



**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO**

**Colegio de Ciencias e Ingeniería**

**Efecto inhibitorio de cromo, cloruro y sulfuro en bacterias  
aeróbicas degradadoras de glucosa**

**Ana Belén Bruzual Roldán**

**Valeria Ochoa-Herrera, Ph.D, Directora de Tesis**

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

Quito, diciembre de 2014

**Universidad San Francisco de Quito  
Colegio de Ciencias e Ingeniería**

**HOJA DE APROBACION DE TESIS**

**Efecto inhibitorio de cromo, cloruro y sulfuro en bacterias  
aeróbicas degradadoras de glucosa**

**Ana Belén Bruzual Roldán**

Valeria Ochoa-Herrera, Ph.D

Directora de Tesis

.....

René Parra, Ph.D

Miembro del Comité de Tesis

.....

Rodny Peñafiel, Dr. Ing.

Miembro del Comité de Tesis

.....

Ximena Córdova, Ph.D

Decana de la Escuela de Ingeniería  
Colegio de Ciencias e Ingeniería

.....

Quito, diciembre de 2014

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído la Política de Propiedad Intelectual de la Universidad San Francisco de Quito y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo de investigación quedan sujetos a lo dispuesto en la Política.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo de investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma:

Nombre: Ana Belén Bruzual Roldán

C. I.: 171872841-1

Fecha: 02 de diciembre de 2014

## **Agradecimientos**

Agradezco a Valeria Ochoa por su apoyo y paciencia durante la realización de mi tesis, así como por su dedicación como profesora a lo largo de mi carrera. A Rodny Peñafiel y René Parra por haber sido siempre grandes docentes y haberme apoyado en mi carrera universitaria.

Agradezco a mis amigos por haber sido parte de esta etapa de mi vida y haberme apoyado en cada desafío que tenía frente a mí. Sobre todo quiero agradecer a Lorena Ocaña y Andrea Aldás por haberme ayudado a culminar la tesis con éxito.

Finalmente, quiero agradecer a mi mamá y mi abuelita por haberme apoyado a lo largo de toda mi vida y haberme dado la oportunidad de estudiar en esta Institución. Este título es para ustedes, por todo su amor y paciencia.

## Resumen

Durante el proceso de curtido de pieles se genera agua residual que contiene varios componentes que pueden ser altamente tóxicos y pueden interferir con el tratamiento biológico de la misma. El agua residual proveniente de una curtiembre pre-tratada con un sistema de mezcla controlada y lechada de cal fue evaluada para determinar si puede ser sometida a un proceso de tratamiento biológico. El efecto inhibitorio de cromo, cloruro y sulfuro en la actividad metabólica de las bacterias degradadoras de glucosa fue estudiado bajo condiciones batch para determinar la factibilidad de la aplicación de un tratamiento biológico aeróbico a efluentes pre-tratados de la industria de la curtiembre. Tres lodos de diferentes Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) del Distrito Metropolitano de Quito fueron evaluados para determinar el mejor inóculo microbiano y obtener un cultivo aeróbico enriquecido para los ensayos de toxicidad microbiana. Una concentración de 10% (v/v) de cultivo aeróbico enriquecido fue utilizada, al demostrar en un estudio anterior ser la concentración de biomasa más eficiente bajo condiciones experimentales específicas [1]. Entre las sustancias estudiadas, el cromo trivalente causó mayor toxicidad microbiana. La concentración de cromo que produjo el 50% de inhibición metabólica ( $IC_{50}$ ) fue de  $82,59 \text{ mg L}^{-1}$ . Un aumento en las concentraciones de sal causaron un  $IC_{50} = 8219,72 \text{ mg L}^{-1}$ , mientras que los sulfuros registraron un  $IC_{20} = 0,22 \text{ mg L}^{-1}$ . En conclusión, de acuerdo a las concentraciones de cromo ( $1,95 \text{ mg L}^{-1}$ ), cloruro ( $7726,23 \text{ mg L}^{-1}$ ) y sulfuro ( $0,634 \text{ mg L}^{-1}$ ) encontradas en el agua residual pre-tratada proveniente del proceso de curtido, es posible realizar un tratamiento biológico de dichos efluentes si se controlan los niveles de sal y sulfuro reportados.

## Abstract

The tanning process produces waste water which contains various highly toxic components that may interfere with the biological treatment. Wastewater from a tannery was pre-treated using a controlled mixing of acid and basic effluents, and a physical-chemical treatment of whitewash, was evaluated to determine if it could be submitted to a biological treatment. The inhibitory effect of chromium, chloride and sulfur in the metabolic activity of the degrading glucose bacteria was studied under batch type bioassay to determine the feasibility to apply an aerobic biological treatment to the pre-treated effluent of the tannery industry. Three types of sludge from different waste water treatment plants in the Metropolitan District of Quito were analyzed to determine the best microbial inoculum and obtain an aerobic enrichment culture for microbial toxicity. A concentration of 10% (v/v) of enriched aerobic culture was used, as demonstrated in an earlier study to be the most efficient biomass concentration under specific conditions [1]. As a result from the substances studied, trivalent chromium caused higher microbial toxicity. The chromium concentration that produced 50% of metabolic inhibition ( $IC_{50}$ ) was  $82,59 \text{ mg L}^{-1}$ . An increase in salt caused  $IC_{50} = 8219,72 \text{ mg L}^{-1}$ , while sulfides registered  $IC_{20} = 0,22 \text{ mg L}^{-1}$ . In conclusion, according to the concentrations of chromium ( $1,95 \text{ mg L}^{-1}$ ), chloride ( $7726,23 \text{ mg L}^{-1}$ ) and sulfur ( $0,634 \text{ mg L}^{-1}$ ) found in pre-treated waste water from tanning process, biological treatment of those effluents can be developed if salt and sulfur levels are controlled.

## Tabla de contenido

1. Introducción .....	15
2. Justificación.....	25
3. Objetivos .....	26
3.1. Objetivo General .....	26
3.2. Objetivos Específicos .....	26
4. Área de Trabajo.....	27
5. Materiales y Métodos .....	28
5.1. Reactivos.....	28
5.2. Inóculos Microbianos .....	28
5.3. Medio Basal Mineral .....	30
5.4. Cultivo Microbiano Enriquecido .....	31
5.5. Métodos Analíticos .....	32
5.5.1. Medición de Amonio .....	33
5.5.2. Medición de Cloruro.....	33
5.5.3. Conteo de Coliformes Fecales y Totales .....	34
5.5.4. Medición de la Conductividad.....	35
5.5.5. Medición de Cromo .....	35
5.5.6. Demanda Biológica de Oxígeno (DBO <sub>5</sub> ) .....	36
5.5.7. Demanda Química de Oxígeno (DQO) .....	37
5.5.8. Medición de Densidad Óptica (OD).....	38
5.5.9. Medición de Glucosa .....	38
5.5.10. Medición de Potencial de Hidrógeno (pH).....	39
5.5.11. Concentración de Sólidos: ST, SV, SST y SSV .....	40
5.5.12. Medición de Sulfato .....	41
5.5.13. Medición de Sulfuro .....	42



<b>5.5.14.</b> Medición de Turbidez.....	42
<b>5.6.</b> Bioensayos de Toxicidad Microbiana.....	43
<b>6.</b> Resultados y Discusiones .....	47
<b>6.1.</b> Caracterización de Agua Residual proveniente de la Industria de la Curtiembre pre-tratada con un Sistema de Lechada de Cal. ....	47
<b>6.2.</b> Caracterización de Inóculos Microbianos.....	51
<b>6.3.</b> Bioensayos de Toxicidad Microbiana.....	56
<b>6.3.1.</b> Bioensayos de Toxicidad Microbiana con Cloruro .....	56
<b>6.3.2.</b> Bioensayos de Toxicidad Microbiana con Cromo .....	64
<b>6.3.3.</b> Bioensayos de Toxicidad Microbiana con Sulfuro.....	71
<b>7.</b> Conclusiones y Recomendaciones .....	78
<b>8.</b> Bibliografía.....	79
<b>Anexo A.</b> Límites permisibles para descargas a cuerpos de agua dulce y/o alcantarilla en el Ecuador.....	85
<b>Anexo B.</b> Etapas del Curtido y sus Principales Características .....	91
<b>Anexo C.</b> Fotografías .....	94

## Índice de Figuras

- Figura 1.** Esquema general de la PTAR Piloto realizada por Valdés y Peñafiel..... 21
- Figura 2.** Cultivo enriquecido de bacterias degradadoras de glucosa en presencia de 10% (v/v) de los diferentes inóculos microbianos evaluados y 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa. Leyenda: (●) lodos activados, (■) lodos aireación extendida, (▲) lodos efluente, (○) control abiótico. Las barras de error representan desviaciones estándar de los bioensayos realizados por triplicado..... 55
- Figura 3.** Bioensayo de toxicidad microbiana en presencia de 10% (v/v) de cultivo enriquecido de lodos activados, 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa y concentraciones de cloruro entre 500 mg L<sup>-1</sup> y 10 000 mg L<sup>-1</sup>. Leyenda: (●) Control abiótico, (○) control biótico, (■) T-0,5 (500 ppm), (◇) T-2,5 (2500 ppm), (◆) T-5,0 (5000 ppm), (Δ) T-7,5 (7500 ppm) y (□) T-10 (10 000 ppm). Las barras de error representan desviaciones estándar de los bioensayos realizados por triplicado en el caso de los controles y por duplicado en caso de los ensayos con cloruro..... 58
- Figura 4.** Efecto inhibitorio de cloruro en un cultivo microbiano enriquecido de lodos activados 10% (v/v) en presencia de 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa y concentraciones en aumento de cloruro..... 61
- Figura 5.** Bioensayo de toxicidad microbiana en presencia de 10% (v/v) de cultivo enriquecido de lodos activados, 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa y concentraciones de cromo entre 0,5 mg L<sup>-1</sup> y 10 mg L<sup>-1</sup>. Leyenda: (●) Control abiótico, (○) control biótico, (■) T-0,5 (0,5 ppm), (◇) T-1,0 (1 ppm), (◆) T-2,5 (2,5 ppm), (Δ) T-5,0 (5 ppm) y (□) T-10 (10 ppm). Las barras de error representan desviaciones estándar de los bioensayos realizados por triplicado en el caso de los controles y por duplicado en caso de los ensayos con cromo... 65

**Figura 6.** Bioensayo de toxicidad microbiana en presencia de 10% (v/v) de cultivo enriquecido de lodos activados, 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa y concentraciones de cromo entre 5 mg L<sup>-1</sup> y 100 mg L<sup>-1</sup>. Leyenda: (●) Control abiótico, (○) control biótico, (■) T-5 (5 ppm), (◇) T-25 (25 ppm), (◆) T-50 (50 ppm), (Δ) T-75 (75 ppm) y (□) T-100 (100 ppm). Las barras de error representan desviaciones estándar de los bioensayos realizados por triplicado en el caso de los controles y por duplicado en caso de los ensayos con cromo... 66

**Figura 7.** Efecto inhibitorio de cromo en un cultivo microbiano enriquecido de lodos activados 10% (v/v) en presencia de 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa y concentraciones en aumento de cromo. .... 69

**Figura 8.** Bioensayo de toxicidad microbiana en presencia de 10% (v/v) de cultivo enriquecido de lodos activados, 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa y concentraciones de sulfuro entre 0,25 y 1,5 mg L<sup>-1</sup>. Leyenda: (●) Control abiótico, (○) control biótico, (■) T-0,25 (0,25 ppm), (◇) T-0,5 (0,5 ppm), (◆) T-0,75 (0,75 ppm), (Δ) T-1,0 (1 ppm) y (□) T-1,5 (1,5 ppm). Las barras de error representan desviaciones estándar de los bioensayos realizados por triplicado en el caso de los controles y por duplicado en caso de los ensayos con sulfuro..... 72

**Figura 9.** Efecto inhibitorio de sulfuro en un inóculo microbiano enriquecido de lodos activados 10% (v/v) en presencia de 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa y concentraciones en aumento de sulfuro. .... 74

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Resultados obtenidos durante los experimentos a escala piloto en el estudio realizado por Valdés y Peñafiel .....	22
<b>Tabla 2.</b> Métodos analíticos empleados en la caracterización de agua residual pre-tratada y en la caracterización de inóculos microbianos .....	32
<b>Tabla 3.</b> Factores de volumen de muestra y DBO <sub>5</sub> esperado .....	36
<b>Tabla 4.</b> Preparación de estándares de glucosa a partir de solución madre de 100 mg L <sup>-1</sup> .	39
<b>Tabla 5.</b> Composición en los bioensayos de toxicidad de cromo durante la degradación aerobia de la glucosa en un rango bajo de concentración de cromo.....	44
<b>Tabla 6.</b> Composición en los bioensayos de toxicidad de cromo durante la degradación aerobia de la glucosa en un rango alto de concentración de cromo .....	44
<b>Tabla 7.</b> Composición en los bioensayos de toxicidad de cloruro durante la degradación aerobia de la glucosa.....	45
<b>Tabla 8.</b> Composición en los bioensayos de toxicidad de sulfuro durante la degradación aerobia de la glucosa.....	46
<b>Tabla 9.</b> Resultados de la Caracterización de Agua Residual proveniente de la Industria de la Curtiembre pre-tratada con un Sistema de Lechada de Cal.....	49
<b>Tabla 10.</b> Resultados de la caracterización físico-química básica de los inóculos microbianos evaluados en este estudio .....	52
<b>Tabla 11.</b> 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 Cloruro.....	59

<b>Tabla 12.</b> 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 Cromo .....	68
<b>Tabla 13.</b> 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 sulfuro.....	73
<b>Tabla 14.</b> Efecto inhibitorio de diferentes contaminantes sobre un cultivo enriquecido durante la degradación de una muestra sintética de agua residual con glucosa .....	75
<b>Tabla 15.</b> TULSMA, Tabla 11, Límites de descarga en el sistema de alcantarillado público, Libro VI, Anexo I.....	85
<b>Tabla 16.</b> TULSMA, Tabla 12, Límites de descarga en cuerpos de agua dulce, Libro VI, Anexo I.....	88
<b>Tabla 17.</b> Etapas del Curtido .....	91

## Lista de acrónimos

- AMG: Actividad Máxima Específica de Degradación de Glucosa
- AR: Agua residual
- DBO<sub>5</sub>: Demanda Bioquímica de Oxígeno
- DMQ: Distrito Metropolitano de Quito
- DQO: Demanda Química de Oxígeno
- DQO<sub>p</sub>: Demanda Química de Oxígeno Particulada
- DQO<sub>s</sub>: Demanda Química de Oxígeno Soluble
- IC<sub>x</sub>: Concentración que genera el “x” porcentaje de inhibición
- MAE: Ministerio del Ambiente del Ecuador
- MBM: Medio Basal Mineral
- OMS: Organización Mundial de la Salud
- pH: Potencial Hidrógeno
- PTAR: Planta de Tratamiento de Aguas Residuales
- ST: Sólidos Totales
- SV: Sólidos Volátiles
- SST: Sólidos Suspendidos Totales
- SSV: Sólidos Suspendidos Volátiles
- TKN: Total Kjeldahl Nitrogen (Nitrógeno Total Kjeldahl)
- TULSMA: Texto Unificado de Legislación Secundaria del Medio Ambiente
- USFQ: Universidad San Francisco de Quito

## 1. Introducción

Las aguas residuales se generan en los procesos industriales, de uso doméstico, de uso municipal, entre otros. El agua residual contiene principalmente impurezas disueltas y en suspensión tales como materia orgánica, nutrientes, patógenos, y otros tipos de contaminantes dependiendo de su origen. El agua residual tiene que ser tratada por medios físicos, químicos y/o biológicos para reducir las impurezas y permitir que esta sea empleada con otros fines como agua de riego o uso agrícola. El grado de tratamiento requerido para un agua residual depende fundamentalmente de su nivel de contaminación, de modo que luego de ser tratada se cumplan con los límites de descarga impuestos por la legislación ambiental vigente.

Existen diferentes tipos de tratamiento de aguas residuales conocidos como pre-tratamiento, tratamiento primario, tratamiento primario avanzado, tratamiento secundario y tratamiento avanzado (o terciario) [2]. El pre-tratamiento remueve residuos sólidos de gran tamaño como ramas, palos, material flotante, arena y/o grasas que podrían causar problemas de operación en la PTAR. El tratamiento primario puede ser básico o avanzado. La principal diferencia es que en el avanzado se emplea químicos y filtros para la remoción de sólidos suspendidos y materia orgánica, mientras que el tratamiento básico utiliza filtros solamente. En el tratamiento secundario se remueve materia orgánica biodegradable, sólidos suspendidos, y nutrientes. Finalmente, el tratamiento terciario o avanzado está relacionado con métodos físico-químicos avanzados para la remoción de sólidos suspendidos residuales y de nutrientes, así como la desinfección del agua residual [2].

El tratamiento primario consiste en la separación física de sólidos suspendidos y materia orgánica por medio de operaciones físicas, usualmente la sedimentación, donde se remueve el material flotante y sedimentable presente en el agua residual [2]. Los tanques de sedimentación remueven entre 50 – 70 % de los sólidos suspendidos, y 25 – 40 % de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) [2].

El tratamiento secundario incluye tratamientos biológicos convencionales utilizados para oxidar el DBO que no fue eliminado con un tratamiento primario, y la remoción de sólidos suspendidos remanentes [3]. Los tipos de tratamientos que se pueden aplicar dentro del tratamiento secundario son: lodos activados, aireación prolongada, lagunas de aireación, filtros biológicos, tratamientos anaeróbicos, entre otros [3]. Uno de los métodos más empleadas es el tratamiento biológico de lodos activados, en el cual el agua residual y un lodo de microorganismos se encuentran en agitación y aireación constante. Si hay una concentración suficiente de oxígeno en el agua residual, las bacterias aeróbicas descompondrá la materia orgánica (sustrato) hasta que el oxígeno o el sustrato se hayan agotado [2], disminuyendo la DBO presente en el agua residual [4].

El tratamiento terciario o avanzado se emplea usualmente cuando el agua va a ser reutilizada o cuando esta no cumple con los límites permitidos en la legislación ambiental vigente. En este tratamiento se remueve sólidos suspendidos residuales (presentes después del tratamiento secundario) por varios métodos tales como filtración en medios granulares o micro partículas. La desinfección también es un proceso común del tratamiento terciario, así como la remoción de nutrientes [4]. Dentro de la remoción de nutrientes, la remoción del fósforo se alcanza por medio de remoción química, tratamientos biológicos avanzados o la combinación de ambos [5]. En la remoción química del fósforo se emplea calcio, hierro y sales de aluminio [5], mientras que el tratamiento biológico avanzado consiste en



secuencias anaeróbicas/aeróbicas, resaltando procesos como el A/O<sup>TM</sup> (anaeróbico/aeróbico solamente) o el A<sup>2</sup>O<sup>TM</sup> (anaeróbico/anóxico/aeróbico) [2]. En un estudio realizado por Nirupama Mallick sobre el potencial biotecnológico de algas inmovilizadas para la remoción de nitrógeno, fósforo y metales presentes en el agua residual, se obtuvo porcentajes de remoción de 95% y 97% para NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N y PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P respectivamente [6].

