



# UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



## FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

---

**Tema:** Efecto de la adición de cadmio y de plomo sobre el consumo de oxígeno en la degradación de materia orgánica del agua residual cruda de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Ambato

---

Informe Final de Integración Curricular, Modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero Biotecnólogo, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

**AUTOR:** Jean Pierre Aliaga Guerrero

**TUTOR:** Dr.-Ing. Rodny David Peñafiel Ayala

**Ambato – Ecuador**

**Marzo 2023**

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

Dr.-Ing. Rodny David Peñafiel Ayala

### **CERTIFICA**

Que el presente Informe Final de Integración Curricular ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final de Integración Curricular, Modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 08 de febrero de 2023

---

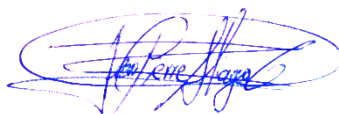
Dr.-Ing. Rodny David Peñafiel Ayala

C.I. 1712283520

**TUTOR**

## DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Jean Pierre Aliaga Guerrero, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final de Integración Curricular, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero Biotecnólogo, son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas bibliográficas.



---

Jean Pierre Aliaga Guerrero

C.I 1804087839

**AUTOR**

## **APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO**

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final de Integración Curricular, modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Por constancia firman:

.....

Dra. Liliana Alexandra Cerda Mejía  
**Presidente del Tribunal**  
C.I. 1804148086

.....

Dr. Pablo Vinicio Tuza Alvarado  
**Miembro del Tribunal**  
C.I. 1104063241

.....

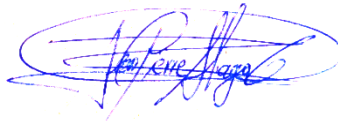
Dr. Santiago Casado Rojo  
**Miembro del Tribunal**  
C.I. 1759126954

Ambato, 08 de marzo del 2023

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que considere el presente Informe Final de Integración Curricular o parte de él un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la institución.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final de Integración Curricular, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



---

Jean Pierre Aliaga Guerrero

C.I 1804087839

**AUTOR**

## **DEDICATORIA**

A Dios, por ser mi guía y mi fortaleza, por brindarme las habilidades, conocimiento y sabiduría durante todo este trayecto.

A mis padres, Edgar y Laura, quienes han sido mi apoyo incondicional durante toda mi vida. Su amor y su presencia han sido fundamentales para superar los obstáculos y alcanzar este objetivo.

A mi hermano, Henry, por todo lo que has hecho por mí. Apoyándome y ayudándome en todo lo que necesitaba.

A mi primo, Marlon, quien fue un modelo a seguir para nunca rendirme y siempre enfrentar la vida con una sonrisa.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por su constante amor, sabiduría y fortaleza en mi vida. Agradezco por las bendiciones que ha derramado sobre mí y por la manera en que me ha guiado a través de las dificultades que se me han presentado durante toda esta trayectoria.

A mi madre, padre y hermano por ser mi apoyo incondicional, por brindarme su amor y palabras de aliento siempre. Gracias por estar a mi lado en los buenos y malos momentos, por creer en mí. Los quiero mucho.

A mi tutor, Dr. Rodny Peñafiel por su guía y apoyo en el desarrollo del presente proyecto de investigación.

A la Universidad Técnica de Ambato y a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología por recibirme en sus instalaciones y proporcionarme las herramientas y recursos necesarios para mi formación profesional.

Al Proyecto Canje de Deuda Ecuador-España “Fortalecimiento de la unidad operativa de investigación (FITA-UOITA)” de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

A Michelle, Kevin, Allison, Joselyn, José y demás amigos, así como compañeros que me han apoyado, guiado y ayudado a lo largo de mi camino. Sus consejos, aliento y amistad han sido fundamentales para mi crecimiento y logros. Agradezco a cada uno de ustedes por formar parte de mi vida y por ser una constante motivación para seguir adelante. Muchas gracias.

## Índice General de Contenidos

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.....	iii
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO.....	iv
DERECHOS DE AUTOR .....	v
DEDICATORIA .....	vi
AGRADECIMIENTO .....	vi
RESUMEN.....	x
ABSTRACT.....	xi
CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO .....	1
1.1. Antecedentes investigativos .....	1
1.1.1. Introducción .....	1
1.1.2. Aguas residuales .....	1
1.1.3. Contaminantes en aguas residuales.....	3
1.1.4. Características físicas y químicas de las aguas residuales.....	5
1.1.5. Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Ambato .....	7
1.1.6. Análisis respirométricos.....	9
1.1.6.1. Inhibición de bacterias aeróbica por metales pesados .....	9
1.1.6.2. Índice de toxicidad.....	10
1.2. Objetivos .....	11
1.2.1. Objetivo general.....	11
1.2.2. Objetivos específicos .....	11
CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA .....	12
2.1. Materiales .....	12
2.1.1. Materiales de laboratorio .....	12
2.1.2. Reactivos de laboratorio .....	12
2.1.3. Equipos de laboratorio .....	13



2.2.	Métodos.....	14
2.2.1.	Toma de muestras .....	14
2.2.2.	Análisis fisicoquímicos de la muestra.....	15
2.2.2.1.	pH, temperatura, conductividad y oxígeno disuelto .....	15
2.2.2.2.	Turbidez.....	16
2.2.2.3.	Determinación de iones no metálicos .....	16
2.2.2.4.	Determinación de sólidos.....	17
2.2.2.5.	Determinación de metales pesados .....	18
2.2.2.6.	Demanda química de oxígeno (DQO) .....	19
2.2.2.7.	Demanda bioquímica de oxígeno (DBO) .....	20
2.2.3.	Ensayos de toxicidad bacteriana .....	20
2.2.3.1.	Determinación de la tasa de consumo de oxígeno .....	21
2.2.3.2.	Cálculo del índice de inhibición .....	22
2.3.	Hipótesis .....	23
CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....		24
3.1.	Análisis y discusión de los resultados.....	24
3.1.1.	Caracterización del agua residual .....	24
3.1.2.	Evaluación de la tasa de consumo de oxígeno en función a la adición de concentraciones de cadmio y de plomo .....	30
3.1.3.	Índice de toxicidad de cadmio y de plomo .....	35
3.2.	Verificación de hipótesis.....	41
CAPITULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....		42
4.1.	Conclusiones .....	42
4.2.	Recomendaciones.....	43
MATERIALES DE REFERENCIA .....		44
5.1.	Referencias Bibliográficas .....	44
5.2.	Anexos .....	54

## Índice de Tablas

Tabla 1. <i>Contaminantes presentes en el agua residual</i> .....	3
Tabla 2. <i>Toxicidad de los algunos metales pesados para los microorganismos</i> .....	4
Tabla 3. <i>Materiales de laboratorio</i> .....	12
Tabla 4. <i>Reactivos de laboratorio</i> .....	12
Tabla 5. <i>Equipos de laboratorio</i> .....	13
Tabla 6. <i>Métodos de referencia para parámetros en la caracterización del agua residual</i> .....	15
Tabla 7. <i>Rango de detección de iones no metálicos</i> .....	17
Tabla 8. <i>Condiciones empleadas para la determinación de Cd y Pb</i> .....	19
Tabla 9. <i>Volúmenes teóricos para la muestra en función al rango de DQO</i> .....	20
Tabla 10. <i>Concentraciones de cadmio y plomo que se añadieron para ensayos de inhibición</i> .....	21
Tabla 11. <i>Resultados obtenidos de la caracterización del agua residual de la PTAR-Ambato</i> .....	24
Tabla 12. <i>Concentraciones inhibitoria del 20%, 50% y 80% de cadmio y plomo</i> ....	38
Tabla 13. <i>Límite máximo permisible de descarga al sistema de alcantarillado público establecido en el TULSMA Libro VI Anexo 6. Tabla 8</i> .....	56
Tabla 14. <i>Composición típica de las aguas residuales domésticas no tratadas</i> .....	57
Tabla 15. <i>Valores de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) para cadmio</i> .....	58
Tabla 16. <i>Actividades de degradación de la materia orgánica por parte de bacterias aeróbicas en función a distintas concentraciones de cadmio</i> .....	59
Tabla 17. <i>Valores de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) para Pb</i> .....	60
Tabla 18. <i>Actividades de degradación de la materia orgánica por parte de bacterias aeróbicas en función a distintas concentraciones de plomo</i> .....	61

## Índice de Figuras

Figura 1. <i>Composición típica del agua residual</i> .....	2
Figura 2. <i>Infraestructura de la PTAR-Ambato</i> .....	7
Figura 3. <i>Tasa de consumo de oxígeno del agua residual a diferentes concentraciones de cadmio</i> .....	31
Figura 4. <i>Tasa de consumo de oxígeno del agua residual a diferentes concentraciones de plomo</i> .....	34
Figura 5. <i>Bioensayo de toxicidad sobre bacterias aeróbicas presentes en el licor mezcla en función a distintas concentraciones de cadmio y de plomo</i> .....	36
Figura 6. <i>Carta compromiso realizada con la PTAR-Ambato</i> .....	54
Figura 7. <i>Cadena de custodia de las muestras de agua residual provenientes de la PTAR-Ambato</i> .....	55
Figura 8. <i>Curvas de los ensayos de DBO<sub>5</sub> del agua residual a diferentes concentraciones de cadmio</i> .....	58
Figura 9. <i>Curvas de los ensayos de DBO<sub>5</sub> del agua residual a diferentes concentraciones de plomo</i> .....	60
Figura 10. <i>Toma de muestras</i> .....	62
Figura 11. <i>Análisis in situ</i> .....	62
Figura 12. <i>Recolección de muestras</i> .....	63
Figura 13. <i>Análisis de las muestras</i> .....	63
Figura 14. <i>Análisis inhibitorio con el equipo OxiTop</i> .....	63

## Índice de Anexos

Anexo A. <i>Carta compromiso con EMAPA</i> .....	54
Anexo B. <i>Límites máximos permisibles por la legislación ecuatoriana y composición típica de aguas municipales según el libro <i>Waster Engineering</i></i> .....	56
Anexo C. <i>Lecturas de DBO y curvas de consumo de oxígeno</i> .....	58
Anexo D. <i>Anexo Fotográfico</i> .....	62

## RESUMEN

El tratamiento de aguas residuales contribuye a la sostenibilidad ambiental al remover los contaminantes presentes en el agua. Sin embargo, el tratamiento biológico en una planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) es afectado por la elevada concentración de contaminantes inorgánicos, como metales pesados, lo que provoca el deterioro del sistema. El objetivo del proyecto fue evaluar el impacto de la adición de cadmio y de plomo sobre el consumo de oxígeno de las bacterias aeróbicas que degradan la materia orgánica, realizando ensayos respirométricos en relación con el aumento de las concentraciones de los metales pesados. Para los ensayos, se colectó el licor mezcla del reactor biológico de la PTAR-Ambato y se expuso a diferentes concentraciones de cadmio y de plomo. Los resultados revelaron que, hasta una concentración de 2000 mg sobre L, ambos metales ejercieron un efecto inhibitorio sobre el consumo de oxígeno, con una inhibición máxima del 97.75 por ciento y 85.07 por ciento para el Cd y Pb, respectivamente. De igual manera, se determinó el índice de toxicidad que causa una inhibición del 20 por ciento (IC20) a una concentración de 23.32 mg Cd sobre L y 390.39 mg Pb sobre L, inhibición del 50 por ciento (IC50) a 147.40 mg Cd sobre L y 671.08 mg Pb sobre L y una inhibición del 80 por ciento (IC80) a 731.12 mg Cd sobre L y 951.38 mg Pb sobre L. En conclusión, estos niveles de toxicidad sugieren que las bacterias aeróbicas están desarrollando cierta tolerancia a estos metales.

