

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO**

**EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE LA BIOMASA Y LA  
PRESENCIA DE ACEITES VEGETALES, ACEITES VEGETALES  
QUEMADOS, SALES E HIDROCARBUROS EN LOS LODOS  
ACTIVADOS**

**Natazha Alejandra Valarezo García**

**Tesis de grado presentada como requisito para la obtención del título de Ingeniería  
Ambiental**

**Quito, Mayo del 2010**

## Resumen

En el proceso de tratamiento del agua residual es importante analizar las sustancias que están presentes en el agua, debido a que, ciertos compuestos pueden interferir con el tratamiento biológico de la misma. Es por esto que, la influencia de la concentración de biomasa, presencia de aceites vegetales, aceites vegetales quemados, sales e hidrocarburos totales de petróleo (total petroleum hydrocarbons, TPH) en los lodos activados fueron estudiados en el presente trabajo de investigación. Para este propósito, bioensayos tipo batch con una muestra sintética de agua residual con glucosa se llevaron a cabo bajo condiciones aeróbicas. Un cultivo aeróbico enriquecido de glucosa obtenido a partir de los lodos de una Planta de Tratamiento de Agua Residual (PTAR) de la ciudad de Quito fue empleado como inóculo microbiano en los bioensayos. Como se esperaba mientras mayor fue la concentración de cultivo aeróbico enriquecido, es decir mayor concentración de la biomasa, mayor fue la eficiencia de degradación de la materia orgánica. Una concentración de inóculo microbiano de 10% (v/v) de cultivo aeróbico enriquecido equivalente a  $8,67 \text{ mg VSS L}^{-1}$ , demostró ser la concentración de biomasa más eficiente bajo las condiciones experimentales evaluadas en este estudio. Entre las sustancias estudiadas, los TPHs causaron el mayor efecto de toxicidad microbiana. La concentración de TPHs que produjo el 20% de inhibición metabólica ( $IC_{20}$ ) de los microorganismos degradadores de glucosa fue de  $60 \text{ mg L}^{-1}$ . Un aumento en las concentraciones de sal también causaron un efecto inhibitorio sobre las bacterias aeróbicas, aunque a niveles relativamente altos ( $IC_{20} = 215 \text{ mg L}^{-1}$ ). Por otro lado, la presencia de aceites vegetales y aceites vegetales quemados solo redujeron la actividad máxima específica de consumo de glucosa en un 10% y 17%, respectivamente, a las concentraciones evaluadas. Sin embargo, el aceite vegetal quemado redujo la eficiencia del tratamiento de lodos activados en un 50% en comparación con el aceite vegetal normal. En consecuencia, durante el proceso de tratamiento del agua residual, la presencia de sustancias tóxicas debe ser controlada y más aún minimizada para evitar una reducción de la capacidad de tratamiento de una PTAR.

## Abstract

In wastewater treatment processes, it is important to analyze the substances which are present in solution, since certain compounds can interfere with the biological treatment process. Thus, the influence of the biomass concentration, the presence of vegetable oils, vegetable oils burned, salts and total petroleum hydrocarbons (TPH) in the activated sludge process were evaluated in this study. For this purpose, batch bioassays with a synthetic wastewater sample based on glucose were performed under aerobic conditions. An enrichment glucose culture generated from an activated sludge from a wastewater treatment plant (WWTP) in Quito was employed in the bioassays as microbial inoculum. As expected, the higher the concentration of the enrichment culture, which means the higher the biomass concentration, the best efficiency of degradation of the organic matter. A microbial inoculum concentration of 10% (v/v) of enrichment culture equivalent to 8,67 mg VSS L<sup>-1</sup> was shown to be the most efficient biomass concentration under the experimental conditions evaluated in this study. Among the substances studied, the presence of TPH presented the highest toxicity effect to aerobic bacteria. The concentration of TPHs causing 20% of metabolic inhibition (IC<sub>20</sub>) of glucose degrading microorganism was 60 mg L<sup>-1</sup>. Increasing concentrations of salt were also inhibitory to aerobic bacteria, albeit at relative high levels (IC<sub>20</sub> = 215 mg L<sup>-1</sup>). On the other hand, the presence of vegetable oil and vegetable oil burned only reduced the metabolic activity of glucose degraders by 10% and 17%, respectively, at the concentrations tested. However, vegetable oil burned reduced the treatment efficiency of the activated sludge by 50% when compared to that of vegetable oil. Consequently, during the wastewater treatment process, the presence of inhibitory substances should be properly controlled and even more minimized to avoid reductions in the treatment capacity of the WWTP.

**Agradecimientos**

Agradezco a mi directora de tesis Valeria Ochoa por todo su apoyo, paciencia y dedicación en la realización de mi tesis, Rodney Peñafiel por haber sido mi guía en toda mi carrera universitaria, a René Parra por ser parte de mi comité de tesis y de manera general a todos quienes formaron parte de formación universitaria.

Agradezco a mis padres por haber sido quienes me han apoyado a lo largo de toda mi vida, tanto en lo profesional como en lo personal, mi más sincero agradecimiento a ellos por su infinito amor, bondad y generosidad y así mismo a mis hermanos por ser mi ejemplo y mi apoyo en todo momento de mi vida.

## Índice General

Resumen.....	i
Abstract.....	ii
<b>1. Introducción.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Marco Teórico.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Características Físicas, Químicas y Biológicas del Agua Residual.....</b>	<b>6</b>
<b>2.1.1 Características Físicas.....</b>	<b>7</b>
<b>2.1.2 Características Químicas.....</b>	<b>9</b>
<b>2.1.3 Características Biológicas.....</b>	<b>13</b>
<b>2.2 Aspectos Legales.....</b>	<b>14</b>
<b>2.3 Tratamiento del Agua Residual.....</b>	<b>17</b>
<b>2.4 Tratamiento Biológico.....</b>	<b>18</b>
<b>2.4.1 Metabolismo Microbiano.....</b>	<b>19</b>
<b>2.4.2 Tipos de Metabolismo Microbiano, Aeróbico y Anaeróbico.....</b>	<b>20</b>
<b>2.4.2.1 Requerimientos Nutricionales de Crecimiento.....</b>	<b>21</b>
<b>2.4.2.2 Factores Ambientales de Crecimiento.....</b>	<b>22</b>
<b>2.5 Crecimiento Bacteriano y Producción Bacteriana.....</b>	<b>22</b>
<b>2.5.1 Medición de Crecimiento de Biomasa.....</b>	<b>25</b>
<b>2.6 Tipos de Procesos Biológicos para Tratamiento de Agua Residual.....</b>	<b>25</b>
<b>2.6.1 Procesos de Tratamiento Aeróbico de Cultivo Fijo (Película Fija).....</b>	<b>26</b>
<b>2.6.2 Procesos de Tratamiento Aeróbico de Cultivo en Suspensión.....</b>	<b>26</b>
<b>2.6.2.1 Proceso de Lodos Activados.....</b>	<b>27</b>

<b>3. Materiales y Métodos</b> .....	29
<b>3.1 Reactivos</b> .....	29
<b>3.2 Lodos</b> .....	29
<b>3.3 Medio de Cultivo</b> .....	30
<b>3.4 Cultivo Microbiano Enriquecido</b> .....	30
<b>3.5 Bioensayos</b> .....	31
<b>3.5.1 Degradación de Glucosa con respecto a la Biomasa Presente</b> .....	31
<b>3.5.2 Degradación de Glucosa en presencia de Aceite de Soya y Aceite de Soya Quemado</b> .....	31
<b>3.5.3 Degradación de Glucosa en Presencia de Diferentes Concentraciones de Sal, NaCl</b> .....	32
<b>3.5.4 Degradación de Glucosa en Presencia de Diferentes Concentraciones de TPHs</b> .....	33
<b>3.6 Métodos Analíticos</b> .....	34
<b>3.6.1 Demanda Química de Oxígeno (DQO)</b> .....	34
<b>3.6.2 Determinación de Sólidos Suspendidos Totales (SST) y Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)</b> .....	36
<b>3.6.3 Medición de la Densidad Óptica</b> .....	36
<b>3.6.4 Medición de la Glucosa</b> .....	37
<b>4. Resultados y Discusión</b> .....	39
<b>4.1 Caracterización de los Lodos y Cultivo Microbiano Enriquecido</b> .....	39
<b>4.1.1 Determinación de los Sólidos Suspendidos Totales (SST) y Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)</b> .....	39

<b>4.2</b>	<b>Desarrollo de un Método Analítico para la determinación de la demanda química de oxígeno (DQO).....</b>	<b>42</b>
<b>4.3</b>	<b>Determinación de la Glucosa.....</b>	<b>46</b>
<b>4.4</b>	<b>Efecto de Concentración de Biomasa, la Presencia de Aceites Vegetales Quemados, Sales y TPHs en los Lodos Activados.....</b>	<b>49</b>
<b>4.4.1</b>	<b>Cultivo Enriquecido.....</b>	<b>49</b>
<b>4.4.2</b>	<b>Efecto de la Concentración de Biomasa en los Lodos Activados.....</b>	<b>52</b>
<b>4.4.3</b>	<b>Efecto de la Presencia de Aceites Vegetales y Aceites Vegetales Quemados en Lodos Activados.....</b>	<b>61</b>
<b>4.4.3.1</b>	<b>Aceite Vegetal.....</b>	<b>61</b>
<b>4.4.3.2</b>	<b>Aceite de Vegetal Quemado.....</b>	<b>71</b>
<b>4.4.4</b>	<b>Efecto de la Presencia de Sales como Cloruro de Sodio, NaCl en los Lodos Activados.....</b>	<b>77</b>
<b>4.4.5</b>	<b>Efecto de la Presencia de Hidrocarburos Totales de Petróleo (Total Petroleum Hydrocarbons, TPH) en los Lodos Activados.....</b>	<b>83</b>
<b>5.</b>	<b>Conclusiones.....</b>	<b>90</b>
<b>6.</b>	<b>Referencias.....</b>	<b>92</b>

## Índice de Figuras

<b>Figura 2.1</b>	Diagrama del proceso de tratamiento de agua residual mediante los lodos activados	28
<b>Figura 4.1</b>	Esquema de la filtración al vacío empleado en la determinación de los SST y los SSV de los lodos activados y del cultivo aeróbico enriquecido	39
<b>Figura 4.2</b>	Curva de calibración para la determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) empleando estándares de KHP con concentraciones en el rango de 0 y 1000 mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	45
<b>Figura 4.3</b>	Curva de calibración para la determinación de la glucosa empleando estándares de glucosa entre 0 y 100 mg L <sup>-1</sup>	48
<b>Figura 4.4</b>	Cultivo enriquecido de bacterias degradadoras de glucosa utilizando como inóculo microbiano 10% (v/v) de los lodos activados y en presencia de 1 mg L <sup>-1</sup> de glucosa. Las barras de error representan desviaciones estándar de bioensayos realizados por triplicado.	50
<b>Figura 4.5</b>	Degradación de 1000 mg L <sup>-1</sup> de glucosa con respecto al tiempo utilizando diferentes concentraciones de cultivo aeróbico enriquecido. Leyenda: (◆) 1, (◇) 2.5, (▲) 5 y (■) 10 % (v/v), (●) control abiótico. Las barras de error representan desviaciones estándar de bioensayos realizados por triplicado.	54
<b>Figura 4.6</b>	Actividades máximas específicas normalizadas de degradación de 1000 mg L <sup>-1</sup> glucosa con diferentes concentraciones de biomasa expresadas en porcentaje en volumen (% (v/v)).	56
<b>Figura 4.7</b>	Monitoreo de la DQO en la degradación de 1000 mg L <sup>-1</sup> de glucosa en presencia de un cultivo aeróbico enriquecido 10% (v/v) con respecto al tiempo. Las barras de error representan desviaciones estándar de bioensayos realizados por triplicado. Leyenda: (●) control abiótico, (▲) consumo de O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	60
<b>Figura 4.8</b>	Degradación de la glucosa con respecto al tiempo por un cultivo aeróbico enriquecido 10% (v/v) en presencia de diferentes concentraciones de aceite de soya. Leyenda: (□) 100 mg L <sup>-1</sup> , (Δ) 250 mg L <sup>-1</sup> , (◆) 500 mg L <sup>-1</sup> , (▬) 1000 mg L <sup>-1</sup> , (■) control biótico: 0 mg L <sup>-1</sup> de aceite de soya y, (●) control abiótico. Las barras de error representan desviaciones estándar de bioensayos realizados por triplicado.	63
<b>Figura 4.9</b>	Efecto inhibitorio del aceite de soya en la actividad máxima específica de bacterias degradadoras de glucosa en presencia de 1000 mg L <sup>-1</sup> de glucosa utilizando un cultivo aeróbico enriquecido	

- 10% (v/v) obtenido de los lodos activados de la PTAR de la ciudad de Quito. 67
- Figura 4.10** Degradación de 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa con respecto al tiempo por un cultivo aeróbico enriquecido 10% (v/v) en presencia de diferentes concentraciones de aceite de soya quemado. Leyenda: (◆) 100, (□) 250, (▲) 500, (◇) 1000 mg L<sup>-1</sup>, (■) control biótico: 0 mg L<sup>-1</sup> de aceite de soya, y (●) control abiótico. Las barras de error representan desviaciones estándar de bioensayos realizados por triplicado. 72
- Figura 4.11** Efecto inhibitorio del aceite de soya quemado en la actividad máxima específica de bacterias degradadoras de glucosa en presencia de 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa utilizando un cultivo aeróbico enriquecido 10% (v/v) obtenido de los lodos activados de la PTAR de la ciudad de Quito. 74
- Figura 4.12** Degradación de 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa con respecto al tiempo por 10% (v/v) de un cultivo aeróbico enriquecido en presencia de diferentes concentraciones de cloruro de sodio, NaCl. Leyenda: (□) 100, (○) 250, (▲) 500, (◆) 1000 mg L<sup>-1</sup>, (■) control biótico: 0 mg L<sup>-1</sup> de NaCl, y (●) control abiótico. 78
- Figura 4.13** Efecto inhibitorio de cloruro de sodio en la actividad máxima específica de bacterias degradadoras de glucosa en presencia de 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa utilizando un cultivo aeróbico enriquecido 10% (v/v) obtenido de los lodos activados de la PTAR de la ciudad de Quito 80
- Figura 4.14** Degradación de 1000 mg L<sup>-1</sup> glucosa con respecto al tiempo por 10% (v/v) de un cultivo aeróbico enriquecido en presencia de diferentes concentraciones de TPH. Leyenda: (◆) 100 mg L<sup>-1</sup>, (○) 250 mg L<sup>-1</sup>, (▲) 500 mg L<sup>-1</sup>, (◇) 1000 mg L<sup>-1</sup>, (■) control biótico: 0 mg L<sup>-1</sup> de TPH, y (●) control abiótico. Las barras de error representan desviaciones estándar de bioensayos realizados por triplicado. 84
- Figura 4.15** Efecto inhibitorio de los TPH en la actividad máxima específica de bacterias degradadoras de glucosa en presencia de 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa utilizando un cultivo aeróbico enriquecido 10% (v/v) obtenido de los lodos activados de la PTAR de la ciudad de Quito. 86

## Índice de Tablas

<b>Tabla 2.1</b>	Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce	14
<b>Tabla 2.2</b>	Aceptores de electrones en las reacciones bacterianas normalmente presentes en el agua residual	21
<b>Tabla 2.3</b>	Intervalos de temperatura óptimos para algunas bacterias	22
<b>Tabla 3.1</b>	Preparación de estándares de glucosa a partir de una solución madre de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$	37
<b>Tabla 4.1</b>	SST y SSV de los lodos activados de la PTAR	40
<b>Tabla 4.2</b>	SST y SSV del cultivo aeróbico enriquecido	40
<b>Tabla 4.3</b>	Preparación de estándares de KHP para la determinación de DQO	43
<b>Tabla 4.4</b>	Preparación de muestras para determinar la DQO (estándares y muestras)	43
<b>Tabla 4.5</b>	Actividades máximas específicas de consumo de glucosa (1000 mg $\text{L}^{-1}$ ) de un cultivo aeróbico enriquecido (10% v/v) en presencia de diferentes concentraciones de biomasa.	52
<b>Tabla 4.6</b>	Concentración de biomasa (cultivo aeróbico enriquecido) presente en los diferentes bioensayos en [ $\text{mg SSV L}^{-1}$ ]	56
<b>Tabla 4.7</b>	Actividades máximas específicas de consumo de glucosa (1000 mg $\text{L}^{-1}$ ) de un cultivo aeróbico enriquecido (10% v/v) en presencia de distintas concentraciones de aceite de soya	63
<b>Tabla 4.8</b>	Actividades máximas específicas de consumo de glucosa (1000 mg $\text{L}^{-1}$ ) de un cultivo aeróbico enriquecido (10% v/v) en presencia de distintas concentraciones de aceite de soya quemado	72
<b>Tabla 4.9</b>	Actividades máximas específicas de consumo de glucosa (1000 mg $\text{L}^{-1}$ ) de un cultivo aeróbico enriquecido (10% v/v) en presencia de distintas concentraciones de NaCl	78
<b>Tabla 4.10</b>	Actividades máximas específicas de consumo de glucosa (1000 mg $\text{L}^{-1}$ ) de un cultivo aeróbico enriquecido (10% v/v) en presencia de distintas concentraciones de TPHs	84
<b>Tabla 4.11</b>	Efecto inhibitorio de diferentes sustancias sobre el cultivo aeróbico enriquecido obtenido de los lodos de la PTAR de la ciudad de Quito durante la degradación de una muestra sintética de agua residual con 1000 mg $\text{L}^{-1}$ de glucosa.	88

## **1. Introducción**

El tratamiento del agua residual es una alternativa sustentable para la conservación del recurso agua, es un proceso que involucra sistemas unitarios tanto físicos, químicos como biológicos cuya finalidad es la eliminación o reducción de la contaminación o las características no deseables del agua residual. La finalidad de estas operaciones es obtener agua con características adecuadas de acuerdo con el destino final que se le dará a la misma.

Las aguas residuales son líquidos provenientes de las actividades de residencias, instituciones, locales comerciales e industrias, las mismas que le proporcionan al agua distintas características. Los constituyentes del agua residual deben ser analizados previo a la selección de un determinado tratamiento para garantizar un rendimiento apropiado de la PTAR. Es decir, en el tratamiento biológico pueden existir compuestos tales como aceites y grasas, sales e hidrocarburos totales de petróleo (Total Petroleum Hydrocarbons, TPHs) capaces de inhibir la actividad microbiana durante la degradación de la materia orgánica presente en el agua residual. En consecuencia, es necesario realizar un estudio sobre el efecto inhibitorio de estas sustancias debido a que pueden reducir la capacidad de tratamiento de una PTAR.

El objetivo principal de la presente tesis es evaluar el efecto de la concentración de la biomasa, la presencia de aceites vegetales, aceites vegetales quemados, sales e hidrocarburos totales de petróleo (Total Petroleum Hydrocarbons, TPHs) en los lodos activados durante el tratamiento de una muestra sintética de agua residual con glucosa.

Los objetivos específicos son:

- Desarrollar métodos analíticos para la caracterización de los inóculos microbianos, la medición de la demanda química de oxígeno de las muestras y la determinación de la glucosa en los bioensayos.
- Obtener un cultivo aeróbico enriquecido, el mismo que se empleará en los bioensayos sobre el efecto inhibitorio de los diferentes parámetros en la actividad metabólica de las bacterias aeróbicas degradadoras de glucosa.
- Evaluar el efecto de la concentración de la biomasa en la degradación aeróbica de la materia orgánica representada como glucosa.
- Evaluar el efecto inhibitorio de la presencia de aceites vegetales, aceites vegetales quemados, sales e hidrocarburos en la actividad máxima específica de consumo de glucosa por parte de las bacterias aeróbicas.

## 2. Marco Teórico

El agua constituye un elemento fundamental para el desarrollo de todas las formas de vida conocidas. El total de agua presente en el planeta en todas sus formas se denomina hidrosfera, una de las cuatro esferas que forman la tierra. El agua cubre tres cuartas partes del planeta tierra, es decir, el 71% de la superficie de la tierra y se la puede encontrar en cualquiera de los tres estados de agregación de la materia: sólido, líquido y gaseoso [1].

El 97% del agua presente en el planeta es agua salada, la cual se encuentra principalmente en océanos y mares, y el 3% del volumen total corresponde a agua dulce. De esta última, el 1% se encuentra en estado líquido y el 2% restante se encuentra en estado sólido en capas, campos y plataformas de hielo o banquisas en las latitudes próximas a los polos. Fuera de las regiones polares, el agua dulce se encuentra principalmente en humedales y subterráneamente, en acuíferos [1].

El agua dulce es un recurso global limitado y a su vez constituye un requerimiento básico para el cuerpo humano. La disponibilidad de agua dulce está ligada a la salud humana mediante el empleo de agua para el consumo humano, agua para la higiene y agua para la producción de alimentos, entre otras [2].

El uso de agua a nivel mundial se ha incrementado dramáticamente en los últimos 50 años debido a factores como el crecimiento demográfico y la agricultura (agua para riego). La Organización de Naciones Unidas (ONU) en sus objetivos de desarrollo del milenio (UN Millenium Development Goals) pretende reducir a la mitad la proporción de personas que no tienen acceso a agua potable y saneamiento básico, sin embargo, para lograr este objetivo el saneamiento debe ser previsto para aproximadamente 2.1 billones de personas desde el 2002

hasta el 2015, cifra que se ajusta al crecimiento demográfico [2]. Por otro lado, el Instituto Internacional de Manejo de Agua (International Water Management Institute, IWMI) estima que alrededor del 70% de los suministros de agua desarrollados en el mundo son utilizados para riego [3]. En consecuencia, la creciente escasez de agua amenaza tanto a la salud humana como a la producción agrícola y a la estabilidad política en muchas partes del mundo.

Por otro lado, la utilización de agua tanto para uso doméstico como para diversos procesos de producción conlleva a la contaminación de la misma, a este tipo de agua se denomina agua residual. Se consideran aguas residuales a los líquidos que han sido utilizados en las actividades diarias de una ciudad (domésticas, comerciales, industriales y de servicios) [4]. Generalmente, se puede clasificar a las aguas residuales en aguas residuales municipales que son residuos líquidos transportados por el alcantarillado de una ciudad o población y tratados en una planta de tratamiento municipal, y aguas residuales industriales que son aguas residuales provenientes de las descargas de industrias de manufactura [5]. Actualmente se estima que 1100 millones de personas alrededor del mundo carecen de acceso a los sistemas de abastecimiento de agua y el 41% de la población mundial, es decir, 2600 millones de personas no tienen acceso a un saneamiento adecuado [2].