En un estudio realizado por el Instituto del Agua, Medio Ambiente y Salud de la Universidad de las Naciones Unidas (UNU-INWEH) se determinó que en los países desarrollados se trata el 70% de las aguas residuales, en los países con ingresos medios el porcentaje de agua tratada es del 28 al 38%, mientras que en los países más pobres este porcentaje desciende a 8% [7]. No existen datos disponibles acerca del porcentaje de agua residual que recibe algún tipo de tratamiento en el Ecuador, sin embargo, en América Latina la mayoría de agua residual no recibe ningún tipo de tratamiento [8]. De acuerdo a la División de Estadísticas de las Naciones Unidas, el 90% de las aguas residuales domésticas en Latinoamérica son descargadas en ríos, lagos o costas sin tratamiento previo [8]. Según un informe realizado por ONU-Agua para la Promoción y la Comunicación en el marco del Decenio (UNW-DPAC) sobre la producción, tratamiento y uso de aguas servidas en el Ecuador, se encontró que el 1,29% del agua es utilizada para procesos industriales, tales como el proceso de curtido de cuero, objeto de este estudio; el 26,6% de las aguas residuales del Ecuador tienen algún tipo de tratamiento (físico, químico o biológico), lo cual refleja la realidad general de Latino América y del 80% de las empresas que llevan a cabo procesos industriales en el país no tienen ningún tipo de tratamiento de aguas residuales, sino que estas son descargadas directamente a las fuentes de agua receptoras [9].

La industria del curtido de pieles es muy importante a nivel nacional, produciendo alrededor de 350 000 cueros y pieles al año sobre todo en las Provincias de Tungurahua, Azuay, Pichincha y Guayas [10]. En el proceso de curtido se utilizan elementos como cal, ácido sulfúrico, ácido clorhídrico, sales de amonio; los cuales actúan como surfactantes, solventes orgánicos, sales de cromo, entre otros [11]. Las aguas residuales del proceso de curtido son altamente perjudiciales para el ambiente ya que presentan un elevado grado de contaminación debido a la presencia de cromo trivalente, sulfuro, sólidos suspendidos, Demanda Química de Oxígeno (DQO), entre otros. Adicionalmente, en el proceso del curtido de pieles se utiliza una elevada cantidad de agua, se requieren alrededor de 35 litros de agua por kg de cuero procesado [12]. El cromo puede causar la muerte de especies presentes en los cuerpos de agua debido a su alta toxicidad [13]. El sulfuro al transformarse en ácido sulfhídrico genera problemas en la vida acuática y salud de las personas, causando intoxicación o incluso la muerte [14]. Los sólidos suspendidos afectan las características físicas del agua y la presencia de materia orgánica medida como DQO disminuye la concentración de oxígeno disuelto afectando la flora y fauna acuáticas de los cuerpos receptores [14]. Todos estos contaminantes causan enfermedades y desequilibrio al ecosistema y es la razón principal del tratamiento de aguas contaminadas previo a la descarga a un cuerpo de agua [15]. Las Tablas 11 y 12, Anexo 1, Libro VI del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente (TULSMA) presentan los límites máximos permisibles para descarga de efluentes al alcantarillado y a cuerpos de agua, respectivamente. Estas tablas se encuentran en el Anexo A de este documento [16].

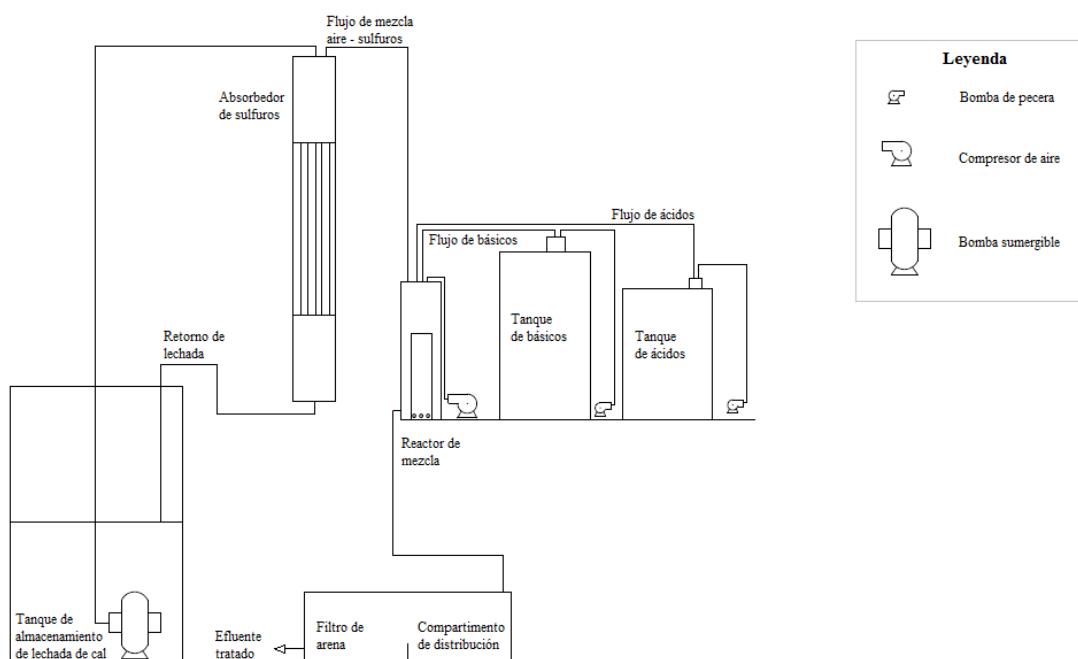
El proceso de curtido consiste en convertir la piel putrescible de ganado en cuero por medio de una combinación de operaciones químicas y mecánicas [17] [18]. El proceso de producción se realiza en seis fases que incluyen la ribera, el piquelado, el curtido, procesos

mecánicos de post-curtición, procesos húmedos de post-curtición y secado y terminación [19]. En el Anexo B, en la Tabla 17 se presentan las etapas del curtido y sus principales características. Varias técnicas han sido utilizadas para el tratamiento de los residuos líquidos generados en la fabricación de cuero. Un estudio llevado a cabo por Yamamoto y Muang Win donde se utilizó un reactor batch de membranas en secuencia (SBMR por su nombre en inglés, Sequencing Batch Membrane Reactor) para tratar agua residual de la industria del curtido, se obtuvo porcentajes de remoción de 93,7 – 96,3 % y 95,4 – 97,7 % para DQO y cromo total, respectivamente [20]. En otro estudio realizado por Szpyrkowicz *et al* donde se empleó un tratamiento electroquímico con electrodos de Ti, Pt e Ir se obtuvo porcentajes de remoción de 60% para DQO y 80% para amonio [21]. Finalmente, en otro estudio realizado por Song *et al* se utilizó sulfato de aluminio y cloruro férrico como coagulantes, disminuyendo la concentración de los sólidos suspendidos (remoción de 38 – 46%), DQO (30 - 37%) y cromo (74 – 99%) [22].

En un estudio realizado por Valdés y Peñafiel, las aguas de una curtiembre de Tungurahua fueron tratadas mediante un proceso físico-químico empleando un sistema de mezcla controlada y lechada de cal. La planta piloto consta de dos tanques (uno para aguas ácidas y otro para básicas), un reactor de mezcla, una columna de absorción de sulfuros, un tanque de almacenamiento de la lechada de cal, un compresor marca Thomas USAIR (0,08 HP), una bomba sumergible Truper, dos compresores de pecera y un filtro de arena [23]. El reactor de mezcla tiene una capacidad de 3 L, y su tapa dispone de cuatro perforaciones para mangueras delgadas, que corresponde a la entrada de ácidos, básicos y aire, y a la salida de sulfuros hacia la columna de absorción. La base del reactor tiene una salida para una manguera delgada que se dirige al filtro de arena [23]. Por la tapa de la columna de absorción entra una manguera para los sulfuros, una manguera de salida del gas depurado y

una manguera que se conecta a una ducha metálica que distribuye la solución de cal. La base de la columna de absorción posee una salida para una manguera para la recirculación de la lechada de cal que se encuentra en un tanque de 55 galones [23]. El efluente no filtrado que sale del reactor de mezcla se acumula en un compartimento de vidrio que se llena hasta rebosar de forma uniforme en el filtro de arena. Después del filtro de arena, el efluente filtrado es recogido en tanques de plástico para su análisis en este estudio. Se puede observar el esquema general de la PTAR Piloto en la Figura 1.

Los parámetros analizados en la investigación realizada por Valdés y Peñafiel fueron el pH, amonio, conductividad, cloruros, cromo trivalente, DQO, nitratos, SST, sulfuros y turbidez. El pH se mantuvo entre 6,2 y 8,2; mientras que los demás parámetros fueron reducidos entre 5-16 %, 4-35 %, 4-51 %, 12-86 %, 20-47%, 16-48 %, 46-70%, 46-96 % y 46-68 %, respectivamente [23]. El resumen de los resultados obtenidos en los experimentos realizados en la PTAR Piloto utilizada en el estudio de Valdés y Peñafiel se encuentra en la Tabla 1. Cabe indicar que si bien es cierto se obtuvieron elevados porcentajes de remoción, no se cumple la Norma Nacional en varios parámetros, por lo que se debe realizar un tratamiento posterior, siendo este un tratamiento biológico. Para determinar la factibilidad de realizar un tratamiento secundario se determinará el efecto inhibitorio de cromo, cloruro y sulfuro en bacterias aeróbicas degradadoras de glucosa en rango de concentración similares a los presentes en el AR pre-tratada.



**Figura 1.** Esquema general de la PTAR Piloto realizada por Valdés y Peñafiel [23]

**Tabla 1.** Resultados obtenidos durante los experimentos a escala piloto en el estudio realizado por Valdés y Peñafiel [23]

Parámetros	Experimento 1		Experimento 2		Experimento 3		Experimento 4		Experimento 5		Experimento 6		Experimento 7		Experimento 8	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
DQO <sub>t</sub> mg L <sup>-1</sup>	4004	2540	6522	4119	5753	4592	6136	3856	6556	3506	6385	3508	6385	3543	5753	4275
DQO <sub>s</sub> mg L <sup>-1</sup>	2493	2536	5158	3202	4980	4049	4521	3452	5548	3215	5392	2952	5392	2622	4356	3372
DQO <sub>p</sub> mg L <sup>-1</sup>	1511	4	1364	917	773	543	1615	404	1008	291	993	556	993	921	1397	903
SST mg L <sup>-1</sup>	1670	508	775	2599	1139	440	1139	618	1139	598	-	-	-	-	-	-
pH	7.3	7.2	7.3	6.2	7.3	8.1	7.3	7.8	7.3	7.1	7.3	8.2	7.3	8.2	7.3	8.1
Conductividad mS cm <sup>-1</sup>	26	28	26	17	26	20	26	23	26	23	26	25	26	25	26	20
Turbidez NTU	801	257	801	2040	801	397	801	430	801	418	801	417	801	417	801	397
S <sup>2-</sup> mg L <sup>-1</sup>	18	-	141	-	137	-	137	-	293	-	89	18	39	21	100	4
Cl <sup>-</sup> mg L <sup>-1</sup>	9185	8831	12330	6025	12330	12927	7039	6698	7039	6698	7039	6514	7039	6514	12330	12927
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg L <sup>-1</sup>	68	99	328	172	328	237	430	327	430	327	430	362	430	362	328	237
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg L <sup>-1</sup>	74	62	404	383	404	364	249	287	249	276	249	257	249	235	404	364
Cr <sup>3+</sup> mg L <sup>-1</sup>	-	-	65	57	83	12	99	19	83	26	84	25	101	32	123	25

Varios estudios han sido reportados en la literatura acerca del efecto inhibitorio de estos contaminantes en diferentes procesos biológicos. El cromo es de gran interés como carcinógeno ocupacional y ambiental. La especie de cromo que presenta un alto poder carcinógeno es el cromo hexavalente debido a su solubilidad, lo cual permite que penetre las membranas celulares [24]. Uno de los grandes inconvenientes del cromo es que este no es biodegradable y se puede acumular hasta concentraciones potencialmente tóxicas [25], por lo que su control en la fuente de contaminación es de gran importancia. En un estudio realizado por Bailey *et al*, sobre la influencia del cromo trivalente en tratamientos biológicos de aguas residuales, se determinó que concentraciones de 12% de cromo III no generan una reducción eficiente en el tratamiento de los lodos activados [26]. Para tratar AR contaminadas con  $\text{Cr}^{3+}$  se puede utilizar un reactor batch de membranas en secuencia (SBMR) con un porcentaje de remoción de 95,4 – 97,7 % para cromo total [20]; o sulfato de aluminio y cloruro férrico como coagulantes, disminuyendo la concentración del cromo entre 74 – 99% [22], entre otros.

Las sales de cloruro son muy solubles en agua, y los altos niveles de cloruro intensifican los efectos corrosivos de las mismas, por lo que el ion cloruro corroe las tuberías y genera daños en estructuras metálicas. La concentración de cloruro máxima recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) es de  $250 \text{ mg L}^{-1}$  [27]. En un estudio realizado por Reid *et al*, sobre el efecto de la salinidad en las características de lodos activados, se determinó que un cambio brusco en la salinidad afecta las propiedades físicas y bioquímicas de los lodos activados de una Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) [28]. Por ejemplo, a concentraciones de 1%, las células presentan plasmólisis o pérdida de actividad en la célula [28].

El sulfuro de hidrógeno se distribuye a través de los pulmones, cerebro, corazón, hígado y riñones [14]. Según la OMS, las concentraciones tolerables son  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$  para exposición por inhalación a corto plazo (de 1 a 14 días), y de  $0,02 \text{ mg L}^{-1}$  para exposición a mediano plazo (mayor a 90 días) [29]. En un estudio realizado por Tursman y Cork, se reportó que la forma tóxica del sulfuro es el  $\text{H}_2\text{S}$  por su habilidad de difusión en la membrana celular y su habilidad de desnaturalizar proteínas [30]. En dicho estudio se reportaron que los rangos de inhibición son  $100 - 800 \text{ mg L}^{-1}$  con sulfuro disuelto, y  $50 - 400 \text{ mg L}^{-1}$  por  $\text{H}_2\text{S}$  [25]. El sulfuro causa problemas al ser descargado en el ambiente, ya que cuando este es dispuesto en cuerpos de agua genera una reducción en el oxígeno disuelto presente y forma precipitados con minerales presentes en el agua como el hierro [31].



## **2. Justificación**

El tratamiento físico-químico de mezcla controlada y lechada de cal de aguas residuales provenientes de la industria de la curtiembre ha demostrado ser eficiente para la remoción de cromo, DQO y sulfuros [23]. Sin embargo, es importante tener en consideración que en el efluente pre-tratado objeto de este estudio, las concentraciones de cromo, cloruro, sulfuro y sales todavía son elevadas, por lo que podrían inhibir la actividad microbiana durante un tratamiento biológico posterior de dicho efluente. Este proyecto de investigación es la continuación del diseño e implementación del sistema de mezcla controlada y lechada de cal llevado a cabo por la Ing. Alejandra Valdés con la supervisión del Dr.-Ing. Rodny Peñafiel, Departamento de Ing. Ambiental de la USFQ. En esta etapa se realizarán los estudios de toxicidad microbiana de cromo, cloruro y sulfuro en microorganismos aeróbicos presentes en lodos provenientes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) de la ciudad de Quito, durante la degradación de glucosa.

El presente estudio es de gran importancia para el país ya que se determinará la factibilidad de implementar un tratamiento biológico posterior al tratamiento físico-químico de mezcla controlada y lechada de cal utilizado para tratar agua residual proveniente de la industria de curtido de pieles. En base a los resultados de este proyecto de investigación se diseñará un sistema de tratamiento completo para aguas residuales provenientes de la industria de la curtiembre, promoviendo así, soluciones técnicas a uno de los problemas ambientales más graves del país.

### **3. Objetivos**

#### **3.1. Objetivo General**

Evaluar el efecto inhibitorio de cromo, cloruro y sulfuro en la actividad metabólica de las bacterias degradadoras de glucosa para determinar la factibilidad de la aplicación de un tratamiento biológico a agua residual proveniente de la industria de la curtiembre pre-tratada con un sistema de mezcla controlada y lechada de cal.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- Tratar agua residual proveniente de una curtiembre de la provincia de Tungurahua por medio de un sistema de mezcla controlada y lechada de cal.
- Realizar la caracterización física, química y biológica de agua residual proveniente de la industria de la curtiembre pre-tratada con un sistema de mezcla controlada y lechada de cal.
- Determinar el mejor inóculo microbiano por medio de ensayos físico-químicos y biológicos, comparando tres lodos aerobios provenientes de diferentes PTARs del Distrito Metropolitano de Quito.
- Determinar el efecto inhibitorio de cromo, cloruro y sulfuro en un consorcio microbiano presente en lodos activados durante la degradación aeróbica de glucosa.
- Determinar la factibilidad de la aplicación de un tratamiento biológico a agua residual de curtiembre pre-tratada con un sistema de mezcla controlada y lechada de cal.

#### **4. Área de Trabajo**

Las aguas residuales crudas fueron obtenidas de una curtiembre situada en la ciudad de Ambato. Estas fueron tratadas en la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) piloto diseñada por la Ing. Alejandra Valdés y el Dr.-Ing. Rodny Peñafiel. en el laboratorio de Ingeniería Ambiental del Colegio Politécnico de la Universidad San Francisco de Quito (USFQ) situado en Tumbaco- Pichincha.

Los análisis de laboratorio fueron llevados a cabo en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la USFQ (LIA-USFQ), en el campus de Cumbayá-Quito.

Los ensayos de toxicidad microbiana fueron realizados en el LIA-USFQ con el apoyo de los laboratorios de Biotecnología Vegetal y del Instituto de Microbiología, ambos pertenecientes al Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales (COCIBA) de la USFQ, en el campus de Cumbayá-Quito.

Las muestras de lodos aeróbicos utilizados fueron proporcionadas por las empresas: La Holandesa, Pollo Favorito S.A. (Pofasa), y por Procesadora Nacional de Alimentos C.A. (Pronaca).

## 5. Materiales y Métodos

### 5.1. Reactivos

El hidróxido de sodio (NaOH) (99% de pureza) se obtuvo de Merck (Darmstadt, Germany), ftalato ácido de potasio ( $C_8H_5O_4K$ , KHP) (90- 100%) de J. T. Baker Inc. (Phillipsburg, NJ, USA), Cloruro de amonio ( $NH_4Cl$ ) (98%), sulfato de magnesio heptahidratado ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ) (100%), cloruro de calcio ( $CaCl_2$ ) (99,9%), extracto de levadura, fosfato de potasio monobásico ( $KH_2PO_4$ ) (99- 100%), glucosa ( $C_6H_{12}O_6$ ), sulfato de cromo ( $Cr_2(SO_4)_3$ ) (100%), cloruro de sodio (NaCl) (99%), dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ), ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) (98%), nitrato de plata ( $AgNO_3$ ) (99- 100%), fenol ( $C_6H_6O$ ), cloruro de bario ( $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ ) (99- 100%), sulfuro de sodio ( $Na_2S$ ), dimetil ftalato ( $C_{10}H_{10}O_4$ , DMP) y cloruro de zinc ( $ZnCl_2$ ) (100%) fueron obtenidos de Reactivos H.V.O (Quito, Ecuador) [32].