**Palabras claves:** Aguas residuales, tratamiento biológico, efecto inhibitorio, metales pesados, tasa de consumo de oxígeno, gestión ambiental, contaminación ambiental, tratamiento de aguas

## ABSTRACT

The residuals water treatment contributes to environmental sustainability by removing contaminants present in water. However, the biological treatment in a wastewater treatment plant (WWTP) be affected due to the high concentration of inorganic contaminants, such as heavy metals, causing deterioration of the system. The objective of the project was to evaluate the impact of the addition of cadmium and lead on the oxygen of aerobic bacteria that degrade the organic material, doing respirometric tests in relation to the increase in heavy metal concentrations. For the tests, the mixed liquor from the WWTP-Ambato biological reactor was collected and exposed to different concentration levels of cadmium and lead. The results revealed that in a concentration up to 2000 mg per L, both heavy metals had an inhibitory effect on oxygen consumption, with a maximum inhibition of 97.75 percent and 85.07 percent for Cd and Pb, respectively. Also, the cadmium and lead toxicity index were determined in the activity of the PTAR-Ambato biological reactor that causes a 20 percent inhibition (IC20) to be 23.32 mg Cd per L and 390.39 mg Pb per L, a 50 percent inhibition (IC50) to be 147.40 mg Cd per L y 671.08 mg Pb per L and 80 percent inhibition (IC80) to be 731.12 mg Cd per L y 951.38 mg Pb per L. In conclusion, the high levels of cadmium and lead toxicity suggest that aerobic bacteria are developing tolerance to these metals.

**Key words:** Wastewater, biological treatment, inhibitory effect, heavy metals, oxygen uptake range, environmental management, environmental pollution, water treatment.

## CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO

### 1.1. Antecedentes investigativos

#### 1.1.1. Introducción

Alrededor del 80% de las aguas residuales procedentes de la actividad humana se vierten sin tratar en los ríos y el mar, lo que genera su contaminación (**Organización de las Naciones Unidas, 2022**). Ante esta problemática se ha propuesto el tratamiento de aguas residuales para alcanzar una sostenibilidad ambiental al remover los contaminantes que pueden contener partículas orgánicas e inorgánicas suspendidas y/o disueltas (**Noyola et al., 2013**). Para la eliminación de los contaminantes antes mencionados se utilizan las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR), las cuales mediante tratamientos fisicoquímicos y biológicos generan productos como agua tratada (efluente), residuos sólidos (lodos) y emisiones gaseosas (**Orozco, 2008**). Actualmente, estos productos pueden emplearse para mantener el flujo ambiental con un valor significativo para el sector agrícola.

Por lo general, el tratamiento biológico en una PTAR puede verse afectado debido a la elevada concentración de contaminantes inorgánicos, como metales pesados, lo que provoca el deterioro parcial o total del rendimiento del sistema (**Aguilar et al., 2020**). La acumulación de este contaminante en el agua residual urbana es de alrededor del 80 al 90%, lo que afecta la actividad microbiana debido al efecto tóxico de los cationes sobre los microorganismos presentes en el tratamiento biológico, lo que afecta la calidad del efluente y de los lodos (**Vardhan, Kumar, & Panda, 2019**). Por lo tanto, es importante estimar la toxicidad de los metales sobre las bacterias en una PTAR para prevenir su impacto en el sistema.

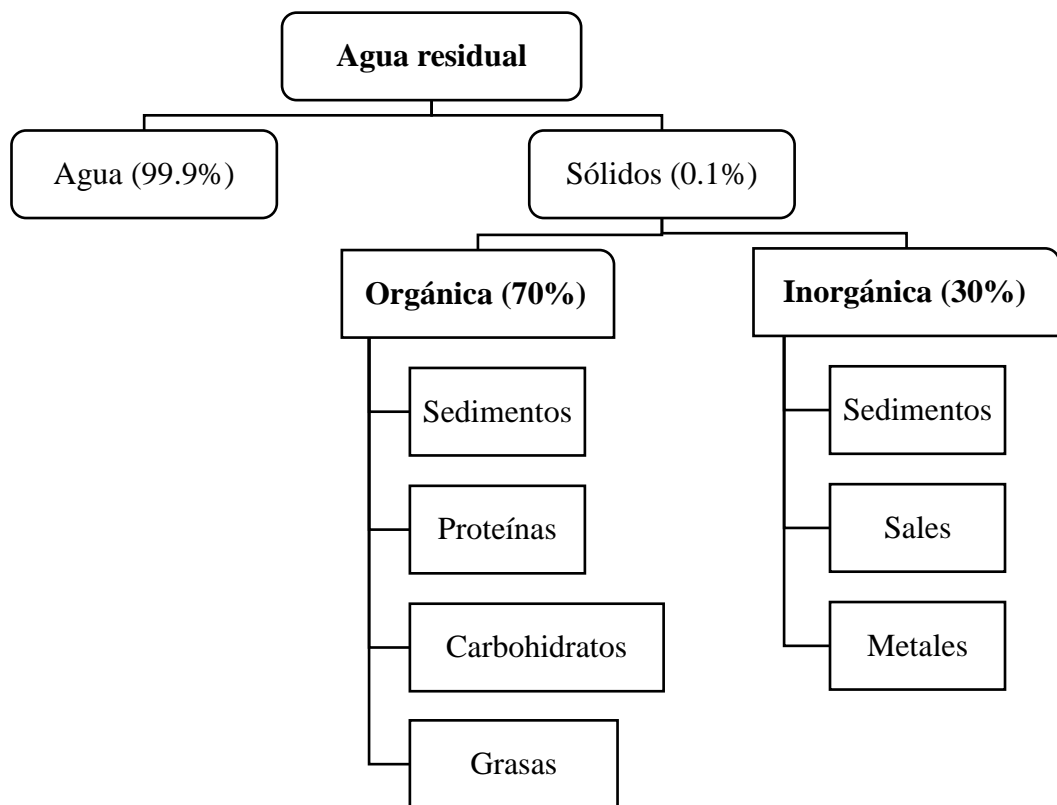
#### 1.1.2. Aguas residuales

Las aguas residuales urbanas contienen una variedad de sustancias nocivas y tóxicas que provienen de diferentes fuentes, así como escorrentías de desechos agrícolas y pluviales (**Choi et al., 2017**). El agua residual es una matriz compleja compuesta por un 99.9% de agua y el 0.1% restante incluye sólidos en suspensión. Este último, contiene compuestos orgánicos como residuos humanos (heces, papel higiénico,

residuos de alimentos), otras sustancias orgánicas biodegradables disueltas (proteínas, carbohidratos y lípidos) y además compuestos inorgánicos (sedimentos del suelo, sales y metales) (Rodríguez et al., 2018). La Figura 1 muestra la composición típica de las aguas residuales.

**Figura 1.**

*Composición típica del agua residual*



*Nota.* Adaptado de *Typical composition of sewage water*, [Figura], por Keerti Jain 2021, *Molecules* (<https://www.mdpi.com/1420-3049/26/6/1797>). Copyright (CC BY)

La tipología de las aguas residuales es diferente de acuerdo con el origen de donde éstas proceden. Según el **Ministerio del Ambiente (2015)**, por un lado, están las aguas residuales industriales, que se definen como aguas residuales generadas en locales donde se desarrollan actividades o procesos industriales. Las aguas residuales domésticas, por su parte, son las aguas residuales que proceden de zonas residenciales y de los procesos cotidianos de la vida, es decir, todas las aguas contaminadas por el uso humano y recolectadas por el sistema de alcantarillado. De acuerdo con **Orozco (2008)**, las aguas residuales urbanas como una mezcla de aguas residuales industriales,

aguas residuales domésticas, aguas subterráneas y aguas pluviales que desembocan en las alcantarillas como infiltraciones.

### 1.1.3. Contaminantes en aguas residuales

Los contaminantes en las aguas residuales provienen de manera natural o de la actividad antropogénica del hombre. Se conoce que la materia orgánica representa la parte más importante de la contaminación del agua residual, ya que consume el oxígeno disuelto (**López et al. 2008**). La composición orgánica en las aguas residuales es de aproximadamente un 50% de proteínas, 40% de hidratos de carbono, un 10% de grasas, tensioactivos y contaminantes emergentes (**Kim et al., 2020**). Los principales contaminantes que se encuentran en las aguas residuales se muestran en la *Tabla 1*.

**Tabla 1.**

*Contaminantes presentes en el agua residual*

<b>Contaminantes de las aguas residuales</b>	<b>Afección ambiental</b>
Materia orgánica (madera, papel, etc.)	Muerte de peces, mal olor.
Otros compuestos orgánicos (detergentes, plaguicidas, grasas y solventes)	Efectos tóxicos, inconvenientes estéticos, bio-acumulación en la cadena alimenticia.
Nutrientes (fósforo, amoníaco)	Eutrofización, agotamiento del oxígeno disuelto, efectos tóxicos.
Metales (Pb, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni)	Efectos inhibitorios, bio-acumulación.

*Nota:* Se indica los principales contaminantes que contiene el agua residual, así como su afección en el ambiente (**López et al., 2008**).

### Metales pesados

Los metales pesados son definidos como cualquier elemento metálico con una densidad específica superior a 5 g/cm<sup>3</sup> (**Ibrahim et al., 2020**). La toxicidad de los metales es motivo de preocupación ambiental debido a su bioacumulación, no biodegradabilidad y afección a microorganismos en el tratamiento biológico de una PTAR (**Çeçen et al., 2010**). En la *Tabla 2*, se representa los principales efectos tóxicos de los metales sobre microorganismos.



**Tabla 2.**

*Toxicidad de los algunos metales pesados para los microorganismos*

---

<b>Metales pesados</b>	<b>Efectos sobre bacterias</b>
Cadmio	Desnaturaliza la proteína, destruye el ácido nucleico, dificulta la división celular y la transcripción.
Cromo	Inhibición del crecimiento y del consumo de oxígeno.
Plata	Lisis celular, inhibe la transducción celular.
Plomo	Destruye el ácido nucleico, inhibe la tasa de crecimiento y las acciones enzimáticas.

---

*Nota:* Se representa las principales afecciones causada por los metales pesados a los microorganismos (Igiri et al., 2018).

➤ **Cadmio (Cd)**

El cadmio es un metal pesado que presenta efectos tóxicos e inhibitorios para los microorganismos incluso a bajas concentraciones. Además, está clasificado por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) como cancerígeno para los humanos (Grupo 1) (Kim et al., 2020). Las principales fuentes de contaminación de cadmio hacia las aguas residuales son la galvanoplastia, la fundición, la fabricación de aleaciones, los plásticos, las baterías y los procesos de reciclaje (Hernández et al., 2018).

➤ **Plomo (Pb)**

El plomo es un metal tóxico que tiene efectos adversos y nocivo sobre los microbios presentes en los lodos activados, ya que daña las membranas celulares y destruye la estructura del ADN. Los compuestos de plomo fueron clasificados según la IARC como probablemente causantes de cáncer humano (Grupo 2) (Kim et al., 2020). Las principales fuentes industriales de contaminación de plomo en las aguas residuales son la fabricación de baterías, la impresión, el chapado y el acabado de metales (Gidlow, 2015).

### ➤ Norma de descarga de efluentes

Las normas de descarga vigentes establecen los requisitos fisicoquímicos y microbiológicos para la reutilización de aguas residuales. En el Ecuador, el Decreto Ejecutivo 3516, Texto Unificado Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente, conocido como Libro VI (TULSMA), insta los límites permisibles bajo los cuales se rige la calidad de aguas residuales. En este compendio, la legislación ecuatoriana establece que la concentración de plomo y cadmio no debe superar los límites máximos permisibles de  $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $0.02 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  respectivamente (**Ministerio del Ambiente, 2015**).

