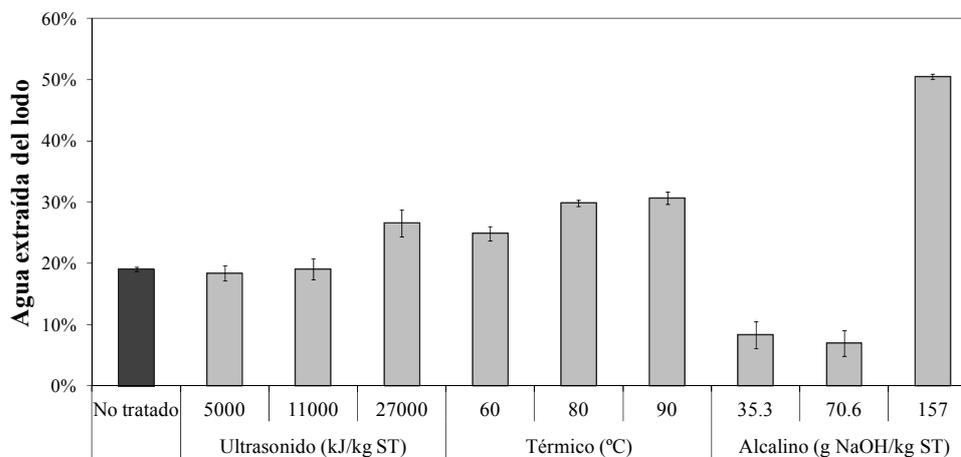


Fig. 3. Agua extraída mediante centrifugación a 2500 g durante 15 minutos.

El caso del ultrasonido llama la atención, ya que numerosos estudios mantienen que los ultrasonidos empeoran la deshidratación debido al incremento del tiempo de succión capilar (CST, por sus siglas en inglés) (Chu et al., 2001; Feng et al., 2009). Sin embargo, diversos investigadores han criticado el uso del CST para valorar la deshidratación, ya que este ensayo está muy condicionado por el contenido de sólidos de la muestra y por la estructura del papel del filtro (La Heij, 1994; Herwijn, 1996). En particular, el resultado del CST depende en gran medida de la viscosidad, de la tensión superficial y del ángulo de contacto del agua que fluye a través de los capilares del papel del filtro. Estas variables son fácilmente alteradas por los tratamientos debido a la solubilización de la materia orgánica confinada en los flocúlos del lodo y microorganismos.

Los resultados obtenidos para el tratamiento alcalino son consistentes con los resultados de Li et al. (2008), quienes concluyeron que las concentraciones de NaOH por debajo de 0.2 mol/L empeoran la deshidratación del lodo. Las concentraciones correspondientes a 35.3 y 70.6 g NaOH/kg ST equivalen a 0.05 y 0.10 mol/L (por debajo del límite establecido por Li et al. (2008)), respectivamente, así que no es sorprendente que empeoraran la deshidratación. También se observó que el tratamiento alcalino es únicamente efectivo si, tras las 24 horas de tratamiento, el lodo se neutraliza a un pH próximo al neutro. De lo contrario, aún utilizando una dosis superior a 0.2 mol/L, no es posible extraer agua del lodo.

Con el fin de evaluar con más detalle el efecto de los tratamientos sobre la deshidratación, se llevó a cabo la extracción y posterior caracterización de las EPSs. Las EPSs son componentes integrales de la matriz de los flocúlos del lodo y se caracterizan por retener fuertemente el agua. Por este motivo, la presencia de las EPSs constituye una de las principales razones de la mala deshidratación de los lodos activados. Los análisis de las EPSs se realizaron sobre el lodo sin tratar y sobre una única condición de cada tratamiento. La condición óptima de cada tratamiento se seleccionó en base a criterios reológicos y de deshidratación. Así, la E_s seleccionada para el tratamiento por ultrasonidos fue 27000 kJ/kg ST, ya que fue la que más redujo la viscosidad y la única que permitió extraer agua del lodo. Para el tratamiento térmico se seleccionó la temperatura de 80 °C, ya que tanto la reducción de la viscosidad como la cantidad de agua extraída por centrifugación fue muy similar a la temperatura de 90 °C, y obviamente el coste energético es menor. Para el tratamiento alcalino se seleccionó la concentración de 157 g NaOH/kg ST, ya que fue la única que permitió extraer agua del lodo.