### 5.2. Inóculos Microbianos

Los inóculos microbianos (lodos aeróbicos) fueron obtenidos de tres PTARs, dos de empresas avícolas y una de una empresa quesera. La PTAR de la empresa La Holandesa consta de los siguientes procesos: primero el agua de la planta quesera pasa por un tanque de desbaste, continuando a una trampa de grasas, donde se separa la mayor cantidad de grasas posibles. El tercer y cuarto pasos son un homogenizador y un reactor biológico respectivamente. En el reactor biológico el agua permanece por un periodo de 24 horas, donde se da un proceso de degradación aeróbica de la materia orgánica. A continuación el efluente pasa por un sedimentador. Finalmente, tanto los lodos del reactor aeróbico como los del sedimentador pasan a unas cámaras de secado para su posterior tratamiento. Los

lodos aeróbicos se obtuvieron del efluente de la PTAR, por lo que de ahora en adelante nos referiremos a este inóculo microbiano como “Lodos Efluente”.

La PTAR de la empresa Pofasa ubicada en La Pampa trata  $200 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$  y consta de los siguientes procesos: primero el agua pasa por un tamiz rotatorio donde se separan los residuos sólidos del agua residual (AR). A continuación el AR pasa por una trampa de grasas para la separación física de las grasas y aceites, seguida de una laguna metanogénica (tratamiento anaeróbico) donde se añaden enzimas. Posteriormente el agua residual pasa por un tanque selector conectado a un reactor aeróbico, al cual se le bombea aire (proceso de aireación) desde la parte inferior del tanque para la flotación de la materia, conocido como tanque de aireación extendida. A continuación, el agua residual pasa a un clarificador con descarga directa al Río Monjas. Un porcentaje de lodos es recirculado al reactor aerobio, mientras el resto pasa directamente a la cama de secado [33]. El inóculo fue obtenido del tanque de aireación extendida, por lo que se hará referencia a éste como “Lodos Aireación Extendida”.

Finalmente, en la PTAR de la empresa Pronaca ubicada en Yaruquí se tratan de 600 a 700  $\text{m}^3 \text{ día}^{-1}$  de aguas residuales. La PTAR consta de los siguientes procesos: primero el agua residual pasa por una serie de rejillas de distintos diámetros, a continuación pasa por dos filtros rotatorios, seguidos de un proceso de cribado vibratorio donde se eliminan los sólidos suspendidos y solamente ingresan al siguiente paso de PTAR los sólidos coloidales. A continuación el AR entra a un homogenizador de  $5 \text{ m}^3$  donde se mezcla la carga. Posteriormente, el AR pasa a una piscina de flotación o sistema de flotación de aire disuelto (DAF) en donde se presuriza el agua hasta que se consiga una saturación de oxígeno; luego se despresuriza el agua, formando pequeñas burbujas de oxígeno. Este proceso permite separar sólidos de baja densidad de la fase líquida del AR [3]. Los sólidos

de la superficie son arrastrados por paletas y se depositan en una tolva de lodos. Los lodos generados en la PTAR pasan por los filtros de prensa para eliminar el exceso de agua y ser entregados a un gestor autorizado para su disposición final. Los efluentes del DAF van a un homogenizador para pasar al tratamiento biológico en un tanque de aireación (tratamiento aerobio), donde se remueve la materia orgánica disuelta por acción de microorganismos mediante un proceso de lodos activados. A continuación el agua pasa por un sedimentador y un selector (para evitar el crecimiento de bacterias filamentosas) para ingresar al tanque desnitrificador (tratamiento anóxico). Finalmente, el agua ingresa a un tanque de desinfección por hipoclorito de sodio, para que el efluente de la PTAR sea reutilizado dentro de Pronaca para regar el área verde y limpieza de la Planta Industrial. En este caso el inóculo microbiano provino del tanque de aireación y haremos referencia al mismo como “Lodos Activados”.

### **5.3. Medio Basal Mineral**

El medio basal mineral (MBM) utilizado tanto en la caracterización de los inóculos microbianos como en los bioensayos de toxicidad microbiana en presencia de glucosa fue utilizado anteriormente en el trabajo de titulación de la Ing. Natazha Valarezo [1] y está compuesto de (en mg L<sup>-1</sup>): NH<sub>4</sub>Cl (280), MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (100), CaCl<sub>2</sub> (10), extracto de levadura (10), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (2050), y 1 mL L<sup>-1</sup> de la solución de elementos trazas. La solución de elementos traza contiene (en mg L<sup>-1</sup>): H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (50), FeCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O (2000), ZnCl<sub>2</sub> (50), MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O (50), (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>·4H<sub>2</sub>O (50), AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O (90), CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (2000), NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (50), CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (30), NaSeO<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O (100), EDTA (1000), Resazurina (200),

HCl 36% ( $1 \text{ mL L}^{-1}$ ) [1]. Una vez preparado el medio basal mineral se ajustó el pH entre 7,1 y 7,3 utilizando un ácido (HCl 1M) o base (NaOH 1M) según sea el caso.

#### **5.4. Cultivo Microbiano Enriquecido**

El cultivo microbiano enriquecido fue utilizado para determinar el inóculo microbiano que presenta una mayor degradación de glucosa para emplearlo en los ensayos de toxicidad.  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de glucosa fueron añadidos al medio basal mineral poco antes de empezar los ensayos de toxicidad y se sometió a agitación. El cultivo enriquecido fue realizado en experimentos batch en Erlenmeyers de 125 mL, donde se colocaron 90 mL de medio basal mineral y 10 % (v/v) del inóculo microbiano. Los Erlenmeyers fueron tapados con algodón para facilitar el ingreso de oxígeno y a la vez evitar cualquier tipo de contaminación que afecte los resultados. Los ensayos fueron realizados por triplicado con cada inóculo microbiano; así mismo, se realizaron controles abióticos que carecían de microorganismos. Los bioensayos fueron colocados en el Shaker MaxQ 4000 (Thermo Fisher Scientific, Marietta, OH, USA) [34] del Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la USFQ a una temperatura de  $30 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  y una velocidad de agitación de 50 rpm. El tiempo de monitoreo fue de 38 horas, donde se tomaron 3 mL de muestra y se midió la densidad óptica periódicamente. Las muestras fueron tomadas cada: 0, 5, 13, 16, 19, 21, 23, 25, 27 y 38 horas.

### 5.5. Métodos Analíticos

Los métodos analíticos descritos a continuación fueron empleados tanto en la caracterización de agua residual pre-tratada con un sistema de lechada de cal, como en la caracterización de inóculos microbianos. Los métodos analíticos empleados en cada caracterización se reflejan en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Métodos analíticos empleados en la caracterización de agua residual pre-tratada y en la caracterización de inóculos microbianos

<b>Parámetros</b>	<b>Caracterización Agua Residual</b>	<b>Caracterización Inóculos microbianos</b>
Degradación de glucosa		X
Amonio	X	
Cloruro	X	
Coliformes fecales y totales	X	
Conductividad	X	X
Cromo	X	
DBO <sub>5</sub>	X	
DQO	X	X
pH	X	X
Sólidos (ST, SV, SST, SSV)	X	X
Sulfato	X	
Sulfuro	X	
Turbidez	X	



### 5.5.1. Medición de Amonio

El método utilizado para la medición de amonio fue SM 4500-NH3 D [35]. El amonio fue medido empleando un electrodo selectivo de amonio Orion (Thermo Scientific, Beverly, MA, USA) y un electrodo de referencia Orion (Thermo Scientific, Beverly, MA, USA). La curva de calibración se realizó empleando soluciones estándar en un rango de concentración de 10, 30, 50, 70, 100 y 1000 mg  $\text{NH}_4^+$   $\text{L}^{-1}$ . Los estándares fueron preparados a partir de una solución madre de 1000 mg  $\text{L}^{-1}$  de  $\text{NH}_4^+$  como cloruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) [36]. Para medir la concentración de amonio en los estándares se tomaron 20 mL de cada estándar y se añadieron 2 mL de una solución de ajuste de fuerza iónica (ISA amonio) [32]. El voltaje se registró en mV y dichos valores fueron graficados en función del logaritmo base 10 de la concentración de amonio de acuerdo a lo establecido por la Ley de Beer y se obtuvo un  $R^2$  de 0,992. Las muestras fueron analizadas de la misma manera y la concentración de amonio en cada muestra fue calculada en base a la curva de calibración obtenida [36].

### 5.5.2. Medición de Cloruro

El método utilizado para la medición de cloruro fue ASTM D512-89 C [35]. El cloruro fue medido empleando un electrodo selectivo de cloruro Orion (Thermo Scientific, Beverly, MA, USA). La curva de calibración se realizó empleando soluciones estándar de 10, 25, 50, 75, 100, 250, 500, 750 y 1000 mg  $\text{Cl}^-$   $\text{L}^{-1}$ . Los estándares fueron preparados a partir de una solución madre de 1000 mg  $\text{L}^{-1}$  de cloruro como cloruro de sodio ( $\text{NaCl}$ ) [36]. Para medir la concentración de cloruro en los estándares se tomaron 20 mL de cada estándar y se añadieron 0,4 mL de una solución de ajuste de fuerza iónica (ISA cloruro) (Thermo

Scientific, Beverly, MA, USA). El voltaje se registró en mV y dichos valores fueron graficados en función del logaritmo base 10 establecido por la ley de Beer y se obtuvo un  $R^2$  de 0,998. Las muestras fueron analizadas de la misma manera y la concentración de cloruro en cada muestra fue calculada en base a la curva de calibración obtenida [32].

### 5.5.3. **Conteo de Coliformes Fecales y Totales**

El método utilizado para determinar Coliformes Fecales y Totales fue el del número más probable por el conteo de colonias en una placa de Petrifilm. Diluciones sucesivas fueron realizadas empezando con una solución madre correspondiente a 10 mL de la muestra a analizar. A continuación, se tomó 1 mL de cada dilución con una pipeta automática y se lo colocó cuidadosamente en una placa de Petrifilm, asegurándose de que todo el volumen transferido quede uniformemente esparcido en la placa. Para calcular el número más probable se utilizó la siguiente ecuación.

#### **Ecuación 1.**

$$\frac{NMP}{mL} = \frac{\text{número de colonias} * \text{factor de dilución}}{\text{volumen de la muestra inoculada}}$$

Las unidades formadoras de colonias fueron contadas tanto a las 24 como a las 48 horas de colocadas las muestras en el Petrifilm. Las colonias fueron identificadas de acuerdo a lo establecido en el manual 3M- Placas Petrifilm MR [37]. Aquellas de coloración rojiza son coliformes, y aquellas de coloración azulada son coliformes fecales. Para la determinación de las coliformes totales las colonias rojizas y azuladas fueron contadas, mientras que los

coliformes fecales fueron únicamente aquellos de color azul. El rango de conteo para la población total en placas Petrifilm EC es de 15-150. Si hay un número mayor, se reporta como incontable [37].

#### **5.5.4. Medición de la Conductividad**

El método utilizado para medir la conductividad fue SM 2510 B (APHA) [35]. El electrodo de conductividad fue calibrado con el estándar 1413  $\mu\text{S cm}^{-1}$  [34]. La conductividad de cada muestra fue determinada tomando 50 mL y utilizando un multiparámetro portátil Thermo Scientific Orion 5-Star (Thermo Scientific, Beverly, MA, USA) [36].

#### **5.5.5. Medición de Cromo**

La determinación de cromo fue realizada utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica Buck Scientific 210 VGP (Buck Scientific, Connecticut, USA), donde se utilizó una llama de aire y acetileno [38]. La curva de calibración fue preparada empleando estándares de 1, 2, 3, 4 y 5  $\text{mg Cr}^{3+} \text{L}^{-1}$  a partir de una solución madre de 1000  $\text{mg Cr}^{3+} \text{L}^{-1}$ . Por último, se realizó el análisis de las muestras y se registró la concentración de cada lectura.

### 5.5.6. Demanda Biológica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>)

La demanda biológica de oxígeno en el día 5 fue medida empleando el equipo OxiTop y su respectiva incubadora. El DBO<sub>5</sub> esperado se determina mediante el DQO obtenido al multiplicar por una constante K. Esta constante es la fracción del DQO que se espera sea biodegradable, normalmente es 0,5; sin embargo, el valor puede ser igual a 0,7 en ciertos casos dependiendo de la carga orgánica de la muestra. El volumen de muestra que debe ser colocado en la botella- OxiTop varía según el valor referencial anteriormente obtenido. En la Tabla 3 se encuentra el volumen de muestra que se debe utilizar así como el factor por el que se debe multiplicar al DBO<sub>5</sub> obtenido, para que este sea el DBO<sub>5</sub> real de la muestra [39].

**Tabla 3.** Factores de volumen de muestra y DBO<sub>5</sub> esperado [39]

<b>DBO<sub>5</sub> esperado (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Volumen de la muestra (mL)</b>	<b>Factor</b>
0 – 40	432	1
0 – 80	365	2
0 – 200	250	5
0 – 400	164	10
0 – 800	97	20,1
0 – 2000	43,5	50,3
0 – 4000	22,7	100,5

La muestra fue colocada en la botella de ámbar, a continuación se añadió el agitador y 3-5 pastillas de hidróxido de sodio (NaOH) fueron colocadas en la parte superior de la botella. Finalmente, el equipo OxiTop fue conectado y la botella fue colocada en la incubadora a

20°C. El equipo registró medidas de la DBO en la muestra durante 5 días. El valor del quinto día fue multiplicado por el factor de la Tabla 3. En caso de que se haya realizado una dilución previa, el valor fue multiplicado también por el factor de dilución utilizado.

### 5.5.7. Demanda Química de Oxígeno (DQO)

La demanda química de oxígeno se determinó mediante un método colorimétrico a una longitud de onda de 600 nm, tomando como referencia el método SM 5220 B [32]. La curva de calibración se realizó a partir de una solución madre de 1000 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> de KHP en un rango de concentración de estándares de 25, 50, 100, 250, 500, 750 y 1000 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. La solución de digestión de alto rango (250 mL) fue preparada secando 2,554 g de dicromato de potasio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) a 150°C por dos horas. A continuación, el K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> y 41,75 mL de la solución de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) fueron agregados a 125 mL de agua destilada. La solución de ácido sulfúrico fue preparada añadiendo nitrato de plata (AgNO<sub>3</sub>) a H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado a una relación de 6 g AgNO<sub>3</sub> / kg H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Después, se dejó reposar por 1 a 2 días para disolver el nitrato de plata.

Para la preparación de los estándares se utilizó Ftalato Ácido de Potasio (KHP). La solución madre, con un DQO teórico de 1000 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, se preparó triturando y secando KHP en el horno GC- Series Lab Ovens (Quincy Lab. Inc, Chicago, USA) a 110°C durante toda la noche para posteriormente añadir 212,5 mg de KHP a 250 ml de agua destilada. El KHP tiene un COD teórico de 1,176 mg O<sub>2</sub> / mg KHP. Los estándares se prepararon colocando 2,5 mL de estándar, 1,5 mL de solución de digestión y 3,5 mL de ácido sulfúrico. Los estándares fueron colocados en el horno a 150°C por 2 horas para digerir la muestra [36]. Finalmente, se esperó a que estos enfríen y se midió la absorbancia a una

longitud de onda de 600 nm. La curva de calibración se obtuvo graficando los valores de absorbancia en función de la demanda química de oxígeno de acuerdo a lo establecido por la ley de Beer y se obtuvo un  $R^2$  de 0,998. Para medir el DQO de las muestras el mismo proceso fue realizado y se determinó el DQO real utilizando la curva de calibración obtenida.

#### **5.5.8. Medición de Densidad Óptica (OD)**

La densidad óptica fue medida utilizando el colorímetro Spectronic 20 D+ (Fisher Scientific, Madison, WI, USA) [40]. El equipo fue encerrado con agua destilada y a continuación se tomaron 3 mL de muestra y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 600 nm. Las muestras fueron tomadas en distintos intervalos hasta que los sistemas alcancen el equilibrio.

#### **5.5.9. Medición de Glucosa**

El método colorimétrico utilizado para determinar la concentración de glucosa fue el desarrollado por Dubois y colaboradores [41]. Los reactivos utilizados fueron fenol 5% (v/v) y ácido sulfúrico concentrado. Previo a las mediciones de las muestras, se realizó una curva de calibración en función de la absorbancia con diferentes estándares de glucosa a partir de una solución madre de  $100 \text{ mg C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \text{ L}^{-1}$  (Tabla 4). De acuerdo a lo establecido en la Ley de Beer, el  $R^2$  de la curva de calibración fue de 0,98.

**Tabla 4.** Preparación de estándares de glucosa a partir de solución madre de 100 mg L<sup>-1</sup>

Estándar	Concentración de Glucosa (mg L <sup>-1</sup> )	Glucosa 100 mg L <sup>-1</sup> (mL)	Agua (mL)	Fenol 5% (mL)	Ácido sulfúrico (mL)	Total (mL)
1	0	0	0,5	0,5	2,5	3,5
2	2,86	0,1	0,4	0,5	2,5	3,5
3	5,71	0,2	0,3	0,5	2,5	3,5
4	8,57	0,3	0,2	0,5	2,5	3,5
5	11,43	0,4	0,1	0,5	2,5	3,5
6	14,29	0,5	0	0,5	2,5	3,5

En el caso de las muestras, se tomaron 0,7 mL de cada uno de los ensayos, así como de los controles bióticos y abióticos. Las muestras fueron centrifugadas en la micro-centrífuga Spectrafuge 24 D (Labnet, NJ, USA) durante un periodo de 5 minutos a 10 000 rpm. 0,5 mL de la muestra fueron transferidos a tubos de ensayo y se añadieron 0,5 mL de fenol 5% (v/v) y 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado. A continuación se mezcló el contenido de los tubos de ensayo, se dejó reposar durante 7 minutos y se calentó en el horno GC- Series Lab Ovens (Quincy Lab. Inc, Chicago, USA) a 45°C durante 20 minutos. Posteriormente, la absorción fue medida en el colorímetro Spectronic 20D+ a una longitud de onda de 490 nm [1].

#### 5.5.10. Medición de Potencial de Hidrógeno (pH)

El método utilizado para medir pH fue SM 4500-H<sup>+</sup> B [35]. El multiparámetro portátil Thermo Scientific Orion 5-Star (Thermo Scientific, Beverly, MA, USA) fue calibrado con su electrodo específico para medición de pH empleando soluciones buffer con un pH de 4, 7 y 10, según lo que se especifica en la guía de uso [42]. El potencial de hidrógeno (pH)

fue determinado tomando 40 mL de muestra de acuerdo al procedimiento descrito previamente.

#### **5.5.11. Concentración de Sólidos: ST, SV, SST y SSV**

La concentración de sólidos tanto en lodos como en muestras líquidas se realizó empleando protocolos internacionales, siendo estos los 2540 B y 2540 D del APHA [35]. Para determinar los ST se pesó y registró el peso del crisol vacío en la balanza analítica Mettler-Toledo ( $P_c$  = peso crisol). Posteriormente se vació 25 mL de la muestra ( $V_m$  = volumen muestra) y se colocó el crisol en el horno GC- Series Lab Ovens (Quincy Lab. Inc, Chicago, USA) a 105°C durante ocho horas y posteriormente se registró su peso ( $P_l$  = peso lodo). Con los datos obtenidos se empleó la Ecuación 2 para calcular los ST [2]. Para determinar los SV se colocó el crisol en la mufla Ney Vulcan 3-550 (Degussa Ney, CA, USA) durante tres horas a 550°C y se anotó el peso ( $P_z$  = peso cenizas). En este caso, para calcular los SV se empleó la Ecuación 3 [2].