De acuerdo al Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), hoy en día el consumo de agua contaminada causa la muerte a más personas que todas las formas de violencia lo hacen juntas, incluyendo los conflictos armados y las guerras. La situación es tan alarmante que anualmente fallecen 2,2 millones de personas por enfermedades transmitidas por el consumo de agua contaminada tales como la diarrea, saneamiento inadecuado y falta de higiene; 1,8 millones de niños menores de cinco años mueren cada año por enfermedades

relacionadas con el consumo de agua contaminada, es decir un niño fallece cada 20 segundos [6].

En consecuencia, la creciente escasez de agua ha generado interés a nivel mundial por la reutilización de agua potable y no potable. Es decir, que las aguas residuales debidamente tratadas podrían ser utilizadas para riego y jardinería (reutilización no potable) o incluso como complemento de fuentes de agua potable tales como el agua superficial o subterránea (reutilización potable).

La utilización de las aguas residuales domésticas para la agricultura está siendo considerada como una estrategia para reducir la demanda de agua para riego. Actualmente estas políticas han sido implementadas en sitios como ciudad de México en México, Accra en Ghana, entre otras áreas. Si bien es cierto que estas políticas de reutilización del agua proporcionan beneficios como son la preservación del recurso hídrico y el reciclado de nutrientes orgánicos en las aguas residuales, también conllevan riesgos de exposición a microorganismos patógenos, si el agua residual no ha sido tratada adecuadamente [2].

Uno de los principales problemas de la contaminación orgánica o biológica del agua es el peligro eminente que representa para la salud humana. En los países en vías de desarrollo se estima que el 90% del agua residual no tratada es descargada en los cuerpos receptores de agua [6]. Es por esto que es indispensable el tratamiento de aguas residuales tanto para proteger a la salud pública como al medio ambiente (ecosistemas). Si las aguas residuales van a ser vertidas a un cuerpo receptor natural (mar, ríos, lagos), será necesario realizar un tratamiento para evitar enfermedades causadas por bacterias y virus en las personas que entran

en contacto con esas aguas, y también para proteger la fauna y flora presentes en el cuerpo receptor natural [7].

Adicionalmente, el agua residual contiene material particulado en suspensión y al ser descargada en cuerpos receptores naturales dicha materia orgánica se oxida reduciendo la concentración de oxígeno disuelto en el agua y de esta manera poniendo en riesgo la flora y la fauna acuáticas [8]. Por otra parte, los excrementos, fertilizantes y detergentes presentes en el agua residual contienen nitrógeno y fósforo, los que permiten un acelerado crecimiento de algas presentes en los cuerpos de agua. El crecimiento descontrolado de algas impide la fotosíntesis de las plantas acuáticas, cuando las algas mueren, se depositan en el fondo y sirven como alimento para las bacterias. Tanta comida permite un aumento de la cantidad de bacterias en el agua y a su vez, las bacterias consumen oxígeno, quedando muy poco para los otros seres vivos acuáticos, principalmente insectos y peces, los mismos que mueren por falta de oxígeno. Este proceso se llama eutrofización y, en casos extremos, podría producir la muerte de toda forma de vida en los cuerpos de agua [1]. En consecuencia, es importante y necesario controlar la carga orgánica de las aguas residuales antes de ser descargadas a un cuerpo receptor de agua para conservar y no alterar las formas de vida acuáticas.

## **2.1 Características Físicas, Químicas y Biológicas del Agua Residual**

Para poder contrarrestar los efectos que causa el agua residual tanto en cuerpos de agua receptores como en la salud humana es importante conocer en detalle sus características físicas, químicas y biológicas. Una caracterización adecuada del agua residual permite conocer su estado y diseñar el tipo de tratamiento adecuado al que debe ser sometida. Para la

caracterización del agua residual se emplean métodos de análisis cuantitativos y cualitativos para determinar su composición química y conocer sus características físicas y biológicas.

### ***2.1.1 Características Físicas***

La característica física más importante del agua residual es el contenido total de sólidos, que incluye la materia en suspensión, la materia sedimentable, la materia coloidal y la materia disuelta. Adicionalmente, otras características físicas importantes son el color, olor, temperatura, densidad y turbidez [9].

En el agua residual doméstica, el 99.9 % es agua y el 0.01 % son sólidos, de este último el 70% son sólidos orgánicos y el 30 % son inorgánicos (arenas, sales y metales) [10]. Los sólidos totales pueden clasificarse en filtrables (sólidos disueltos) o no filtrables (sólidos suspendidos) haciendo pasar un volumen conocido de la muestra de agua residual por un filtro. El filtro que se utiliza generalmente es de fibra de vidrio (Whatman GF/C), con un tamaño nominal de poro de 1,2  $\mu\text{m}$  [11]. Los sólidos suspendidos totales (SST) es decir el residuo no filtrable (non-filtrable residue, NFR) se obtienen después de someter al filtro a un proceso de evaporación a 105 °C y constituyen una medida de la calidad de agua [10].

La fracción filtrable de los sólidos corresponde a los sólidos coloidales y disueltos obtenidos después de la evaporación. La fracción coloidal está compuesto por partículas de tamaño entre 0,001 y 1  $\mu\text{m}$ , por lo que, usualmente no es posible eliminarlas por sedimentación. En estos casos se emplea la oxidación biológica o la coagulación complementados con la sedimentación para la eliminación de dichos sólidos [10].

Adicionalmente, los sólidos pueden ser clasificados por su volatilidad a una temperatura de  $550 \pm 50$  °C. A esta temperatura la fracción orgánica se oxida y desaparece en forma de gas, quedando la fracción inorgánica en forma de cenizas. De ahí que, se emplean los términos sólidos volátiles (SV) y sólidos fijos (SF) para hacer referencia a los componentes orgánicos e inorgánicos (o minerales) de los sólidos en suspensión, respectivamente. El análisis de sólidos volátiles se emplea habitualmente para determinar la estabilidad biológica de fangos de las aguas residuales [10]. En el caso en que los lodos provenientes del tratamiento biológico del agua residual se empleen como inóculos microbianos, la determinación de SSV es una medida indirecta de la biomasa presente en dichos lodos [12].

Por otro lado, los olores son un aspecto importante de las aguas residuales ya que afectan directamente a la salud humana, por lo que deben ser controlados apropiadamente. Los olores son generados debido a los gases liberados durante el proceso de descomposición de la materia orgánica. El agua residual fresca tiene un olor inofensivo más tolerable que el agua residual séptica (condiciones anaeróbicas) por la presencia de sulfuro de hidrógeno que se produce al reducirse los sulfatos por la acción de los microorganismos anaeróbicos [13].

Otro parámetro importante del agua residual constituye la temperatura, la cual suele ser siempre más elevada que la del agua de suministro, debido principalmente a la incorporación en los sistemas de alcantarillado de agua caliente proveniente de las casas y los diferentes usos industriales. Dependiendo de la situación geográfica, la temperatura del agua oscila entre 10 y 21 °C. La temperatura del agua es un factor muy importante debido a que influye en el desarrollo de la vida acuática, las reacciones químicas y la velocidad de reacción, así como también en el consumo del agua. A altas temperaturas la solubilidad del oxígeno disminuye

mientras que las velocidades de reacción química aumentan, lo cual resulta es una disminución de la concentración de oxígeno disuelto en el agua y representa un problema para las formas de vida presentes [9].

El color representa otro factor de importancia para el agua residual, ya que a través del mismo se puede diferenciar de manera general el estado en el que se encuentra el agua. Es así que, el agua residual fresca tiene un color grisáceo, sin embargo, al aumentar el tiempo de transporte en la redes de alcantarillado y al desarrollarse condiciones más próximas a las anaeróbicas, el color del agua cambia de gris a gris oscuro para finalmente adquirir un color negro[13].

Finalmente, la turbidez es una medida de las propiedades de transmisión de luz de una muestra de agua, es otro parámetro que se emplea para indicar la calidad de las aguas vertidas o de las aguas naturales en relación con la materia orgánica coloidal y residual en suspensión [9].

### ***2.1.2 Características Químicas***

Las propiedades químicas de las aguas residuales están dadas por tres componentes que se clasifican en: materia orgánica, compuestos inorgánicos y componentes gaseosos. Aproximadamente, cerca del 75% de los sólidos en suspensión y del 40% de los sólidos disueltos en el agua residual son de naturaleza inorgánica. Las sustancias orgánicas presentes en el agua residual son principalmente las proteínas (40-60%), carbohidratos (25-50%), y grasas y aceites (10%). Otro compuesto orgánico que también se encuentra presente en el agua residual es la urea, principal constituyente de la orina, sin embargo esta tiene una velocidad de descomposición alta, por lo que, raramente está presente en las aguas residuales almacenadas [9].

Como se mencionó anteriormente, entre las sustancias orgánicas presentes en el agua residual se encuentran los aceites y grasas, las mismas que, desde el punto de vista químico son sustancias muy similares, son compuestos (ésteres) de alcohol y glicerol (glicerina) con ácidos grasos. Los glicéridos o ácidos grasos que son líquidos a temperaturas normales se denominan aceites y los que son sólidos se denominan grasas. Las grasas son sustancias lipofílicas e hidrofóbicas, es decir, son insolubles en agua y por ende solubles en disolventes orgánicos. Se encuentran entre los compuestos orgánicos de mayor estabilidad, por lo que su descomposición por acción bacteriana no resulta fácil [14].

La presencia de aceites y grasas en el agua residual puede provocar problemas tanto en la red de alcantarillado como en las plantas de tratamiento. Estos materiales orgánicos tienden a solidificarse y adherirse a las líneas de desagüe, causando acumulaciones que producen ineficiencias en los sistemas de bombeo, las cañerías y las mismas líneas de desagüe. Adicionalmente, contenidos elevados de grasas y aceites pueden causar problemas tales como brotes de algas filamentosas, clarificación o decantación ineficiente y una eliminación insuficiente de sólidos [15].

Así mismo, los residuos de aceites lubricantes son generalmente difíciles de tratar utilizando procesos biológicos convencionales, debido a que, el aceite reduce la capacidad de floculación y consecuentemente la decantación del lodo que se produce durante el tratamiento del agua, afectando de esta manera la eficiencia de las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR). Sin embargo, el efecto que tiene el aceite en el tratamiento del agua residual y la concentración mínima a la que produce una reducción en la capacidad de tratamiento no están totalmente entendidos [16].

Otra de las sustancias orgánicas presentes en el agua residual constituye las proteínas. La composición química de las proteínas es compleja e inestable, por lo que tiene mecanismos de descomposición diferentes. La urea y las proteínas son los principales responsables de la presencia de nitrógeno en el agua residual [9].

El nitrógeno y el fósforo son nutrientes esenciales y bioestimuladores que sirven para el crecimiento de los protistas y de las plantas. Debido a que el nitrógeno es un elemento indispensable para la síntesis de proteínas, es necesario conocer sobre su concentración en las aguas residuales domésticas e industriales para evaluar la posibilidad de tratamiento de las mismas mediante procesos biológicos [13].

Adicionalmente, el agua residual también contiene pequeñas cantidades de moléculas orgánicas sintéticas de gran tamaño cuya estructura puede ser desde muy simple a extremadamente compleja, por ejemplo, agentes tensoactivos, compuestos orgánicos volátiles, pesticidas de uso agrícola, entre otros [9].

Los tensoactivos generalmente provienen de la descarga de detergentes, lavanderías industriales, etc., y son los responsables de la aparición de espumas en las plantas de tratamiento y en la superficie de los cuerpos de agua receptores de las descargas del agua residual [9].

Por otro lado, los pesticidas, herbicidas y otros productos químicos de uso agrícola se encuentran entre los compuestos orgánicos que están presentes a nivel traza. Estos contaminantes no son muy comunes en las aguas residuales, sin embargo son tóxicos para la mayor parte de las formas de vida y por tanto constituyen contaminantes peligrosos que

pueden resultar en la muerte de peces, contaminación de la carne de pescado y empeoramiento del agua suministrada [10].

Otro parámetro importante del agua residual es la alcalinidad, puesto que alcalinidad ayuda a regular los cambios de pH producidos por la adición de ácidos. La alcalinidad está definida por la presencia de hidróxidos, carbonatos y bicarbonatos de elementos como el calcio, magnesio, sodio, potasio o amoníaco. Los más comunes son el bicarbonato de calcio y de magnesio. Las aguas residuales domésticas tienen regularmente una alcalinidad ligeramente mayor que la del agua de la que provienen [17].

Dentro de los componentes inorgánicos del agua residual, uno de los de mayor importancia para el tratamiento de las aguas residuales son las sales. Altas concentraciones o cambios en la concentración de sales constituyen un reto para los procesos de tratamiento de aguas, de manera general, cuando las alcantarillas costeras están sujetas a infiltraciones por agua de mar o cuando efluentes industriales reciben descargas de procesos donde existen altos niveles de salinidad. Estudios bibliográficos han reportado que concentraciones moderadas de sales producen un efecto inhibitorio o tóxico en bacterias que no están adaptadas a soportar ambientes con salinidad alta; altas concentraciones de sal han demostrado causar plasmólisis y/o pérdida de la actividad celular [18]. Adicionalmente, la salinidad afecta significativamente las propiedades físicas y bioquímicas del lodo activado en una PTAR, conduciendo a cambios en la superficie de carga, hidrofobicidad, filtrabilidad, sedimentación y floculación [18].

### ***2.1.3 Características Biológicas***

Las propiedades biológicas son de vital importancia puesto que se trata de los microorganismos presentes en el agua residual, los organismos patógenos, así como los microorganismos que son utilizados como indicadores de contaminación del agua [10].

Los organismos patógenos provienen de desechos humanos que estén infectados o que son portadores de una enfermedad determinada y entre los principales organismos se encuentran las bacterias, los virus, los protozoos y el grupo de los helmintos. Los organismos patógenos se encuentran en pequeñas cantidades en el agua residual por lo que resulta difícil aislarlos e identificarlos. En consecuencia, se emplean organismos específicos que son indicadores de contaminación humana, como es el caso de los coliformes que se encuentran en gran número y son fáciles de identificar. Dentro del grupo coliformes se incluyen cuatro géneros de la familia Enterobacteriácea que son *Escherichia*, *Klebisella*, *Citrobacter* y *Enterobacter*, de todos los anteriores, el género *Escherichia* (especie *E. coli*) es el más representativo de la contaminación fecal [9].

Estos organismos patógenos excretados por el hombre causan enfermedades del aparato intestinal como la fiebre tifoidea y paratifoidea, la disentería, diarreas y cólera. Cada año estos organismos son responsables de un gran número de muertes en países con escasos recursos sanitarios, especialmente en zonas tropicales [19], por lo que resulta indispensable el análisis biológico del agua previo al consumo humano o al simple contacto con seres humanos.

## 2.2 Aspectos Legales

Las agencias gubernamentales a nivel mundial en su afán de minimizar los riesgos e impactos ambientales generados por las aguas residuales vertidas en los cuerpos receptores naturales han establecido leyes o normativas para preservar y conservar el medio ambiente. En el Ecuador los aspectos legales sobre el manejo y tratamiento de las aguas residuales, es decir, los límites de descarga en cuerpos de agua dulce, han sido establecidos por el Ministerio de Ambiente (MAE) y se encuentran en el Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria (TULAS) puesto en vigencia mediante Decreto Ejecutivo No. 3516 publicado en el Registro Oficial No. 2 Edición Especial, de fecha 31 de Marzo de 2003 [20]. La Tabla 2.1 tomada del Libro VI Calidad Ambiental, Anexo 1 Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes, Límites de Descarga a un Cuerpo de Agua Dulce resume los parámetros más importantes que se deben determinar para evaluar si el agua residual puede ser vertida en ambientes naturales o si requiere un tratamiento previo a su disposición.

**Tabla 2.1** Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce [20]

<b>Parámetros</b>	<b>Expresado como</b>	<b>Unidad</b>	<b>Límite máximo permisible</b>
Aceites y Grasas.	Sustancias solubles en hexano	mg/l	0,3
Alkil mercurio		mg/l	NO DETECTABLE
Aldehídos		mg/l	2,0
Aluminio	Al	mg/l	5,0
Arsénico total	As	mg/l	0,1
Bario	Ba	mg/l	2,0
Boro total	B	mg/l	2,0
Cadmio	Cd	mg/l	0,02
Cianuro total	CN <sup>-</sup>	mg/l	0,1
Cloro Activo	Cl	mg/l	0,5
Cloroformo	Extracto carbón	mg/l	0,1

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
	cloroformo ECC		
Cloruros	Cl <sup>-</sup>	mg/l	1 000
Cobre	Cu	mg/l	1,0
Cobalto	Co	mg/l	0,5
Coliformes Fecales	Nmp/100 mL		<sup>1</sup> Remoción > al 99,9 %
Color real	Color real	unidades de color	* Inapreciable en dilución: 1/20
Compuestos fenólicos	Fenol	mg/l	0,2
Cromo hexavalente	Cr <sup>+6</sup>	mg/l	0,5
Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	D.B.O <sub>5</sub> .	mg/l	100
Demanda Química de Oxígeno	D.Q.O.	mg/l	250
Dicloroetileno	Dicloroetileno	mg/l	1,0
Estaño	Sn	mg/l	5,0
Fluoruros	F	mg/l	5,0
Fósforo Total	P	mg/l	10
Hierro total	Fe	mg/l	10,0
Hidrocarburos Totales de Petróleo	TPH	mg/l	20,0
Manganeso total	Mn	mg/l	2,0
Materia flotante	<b>Visibles</b>		<b>Ausencia</b>
Mercurio total	Hg	mg/l	0,005
Níquel	Ni	mg/l	2,0
Nitratos + Nitritos	Expresado como Nitrógeno (N)	mg/l	10,0
Nitrógeno Total Kjeldahl	N	mg/l	15
Organoclorados totales	Concentración de organoclorados totales	mg/l	0,05
Organofosforados totales	Concentración de organofosforad	mg/l	0,1

<sup>1</sup> Aquellos regulados con descargas de coliformes fecales menores o iguales a 3 000, quedan exentos de tratamiento.

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
	os totales.		
Plata	Ag	mg/l	0,1
Plomo	Pb	mg/l	0,2
Potencial de hidrógeno	pH		5-9
Selenio	Se	mg/l	0,1
Sólidos Sedimentables		mL/L	1,0
Sólidos Suspendidos Totales		mg/L	100
Sólidos totales		mg/l	1 600
Sulfatos	SO <sub>4</sub> <sup>=</sup>	mg/l	1000
Sulfitos	SO <sub>3</sub>	mg/l	2,0
Sulfuros	S	mg/l	0,5
Temperatura	°C		< 35
Tensoactivos	Sustancias activas al azul de metileno	mg/l	0,5
Tetracloruro de carbono	Tetracloruro de carbono	mg/l	1,0
Tricloroetileno	Tricloroetileno	mg/l	1,0
Vanadio		mg/l	5,0
Zinc	Zn	mg/l	5,0

\* La apreciación del color se estima sobre 10 cm de muestra diluida.

### **2.3 Tratamiento del Agua Residual**

El agua residual está formada por agua residual doméstica proveniente de zonas residenciales, comerciales, institucionales y centros recreativos; agua residual no doméstica proveniente de las industrias, y finalmente agua resultante de las infiltraciones y conexiones erradas en el sistema de recolección de agua [13].

Dentro del tratamiento de las aguas residuales se identifican generalmente tres tratamientos, primario, secundario y terciario. El tratamiento primario consiste en la separación física de sólidos grandes (basura) de la corriente de aguas domésticas o industriales empleando un sistema de rejillas (mallas), aunque también existe la posibilidad de que esos materiales puedan ser triturados mediante la utilización de equipos especiales; posteriormente se aplica un desarenado (separación de sólidos pequeños muy densos como la arena) seguido de una sedimentación primaria (o tratamiento similar) que separe los sólidos suspendidos existentes en el agua residual [10].

A continuación, se tiene el tratamiento secundario que está diseñado para reducir la demanda de oxígeno del afluente del agua residual a un determinado nivel de purificación. La mayoría de las plantas municipales e industriales tratan el licor de las aguas residuales utilizando procesos biológicos. Una de las metodologías más empleadas para el tratamiento de las aguas residuales constituye los lodos activados, que consiste básicamente en la agitación y aireación de una mezcla de agua de desecho y un lodo de microorganismos seleccionados. Los microorganismos oxidan la materia orgánica presente en el agua de desecho, estabilizándola y disminuyendo así la carga orgánica contaminante. Para que este proceso sea efectivo, los

microorganismos requieren oxígeno y un substrato a partir del cual obtendrán su fuente de carbono y energía [10].

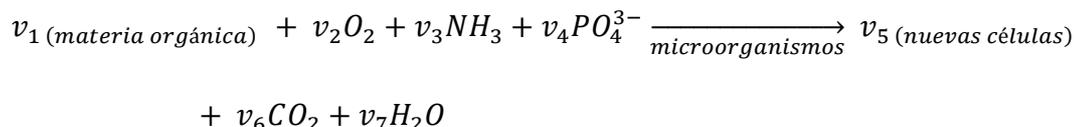
Posteriormente, la masa biológica es separada o removida (proceso llamado sedimentación secundaria), el agua tratada puede ser sometida a procesos adicionales como desinfección, filtración, lo cual corresponde al tratamiento terciario. El tratamiento terciario proporciona una etapa final para aumentar la calidad del efluente de acuerdo a los estándares requeridos antes de que éste sea descargado al cuerpo receptor de agua (mar, río, lago, campo, etc.) [4].

## **2.4 Tratamiento Biológico**

Como ya se mencionó brevemente, el propósito del tratamiento biológico es reducir la carga orgánica contaminante que contiene el agua residual. Por ello, los objetivos del tratamiento biológico para el agua residual doméstica son: oxidar los constituyentes biodegradables disueltos y particulados en productos finales aceptables tales como  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ ; además capturar e incorporar sólidos coloidales suspendidos y no sedimentables en un floc biológico o biofilm para facilitar su remoción y, finalmente transformar o remover nutrientes (nitrógeno y/o fósforo) y en algunos casos remover constituyentes y compuestos orgánicos en concentraciones traza [9].

La remoción de la demanda biológica de oxígeno (DBO) y la estabilización de la materia orgánica en el agua residual se llevan a cabo por la acción de microorganismos, especialmente bacterias. La siguiente ecuación muestra la oxidación aeróbica de la materia orgánica:

### **Ec. 2.1**



Donde  $v_1, v_2, v_3, v_4, v_5, v_6, v_7$  representan los coeficientes estequiométricos.