4.2.2. Caracterización de las EPSs

La Fig. 4 muestra el contenido en proteína y polisacárido de las fracciones LB-EPS y TB-EPS. Como puede verse, ambos parámetros siguen un patrón similar. El análisis del lodo sin tratar reveló que las proteínas son el principal constituyente de las EPSs. Estas proteínas se encontraron principalmente en la fracción TB-EPS (92% en peso) y apenas en la fracción LB-EPS (8%), lo cual es consistente con los resultados encontrados en la bibliografía (Li and Yang, 2007; Yu et al., 2009). El predominio de las proteínas en las EPSs podría atribuirse a la presencia de una gran cantidad de exoenzimas. Los polisacáridos representaron una pequeña porción de las EPSs debido a que son muy biodegradables.

En comparación con el lodo sin tratar, los lodos tratados mostraron un aumento importante de EPSs en la fracción LB-EPSs. Por lo tanto, los tratamientos solubilizaron

las EPSs, como se indica por el aumento del contenido en LB-EPSs. El tratamiento alcalino fue el que más EPSs solubilizó (muestra el mayor contenido en LB-EPSs), seguido del térmico y finalmente del ultrasonido (Fig. 4). Como se ha explicado en la introducción, las EPSs atrapan fuertemente el agua del lodo, así que es concebible que tras su solubilización se libere parte del agua intersticial retenida. De hecho, se observó una relación directa entre el agua extraída mediante centrifugación y la solubilización de las EPSs. Así, el tratamiento alcalino fue el que más agua permitió extraer (Fig. 3) debido a que fue el que más EPSs solubilizó. Por el contrario, la fracción TB-EPS se redujo ligeramente con los tratamientos ultrasonido y alcalino, y notablemente con el tratamiento térmico. Concretamente, el tratamiento térmico redujo el contenido de proteínas de la fracción TB-EPS aproximadamente un 80% en comparación con el lodo sin tratar.