#### 1.1.4. Características físicas y químicas de las aguas residuales

La toxicidad de los metales pesados en las aguas residuales de una PTAR es afectada por varias características como el pH, conductividad oxígeno disuelto, temperatura, entre otras (**Bhat et al., 2020**). Estas características físicas y químicas del agua residual también dan a conocer como están compuestas y es necesario previo a la determinación de la inhibición del consumo de oxígeno por parte de las bacterias aeróbicas. Entre las principales características se tiene:

**pH:** es una medida de la concentración de iones de hidrógeno. Los valores de pH oscilan en una escala entre 0 a 14, con lo que mide cuán ácida o básica es una solución acuosa. Además, determina la cantidad de solubilidad y la cantidad de disponibilidad biológica de nutrientes (**Rosas et al., 2017**).

**Temperatura:** es una medida de calor o frialdad del agua residual, esta característica puede afectar directamente a la actividad y la eficiencia de los lodos activados, al disminuir la concentración de oxígeno debido a que afecta la solubilidad del agua (**Sillanpää & Shestakova, 2017**).

**Conductividad:** está definida como la capacidad de una solución acuosa para transportar una corriente eléctrica. Las aguas residuales transportan esta electricidad a través de los iones disueltos de sales, bases y ácidos (**Hernández et al., 2018**).

**Turbidez:** indica la calidad del agua vertida, ya que señala la concentración de sólidos en suspensión de aguas residuales, su medición se realiza a través de la intensidad de luz dispersada en la muestra (**Ramalho, 2008**).

**Oxígeno disuelto:** es el parámetro que indica del estado de contaminación de una masa de agua, ya que, representa la cantidad de oxígeno disuelta en agua. Además, es un requerimiento esencial para el ambiente aerobio en la que se encuentran los microorganismos de los lodos activados (**César & Vázquez, 2003**).

**Iones no metálicos:** algunos iones que están presentes en las aguas residuales urbanas son el amonio, cloruros, fosfatos, nitratos y sulfatos, los cuales son procedentes de la descomposición de materiales orgánicos, oxidación bacteriana, disolución de minerales provenientes de afluentes de industrias, entre otras actividades (**Rodríguez et al., 2018**).

**DQO (Demanda Química de Oxígeno):** es denominado el volumen de oxígeno requerido para que la materia orgánica se pueda degradar u oxidar. Su cuantificación se puede realizar mediante la oxidación química de bicromato, debido a que su reacción mide la mayoría de materia orgánica presente en una muestra (**López et al., 2008**).

**DBO (Demanda Bioquímica de Oxígeno):** mide la cantidad de oxígeno consumido por microorganismos presentes en una muestra de agua, debido a que utilizan el oxígeno para metabolizar la materia orgánica. El ensayo estándar de la DBO se realiza durante un tiempo de incubación de 5 días (DBO<sub>5</sub>) (**López et al., 2008**).

**Sólidos totales (ST):** es definida como toda la materia que se obtiene como residuo posterior a una evaporación a temperaturas elevadas (103 – 105 °C). Son partículas pequeñas y constituye uno de los contaminantes más comunes en las aguas residuales (**Rodríguez et al., 2018**).

**Sólidos suspendidos totales (SST):** son partículas sólidas que se encuentran en suspensión ya que tardan en sedimentar, en elevadas concentraciones impiden la transferencia de oxígeno. **Choi et al. (2017)**, menciona que alrededor del 75% de los SST son de naturaleza orgánica. Su cuantificación se realiza posterior a una filtración

de la muestra para ser secados a temperaturas de 103 a 105 °C (Rodríguez et al., 2018).

**Sólidos volátiles (SV):** son sólidos que indican que su procedencia es orgánica. Los SV se cuantifica por su evaporación a más de 550 °C esto con la ayuda de una muffle (Rodríguez et al., 2018).

### 1.1.5. Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Ambato

Con el fin de tratar adecuadamente las aguas residuales de la ciudad de Ambato, la Empresa Municipal de Agua Potable y Alcantarillado de Ambato (EMAPA), cuenta con la PTAR-Ambato ubicado en el sector “Las Viñas” (Empresa Municipal de Agua Potable y Alcantarillado de Ambato, 2018). La planta tiene una capacidad media de tratamiento de alrededor de 65.000 metros cúbicos por día, y el agua tratada se descarga en el río Ambato.

#### Figura 2.

*Infraestructura de la PTAR-Ambato*



Nota: Adaptado de *Planta de Tratamiento de Aguas Residuales*, [Fotografía], por La Hora, 2019, Postimage (<https://postimg.cc/XBFXcxdG>) Copyright.

### ➤ **Etapas del PTAR-Ambato**

La PTAR en Ambato cuenta con varias áreas, cada una con un propósito distinto en el tratamiento del agua residual. Incluye una sección para el pretratamiento, tratamiento primario, tratamiento secundario y tratamiento terciario (**Montero et al. 2021**). El pretratamiento elimina los residuos sólidos de gran tamaño, con lo cual se retira el 50% de la contaminación, esta función se lleva a cabo bajo dos etapas: el tamizado y el desarenado/desengrase. La etapa de tamizado elimina los residuos flotantes mediante el uso de tamices de diferente grosor. Mientras que el desarenado/desengrase retira las partículas inorgánicas como las arenas y grasas (**BIOTAS, 2022**).

Posterior a esto, el efluente sigue al tratamiento primario, en donde se da la eliminación de la materia sedimentable. La sedimentación se da en decantadores circulares, aquí el agua reposa durante varias horas, con ello se logra sedimentar a los sólidos en suspensión para así eliminar cerca del 90% de los mismos (**Montero et al., 2021**).

El tratamiento secundario es un sistema basado en dos etapas, la primera etapa utiliza un tanque aireado y la segunda consiste en los decantadores secundarios (**BIOTAS, 2022**). En el tanque aireado o reactor biológico se maneja lodos activados, es decir, una suspensión de microorganismos en crecimiento activo, especialmente bacterias y protozoos, que remueven los contaminantes como la materia orgánica y micronutrientes. De acuerdo con **López et al. (2008)**, este bioproceso es aeróbico, debido a que utiliza el oxígeno como requerimiento nutricional. Simultáneamente, el efluente es conducido hacia los decantadores secundarios encargados de la clarificación por decantación. El efluente pasa al tratamiento terciario, mientras que, una parte de la biomasa sedimentada retorna al tanque de aeración y la otra se retira como desecho denominado “lodo residual” (**BIOTAS, 2022**).

El tratamiento terciario es la dosificación de cloro, con lo que se elimina la materia orgánica de los microorganismos provenientes del efluente del tratamiento secundario (**Montero et al., 2021**). En la PTAR-Ambato se logra la desinfección mediante un tratamiento de hipoclorito de sodio por cortos periodos de tiempo, para así liberar el agua tratada a la cuenca del río Ambato (**BIOTAS, 2022**).

### 1.1.6. Análisis respirométricos

La respirometría se enfoca en la medición e interpretación de la disminución de la tasa de respiración (consumo biológico de oxígeno) bajo determinadas condiciones (presencia de compuestos tóxicos) respecto a la actividad observada cuando estos compuestos están ausentes (**Buaisha et al., 2021**). Este consumo de oxígeno proviene del consorcio microbiano de los lodos activados en su fase de supervivencia y de la oxidación biológica de los materiales orgánicos (**Hartmann et al., 2020**). Razón por la que este método es empleado para la evaluación de los efectos de inhibición de algunos componentes contaminantes.

#### 1.1.6.1. Inhibición de bacterias aeróbica por metales pesados

Al centrarnos en el tratamiento biológico de una PTAR, los microorganismos tienen la capacidad de metabolizar y degradar una diversidad de contaminantes. Sin embargo, la tasa de degradación de los metales pesados es extremadamente lenta o nula (**Böger et al., 2021**). En varios estudios se ha investigado la posible inhibición microbiana por iones metálicos en una PTAR. Según **Matyja et al. (2021)**, la inhibición por parte del consorcio bacteriano se da porque los iones metálicos pueden sustituir los cationes esenciales dentro de una enzima y además tiene la capacidad de unirse a bases de ADN (**Roane et al., 2015**). Del mismo modo, **Zhang et al. (2019)**, estudiaron el efecto del cadmio en lodos heterotróficos utilizando un reactor discontinuo, donde se presentó una inhibición con el aumento de la concentración. De igual manera, **Ibrahim et al. (2020)**, investigaron los efectos de las concentraciones de cadmio y de cromo hexavalente en microorganismos aeróbicos, en donde el cadmio fue identificado como el ion metálico más tóxico.

Por otro lado, **Yuan et al. (2015)**, concluyeron que la viabilidad microbiana y la diversidad de la comunidad bacteriana del tratamiento biológico se ve afectada con el aumento de las concentraciones de plomo. De igual manera **Çeçen et al. (2010)**, informaron que las concentraciones medias de inhibición efectiva de cinco metales (Cd, Pb, Hg, Ag y Cr), oscilan entre 0.01 y 1000 mg·L<sup>-1</sup>. El impacto de los iones metálicos puede cambiar la composición microbiana de distintas maneras como la desnaturalización de proteínas, daño a la membrana y pérdida de una función protectora (**Bhat et al., 2020**).

### **1.1.6.2. Índice de toxicidad**

Para expresar la inhibición se utiliza la IC<sub>x</sub> (concentración inhibitoria, donde x es cualquier porcentaje de inhibición) (**López et al., 2008**), en este proyecto de investigación se estudiará el 20%. El IC<sub>20</sub> indica la concentración del metal pesado, en donde la velocidad de respiración de los microorganismos se reduce un 20% con relación a la velocidad de respiración observada en ausencia del metal (**Jain et al., 2021**). Esta concentración se debe estimar posterior a la ejecución de varias pruebas a diferentes concentraciones con el metal, para con ello graficar una curva que exprese el porcentaje de inhibición en función de la concentración del metal.

En consecuencia, debido a la variabilidad de la toxicidad e impacto de los iones metálicos, los sistemas biológicos pueden tener una tolerancia diferente a estos iones, lo que puede afectar al metabolismo bacteriano y a su vez, llegar al sector agrícola e interactuar con los seres humanos. En el Ecuador existe pocos estudios relacionados a este ámbito, por lo tanto, es necesario conocer a que concentraciones de los metales pesados presenta un grado de toxicidad que afecta al consorcio bacteriano.

## **1.2. Objetivos**

### **1.2.1. Objetivo general**

Analizar el efecto de la adición de cadmio y de plomo sobre el consumo de oxígeno en la degradación de materia orgánica del agua residual cruda de Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Ambato.

### **1.2.2. Objetivos específicos**

- Caracterizar las propiedades físicas y químicas como pH, temperatura, conductividad, turbidez, iones no metálicos, sólidos totales, DQO y DBO<sub>5</sub> del agua residual cruda procedente de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Ambato.
- Determinar la cantidad de oxígeno consumido por bacterias aeróbicas expuestas a concentraciones conocidas de cadmio y de plomo a través de un análisis respirométrico.
- Estimar el índice de toxicidad de cadmio y de plomo sobre bacterias aeróbicas del agua residual mediante un análisis de inhibición IC<sub>20</sub>.



## CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA

### 2.1. Materiales

#### 2.1.1. Materiales de laboratorio

A continuación, se indica los materiales empleados en los laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato para la ejecución del proyecto de integración curricular.

**Tabla 3.**

*Materiales de laboratorio*

<b>Material</b>	<b>Cantidad</b>
Botellas ámbar de 500 mL, 1 L y 2.5 L	8
Vasos de precipitación	5
Probetas graduadas de vidrio de 10 mL	5
Agitador magnético	7
Crisoles	15
Papel filtro	10
Embudo	1
Matraces de 100 mL	5
Balones volumétricos de 100 mL y 1 L	5
<i>Cooler</i>	1

#### 2.1.2. Reactivos de laboratorio

A continuación, se indica los reactivos empleados en los laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato para la ejecución del proyecto de integración curricular.