En la Ec. 2.1 el oxígeno es el agente oxidante y los compuestos de nitrógeno ( $NH_3$ ) y fosfato ( $PO_4^{3-}$ ) son los nutrientes necesarios para que los microorganismos transformen la materia orgánica en productos minerales, dióxido de carbono y agua. A partir de la degradación aeróbica de la materia orgánica se genera nueva biomasa (nuevas células) como resultado del proceso de descomposición catalizado por microorganismos [9].

#### **2.4.1 Metabolismo Microbiano**

Es importante conocer la actividad bioquímica de los microorganismos involucrados en el proceso de degradación de la materia orgánica para poder diseñar y seleccionar un determinado proceso de tratamiento biológico. Los microorganismos se clasifican de acuerdo a la fuente de carbono que utilizan, al aceptor y al donador de electrones y a la fuente de energía. Entre la gran variedad de aceptores de electrones que pueden existir se encuentran: oxígeno, nitritos, nitratos, hierro (III), sulfatos, compuestos orgánicos y dióxido de carbono [19].

Los microorganismos pueden obtener carbono para su crecimiento celular tanto de la materia orgánica (organismos *heterótrofos*) como del dióxido de carbono (organismos *autótrofos*). Sin embargo, los organismos autótrofos gastan una mayor cantidad de su energía para la síntesis celular en comparación a los organismos heterótrofos, resultando así en una menor eficiencia de masa celular y menores tasas de crecimiento [21].

En cuanto a la energía necesaria para la síntesis celular, ésta puede provenir tanto de la luz como de una reacción de oxidación química. Entonces, los organismos que son capaces de utilizar la luz como fuente de energía se denominan *fotótrofos*. Los organismos fotótrofos pueden ser tanto heterótrofos (algunas bacterias sulfato reductoras) como autótrofos (algas y bacterias fotosintéticas) [21].

Mientras que los organismos que derivan su energía de reacciones químicas se denominan *quimiótrofos*. Así como los autótrofos, los quimiótrofos pueden ser también heterótrofos, a este grupo pertenecen los protozoos, hongos y la mayoría de las bacterias; o autótrofos como por ejemplo las bacterias nitrificantes [21].

#### ***2.4.2 Tipos de Metabolismos Microbianos, Aeróbico y Anaeróbico***

El metabolismo microbiano se diferencia básicamente por el aceptor de electrones final de las reacciones de oxidación/reducción, en donde ocurre una transferencia de electrones de un donador de electrones (oxidación) al aceptor de electrones (reducción). Existen dos mecanismos a través de los cuales se puede dar el metabolismo microbiano, primero el aceptor de electrones puede estar disponible dentro de la célula durante su metabolismo celular (proceso endógeno) o también puede obtenerlo desde fuera de la célula, por ejemplo: oxígeno disuelto (proceso exógeno). Entonces, los organismos que generan energía mediante el transporte de electrones mediado por una enzima a un aceptor de electrones *externo* se dice que tienen un *metabolismo respiratorio*. Mientras que, el uso de un aceptor de electrones *interno* es denominado *metabolismo fermentativo* y es un proceso de menor eficiencia energética en comparación a la *respiración* [9].

Es decir, cuando el oxígeno es utilizado como el aceptor de electrones la reacción se denomina aeróbica y por lo tanto las reacciones que involucran otros aceptores de electrones son consideradas anaeróbicas. A los organismos que solo pueden suplir sus necesidades energéticas con oxígeno se los denomina microorganismos *aeróbicos estrictos*. Mientras que, algunas bacterias pueden usar el nitrito/nitrato como aceptor de electrones cuando el oxígeno no está disponible, a estas bacterias se les denomina *bacterias aeróbicas facultativas* [8].

**Tabla 2.2** Aceptores de electrones en las reacciones bacterianas normalmente presentes en el agua residual

Ambiente	Aceptor de Electrones	Proceso
Aeróbico	Oxígeno, O <sub>2</sub>	Metabolismo Aeróbico
Anaeróbico	Nitrato NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Denitrificación
	Sulfato, SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Reducción de Sulfato
	Dióxido de Carbono, CO <sub>2</sub>	Metanogénesis

#### 2.4.2.1 Requerimientos Nutricionales de Crecimiento

En la mayoría de ocasiones los nutrientes son el factor limitante para la síntesis y el crecimiento celular, es por esto que es indispensable su disponibilidad. Entre los principales nutrientes inorgánicos necesarios para los microorganismos (macronutrientes) se encuentran el nitrógeno (N), azufre (S), fósforo (P), potasio (K), magnesio (Mg), calcio (Ca), hierro (Fe), sodio (Na) y cloro (Cl). Al contrario, entre los nutrientes que se requieren en menores cantidades (micronutrientes) están el zinc (Zn), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), selenio (Se), cobalto (Co), cobre (Cu) y níquel (Ni) [21].

### 2.4.2.2 Factores Ambientales de Crecimiento

Los factores ambientales constituyen componentes limitantes para el desarrollo de los microorganismos, condiciones ambientales como la temperatura, el agua y el pH tienen un efecto importante en el crecimiento microbiano. De manera general, el crecimiento óptimo de un microorganismo sucede dentro de un pequeño rango de temperatura, pH y suficiente cantidad de agua, aunque muchos microorganismos son capaces de vivir dentro de límites más amplios. Entonces, los microorganismos se pueden clasificar de acuerdo al rango de temperatura donde se desarrollan adecuadamente en *psicrófilos*, *mesófilos* y *termófilos* [21].

**Tabla 2.3** Intervalos de temperatura óptimos para algunas bacterias

<b>Tipo</b>	<b>Intervalo de Temperatura, °C</b>	<b>Temperatura Óptima, °C</b>
<i>Psicrófilos</i>	10-30	12-18
<i>Mesófilos</i>	20-50	25-40
<i>Termófilos</i>	35-75	55-65

De igual manera, el pH es un factor clave para el crecimiento de los microorganismos. La mayoría de las bacterias no pueden tolerar niveles de pH sobre 9.5 o menor a 4.0. Generalmente, el pH óptimo para el crecimiento microbiano se encuentra entre 6.5 y 7.5.

## 2.5 Crecimiento Microbiano y Producción de Biomasa

Durante el tratamiento del agua residual ocurren dos procesos simultáneos, mientras el sustrato es consumido y degradado, la biomasa está siendo generada constantemente, como se detalla a continuación:

**Ec. 2.2**

$$\text{Producción de biomasa } Y = \frac{\text{g de biomasa producida}}{\text{g substrato utilizado (consumido)}}$$

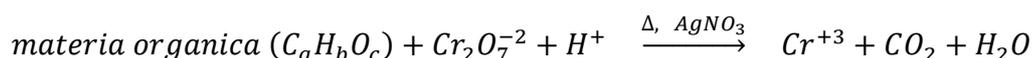
Como se indica en la Ec. 2.2 la relación entre la cantidad de biomasa producida y la cantidad de substrato consumido se define como la producción de biomasa o rendimiento celular (Y) y está definida en relación al donador de electrones utilizado [9].

Es así que, para las reacciones heterotróficas aeróbicas con substratos orgánicos, la producción de biomasa se expresa como g biomasa/g substrato orgánico consumido. Sin embargo, para tratamientos aeróbicos de agua residual doméstica e industrial que contienen grandes cantidades de compuestos orgánicos, la producción se basa en un parámetro cuantificable, el cual refleja el consumo global de los compuestos orgánicos, como la demanda química de oxígeno (DQO), o la demanda biológica de oxígeno DBO, entonces, la producción será g biomasa/g DQO removido, o g biomasa/g DBO removida, respectivamente [9].

El parámetro de contaminación orgánica más utilizado tanto para las aguas residuales como para las aguas superficiales es la medición de la DBO a 5 días ( $DBO_5$ ) en  $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ . La determinación de la DBO se emplea para establecer la cantidad aproximada de oxígeno que se requerirá para estabilizar biológicamente la materia orgánica presente, dimensionar las instalaciones de tratamiento de las aguas residuales, medir la eficiencia de algunos procesos de tratamiento y controlar el cumplimiento de la legislación ambiental a las que están sujetas las descargas dependiendo el caso [19].

Por otro lado, la DQO es un parámetro que sirve de igual manera para medir el grado de contaminación de una muestra de agua y se expresa en  $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ . Este parámetro determina la cantidad de oxígeno requerido para oxidar la materia orgánica en una muestra de agua residual en presencia de un agente oxidante fuerte en medio ácido. El agente oxidante que se utiliza es el dicromato de potasio  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$  con un catalizador ( $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ , sulfato de plata) para facilitar la oxidación de los compuestos orgánicos a temperaturas altas. La reacción estequiométrica se expresa de la siguiente manera:

### Ec. 2.3



Donde  $a$ ,  $b$  y  $c$  representan el número de átomos de carbono, hidrógeno y oxígeno, respectivamente.

La DQO del agua residual suele ser siempre mayor que su DBO, esto se debe a que existe un mayor número de compuestos que pueden ser oxidados químicamente comparados con compuestos que son oxidados biológicamente, como es el caso de las sustancias inorgánicas (sulfuros, sulfitos, yoduros, etc.). Una de las ventajas de la DQO frente a la DBO es que es un método más rápido, la determinación de la DQO se realiza en 3 horas, mientras que para la determinación de la  $\text{DBO}_5$  se necesitan 5 días. Sin embargo, una de las desventajas de la DQO es que también ocurre la degradación de la materia no biodegradable, por lo cual no representa una medida real del contenido de la materia orgánica presente el agua residual. Entonces, la relación entre la  $\text{DBO}_5/\text{DQO}$  para el agua residual doméstica debe ser entre 0,3 y 0,8; mientras que cuando ya se ha realizado el tratamiento biológico la relación  $\text{DBO}_5/\text{DQO}$  debe ser mayor

a 0,5. Adicionalmente, un valor típico de DBO en las aguas residuales municipales es de 250 mg L<sup>-1</sup>, sin embargo algunas aguas residuales industriales pueden llegar a tener valores de más de 1000 mg L<sup>-1</sup> de DBO [10].

### ***2.5.1 Medición de Crecimiento de Biomasa***

Debido a que la biomasa está constituida principalmente por materia orgánica, un incremento en la biomasa puede ser medido por los sólidos suspendidos volátiles (SSV) o la demanda química de oxígeno particulada (DQO total menos la DQO soluble), siendo el primero el más utilizado. La determinación de los SSV durante el tratamiento del agua residual es relativamente simple y solo se requiere un tiempo mínimo para su análisis en comparación con una medición de la biomasa como tal que requiere más tiempo y recursos. Una de las desventajas de evaluar la biomasa a través de la medición de SSV, es que SSV medidos incluyen otra materia orgánica particulada además de la biomasa, por lo tanto su determinación no solo refleja la cantidad de microorganismos presentes. No obstante, la medida de SSV es utilizada como un indicador aparente de la producción de biomasa y también proporciona una medición útil de los sólidos en el reactor [10].

## **2.6 Tipos de Procesos Biológicos para Tratamiento de Agua Residual**

Los principales procesos biológicos para el tratamiento aeróbico de las aguas residuales se dividen principalmente en dos categorías:

- Cultivo Fijo (película fija)
- Cultivo en Suspensión

### ***2.6.1 Procesos de Tratamiento Aeróbico de Cultivo Fijo (Película Fija)***

Los procesos de tratamiento aeróbico de cultivo fijo se denominan como tal debido a que los microorganismos responsables de la conversión de la materia orgánica se encuentran adheridos a una material de empaque inerte. Mientras el flujo pasa a través del cultivo fijo también llamado película fija (biofilm) el material orgánico es removido. Entre los materiales de empaque utilizados para este tipo de proceso se encuentran la roca, grava, arcilla, arena y una gran variedad de materiales plásticos y otros materiales sintéticos. Una de las ventajas de este proceso de tratamiento adherido es que puede funcionar tanto aeróbica como anaeróbicamente [9].

### ***2.6.2 Procesos de Tratamiento Aeróbico de Cultivo en Suspensión***

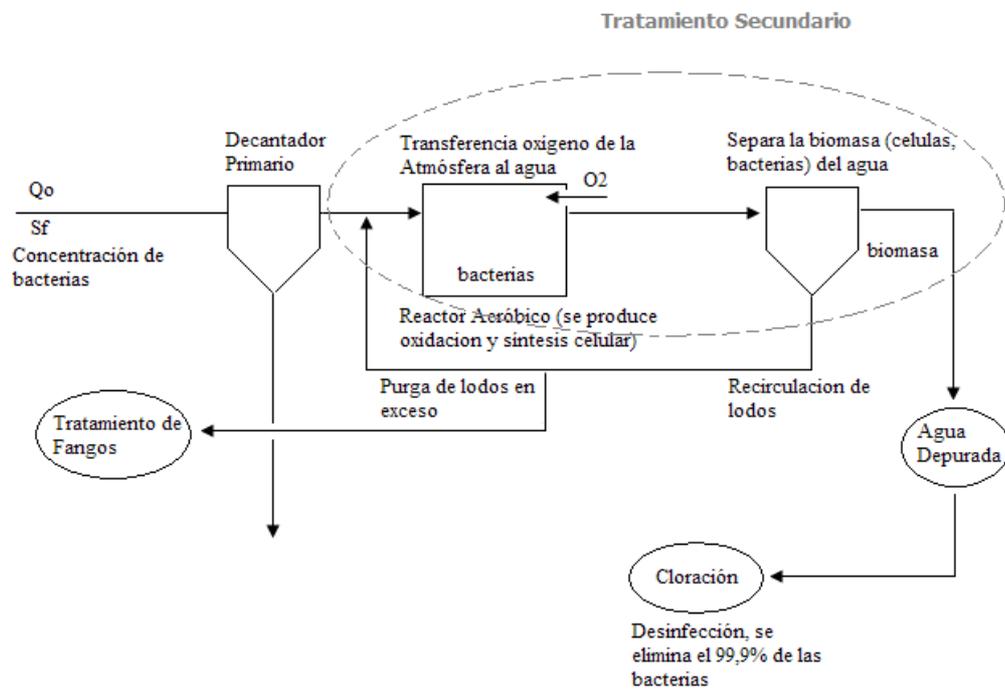
Por el contrario, en el proceso de cultivo en suspensión los microorganismos responsables del tratamiento se encuentran suspendidos en un medio líquido, con un método de mezcla apropiado. Generalmente, la mayoría de los procesos de cultivo suspendido utilizados en los tratamientos de las aguas residuales industriales y domésticas operan con una concentración de oxígeno disuelto apropiado (procesos aeróbicos); sin embargo, también existen tratamientos de cultivo suspendido en ausencia de oxígeno (procesos anaeróbicos) generalmente utilizados para el tratamiento de aguas industriales con alta concentración de materia orgánica [9].

Dentro de los principales procesos de tratamiento biológico de cultivo en suspensión para eliminación de la materia orgánica carbonácea presente en el agua residual doméstica se encuentra el proceso de lodos activados que se describirá en mayor detalle a continuación.

### ***2.6.2.1 Proceso de Lodos Activados***

El proceso de lodos activado fue desarrollado en 1913 en la Estación Experimental Lawrence en Massachusetts por Clark y Gage y por Arden y Lockett (1914) en los Trabajos de Aguas Residuales en Manchester, Inglaterra [9]. Este proceso fue denominado lodos activados, debido a que, involucra la producción de una masa activada de microorganismos capaces de estabilizar los residuos bajo condiciones aeróbicas. Para que se lleve a cabo el proceso, en el tanque de aireación se proporciona un tiempo de contacto para la mezcla y aireación del afluente con la masa microbiana en suspensión, lo que generalmente se llama *licor mezcla de los sólidos suspendidos (LMSS)* o *licor mezcla de los sólidos suspendidos volátiles (LMSSV)*.

Para la mezcla y transferencia de oxígeno durante el proceso de tratamiento se emplea un equipo mecánico. A continuación, el licor mezcla pasa a un clarificador donde la materia orgánica en suspensión se sedimenta y se aglomera. La biomasa sedimentada es retornada al tanque de aireación para mantener en el reactor la concentración de biomasa adecuada para alcanzar mayor eficiencia en el proceso de remoción de la DBO, mientras que, la otra porción de la biomasa aglomerada es removida diaria o periódicamente del sistema conforme el proceso produce un exceso de la misma que puede acumularse conjuntamente con sólidos no biodegradables contenidos en el afluente del agua residual [10].



**Figura 2.1** Diagrama del proceso de tratamiento de agua residual mediante los lodos Activados [10].

### 3. Materiales y Métodos

#### 3.1 Reactivos

Acido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) (95-97%, pureza), fosfato dihidrógeno de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) (99%) e hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ ) (99%) se obtuvieron de Merck (Darmstadt, Germany). Fenol ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ ) (95%), glucosa ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ) (98%), cloruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) (98%), cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ) (98%) y nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) (995) se obtuvieron de Reactivos H.V.O (Quito, Ecuador). Cloruro de Sodio ( $\text{NaCl}$ ) (99,9% pureza), Sulfato de magnesio ( $\text{MgSO}_4$ ) (99.9%), dicromato de potasio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) (99,9%) y ftalato de hidrogeno de potasio ( $\text{C}_8\text{H}_5\text{O}_4\text{K}$ , potassium hydrogen phthalate KHP) (99.5%) se obtuvieron de J.T Baker Inc. (Phillipsburg, NJ, USA). Petróleo (TPH) ( $\delta = 0,85 \text{ g cm}^{-3}$ ) se obtuvo de la Refinería de Esmeraldas (Esmeraldas, Ecuador).

Adicionalmente, se utilizó *aceite de soja* (a veces denominado también aceite de soya) fabricado por La Fabril (San Lorenzo – Ecuador). Este aceite vegetal procede del prensado de la soja (*Glycine max*) y es abundante en ácidos grasos poli insaturados ( $\delta = 0,92 \text{ g cm}^{-3}$ ).

#### 3.2 Lodos

En este estudio se utilizaron lodos provenientes de una Planta de Tratamiento de Agua Residual (PTAR) doméstica e industrial de la ciudad de Quito. El agua residual que llega a la PTAR ingresa primero a un tanque de ecualización compuesto de tres etapas (Pre-Sedimentación/Alimentación/Lodo) para separar papeles, materiales insolubles, plásticos y sólidos sedimentables. A continuación, se encuentra la estación de tratamiento biológico cuya alimentación es el efluente del tanque ecualizador succionado por medio de una bomba. El reactor biológico consta de dos estadios con el objetivo de tener una eficiencia de remoción de

la materia orgánica del 80 – 85 %. En estos bioreactores ocurre la degradación de la materia orgánica disuelta, produciendo biomasa como lodo activado y dióxido de carbono que es liberado a la atmósfera. Soportes de plástico, libres y flotantes se encuentran en los birreactores con la finalidad de proporcionar una extensa superficie para el desarrollo del biofilme ( $500 \text{ m}^2$  de superficie  $\text{m}^{-3}$  volumen del reactor). La muestra de los lodos activados se tomó en el primer estadio del reactor aeróbico de la PTAR.

### **3.3 Medio de Cultivo**

La composición del medio basal mineral utilizado para los bioensayos de degradación de la glucosa contiene (en  $\text{mg L}^{-1}$ ):  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (280),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (100),  $\text{CaCl}_2$  (10), extracto de levadura (10),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (2050), además se agregó  $1 \text{ mL L}^{-1}$  de una solución de elementos traza que contiene (en  $\text{mg L}^{-1}$ ):  $\text{H}_3\text{BO}_3$  (50),  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (2000),  $\text{ZnCl}_2$  (50),  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (50),  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (50),  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (90),  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (2000),  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (50),  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (30),  $\text{NaSeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (100), EDTA (1000), Resazurina (200), HCl 36% ( $1 \text{ mL L}^{-1}$ ), el pH de la solución fue ajustado entre 7.1 y 7.3 utilizando NaOH y HCl según lo requerido.

### **3.4 Cultivo Microbiano Enriquecido**

El cultivo microbiano enriquecido se realizó en experimentos batch por triplicado utilizando erlenmeyers de 125 mL, un volumen determinado de medio basal mineral (50 – 100 mL) e inóculo microbiano 10% (v/v) de los lodos provenientes del reactor aeróbico de la PTAR de la ciudad de Quito y una concentración de glucosa de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  (substrato). También se realizaron ensayos por triplicado que carecían de glucosa, los cuales sirvieron como controles abióticos. Los erlenmeyers fueron cubiertos en la parte superior con algodón para facilitar el transporte de oxígeno desde la atmósfera exterior. Los controles y tratamientos se colocaron

en una incubadora a  $30 \pm 2$  °C con una agitación constante durante 24 horas. Se tomaron muestras a diferentes intervalos de tiempo y se determinó la densidad óptica de las mismas.

### **3.5 Bioensayos**

#### ***3.5.1 Degradación de la Glucosa con respecto a la Concentración de la Biomasa***

Se llevaron a cabo experimentos batch para determinar la degradación de la glucosa en presencia de diferentes concentraciones de biomasa. Los bioensayos fueron realizados por triplicado usando erlenmeyers de 125 mL. El porcentaje de volumen de cultivo enriquecido que se utilizó en los tratamientos T1-B, T2-B, T3-B y T4-B fue de 1, 2,5, 5 y 10%, respectivamente y el volumen de medio basal mineral en cada uno de los tratamientos fue de 99, 97,5, 95 y 90 mL, respectivamente, teniendo al final un volumen total por cada tratamiento de 100 mL. La concentración de la glucosa que se utilizó fue de  $1 \text{ g L}^{-1}$ . Adicionalmente, se realizaron controles abióticos por triplicado en los que se colocaron 5 mL de agua destilada en lugar de inóculo microbiano, 95 mL de medio basal mineral y glucosa ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ). Todos los erlenmeyers fueron cubiertos en la parte superior con algodón para facilitar el intercambio de oxígeno con la atmósfera exterior. Los ensayos se colocaron en una incubadora a  $30 \pm 2$  °C con agitación constante durante aproximadamente un período de 12 horas.