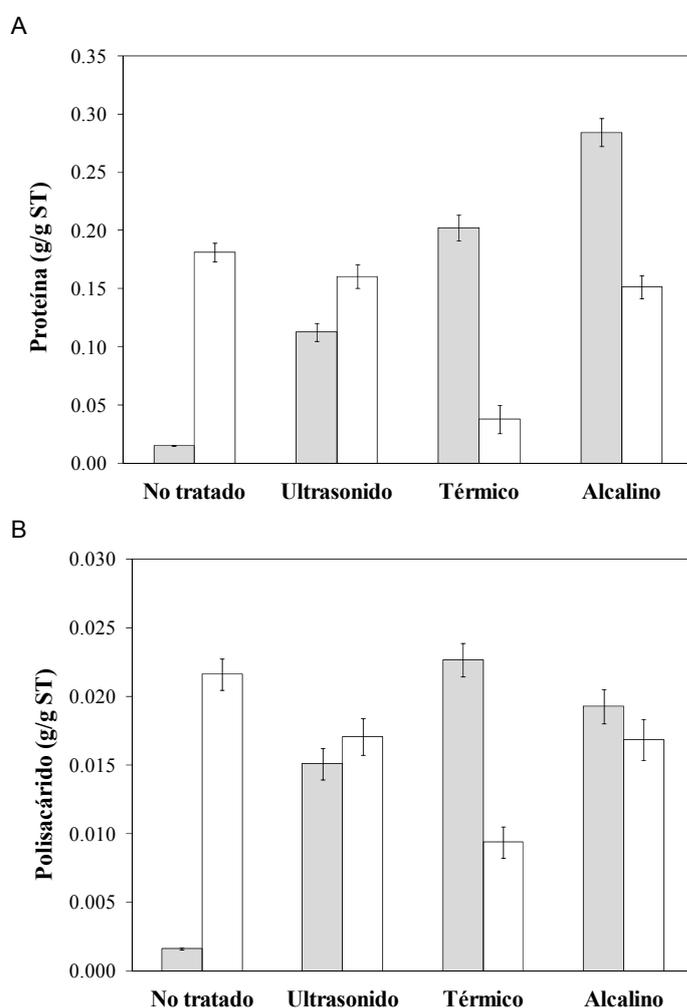


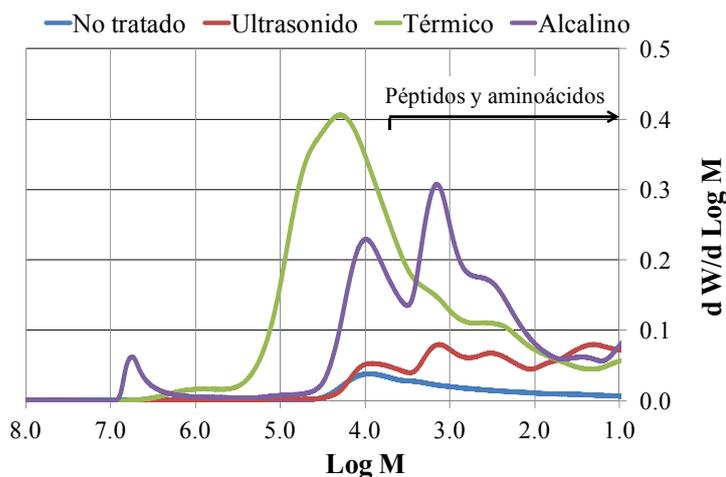
Fig. 4. Caracterización bioquímica de las EPSs: (A) Concentración de proteína y (B) Concentración de polisacárido. Tratamiento por ultrasonidos: 27000 kJ/kg ST; Tratamiento térmico: 80 °C (1h); Tratamiento alcalino: 157 g NaOH/kg ST.

4.2.3. Distribución de pesos moleculares

Las Fig. 5a y Fig. 5b muestran la distribución de pesos moleculares de las proteínas en las fracciones LB-EPS y TB-EPS, respectivamente. La distribución de los pesos moleculares se ha representado como $dW/d\text{Log}M$ vs. $\text{Log}M$, donde W es la masa de material proteico de peso molecular M (M está expresado en Daltons). Para el lodo sin tratar, la mayoría de las proteínas se encontraron en la fracción TB-EPS (Fig. 5b) y muy pocas en la fracción LB-EPS (Fig. 5a). Por el contrario, los lodos tratados mostraron grandes cantidades de proteína, como ya se ha mostrado en la Fig. 4. Los cromatogramas muestran la existencia de tres grupos de sustancias proteicas: péptidos, proteínas de bajo peso molecular (de aproximadamente 10 kDa) y proteínas de elevado peso molecular (de aproximadamente 1500 kDa).

El tratamiento ultrasonido solubilizó una porción de los péptidos y proteínas de bajo peso molecular. El tratamiento térmico solubilizó la mayoría de las sustancias proteicas. Sin embargo, llama la atención la ausencia de proteínas de elevado peso molecular en ambos cromatogramas (Fig. 5a y Fig. 5b) después del tratamiento térmico. Este hecho puede deberse a la modificación de la estructura terciaria de estas proteínas (desnaturalización) debido a la elevada temperatura (Edelhoch and Osborne, 1976). Así, el tratamiento térmico habría destruido la capacidad de floculación de las proteínas grandes, reduciendo la capacidad de éstas para retener el agua y liberando, finalmente, el agua retenida en la matriz de los flóculos del lodo. No obstante, a pesar de la desnaturalización de las proteínas grandes, el tratamiento térmico no permitió extraer tanta agua mediante centrifugación como el alcalino (Fig. 3), lo cual sugiere que la solubilización de las EPSs es decisiva para una deshidratación óptima. El tratamiento alcalino solubilizó la mayoría de los péptidos y proteínas pequeñas, más una pequeña porción de las proteínas grandes.