**Tabla 4.**

*Reactivos de laboratorio*

<b>Reactivos</b>	<b>Cantidad</b>
Ácido nítrico (HNO <sub>3</sub> )	100 mL
Agua destilada	2 L

Glucosa (C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> )	2 g
Cloruro de amonio (NH <sub>4</sub> Cl)	2 g
Fosfato monopotásico (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	2 g
Cloruro de cadmio dihidratado (CdCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O)	10 g
Nitrato de plomo (Pb (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )	24 g
Solución estándar de Pb a 75 ppb	5 mL
Solución estándar de Cd a 5 ppb	5 mL

### 2.1.3. Equipos de laboratorio

A continuación, se indica los equipos empleados en los laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato para la ejecución del proyecto de integración curricular.

**Tabla 5.**

*Equipos de laboratorio*

<b>Equipos</b>	<b>Cantidad</b>
Balanza analítica (MRC)	1
Equipo de OxiTop (WTW)	1
Incubadora (LAB Incubator)	1
Digestor de bloque (HANNA)	1
Equipo de filtrado al vacío (Millipore)	1
Desecador	1
Turbidímetro (LaMotte)	1
Estufa (Binder)	1
Horno Mufla (BioBase)	1
Plancha de calentamiento con agitación (VWR)	1
Digestor por microondas (ETHOS UP)	1
Espectrofotómetro de absorción atómica PG Instruments AA500 (PG Instruments)	1
Fotómetro multiparamétrico (HANNA)	1

## **2.2. Métodos**

### **2.2.1. Toma de muestras**

La toma de muestras se realizó en la PTAR-Ambato ubicado en el sector “Las Viñas”. Las muestras de aguas residuales del tratamiento secundario fueron tomadas de tres diferentes puntos. La primera muestra perteneció al tanque de mezcla del efluente clarificado del tratamiento primario (ECTP), es decir, el agua residual que ingresa al tratamiento secundario posterior al tratamiento primario. La segunda muestra fue recogida del licor mezcla (LM), es decir, el agua residual que se mezcla con el efluente de recirculación del tratamiento secundario. Mientras que, la tercera muestra correspondió al tanque de los biosólidos de recirculación (TBR), es decir, el efluente perteneciente a la sección de recirculación.

Para la caracterización del agua residual, las muestras del ECTP y del TBR fueron colocadas en dos botellas tipo ámbar de 1 L, además, se llenó una botella tipo ámbar de 500 mL, misma que fue previamente acidificada con ácido nítrico. Por otro lado, se colocó en 4 frascos de 2.5 L el agua residual del LM. Es relevante señalar que la recolección de las muestras fue hecha con la asistencia de los trabajadores de la PTAR en Ambato, bajo la normativa NTE INEN 2176:2013 Agua. Calidad del agua. Muestreo. Técnicas de muestreo (INEN, 2013a). Después de esto, se procedió a identificar con detalle cada muestra, etiquetándolas con información que incluye el lugar de donde se tomó la muestra, la fecha y hora de la recolección, el nombre de la persona encargada de la toma de muestra y un número de identificación único para cada muestra.

La muestra se conservó siguiendo la norma NTE INEN 2169:2013 Agua. Calidad del agua. Muestreo. Manejo y Conservación de muestras (INEN, 2013b). El procedimiento incluyó el transporte de los recipientes herméticamente sellados en el interior de un contenedor con hielo para mantener su frescura. Las muestras fueron guardadas en el laboratorio de investigación de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato y, finalmente, almacenadas en un refrigerador para su análisis posterior.

### 2.2.2. Análisis fisicoquímicos de la muestra

La metodología utilizada para evaluar las características del agua residual se realizó de acuerdo con las regulaciones actuales de la EMAPA, teniendo en cuenta los parámetros indicados en la *tabla 6*. Además, las mediciones se llevaron a cabo siguiendo los métodos explicados en el *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23 Ed (Baird et al., 2017)*. Cabe mencionar que, en algunos casos, fue necesario diluir las muestras antes de realizar los análisis.

**Tabla 6.**

*Métodos de referencia para parámetros en la caracterización del agua residual*

<i>Parámetro</i>	<i>Método de referencia</i>
pH	<i>Standard Methods Ed.23 4500-H+ B.</i>
Temperatura	<i>Standard Methods Ed.23 2550-B</i>
Conductividad	<i>Standard Methods Ed.23 2510 C</i>
Oxígeno disuelto	<i>Standard Methods Ed.23 4500-O-G</i>
Turbidez	<i>Standard Methods Ed.23 2130 C</i>
Fosfato	<i>Standard Methods Ed. 23 4500- PO<sub>4</sub><sup>3-</sup></i>
Amoniacó	<i>Standard Methods Ed. 23 4500-NH<sub>4</sub><sup>+</sup></i>
Nitrato	<i>Standard Methods Ed. 23 4500-NO<sub>3</sub><sup>-</sup></i>
Sulfato	<i>Standard Methods Ed. 23 4500-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup></i>
Cloruro	<i>Standard Methods Ed. 23 4500-Cl</i>
Sólidos	<i>Standard Methods Ed. 23 2540 B, C, E, G</i>
Metales pesados	<i>Standard Methods Ed. 23 3110</i>
Cadmio	<i>Standard Methods Ed. 23 3500-Cd</i>
Plomo	<i>Standard Methods Ed. 23 3500-Pb</i>
DQO	<i>Standard Methods Ed. 23 5220</i>
DBO	<i>Standard Methods Ed. 23 5210</i>

*Fuente. (EMAPA, 2018; Baird et al., 2017).*

#### 2.2.2.1. pH, temperatura, conductividad y oxígeno disuelto

Algunos parámetros como pH, temperatura, conductividad y oxígeno disuelto fueron evaluados *in situ*, en la PTAR-Ambato. Los análisis fueron realizados bajo los procedimientos descritos en el *Standard Methods for the Examination of Water and*

*Wastewater 23 Ed (Baird et al., 2017)*. Para esto se utilizó un medidor multiparamétrico HI 9829, el cual facilita la medición de todos los parámetros anteriormente mencionados. El equipo fue calibrado de acuerdo con el manual Hi 9829 (**HANNA instruments, 2021**). El procedimiento consistió en introducir la sonda del equipo en cada tanque de agua residual referente al punto de muestreo, luego se registró los valores posteriores a su estabilización y se realizó tres réplicas.

#### **2.2.2.2. Turbidez**

Los valores de la turbidez fueron registrados con un turbidímetro de la marca LaMotte en el Laboratorio 1.4 “Análisis Medio Ambiente”, de la Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo UODIDE-ICIA, bajo el procedimiento descrito en el *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23 Ed (Baird et al., 2017)*. El proceso implicó la medición de un blanco que era agua destilada y luego, en una cubeta de vidrio propia del equipo, se agregó la muestra diluida en una relación de 1:10 y se anotó el resultado medido en unidades NTU.

#### **2.2.2.3. Determinación de iones no metálicos**

Algunos iones no metálicos como, amoníaco, cloruro, fosfato, nitrato y sulfato fueron medidos en el Laboratorio 1.4 “Análisis Medio Ambiente”, de la Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo UODIDE-ICIA, bajo los procedimientos descritos en el *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23 Ed (Baird et al., 2017)*. Los iones no metálicos antes mencionados fueron determinados con un fotómetro multiparamétrico Hanna HI 83399.

Las muestras de agua residual fueron homogenizadas uniformemente y diluidas en una proporción de 1:10. Después, se agregaron 10 ml de cada punto de muestras en diferentes cubetas de vidrio específicas del equipo. Para llevar a cabo el análisis, primero se realizó la medición de un blanco y posterior en las cubetas que contenían las muestras se añadieron los reactivos específicos para la determinación de cada ion. Finalmente, se registraron los resultados obtenidos. El protocolo de uso del equipo y las mediciones fueron ejecutadas de acuerdo con los rangos de detección para cada ion no metálico en referencia al manual correspondiente del fotómetro HI 83399 (**HANNA instruments, 2021**) (*Tabla 7*).

**Tabla 7.***Rango de detección de iones no metálicos*

<b>Ion</b>	Fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ )	Amonio ( $\text{NH}_4^+$ )	Nitrato ( $\text{NO}_3^-$ )	Sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ )	Cloruro ( $\text{Cl}^-$ )
Rango de detección	0 a 30	0 a 30	0 a 30	0 a 150	0 a 20

*Fuente. (HANNA instruments, 2021).***2.2.2.4. Determinación de sólidos**

Parámetros como sólidos totales (ST), sólidos suspendidos totales (SST), sólidos volátiles (SV) y sólidos suspendidos volátiles (SSV) fueron determinados en el Laboratorio 1.4 “Análisis Medio Ambiente”, de la Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo UODIDE-ICIA y en el laboratorio de canje de deuda, bajo los procedimientos descritos en el *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23 Ed (Baird et al., 2017)*.

**Sólidos totales (ST)**

Inicialmente, se pesó un crisol vacío en una balanza analítica. Luego, se vertieron 10 mL de la muestra en el crisol. La muestra fue luego colocada en la estufa a 105 °C durante 8 horas. Después, se retiró el crisol de la estufa y se colocó en un desecador para ser pesado de nuevo. Los valores de los ST se calcularon utilizando una diferencia de peso según la *ecuación 1*.

$$ST (g/L) = \frac{(A - B)}{L \text{ de la solución}} \text{ (Ecuación 1)}$$

Donde; A indican el peso del crisol más la muestra seca, mientras que B, indica el peso del crisol vacío.

**Sólidos volátiles (SV)**

Después de determinar los ST, se colocó el crisol en la mufla a 550 °C por una hora, después de lo cual se colocó el crisol con las cenizas en un desecador y se pesó. Finalmente, se determinó el valor de SV a través de una diferencia de peso mediante la *ecuación 2*.

$$SV (g/L) = \frac{(C - D)}{L \text{ de la muestra}} \text{ (Ecuación 2)}$$

Donde; C, indica el peso del crisol con sólidos totales, mientras que, D indica el peso del crisol más las cenizas.

#### Sólidos suspendidos totales (SST)

La determinación de SST implicó primero pesar un filtro, que se utilizó para filtrar 10 mL de la muestra. Después, el filtro utilizado se secó en una estufa a 105 °C durante 8 horas. Una vez secado, el filtro se colocó en un desecador y se pesó nuevamente. Finalmente, se determinó el valor de SST calculando la diferencia de peso según la *ecuación 3*.

$$SST (g/L) = \frac{(E - F)}{L \text{ de la solución}} \text{ (Ecuación 3)}$$

Donde; E, indica el peso del filtro más el peso del residuo de la muestra seca, mientras que F, indica el peso del filtro.

#### Sólidos suspendidos volátiles (SSV)

Después de la medición de SST, el filtro utilizado se colocó en un crisol seco y se calentó en una mufla a 550 °C por una hora. Luego, el crisol que contenía las cenizas se secó en un desecador antes de ser pesado. Finalmente, se determinó el valor de SSV a través de la diferencia de peso según la *ecuación 4*.

$$SSV (g/L) = \frac{(G - H)}{L \text{ de la muestra}} \text{ (Ecuación 4)}$$

Donde; G, indican el peso de la muestra seca más el filtro, mientras que, H indica el peso de las cenizas más el filtro.

#### **2.2.2.5. Determinación de metales pesados**

La determinación de cadmio y de plomo fue realizada utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica con horno de grafito (EAA). Antes de la medición, las muestras que fueron almacenadas en botellas acidificadas fueron digeridas según el protocolo *Standard Methods Ed. 23 3030 D* con ayuda de un digestor de microondas Ethos Up

(Baird et al., 2017). Este protocolo consistió en colocar 45 ml de la muestra y 5 ml de ácido nítrico concentrado, con ello se digirió por 1 hora en el microondas. Posterior a esto, se retiraron las muestras y fueron aforadas a 100 mL. Por último, se almacenaron en botellas ámbar de 250 ml para ser analizadas (Baird et al., 2017).