#### ***3.5.2 Degradación de la Glucosa en Presencia de Aceite Vegetal y Aceite Vegetal Quemado***

Los bioensayos se realizaron por triplicado utilizando erlenmeyers de 125 mL. Las concentraciones de aceite vegetal evaluadas se seleccionaron en base al Libro VI Calidad Ambiental, Anexo 1 Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes, Tabla 12 Límites de Descarga a un Cuerpo de Agua Dulce, en donde se establece que el límite de descarga para aceites y grasas en el Ecuador es de  $50 \text{ mg L}^{-1}$  [20]. Con esta información se

evaluaron cuatro concentraciones diferentes de aceite, tratamientos con aceite vegetal T1-AV, T2-AV, T3-AV y T4-AV y tratamientos con aceite vegetal quemado T1-AVQ, T2-AVQ, T3-AVQ y T4-AVQ, con concentraciones de aceite normal y quemado de 100, 250, 500 y 1000 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. En estos bioensayos se utilizó como inóculo microbiano 10% (v/v) de cultivo enriquecido y el volumen del medio basal mineral fue de 90 mL con una concentración de glucosa de 1 g L<sup>-1</sup>. En los bioensayos en los que se empleó aceite vegetal quemado, el aceite de soya se colocó en un horno (Precision Scientific, Winchester, VA, USA) a una temperatura de 180 °C durante un periodo de 6 horas previo a su utilización. La cantidad de aceite vegetal normal y quemado evaluada en cada uno de los tratamientos fue suministrada como aceite de soya en volumen ( $\delta = 0,92 \text{ g cm}^{-3}$ ) a través de una micropipeta de 100  $\mu\text{L}$  (Gilson Inc, Middleton, WI, USA). Paralelamente, se realizaron ensayos por triplicado con 10% (v/v) de cultivo enriquecido y medio basal mineral con una concentración de 1 g glucosa L<sup>-1</sup> en ausencia de aceite vegetal los cuales fueron empleados como controles bióticos. Se incluyó un control abiótico, el cual carecía de la presencia de inóculo microbiano y contenía la máxima concentración de aceite evaluada en este estudio, 1000 [mg L<sup>-1</sup>].

En todos los experimentos los erlenmeyers fueron cubiertos en la parte superior con algodón de tal manera que se permita y se facilite el intercambio de oxígeno con la atmósfera exterior. Los ensayos se colocaron en una incubadora a  $30 \pm 2 \text{ °C}$  con agitación constante por un periodo de 15 horas.

### ***3.5.3 Degradación de la Glucosa en Presencia de Diferentes Concentraciones de Sal***

Los ensayos tipo batch se realizaron por triplicado utilizando erlenmeyers de 125 mL. Se realizaron cuatro distintos tratamientos T1-S, T2-S, T3-S y T4-S, donde se utilizaron concentraciones de sal suministrada como NaCl de 100, 250, 500 y 1000 mg L<sup>-1</sup>,

respectivamente. En estos bioensayos se utilizó como inóculo microbiano 10% (v/v) de cultivo enriquecido y el volumen del medio basal mineral fue de 90 mL con una concentración de glucosa de 1 g L<sup>-1</sup>. La cantidad de sal evaluada en cada uno de los tratamientos fue suministrada a partir de una solución stock de NaCl. De manera similar, se realizaron ensayos por triplicado con 10% (v/v) de cultivo enriquecido y medio basal mineral con una concentración de 1 g glucosa L<sup>-1</sup> en ausencia de NaCl los cuales fueron incluidos como controles bióticos. Adicionalmente, se incluyó un control abiótico, el cual carecía de la presencia de inóculo microbiano y contenía NaCl en la concentración máxima evaluada de 1000 mg L<sup>-1</sup>.

En todos los experimentos los erlenmeyers fueron cubiertos en la parte superior con algodón de tal manera que se permita y se facilite el intercambio de oxígeno con la atmósfera exterior. Los tratamientos se colocaron en una incubadora a 30 ± 2 °C con agitación constante por un periodo de 15 horas.

#### ***3.5.4. Degradación de la Glucosa en Presencia de Diferentes Concentraciones de TPHs***

Los bioensayos se realizaron por triplicado utilizando erlenmeyers de 125 mL. Las concentraciones de TPH evaluadas en este estudio fueron seleccionadas a partir del Libro VI Calidad Ambiental, Anexo 1 Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes, Tabla 12 Límites de Descarga a un Cuerpo de Agua Dulce, en donde se establece que el límite de descarga para TPH en el Ecuador es de 20 mg L<sup>-1</sup> [20]. Se realizaron cuatro tratamientos T1-TPH, T2-TPH, T3-TPH y T4-TPH donde se evaluaron concentraciones de TPH de 100, 250, 500 y 1000 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. En estos tratamientos se utilizó como inóculo microbiano 10% (v/v) de cultivo enriquecido y el volumen del medio basal mineral fue de 90 mL con una

concentración de glucosa de  $1 \text{ g L}^{-1}$ . Las cantidades de TPH evaluadas en cada tratamiento fueron suministradas en volumen empleando una densidad de  $0.92 \text{ g cm}^{-3}$ . Así mismo, se realizaron ensayos por triplicado con 10% (v/v) de cultivo enriquecido y medio basal mineral con una concentración de  $1 \text{ g glucosa L}^{-1}$  en ausencia TPH los cuales fueron incluidos como controles bióticos. Adicionalmente, se incluyó un control abiótico, el cual carecía de la presencia de inóculo microbiano y contenía TPH en una concentración de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ .

En todos los experimentos los erlenmeyers fueron cubiertos en la parte superior con algodón de tal manera que se permita y se facilite el intercambio de oxígeno con la atmósfera exterior. Los tratamientos se colocaron en una incubadora a  $30 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  con agitación constante por un periodo de 15 horas.

### **3.6 Métodos Analíticos**

#### ***3.6.1 Demanda Química de Oxígeno (DQO)***

La determinación de la DQO soluble se realizó a través de un método colorimétrico descrito en Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales [11]

Para la medición de la DQO, se preparó una solución de digestión de alto rango mediante el siguiente procedimiento: 2,554 g de dicromato de potasio seco ( $150 \text{ }^\circ\text{C}$  durante dos horas), se disolvieron en 125 mL de agua destilada, posteriormente se añadieron 41,75 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , la solución se disolvió a temperatura ambiente y finalmente se aforó a 250 mL.

Así mismo, la solución de ácido sulfúrico se preparó con ácido sulfúrico concentrado y nitrato de plata en una relación de  $6 \text{ g AgNO}_3 \text{ kg}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ . Brevemente, 2,76 g de nitrato de plata se disolvieron en 250 mL de ácido sulfúrico concentrado ( $\delta = 1,84 \text{ g mL}^{-1}$ ) durante dos días.

La determinación de la DQO se llevó a cabo empleando estándares de KHP. Para la preparación de los estándares de KHP, el compuesto se trituro ligeramente y se secó a 110 °C. El KHP tiene una DQO teórica de 1.176 mg O<sub>2</sub> mg<sup>-1</sup>KHP. Se preparó una solución madre de KHP equivalente a 1000 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> disolviendo 212,6 mg de KHP en 250 mL de agua destilada. La solución se mantuvo en refrigeración a 4 °C. A partir de la solución madre, se preparó una curva de calibración con estándares KHP equivalentes a 0, 50, 100, 250, 500, 750 y 1000 mg O<sub>2</sub> mL<sup>-1</sup>.

Las muestras para la determinación de la DQO se prepararon de la siguiente manera: en un tubo de ensayo con tapón rosca se colocaron 2,5 mL de la muestra, se agregaron 1,5 mL de solución digestora, se añadieron 3,5 mL de la solución de ácido sulfúrico, se cerraron los tubos de ensayo y se mezclaron cuidadosamente ya que la reacción desprende mucho calor. Seguidamente, las muestras se colocaron en un horno (Precision Scientific, Winchester, VA, USA) a 150°C por 2 horas. Finalmente, se midió la absorbancia a 600 nm utilizando un colorímetro Spectronic 20D+ (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA, USA). Previo a la preparación de las muestras, estas fueron centrifugadas durante 15 minutos y de ser necesario diluidas para estar dentro del rango de los estándares de KHP. Las muestras fueron analizadas por triplicados y los estándares y blancos se corrieron durante cada medición para minimizar errores instrumentales y asegurar la precisión del método analítico.

### ***3.6.2 Determinación de los Sólidos Suspendidos Totales (SST) y los Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)***

La determinación de los sólidos suspendidos totales (SST) y los sólidos suspendidos volátiles (SSV) se realizó de acuerdo al protocolo descrito en Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales [11].

Los SST y SSV se determinaron utilizando filtros de microfibra de vidrio 934-AH con diámetro de 90 mm (Whatman, Piscataway, NJ, USA) de 4 cm de diámetro. Los filtros se rotularon con lápiz para facilidad de identificación y se determinó el peso de los mismos. A continuación se armó el equipo de filtración al vacío y se filtró 15 mL de muestra.

Finalmente, los filtros se colocaron en platos de aluminio y se sometieron a un proceso de evaporación en un horno durante toda la noche a 105 °C. Los filtros retirados del horno se enfriaron en el desecador y posteriormente se registró el peso del filtro con los sólidos secos.

Por otro lado, para la determinación de los sólidos suspendidos volátiles, se colocaron los filtros secos sobre crisoles los mismos que se pusieron en la mufla a 550 °C durante tres horas. Se retiraron los filtros de la mufla, se enfriaron en el desecador y se pesó el filtro con las cenizas.

### ***3.6.3 Medición de la Densidad Óptica***

La densidad óptica se midió utilizando un colorímetro Spectronic 20D+ (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA, USA) de la siguiente manera. Se tomaron 3 mL de muestra en un tubo de ensayo para medir la absorbancia a una longitud de onda de 600 nm. Las muestras fueron tomadas en el tiempo cero y en intervalos de tiempo de 3 horas hasta que el crecimiento microbiano alcance la fase de mantenimiento.

### 3.6.4 Medición de la Glucosa

La concentración de la glucosa fue determinada por un método colorimétrico desarrollado por Dubois y colaboradores [22]. Los reactivos que se utilizaron fueron fenol al 5% (v/v) y ácido sulfúrico concentrado. La solución de fenol al 5% se preparó pesando 2,5 g de fenol, fundiéndolo a 50 °C y aforrándolo a 50 mL con agua destilada.

La concentración de la glucosa en los diferentes bioensayos se determinó a partir de una curva de calibración de glucosa. Se preparó una solución madre de glucosa de 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  disolviendo 100 mg de glucosa en 1000 mL de agua destilada. A partir de esta solución madre se prepararon seis estándares para realizar la curva de calibración los cuales se detallan en la Tabla 3.1.

**Tabla 3.1** Preparación de estándares de la glucosa a partir de una solución madre de 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$

No.	Glucosa 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ [mL]	H <sub>2</sub> O [mL]	Estándares [mL]	Fenol 5 % [mL]	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> [mL]	Total [mL]
1	0	0,5	0,5	0,5	2,5	3,5
2	0,1	0,4	0,5	0,5	2,5	3,5
3	0,2	0,3	0,5	0,5	2,5	3,5
4	0,3	0,2	0,5	0,5	2,5	3,5
5	0,4	0,1	0,5	0,5	2,5	3,5
6	0,5	0	0,5	0,5	2,5	3,5

Para la medición de la glucosa se tomaron 0,7 mL de muestra de cada uno de los bioensayos incluidos los tratamientos y los controles bióticos y abióticos. Las muestras fueron centrifugadas por 5 minutos utilizando un micro centrífuga (Labnet, NJ, USA) a una velocidad de 10000 rpm, se realizaron diluciones (en el caso que se requiera para estar dentro del rango de los estándares de la glucosa) y se transfirieron 0,5 mL de la muestra a un tubo de ensayo donde se añadieron 0,5 mL de una solución de fenol al 5% (v/v) y 2,5 mL de ácido sulfúrico

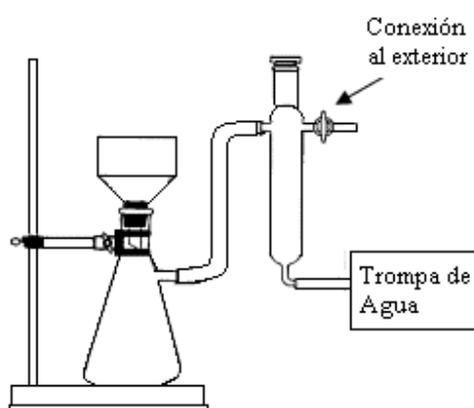
concentrado. Se mezcló cada tubo, se dejó reposar durante 7 minutos y posteriormente se calentó a 45°C durante 20 minutos. Una vez fríos los tubos de ensayo, se midió la concentración de la glucosa de cada muestra en base a la intensidad del color a una longitud de onda de 490 nm empleando el colorímetro Spectronic 20D+ (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA, USA). Las muestras se tomaron a diferentes intervalos de tiempo. Estándares y blancos se corrieron durante cada medición para minimizar errores instrumentales y asegurar la precisión del método analítico.

## 4. Resultados y Discusión

### 4.1 Caracterización de los Lodos Activados y del Cultivo Microbiano Enriquecido

#### 4.1.1 Determinación de los Sólidos Suspendidos Totales (SST) y los Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)

La medición de los SST y SSV tanto de los lodos del bioreactor aeróbico de la PTAR de la ciudad de Quito como del cultivo microbiano enriquecido se realizó de acuerdo al protocolo descrito en la sección de Materiales y Métodos. Brevemente, la muestra a analizar se filtra al vacío, se vierte la muestra en un embudo a través de un filtro de fibra de vidrio (tamaño nominal de poro 1,2  $\mu\text{m}$ ), los sólidos suspendidos de la muestra se quedan en el filtro y el líquido filtrado se desecha. Los sólidos son sometidos a evaporación durante una noche, posteriormente se registra su peso y finalmente se los calcina durante 3 horas y se determina el peso final. En la figura 4.1 se muestra un esquema del equipo de filtración al vacío que se empleó para estos análisis:



**Figura 4.1** Esquema de la filtración al vacío empleado en la determinación de los SST y los SSV de los lodos activados y del cultivo aeróbico enriquecido

Los sólidos suspendidos totales, SST, en  $\text{g L}^{-1}$  se obtienen dividiendo la masa de los sólidos totales para el volumen de la muestra (Ec. 4.1):

$$SST \left( \frac{\text{g}}{\text{L}} \right) = \frac{m_{st}}{V} \quad \text{Ec. 4.1}$$

donde,  $m_{st}$ , es la masa de los sólidos totales (g) = (peso sólidos + filtro) – peso del filtro

$V$ , es el volumen de la muestra (L)

De la misma manera, la determinación de la cantidad de SSV en  $\text{g L}^{-1}$  se realiza dividiendo la masa de sólidos volátiles para el volumen de la muestra (Ec. 4.2):

$$VSS \left( \frac{\text{g}}{\text{L}} \right) = \frac{m_{st} - m_c}{V} \quad \text{Ec. 4.2}$$

donde,  $m_c$ , es la masa de la ceniza (g) = (peso de cenizas + filtro) – peso del filtro

Los resultados de los SST y los SSV para los lodos activados y el cultivo aeróbico enriquecido empleados en este estudio se encuentran resumidos en la Tabla 4.1 y Tabla 4.2, respectivamente.

**Tabla 4.1** SST y SSV de los lodos activados de la PTAR

<b>Lodos</b>		
<b>SST [<math>\text{g L}^{-1}</math>]</b>	<b>SSV [<math>\text{g L}^{-1}</math>]</b>	<b>[%] SSV/SST</b>
0,49 ± 0,06	0,39 ± 0,03	78,73

**Tabla 4.2** SST y SSV del cultivo aeróbico enriquecido

<b>Cultivo Aeróbico Enriquecido</b>		
<b>SST [<math>\text{g L}^{-1}</math>]</b>	<b>SSV [<math>\text{g L}^{-1}</math>]</b>	<b>[%] SSV/SST</b>
0,14 ± 0,03	0,09 ± 0,03	60,47

La determinación de los sólidos suspendidos totales (SST) y los sólidos suspendidos volátiles (SSV) es de gran utilidad en el control de operación de una planta de tratamiento de aguas residuales. Los valores de los SST y los SSV ofrecen una medida aproximada de la cantidad de materia orgánica presente en la fracción sólida de las aguas residuales, los lodos activados, y los residuos industriales. En el caso de los lodos activados, los lodos se encuentran en forma de flóculos que contienen biomasa viva y muerta además de partes minerales y orgánicas adsorbidas y almacenadas [9].

Adicionalmente, tanto los SST como los SSV son una medida de la calidad del agua. Los SST representan la materia orgánica e inorgánica en suspensión y los SSV corresponden a una medida indirecta del material orgánico presente [12].

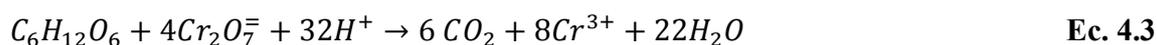
Como se puede observar en las Tablas 4.1 y 4.2, la concentración de los SSV en los lodos activados es aproximadamente 5 veces mayor que la concentración de SSV en el cultivo aeróbico enriquecido. Esta relación es coherente, ya que en el cultivo enriquecido primordialmente los microorganismos están presentes, mientras que los lodos activados contienen además de microorganismos, materia orgánica en suspensión y/o material particulado [12].

De acuerdo a los resultados que se obtuvieron de los SST y los SSV del lodo de la PTAR (Tabla 4.1) y del cultivo microbiano enriquecido (Tabla 4.2) se determinó que la relación entre los SSV y los SST para los lodos y el cultivo aeróbico enriquecido es de 78,73 y 60,47% respectivamente, lo que nos indica que los resultados se encuentran dentro de los valores típicos obtenidos en las PTARs. Generalmente, los SSV corresponden a un 60 – 70 % de los SST [9].

#### **4.2 Desarrollo de un Método Analítico para la Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)**

El método analítico desarrollado en este estudio para determinar la demanda química de oxígeno está descrito en la sección de Materiales y Métodos. Brevemente, se oxida la materia orgánica con una mezcla en ebullición de ácido sulfúrico y dicromato de potasio durante 2 horas a 150 °C. A continuación, se mide la absorbancia a una longitud de onda de 600 nm y se determina la DQO comparando dicho valor con una curva de calibración con estándares de KHP.

Teniendo en consideración que en la determinación de la DQO se acelera artificialmente el proceso de biodegradación que realizan los microorganismos, mediante un proceso de oxidación forzada, utilizando oxidantes químicos y métodos debidamente estandarizados, la degradación química de la muestra de agua residual sintética con glucosa evaluada en este estudio puede expresarse como [10]:



La curva de calibración para determinar la DQO se realizó con estándares de KHP previamente descritos. La preparación de los estándares de KHP equivalentes a 0, 50, 100, 250, 500 y 750 mg O<sub>2</sub> mL<sup>-1</sup> se presenta en la Tabla 4.3. Así mismo, la preparación de los estándares y las muestras para la medición de la DQO se indican en la Tabla 4.4.

**Tabla 4.3** Preparación de estándares de KHP para la determinación de DQO

<b>Estándar de KHP [mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>]</b>	<b>Solución madre KHP [mL]</b>	<b>H<sub>2</sub>O [mL]</b>
50	0,5	9,5
100	1	9
250	2,5	7,5
500	5	5
750	7,5	2,5
1000	10	0

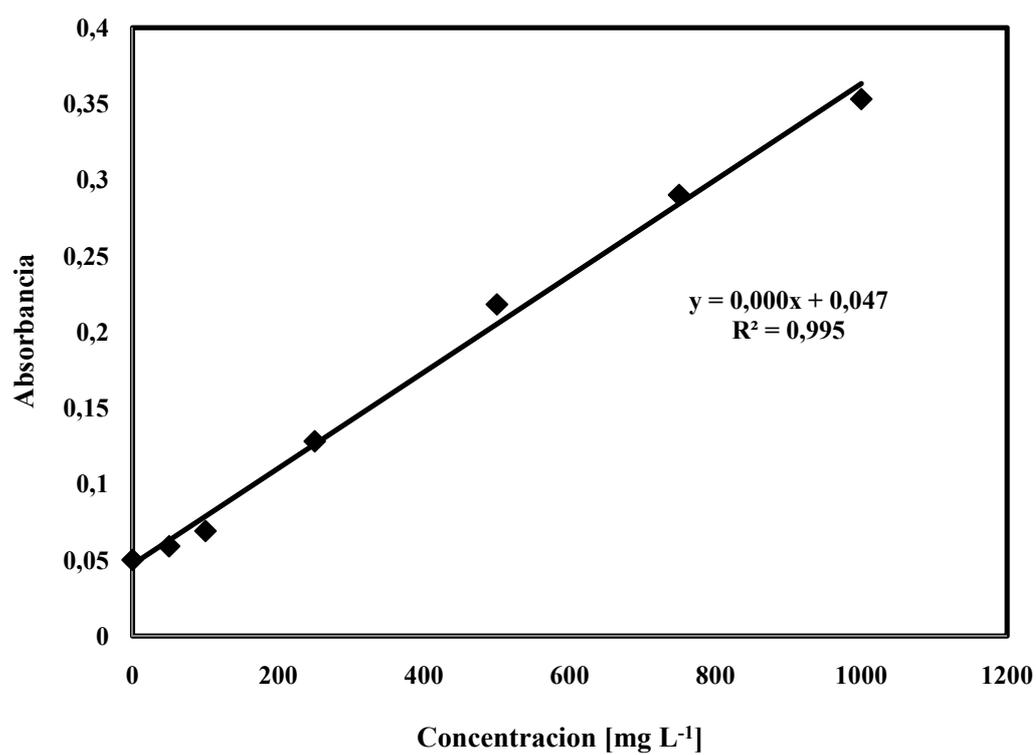
**Tabla 4.4** Preparación de muestras para determinar la DQO (estándares y muestras)

<b>Muestra/Estándar [mL]</b>	<b>Solución Digestora [mL]</b>	<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Reactivo [mL]</b>	<b>Total [mL]</b>
2,5	1,5	3,5	7,5

La determinación de la DQO de las muestras estudiadas en este trabajo se realizó con el método colorimétrico de acuerdo al protocolo descrito en la sección de Materiales y Métodos. Según establece la Ley de Beer, la cantidad de luz absorbida por un cuerpo depende de la concentración en la solución, es decir, las ondas electromagnéticas que se encuentran en un rayo de luz chocarán contra los átomos y/o moléculas que se encuentran en la solución de la DQO a ser medida y serán absorbidas por los mismos, por lo tanto la cantidad de luz que atraviesa la solución de la DQO depende de la concentración de la materia orgánica que se encuentre en la muestra [23].

Como se puede observar en la curva de calibración de la DQO realizada a partir de los estándares de KHP, existe una relación lineal entre la absorbancia medida y la concentración de oxígeno expresada en mg L<sup>-1</sup>, mientras mayor es la absorbancia medida en el colorímetro, mayor es la concentración de oxígeno y el factor de correlación, R<sup>2</sup>, es de 0,995. Por lo tanto, se puede concluir que el método analítico desarrollado para medir la DQO es muy efectivo y

puede ser aplicado con un alto grado de precisión y confiabilidad para la determinación de las concentraciones de DQO en los diferentes bioensayos.