A



B

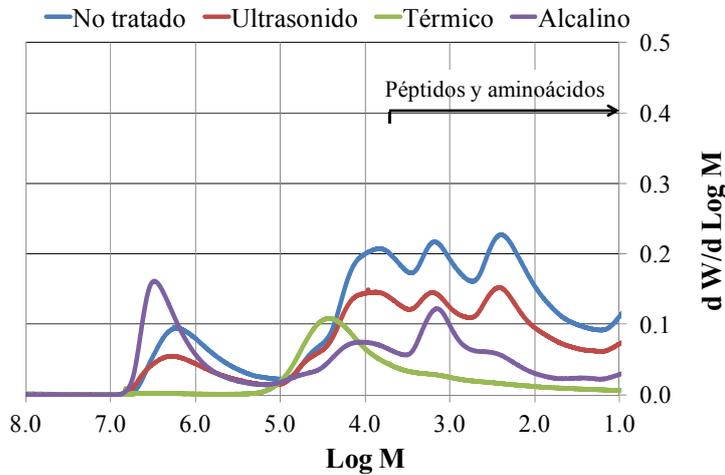


Fig. 5. Distribución de pesos moleculares de las proteínas en las fracciones (A) LB-EPS y (B) TB-EPSs. Tratamiento por ultrasonidos: 27000 kJ/kg ST; Tratamiento térmico: 80 °C (1h); Tratamiento alcalino: 157 g NaOH/kg ST.

4.3. Efecto de los tratamiento sobre la higienización y la digestión anaerobia

4.3.1. Resultados microbiológicos

Para valorar el efecto de los tratamientos sobre la higienización y la digestión anaerobia se seleccionó una única condición de cada tratamiento. Las condiciones para el tratamiento ultrasonido y el alcalino fueron las anteriormente utilizadas para valorar las EPSs: una E_S de 27000 kJ/kg ST para el ultrasonido y una concentración de 157 g NaOH/kg ST (=252 meq NaOH/L) para el alcalino. La condición del tratamiento térmico fue 80 °C y tiempo de exposición de 15 minutos.

La Fig. 6 muestra el efecto de los tratamientos sobre los microorganismos indicadores. En el caso del ultrasonido apenas se observaron cambios en los niveles de microorganismos indicadores. Como se ha comentado en la metodología, durante la ultrasonicación, la muestra de lodo se refrigeró para evitar la subida de la temperatura debido al tratamiento. Por lo tanto, el mecanismo de desinfección del ultrasonido se basó exclusivamente en la cavitación, fenómeno que está influenciado por varios factores (Pilli et al., 2011). De este modo, es concebible que la E_S analizada fuera suficientemente efectiva para disgregar los flóculos del lodo, pero no para matar bacterias y esporas o inactivar bacteriófagos (Ruiz-Hernando et al., 2014b).

En cuanto al tratamiento térmico, los microorganismos indicadores respondieron de distinta manera; se observó una ligera reducción de los niveles de SSRC (0.63 \log_{10} de reducción), aproximadamente 3 \log_{10} de reducción para los SOMCPH y un grado muy elevado de higienización para la *E. coli* (> 4.07 \log_{10} de reducción). En concreto, las poblaciones de *E. coli* cayeron por debajo del límite de detección de la técnica (2.02 \log_{10} UFC/g ST o 4.00 UFC/g peso húmedo), satisfaciendo los niveles normales aceptados por la EPA (US Environmental Protection Agency, 2003) y el tercer borrador oficial de la Unión Europea (Environment DG, EU, 2000) para la aplicación de biosólidos en el suelo.

El tratamiento alcalino dio lugar a un patrón de inactivación similar entre los tres microorganismos indicadores. La concentración más elevada de NaOH (157 g/kg ST) mostró un pH extremo (~12) durante las 24 horas que duró el tratamiento, lo que resultó letal para los microorganismos. Así, el nivel de higienización requerido para *E. coli* se cumplió, obteniendo un valor de 3.20 log₁₀ UFC/g ST (95.6 UFC/g peso húmedo) y 2.79 log₁₀ de reducción. Del mismo modo, los niveles de SOMCPH y SSRC se redujeron 2.57 y 1.63 log₁₀, respectivamente.

Es importante señalar que las bacterias pueden experimentar múltiples estados fisiológicos, lo cual dificulta la medición de las concentraciones reales. En cambio, los virus sólo pueden ser infecciosos o no infecciosos, simplificando su uso como indicadores. Teniendo en cuenta esto, los SOMCPH son un buen indicador para evaluar los distintos tratamientos en lodos y podrían ser el candidato adecuado para complementar las mediciones de *E. coli* en las directivas.