Para calcular los SST se usó un filtro de micro fibra de vidrio 934-AH (Whatman, Piscataway, NJ, USA) con un diámetro de 4,7 cm el cual fue pesado en la balanza ( $P_f$  = peso filtro) y colocado en el equipo de filtrado al vacío (kitasato y mangueras). Se agregó 15 mL de la muestra ( $V_{mf}$  = volumen muestra), se filtró la misma y se colocó el filtro en el horno durante ocho horas a 105°C. Luego se pesó el filtro y se anotó su valor ( $P_{lf}$  = peso lodo filtrado). Con estos datos y la Ecuación 4 se calculó los SST [2]. Posteriormente, para determinar los SSV se colocó el filtro sobre crisoles y se los dejó tres horas en la mufla a 550°C. Finalmente, se pesó el crisol y se anotó el valor obtenido ( $P_{zf}$  = peso cenizas filtradas). Para obtener el valor de los SSV se empleó la Ecuación 5 [2].



**Ecuación 2.**

$$ST (g L^{-1}) = \frac{Pl}{Vm} = \frac{(\text{peso lodo seco} + \text{crisol}) - \text{peso del crisol}}{\text{Volumen de la muestra}}$$

**Ecuación 3.**

$$SV (g L^{-1}) = \frac{Pl - Pz}{Vm} = \frac{(\text{peso lodo seco} + \text{crisol}) - (\text{peso cenizas} + \text{crisol})}{\text{Volumen de la muestra}}$$

**Ecuación 4.**

$$SST(g L^{-1}) = \frac{Plf}{Vmf} = \frac{(\text{peso lodo seco} + \text{filtro}) - \text{peso del filtro}}{\text{Volumen de la muestra}}$$

**Ecuación 5.**

$$SSV(g L^{-1}) = \frac{Plf - Pzf}{Vmf} = \frac{(\text{peso lodo seco} + \text{filtro}) - (\text{peso cenizas} + \text{filtro})}{\text{Volumen de la muestra}}$$

**5.5.12. Medición de Sulfato**

El método utilizado para la medición de sulfato fue SM 426 C [35]. La medición de sulfato se realizó empleando 25 mL de muestra y se ajustó a un pH ácido con ácido clorhídrico (HCl 1M) al 30%, es decir, un  $pH \leq 2$ . La muestra fue filtrada con un filtro de papel para retirar sólidos que puedan interferir en la medición, 25 mL de una solución 0,1 M de cloruro de bario ( $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ ) fueron añadidos, la mezcla se dejó reposar durante una hora para precipitar el sulfato presente en la solución como sulfato de bario ( $BaSO_4$ ). Posteriormente, se realizó una filtración al vacío empleando filtros de micro fibra de

vidrio. Las muestras filtradas fueron secadas en un horno GC- Series Lab Ovens (Quincy Lab. Inc, Chicago, Estados Unidos) durante 8 horas. La cantidad de sulfato de bario formada se determinó por diferencia de peso entre el peso del filtro y el peso del filtro con la muestra seca después de 8 horas en el horno a 105°C [36].

#### **5.5.13. Medición de Sulfuro**

El método utilizado para la medición de sulfuro fue SM 4500-S<sup>2-</sup> D. La medición de sulfuro disuelto fue realizada usando un espectrofotómetro (Spectronic 20D+, Nueva York, Estados Unidos) por el método colorimétrico de azul de metileno a una longitud de onda de 670 nm [35]. La curva de calibración fue construida a partir de estándares de 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 y 1 mg S<sup>2-</sup> L<sup>-1</sup>. El R<sup>2</sup> de la curva de calibración fue de 0,992. En un balón volumétrico de 25 mL se colocó 5 mL de cloruro de zinc (2%), 2.5 mL de DMP (2 g L<sup>-1</sup>) con 20% de ácido sulfúrico concentrado, 0,125 mL de la solución de sulfato de amonio y hierro II (100 g L<sup>-1</sup>) y la muestra a ser analizada tomando en cuenta que la cantidad de sulfuro (S<sup>2-</sup>) presente no puede ser mayor a 1 mg S<sup>2-</sup> L<sup>-1</sup> [36]. Finalmente, la absorbancia fue medida a 670 nm, tanto de las muestras como de los estándares de la curva de calibración.

#### **5.5.14. Medición de Turbidez**

La turbidez se midió utilizando el equipo Orion AQ 4500 (Thermo Scientific, MA, USA), que se calibra utilizando diferentes estándares incluidos para encerrar el turbidímetro, se mide la turbidez del agua destilada, la cual es cercana a 0 NTU [23]. Una vez calibrado y encerrado el equipo la turbidez de las muestras fue medida [43].

## 5.6. Bioensayos de Toxicidad Microbiana

El efecto inhibitorio de cromo, cloruro y sulfuro en la actividad metabólica de las bacterias aeróbicas degradadoras de glucosa fue evaluado en bioensayos batch para cada compuesto. Los ensayos fueron realizados por duplicado en Erlenmeyers de 125 mL, donde se colocaron 90 mL de medio basal mineral con  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de glucosa y 10% (v/v) de cultivo microbiano enriquecido. Posteriormente, en cada bioensayo se obtuvieron las concentraciones deseadas de cromo, cloruro y sulfuro a partir de soluciones madre. Además de los ensayos de toxicidad microbiana, también se realizaron dos controles por triplicado, un control biótico en ausencia de agente inhibitorio y un control abiótico en ausencia de microorganismos. Todos los Erlenmeyer fueron tapados con algodón y colocados en el shaker de baño maría MRC BT-350 (M.R.C.Ltd., Israel) [44] del Laboratorio de Microbiología de la USFQ y fueron monitoreados en intervalos determinados por un periodo de 10 horas. La temperatura fue ajustada a  $30 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$  y la velocidad de agitación fue de 50 rpm.

La toxicidad de cromo como sulfato de cromo [ $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$ ] fue evaluada en dos rangos de concentración, rango bajo y rango alto. Los ensayos realizados en el rango bajo de concentración fueron T-0,5, T-1, T-2,5, T-5 y T-10 con concentraciones de 0.5, 1, 2.5, 5 y  $10 \text{ mg Cr}^{3+} \text{ L}^{-1}$ , respectivamente. Mientras que los bioensayos en el rango alto de concentración, T-5, T-25, T-50, T-75 y T-100 contenían 5, 25, 50, 75 y  $100 \text{ mg Cr}^{3+} \text{ L}^{-1}$ , respectivamente. En las Tabla 5 y 6 se presentan la composición de los ensayos de toxicidad microbiana de cromo en rangos bajos y altos de concentración, respectivamente con un volumen total de 100 mL.

**Tabla 5.** Composición en los bioensayos de toxicidad de cromo durante la degradación aerobia de la glucosa en un rango bajo de concentración de cromo

<b>Ensayo</b>	<b>Cultivo enriquecido (mL)</b>	<b>Medio basal mineral (mL)<sup>c</sup></b>	<b>Cromo Cr<sup>3+</sup> (mL)</b>	<b>Agua destilada (mL)</b>
<b>Control Biótico</b>	10	90		
<b>Control Abiótico</b>		90		10
<b>T-0,5</b>	10	89	1 <sup>a</sup>	
<b>T-1</b>	10	89	1 <sup>b</sup>	
<b>T-2,5</b>	10	87,5	2,5 <sup>b</sup>	
<b>T-5</b>	10	85	5 <sup>b</sup>	
<b>T-10</b>	10	80	10 <sup>b</sup>	

a: Solución madre de 50 mg Cr<sup>3+</sup> L<sup>-1</sup>

b: Solución madre de 100 mg Cr<sup>3+</sup> L<sup>-1</sup>

c: Concentración de glucosa 1000 mg L<sup>-1</sup>

**Tabla 6.** Composición en los bioensayos de toxicidad de cromo durante la degradación aerobia de la glucosa en un rango alto de concentración de cromo

<b>Ensayo</b>	<b>Cultivo enriquecido (mL)</b>	<b>Medio basal mineral (mL)<sup>c</sup></b>	<b>Cromo Cr<sup>3+</sup> (mL)</b>	<b>Agua destilada (mL)</b>
<b>Control biótico</b>	10	90		
<b>Control Abiótico</b>		90		10
<b>T-5</b>	10	85	5 <sup>a</sup>	
<b>T-25</b>	10	87,5	2,5 <sup>b</sup>	
<b>T-50</b>	10	85	5 <sup>b</sup>	
<b>T-75</b>	10	82,5	7,5 <sup>b</sup>	
<b>T-100</b>	10	80	10 <sup>b</sup>	

a: Solución madre de 100 mg Cr<sup>3+</sup> L<sup>-1</sup>

b: Solución madre de 1000 mg Cr<sup>3+</sup> L<sup>-1</sup>

c: Concentración de glucosa 1000 mg L<sup>-1</sup>

El efecto inhibitorio de cloruro durante la degradación aeróbica de la glucosa fue evaluado en un solo rango. El cloruro suministrado como cloruro de sodio (NaCl) fue evaluado en los bioensayos T-0,5, T-2,5, T-5, T-7,5 y T-10 con concentraciones de 500, 2500, 5000, 7500 y 10 000 mg Cl<sup>-</sup> L<sup>-1</sup>. En la Tabla 7 se presenta la composición de los bioensayos de toxicidad de cloruro para ensayos para un volumen total de 100 mL.

**Tabla 7.** Composición en los bioensayos de toxicidad de cloruro durante la degradación aerobia de la glucosa

<b>Ensayo</b>	<b>Cultivo enriquecido (mL)</b>	<b>Medio basal mineral (mL)<sup>c</sup></b>	<b>Cloruro Cl<sup>-</sup> (mL)</b>	<b>Agua destilada (mL)</b>
<b>Control biótico</b>	10	90		
<b>Control Abiótico</b>		90		10
<b>T-0,5</b>	10	85	5 <sup>a</sup>	
<b>T-2,5</b>	10	87,5	2,5 <sup>b</sup>	
<b>T-5</b>	10	85	5 <sup>b</sup>	
<b>T-7,5</b>	10	82,5	7,5 <sup>b</sup>	
<b>T-10</b>	10	80	10 <sup>b</sup>	

a: Solución madre de 10 000 mg Cl<sup>-</sup> L<sup>-1</sup>

b: Solución madre de 100 000 mg Cl<sup>-</sup> L<sup>-1</sup>

c: Concentración de glucosa 1000 mg L<sup>-1</sup>

La toxicidad microbiana de sulfuro, suministrado como sulfuro de sodio (Na<sub>2</sub>S) fue evaluada en la actividad metabólica de bacterias aerobias degradadoras de glucosa en un rango de concentración bajo. Los ensayos T-0,25, T-0,5, T-0,75, T-1 y T-1,5 presentaron concentraciones de 0.25, 0.5, 0.75, 1 y 1.5 mg S<sup>2-</sup> L<sup>-1</sup>, respectivamente. La composición de dichos bioensayos para un volumen total de 100 mL se detalla en la Tabla 8.

**Tabla 8.** Composición en los bioensayos de toxicidad de sulfuro durante la degradación aerobia de la glucosa

<b>Ensayo</b>	<b>Cultivo enriquecido (mL)</b>	<b>Medio basal mineral (mL)<sup>b</sup></b>	<b>Sulfuro S<sup>2-</sup> (mL)<sup>a</sup></b>	<b>Agua destilada (mL)</b>
<b>Control biótico</b>	10	90		
<b>Control Abiótico</b>		90		10
<b>T-0,5</b>	10	88,33	1,67	
<b>T-2,5</b>	10	86,67	3,33	
<b>T-5</b>	10	85	5	
<b>T-7,5</b>	10	83,33	6,67	
<b>T-10</b>	10	80	10	

a: Solución madre de 15 mg S<sup>2-</sup> L<sup>-1</sup>

b: Concentración de glucosa 1000 mg L<sup>-1</sup>

## 6. Resultados y Discusiones

### 6.1. Caracterización de Agua Residual proveniente de la industria de la curtiembre pre-tratada con un sistema de mezcla controlada y lechada de cal.

En la Tabla 9 se presenta la caracterización de la muestra de AR proveniente de la industria de la curtiembre, pre-tratada con un sistema de mezcla controlada y lechada de cal, realizada en base a parámetros físico-químicos y microbiológicos. En esta tabla también se presentan los límites máximos permisibles de descarga al sistema de alcantarillado público y a un cuerpo de agua dulce, establecidos en la legislación ecuatoriana en las Tablas 11 y 12, respectivamente, Libro VI, Anexo I, del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Medio Ambiente del Ministerio del Ambiente (TULSMA) [16].

La concentración de amonio, cloruro, sulfuro y DQO de la muestra de agua residual pre-tratada analizada fue de  $116,27 \pm 0,86$ ,  $7726,23 \pm 0,12$ ,  $0,634 \pm 0,01$ ,  $3252,1 \pm 54,86$  y  $3696,67 \pm 72,01$  mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. En un estudio realizado por Valdés y Peñafiel, la concentración de estos compuestos para aguas residuales de curtiembre, pre-tratadas con un sistema de mezcla controlada y lechada de cal se encontraron en los rangos de 62 – 383 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup> L<sup>-1</sup>, 6025 – 8831 mg Cl<sup>-</sup> L<sup>-1</sup>, 0,1 – 21 mg S<sup>2-</sup> L<sup>-1</sup> y 2540 – 4592 mg DQO L<sup>-1</sup>, respectivamente [23]. Los resultados obtenidos en este estudio se encuentran dentro de los rangos del AR pre-tratada. En términos de los límites máximos permisibles de descarga, el amonio no es un parámetro regulado en el TULSMA; sin embargo, la legislación nacional estipula que el límite máximo permisible de nitratos y TKN para descargas a cuerpos de agua dulce es de 10 mg L<sup>-1</sup> y 15 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente [16]. Así mismo, en el caso del cloruro, el TULSMA no regula su límite máximo permisible de descarga; sin embargo, se regula el cloro activo, el cual tiene un límite máximo de 0,5 mg L<sup>-1</sup>. Entre los tratamientos

de desmineralización más comunes se encuentran la evaporación condensación, intercambio iónico y ósmosis inversa [45]. En el caso del sulfuro, la concentración del mismo fue 1,2 veces mayor al límite indicado en el TULSMA para descarga en cuerpos de agua dulce. La concentración de sulfatos presentes en el AR supera el límite máximo permisible de descarga por un factor de 3, por lo que es necesario realizar un tratamiento posterior para disminuir su concentración. Así mismo, la DQO supera el límite permitido de descarga a un cuerpo de agua dulce por un factor de 15, siendo necesario un tratamiento secundario que permita disminuir esta concentración hasta aquella permitida en el TULSMA.

En el caso del cromo, la concentración obtenida en el agua residual pre-tratada fue de 1,95 mg Cr<sup>3+</sup> L<sup>-1</sup>, encontrándose por debajo del rango reportado por Valdés y Peñafiel, siendo este 12 – 57 mg Cr<sup>3+</sup> L<sup>-1</sup> [23]. Una posible explicación sobre este valor de la concentración de cromo es que en el presente estudio se añadió un filtro de arena, el cual no estuvo incluido en el estudio realizado por Valdés y Peñafiel, lo cual pudo haber contribuido a reducir la concentración de cromo. En un estudio realizado por Higuera *et al*, sobre el diseño de biofiltros para reducir la contaminación generada por el cromo presente en la industria del curtido, se obtuvo porcentajes de remoción entre 10,4% y 38,8% empleando biofiltros con grava, arena y biomasa de la hoja del café, en distintas proporciones [46]. A pesar de que la concentración de cromo trivalente (Cr<sup>3+</sup>) no está regulada por el Ministerio del Ambiente, la concentración máxima permisible para el cromo hexavalente es de 0,5 mg L<sup>-1</sup>.



**Tabla 9.** Resultados de la Caracterización de Agua Residual proveniente de la Industria de la Curtiembre pre-tratada con un Sistema de Lechada de Cal [16]

Parámetros	Unidades	Resultados			Límite de descarga a un cuerpo de agua dulce <sup>a</sup>	Límite de descarga al sistema de alcantarillado público <sup>b</sup>
<b>Amonio</b>	mg L <sup>-1</sup>	116,27	±	0,86	--	--
<b>Cloruro</b>	mg L <sup>-1</sup>	7726,23	±	0,12	--	--
<b>Coliformes Fecales</b>	NMP / 100 mL	< 1	±	0	Remoción >99,9%	--
<b>Coliformes Totales</b>	NMP / 100 mL	< 1	±	0	--	--
<b>Conductividad</b>	mS cm <sup>-1</sup>	19,06	±	0,02	--	--
<b>Cromo Cr<sup>3+</sup></b>	mg L <sup>-1</sup>	1,95	±	0	--	--
<b>DBO<sub>5</sub></b>	mg L <sup>-1</sup>	2893,33	±	40,41	100	250
<b>DQO</b>	mg L <sup>-1</sup>	3696,67	±	72,01	250	500
<b>pH</b>		8,37	±	0,01	5 a 9	5 a 9
<b>Sólidos Totales</b>	g L <sup>-1</sup>	16,66	±	0,66	1600	1600
<b>Sólidos Volátiles</b>	g L <sup>-1</sup>	1,33	±	0,01	--	--
<b>Sólidos Suspendidos Totales</b>	g L <sup>-1</sup>	1,32	±	0,003	100	220
<b>Sólidos Suspendidos Volátiles</b>	g L <sup>-1</sup>	0,67	±	0	--	--
<b>SSV / SST</b>		0,51	±	0,05	--	--
<b>Sulfato</b>	mg L <sup>-1</sup>	3252,10	±	54,86	1000	400
<b>Sulfuro</b>	mg L <sup>-1</sup>	0,634	±	0,01	0,5	1
<b>Turbidez</b>	NTU	243,33	±	1,15	--	--

<sup>a</sup> Tabla 12. Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce, Libro VI, Anexo I, TULSMA

<sup>b</sup> Tabla 11. Límites de descarga al sistema de alcantarillado público, Libro VI, Anexo I, TULSMA

En el caso de la conductividad y los diferentes tipos de sólidos, los valores obtenidos para el agua residual pre-tratada se encuentran dentro del rango reportado por Valdés y Peñafiel [23]. Cabe indicar que la legislación ambiental no regula la conductividad de las aguas residuales para su descarga en alcantarillado o cuerpos de agua dulce [16]. Los ST y SST se encuentran por debajo de los límites máximos de descarga para estos dos parámetros, mientras que los SV y SSV no son regulados por la legislación ambiental del país. Sin embargo, al conocer que los SV y SSV son fracciones de los ST y SST, también se encontrarían por debajo de la norma. Finalmente, en la muestra de agua residual pre-tratada, el pH y la turbidez se encuentran ligeramente fuera del rango reportado en el estudio anterior, realizado por Valdés y Peñafiel [23]. El pH se encuentra dentro del rango permitido para descargas de AR a un cuerpo de agua dulce establecido en la legislación ecuatoriana, mientras que la turbidez no ha sido regulada.