**Figura 4.2** Curva de calibración para la determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) empleando estándares de KHP con concentraciones en el rango de 0 y 1000 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>

En este proyecto de investigación se utilizó una muestra de agua residual sintética, empleando como materia orgánica la glucosa. La degradación biológica de este azúcar bajo condiciones aeróbicas se expresa como:



A partir de la estequiometría de la Ec. 4.4, se determina que para oxidar un mol de glucosa se requieren 6 moles de oxígeno, por lo tanto la cantidad teórica de oxígeno necesaria para degradar  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de glucosa en cada tratamiento es de  $1066 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ , por lo tanto existe una relación de 1:1 entre la cantidad de glucosa presente y la DQO necesaria para degradar biológicamente dicha materia orgánica. Esta relación de 1:1 proporciona una gran ventaja durante el monitoreo de la degradación de la materia orgánica en una PTAR, es decir, monitoreando solamente la DQO, se podría tener una idea bastante aproximada de lo que está sucediendo con la materia orgánica (i.e. glucosa). La determinación de la DQO en una PTAR es un método muy habitual y relativamente sencillo comparado con la medición de la materia orgánica como tal, la cual generalmente demanda mayor cantidad de tiempo y recursos. Por lo tanto, la medición de la DQO constituye uno de los parámetros más utilizados para evaluar el desempeño de un PTAR, es una medida bastante precisa y confiable sobre la capacidad de tratamiento de la materia orgánica [10].

### 4.3 Determinación de la Glucosa

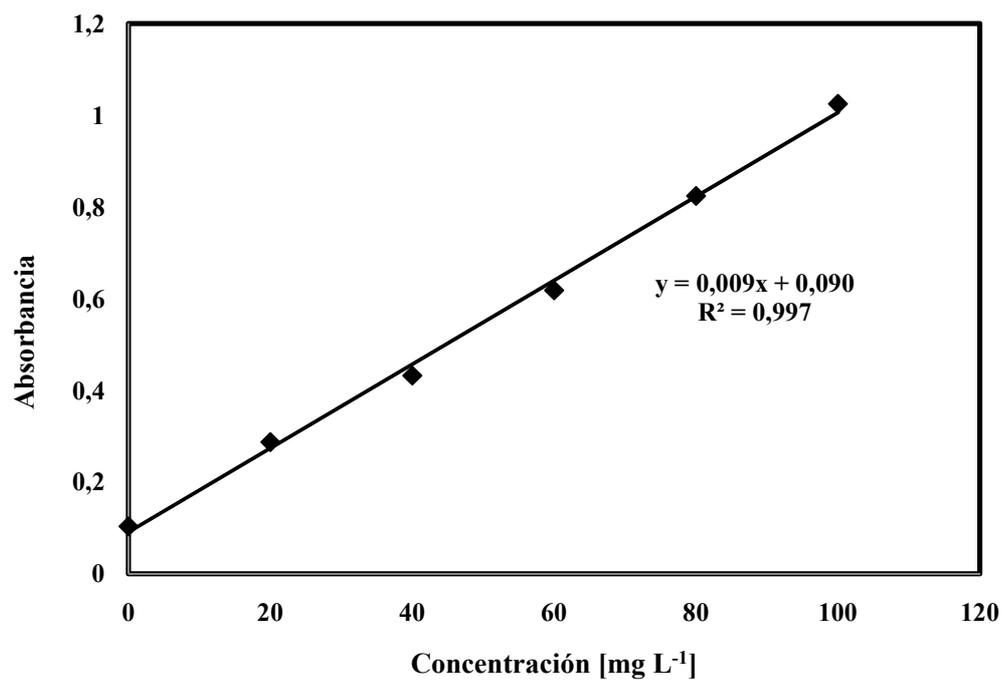
La determinación de la concentración de la glucosa presente en los diferentes bioensayos se realizó colorimétricamente de acuerdo al protocolo descrito en la sección de Materiales y

Métodos. Estándares de glucosa cuyas concentraciones varían entre 0 y 100 mg L<sup>-1</sup> se analizaron para obtener la curva de calibración.

En la figura 4.3 se presenta la curva de calibración para la determinación de glucosa. En base a esta curva de calibración se obtiene una regresión lineal, donde la absorbancia medida en el colorímetro 20D+ (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA, USA) es directamente proporcional a la concentración de glucosa en la muestra. La regresión lineal se ajusta muy bien a los datos con un R<sup>2</sup> de 0,997 lo cual nos indica que la precisión de la curva es lo suficientemente buena para poder determinar a partir de la misma, la concentración de glucosa de los diferentes bioensayos.

Una de las ventajas de este método colorimétrico de la determinación de glucosa es que es de fácil empleo, la metodología es sencilla, y la cantidad de reactivos que se utiliza para el análisis es mínima. Adicionalmente, la utilización de pipetas automáticas (1 y 5 mL) facilita el trabajo ahorrando tiempo y recursos, y más aun proporcionando datos confiables.

Por otro lado, esta metodología presenta desventajas en términos analíticos al momento de realizar las diluciones. En ciertos casos es necesario realizar diluciones para que las muestras estén dentro del rango de los estándares de la glucosa y puedan ser analizadas con precisión. Los volúmenes utilizados son muy pequeños del orden de 0.1 mL, lo cual compromete los análisis. Por lo tanto, se recomienda utilizar pipetas automáticas en el rango bajo (0.2 mL) para mejorar la precisión en las diluciones y descartar errores futuros.



**Figura 4.3** Curva de calibración para la determinación de la glucosa empleando estándares de glucosa entre 0 y 100 mg L<sup>-1</sup>

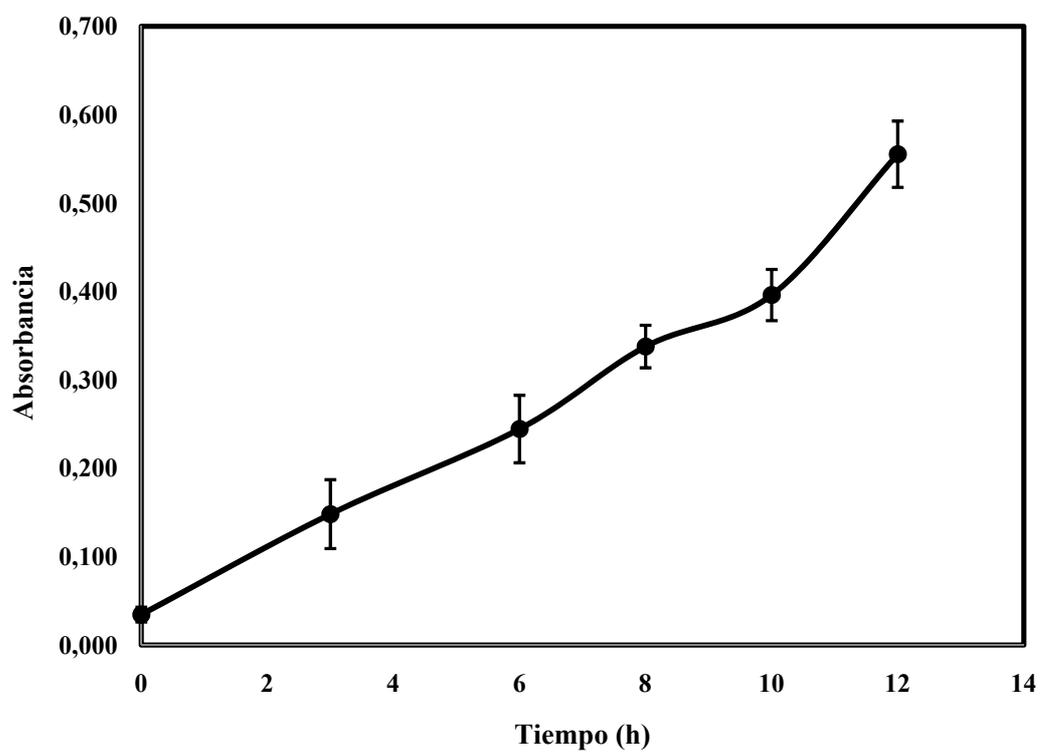
## **4.4 Efecto de Concentración de Biomasa, la Presencia de Aceites Vegetales, Aceites Vegetales Quemados, Sales e Hidrocarburos en los Lodos Activados**

### ***4.4.1 Cultivo Enriquecido***

Los bioensayos para evaluar el efecto de varios parámetros en los lodos activados se iniciaron realizando un enriquecimiento del cultivo microbiano aeróbico a partir de los lodos activados que se obtuvieron de la PTAR de la ciudad de Quito. Estos ensayos fueron realizados con el objetivo de obtener un cultivo enriquecido de bacterias aeróbicas degradadoras de glucosa, ya que, en este estudio se empleó una muestra sintética de agua residual en base a glucosa.

La determinación del crecimiento microbiano en el enriquecimiento del cultivo aeróbico de bacterias degradadoras de glucosa se realizó por el método colorimétrico [11]. La absorbancia de las muestras se monitoreo periódicamente con un colorímetro de acuerdo al protocolo descrito en la sección de Materiales y Métodos.

La Figura 4.4 representa la determinación del crecimiento microbiano en base a la densidad óptica. Esta gráfica corresponde al crecimiento propio de microorganismos presentes en los diversos inóculos microbianos tales como lodos activados de las PTARs. En la gráfica se puede observar que en todos los tratamientos (10% en volumen del inóculo microbiano inicial) existe un crecimiento exponencial de microorganismos con respecto al tiempo.



**Figura 4.4** Cultivo enriquecido de bacterias degradadoras de glucosa utilizando como inóculo microbiano 10% (v/v) de los lodos activados y en presencia de  $1 \text{ mg L}^{-1}$  de glucosa. Las barras de error representan desviaciones estándar de bioensayos realizados por triplicado.

Es evidente que existe un incremento de la biomasa, ya que como se mencionó anteriormente, la absorbancia de la muestra del cultivo enriquecido fue incrementando lo cual significa que existió una mayor concentración de microorganismos presentes en la solución a través del tiempo. En consecuencia, mientras mayor absorbancia, mayor es la concentración de biomasa presente en la muestra. Mediante este bioensayo se busca obtener un cultivo enriquecido de bacterias degradadoras de glucosa para poder utilizarlo posteriormente en los experimentos de la degradación de la muestra de agua residual sintética con glucosa, toda vez que las bacterias están adaptadas a las nuevas condiciones de vida.

El cultivo enriquecido proporciona grandes ventajas. Por un lado, se tiene un grupo de microorganismos debidamente seleccionados, los cuales se han sometido a un periodo de adaptación bajo condiciones óptimas ambientales y nutricionales, para promover su rápido crecimiento. Además, las bacterias han consumido la glucosa como su principal fuente de alimentación (substrato) lo cual demuestra sus capacidades para consumir este azúcar y así mismo poder degradarlo de manera eficiente. Las bacterias presentes en un cultivo enriquecido con un substrato en particular se caracterizan por utilizar dicho sustrato como su principal fuente de carbono y energía [24]. Por lo tanto, una vez que las bacterias están aclimatadas para degradar la glucosa, se tiene la ventaja de que frente a otros substratos, estas bacterias preferirán y optarán por el azúcar (glucosa) como su principal fuente de carbono y será la glucosa la cual se degradará principalmente.

#### ***4.4.2 Efecto de la Concentración de la Biomasa en los Lodos Activados***

En este estudio se investigó el efecto de la concentración de la biomasa en la degradación aeróbica de una muestra sintética de agua residual con glucosa de acuerdo al protocolo descrito en la sección de Materiales y Métodos. La figura 4.5 representa la degradación de la glucosa en presencia de diferentes concentraciones de cultivo aeróbico enriquecido. En los tratamientos que contienen concentraciones del cultivo enriquecido, 1, 2,5, 5 y 10 % v/v, es evidente que la concentración de la glucosa disminuye con respecto al tiempo, mientras que en los controles abióticos en donde no están presentes los microorganismos la concentración de la glucosa no disminuye con respecto al tiempo, por el contrario se mantiene constante después de aproximadamente 12 horas de tratamiento. Por lo tanto, la degradación de la materia orgánica se debe exclusivamente a la acción de los microorganismos presentes en el cultivo enriquecido.

En la figura 4.5 se puede observar que la degradación aeróbica de la materia orgánica está directamente relacionada con la concentración de los microorganismos presentes en solución. Por ejemplo, después de 5 horas de tratamiento, la concentración de glucosa presente en los bioensayos que contenían 1, 2,5, 5 y 10 % (v/v) fue de 750, 600, 500 y 250 mg L<sup>-1</sup> respectivamente. Por lo tanto, el tratamiento que contiene 10% (v/v) de biomasa presenta la tasa de degradación más alta de glucosa en comparación con los otros tratamientos, seguido del que contiene 5, 2,5 y 1 % (v/v), respectivamente.

Las actividades máximas específicas de consumo de glucosa se determinaron para cada tratamiento. Dichas actividades específicas se calcularon en base a las pendientes de las curvas de degradación expresadas en mg sustrato consumido L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> y se normalizaron con respecto al

tratamiento en el que se produjo la mayor degradación de sustrato. Por lo tanto, el porcentaje de actividad máxima específica de consumo de glucosa de cada uno de los tratamientos se obtuvo dividiendo la actividad máxima específica a la concentración evaluada para la actividad máxima específica del tratamiento en el que se produjo la mayor degradación de glucosa multiplicado por cien, como se muestra en la siguiente ecuación.

#### Ec. 4.5

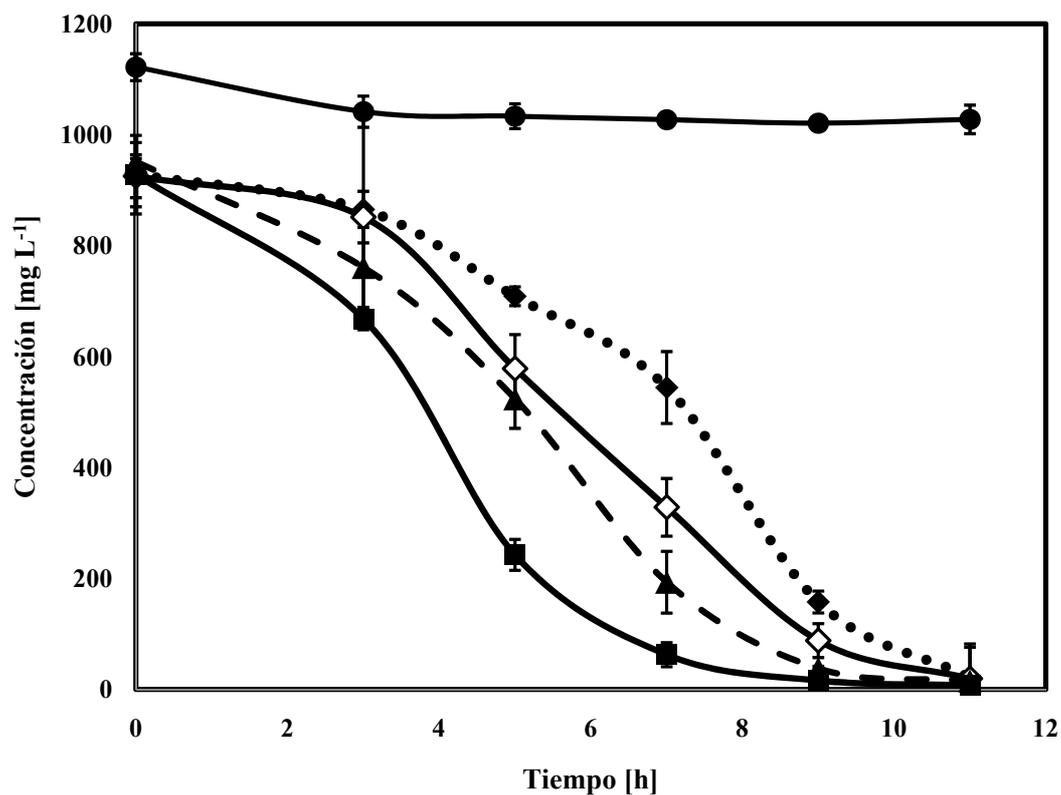
$$\text{Actividad (\%)} = \frac{\text{Actividad máxima específica a la concentración evaluada}}{\text{actividad máxima específica del tratamieto que produjo mayor degradación}} * 100$$

En este caso, se utilizó el tratamiento que contiene 10% (v/v) del cultivo enriquecido para la normalización de la actividad microbiana ya que es el que presenta la actividad máxima específica de degradación más alta, por lo tanto, corresponde al tratamiento más eficiente, con un porcentaje de actividad del 100%.

En la Tabla 4.5 se muestran las actividades máximas específicas de consumo de glucosa en los diferentes tratamientos.

**Tabla 4.5** Actividades máximas específicas de consumo de glucosa (1000 mg L<sup>-1</sup>) de un cultivo aeróbico enriquecido en presencia de diferentes concentraciones de biomasa

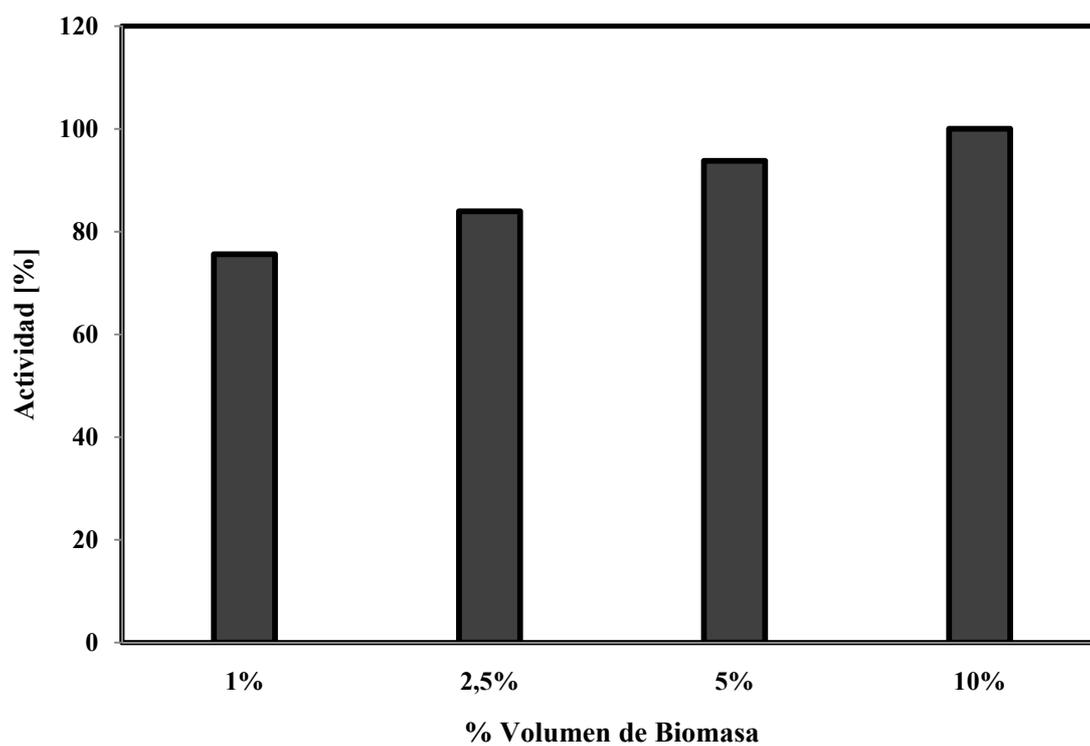
Tratamiento	Concentración de Biomasa % (v/v) [mL]	Concentración de Cultivo aeróbico enriquecido en bioensayos [mg SSV L <sup>-1</sup> ]	Actividad máxima específica [%]
T1-B	1	0,87	75,57
T2-B	2,5	2,17	83,94
T3-B	5	4,33	93,76
T4-B	10	8,67	100



**Figura 4.5** Degradación de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de glucosa con respecto al tiempo utilizando diferentes concentraciones de cultivo aeróbico enriquecido. Leyenda: (◆) 1, (◇) 2,5, (▲) 5 y (■) 10 % (v/v), (●) control abiótico. Las barras de error representan desviaciones estándar de bioensayos realizados por triplicado.

La figura 4.6 muestra un gráfico de barras de la actividad máxima específica de consumo de la glucosa en porcentaje para los diferentes tratamientos. Las actividades de consumo de glucosa para los tratamientos que contienen 1, 2,5, 5 y 10% (v/v) son de 75,6, 83,9, 93,8 y 100%, respectivamente. Claramente se puede observar que el tratamiento que contiene una concentración de cultivo aeróbico enriquecido de 10% (v/v) presenta el mayor porcentaje de actividad con respecto al resto de tratamientos. Si comparamos el tratamiento que contiene 1% (v/v) con el de mayor actividad 10% (v/v) podemos concluir que un incremento en la cantidad de biomasa por un factor de 10 produce un incremento en la actividad metabólica del 25 %.

Hajiabadi y colaboradores realizaron un estudio sobre el efecto del tiempo de retención y la concentración de la biomasa de los lodos activados en el tratamiento de las aguas residuales [25]. Cuatro reactores aeróbicos secuenciales tipo batch alimentados con una muestra de agua residual sintética fueron evaluados bajo las mismas condiciones de operación. Se observó que el tiempo de retención de los lodos tiene una influencia directa en la concentración de biomasa, mientras mayor fue el tiempo de retención de los lodos, mayor fue la concentración de biomasa, y a su vez mientras mayor fue la concentración de biomasa mayor fue el rendimiento del tratamiento en cuanto a la remoción de la DQO, SST y la turbidez [25]. Estas observaciones apoyan los resultados obtenidos en este estudio, la mayor eficiencia de remoción de la materia orgánica presente en la muestra sintética de agua residual con glucosa corresponde a la mayor concentración de biomasa.



**Figura 4.6** Actividades máximas específicas normalizadas de degradación de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  glucosa con diferentes concentraciones de biomasa expresadas en porcentaje en volumen (% (v/v)).

Adicionalmente, a partir de la cantidad de SSV del cultivo aeróbico enriquecido de  $0.09 \pm 0.03$  mg L<sup>-1</sup> previamente descrita, se relacionó el porcentaje en volumen de biomasa evaluado con la cantidad de microorganismos presente en los diferentes bioensayos, expresada como mg SSV L<sup>-1</sup>. La concentración en mg SSV L<sup>-1</sup> de los diferentes tratamientos se resume en la Tabla 4.6.