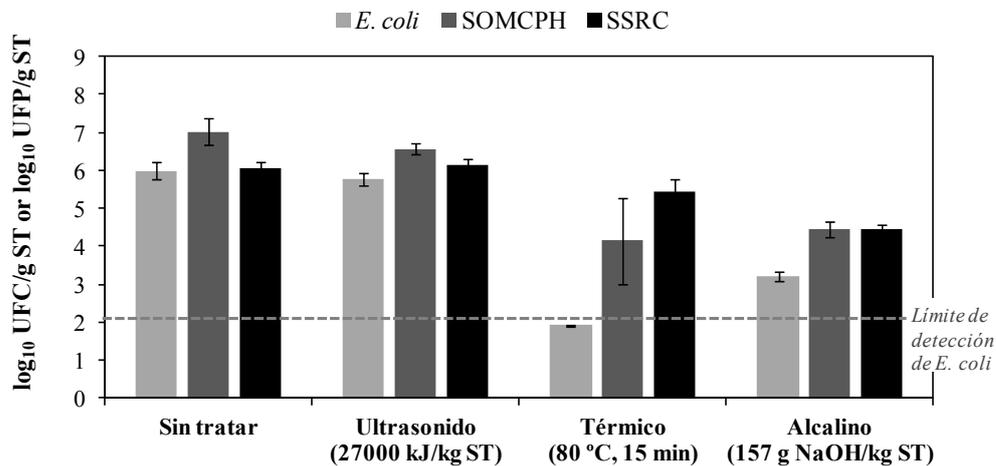


Fig. 6. Efecto del tratamiento (A) ultrasonido, (B) térmico y (C) alcalino sobre las poblaciones de microorganismos indicadores (*E. coli*, SOMCPH y SSRC).

4.3.2. Resultados de los ensayos de biometanización

El efecto de las condiciones especificadas de cada tratamiento sobre la digestión anaerobia se valoró mediante la caracterización físico-química y los ensayos de biometanización (Tabla 2). Los tres tratamientos fueron capaces de solubilizar la materia orgánica particulada del lodo, tal y como se muestra por la relación DQOs/DQOt y por el grado de solubilización (SD, por sus siglas en inglés) (Tabla 2). El grado de solubilización se calculó de la siguiente manera:

$$SD (\%) = \frac{DQOs_f - DQOs_o}{DQOt_o - DQOs_o} \cdot 100 \quad (4)$$

Donde la DQO_s_f es la DQO soluble después del tratamiento, la DQO_s_0 es la DQO soluble antes del tratamiento y la DQO_t_0 es DQO total antes del tratamiento.

En concreto, el tratamiento ultrasonido y el térmico presentaron eficiencias de solubilización similares (de aproximadamente 11%), las cuales fueron menores que la del tratamiento alcalino (de aproximadamente 15%). Sin embargo, el tratamiento alcalino mostró una pérdida de 5 g DQO/L debido a la mineralización de la materia orgánica, fenómeno que no se detectó en los otros dos tratamientos. El valor SD obtenido para el tratamiento ultrasonido concuerda con el obtenido por Kim et al. (2013a), quienes utilizaron una E_s similar a la de este estudio (25000 kJ/kg ST), pero es menor que el obtenido por Bougrier et al. (2006), quienes, aún utilizando una E_s menor, obtuvieron un valor SD de $15 \pm 3\%$. Estas diferencias están posiblemente relacionadas con la metodología del tratamiento; por ejemplo, Bougrier et al. (2006) no refrigeraron la muestra durante la ultrasonicación. En cuanto al tratamiento térmico, el valor SD obtenido es menor que el obtenido por Kim et al. (2013b), posiblemente debido al corto tiempo de exposición (15 minutos). El valor SD para el tratamiento alcalino es también menor a los resultados encontrados en la bibliografía. Por ejemplo, Valo et al. (2004) registraron un valor SD del 31% una hora después de añadir al lodo 65 meq KOH/L (pH=12).