Uno de los parámetros más importantes para determinar si un agua residual puede ser tratada con procesos biológicos, es la DBO y su relación con la DQO. La  $DBO_5$  del agua residual pre-tratada fue  $2893,33 \pm 40,41 \text{ mg L}^{-1}$ . La relación entre la  $DBO_5$  y DQO es de 78%, lo cual nos indica que el agua residual tiene una elevada concentración de materia orgánica, por lo que un tratamiento biológico del AR pre-tratada sería factible [2]. Así como la DQO, la  $DBO_5$  se encuentra por encima del límite máximo permisible para descarga a cuerpos de agua dulce por un factor de 23.

Estos resultados indican la necesidad de realizar un tratamiento biológico previo descarga a un cuerpo de agua dulce, por lo tanto en este estudio se evaluará el efecto inhibitorio de cromo, cloruro y sulfuro en la actividad metabólica de las bacterias aeróbicas degradadoras de glucosa para determinar la factibilidad de la aplicación de un tratamiento biológico a

agua residual proveniente de la industria de la curtiembre pre-tratada con un sistema de mezcla controlada y lechada de cal.

## 6.2. Caracterización de Inóculos Microbianos

**Los resultados de la caracterización físico-química básica de los inóculos microbianos lodos efluente, lodos aireación extendida y lodos activados, se encuentran en la**

Tabla 10. Estos parámetros incluyen conductividad, DQO, pH, ST, SST y SSV. Los resultados de DQO para inóculos evaluados se encuentran entre 169,61 – 331,83 mg L<sup>-1</sup>. Siendo el inóculo del lodo efluente el que presentó la menor concentración de DQO, seguido por los lodos activados, mientras que los lodos de aireación extendida son los que presentan la mayor DQO. La DQO mide la cantidad de materia que puede ser oxidada químicamente, por lo que el lodo con menor DQO necesitará menos oxígeno para ser oxidado [2], disminuyendo así la energía que tiene que ser invertida en el proceso. Los resultados de pH se encuentran entre 6,19 – 7,58. Este parámetro es de gran importancia en los procesos de degradación biológica puesto que los microorganismos necesitan condiciones de pH específicas, siendo cualquiera de los tres lodos un buen inóculo refiriéndonos a este parámetro en particular.

**Tabla 10.** Resultados de la caracterización físico-química básica de los inóculos microbianos evaluados en este estudio

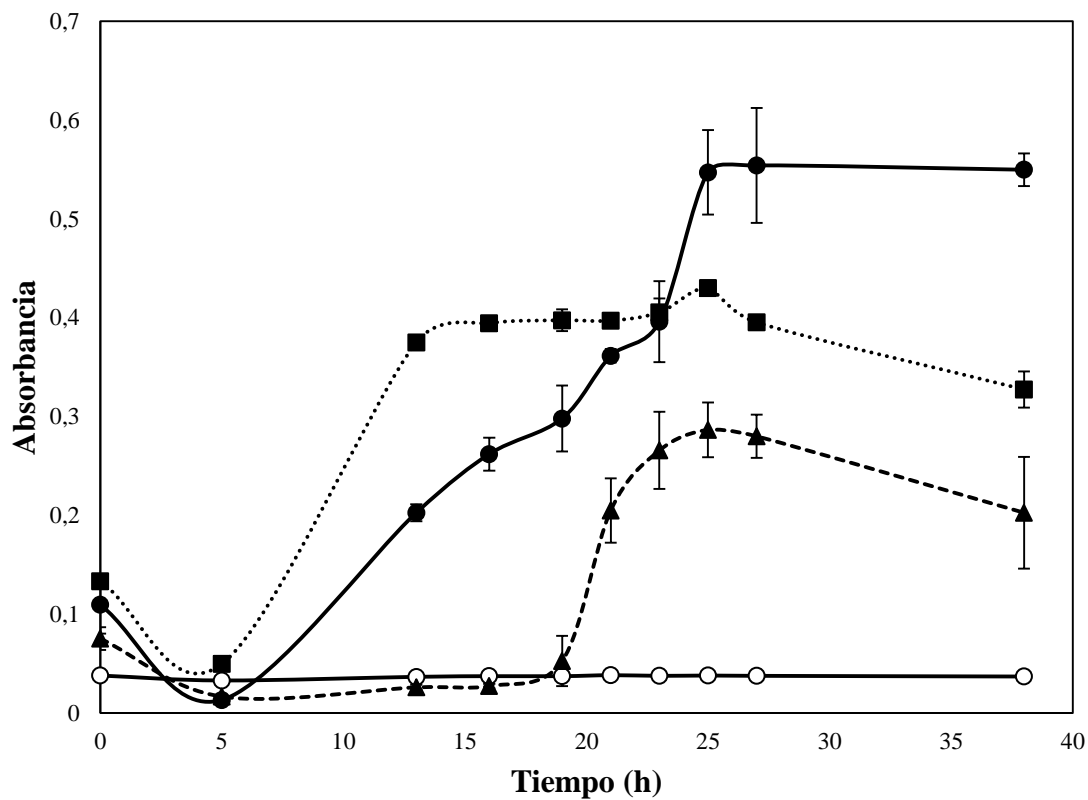
Parámetro	Unidad	Inóculos Microbianos								
		Lodos activados			Lodos aireación extendida			Lodos efluente		
<b>Conductividad</b>	$\mu\text{S cm}^{-1}$	1286	$\pm$	0,577	2215	$\pm$	0,577	2654	$\pm$	1,528
<b>DQO<sub>s</sub></b>	$\text{mg L}^{-1}$	221,83	$\pm$	4,71	331,83	$\pm$	9,28	169,61	$\pm$	10,18
<b>pH</b>		6,97	$\pm$	0,01	7,58	$\pm$	0,01	6,19	$\pm$	0,01
<b>ST</b>	$\text{g L}^{-1}$	2,873	$\pm$	0,217	3,413	$\pm$	0,070	2,347	$\pm$	0,082
<b>SST</b>	$\text{g L}^{-1}$	2,253	$\pm$	0,013	2,487	$\pm$	0,055	1,300	$\pm$	0,012
<b>SSV</b>	$\text{g L}^{-1}$	1,862	$\pm$	0,025	1,631	$\pm$	0,031	1,278	$\pm$	0,010
<b>SSV / SST</b>		0,826	$\pm$	0,008	0,656	$\pm$	0,005	0,993	$\pm$	0,003

Los resultados de ST se encuentran entre 2,347 – 3,413 g L<sup>-1</sup>, los de SST están entre 1,300 – 2,487 mg L<sup>-1</sup>. La relación entre SSV/SST (junto con el crecimiento microbiano en los cultivos enriquecidos) son los parámetros más relevantes para poder determinar cuál es el inóculo microbiano más apropiado para realizar los ensayos de toxicidad. Los lodos efluente registraron la relación más alta (98,29%), seguidos por los lodos activados (82,6%) y finalmente los lodos aireación extendida (65,6%). Los dos primeros inóculos microbianos presentaron una relación mayor a 70%, que es lo que se recomienda en la literatura para que el inóculo sea considerado como una buena fuente de biomasa [2]. En el caso de los lodos efluente, ésta elevada concentración de biomasa se puede atribuir a que en el momento de la toma de la muestra se estaba añadiendo bacterias (cultivadas en un birreactor) al tanque aeróbico de la PTAR para obtener mejores resultados de remoción de contaminantes, lo que aumentó la relación de SSV/SST.

A pesar de que la relación SSV/SST es más alta en los lodos activados y lodos efluente, se debe realizar un último análisis empleando un cultivo enriquecido para estudiar el crecimiento microbiano y determinar el mejor inóculo microbiano. El inóculo microbiano que presente la mayor relación SSV/SST y el mayor crecimiento será empleado como cultivo enriquecido para los ensayos de toxicidad.

En la Figura 2 se presenta la determinación del crecimiento microbiano en base a la densidad óptica. Esta figura corresponde al crecimiento propio de microorganismos presentes en los diversos inóculos microbianos evaluados en este estudio en presencia de glucosa. En todos los tratamientos (10% en volumen del inóculo microbiano inicial) existe un crecimiento exponencial de microorganismos con respecto al tiempo, mientras que en el control abiótico no se evidencia crecimiento microbiano. El inóculo que presenta el mayor crecimiento es el de los lodos activados, ya que después de 24 horas de estudio, la densidad

óptica de los microorganismos presentes en este inóculo fue 0,6 en comparación con los otros dos lodos, efluente y aireación extendida que registraron valores de 0,4 y 0,3 respectivamente. También se puede observar que los lodos de aireación extendida se estabilizaron después de 12 horas y alcanzaron la fase de muerte celular luego de 25 horas de monitoreo. Los lodos efluente registraron largos periodos de adaptación, estabilizándose a las 22 horas y decayendo a las 27 horas. Mientras que los lodos activados registraron una fase exponencial mucho más extensa iniciando a las 5 horas y alcanzando la fase estacionaria a las 25 horas de estudio. Analizados los resultados de la caracterización físico-química y del crecimiento microbiano en los cultivos enriquecidos, se determinó que el inóculo microbiano con las mejores características fue lodos activados, registrando mayor crecimiento con una relación de SSV/SST de 82,6%.



**Figura 2.** Cultivo enriquecido de bacterias degradadoras de glucosa en presencia de 10% (v/v) de los diferentes inóculos microbianos evaluados y  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de glucosa. Leyenda: (●) lodos activados, (■) lodos aireación extendida, (▲) lodos efluente, (○) control abiótico. Las barras de error representan desviaciones estándar de los bioensayos realizados por triplicado.

### **6.3. Bioensayos de Toxicidad Microbiana**

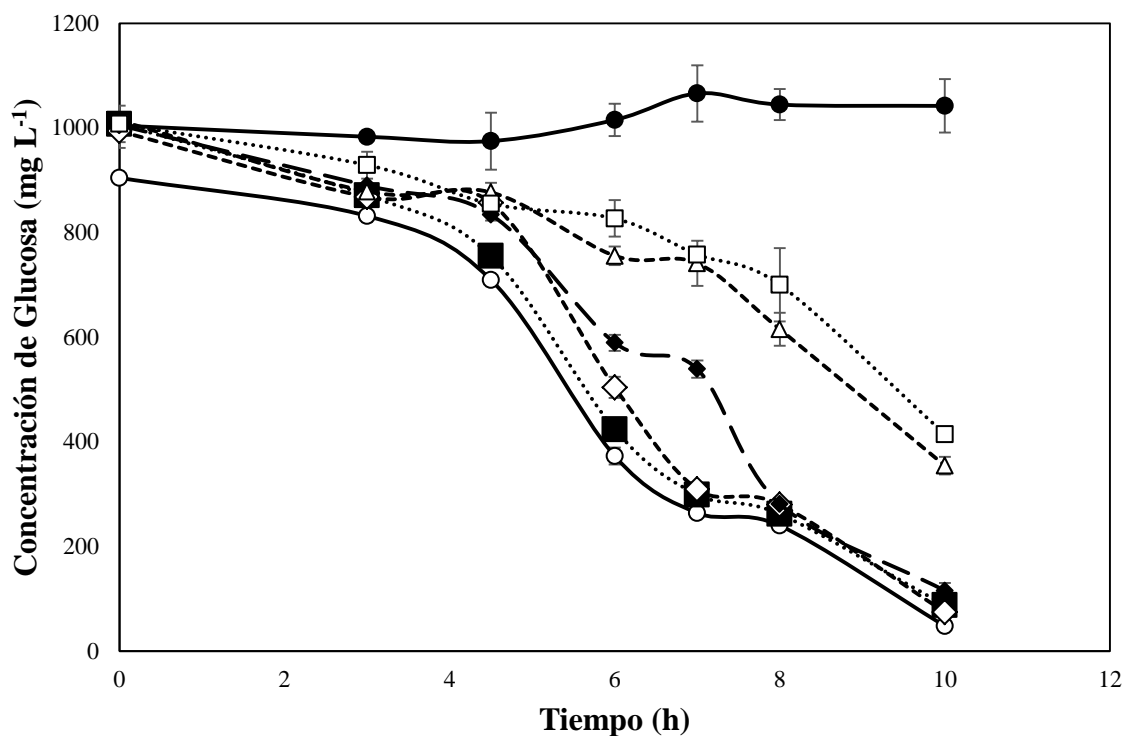
Los bioensayos de toxicidad microbiana se realizaron con un cultivo enriquecido de los lodos activados, utilizando 10% (v/v) de inóculo microbiano de acuerdo a lo propuesto en el estudio realizado por Valarezo y Ochoa-Herrera, en el que se evaluaron diferentes concentraciones de biomasa 1, 2.5, 5 y 10 % (v/v) y se estableció que el cultivo enriquecido que presentó la mayor actividad máxima específica de consumo de glucosa fue aquel correspondiente a una concentración de 10 % (v/v) [1].

#### **6.3.1. Bioensayos de Toxicidad Microbiana con Cloruro**

En la Figura 3 se presentan los resultados de la degradación de una muestra sintética de agua residual con glucosa con respecto al tiempo en presencia de diferentes concentraciones de cloruro empleando 10% (v/v) de un cultivo enriquecido. En esta figura se puede observar que en el control biótico en ausencia de cloruro, se obtuvo una degradación completa de la glucosa después de 10 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. En el caso de los tratamientos, se observa que el cloruro afecta a los microorganismos degradadores de glucosa debido a que, el porcentaje de consumo de glucosa va disminuyendo conforme se incrementa la concentración de sales. Por ejemplo, después de 6 horas de tratamiento en el bioensayo con 2500 mg Cl<sup>-</sup> L<sup>-1</sup>, 504 mg L<sup>-1</sup> de glucosa permanecieron en solución (degradando 49,25% de la glucosa presente); en el bioensayo con 10 000 mg Cl<sup>-</sup> L<sup>-1</sup> la concentración de glucosa fue 826,97 mg L<sup>-1</sup>, con una degradación de 17,95%; comparado con el control biótico en el que se obtuvo una degradación de 58,76 % de la concentración inicial de glucosa. Las curvas de



degradación de glucosa en presencia de distintas concentraciones de cloruro surgieren que este ion genera cierta inhibición en la actividad metabólica de organismos degradadores de glucosa conforme aumenta su concentración en los bioensayos.



**Figura 3.** Bioensayo de toxicidad microbiana en presencia de 10% (v/v) de cultivo enriquecido de lodos activados,  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de glucosa y concentraciones de cloruro entre  $500 \text{ mg L}^{-1}$  y  $10\,000 \text{ mg L}^{-1}$ . Leyenda: (●) Control abiótico, (○) control biótico, (■) T-0,5 (500 ppm), (◇) T-2,5 (2500 ppm), (◆) T-5,0 (5000 ppm), (Δ) T-7,5 (7500 ppm) y (□) T-10 (10 000 ppm). Las barras de error representan desviaciones estándar de los bioensayos realizados por triplicado en el caso de los controles y por duplicado en caso de los ensayos con cloruro.

La actividad máxima específica de degradación de glucosa (AMG) se determinó 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 control biótico. El porcentaje de actividad máxima específica de degradación de glucosa se obtiene dividiendo la actividad máxima específica a la concentración evaluada para la actividad máxima específica del control biótico, como se muestra en la Ecuación 6.

#### Ecuación 6.

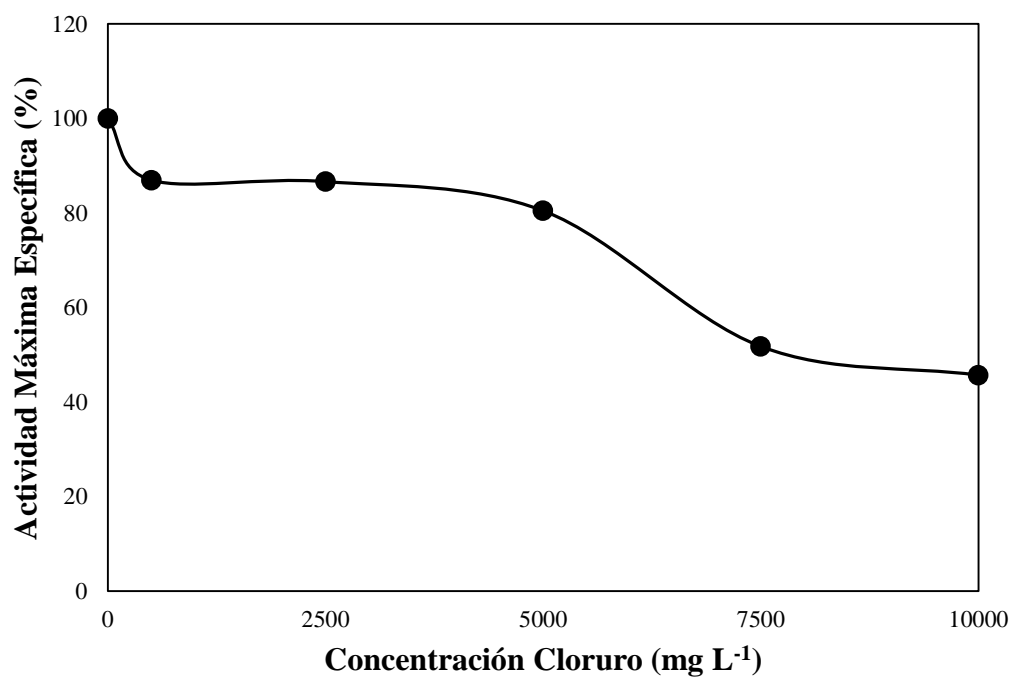
$$\text{Actividad (\%)} = \frac{\text{actividad máxima específica a la concentración evaluada}}{\text{actividad máxima específica del control biótico}} * 100$$

La Tabla 11 resume las actividades máximas específicas de consumo de glucosa en los diferentes tratamientos.

**Tabla 11.** 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 Cloruro

Ensayos		Concentración de Cloruro (mg L <sup>-1</sup> )	AMG (mg L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	AMG (%)
<b>Controles</b>	Control Biótico	0	-116,99	100
<b>Ensayos</b>	T-0,5	500	-101,71	86,94
	T-2,5	2500	-101,35	86,63
	T-5	5000	-94,13	80,46
	T-7,5	7500	-60,54	51,75
	T-10	10 000	-53,43	45,67

En la Figura 4 se grafica el porcentaje de la actividad máxima específica de consumo de glucosa con respecto a la concentración de cloruro presente en los distintos ensayos. En esta gráfica se puede observar claramente como la degradación de glucosa disminuye a medida que aumenta la concentración de cloruro. Los microorganismos presentes en el cultivo enriquecido no toleran ambientes con concentraciones de salinidad altas, por lo cual su actividad metabólica se ve afectada. Esta afectación causa toxicidad microbiana, disminuyendo su capacidad de degradación de materia orgánica (glucosa en este caso) [28].



**Figura 4.** Efecto inhibitorio de cloruro en un cultivo microbiano enriquecido de lodos activados 10% (v/v) en presencia de 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa y concentraciones en aumento de cloruro.

Los datos de actividad máxima específica de consumo de glucosa pueden ser representados como el grado de inhibición causado por la presencia de cloruro en los lodos activados durante la degradación de la glucosa. Este efecto inhibitorio se calculó utilizando la Ecuación 7.