El espectrofotómetro fue calibrado tomando en cuenta la temperatura y longitud de onda sugeridas para cada metal de acuerdo con el *Analytical Cookbook PG Instruments del Espectrofotómetro de Absorción Atómica AA500 (Tabla 8)*. La medición de las muestras se basó en una curva de calibración de concentración que emplea estándares preparados a partir de una solución stock (PG instruments, 2021). El protocolo consistió en colocar 3 mL de la muestra en viales correspondientes al equipo, se realizó el análisis de las muestras en el equipo y se registró el valor de la concentración, así como el de la desviación estándar.

**Tabla 8.**

*Condiciones empleadas para la determinación de Cd y Pb*

<b>Metal</b>	<b>Longitud de onda (nm)</b>	<b>Rango óptimo de concentración</b>	<b>Límite de detección (pg/mL)</b>
<b>Cadmio (Cd)</b>	228.8	0.19 – 6.0	0.25
<b>Plomo (Pb)</b>	283.3	1.00 – 100.0	3.88

#### **2.2.2.6. Demanda química de oxígeno (DQO)**

La medición de la DQO se efectuó con un fotómetro multiparamétrico Hanna HI 83399 en el Laboratorio 1.4 “Análisis Medio Ambiente”, de la Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo UODIDE-ICIA. La muestra residual de agua fue procesada para su digestión en combinación con un blanco que consistía en agua desionizada. Se tomó 2,5 mL de la muestra a analizar, 1,5 mL de solución digestora y 3,5 mL de ácido sulfúrico concentrado se mezclaron varias veces y se dejaron en un digestor de bloque a una temperatura de 150 °C por 2 horas. Finalmente, se permitió que se enfriara a temperatura ambiente y se midió la absorbancia a 610 nm tanto del blanco como de la muestra en tres ocasiones. (Burakov et al., 2018). El valor de la absorbancia fue reemplazado en la ecuación de la recta de calibración *ecuación 5*.



$$DQO \text{ (mg/L)} = 1506.3 * (\text{Absorbancia}) - 1.6839 \quad (\text{Ecuación 5})$$

### 2.2.2.7. Demanda bioquímica de oxígeno (DBO)

La determinación de la demanda bioquímica de oxígeno en el día 5 fue medida con el equipo OxiTop en el Laboratorio 1.4 “Análisis Medio Ambiente”, de la Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo UODIDE-ICIA. De acuerdo con **Vardhan et al. (2019)**, el volumen del agua residual que debe ser colocado en la botella OxiTop varía según el valor referencial al valor de la DQO como se visualiza en la *Tabla 9*.

**Tabla 9.**

*Volúmenes teóricos para la muestra en función al rango de DQO*

Rango de medición (DQO)	Volumen de la muestra (mL)	Factor de multiplicación
0 – 40	432	1
0 – 80	365	2
0 – 200	250	5
0 – 400	164	10
0 – 800	97	20
0 – 2000	43.5	50
0 – 4000	22.7	100

*Fuente. (Vardhan et al., 2019).*

El protocolo consistió en colocar el volumen de la muestra en las botellas ámbar, así como, 2 perlas de hidróxido de sodio en la tapa para luego realizar un cierre hermético. Finalmente, el equipo OxiTop se colocó dentro de una incubadora a 20 °C por 5 días con agitación lenta. El valor de la DBO registrado al día 5 se multiplicó por el factor para obtener el valor de la DBO real.

### 2.2.3. Ensayos de toxicidad bacteriana

Los efectos inhibitorios de cadmio y de plomo sobre el consumo de oxígeno en la degradación de materia orgánica fueron evaluados mediante un análisis respirométrico

que utiliza un equipo OxiTop, en el Laboratorio 1.4 “Análisis Medio Ambiente”, de la Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo UODIDE-ICIA. Los ensayos respirométricos fueron realizados por duplicado junto con sus controles.

Para evaluar el cadmio se empleó nitrato de cadmio (II) tetrahidratado, ( $\text{CdCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), mientras que para el plomo se empleó con nitrato de plomo (II), ( $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ), estas sales fueron disueltas en el licor mezcla del tratamiento secundario y así se alcanzó las concentraciones requeridas para este proyecto que se presenta en la *Tabla 10*.

**Tabla 10.**

*Concentraciones de cadmio y plomo que se añadieron para ensayos de inhibición*

	Concentración de metales ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )				
	Control*	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	Ensayo 4
Cd	-	50	250	1000	2000
Pb	-	250	500	750	1000

*Nota:* (\*) Se refiere a la muestra de agua residual del licor mezcla del tratamiento secundario sin añadir ninguna concentración de los metales.

El valor de la concentración en el ensayo 1 para ambos metales fue considerado a partir de estudios previos de inhibición (Çeçen et al., 2010; Liu et al., 2021; Malamis et al., 2012). Mientras que, los valores de los ensayos 2, 3 y 4 fueron propuestos de acuerdo con la inhibición que se hallaba experimentalmente en la presente investigación.

### **2.2.3.1. Determinación de la tasa de consumo de oxígeno**

El protocolo de análisis para cada ensayo de los diferentes metales se basó en la medición de la DBO durante 5 días con el equipo OxiTop. El primer paso consistió en utilizar 43.5 mL del agua residual del licor mezcla, el cual era enriquecido 24 horas previo a su utilización con  $424 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de glucosa,  $28.06 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de fosfato monopotásico y  $75.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de cloruro de amonio. Luego, el volumen sugerido de la muestra se colocaba en la botella del equipo OxiTop, seguido de esto, se alcanzó la concentración de cada metal de acuerdo con el ensayo *Tabla 10*. Posteriormente, se añadió un agitador y de manera similar en su cápsula de goma se colocó 2 perlas de hidróxido de sodio, para así realizar un cierre hermético con sus cabezales medidores. Finalmente, el equipo OxiTop se colocó en su bandeja agitadora dentro de una

incubadora a 20 °C. Para determinar que la degradación aeróbica en la muestra se desarrolle de manera análoga se registró el valor de la DBO por los siguientes 5 días, estos valores se multiplicaron por el factor de multiplicación (50) (*Tabla 9*) para obtener el valor de la DBO real.

Con los datos obtenidos de los análisis respirométricos, se realizó curvas experimentales que relacionan el tiempo en días (*eje x*) y los valores de la DBO obtenidos en  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (*eje y*). Con estos datos se logró obtener la ecuación de la recta para cada gráfica respecto a cada ensayo; en donde la pendiente (*r*) representó la tasa de consumo de oxígeno (OUR, *oxygen uptake rate*). La OUR es una medida de la cantidad de oxígeno consumido por un sistema biológico en un período de tiempo y se puede representar en unidades de miligramos de oxígeno por litro de agua por día ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ).

$$r_{metal} = \left( \frac{d DBO_t}{dt} \right)_{control}$$

La actividad máxima de degradación (AMD) se refiere a la capacidad y velocidad con la que los microorganismos pueden descomponer los contaminantes orgánicos presentes en el agua residual. El porcentaje de AMD se calculó a través de la *ecuación 6*, al dividir la tasa de consumo de oxígeno de cada ensayo ( $r\_DBO_{metal}$ ) para la tasa de consumo de oxígeno del control ( $r\_DBO_{control}$ ) obtenidas con anterioridad.

$$\% \text{ actividad de degradación} = \left( \frac{r\_DBO_{metal}}{r\_DBO_{control}} \right) * 100 \quad (\text{Ecuación 6})$$

Posterior a esto, para conocer el efecto de los metales sobre la tasa de consumo de oxígeno en la degradación de materia orgánica del agua residual se graficó las concentraciones de los ensayos de cada metal (*eje x*), con relación a las tasas de consumo de oxígeno y a la actividad máxima de degradación (*eje y*).

### **2.2.3.2. Cálculo del índice de inhibición**

La determinación del efecto inhibitorio de los metales pesados sobre el consumo de oxígeno en la degradación de materia orgánica del agua residual por parte de bacterias aerobias se realizó mediante el porcentaje de inhibición (*ecuación 7*), este cálculo se basó a través de las tasas de consumo de oxígeno de los diferentes ensayos

( $r_{DBO_{metal}}$ ) y la pendiente del control ( $r_{DBO_{control}}$ ) de las curvas de degradación (Aguilar et al., 2020).

$$Inhibición \% = \left(1 - \frac{r_{DBO_{metal}}}{r_{DBO_{control}}}\right) * 100 \quad (Ecuación 7)$$

Los valores de la concentración inhibitoria (IC) se calcularon mediante interpolación de datos de dos puntos,  $(x_0, y_0)$  y  $(x_1, y_1)$ , que relaciona la concentración del metal ( $y$ ) en función de la pendiente del metal ( $x$ ), según la ecuación 8.

$$y = y_0 + \frac{y_1 - y_0}{x_1 - x_0} (x - x_0) \quad (Ecuación 8)$$

Esto permitió determinar a qué concentración de cadmio y de plomo disminuye la actividad en un 20% (IC<sub>20</sub>), 50% (IC<sub>50</sub>) y 80% (IC<sub>80</sub>) respecto a la actividad de los ensayos control (ensayos sin adición de cadmio y de plomo).

### 2.3. Hipótesis

#### **Hipótesis nula (H<sub>0</sub>):**

La adición de concentraciones superiores a 50 mg·L<sup>-1</sup> de Cd o 250 mg·L<sup>-1</sup> de Pb no tienen un efecto inhibitorio sobre la respiración aeróbica de microorganismos heterotróficos en la degradación de la materia orgánica del agua residual urbana de la ciudad de Ambato.

#### **Hipótesis alternativa (H<sub>1</sub>):**

La adición de concentraciones superiores a 50 mg·L<sup>-1</sup> de Cd o 250 mg·L<sup>-1</sup> de Pb tienen un efecto inhibitorio sobre la respiración aeróbica de microorganismos heterotróficos en la degradación de la materia orgánica del agua residual urbana de la ciudad de Ambato.

## CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. Análisis y discusión de los resultados

#### 3.1.1. Caracterización del agua residual

En la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Ambato (PTAR-Ambato) se realiza el saneamiento de las aguas residuales urbanas de la ciudad a través de una combinación de varios procesos (físicos, químicos y biológicos) para eliminar los contaminantes (Montero et al. 2021). En la *Tabla 11*, se visualiza los valores determinados de pH, temperatura, conductividad, turbidez, iones no metálicos, sólidos totales, DQO y DBO<sub>5</sub>. Estos valores corresponden a tres diferentes puntos del agua residual del tratamiento secundario de la PTAR-Ambato; tanque de mezcla del efluente clarificado del tratamiento primario (ECTP), el licor mezcla (LM) y el tanque de biosólidos de recirculación (TBR). Además, se indican los límites máximos permisibles de descarga al sistema de alcantarillado público establecidos en la legislación ecuatoriana en el Anexo I del Libro VI del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Medio Ambiente del Ministerio del Ambiente (Ministerio del Ambiente, 2015).