**Tabla 4.6** Concentración de biomasa (cultivo aeróbico enriquecido) presente en los diferentes bioensayos en [mg SSV L<sup>-1</sup>]

Volumen del cultivo aeróbico enriquecido [mL]	Concentración del cultivo aeróbico enriquecido [mg SSV L <sup>-1</sup> ]
1	0,87
2,5	2,17
5	4,33
10	8,67

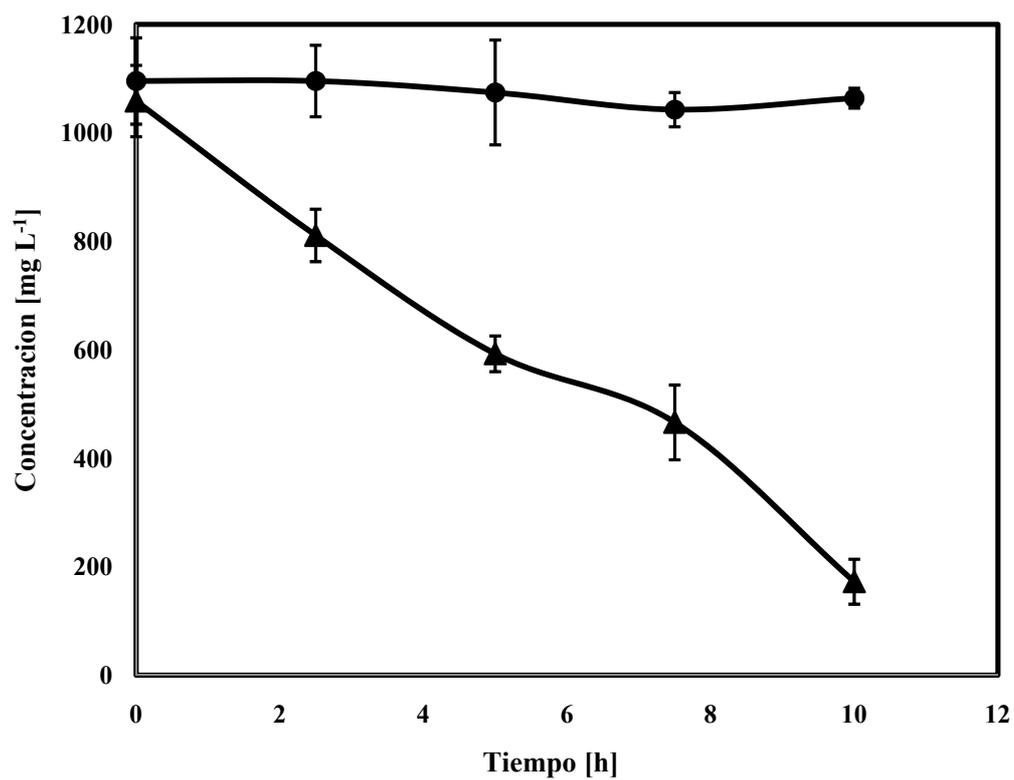
La cantidad de lodos activados, es decir la concentración de los lodos en el bioreactor aeróbico de una PTAR, es un parámetro de gran importancia para garantizar un buen desempeño de la misma. En una PTAR la cantidad de lodos que se generan es significativa, por lo cual es necesario descargar los lodos activados generados en exceso, pero también es indispensable recircular los lodos al bioreactor para mantener y procurar una concentración adecuada de microorganismos para lograr un proceso eficiente en cuanto a la degradación de la materia orgánica [9]. En base a los resultados obtenidos en este estudio sobre la influencia de la concentración de biomasa en los lodos activados, se puede concluir que mientras mayor es la concentración de biomasa mayor es la eficiencia de degradación de la materia orgánica, por lo tanto es vital mantener una concentración de microorganismos adecuada en los lodos activados para conseguir un buen desempeño del bioreactor aeróbico.

Finalmente, una vez establecido que de entre las diferentes concentraciones de biomasa evaluadas en este estudio, el tratamiento con mayor actividad máxima específica de consumo de glucosa es el que contiene 10% (v/v) equivalente a 8,67 mg SSV L<sup>-1</sup>, se utilizó esta concentración de biomasa en los siguientes bioensayos en los que se monitoreó la DQO y se evaluaron los efectos de la presencia de los aceites vegetales, aceites vegetales quemados, concentración de sales y concentración de hidrocarburos totales (Total Petroleum Hydrocarbon, TPH) en los lodos activados que se detallan a continuación.

Durante el tratamiento biológico del agua residual comúnmente se determina la demanda química de oxígeno (DQO), como un indicador del grado de contaminación así como también de la eficiencia del proceso de degradación de la materia orgánica [9]. El monitoreo de la DQO del flujo de entrada (afluente) y de salida (efluente) del reactor aeróbico permite establecer claramente el porcentaje de degradación de la materia orgánica por la acción de los microorganismos aeróbicos. En este proyecto de tesis adicionalmente a la determinación de la concentración de la glucosa como tal en el tratamiento biológico, también se midió la DQO con respecto al tiempo con el objetivo de simular la degradación de la materia orgánica durante el proceso de tratamiento del agua residual bajo condiciones reales de monitoreo.

La figura 4.7 representa el monitoreo de la DQO de la degradación de la muestra sintética de agua residual con glucosa en presencia de bacterias aeróbicas enriquecidas con respecto al tiempo. En el tratamiento que contiene 10% (v/v) de cultivo aeróbico enriquecido se puede observar que la DQO disminuye durante el tratamiento biológico, en otras palabras el consumo de oxígeno disminuye ya que existe menor cantidad de materia orgánica a ser oxidada, por lo tanto se puede concluir que la materia orgánica es degradada conforme avanza

el proceso de tratamiento. Mientras que en el control abiótico, ausencia de microorganismos, no existe consumo de oxígeno, la DOQ se mantiene constante después de 10 horas de tratamiento. Por lo tanto, como se discutió previamente en una PTAR el monitoreo de la DQO es altamente efectivo para evaluar la capacidad de tratamiento de la materia orgánica.



**Figura 4.7** Monitoreo de la DQO en la degradación de 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa en presencia de un cultivo aeróbico enriquecido 10% (v/v) con respecto al tiempo. Las barras de error representan desviaciones estándar de bioensayos realizados por triplicado. Leyenda: (●) control abiótico, (▲) consumo de O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>

#### ***4.4.3 Efecto de la Presencia de Aceites Vegetales y Aceites Vegetales Quemados en los Lodos Activados***

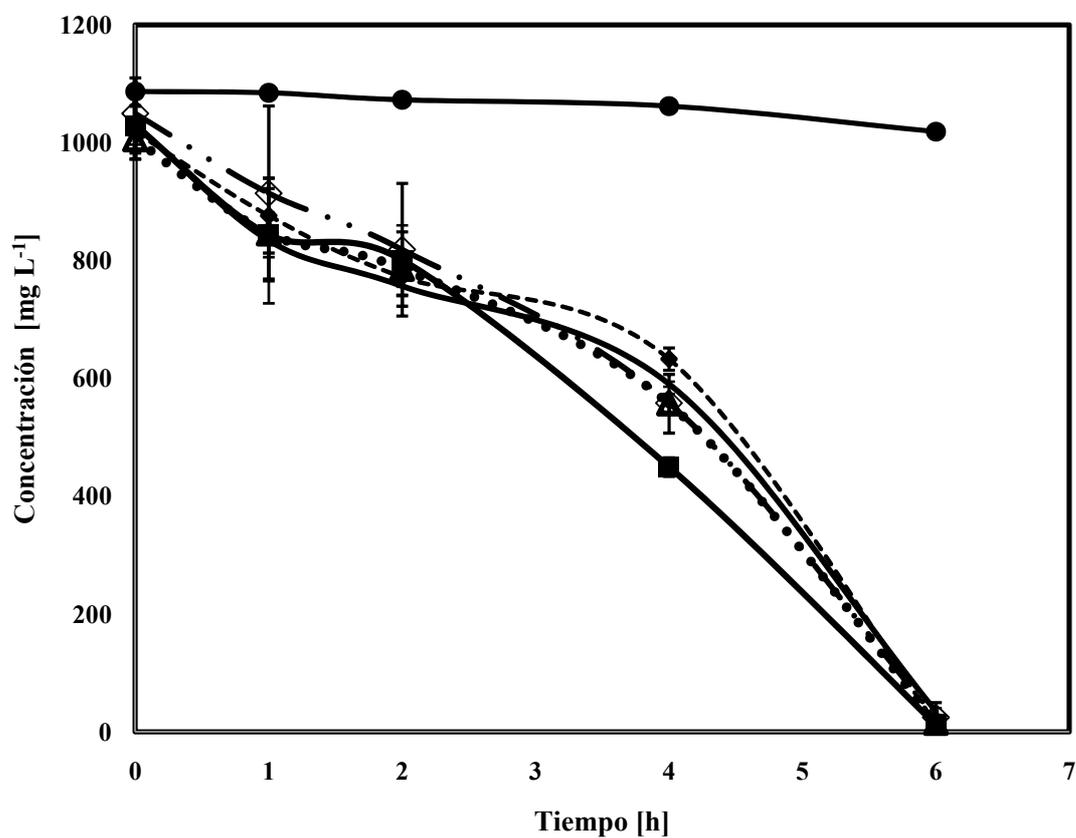
El efecto de la presencia de aceites vegetales y aceites vegetales quemados en los lodos activados durante el tratamiento biológico de una muestra sintética de agua residual se evaluó en este estudio y se detalla a continuación.

##### ***4.4.3.1 Aceite Vegetal***

La figura 4.8 muestra la degradación de una muestra sintética de agua residual con glucosa con respecto al tiempo por un cultivo aeróbico enriquecido de bacterias degradadoras de glucosa en presencia de diferentes concentraciones de aceite de soya. Los bioensayos para estudiar el efecto de aceites vegetales en los lodos activados se realizaron de acuerdo al protocolo descrito en la sección de Materiales y Métodos. En dichos bioensayos se empleó una concentración de cultivo aeróbico enriquecido de 10% (v/v) ya que, presenta la mayor actividad máxima específica de consumo de glucosa bajo las condiciones experimentales evaluadas en este estudio. En este bioensayo y en los subsiguientes en donde se evalúa la degradación de la materia orgánica en presencia de diferentes agentes inhibitorios, el control biótico corresponde al tratamiento que contiene 10% (v/v) del inóculo aeróbico enriquecido en ausencia de un agente inhibidor, mientras que en el control abiótico no existen microorganismos.

Como se puede observar en la figura 4.8 en el control biótico en ausencia de aceite vegetal, se obtuvo una degradación completa de la glucosa después de 6 horas de tratamiento. Por el contrario, en los controles abióticos en ausencia de microorganismos la concentración de la glucosa no disminuyó con respecto al tiempo. Las curvas de degradación de glucosa en

presencia de distintas concentraciones de aceite de soya 100, 250, 500 y 1000 mg L<sup>-1</sup> son muy parecidas a la curva del control biótico que contiene 10% (v/v) del cultivo aeróbico enriquecido en ausencia de aceite de soya. Estos resultados indican que el aceite de soya no produjo un efecto significativo negativo en la degradación de la glucosa.



**Figura 4.8** Degradación de la glucosa con respecto al tiempo por un cultivo aeróbico enriquecido 10% (v/v) en presencia de diferentes concentraciones de aceite de soya. Leyenda: (◇) 100 mg L<sup>-1</sup>, (Δ) 250 mg L<sup>-1</sup>, (◆) 500 mg L<sup>-1</sup>, (—) 1000 mg L<sup>-1</sup>, (■) control biótico: 0 mg L<sup>-1</sup> de aceite de soya y, (●) control abiótico. Las barras de error representan desviaciones estándar de bioensayos realizados por triplicado.

Las actividades máximas específicas de consumo de glucosa tanto para el control biótico en ausencia de aceite de soya como para los tratamientos en presencia de distintas concentraciones de aceite soya se determinaron en base a las pendientes de las curvas de degradación de glucosa como se lo describió anteriormente. Las actividades máximas específicas de consumo de glucosa para los diferentes bioensayos se normalizaron con respecto a la actividad máxima específica del control biótico. El porcentaje de actividad observado se calculó como se muestra en la siguiente ecuación:

**Ec. 4.6**

$$Actividad (\%) = \frac{Actividad\ máxima\ específica\ a\ la\ concentración\ evaluada}{actividad\ máxima\ específica\ del\ control\ biótico} * 100$$

La Tabla 4.7 resume las actividades máximas específicas de consumo de la glucosa para los bioensayos en presencia de distintas concentraciones de aceite de soya.

**Tabla 4.7** Actividades máximas específicas de consumo de glucosa (1000 mg L<sup>-1</sup>) de un cultivo aeróbico enriquecido (10% v/v) en presencia de distintas concentraciones de aceite de soya

Tratamiento	Concentración de Aceite [mg L <sup>-1</sup> ]	Actividad Máxima Específica de Consumo de Glucosa [mg L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ]	Actividad Máxima Específica de Consumo de Glucosa [%]
Control biótico	0	-198,49	100
T1-AV	100	-197,2	99,35
T2-AV	250	-192,73	97,1
T3-AV	500	-189,53	95,49
T4-AV	1000	-180,47	90,92

Las actividades máximas específicas de consumo de la glucosa de bacterias aeróbicas en presencia de varias concentraciones de aceite de soya varían entre 99.4 y 90.9 %. El aceite de soya tiene una mayor influencia en los tratamientos con concentraciones de 500 y 1000 mg L<sup>-1</sup> de aceite, respectivamente. Si bien es cierto que las actividades máximas específicas de degradación de glucosa en dichos tratamientos son más lentas en comparación con las del control biótico que presenta 100 % de actividad metabólica, la reducción de la actividad no es mayor al 10 % en presencia incluso de la mayor cantidad de aceite de soya (1000 mg L<sup>-1</sup>) evaluada en este estudio. Por lo tanto, podríamos concluir que el aceite de soya no tiene un efecto adverso severo en los lodos activados durante el tratamiento biológico de la materia orgánica.

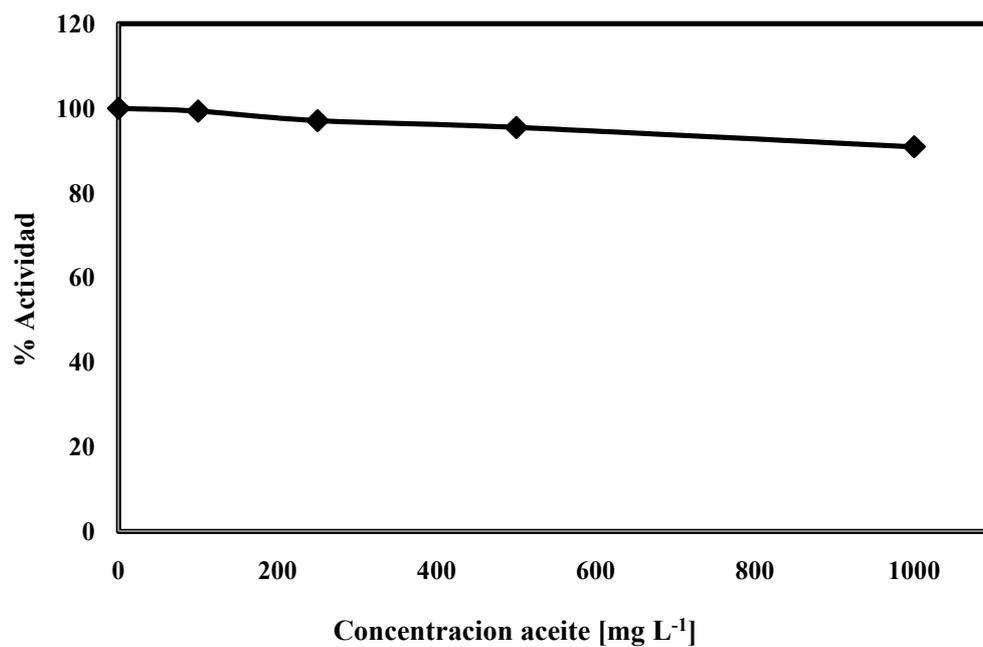
Adicionalmente, los datos de la actividad máxima específica de consumo de glucosa también pueden ser representados como el grado de inhibición causado por la presencia del aceite de soya en los lodos activados durante la degradación de la materia orgánica. El efecto inhibitorio se calculó como se muestra en la ecuación Ec. 4.7 a continuación:

#### **Ec. 4.7**

$$\text{Inhibición (\%)} = 100 - \left[ 100 * \frac{\text{Actividad máxima específica a la concentración evaluada}}{\text{Actividad máxima específica del control biótico}} \right]$$

Las concentraciones iniciales de las sustancias inhibitorias que causan el 20, 50 y 80 % en la reducción de la actividad metabólica comparadas con el control no inhibido se refieren a los IC<sub>20</sub>, IC<sub>50</sub>, IC<sub>80</sub>, respectivamente [26]. Estos valores se calcularon por interpolación en el gráfico, trazando la inhibición observada en función de la concentración de la sustancia

inhibitoria. A menos que se indique lo contrario, las concentraciones de inhibición reportadas corresponden a valores promedio de los ensayos realizados por triplicado y sus correspondientes desviaciones estándar. Los valores correspondientes a los IC<sub>20</sub>, IC<sub>50</sub> e IC<sub>80</sub> en presencia de distintas concentraciones de aceite de soya son mayores a 1000 mg L<sup>-1</sup> (Figura 4.9). Estos valores para los diferentes bioensayos realizados en los que se evalúa el efecto de los aceites vegetales quemados, la concentración de sales y la concentración de TPH en los lodos activados, se encuentran resumidos en la Tabla 4.11.



**Figura 4.9** Efecto Inhibitorio del aceite de soya en la actividad máxima específica de bacterias degradadoras de glucosa en presencia de 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa utilizando un cultivo aeróbico enriquecido 10% (v/v) obtenido de los lodos activados de la PTAR de la ciudad de Quito.

En base a los resultados obtenidos en este estudio se puede concluir que los microorganismos presentes en el inóculo microbiano enriquecido son capaces de degradar la materia orgánica representada en este caso como glucosa bajo condiciones aeróbicas, lo cual sugiere que dichos microorganismos pueden desarrollar sus actividades metabólicas en ambientes con altas concentraciones de aceites vegetales ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ).

Desde el punto de vista químico, los aceites a diferencia de las grasas que provienen de animales, son de origen vegetal, en su estructura se encuentra un gran porcentaje de ácidos grasos insaturados, lo que explica que sean líquidos a temperatura ambiente. El aceite de soya contiene 15% de ácidos grasos saturados y 85% de ácidos grasos insaturados, es decir, tiene una estructura química constituida en su mayoría por dobles enlaces de carbono – carbono,  $\text{C}=\text{C}$  [15]. Por otro lado, la estructura molecular de la glucosa está constituida principalmente por enlaces simples de carbono,  $\text{C}-\text{C}$ . En términos de degradación, la glucosa es un sustrato más fácil de degradar comparado con los aceites vegetales, por lo tanto si la glucosa y los aceites vegetales están presentes en solución, para los microorganismos es más fácil degradar un compuesto con enlaces simples  $\text{C}-\text{C}$  (glucosa) que un compuesto que contenga enlaces dobles  $\text{C}=\text{C}$  (aceites vegetales). Por ejemplo, en un estudio realizado por Bajaj y colaboradores sobre el efecto de los co-sustratos en la degradación aeróbica de fenol por cultivos enriquecidos aclimatados y no aclimatados, se observó que el cultivo enriquecido no aclimatado en presencia de otras fuentes de carbono como la glucosa, acetato y 2-clorofenol no fue capaz de degradar el fenol, puesto que constituye un compuesto tóxico para las bacterias, mientras que la glucosa se degradó fácilmente por ser un compuesto sencillo y resulta más fácil para las bacterias tomarlo como su principal fuente de carbono [24]. En conclusión, las

bacterias aeróbicas degradarán la glucosa ya que, se encuentran aclimatadas para tomar como su principal fuente de carbono y energía a la glucosa.

Adicionalmente, los aceites y grasas son fácilmente removidos del agua residual si no se encuentran emulsionados en la misma, es decir, si flotan como una película en la superficie de la misma. Si se ha añadido un emulsionante, el aceite se encuentra químicamente emulsionado y se tiene que añadir una sustancia química para poder separarlo del agua [27]. En este estudio el aceite de soya no se encontraba emulsionado por lo tanto no se mezcló con la solución. El hecho de que el aceite de soya en los diferentes tratamientos se presentaba en gotas grandes las cuales podían ser removidas fácilmente por medios físico-químicos, sugiere que la presencia del aceite de soya no tuvo ningún efecto en los lodos activados evaluados en este estudio ya que los microorganismos aeróbicos no estaban en contacto con el aceite vegetal, por lo tanto no fueron afectados por su presencia.

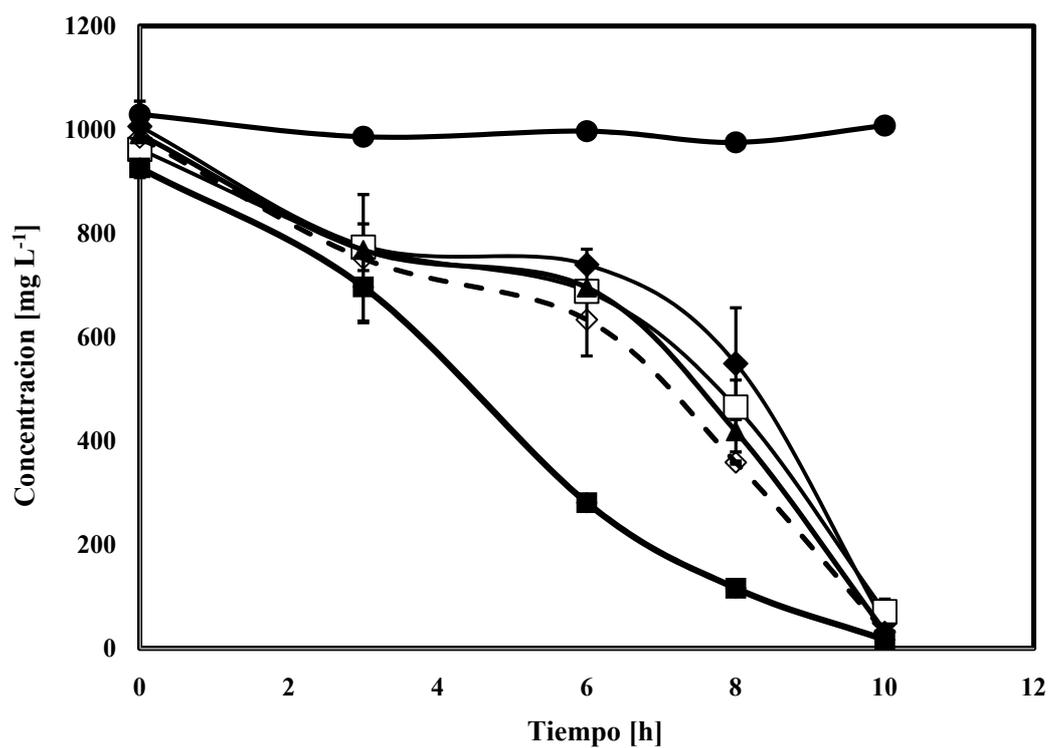
Adicionalmente, análisis de la PTAR de la ciudad de Quito, lugar donde se obtuvieron los lodos activados que se utilizaron como inóculo microbiano para la realización de la presente investigación, indican que las concentraciones de la entrada de aceites y grasas a la PTAR oscilan entre 100 y 850 mg L<sup>-1</sup>, siendo la concentración más frecuente en promedio la de 100 mg L<sup>-1</sup> [28]. En base a los resultados obtenidos en este estudio sobre la inhibición metabólica en presencia de aceites vegetales (Figura 4.9), se establece que una concentración de aceite vegetal de 100 mg L<sup>-1</sup> no afectaría la actividad metabólica en lo más mínimo (efecto inhibitorio menor al 1%). Incluso para la concentración de aceite más elevada en el afluente de la PTAR, 850 mg L<sup>-1</sup>, la actividad máxima específica de degradación de glucosa sería inhibida apenas en un 8%. Por lo tanto se puede concluir que el aceite de soya no producirá un efecto

adverso en los lodos activados y por consiguiente no afectará la capacidad de tratamiento de la PTAR.