**Ecuación 7.**

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

[47]

Las concentraciones de cloruro que causan el 20, 50 y 80 % de reducción en la actividad metabólica (en comparación al control biótico) se refieren al IC<sub>20</sub>, IC<sub>50</sub> e IC<sub>80</sub>, respectivamente [47]. Estos valores se calculan por interpolación del porcentaje de inhibición observada en función de la concentración de la sustancia inhibidora [48]. Los resultados de IC<sub>20</sub>, IC<sub>50</sub> e IC<sub>80</sub> se encuentran en la Tabla 14. La concentración de cloruro que produce un 50% de inhibición en la actividad degradadora de glucosa es 5040 mg L<sup>-1</sup>. Esta concentración de sales se considera moderada ya que altas concentraciones de sales son aquellas soluciones que contienen valores  $\geq 1\% = 10\ 000$  mg L<sup>-1</sup>. Los altos niveles de cloruro intensifican los efectos corrosivos del agua, por lo que el ion cloruro corroe las tuberías y genera daños en estructuras metálicas. En base a estos resultados se puede concluir que los microorganismos presentes en los lodos activados evaluados en este estudio no son halotolerantes, pues no son capaces de vivir en presencia de elevadas concentraciones de sales [49]. Altas concentraciones de sal producen un efecto inhibitorio en microorganismos que no están adaptados a una salinidad elevada; altas concentraciones de sales causan plasmólisis y/o pérdida de la actividad celular resultando en baja eficiencia

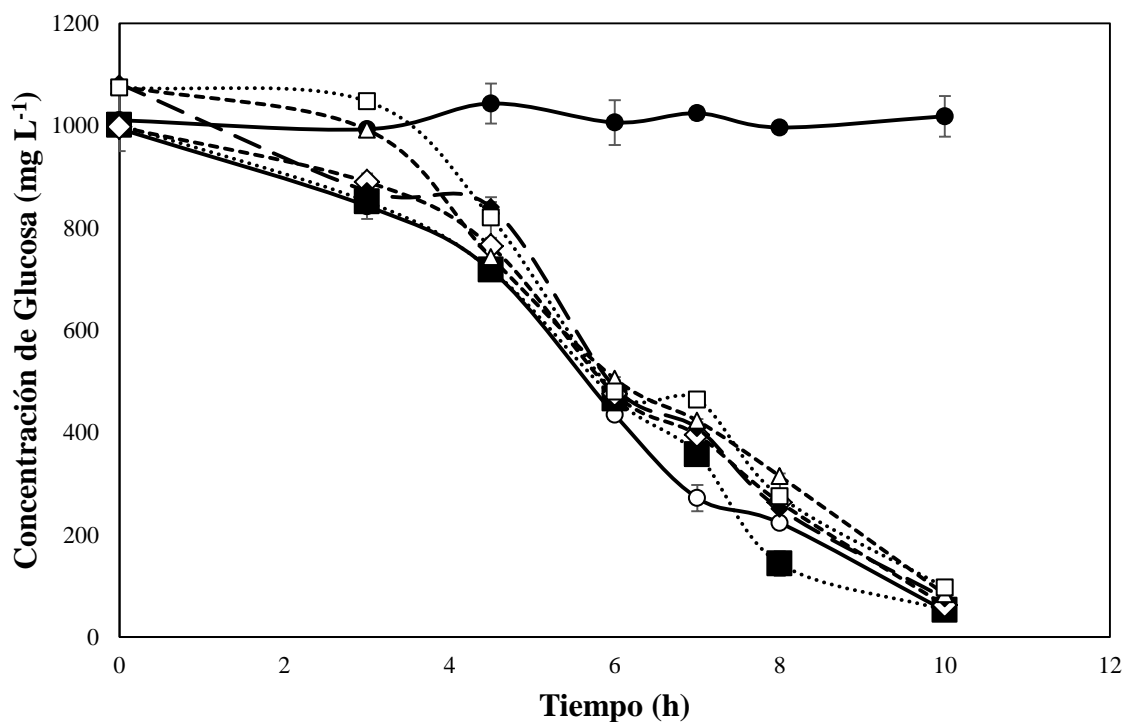
de remoción de la DQO [28]. Lefebvre y Moletta realizaron un review sobre tratamiento de aguas residuales de la industria de la sal, donde se determinaron que concentraciones superiores a 5000-8000 mg Cl<sup>-</sup> L<sup>-1</sup> pueden comprometer el correcto funcionamiento de un tratamiento aeróbico para el AR [50]. La sal también es un gran inhibidor para microorganismos anaeróbicos, por lo que con concentraciones mayores a 18 200 mg Cl<sup>-</sup> L<sup>-1</sup> el proceso de nitrificación se vuelve insostenible debido a que inhibe a las bacterias nitrificantes [50]. Reid *et al* determinaron que un cambio brusco en la salinidad afecta las propiedades físicas y bioquímicas de los lodos activados de una Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR). Altas concentraciones de salinidad  $\geq 1\%$  disminuyen la permeabilidad de la membrana celular y ocasiona plasmólisis [28]. En un estudio realizado por Flores Fernández *et al*, en el que se evaluó la tolerancia de las bacterias halotolerantes a altas concentraciones de sal se determinó que estos microorganismos pueden resistir concentraciones de sal hasta 12,5% (125 000 mg L<sup>-1</sup>) [49].

La concentración de cloruro en la muestra de AR pre-tratada fue 7726,23 mg L<sup>-1</sup> lo cual generaría una inhibición entre 20-50% por lo que se recomienda realizar un tratamiento de desmineralización previo al tratamiento biológico por el alto potencial inhibitorio del cloruro.

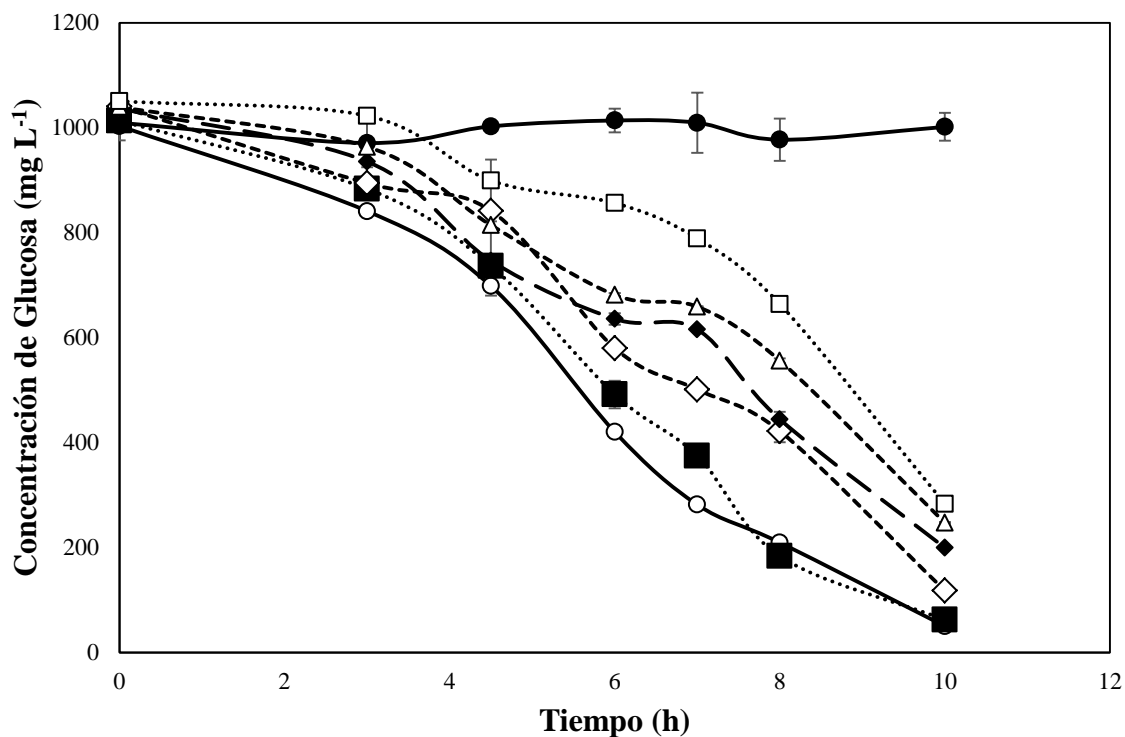
### 6.3.2. Bioensayos de Toxicidad Microbiana con Cromo

En las Figura 5 y 6 se muestran los resultados de la degradación de una muestra sintética de agua residual con glucosa respecto al tiempo en presencia de diferentes concentraciones de cromo en rangos de concentración baja y alta, respectivamente. Estas curvas sugieren que el efecto inhibitorio del cromo en los microorganismos degradadores de glucosa depende de la concentración de cromo en los bioensayos. En la Figura 5 se puede observar que no hay inhibición microbiana en ninguno de los bioensayos realizados con concentraciones entre 0,5 y 10 mg Cr<sup>3+</sup> L<sup>-1</sup>, por lo que se decidió estudiar solamente el rango alto de toxicidad de cromo.





**Figura 5.** Bioensayo de toxicidad microbiana en presencia de 10% (v/v) de cultivo enriquecido de lodos activados,  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de glucosa y concentraciones de cromo entre  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  y  $10 \text{ mg L}^{-1}$ . Leyenda: (●) Control abiótico, (○) control biótico, (■) T-0,5 (0,5 ppm), (◇) T-1,0 (1 ppm), (◆) T-2,5 (2,5 ppm), (Δ) T-5,0 (5 ppm) y (□) T-10 (10 ppm). Las barras de error representan desviaciones estándar de los bioensayos realizados por triplicado en el caso de los controles y por duplicado en caso de los ensayos con cromo.



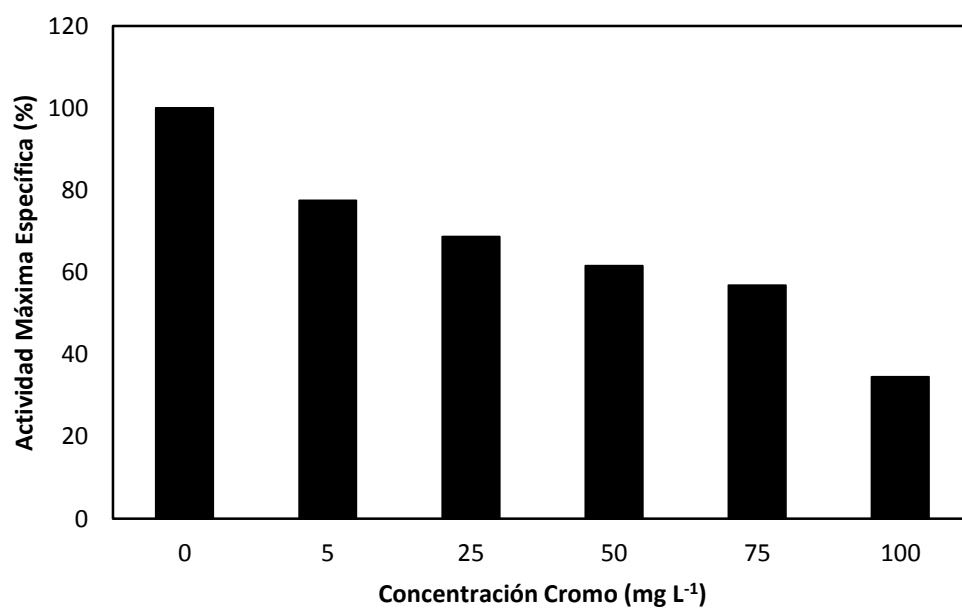
**Figura 6.** Bioensayo de toxicidad microbiana en presencia de 10% (v/v) de cultivo enriquecido de lodos activados, 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa y concentraciones de cromo entre 5 mg L<sup>-1</sup> y 100 mg L<sup>-1</sup>. Leyenda: (●) Control abiótico, (○) control biótico, (■) T-5 (5 ppm), (◇) T-25 (25 ppm), (◆) T-50 (50 ppm), (△) T-75 (75 ppm) y (□) T-100 (100 ppm). Las barras de error representan desviaciones estándar de los bioensayos realizados por triplicado en el caso de los controles y por duplicado en caso de los ensayos con cromo.

Por el contrario, en la Figura 6 se puede observar que existe inhibición en la actividad metabólica de degradación de la glucosa en el rango alto de concentración de cromo. En el caso del control biótico (ausencia de cromo), la concentración de glucosa va disminuyendo a medida que pasa el tiempo alcanzando una degradación completa después de 10 horas de tratamiento. Mientras que en los diferentes tratamientos, se registra inhibición microbiana en el rango alto entre 5 y 100 mg Cr<sup>3+</sup> L<sup>-1</sup>. Por ejemplo, en los bioensayos con una concentración de 5 y 100 mg Cr<sup>3+</sup> L<sup>-1</sup>, la concentración de glucosa es 1,16 y 1,6 veces mayor a aquella reportada en el control biótico después de 6 horas de exposición, respectivamente. En el control abiótico, la concentración de la glucosa no cambia con respecto al tiempo.

La actividad máxima específica de degradación de glucosa (AMG) se determinó 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 control biótico como se explicó anteriormente. La Tabla 12 resume las actividades máximas específicas de consumo de glucosa en los diferentes tratamientos. En la Figura 7 se presenta el porcentaje de la AMG con respecto a la concentración de cromo presente en los distintos bioensayos. En esta gráfica se puede observar claramente como la degradación de glucosa se ve afectada por la presencia de cromo. El cromo trivalente a nivel intracelular puede alterar la replicación y transcripción del ADN causando efectos mutagénicos, así como también puede reaccionar con grupos carboxilos y sulfhidrilos de las enzimas causando una alteración tanto en la estructura como en la actividad enzimática [51]. La EPA reporta una toxicidad crónica del cromo trivalente (en aguas naturales con una Dureza de 100 mg/L) de 0,21 mg L<sup>-1</sup> [52].

**Tabla 12.** 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 Cromo

Ensayos		Concentración de Cromo ( $\text{mg L}^{-1}$ )	AMG ( $\text{mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )	AMG (%)
<b>Controles</b>	Control Biótico	0	-135,07	100
<b>Ensayos</b>	T-5	5	-104,69	77,51
	T-25	25	-92,78	68,69
	T-50	50	-83,23	61,62
	T-75	75	-76,81	56,87
	T-100	100	-46,66	34,54



**Figura 7.** Efecto inhibitorio de cromo en un cultivo microbiano enriquecido de lodos activados 10% (v/v) en presencia de 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa y concentraciones en aumento de cromo.

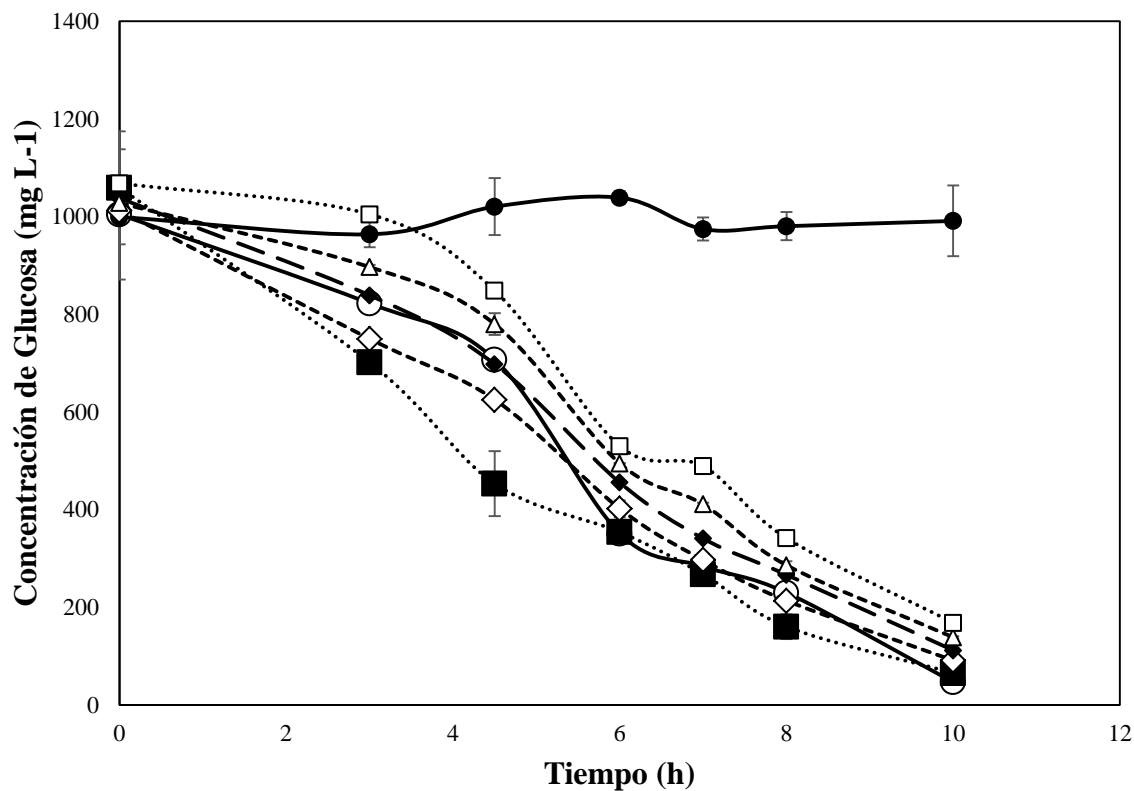
Los datos de actividad máxima específica de consumo de glucosa pueden ser representados como el grado de inhibición utilizando la Ecuación 7. Los  $IC_{20}$ ,  $IC_{50}$  e  $IC_{80}$  se encuentran en la Tabla 14. A pesar de que las concentraciones de cromo estudiadas son elevadas, en los ensayos de toxicidad microbiana se observó precipitación del mismo, lo cual podría disminuir su efecto inhibitorio al no diluirse en todo el medio basal donde se encuentran presentes los microorganismos. En un estudio realizado por Song *et al* sobre la implementación del proceso de sedimentación para tratamiento de agua residual de curtido, se determinó que este método es factible para la remoción de cromo. Los porcentajes de remoción de cromo obtenidos después de 1 y 3 horas, fueron 71,2 y 83,2%, respectivamente [53].

A pesar de que el cromo está normalmente presente en aguas residuales industriales provenientes de la industria de curtido, no existe mucha información publicada al respecto sobre sus efectos inhibitorios en poblaciones microbianas. En un estudio llevado a cabo por Szpyrkowicz *et al* sobre tratamientos de AR de curtiembre, se reportó que la tolerancia de los sistemas de lodos activados se encuentra entre 48-50  $mg Cr^{3+} L^{-1}$  [54].

La concentración de cromo presente en el AR pre-tratada con un sistema de mezcla controlada y lechada de cal fue de 1,95  $mg L^{-1}$ , mientras que el  $IC_{20}$  fue 4,45  $mg L^{-1}$ . Por lo tanto, se puede realizar un tratamiento biológico al agua residual pre-tratada proveniente de la industria de curtido ya que los valores de cromo registrados no inhiben la actividad metabólica de los microorganismos degradadores de glucosa.