**Tabla 11.**

*Resultados obtenidos de la caracterización del agua residual de la PTAR-Ambato*

Parámetro	Efluente clarificado del reactor primario	Tratamiento secundario		Límite máximo permisible
		Licor mezcla	Recirculación de biosólidos	
pH	7.84 ± 0.02	7.35 ± 0.02	7.20 ± 0.05	6 - 9
Temperatura (°C)	17.62 ± 0.04	17.79 ± 0.01	17.52 ± 0.10	< 40 °C
Oxígeno disuelto (mg·L <sup>-1</sup> )	2.48 ± 0.1	4.20 ± 0.01	3.09 ± 0.02	
Conductividad (μS·cm <sup>-1</sup> )	770 ± 8	645 ± 1	689 ± 2	500 – 1500 μS·cm <sup>-1</sup>
Turbidez (NTU)	32 ± 2	173 ± 1	172 ± 1	< 20 NTU
Fosfato (mg·L <sup>-1</sup> )	5.53 ± 0.20	9.40 ± 0.10	8.27 ± 0.20	-
Amonio (mg·L <sup>-1</sup> )	29.97 ± 0.18	35.30 ± 0.01	25.30 ± 0.03	-
Nitrato (mg·L <sup>-1</sup> )	5.4 ± 0.1	7.0 ± 0.1	4.8 ± 0.1	-

Parámetro	Efluente	Reactor secundario		Límite máximo permisible
	clarificado del reactor primario	Licor mezcla	Recirculación de biosólidos	
Sulfato (mg·L <sup>-1</sup> )	47.33 ± 0.60	42.67 ± 0.60	32.67 ± 0.60	400 mg·L <sup>-1</sup>
Cloruro (mg·L <sup>-1</sup> )	15.33 ± 0.20	55.33 ± 0.20	35.33 ± 0.20	1000 mg·L <sup>-1</sup>
ST (mg·L <sup>-1</sup> )	503 ± 35	1970 ± 36	2320 ± 50	1600 mg·L <sup>-1</sup>
SV (mg·L <sup>-1</sup> )	263 ± 31	887 ± 40	1060 ± 46	-
SST (mg·L <sup>-1</sup> )	133 ± 29	1146 ± 35	1596 ± 31	220 mg·L <sup>-1</sup>
SSV (mg·L <sup>-1</sup> )	98 ± 8	552 ± 16	729 ± 18	-
Cadmio (µg·L <sup>-1</sup> )	4.354 ± 0.006	5.474 ± 0.006	3.944 ± 0.002	20 µg·L <sup>-1</sup>
Plomo (µg·L <sup>-1</sup> )	64.970 ± 0.012	38.747 ± 0.014	13.848 ± 0.007	500 µg·L <sup>-1</sup>
DQO (mg·L <sup>-1</sup> )	480 ± 45	2298 ± 47	2447 ± 44	500 mg·L <sup>-1</sup>
DQOs(mg·L <sup>-1</sup> )	44 ± 5	92 ± 3	103 ± 2	-
DBO <sub>5</sub> (mg·L <sup>-1</sup> )	243 ± 15	1150 ± 50	1250 ± 50	250 mg·L <sup>-1</sup>

*Nota.* Se presenta el promedio de tres mediciones junto con la desviación estándar de la caracterización del agua residual del reactor secundario de la PTAR-Ambato. Los datos corresponden a tres diferentes puntos de toma de muestra; efluente clarificado del reactor primario, licor mezcla y recirculación de biosólidos. Además, se representa el límite máximo permisible de descarga al sistema de alcantarillado público de algunos parámetros establecido en el Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio de Ambiente Libro VI Anexo 6 en la Tabla 8 (*Anexo B. Tabla 13*).

Las condiciones físicas y químicas del agua residual deben ser favorables para permitir la actividad de los microorganismos encargados de la degradación de los contaminantes presentes en las aguas residuales (**Metcalf & Eddy 2014**). En la *tabla 11*, las mediciones de pH para los puntos ECTP, LM y TBR fueron de  $7.84 \pm 0.02$ ,  $7.35 \pm 0.02$  y  $7.20 \pm 0.05$ , respectivamente. Valores que se encuentran dentro del rango permisible (6 a 9), por ende, se consideran que la actividad de los microorganismos en esta etapa es eficiente; en caso de encontrarse fuera de estos valores, el pH afecta la solubilidad, así como la disponibilidad de ciertos nutrientes y contaminantes, en ciertos casos puede promover la formación de espuma lo que afectaría el funcionamiento en el sistema (**Vasistha & Ganguly, 2020**).

Otro parámetro para tomar en cuenta es la temperatura, dado a que puede afectar la solubilidad de gases y sales en el agua, lo que repercute en la concentración de oxígeno

disuelto y el pH del agua (**Zhang et al., 2020**). También influye sobre la velocidad de descomposición de materia orgánica y crecimiento del consorcio bacteriano, de manera que en caso de sobrepasar el límite de 40 °C disminuye la actividad metabólica de los microorganismos y con ello la demanda de oxígeno (**Hart & Halden, 2020**). Según los resultados obtenidos del ECTP, LM y TBR de  $17.62 \pm 0.04$ ,  $17.79 \pm 0.01$  y  $17.52 \pm 0.10$  °C respectivamente, mismos que se encuentran en el rango óptimo de la legislación ecuatoriana.

El oxígeno disuelto es una de las principales preocupaciones en el control de procesos biológicos, ya que es necesario para la supervivencia y el crecimiento de bacterias aeróbicas (**Tan & Ng, 2008**). Durante la etapa de oxidación biológica, los microorganismos utilizan el oxígeno para oxidar los contaminantes orgánicos (**Wang et al., 2020**). Si existiera una falta de oxígeno, la actividad metabólica de los microorganismos se verá afectada y la eficiencia del tratamiento puede disminuir. Los resultados obtenidos del ECTP, LM y TBR fueron de  $4.20 \pm 0.01$ ,  $2.48 \pm 0.1$  y  $3.09 \pm 0.02$  mg O<sub>2</sub>·L<sup>-1</sup>, respectivamente. Estos valores son aceptables, ya que en un tanque de aireación la concentración debe estar en un rango de 1.5 a 2 mg/L, pero en ocasiones puede ser de 2 a 4 mg/L (**Metcalf & Eddy 2014**).

En el contexto de aguas residuales, la conductividad puede ser utilizada como una medida indirecta de la concentración de iones en el reactor biológico, puede variar dependiendo de la cantidad y tipo de contaminantes presentes en el agua (**Ajala & Alexander, 2020**). Por lo general, se espera que la conductividad se encuentre en un rango de 500 – 1500 μS·cm<sup>-1</sup>. De acuerdo con los resultados obtenidos del ECTP, LM y TBR que fueron de  $770 \pm 8$ ,  $645 \pm 1$  y  $689 \pm 2.6$  μS·cm<sup>-1</sup>, respectivamente, estos valores se encuentran dentro del rango óptimo. Sin embargo, la variación entre los tres puntos se debe a que la conductividad disminuye a medida que el agua se somete al tratamiento, ya que se espera que los procesos de depuración eliminen la mayoría de los contaminantes presentes (**Lourinho & Brito, 2020**).

Los iones no metálicos determinados en el tratamiento biológico fueron el fosfato, amonio, nitrato, sulfato y cloruro. Las concentraciones de fosfato del ECTP, LM y TBR fueron de  $5.5 \pm 0.2$ ,  $9.4 \pm 0.1$  y  $8.3 \pm 0.2$  mg PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>·L<sup>-1</sup>, estos valores se encuentran dentro del rango bajo y medio establecidas por **López et al. (2008)**. En donde se

menciona la composición típica de fosfato en aguas residuales municipales crudas cuyo valor se encuentra entre 4 a 10 mg  $\text{PO}_4^{3-}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Refiriéndose al libro de **Metcalf & Eddy (2014)**, con el nombre “*Wastewater Engineering Treatment and Resource Recovery*”, se menciona la composición típica de algunos parámetros del agua residual municipal que no son establecidos por la legislación ecuatoriana (*Anexo B. Tabla 14*). En el caso del ion amonio, el ECTP y TBR presentó concentraciones de  $28.97 \pm 0.18$  y  $25.30 \pm 0.03$  mg  $\text{NH}_4^+\cdot\text{L}^{-1}$ . En correspondencia a **Metcalf & Eddy (2014)**, estos valores se encuentran en un rango de concentración medio y alto (20 - 41 mg  $\text{NH}_4^+\cdot\text{L}^{-1}$ ). La concentración del licor mezcla fue de  $35.30 \pm 0.01$  mg  $\text{NH}_4^+\cdot\text{L}^{-1}$  cercana con el valor límite. Si el valor de amonio excediera el límite puede afectar la composición y la estructura de las comunidades bacterianas (**Lourinho & Brito, 2020**). Uno de los factores a controlar es la disponibilidad de oxígeno, ya que, si es insuficiente, las bacterias nitrificantes no pueden llevar a cabo la nitrificación, por ende, el amonio se acumularía en el sistema (**Moyola, 2018**).

Según **Metcalf & Eddy, (2014)**, la concentración típica del ion nitrato en el agua residual debe ser nula (0 mg  $\text{NO}_3^-\cdot\text{L}^{-1}$ ), sin embargo, en los valores registrados en el ECTP, LM y TBR fueron de  $5.4 \pm 0.1$ ;  $7.0 \pm 0.1$  y  $4.8 \pm 0.1$  mg  $\text{NO}_3^-\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente. La alta concentración de este ion probablemente se debe a la presencia de gran cantidad de desechos orgánicos e inorgánicos provenientes de procesos industriales (**Ajala & Alexander, 2020**). Otra de las razones se debe a que se está dando un proceso de nitrificación (**Layer et al., 2020**). Se ha observado que, en la degradación de compuestos orgánicos, las tasas de nitrificación aumentan con concentraciones de oxígeno disuelto (OD) de 3 a 4 mg $\cdot\text{L}^{-1}$ , lo cual esta alineado con los valores determinados previamente (**Metcalf & Eddy, 2014**). Y al existir una alta concentración de amonio (cerca al rango alto), puede estar superando la capacidad de las bacterias nitrificantes, con lo que, se puede acumular el nitrato en niveles elevados (**Paśmionka et al., 2021**).

Las concentraciones del ion cloruro en el ECTP, LM y TBR fueron de  $15.33 \pm 0.21$ ,  $55.33 \pm 0.21$  y  $35.33 \pm 0.2$  mg  $\text{Cl}^-\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente, estos valores se hallan dentro de los límites permisibles (1000 mg  $\text{Cl}^-\cdot\text{L}^{-1}$ ) establecido por la legislación ecuatoriana. De igual manera, los valores del ion sulfato se encuentran menores al límite máximo



( $400 \text{ mg SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ ) ya que, los datos registrados en el ECTP, LM y TBR fueron de  $47.3 \pm 0.6$ ,  $42.7 \pm 0.6$  y  $32.7 \pm 0.6 \text{ mg SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectivamente. En un reactor biológico de tratamiento de aguas residuales, el exceso de cloruro y sulfato pueden influir negativamente en el tratamiento biológico (**Lourinho & Brito, 2020**).

Respecto a la turbidez su principal efecto negativo es sobre los sistemas biológico, por ejemplo, las partículas pueden ocultar la presencia de contaminantes o de microorganismos evitando su eliminación. Por otra parte, también tiene efectos estéticos como puede ser el olor y el color (**Azimi et al., 2019**). Estos valores fueron bastante elevados en el LM y TBR llegando a valores de  $173 \pm 1$  y  $172 \pm 1 \text{ NTU}$ , esto debido a que en ambos tanques existe una gran cantidad de materia orgánica y bacterias encargadas de su degradación. Por otro lado, en el ECTP la turbidez llega a un valor de  $32 \pm 2 \text{ NTU}$ , esto se debe a que el agua es proveniente de un proceso de decantación, en el cual se elimina varios contaminantes sólidos, pero no su totalidad. Por lo que, es un valor que se encuentra muy por encima del límite máximo de  $20 \text{ NTU}$ .