Aunque en un principio es de esperar que las condiciones óptimas de tratamiento (en términos de producción de metano) sean aquellas que presenten una elevada solubilización de la DQO y una baja mineralización de la materia orgánica, el aumento de la solubilización no siempre se traduce en un aumento de la biodegradabilidad (Kim et al., 2013a). Por lo tanto, para hacer una valoración completa de los tratamientos sobre la digestión anaerobia es necesario llevar a cabo los ensayos de biometanización. El potencial final de metano para el tratamiento térmico fue muy similar al del lodo sin tratar, mientras que el tratamiento ultrasonido y el alcalino mostraron incrementos del 10% y 30% con respecto al lodo no tratado (Tabla 2). Estos incrementos son bajos en comparación con los resultados encontrados en la bibliografía, lo cual puede estar relacionado con la selección de las condiciones de tratamiento; en el presente estudio, la intensidad y tiempo de exposición de cada tratamiento se seleccionó en base a criterios reológicos y de higienización, y no en base al aumento del rendimiento de metano. En cualquier caso, el tratamiento que más incrementó la biodegradabilidad del lodo fue el alcalino. No obstante, este tratamiento tiene el inconveniente de concentrar sodio en el digestor, lo cual puede acabar inhibiendo el proceso de digestión. De hecho, una posible inhibición debido a la alta concentración de sodio (3.6 g Na^+ /L) podría haber sido enmascarada por el efecto de dilución (aproximadamente 1/4) del inóculo. Por lo tanto, el uso de NaOH como tratamiento previo a la digestión es bastante limitado.

Tabla 2. Caracterización del lodo y resultados obtenidos para los ensayos de biometanización. Los errores representan la desviación estándar.

	Unidades	WAS	US-WAS	T-WAS	NaOH-WAS
<i>Caracterización del lodo</i>					
ST	g/L	64.2 ± 0.2	65.7 ± 0.1	64.6 ± 0.1	72.3 ± 0.1
SV	g/L	52.9 ± 0.2	53.9 ± 0.1	53.0 ± 0.1	49.5 ± 0.2
DQO _t	g O ₂ /L	80.9 ± 0.4	80.5 ± 0.3	81.6 ± 0.5	75.7 ± 0.4
DQO _s	g O ₂ /L	0.9 ± 0.1	10.3 ± 0.2	9.6 ± 0.2	12.1 ± 0.1
pH	-	6.5 ± 0.1	6.4 ± 0.2	6.4 ± 0.2	7.5 ± 0.1
AGV	mg/L	223 ± 10	952 ± 16	293 ± 21	560 ± 18
<i>Eficiencia de solubilización del tratamiento</i>					
sDQO/tDQO	%	1.1 ± 0.1	12.8 ± 0.2	11.7 ± 0.2	16.0 ± 0.2
SD	%	-	11.8 ± 0.4	10.8 ± 0.6	14.0 ± 0.6
<i>Potencial final de metano</i>					
B0	mL CH ₄ /g DQO	141.3 ± 3.1	155.9 ± 5.3	145.2 ± 6.9	183.8 ± 6.3
Tratamiento ultrasonido: 27000 kJ/kg ST; Tratamiento térmico: 80 °C (15 min); Tratamiento alcalino: 157 g NaOH/kg ST.					

5. CONCLUSIONES

Las principales conclusiones derivadas del trabajo son las siguientes:

1. Todos los lodos (tratados y sin tratar) mostraron comportamiento pseudoplástico. Los resultados experimentales se ajustaron muy bien al modelo de Ostwald-de Waele. Los tratamientos redujeron el índice de consistencia y simultáneamente incrementaron el índice de comportamiento al flujo.
2. La viscosidad del lodo disminuyó con los tratamiento; a medida que se incrementó la intensidad del tratamiento está disminución fue más importante. El tratamiento ultrasonido fue el que registró la mayor reducción de la viscosidad (casi un 80% de reducción con respecto al lodo sin tratar).
3. El tratamiento térmico mejoró significativamente la deshidratación del lodo, ya que permitió extraer más agua del lodo incluso a temperaturas bajas. Según el análisis de las moléculas de EPSs, esta mejora de la deshidratación es debida al incremento en la concentración de proteínas en la fracción de LB-EPSs. Es decir, el tratamiento incrementó la solubilización de las proteínas, favoreciendo la liberación del agua retenida en la matriz de los flóculos del lodo. Igualmente, el tratamiento alcalino a elevada concentración también mejoró la deshidratación de lodo por el mismo mecanismo, aunque el tratamiento térmico además desnaturalizó las proteínas de elevado peso molecular. El tratamiento ultrasonido fue el que menos EPSs solubilizó, de manera que fue el que permitió extraer menos agua del lodo.