### 6.3.3. Bioensayos de Toxicidad Microbiana con Sulfuro

En la Figura 8 se muestran los resultados de la degradación de una muestra sintética de agua residual con glucosa con respecto al tiempo por un cultivo enriquecido en presencia de concentraciones en aumento de sulfuro. Las curvas de degradación de glucosa en presencia de distintas concentraciones de sulfuro sugieren que ocurre una pequeña inhibición al aumentar la concentración de sulfuro en los bioensayos. Si se compara la degradación de la glucosa en los bioensayos con concentración mínima de sulfuro de 0,25 mg L<sup>-1</sup> y máxima concentración evaluada de 1,50 mg L<sup>-1</sup> de sulfuro con la curva del control biótico en ausencia de agente inhibitorio, se observa que el porcentaje de degradación de glucosa con respecto al control biótico es 0,9 y 51 % menor, respectivamente. Estos resultados nos indican que incluso en los bioensayos con la concentración más elevada estudiada, el sulfuro no tiene un efecto inhibitorio drástico en la actividad metabólica del cultivo microbiano enriquecido.



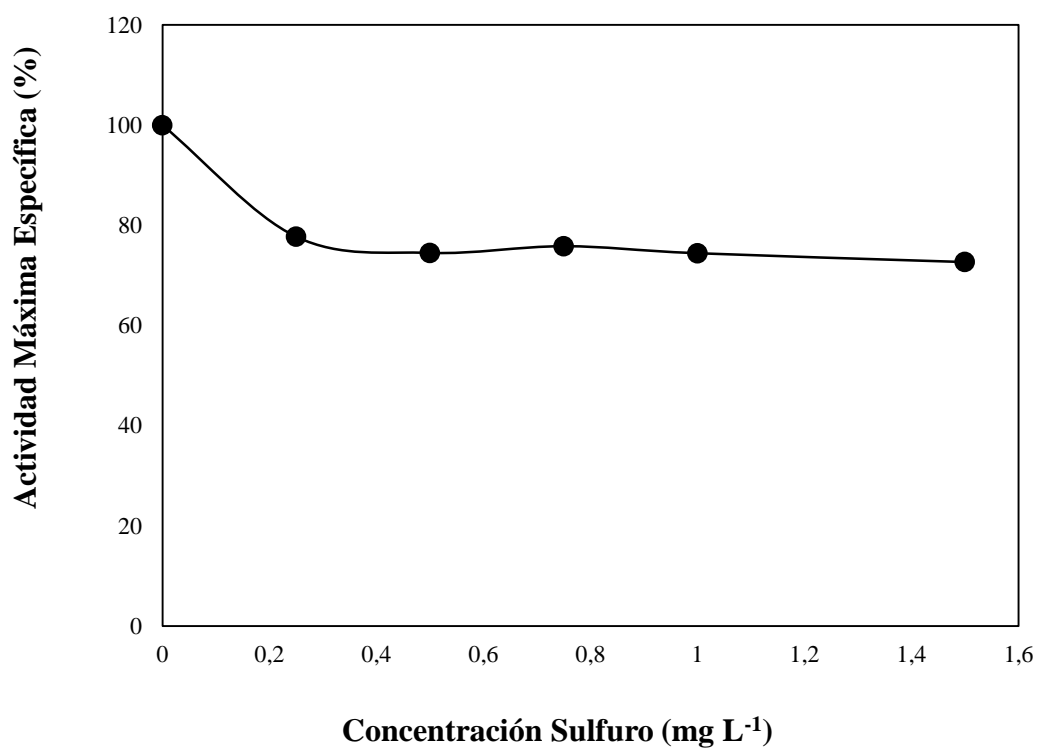
**Figura 8.** Bioensayo de toxicidad microbiana en presencia de 10% (v/v) de cultivo enriquecido de lodos activados,  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de glucosa y concentraciones de sulfuro entre 0,25 y  $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ . Leyenda: (●) Control abiótico, (○) control biótico, (■) T-0,25 (0,25 ppm), (◇) T-0,5 (0,5 ppm), (◆) T-0,75 (0,75 ppm), (△) T-1,0 (1 ppm) y (□) T-1,5 (1,5 ppm). Las barras de error representan desviaciones estándar de los bioensayos realizados por triplicado en el caso de los controles y por duplicado en caso de los ensayos con sulfuro.



En la Tabla 13 se resumen las actividades máximas específicas de consumo de glucosa en los diferentes tratamientos. En la Figura 9 se grafica el porcentaje de la actividad máxima específica de consumo de glucosa con respecto a la concentración de sulfuro presente en los distintos ensayos.

**Tabla 13.** 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 sulfuro

Ensayos		Concentración de sulfuro ( $\text{mg L}^{-1}$ )	AMG ( $\text{mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )	AMG (%)
<b>Controles</b>	Control Biótico	0	-130,70	100
<b>Ensayos</b>	T-0,25	0,25	-101,59	77,73
	T-0,5	0,5	-97,37	74,50
	T-0,75	0,75	-99,11	75,83
	T-1	1	-97,28	74,43
	T-1,5	1,5	-94,97	72,67



**Figura 9.** Efecto inhibitorio de sulfuro en un inóculo microbiano enriquecido de lodos activados 10% (v/v) en presencia de 1000 mg L<sup>-1</sup> de glucosa y concentraciones en aumento de sulfuro.

Los datos de actividad máxima específica de consumo de glucosa pueden ser representados como el grado de inhibición utilizando la Ecuación 7. Los resultados de los IC<sub>20</sub>, IC<sub>50</sub> e IC<sub>80</sub> de los tres contaminantes se encuentran en la Tabla 14.

**Tabla 14.** Efecto inhibitorio de diferentes contaminantes sobre un cultivo enriquecido durante la degradación de una muestra sintética de agua residual con glucosa

<b>Sustancia Inhibitoria</b>	<b>Concentración (mg L<sup>-1</sup>)</b>		
	IC <sub>20</sub>	IC <sub>50</sub>	IC <sub>80</sub>
<b>Cloruro</b>	5039,95	8219,74	>10 000
<b>Cromo</b>	4,45	82,69	>100
<b>Sulfuro</b>	0,22	>1,5	>1,5

La concentración de sulfuros que produce un 20% de inhibición es, 0,22 mg L<sup>-1</sup> y los IC<sub>50</sub> e IC<sub>80</sub> son mayor a 1,5 mg L<sup>-1</sup>. La concentración de sulfuros en el agua residual pre-tratada por un método de mezcla controlada y lechada de cal fue de 0,634 mg L<sup>-1</sup>; por lo tanto se puede concluir que con un tratamiento posterior, como el empleado en el estudio de Salas donde se eliminó el sulfuro por oxidación y se obtuvo una eficiencia de 98,9% [55], la concentración de sulfuros cumpliría la norma y estaría por debajo del IC<sub>20</sub> (de aplicarse el 98,9% de eficiencia). En un estudio llevado a cabo por Sayers y Longlais, sobre remoción y recuperación de sulfuro de agua residual de curtiembre se observó que el sulfuro era removido del agua residual en un 100% a un pH entre 5 y 5,5 [31]. Los sulfuros se eliminan mediante procesos de oxidación usando aire en exceso y un catalizador a un pH de 11, obteniendo una mezcla de tiosulfato y sulfito [56]. Este proceso permitió alcanzar

concentraciones de sulfuro inferiores a  $1 \text{ mg L}^{-1}$  y no produce residuos sólidos [56]. Los sulfuros son tóxicos para muchas especies microbianas, y pueden causar problemas en la biomasa en un sistema biológico. Acuña, en un review sobre tratamiento biológico de aguas residuales de curtido, se determinó que concentraciones de  $50 - 100 \text{ mg L}^{-1}$  de sulfuros no inhiben los procesos de degradación de materia orgánica [56]. En el caso de la digestión anaeróbica, un review realizado por Chen *et al* sobre inhibición microbiana donde se estudió amonio, sulfuro, metales y compuestos orgánicos, se encontró que los valores de  $\text{IC}_{50}$  se encuentran entre  $235 \text{ mg S}^{2-} \text{ L}^{-1}$  a un pH 6,4-7,2, entre  $47,06-117,66 \text{ mg S}^{2-} \text{ L}^{-1}$  a un pH 7-8 y entre  $90 \text{ mg S}^{2-} \text{ L}^{-1}$  a un pH 7,8-8 [25]. Para estudios futuros se recomienda ampliar el rango de concentración de sulfuro evaluado para obtener un análisis más amplio.

En términos generales se puede concluir que en todos los bioensayos de toxicidad microbiana de cloruro, cromo y sulfuro se determinó la concentración de agente inhibitorio que produce 20% de toxicidad en la actividad metabólica de bacterias aeróbicas degradadoras de glucosa. Cabe indicar que en el caso del cloruro, la concentración presente en el AR pre-tratada fue  $7726,23 \text{ mg L}^{-1}$ , esta concentración se encuentra entre  $\text{IC}_{20}$  e  $\text{IC}_{50}$ , y sobrepasa el límite máximo permisible para descarga a cuerpos de agua dulce establecido en el TULSMA ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ). Estos resultados indican que durante el tratamiento biológico del AR pre-tratada, la actividad microbiana se vería seriamente afectada; por lo tanto, se recomienda realizar un pre-tratamiento para remover las sales. En cuanto a la concentración de cromo en el AR pre-tratada, esta fue de  $1,95 \text{ mg L}^{-1}$ , mientras que el  $\text{IC}_{20}$  obtenido fue  $4,45 \text{ mg L}^{-1}$ , por lo que se puede concluir que este parámetro no representa un problema para un tratamiento biológico. Finalmente, la concentración de sulfuro presente en el AR pre-tratada fue  $0,634 \text{ mg L}^{-1}$ , mientras que el  $\text{IC}_{20}$  fue igual a  $0,22 \text{ mg L}^{-1}$ . Estos datos sugieren que durante el tratamiento biológico de AR pre-tratada, es muy probable

que el sulfuro generará toxicidad microbiana mayor a 20% bajo condiciones aeróbicas por lo tanto se recomienda realizar estudios adicionales para determinar si este compuesto representa un inconveniente para un posterior tratamiento biológico. Adicionalmente, la concentración de sulfuro en el AR pre-tratada sobrepasa la norma nacional ( $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ ) por lo que se debe realizar un tratamiento adicional para disminuir su concentración.

## 7. Conclusiones y Recomendaciones

- El agua residual pre-tratada con un sistema de mezcla controlada y lechada de cal no cumplen la legislación ambiental vigente en lo referente a las concentraciones de cloruro, cromo, sulfuro, sulfato, DBO<sub>5</sub> y DQO, tanto para descarga de agua a alcantarillado público como a un cuerpo de agua dulce. Por lo que se debe realizar un tratamiento posterior al tratamiento físico-químico para estar dentro de los límites máximos permisibles.
- De acuerdo a las concentraciones de cromo, cloruro y sulfuro, encontradas en el agua residual pre-tratada, y su efecto inhibitorio en un consorcio microbiano presente en lodos activados durante la degradación aeróbica de glucosa, se recomienda realizar un tratamiento previo para la remoción de sulfuros y cloruros principalmente, para posteriormente implementar un tratamiento biológico final
- Se debe estudiar la factibilidad de evitar la contaminación por cloruros por medio de la sustitución de las sales de cloruro en el proceso de preservación de la piel, así como en el proceso de piquelado de la misma.

## 8. Bibliografía

- [1] N. A. Valarezo García, «Efecto de la Concentración de la Biomasa y la Presencia de Aceites Vegetales, Aceites Vegetales Quemados, Sales e Hidrocarburos en los Lodos Activados,» Universidad San Francisco de Quito, Quito, 2010.
  
- [2] Metcalf y Eddy, *Wastewater Engineering Treatment and Reuse*, Singapore: McGrawHill, 2004.
  
- [3] R. S. Ramalho, *Tratamiento de Aguas Residuales*, Barcelona: Reverté, S.A., 2003.
  
- [4] M. L. Davis, *Water and Wastewater Engineering. Design Principles and Practice*, New York: McGraw-Hill, 2011.
  
- [5] S. Yeoman, T. Stephenson, J. N. Lester y R. Perry, «The Removal of Phosphorus During Wastewater Treatment: A Review,» *Environmental Pollution*, vol. 49, pp. 183 - 233, 1988.
  
- [6] N. Mallick, «Biotechnological potential of immobilized algae for wastewater N, P and metal removal: A review,» *Kluwer Academic Publishers*, vol. 15, pp. 377 - 390, 2002.
  
- [7] El Universo, «Informe señala aumento del uso de aguas residuales tratadas en todo el mundo,» 05 Septiembre 2013. [En línea]. Available: <http://www.eluniverso.com/noticias/2013/09/05/nota/1395501/informe-senala-aumento-uso-aguas-residuales-tratadas-todo-mundo>.
  
- [8] United Nations Statistics Division, «United Nations,» Marzo 2011. [En línea]. Available: <http://unstats.un.org/unsd/environment/wastewater.htm>. [Último acceso: 30 Octubre 2014].
  
- [9] H. Cabrera, M. Garcés y P. Paredes, «ONU-Agua para la Promoción y la Comunicación en el marco del Decenio (UNW-DPAC),» 2012. [En línea]. Available: [http://www.ais.unwater.org/ais/pluginfile.php/378/mod\\_page/content/144/ECUADOR\\_producci%C3%B3n\\_de\\_aguas\\_servidas\\_tratamiento\\_y\\_uso.pdf](http://www.ais.unwater.org/ais/pluginfile.php/378/mod_page/content/144/ECUADOR_producci%C3%B3n_de_aguas_servidas_tratamiento_y_uso.pdf). [Último acceso: Mayo 2014].

- [10] PRO ECUADOR, Instituto de Promoción de Exportaciones e Inversiones., «Textiles y Confecciones.,» 01 Noviembre 2013. [En línea]. Available: <http://www.proecuador.gob.ec/exportadores/sectores/cuero-y-textiles/>.
- [11] P. Cerón Chafla, *Estudio de un sistema físico-químico a escala prototipo de tratamiento de aguas residuales provenientes de una curtiembre*, Quito: Universidad San Francisco de Quito, 2011.
- [12] T. P. Ramasami y B. G. S., *Environmental aspects of leather processing*, LEXPO, 1991.
- [13] A. Fadali, «Removal of Chromium from Tannery Effluents by Adsorption,» *Environmental Science And Health*, pp. 465-472, 2012.
- [14] G. Foureman, *Toxicological Review of Hydrogen Sulfide*, 2003.
- [15] SIRAC, «Proyecto de Gestión Ambiental en la Industria de la Curtiembre en Colombia,» Colombia, 2004.
- [16] Ministerio del Ambiente del Ecuador, «Acuerdo 068. Reformase el Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente. Libro VI,» Quito, 2013.
- [17] Integrated Pollution Prevention and Control (IPPC), «Reference Document on Best Available Techniques for Tanning of Hides and Skin,» European Commission, 2003.
- [18] Universidad Santiago de Compostela, *Producción Limpia en la Industria de Curtiembre*, R. Méndez Pampín, G. Vidal Sáez, K. E. Lorber y F. Márquez Romegialli, Edits., Santiago de Compostela: Servicio de Publicacións e Intercambio Científico, 2007.
- [19] S. P. Chaco, «Hipertextos del área de biología,» 2008. [En línea]. Available: [http://www.biologia.edu.ar/tesis/forcillo/proceso\\_de\\_curtido.htm](http://www.biologia.edu.ar/tesis/forcillo/proceso_de_curtido.htm). [Último acceso: 19 febrero 2013].
- [20] K. Yamamoto y K. Muang Win, «Tannery wastewater treatment using a sequencing batch membrane reactor,» de *Water Science & Technology*, Tokyo, 1991, pp. 1639 - 1648.



- [21] L. Szpyrkowicz, J. Naumczyk y F. Zilio-Grandi, «Electrochemical Treatment of Tannery Wastewater using Ti/Pt and Ti/Pt/Ir Electrodes,» de *Water Research*, Great Britain, 1995, pp. 517 - 524.
- [22] Z. Song, C. J. Williams y R. G. J. Edyvean, «Treatment of tannery wastewater by chemical coagulation,» de *Desalination*, United Kingdom, 2004, pp. 249 - 259.
- [23] D. A. Valdés Uribe, «Diseño preliminar de un sistema de tratamiento de aguas residuales a escala industrial para los efluentes del procesamiento de pieles,» Universidad San Francisco de Quito, Quito, 2012.
- [24] P. Pazos Capeáns, Biodisponibilidad de Cromo en Sedimentos Marinos de la Ría de Arousa, Santiago de Compostela: Universidad de Santiago de Compostela.
- [25] Y. Chen, J. J. Cheng y K. S. Creamer, «Inhibition of anaerobic digestion process: A review,» *Bioresource Technology*, vol. 99, pp. 4044 - 4064, 2008.
- [26] D. A. Bailey, J. J. Dorrell y K. S. Robinson, «The influence of trivalent chromium on the biological treatment of domestic sewage,» *Water Pollution Control*, vol. 69, pp. 100 - 110, 1970.
- [27] P. A. Truque B., «Organización de los Estados Americanos. Armonización de los Estándares de Agua Potable en Las Américas,» [En línea]. Available: <http://www.oas.org/dsd/publications/classifications/Armoniz.EstandaresAguaPotable.pdf>. [Último acceso: 05 Abril 2014].
- [28] E. Reid, L. Xingrong y S. J. Judd, «Effect of high salinity on activated sludge characteristics and membrane permeability in an immersed membrane bioreactor,» *Journal of Membrane Science*, vol. 283, pp. 164 - 171, 2006.
- [29] World Health Organization, *Hydrogen Sulfide: Human Health Aspects*, Geneva: Concise International Chemical Assessment Document , 2003.
- [30] J. F. Tursman y D. J. Cork, «Influence of sulfate and sulfate-reducing bacteria on anaerobic digestion technology,» *Biological Waste Treatment*, 1988.
- [31] R. Sayers y R. Langlais, Removal and recovery of sulfide from tannery wastewater, Kansas: Environmental Protection Agency, 1977.

- [32] A. B. Aldás Vargas, «Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos a escala laboratorio,» Universidad San Francisco de Quito, Quito, 2014.
- [33] R. P. Arboleda Ruales, «Estudio de la Sedimentabilidad de Biosólidos en una Planta de Tratamiento de Aguas Residuales,» Universidad San Francisco de Quito, Quito, 2012.
- [34] Thermo Fisher Scientific, *Operating Manual and Parts List 057-287-00 Rev.1*, Marietta, Ohio: Thermo Scientific, 2010.
- [35] American Public Health Association, «Standard Methods for the Examination of Water Wastewater» APHA, Washington, 1992.
- [36] V. Ochoa, A. Valdés y H. Naranjo, «Manual de Procedimientos LIA,» Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad San Francisco de Quito, Quito.
- [37] 3M- Placas PetrifilmMR, *Guía de Interpretación- Placa para el recuento de E. coli/ coliformes*.
- [38] Buck Scientific, «210 / 211 VGP Atomic Absorbtion Spectrophotometer Operator's Manual,» Buck Scientific, Connecticut, 2003.
- [39] OxiTop, *OxiTop Manometric BOD Measuring Devices Instruction Manual*, Straubing, Pichincha: Senton GmbH, 2008.
- [40] Thermo Fisher Scientific Inc., *Spectronic 20+ and Spectronic 20D+ User Guide*, Madison: Thermo Scientific, 2007.
- [41] M. Dubois, K. Gilles, J. Hamilton, P. Rebers y F. Smith, *Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances*, Minnesota: Analytical Chemistry, 1956.
- [42] Thermo Scientific, «Thermo Scientific Orion Star Series pH Meter Quick Start Guide,» Thermo Fisher Scientific, Beverly, 2007.
- [43] Thermo Fisher Scientific, «Thermo Scientific Orion AQUAfast AQ4500 Turbidimeter User Guide,» Thermo Scientific, 2009.
- [44] M.R.C. Ltd., *Operating Instructions Water Bath Shaker BT-150 / BT-350*, M.R.C. Ltd..