#### ***4.4.3.2 Aceite Vegetal Quemado***

La Figura 4.10 representa la degradación de una muestra sintética de agua residual con glucosa a través del tiempo por un cultivo aeróbico enriquecido en presencia de diferentes concentraciones de aceite de soya quemado. El procedimiento para evaluar el efecto inhibitorio del aceite de soya quemado en los diferentes bioensayos se encuentra descrito en la sección de Materiales y Métodos.

Se puede observar en la Figura 4.10 que tanto en el control biótico en ausencia de aceite vegetal quemado, como en los diferentes tratamientos que contienen concentraciones en aumento de aceite vegetal quemado 100, 250, 500 y 1000 mg L<sup>-1</sup>, se obtuvo una degradación completa de la materia orgánica representada por glucosa después de 10 horas de tratamiento. Por otro lado, en los controles abióticos (ausencia de microorganismos) se observa que la concentración de glucosa se mantiene constante con el tiempo, no ocurre ningún proceso de degradación. La degradación de glucosa en estos bioensayos fue un poco más lenta en comparación con los bioensayos realizados con aceite de soya normal. Una posible explicación a este fenómeno es que a diferencia de los bioensayos evaluados con aceite de soya en los que se utilizó cultivo aeróbico enriquecido fresco, en estos bioensayos se empleó un cultivo enriquecido guardado durante varios días. Por lo cual, los microorganismos probablemente necesitaron mayores tiempos de adaptación y por ende la degradación de la materia orgánica fue más lenta.



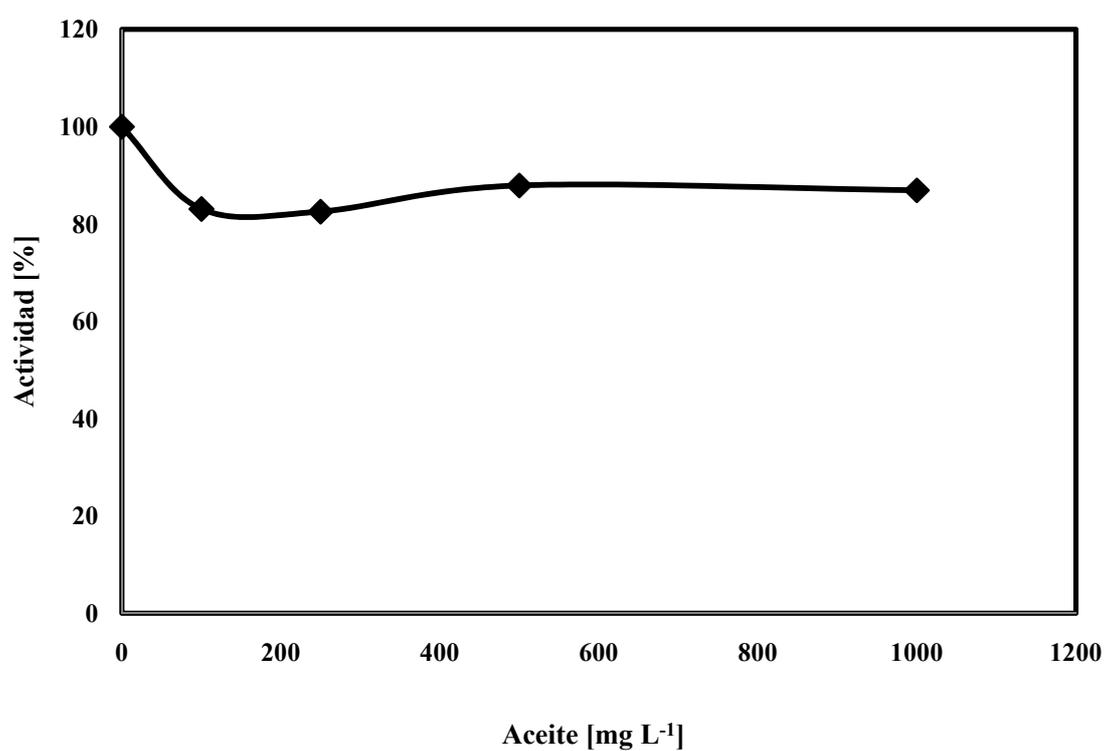
**Figura 4.10** Degradación de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de glucosa con respecto al tiempo por un cultivo aeróbico enriquecido 10% (v/v) en presencia de diferentes concentraciones de aceite de soya quemado. Leyenda: (◆) 100, (□) 250, (▲) 500, (◇)  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ , (■) control biótico:  $0 \text{ mg L}^{-1}$  de aceite de soya, y (●) control abiótico. Las barras de error representan desviaciones estándar de bioensayos realizados por triplicado.

Las actividades máximas específicas de consumo de glucosa de las bacterias aeróbicas en cada uno de los bioensayos en presencia de aceite vegetal quemado se presentan en la Tabla 4.8. Como se mencionó anteriormente, la actividad máxima específica de consumo de glucosa corresponde a la pendiente de cada una de las curvas que se presentan en la Figura 4.11. Igualmente, la normalización de las actividades máximas específicas de consumo de glucosa se puede representar como el efecto inhibitorio del aceite de soya quemado, es decir, las concentraciones que inhiben la actividad metabólica de las bacterias degradadoras de glucosa en un 20, 50 y 80%. La Tabla 4.11 resume los valores correspondientes a los IC<sub>20</sub>, IC<sub>50</sub> y IC<sub>80</sub> en presencia de distintas concentraciones de aceite de soya quemado.

**Tabla 4.8** Actividades máximas específicas de consumo de glucosa (1000 mg L<sup>-1</sup>) de un cultivo aeróbico enriquecido (10% v/v) en presencia de distintas concentraciones de aceite de soya quemado

Tratamiento	Concentración de Aceite Quemado [mg L <sup>-1</sup> ]	Actividad máxima específica de consumo de glucosa [mg L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> ]	Actividad máxima específica de consumo de glucosa [%]
Control biótico	0	-118	100
T1-AVQ	100	-98,04	83,09
T2-AVQ	250	-97,4	82,55
T3-AVQ	500	-103,73	87,91
T4-AVQ	1000	-102,56	86,91

Las actividades máximas específicas de degradación de glucosa en presencia de 100, 250, 500 y 1000 mg de aceite quemado L<sup>-1</sup> fueron 83,1, 82,6, 88 y 87%, respectivamente. Las actividades máximas específicas de consumo de glucosa de las bacterias aeróbicas de los diferentes tratamientos disminuyeron entre un 13 y 17 % con respecto al control biótico no inhibido que presenta una actividad del 100%. Por lo tanto, se espera que el aceite de soya quemado a concentraciones bajas si tenga un efecto negativo significativo, ya que, el IC<sub>20</sub> es de 160 mg L<sup>-1</sup>.



**Figura 4.11** Efecto inhibitorio del aceite de soya quemado en la actividad máxima específica de bacterias degradadoras de glucosa en presencia de 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa utilizando un cultivo aeróbico enriquecido 10% (v/v) obtenido de los lodos activados de la PTAR de la ciudad de Quito.

Es importante notar que dentro de los bioensayos evaluados en presencia de aceite de soya quemado, las actividades máximas específicas de consumo de glucosa fueron aumentando conforme se incrementaba la concentración ( $\text{mg L}^{-1}$ ) de aceite quemado. En base a estos resultados podemos observar que si bien es cierto, la diferencia entre las actividades metabólicas no es muy grande entre los distintos tratamientos (apenas del 4%), los tratamientos que contienen 500 y 1000  $\text{mg L}^{-1}$  presentan la mayor actividad máxima específica de degradación de glucosa, 87% comparado con un 83% en presencia de 100 y 250  $\text{mg L}^{-1}$  de aceite quemado, a pesar de que se hubiera esperado lo contrario. Estos resultados sugieren que la presencia del aceite de soya quemado produce un aumento en la actividad máxima específica de consumo de glucosa en los bioensayos que contienen elevadas concentraciones de aceite de quemado comparados con aquellos en los que la concentración es baja. Sin embargo, como se manifestó anteriormente en presencia de aceites de soya quemado la actividad metabólica disminuye (entre 13 y 17%).

El hecho de que la actividad máxima específica de degradación de glucosa de las bacterias aeróbicas fue incrementando conforme aumentaba la concentración de aceite de soya quemado pudo deberse al hecho de que, en concentraciones menores el aceite quemado se encontraba distribuido en gotas sumamente pequeñas, es decir, se encontraba emulsionado y disperso en todo el volumen del recipiente que lo contenía, a diferencia del resto de tratamientos en donde el aceite quemado se encontraba distribuido en gotas grandes que flotaban sobre la superficie pudiendo ser removidas por medios mecánicos fácilmente.

Es evidente que el aceite de soya quemado si produjo un efecto inhibitorio mayor sobre las actividades máximas específicas del consumo de glucosa en los diferentes tratamientos en comparación con el aceite de soya en condiciones normales. En el caso del aceite de soya

quemado la mayor inhibición de la actividad metabólica fue de 17% ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ) comparado con el aceite de soya normal con un inhibición del 9 % ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ), es decir el aceite quemado produjo el doble toxicidad en las bacterias degradadoras de glucosa con una concentración un orden de magnitud más baja, por lo tanto la eficiencia del proceso de degradación de la glucosa fue reducida en un 50%.

Una de las razones por las cuales este hecho pudo haber ocurrido se debe a que el aceite quemado adquiere ciertas propiedades una vez que ha sido utilizado, el aceite quemado contiene ácidos grasos saturados conformados por enlaces simples carbono-carbono, C-C. Como se mencionó anteriormente, la estructura molecular de la glucosa contiene enlaces simples de C-C. Entonces, es posible que los microorganismos hayan tomado el aceite quemado como sustrato, debido a su estructura molecular semejante a la de la glucosa, sin embargo, en el caso de la glucosa 6 carbonos están presentes en la cadena, mientras que en el caso de los aceites quemados las estructuras contienen entre 18 y 20 carbonos, por lo tanto, constituyen un sustrato más complejo, mas difícil de digerir y más aun presenta cierto grado de toxicidad. Trabajos de investigación adicionales deberían ser realizados para estudiar en más detalle el efecto inhibitorio del aceite normal y del aceite quemado en el desempeño del bioreactor aeróbico y establecer si presentan toxicidad microbiana.

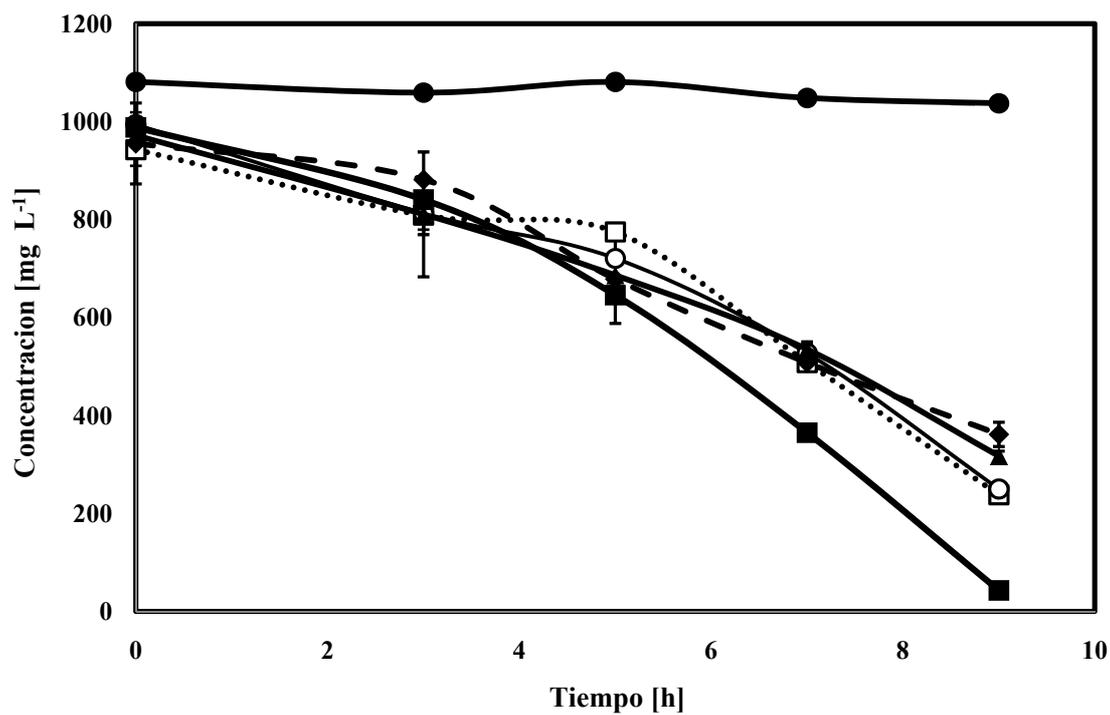
Teniendo en consideración que las concentraciones típicas de aceites y grasas de las aguas residuales que ingresan a la PTAR de la ciudad de Quito son en promedio  $100 \text{ mg L}^{-1}$  [28], se espera que a dichas concentraciones exista toxicidad microbiana moderada, ya que, una concentración de aceite de soya quemado de  $160 \text{ mg L}^{-1}$  produce un efecto inhibitorio del 20%.

#### ***4.4.4 Efecto de la Presencia de Sales como Cloruro de Sodio, NaCl en los Lodos Activados***

El efecto inhibitorio de la presencia de sales tales como cloruro de sodio (NaCl) en la capacidad de tratamiento los lodos activados de una muestra sintética de agua residual con glucosa también fue evaluado en esta investigación.

En la Figura 4.12, se muestra la degradación de glucosa con respecto al tiempo por un cultivo aeróbico enriquecido 10% (v/v) en presencia de diferentes concentraciones de sales representadas como NaCl. El procedimiento para la realización de estos bioensayos se detalla en la sección de Materiales y Métodos.

En la Figura 4.12 se puede observar que en términos generales la presencia de sales afecta el proceso de degradación de glucosa catalizado por la acción de bacterias aeróbicas. En el caso del control biótico no inhibido la materia orgánica representada como glucosa fue degradada completamente después de 9 horas de tratamiento, mientras que en los bioensayos en presencia de concentraciones en aumento de cloruro de sodio no hubo una degradación completa, entre 300 y 400 mg L<sup>-1</sup> de glucosa permanecieron en solución después de 9 horas de tratamiento. En el control abiótico (ausencia de microorganismos) no existe degradación del sustrato (glucosa).



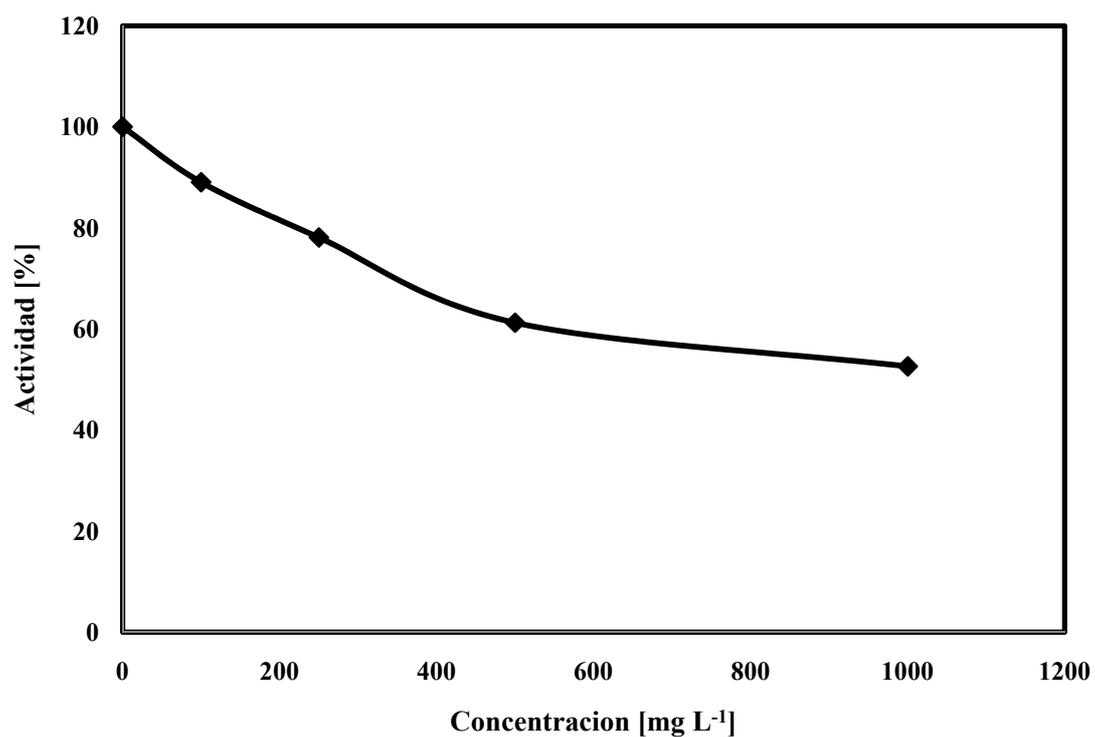
**Figura 4.12** Degradación de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de glucosa con respecto al tiempo por 10% (v/v) de un cultivo aeróbico enriquecido en presencia de diferentes concentraciones de cloruro de sodio, NaCl. Leyenda: (□) 100, (○) 250, (▲) 500, (◆)  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ , (■) control biótico:  $0 \text{ mg L}^{-1}$  de NaCl, y (●) control abiótico.

Las actividades máximas específicas de consumo de glucosa de los tratamientos en ausencia de sales y en aquellos que contenían 100, 250, 500 y 1000 mg L<sup>-1</sup> de cloruro de sodio se presentan en la Tabla 4.9.

**Tabla 4.9** Actividades máximas específicas de consumo de glucosa (1000 mg L<sup>-1</sup>) de un cultivo aeróbico enriquecido (10% v/v) en presencia de distintas concentraciones de NaCl

<b>Tratamiento</b>	<b>Concentración de Sales [mg L<sup>-1</sup>]</b>	<b>Actividad máxima específica de consumo de glucosa [mg L<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup>]</b>	<b>Actividad máxima específica de consumo de glucosa [%]</b>
Control biótico	0	-150,70	100
T1-S	100	-134,18	89,04
T2-S	250	-117,72	78,12
T3-S	500	-92,29	61,24
T4-S	1000	-79,28	52,61

Las actividades máximas específicas de consumo de glucosa en los diferentes tratamientos con concentraciones en aumento de cloruro de sodio disminuyen conforme aumenta la concentración de la sal en la solución comparadas con aquella del tratamiento en ausencia de sales que presenta una actividad del 100%. Por ejemplo, un incremento en la concentración de NaCl de 100 a 1000 mg L<sup>-1</sup>, produce una reducción en la actividad metabólica de bacterias aeróbicas del 11 al 47 %. Por lo tanto, se espera que la presencia de sales en las aguas residuales reduzca significativamente la capacidad de tratamiento de los lodos activados de la PTAR.



**Figura 4.13** Efecto inhibitorio de cloruro de sodio en la actividad máxima específica de bacterias degradadoras de glucosa en presencia de 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa utilizando un cultivo aeróbico enriquecido 10% (v/v) obtenido de los lodos activados de la PTAR de la ciudad de Quito.

Los valores correspondientes a los  $IC_{20}$ ,  $IC_{50}$  y  $IC_{80}$  se encuentran resumidos en la Tabla 4.11 y se pueden observar claramente en la Figura 4.13. La concentración de sales que produce un 20% de inhibición en la actividad máxima específica de consumo de glucosa,  $IC_{20}$ , es de  $215 \text{ mg L}^{-1}$ , lo cual implica que existe un efecto inhibitorio moderado de las sales en las bacterias aeróbicas.

Debido a que, el porcentaje de inhibición sobre la actividad máxima específica de consumo de glucosa de los bioensayos va aumentando conforme se incrementa la concentración de sales en los tratamientos, se puede concluir que los microorganismos presentes en el lodo de la PTAR no son halotolerantes. Sin embargo, hay que recalcar que tampoco se realizó una debida adaptación de los microorganismos para ambientes con salinidad alta, toda vez que lo que se pretendía era observar la resistencia de los microorganismos a este agente inhibitorio.

Reid y colaboradores han demostrado que las concentraciones de salinidad alta y moderada producen un efecto inhibitorio y/o tóxico en bacterias que no están adaptadas a este tipo de ambientes; altas concentraciones de sales ( $>1\%$ ) causan plasmólisis y/o pérdida de la actividad celular resultando en una baja eficiencia de remoción de la DQO, por lo tanto disminución en la capacidad de tratamiento [18]. En este estudio, es evidente que los lodos de la PTAR empleados para los bioensayos no tienen la capacidad de soportar ambientes salinos, ya que se experimentó una deficiencia en el proceso de remoción de la materia orgánica del 11 al 50 % en presencia de concentraciones en aumento de NaCl.