4. El tratamiento térmico (80 °C, 15 min) y el alcalino a elevada dosis (157 g NaOH/kg ST) permitieron higienizar el lodo, cumpliendo con las normativas europeas y americanas. En cambio, el tratamiento ultrasonido apenas redujo los niveles de los microorganismos indicadores.

5. El tratamiento que más aumentó la biodegradabilidad del lodo fue el alcalino (157 g NaOH/kg ST), seguido del ultrasonido (27000 kJ/kg ST) y, finalmente, el térmico (80 °C, 15 min). No obstante, el tratamiento alcalino tiene el inconveniente de concentrar sodio en el digester, lo cual puede acabar inhibiendo el proceso de digestión.

BIBLIOGRAFÍA

- Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J.L., Guwy, A.J., Kalyuzhnyi, S., Jenicek, P., Van Lier, J.B., 2009. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Science and Technology* 59, 927-934.
- Anonymous, 2000. ISO 10705-2: Water Quality e Detection and Enumeration of Bacteriophages e Part 2: Enumeration of Somatic Coliphages. International Organisation for Standardisation, Geneva, Switzerland.
- APHA, 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, Washington, ISBN 978-0-87553-047-5.
- Astals, S., Nolla-Ard□evol, V., Mata-Alvarez, J., 2012. Anaerobic co-digestion of pig manure and crude glycerol at mesophilic conditions: biogas and digestate. *Bioresour. Technol.* 110, 63-70.
- Bougrier, C., Albasi, C., Delgenès, J.P., Carrère, H., 2006. Effect of ultrasonic, thermal and ozone pre-treatments on waste activated sludge solubilisation and anaerobic biodegradability. *Chemical Engineering and Processing* 45, 711–718.
- Camby-Recycling energy; URL: <http://www.cambi.no/wip4/>
- CEC (Council of the European Communities), 1991. Council Directive of 21 May 1991 concerning urban waste water treatment (91/271/EEC). Official Journal of the European Communities No. L 135/40-52.
- Chu, C.P., Chang, B.V., Liao, G.S., Jean, D.S., Lee, D.J., 2001. Observations on changes in ultrasonically treated waste-activated sludge. *Water Res.* 35, 1038–1046.
- Colin, F., Gazbar, S., 1995. Distribution of water in sludges in relation to their mechanical dewatering. *Water Res.* 29, 2000-2005.
- Edelhoch, H., Osborne, J.C., 1976. The thermodynamic basis of the stability of proteins, nucleic acids and membranes. *Adv. Protein Chem.* 30,183–250.
- Environment DG, EU, 2000. Working Document on Sludge, 3rd Official Draft. Brussels. URL: http://ec.europa.eu/environment/waste/sludge/pdf/sludge_en.pdf.
- Feng, X., Deng, J., Lei, H., Bai, T., Fan, Q., Li, Z., 2009. Dewaterability of waste activated sludge with ultrasound conditioning. *Bioresour. Technol.* 100, 1074–1081.
- Frølund, B., Griebe, T., Nielsen, P.H., 1995. Enzymatic activity in the activated-sludge floc matrix. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 43, 755–761.
- Frølund, B., Palmgren, R., Keiding, K., Nielsen, P.H., 1996. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. *Water Res.* 30, 1749–1758.
- Herwijn, A.J.M., 1996. Fundamental aspects of sludge characterization. PhD dissertation, Eindhoven University of Technology, The Netherlands.
- IAWPRC, 1991. Study group on health related water microbiology. Bacteriophages as model viruses in water quality control. *Water Research* 25, 529-545.
- Kim, D.H., Cho, S.K., Lee, M.K., Kim, M.S., 2013a. Increased solubilization of excess sludge does not always result in enhanced anaerobic digestion efficiency. *Bioresource Technology* 143, 660–664.
- Kim, J., Yu, Y., Lee, C. 2013b. Thermo-alkaline pretreatment of waste activated sludge at low-temperatures: Effects on sludge disintegration, methane production, and methanogen community structure. *Bioresource Technology* 144 , pp. 194-201.
- La Heij, E.J., 1994. An analysis of sludge filtration and expression. PhD dissertation, Eindhoven University of Technology, The Netherlands.