Relacionado con el anterior parámetro se puede nombrar a los diferentes sólidos como son los ST, SV, SST y SSV. Los resultados obtenidos de los ST y SST del ECTP fueron de  $503 \pm 3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  y  $133 \pm 29 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectivamente, valores que se encontraron dentro del límite máximo establecido por la legislación ecuatoriana ( $1600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  y  $220 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectivamente). Sin embargo, los valores en el LM y TBR son bastante altos, para ST ( $1970 \pm 36 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  y  $2320 \pm 50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectivamente) y en SST ( $1146 \pm 35 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  y  $1596 \pm 31 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectivamente). De manera que exceden el límite, lo que señalan una elevada concentración de sedimentos, siendo un indicador de una elevada contaminación o a la presencia de la biomasa viva y muerta del reactor biológico (**Mullins et al., 2018**). Los resultados de SV y SSV en el ECTP fueron de  $263 \pm 31 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  y  $98 \pm 8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectivamente. Aunque la legislación ecuatoriana no establece un límite para los SV y SSV, **Metcalf & Eddy, (2014)**, indica que estos valores de SV y SSV se encuentran dentro del límite de concentración ( $449 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  y  $304 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectivamente). Mientras que los elevados valores de SV y SSV en el LM y del TBS señalan la presencia de compuestos orgánicos volátiles, como los hidrocarburos, sugiriendo contaminación por la industria, la agricultura o la minería (**da Ros et al., 2020; Frascari et al., 2019**).

Al evaluar la calidad del agua residual es relevante conocer la contaminación por metales, en el presente estudio se tomó en cuenta el contenido de cadmio y plomo. Los valores en el ECTP, LM y TBR fueron de  $4.354 \pm 0.006$ ,  $5.474 \pm 0.006$  y  $3.944 \pm 0.002 \mu\text{g Cd}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente, mientras que para plomo  $64.97 \pm 0.01$ ,  $38.75 \pm 0.01$  y  $13.848 \pm 0.007 \mu\text{g Pb}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente. Estos resultados fueron considerablemente bajos y cumplen con los límites máximos permisibles de  $20 \mu\text{g Cd}\cdot\text{L}^{-1}$  y de  $500 \mu\text{g Pb}\cdot\text{L}^{-1}$ . Estos resultados son bastante favorables para la calidad del agua residual dado que en mayores cantidades perjudican el consorcio bacteriano, debido a que el cadmio es considerado como tóxico y puede inhibir el crecimiento y la actividad de las bacterias, mientras que el plomo puede afectar la composición y la estructura de la comunidad bacteriana en el reactor biológico (**Altowayti et al., 2021; Rodríguez et al., 2018; Shrestha et al., 2021**).

La concentración de DQO total en el efluente clarificado fue de  $480 \pm 45 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , este valor si cumple el límite permisible de  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , estipulado en la normativa legislativa. Sin embargo, las concentraciones en el licor mezcla, así como en el tanque de recirculación fueron de  $2298 \pm 47 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $2447 \pm 44 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  respectivamente, estos valores sobrepasan el límite establecido. Según **Metcalf & Eddy (2014)**, el elevado valor de la DQO en un reactor biológico puede darse debido a varias razones, como una sobrecarga de materia orgánica en el sistema, una falta de oxígeno disponible para los microorganismos, o un exceso de microorganismos que consumen oxígeno. Un comportamiento similar se detectó en la DQO soluble del LM y TBR con valores de  $92 \pm 3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $103 \pm 2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente. La presencia de DQO soluble en altas concentraciones en aguas residuales municipales sugiere que hay una gran cantidad de materia orgánica que es biodegradable (**Mullins et al., 2018**).

Finalmente, la  $\text{DBO}_5$  en el ECTP presentó una concentración de  $243 \pm 15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , valor que se encuentra dentro del límite máximo permisible por la ley establecida por la legislación ecuatoriana, sin embargo, las concentraciones del LM y TBR fueron de  $1150 \pm 50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $1250 \pm 50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente, superando notablemente el límite máximo permisible. Estos altos valores indican que hay gran cantidad de materia orgánica biodegradable, esto debido a una sobrecarga en el sistema ya que se recibe una cantidad excesiva de aguas residuales, otra de las razones es la falta de oxígeno (**Popek, 2018; Silveira et al., 2019**).

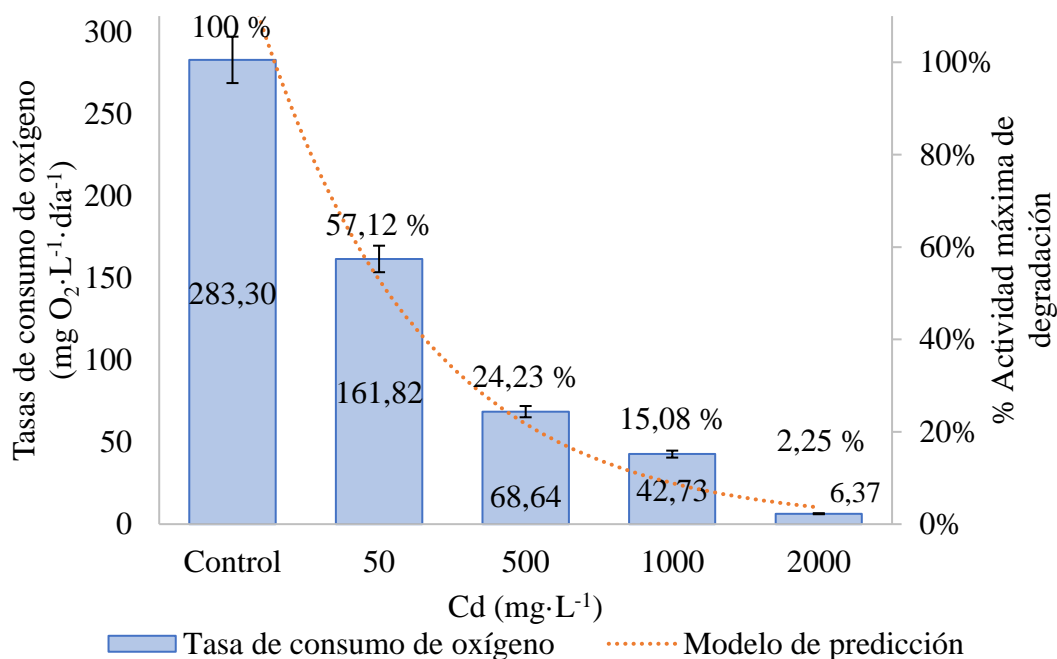
### 3.1.2. Evaluación de la tasa de consumo de oxígeno en función a la adición de concentraciones de cadmio y de plomo

Para evaluar el consumo de oxígeno en función de la adición de cadmio y plomo por parte de bacterias aeróbicas del agua residual del licor mezcla de la PTAR-Ambato se realizaron ensayos respirométricos en función a la DBO en el transcurso de 5 días a diferentes concentraciones de los metales. Las tasas de consumo de oxígeno (OUR) se refiere a la cantidad de oxígeno utilizada por microorganismos en un período de tiempo específico, el cual fue determinado en base a las curvas de los ensayos de DBO (*Anexo C. Figura 8 y 9*). Además, este parámetro es un indicador teórico que permite caracterizar las actividades metabólicas en los sistemas biológicos del tratamiento de aguas residuales (**Du et al., 2019**).

De acuerdo con la *figura 3*, se evidencia claramente como las tasas de consumo de oxígeno disminuyen en función al aumento de la concentración de cadmio en relación con el control experimental, el cual no contiene adición del metal. El control presentó una OUR de 283.30 mg O<sub>2</sub>·L<sup>-1</sup>·día<sup>-1</sup>, lo cual indica el 100% de la actividad máxima específica de degradación (AMD). Sin embargo, a concentraciones de 50, 500, 1000 y 2000 mg Cd·L<sup>-1</sup> se registró una disminución en los valores de la OUR de 161.8 a 26.37 mg O<sub>2</sub>·L<sup>-1</sup>·día<sup>-1</sup>. Esto significa que los microorganismos son menos capaces de descomponer la materia orgánica ante la presencia de altas concentraciones de metales pesados (**Elawwad et al., 2019**). Al mismo tiempo, en la *figura 3*, se refleja una depreciación de la actividad específica de degradación del 100% al 2.25%. Por consiguiente, el Cd presenta efectos tóxicos en los ensayos, como resultado, el consumo de oxígeno por parte de los microorganismos disminuye. Según **Lu et al. (2020)**, la toxicidad del metal provoca que se suprima la actividad metabólica del consorcio bacteriano presente en el agua residual del reactor biológico.

**Figura 3.**

*Tasa de consumo de oxígeno del agua residual a diferentes concentraciones de cadmio*



*Nota.* A través de análisis respirométricos se representa la tasa consumo de oxígeno (expresado en mg O<sub>2</sub>·L<sup>-1</sup>·día<sup>-1</sup>), por parte de las bacterias aeróbicas presentes en el agua residual del licor mezcla en función a diferentes concentraciones de cadmio. Las tasas de consumo de oxígeno fueron de 283.30, 161.82, 68.64, 42.73 y 6.37 mg O<sub>2</sub>·L<sup>-1</sup>·día<sup>-1</sup>, para el control y los ensayos de 50, 500, 1000 y 2000 mg Cd·L<sup>-1</sup>, respectivamente. Además, se grafica el porcentaje de la actividad máxima de degradación con respecto al control, así como, el modelo de predicción de la degradación a la adición de cadmio.

De acuerdo con **Gui et al. (2017)**, la eliminación de contaminantes en el reactor biológico depende de las actividades microbianas, por ende, al existir una elevada concentración de metales, menor son las actividades de degradación de los microorganismos. Esto se evidencia cuando se utilizó la mayor concentración del metal (2000 mg Cd·L<sup>-1</sup>), el porcentaje de AMD se redujo al 2.25%. Estudios previos reportan que las interacciones metal-bacteria dan lugar a una inhibición o incluso la muerte del consorcio bacteriano (**Ilmasari et al., 2022; Yang et al., 2020**).

**Roane et al. (2015)**, sostiene que la inhibición por parte de los iones metálicos se genera través de diferentes mecanismos, por ejemplo, el cadmio puede desplazar iones esenciales (como zinc y manganeso) en ciertos sitios de unión a enzimas, debido a que los iones poseen cargas y tamaños similares. En el estudio de **Grazioso et al. (2020)**, se evidenció que el cadmio tiene la capacidad de reemplazar al zinc en una proteína específica relacionada con del ADN, ya que, es susceptible a este ion metálico durante el plegado de la proteína, por lo tanto, el cambio de este ion puede ejercer la toxicidad. Otro de los mecanismos, se debe a que el cadmio puede unirse a ciertos grupos funcionales de algunas proteínas (grupos sulfhídrico) lo que causa cambios en la estructura o alteraciones en sus funciones (**Grazioso et al., 2020**). De igual manera, en ácidos nucleicos se puede unir al grupo fosfato o hidroxilo de las bases, induciendo roturas del ADN monocatenario (**Roane et al., 2015**).

El cadmio también tiene la capacidad de atravesar la membrana citoplasmática a través de una vía de transporte de manganeso, lo que provoca daños en la membrana celular y genera una disminución en la viabilidad bacteriana (**Ruan et al., 2022**). Por otro lado, **Chen et al. (2014)**, han revelado que el cadmio inhibe la actividad del tratamiento biológico, debido a que afecta las transformaciones de polihidroxicanoatos (polímeros intracelulares utilizado como material de reserva de carbono y energía) y de glucógeno lo que podría ser la razón principal en la inhibición del consorcio bacteriano.

A nivel del consorcio microbiano, se ha observado que los iones metálicos pueden tener un impacto negativo en la diversidad microbiana (**Du et al., 2019**). En respuesta a la toxicidad de los metales, el número total de miembros del consorcio, así como su diversidad pueden disminuir. **Lu et al. (2020)**, evaluaron los efectos de los iones metálicos (Cd, Pb, Cr y Cu) en los perfiles de la comunidad microbiana y concluyeron que a un rango de concentración de 0 a 20 mg Cd·L<sup>-1</sup>, es evidente una alteración en las estructuras bacterianas e inhibición de la actividad de degradación de ciertos componentes orgánicos. De igual manera, **Zhang et al. (2019)**, encontraron que las tasas de degradación del consorcio bacteriano se redujeron a un 60% en las concentraciones crecientes de 0 a 40 mg Cd·L<sup>-1</sup>.