En un estudio realizado en Beijing sobre el rendimiento de un sistema de lodos activados sometido a variaciones en las concentraciones de sales, se observó que a una concentración menor a  $0,5 \text{ g L}^{-1}$ , la remoción del carbono orgánico total (COT) y el consumo de oxígeno fueron levemente afectados, mientras que, cuando se utilizó una concentración de sales de 10

y  $20 \text{ g L}^{-1}$  se produjo una reducción del consumo de oxígeno del 30% y además una reducción en la eficiencia de remoción del TOC del 30% en comparación al control que no contenía sales [29]. En el presente estudio se evaluaron concentraciones de hasta  $1 \text{ g L}^{-1}$  de NaCl y se observó que existen deficiencias en el proceso de degradación de la materia orgánica (glucosa) catalizada por microorganismos, toda vez que se produjo una reducción de la actividad máxima específica del consumo de glucosa hasta el 50% a la concentración máxima evaluada en este estudio que corresponde a  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ .

En base a estos resultados se puede concluir que la presencia de sales ejerce un efecto tóxico en los lodos activados evaluados en este estudio. Los microorganismos presentes en los lodos activados no son capaces de soportar ambientes con concentraciones de salinidad altas, por lo tanto, sus actividades metabólicas se vieron severamente afectadas causando toxicidad microbiana moderada y por ende reducción en la capacidad de tratamiento de la materia orgánica.

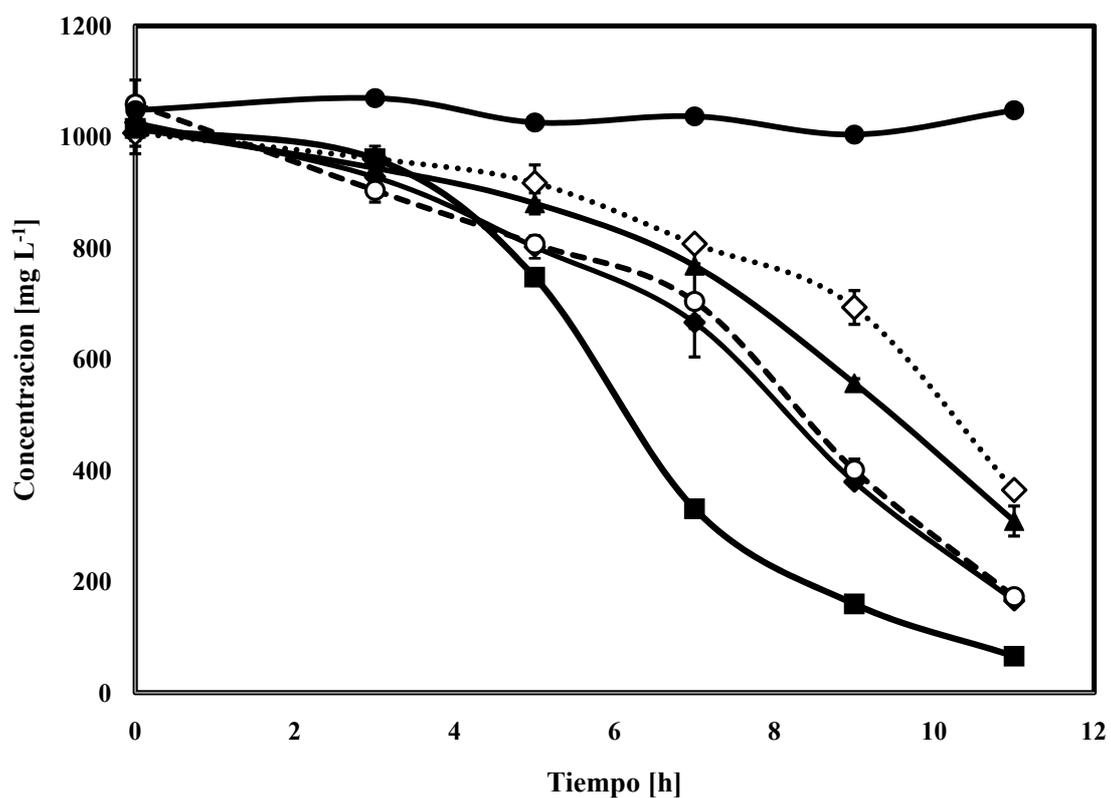
Finalmente, el efecto de la concentración de NaCl en un sistema de tratamiento de aguas residuales con lodos activados depende de las concentraciones de NaCl y el grado de influencia se puede inferir a través del cambio de la tasa de utilización de sustratos a diferentes cargas de concentración NaCl [29].

#### ***4.4.5 Efecto de la Presencia de Hidrocarburos totales de Petróleo (Total Petroleum Hydrocarbons, TPH) en los Lodos Activados***

La Figura 4.14 representa la degradación de una muestra sintética de agua residual con glucosa con respecto al tiempo por un cultivo aeróbico enriquecido 10% (v/v) en presencia de concentraciones en aumento de hidrocarburos totales de petróleo (Total Petroleum Hydrocarbon, TPH). El procedimiento experimental para estudiar el efecto inhibitorio de la presencia de TPH en los lodos activados se realizó de acuerdo al protocolo descrito en la sección de Materiales y Métodos.

Como se puede observar en la Figura 4.14, la tasa de degradación biológica de la glucosa disminuye conforme aumenta la concentración de TPH en solución. Es así que, después de 11 horas de tratamiento, entre 200 y 400 mg glucosa L<sup>-1</sup> permanecían en solución en los bioensayos en presencia de 100, 250, 500 y 1000 mg L<sup>-1</sup> de TPHs. Mientras que en el control biótico en ausencia de TPHs se registró una degradación completa de la glucosa. Por su parte, el tratamiento abiótico la concentración del sustrato se mantuvo constante a lo largo de las 11 horas de tratamiento, lo cual indica que no existió disminución en los niveles de glucosa en ausencia de microorganismos.

En la Tabla 4.10 se encuentran resumidos los valores de las actividades máximas específicas de consumo de glucosa de las bacterias aeróbicas en cada uno de los bioensayos evaluados en este estudio, incluyendo el control biótico que presenta la mayor actividad máxima específica de consumo de glucosa.



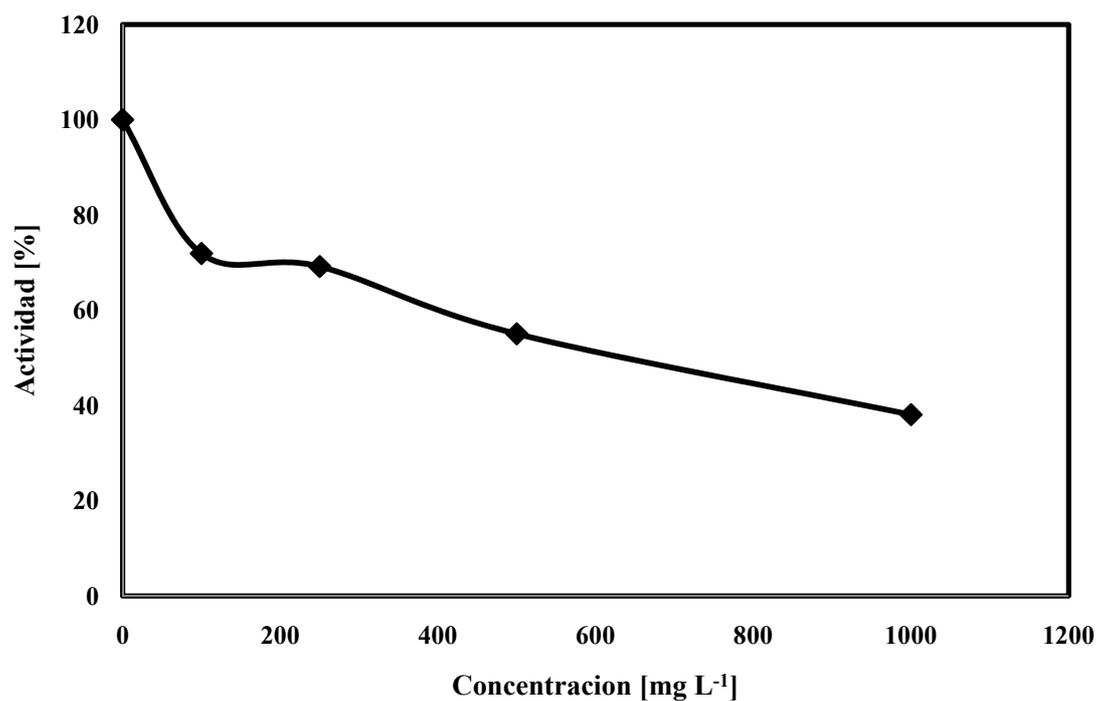
**Figura 4.14** Degradación de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  glucosa con respecto al tiempo por 10% (v/v) de un cultivo aeróbico enriquecido en presencia de diferentes concentraciones de TPH. Leyenda: (◆)  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , (○)  $250 \text{ mg L}^{-1}$ , (▲)  $500 \text{ mg L}^{-1}$ , (◇)  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ , (■) control biótico:  $0 \text{ mg L}^{-1}$  de TPH, y (●) control abiótico. Las barras de error representan desviaciones estándar de bioensayos realizados por triplicado.

**Tabla 4.10** Actividades máximas específicas de consumo de glucosa ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) de un cultivo aeróbico enriquecido (10% v/v) en presencia de distintas concentraciones de TPHs

Tratamiento	Concentración de TPH [ $\text{mg L}^{-1}$ ]	Actividad máxima específica de consumo de glucosa [ $\text{mg L}^{-1}\text{h}^{-1}$ ]	Actividad máxima específica de consumo de glucosa [%]
Control biótico	0	-147,09	100
T1-TPH	100	-105,77	71,91
T2-TPH	250	-101,76	69,18
T3-TPH	500	-80,96	55,04
T4-TPH	1000	-56,01	38,08

Las actividades máximas específicas de consumo de glucosa de bacterias aeróbicas en los bioensayos en presencia de 100, 250, 500 y 1000  $\text{mg TPH L}^{-1}$  fueron de 72, 69, 55 y 38%, respectivamente. Estos resultados indican que la presencia de hidrocarburos en una muestra sintética de agua residual con glucosa tiene un efecto inhibitorio significativo en la actividad metabólica de las bacterias aeróbicas. En el caso de una concentración de 1000  $\text{mg L}^{-1}$  de TPH, se espera que la capacidad de tratamiento de los lodos activados disminuya significativamente hasta en un 60%.

El efecto inhibitorio de los TPHs en la actividad máxima específica de bacterias degradadoras de glucosa está ilustrado en la Figura 4.15. Los valores correspondientes a las concentraciones de TPH que producen inhibiciones del 20, 50 y 80%, es decir los  $\text{IC}_{20}$ ,  $\text{IC}_{50}$  y  $\text{IC}_{80}$ , están resumidos en la tabla 4.11. De todos los parámetros evaluados en este estudio, aceites vegetales, aceites vegetales quemados, sales y TPHs, estos últimos son los que presentan la mayor toxicidad microbiana.



**Figura 4.15** Efecto inhibitorio de los TPH en la actividad máxima específica de bacterias degradadoras de glucosa en presencia de 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa utilizando un cultivo aeróbico enriquecido 10% (v/v) obtenido de los lodos activados de la PTAR de la ciudad de Quito.

En un estudio realizado en Brasil, se evaluó el efecto de la concentración de diesel (también denominado gasoil o gasóleo) en lodos activados por el método respirométrico. La toxicidad del diesel en presencia de glucosa para un tipo de lodos no adaptados a estas condiciones de operación fue estudiada. Los resultados muestran que una concentración de  $120 \text{ mg L}^{-1}$  de diesel produce una inhibición de aproximadamente 50% en la capacidad de degradación del lodo [16]. De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, se puede establecer que a una concentración  $120 \text{ mg L}^{-1}$  de TPHs produce una reducción de la eficiencia de degradación de la materia orgánica del 30% bajo las condiciones evaluadas en este estudio. Tanto en el estudio realizado por Barros y colaboradores como en el nuestro, el sustrato que se utilizó fue la glucosa, por lo tanto, se puede ratificar que en efecto los TPHs ejercen una toxicidad significativa a las bacterias aeróbicas degradadoras de glucosa en el rango de 30 a 50%. Por lo tanto, el hecho de que la toxicidad microbiana aumente conforme aumenta la concentración de hidrocarburos en solución sugiere que los microorganismos presentes en los lodos activados se verían seriamente afectados bajo condiciones normales de operación de una PTAR.

Más aún, análisis del afluente de la PTAR de la ciudad de Quito nos indican que las concentraciones de TPHs varían entre 0 y  $142 \text{ mg L}^{-1}$ , siendo la concentración más frecuente en promedio  $15 \text{ mg L}^{-1}$  [28]. De acuerdo, a los resultados obtenidos en este estudio sobre la inhibición de la actividad microbiana de los TPHs (Figura 4.15), a una concentración de  $15 \text{ mg L}^{-1}$  de TPHs se produciría una inhibición de tan solo el 5% sobre la actividad máxima específica del consumo de glucosa. Mientras que a la concentración más alta de entrada de TPHs a la PTAR de  $142 \text{ mg L}^{-1}$ , el proceso de degradación de la materia orgánica tendría una reducción en la eficiencia del proceso equivalente al 30%. En consecuencia, se esperaría que

los TPHs presente un efecto inhibitorio significativo en los lodos activados afectando el proceso de tratamiento del agua residual.

Por otro lado, en este bioensayo no se evaluó la degradación del hidrocarburo como tal, toda vez que lo que se pretendió estudiar fue la toxicidad de los TPH en el proceso de degradación de la glucosa. La degradación de la glucosa ( $1 \text{ g L}^{-1}$ ) se realizó en un tiempo de aproximadamente 11 horas, este tiempo no es suficiente para que las bacterias sean capaces de adaptarse a la presencia de hidrocarburos y más aun tomar como fuente de carbono a los TPHs. En un estudio realizado sobre tratamiento de agua contaminada con aceites procedentes de hidrocarburos, se observó que después de 45 días un cultivo de bacterias fue capaz de degradar hidrocarburos como el fenantreno, hexadecano [30]. Entonces, es posible que los microorganismos presentes en los lodos activados de la PTAR también sean capaces de tomar como fuente de carbono a los TPH y a su vez degradarlos. Trabajos de investigación adicionales son necesarios para evaluar si los hidrocarburos podrían ser degradados por las bacterias aeróbicas presentes en los lodos activados evaluados en este estudio. Bioensayos de degradación de la materia orgánica en presencia de TPHs en períodos prolongados de tratamiento deberían ser conducidos.

**Tabla 4.11** Efecto inhibitorio de diferentes sustancias sobre el cultivo aeróbico enriquecido obtenido de los lodos de la PTAR de la ciudad de Quito durante la degradación de una muestra sintética de agua residual con  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de glucosa

Sustancia Inhibitoria	Concentración (mg/L)		
	IC <sub>20</sub>	IC <sub>50</sub>	IC <sub>80</sub>
Aceite de Soya	> 1000 <sup>b</sup>	> 1000 <sup>b</sup>	> 1000 <sup>b</sup>
Aceite de Soya quemado	160	> 1000 <sup>b</sup>	> 1000 <sup>b</sup>
Sales (NaCl)	215	1000	> 1000 <sup>b</sup>
TPH	60	640	> 1000 <sup>b</sup>

<sup>b</sup>No tóxico a la mayor concentración evaluada, en este caso,  $1000 \text{ mg L}^{-1}$

## 5. Conclusiones

- El tratamiento del agua residual es un proceso eficiente para la descontaminación del agua y actualmente constituye una alternativa para el suplir las necesidades de escasez de la misma, sin embargo, es necesario conocer las características del agua residual, toda vez que pueden existir compuestos y/o sustancias tales como los aceites y grasas, sales y TPHs, que pueden inhibir la actividad metabólica de los microorganismos responsables de la degradación de la materia orgánica contenida en el agua residual y de esta manera disminuyen el rendimiento, eficiencia y la capacidad de tratamiento biológico de una PTAR.
- Métodos analíticos para caracterizar los inóculos microbianos, determinar la demanda química de oxígeno y medir la glucosa fueron exitosamente desarrollados. Estos métodos demostraron ser altamente eficientes y se los puede utilizar para un monitoreo diario debido a su sencillez y precisión.
- La degradación de la materia orgánica de una muestra de agua residual sintética con glucosa fue más eficiente con el tratamiento que contenía la mayor cantidad de cultivo aeróbico enriquecido, esto verifica que, mientras mayor es la cantidad de biomasa presente en un reactor aeróbico, mayor es la eficiencia de remoción de la carga orgánica del afluente.
- El aceite vegetal no presentó un efecto adverso significativo sobre la actividad metabólica de los microorganismos en la degradación de la glucosa, la eficiencia del proceso no disminuyó, demostrando que el aceite vegetal no representa un problema que puede afectar gravemente en el rendimiento de una PTAR.

- El aceite vegetal quemado produjo el doble de toxicidad sobre las bacterias degradadoras de glucosa en comparación al aceite vegetal normal, reduciendo la eficiencia del proceso en un 50%, lo cual indica que, los aceites vegetales usados ejercen una mayor influencia sobre el tratamiento biológico en una PTAR y por lo tanto deben tomarse las medidas apropiadas para controlar su presencia en el agua.
- La presencia de sales tuvo un efecto inhibitorio importante sobre la actividad máxima específica de consumo de glucosa, conforme se fue incrementando la concentración de sales, la actividad metabólica de las bacterias degradadoras de glucosa fue disminuyendo hasta un 50% de su actividad normal, en consecuencia, en una PTAR es importante controlar la presencia de sales puesto que la eficiencia del proceso se puede ver fuertemente afectada.
- Los TPHs demostraron ser agentes altamente tóxicos para la actividad metabólica de los microorganismos presentes en los lodos de la PTAR, reduciendo la capacidad de degradación de la materia orgánica hasta en un 60%, lo que significa que, en una PTAR la presencia de TPHs inevitablemente afectará el tratamiento biológico, resultando en pérdidas tanto a nivel de procesos como económicas.

## 6. Referencias

1. Cyril Gomella, H.G., *Tratamiento de Aguas para Abastecimiento Público*. Editores Tecnicos asociados, S.A. ed. Vol. 1. 1977, España
2. Rheingans, C.L.M.a.R.D., *Global Challenges in water, sanitation and health*. Journal of Water and Health, 2006. **04 Supplement 1**: p. 41-57.
3. David Sckler, U.A., David Molden, Radhika de Silva and Randolph Barker, *World Water Demand and Supply, 1990 to 2025: Scenarios and Issues* International Water Management Institute Report 19, 1998: p. 50.
4. Ramalho, R.S., *Tratamiento de Aguas Residuales* Segunda ed. 1993, Barcelona, España: Reverte S. A. .
5. Degremont, G., *Water Treatment Handbook*. 6th ed. 1991 Springer-Verlag.
6. Programme, U.N.E. *UNEP*. 1972; Available from: <http://www.unep.org/>.
7. WHO, U., *Vital Water Graphics* United Nations Environment Programme, 2004.
8. Winkler, M.A., *Tratamiento Biologico de Aguas Residuales*. 1986, Mexico Editorial Limusa S. A. .
9. Metcalf & Eddy, I., *Wastewater Engineering Treatment and Reuse* 4th ed. 2003, New York: McGraw-Hill
10. Horan, N.J., *Biological Wastewater Treatment Systems*. 1991, West Sussex, England: John Wiley & Sons.
11. APHA, *Standard Methods for the examination of water and wastewater* 1998 ed, ed. L.S. Clesceri, A.E. Greenberg, and A.D. Eaton. 1998, Washington D.C American Public Health Association (APHA).
12. Mark J. Hammer and Mark J. Hammer, J., *Water and Wastewater Technology* Sixth ed. 2008 New Jersey Pearson Prentice Hall
13. Calvo, M.S., *Aguas Residuales Urbanas. Tratamientos Naturales de Bajo Costo y Aprovechamiento*. 1995, Madrid, España Mundi-Prensa.
14. Delf, U.T.d. *Lenntech Water Treatment Solutions* 1993; Available from: <http://www.lenntech.es/filtracion-aceite.htm>.

15. N. G Wakelin, C.F.F., *The Aerobic Treatment of Grease-Containing Fast Food Restaurants Wastewaters*. Trans IChemE, 1998. **76**: p. 7.
16. Barros, L.M., et al., *Effect of Oil Concentration on Activated Sludge by Respirometry*. ENPROMER, 2005.
17. M. Serrano Medrano, J.A.R.C., J. A. Chavez Cardenas, R. Ruiz Chavez, R. Garcia Acevedo (2006) *Determinacion de Alcalinidad y Acidez en aguas en el laboratorio de ingenieria sanitaria y Ambiental* 7.
18. E. Reid, X.L., S.J. Judd, *Effect of high salinity on activated sludge characteristics and membrane permeability in an immersed membrane bioreactor*. Elsevier 2006: p. 7.
19. Association, A.W.W., *Calidad y Tratamiento de Agua* 5th ed. 2002, Madrid: Mc Graw Hill.
20. *Texto Unificado de Legislacion Ambiental Secundaria in Decreto Ejecutivo No. 3516*, P.L. Asamblea Constituyente, Editor. 2003, Registro Oficial No. 2.
21. Michael T. Madigan, J.M.M., Jack Parker, *Brock Microbiologia de los Microorganismos*. Decima ed. 2004, Madrid Pearson Prentice Hall
22. Dubois, M.G., K.A.; Hamilton J.K.; Rebers, P.A.; Smith, F., *Colorimetric method for determination of sugars and related substances* Analytical Chemistry 1956: p. 350 - 356
23. Chang, R., *General Chemistry*. Fifth ed. 2008, New York, USA McGraw-Hill College.
24. M. Bajaj, C.G., J. Winter *Effect of Co-Substrates on Aerobic Phenol Degradation by Acclimatized and Non-acclimatized Enrichment Cultures* Engineering Life Science 2008: p. 125-131.
25. H. Hajiabadi, M.R.A.M., S. H. Hashemi *Effect of sludge retention time on treating high load syntethic wastewater using aerobic sequecing batch reactors* Environmental Health Science Engineering 2009. **6**: p. 217-222.
26. Ochoa-Herrera Valeria, B.Q., Leon Glengy, Khatri Chandra, Field James A, Sierra-Alvarez Reyes, *Toxicity of fluoride to microorganisms in biological wastewater treatment systems* Elsevier, 2008: p. 11.
27. Alther, G.R., *Eliminacion de aceites de aguas residuales con organoarcilla BIOMIN Inc*, 2000.

28. *Entrevista personal con el Jefe de Planta de la PTAR-Quito* 2009.
29. Wang JL, Z.X., Feng YC, Qian Y., *Effect of Salinity variations on the performance of activated sludge system*. Biomedical and Environmental Science, 2005: p. 4.
30. Soltani, S.M., D; Vossoughi, M; Hesampour, M. , *Experimental investigation of oily water treatment by membrane reactor* Elsevier, 2009.