- Labanda, J., Sabaté, J., Llorens, J., 2007. Rheology changes of Laponite aqueous dispersions due to the addition of sodium polyacrylates of different molecular weights. *Colloids Surf., A: Physicochem. Eng. Aspects* 301, 8–15.
- Li, D.H., Ganzarczyk, J. J., 1990. Structure of activated sludge flocs. *Biotechnol. Bioeng.* 35, 57-65.
- Li, H., Jin, Y., Mahar, R., Wang, Z., Nie, Y., 2008. Effects and model of alkaline waste activated sludge treatment. *Biores. Technol.* 99, 5140–5144.
- Li, X.Y., Yang, S.F., 2007. Influence of loosely bound extracellular polymeric substances (EPS) on the flocculation, sedimentation and dewaterability of activated sludge. *Water Res.* 41, 1022–1030.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265–275.
- Milieu Ltd., WRc and Risk & Policy Analysts Ltd (RPA), 2010. Environmental, economic and social impacts of the use of sewage sludge on land. Final Report, Part III: Project Interim Reports, DG ENV.G.4/ETU/2008/0076r, 10.2.2010. Available from: <http://ec.europa.eu/environment/waste/sludge/pdf/part_iii_report.pdf/>.
- Neyens, E., Baeyens, J., 2003. A review of thermal sludge pre-treatment processes to improve dewaterability. *J. Hazard. Mater.* B98, 51–67.
- Neyens, E., Baeyens, J., Creemers, C., 2003. Alkaline thermal sludge hydrolysis. *Journal of Hazardous Materials* 97, 295–314.
- Payment, P. and Franco, E., 1993. Clostridium perfringens and somatic coliphages as indicators of the efficiency of drinking water treatment for viruses and protozoan cysts. *Applied and Environmental Microbiology* 59, 2418-2424.
- Pham, T.T.H., Brar, S.K., Tyagi, R.D., Surampalli, R.Y., 2009. Ultrasonication of wastewater sludge – consequences on biodegradability and flowability. *J. Hazard. Mater.* 163, 891–898.
- Pilli, S., Bhunia, P., Yan, S., Leblanc, R.J., Tyagi, R.D., Surampalli, R.Y., 2011. Ultrasonic pretreatment of sludge: a review. *Ultrasonics Sonochemistry* 18, 1–18.
- Ratkovich, N., Horn, W., Helmus, F.P., Rosenberger, S., Naessens, W., Nopens, I., Bentzen, T.R., 2013. Activated sludge rheology: a critical review on data collection and modelling. *Water Res.* 47, 463-482.
- Ruiz-Hernando, M., Martín-Díaz, J., Labanda, J., Mata-Alvarez, J., Llorens, J., Lucena, F., Astals, S., 2014b. Effect of ultrasound, low-temperature thermal and alkali pre-treatments on waste activated sludge rheology, hygienization and methane potential. *Water Res.* 61, 119-129.
- Ruiz-Hernando, M., Simón, F.X., Labanda, J., Llorens, J., 2014a. Effect of ultrasound, thermal and alkali treatments on the rheological profile and water distribution of waste activated sludge. *Chem. Eng. J.* 255, 14-22.
- Seysiecq, I., Marrot, B., Djerroud, D., Roche, N., 2007. In situ triphasic rheological characterization of activated sludge in an aerated bioreactor. *Chem. Eng. J.* 142, 40-47.
- US Environmental Protection Agency, 2003. Control of Pathogens and Vector Attraction in Sewage Sludge. Under 40 CFR Part 503. EPA 625/R-92/013. Cincinnati.
- Valo, A., Carrère, H., Delgenès, J.P. 2004. Thermal, chemical and thermo-chemical pre-treatment of waste activated sludge for anaerobic digestion. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 79, 1197-1203.
- Wilson, C.A., Novak, J.T., 2009. Hydrolysis of macromolecular components of primary and secondary wastewater sludge by thermal hydrolytic pretreatment. *Water Res.* 43, 4489–4498.

Yu, G.H., He, P.J., Shao, L.M., 2009. Characteristics of extracellular polymeric substances (EPS) fractions from excess sludges and their effects on bioflocculability. *Bioresour. Technol.* 100, 3193–3198.