- [45] R. García Hololavsky, Manual de Prácticas de Laboratorio de Ingeniería Sanitaria, México D.F.
- [46] O. F. Higuera Cobos, J. F. Arroyave Londoño and L. C. Florez García, «Design of a biofilter to reduce the contamination content by chromium generates un the industries of the leather tanning,» *Dyna*, vol. 160, pp. 107 - 119, 2008.
- [47] V. Ochoa Herrera, Q. Banihani, G. León, C. Khatri, J. A. Field and R. Sierra Alvarez, «Toxicity of fluoride to microorganisms in biological wastewater treatment systems,» *Water Research*, nº 43, pp. 3177-3186, 2009.
- [48] V. Ochoa Herrera, G. León, Q. Banihani, J. A. Field and R. Sierra Alvarez, «Toxicity of copper (II) ions to microorganisms in biological wastewater treatment systems,» *Science of the Total Environment*, pp. 380-385, 2011.
- [49] M. L. Flores Fernández, A. I. Zavaleta y E. L. Chávez Hidalgo, «Bacterias Halotolerantes con actividad lipolítica aisladas de las salinas de Pilluana San Martín,» *Ciencia e Investigación - UNMSM*, pp. 87 - 91, 2010.
- [50] O. Lefebvre y R. Moletta, «Treatment of organic pollution in industrial saline wastewater: A literature review,» *Water Research*, vol. 40, p. 3671– 3682, 2006.
- [51] R. R. Azario, S. A. Salvarezza, A. Ibarra y M. d. C. García, «Efecto del cromo hexavalente y trivalente sobre el crecimiento de excherichia coli ATCC 35218,» *Información Tecnológica*, vol. 21, nº 1, pp. 51 - 56, 2010.
- [52] P. Mijaylova Nacheva, S. López Armenta, L. Cardoso Vigueros y E. Ramírez Camperos, «Tratamiento de efluentes del proceso de curtido al cromo,» *Instituto Mexicano de Tecnología del Agua*.
- [53] Z. Song, C. J. Williams y R. .. G. J. Edyvean, «Sedimentation of Tannery Wastewater,» *Water Research*, vol. 34, nº 7, pp. 2171 - 2176, 1999.
- [54] L. S. Szpyrkowicz, S. Rigoni-Stern y F. Z. Grandi, «Pilot plant studies of tannery waste water treatment with the objective to reduce sludge production,» *Water Science & Technology*, pp. 1863 - 1871, 1991.

- [55] G. Salas C., «Eliminación de sulfuros por oxidación en el tratamiento del agua residual de una curtiembre,» *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, vol. 8, n° 1, pp. 49 - 54, 2005.
- [56] P. Artiga Acuña, *Contribución a la mejora del tratamiento biológico de aguas residuales de la industria de curtidos*, Santiago de Compostela: Universidad de Santiago de Compostela, 2005.
- [57] Presidencia de la República, «Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes: Recurso Agua,» 2013. [En línea]. Available: <http://faolex.fao.org/docs/pdf/ecu112180.pdf>.
- [58] EMGRISA, *Aplicaciones del Manual Media a Sectores Industriales*, Madrid: Artes Gráficas Mañas, S.L., 1997.

**Anexo A. Límites permisibles para descargas a cuerpos de agua dulce y/o alcantarilla en el Ecuador**

**Tabla 15.** TULSMA, Tabla 11, Límites de descarga en el sistema de alcantarillado público, Libro VI, Anexo I [57]

<b>Parámetros</b>	<b>Expresado como</b>	<b>Unidad</b>	<b>Límite máximo permisible</b>
Aceites y grasas	Sustancias solubles en hexano	mg L <sup>-1</sup>	100
Alkil mercurio		mg L <sup>-1</sup>	No detectable
Ácidos o bases que pueden causar contaminación, sustancias explosivas o inflamables		mg L <sup>-1</sup>	Cero
Aluminio	Al	mg L <sup>-1</sup>	5
Arsénico total	As	mg L <sup>-1</sup>	0,1
Bario	Ba	mg L <sup>-1</sup>	5
Cadmio	Cd	mg L <sup>-1</sup>	0,02
Carbonatos	CO <sub>3</sub>	mg L <sup>-1</sup>	0,1
Caudal máximo		L s <sup>-1</sup>	1.5 veces el caudal promedio horario del sistema de alcantarillado
Cianuro total	CN <sup>-</sup>	mg L <sup>-1</sup>	1
Cobalto total	Co	mg L <sup>-1</sup>	0,5
Cobre	Cu	mg L <sup>-1</sup>	1
Cloroformo	Extracto carbón cloroformo (ECC)	mg L <sup>-1</sup>	0,1
Cloro Activo	Cl	mg L <sup>-1</sup>	0,5

<b>Parámetros</b>	<b>Expresado como</b>	<b>Unidad</b>	<b>Límite máximo permisible</b>
Cromo Hexavalente	Cr <sup>+6</sup>	mg L <sup>-1</sup>	0,5
Compuestos fenólicos	Expresado como fenol	mg L <sup>-1</sup>	0,2
Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	DBO <sub>5</sub>	mg L <sup>-1</sup>	250
Demanda Química de Oxígeno	DQO	mg L <sup>-1</sup>	500
Dicloroetileno	Dicloroetileno	mg L <sup>-1</sup>	1
Fósforo total	P	mg L <sup>-1</sup>	15
Hierro total	Fe	mg L <sup>-1</sup>	25
Hidrocarburos Totales de Petróleo	TPH	mg L <sup>-1</sup>	20
Manganeso total	Mn	mg L <sup>-1</sup>	10
Materia Flotante	Visible		Ausencia
Mercurio (total)	Hg	mg L <sup>-1</sup>	0,01
Níquel	Ni	mg L <sup>-1</sup>	2
Nitrógeno Total Kjeldahl	N	mg L <sup>-1</sup>	40
Plata	Ag	mg L <sup>-1</sup>	0,5
Plomo	Pb	mg L <sup>-1</sup>	0,5
Potencial de hidrógeno	pH	mg L <sup>-1</sup>	5 a 9
Sólidos Sedimentables		ml L <sup>-1</sup>	20
Sólidos Suspendidos Totales		mg L <sup>-1</sup>	220
Sólidos Totales		mg L <sup>-1</sup>	1600
Selenio	Se	mg L <sup>-1</sup>	0,5
Sulfatos	SO <sub>4</sub>	mg L <sup>-1</sup>	400
Sulfuros	S	mg L <sup>-1</sup>	1

<b>Parámetros</b>	<b>Expresado como</b>	<b>Unidad</b>	<b>Límite máximo permisible</b>
Temperatura	° C	mg L <sup>-1</sup>	< 40
Tensoactivos	Sustancias activas al azul de metileno	mg L <sup>-1</sup>	2
Tricloroetileno	Tricloroetileno	mg L <sup>-1</sup>	1
Tetracloruro de carbono	Tetracloruro de carbono	mg L <sup>-1</sup>	1
Sulfuro de carbono	Sulfuro de carbono	mg L <sup>-1</sup>	1
Compuestos organoclorados (totales)	Concentración de organoclorados totales	mg L <sup>-1</sup>	0,05
Organofosforados y carbamatos (totales)	Concentración de organofosforados y carbamatos totales	mg L <sup>-1</sup>	0,1
Vanadio	V	mg L <sup>-1</sup>	5
Zinc	Zn	mg L <sup>-1</sup>	10

**Tabla 16.** TULSMA, Tabla 12, Límites de descarga en cuerpos de agua dulce, Libro VI, Anexo I [57]

<b>Parámetros</b>	<b>Expresado como</b>	<b>Unidad</b>	<b>Límite máximo permisible</b>
Aceites y grasas	Sustancias solubles en hexano	mg L <sup>-1</sup>	0,3
Alkil mercurio		mg L <sup>-1</sup>	No detectable
Aldehidos		mg L <sup>-1</sup>	2
Aluminio	Al	mg L <sup>-1</sup>	5
Arsénico total	As	mg L <sup>-1</sup>	0,1
Bario	Ba	mg L <sup>-1</sup>	2
Boro total	B	mg L <sup>-1</sup>	2
Cadmio	Cd	mg L <sup>-1</sup>	0,02
Cianuro total	CN <sup>-</sup>	mg L <sup>-1</sup>	0,1
Cloro Activo	Cl	mg L <sup>-1</sup>	0,5
Cloroformo	Extracto carbón cloroformo (ECC)	mg L <sup>-1</sup>	0,1
Cloruros	Cl <sup>-</sup>	mg L <sup>-1</sup>	1000
Cobre	Cu	mg L <sup>-1</sup>	1
Cobalto	Co	mg L <sup>-1</sup>	0,5
Coliformes Fecales	Nmp/100 ml	mg L <sup>-1</sup>	Remoción > 99,9 %
Color real	Color real	unidades de color	Inapreciable en dilución: 1/20
Compuestos fenólicos	Fenol	mg L <sup>-1</sup>	0,2
Cromo hexavalente	Cr <sup>+6</sup>	mg L <sup>-1</sup>	0,5
Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	DBO <sub>5</sub>	mg L <sup>-1</sup>	100



<b>Parámetros</b>	<b>Expresado como</b>	<b>Unidad</b>	<b>Límite máximo permisible</b>
Demanda Química de Oxígeno	DQO	mg L <sup>-1</sup>	250
Dicloroetileno	Dicloroetileno	mg L <sup>-1</sup>	1
Estaño	Sn	mg L <sup>-1</sup>	5
Fluoruros	F	mg L <sup>-1</sup>	5
Fósforo total	P	mg L <sup>-1</sup>	10
Hierro total	Fe	mg L <sup>-1</sup>	10
Hidrocarburos Totales de Petróleo	TPH	mg L <sup>-1</sup>	20
Manganeso total	Mn	mg L <sup>-1</sup>	2
Materia Flotante	Visible		Ausencia
Mercurio (total)	Hg	mg L <sup>-1</sup>	0,005
Níquel	Ni	mg L <sup>-1</sup>	2
Nitratos + Nitritos	Expresado como Nitrógeno (N)	mg L <sup>-1</sup>	10
Nitrógeno Total Kjeldahl	N	mg L <sup>-1</sup>	15
Organoclorados totales	Concentración de organoclorados totales	mg L <sup>-1</sup>	0,05
Organofosforados totales	Concentración de organofosforados totales	mg L <sup>-1</sup>	0,1
Plata	Ag	mg L <sup>-1</sup>	0,1
Plomo	Pb	mg L <sup>-1</sup>	0,2
Potencial de hidrógeno	pH		5 a 9
Selenio	Se	mg L <sup>-1</sup>	0,1
Sólidos Sedimentables		ml L <sup>-1</sup>	1

<b>Parámetros</b>	<b>Expresado como</b>	<b>Unidad</b>	<b>Límite máximo permisible</b>
Sólidos Suspendidos Totales		mg L <sup>-1</sup>	100
Sólidos Totales		mg L <sup>-1</sup>	1600
Sulfatos	SO <sub>4</sub>	mg L <sup>-1</sup>	1000
Sulfitos	SO <sub>3</sub>		2
Sulfuros	S	mg L <sup>-1</sup>	0,5
Temperatura	° C	mg L <sup>-1</sup>	< 35
Tensoactivos	Sustancias activas al azul de metileno	mg L <sup>-1</sup>	0,5
Tetracloruro de carbono	Tetracloruro de carbono	mg L <sup>-1</sup>	1
Tricloroetileno	Tricloroetileno	mg L <sup>-1</sup>	1
Vanadio	V	mg L <sup>-1</sup>	5
Zinc	Zn	mg L <sup>-1</sup>	5

(\*) Aquellos regulados con descargas de coliformes fecales menores o iguales a 3000, quedan exentos de tratamiento.

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

## Anexo B. Etapas del Curtido y sus Principales Características

**Tabla 17.** Etapas del Curtido

Etapa	Características Generales	Sub- etapas	Características específicas
<b>Ribera</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Eliminación del pelo del animal</li> <li>. Alto consumo de agua</li> <li>. pH elevado</li> <li>. Se utiliza sulfuro de sodio y cal para eliminar la epidermis</li> </ul>	Recorte	Se corta el cuello, la cola y las extremidades [19]
		Remojo	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Rehidrata la piel</li> <li>. Elimina la sal, sangre, excretas, etc.</li> <li>. El consumo de agua oscila entre 200 - 400% con respecto al peso de la piel [11].</li> </ul>
		Pelambre	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Se disuelve el pelo con cal y sulfuro [19].</li> <li>. El efluente presenta la mayor cantidad de carga orgánica de todo el proceso y tiene un pH de 11 a 12 [11].</li> <li>. El consumo de agua oscila entre el 50 - 65% respecto al peso de la piel [11].</li> </ul>
		Desencalado	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Se remueve la cal y el sulfuro empleado anteriormente [19].</li> <li>. Se emplea: ácido sulfúrico, clorhídrico, láctico, fórmico, bórico, sulfoftálico; sales de amonio, bisulfito de sodio, peróxido de hidrógeno, azúcares y melazas [19].</li> <li>. El consumo de agua es del 200% respecto al peso de la piel [11].</li> </ul>
		Descarnado	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Se elimina grasa y tejido conjuntivo mediante un proceso mecánico [19].</li> </ul>
		Desengrase	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Se utiliza: kerosene y monoclorobenceno.</li> <li>. Tiene alto contenido de materia orgánica, solventes y agentes tensoactivos [19].</li> </ul>
		Purga enzimática	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Se utiliza: cloruro de amonio</li> <li>. Se elimina las proteínas no estructuradas [19].</li> </ul>

<b>Etapa</b>	<b>Características Generales</b>		
Piquelado	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Es la preparación química para el curtido</li> <li>. Se utiliza ácido fórmico y sulfúrico [19].</li> <li>. Se usan sales como: cloruro y sulfato de sodio [11]</li> <li>. El efluente contiene “cloruros, sulfatos, cromo no fijado, sulfato básico de cromo y virutas de cuero cromado” [11]</li> </ul>		
<b>Etapa</b>	<b>Características Generales</b>		
Curtido	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Se estabiliza el colágeno de la piel mediante agente minerales o vegetales, las sales de cromo son las más utilizadas [19].</li> <li>. Tiene una duración entre 8-12 horas</li> <li>. Se emplea sales de cromo (<math>\text{Cr}_2\text{O}_3</math>) de aproximadamente el 7 a 8% con relación al peso de las pieles a curtir [11].</li> </ul>		
<b>Etapa</b>	<b>Características Generales</b>	<b>Sub- etapas</b>	<b>Características específicas</b>
Procesos mecánicos de post- curtición	<ul style="list-style-type: none"> <li>. En esta etapa se da el espesor específico del cuero, así como su forma.</li> <li>. Los restos que se generan tienen cromo <math>\text{Cr}^{3+}</math> y se denominan virutas de cromo [19].</li> </ul>	Desaguado mecánico	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Se elimina el exceso de humedad del anterior proceso</li> <li>. Tiene alto contenido de cromo y bajo pH [19]</li> </ul>
		Dividido	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Se separa el lado flor del lado carne de la piel [19].</li> </ul>
		Raspado	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Se da el espesor específico al cuero.</li> </ul>
		Recortes	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Se elimina las partes del cuero que no van a ser utilizadas [19].</li> </ul>

<b>Etapa</b>	<b>Características Generales</b>	<b>Sub- etapas</b>	<b>Características específicas</b>
Procesos húmedos de post- curtición	. Se modifica el cuero para su comercialización	Neutralizado	. El lavado inicial remueve la sal de cromo no fijada, parte de la acidez y las sales neutras. . Se neutraliza con sales alcalinas para que el pH no pase de 7 [58].
		Recurtido	. Es el mismo proceso del curtido para “obtener un cuero más lleno, con mejor resistencia al agua, mayor blandura o para favorecer la igualación de tintura que no se han podido obtener con la sola curtición convencional” [11]
		Teñido	. Las pieles recurtidas son teñidas con colorantes ácidos o básicos [11]
		Engrasado	. “Para obtener un cuero más suave y flexible se adicionan por impregnación aceites vegetales y animales, modificados o no y aceites minerales” [11].
<b>Etapa</b>	<b>Características Generales</b>		
Secado y terminado	. Se aplican anilinas o pigmentos y solventes en las capas superficiales para finalizar el proceso [19].		

## Anexo C. Fotografías



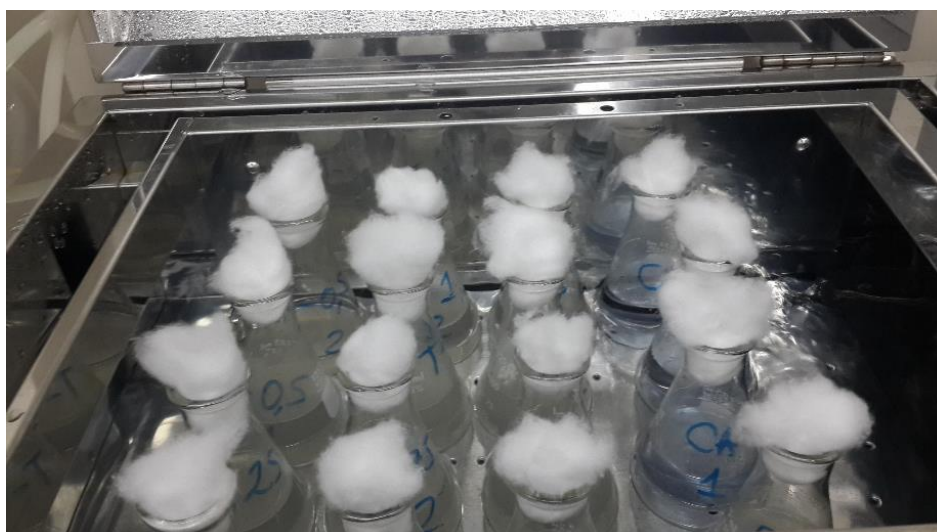
**Fotografía 1.** Agua residual proveniente de una PTAR de Tungurahua.  
Tomada por Ana Belén Bruzual.



**Fotografía 2.** Planta de Tratamiento de Agua Residual a escala piloto con un tratamiento de mezcla controlada y lechada de cal, diseñado por Valdés y Peñafiel.  
Tomada por Ana Belén Bruzual.



**Fotografía 3.** Cultivo microbiano enriquecido.  
Tomada por Ana Belén Bruzual.



**Fotografía 4.** Ensayos de toxicidad microbiana.  
Tomada por Ana Belén Bruzual.



**Fotografía 5.** Ensayos de toxicidad microbiana.  
Tomada por Ana Belén Bruzual.



**Fotografía 6.** Ensayos de toxicidad microbiana.  
Tomada por Ana Belén Bruzual.





**Fotografía 7.** Ensayos de toxicidad de cromo.  
Tomada por Ana Belén Bruzual.