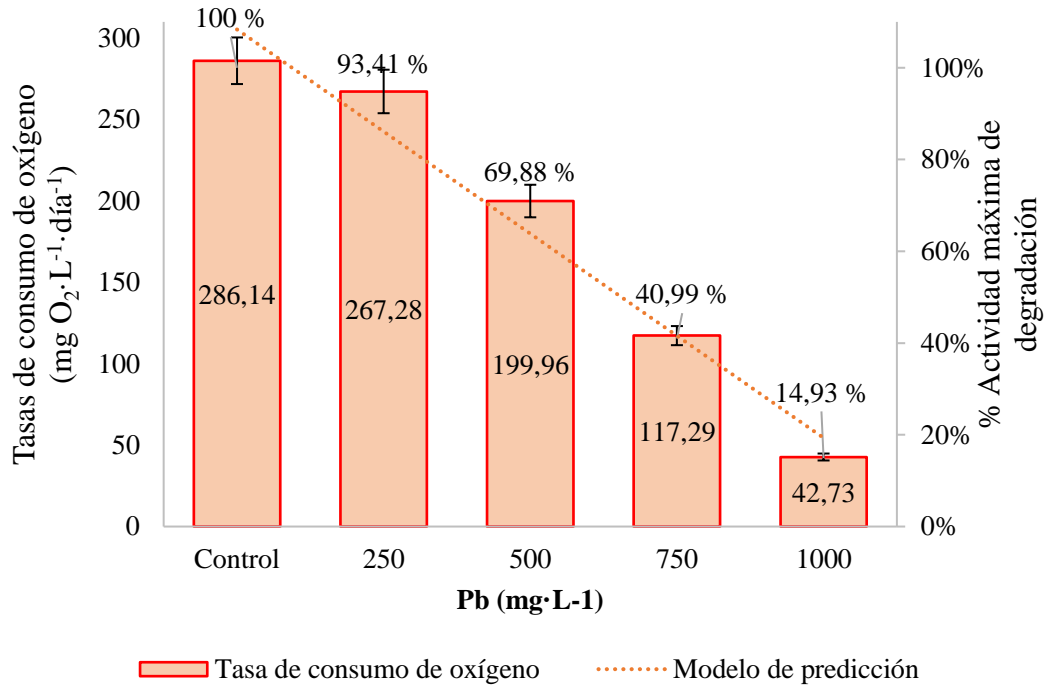
Con relación a estos valores, **Hernandez et al. (2018)**, recalcan que los valores literarios de inhibición para cadmio determinados por respirometría en lodo activados pueden encontrarse en ensayos que van desde 5 a 190 mg·L<sup>-1</sup>. En este estudio se presentó inhibición en ensayos de 50 a 2000 mg Cd·L<sup>-1</sup>, las cuales son concentraciones extremadamente elevadas en comparación con la literatura revisada. La razón de esta variada concentración se podría deber a la sensibilidad de los análisis realizados, las diferencias en las concentraciones de aguas residuales o a las propiedades bioasorbentes de la biomasa viva y muerta en de la comunidad bacteriana en el agua (**Grazioso et al., 2020**). Otro de los motivos es la edad de los lodos, que se refiere al tiempo que ha transcurrido desde que la comunidad bacteriana fue inoculada y comenzó a operar (**Ramalho, 2008**). Por ende, el consorcio bacteriano más antiguo ha tenido tiempo para desarrollar mecanismos de defensa y tolerancia contra los iones metálicos tóxicos como el cadmio (**Yang et al., 2020**).

Aunque hay pocos estudios que han abordado la tolerancia de las comunidades bacterianas al cadmio, hay que tener en cuenta que, ciertos microorganismos han evolucionado para emplear diferentes estrategias para resistir metales tóxicos como la reducción de metales, formación de quelatos metálicos, entre otras (**Roane et al., 2015**). En consecuencia, ya existen bacterias resistentes a este metal como *Alcaligenes eutrophus*, *Listeria* spp, *Pseudomonas putida*, *Staphylococcus aureus* entre otras especies (**Beltrán & Gómez, 2016**). Estos microorganismos han desarrollado cierto tipo de una ATPasa que bombea cadmio fuera del citoplasma utilizando la hidrólisis del ATP como fuente de energía. Otro mecanismo de resistencia es la unión del metal a metalotioneínas, cuya función principal es la desintoxicación de metales (**Govin et al., 2020**).

En la *figura 4*, de manera similar se evidencia la disminución de las tasas de consumo de oxígeno conforme se incrementa la concentración de plomo en relación con el control experimental, el cual no contiene adición del metal. En los resultados obtenidos, el control presenta una OUR de 286.14 mg O<sub>2</sub>·L<sup>-1</sup>·día<sup>-1</sup>, lo cual indica el 100% de la actividad de degradación. Sin embargo, a concentraciones de 250, 500, 750 y 1000 mg Pb·L<sup>-1</sup> se registró una disminución en los valores de la OUR de 267.28 hasta 45.46 mg O<sub>2</sub>·L<sup>-1</sup>·día<sup>-1</sup>.

**Figura 4.**

*Tasa de consumo de oxígeno del agua residual a diferentes concentraciones de plomo*



Nota. A través de análisis respirométricos se representa la tasa consumo se oxígeno (expresado como mg O<sub>2</sub>·L<sup>-1</sup>·día<sup>-1</sup>), por parte de las bacterias aeróbicas presentes en el tratamiento secundario en función a diferentes concentraciones de plomo. Las tasas de consumo de oxígeno de los ensayos fueron de 286.14, 267.28, 199.96, 117.29 y 42.73 a concentraciones de 250, 500, 750 y 1000 mg Pb·L<sup>-1</sup>, respectivamente. Con lo que se evidencia una disminución en relación con el control.

Según **López et al. (2008)**, la toxicidad puede ser de tipo crónico causada por concentraciones moderadas de compuestos tóxicos y tener un impacto negativo en el crecimiento y la supervivencia de las bacterias. La *figura 4* muestra cómo la actividad de degradación disminuye en relación con el aumento de la concentración de plomo, disminuyendo del 100% al 14.93%, lo que indica efectos de inhibición significativos en los ensayos. La inhibición del plomo a 250 mg Pb·L<sup>-1</sup> resultó ser moderada con respecto a la inhibición con 1000 mg Pb·L<sup>-1</sup>, el cual provoca un descenso significativo en la tasa de consumo de oxígeno de 267.28 a 42.73 mg O<sub>2</sub>·L<sup>-1</sup>·día<sup>-1</sup>. De acuerdo con **Tiquia (2018)**, la toxicidad no necesariamente significa que el consorcio bacteriano muere, pero sí que su actividad disminuirá. Esto se debe a que el plomo tiene la capacidad para sustituir iones esenciales presentes en sitios celulares, desnaturalizar

enzimas, dañar el ADN e inactivar sistemas de transporte de nutrientes. Como resultado afecta a la morfología y las funciones fisiológicas de los microorganismos presentes en los lodos activados (**Gidlow, 2015**).

La toxicidad del plomo se ha estudiado en reactores discontinuos, en los que se describe que con  $10.4 \text{ mg Pb}\cdot\text{L}^{-1}$  causa una inhibición del 50% en la actividad degradadora de bacterias heterótrofa del reactor biológico (**Cho et al., 2019**). De manera similar, el plomo a  $10 \text{ mg Pb}\cdot\text{L}^{-1}$  generó una inhibición de la actividad microbiana en un 38%, mientras que para concentraciones de plomo superiores a  $40 \text{ mg Pb}\cdot\text{L}^{-1}$  la inhibición fue superior al 89% (**Malamis et al., 2012**).

Los valores literarios de inhibición para plomo en el agua residual del tratamiento biológico se encuentran en ensayos que van desde  $1$  a  $50 \text{ mg Pb}\cdot\text{L}^{-1}$  (**Liu et al., 2019; Zare et al., 2015**). En el presente estudio se realizó ensayos de inhibición con ensayos a concentraciones crecientes de  $250$  a  $1000 \text{ mg Pb}\cdot\text{L}^{-1}$ , las cuales son concentraciones extremadamente elevadas. Probablemente esta diferencia se debe a que este ion metálico puede afectar la actividad de degradación dependiendo de las especies de microorganismos presentes en el reactor biológico. Puesto que puede inhibir a diferentes bacterias en diferente grado (**Gui et al. 2017; Yuan et al., 2015**). Según **Zare et al. (2015)**, varios géneros de bacterias son incapaces de adaptarse a la presencia del plomo entonces eventualmente desaparecen. Mientras que, algunas especies y géneros son más tolerantes al plomo, por lo tanto, tienen la capacidad de permanecer en el tratamiento biológico.

### **3.1.3. Índice de toxicidad de cadmio y de plomo**

Recientemente, se ha introducido el concepto de concentración inhibidora (IC) para caracterizar los efectos de metales sobre la inhibición de la actividad de sistemas biológicos (**Metcalf & Eddy, 2014**). En este estudio la inhibición de cadmio y de plomo sobre el licor mezcla del tratamiento biológico fue determinado por respirometría, en base a la adición de concentraciones de metales pesados (*Anexo C. Tabla 16 y 18*).

La adición de concentraciones tanto de cadmio como de plomo denota que produce un efecto tóxico sobre las bacterias aeróbicas, con ello una inhibición en los procesos de

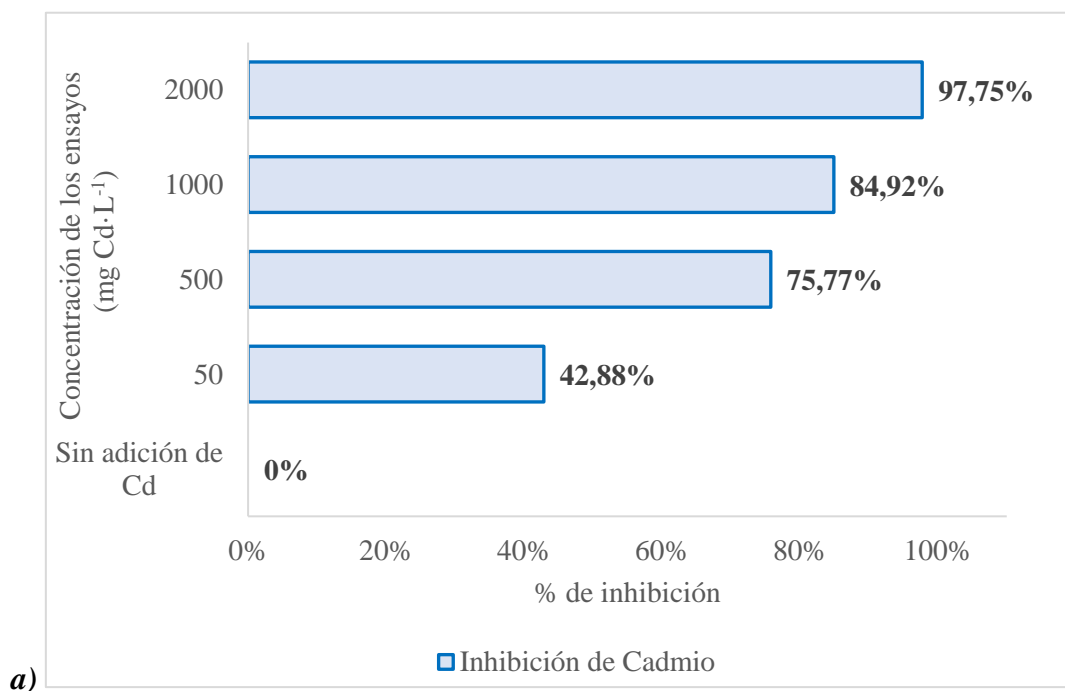


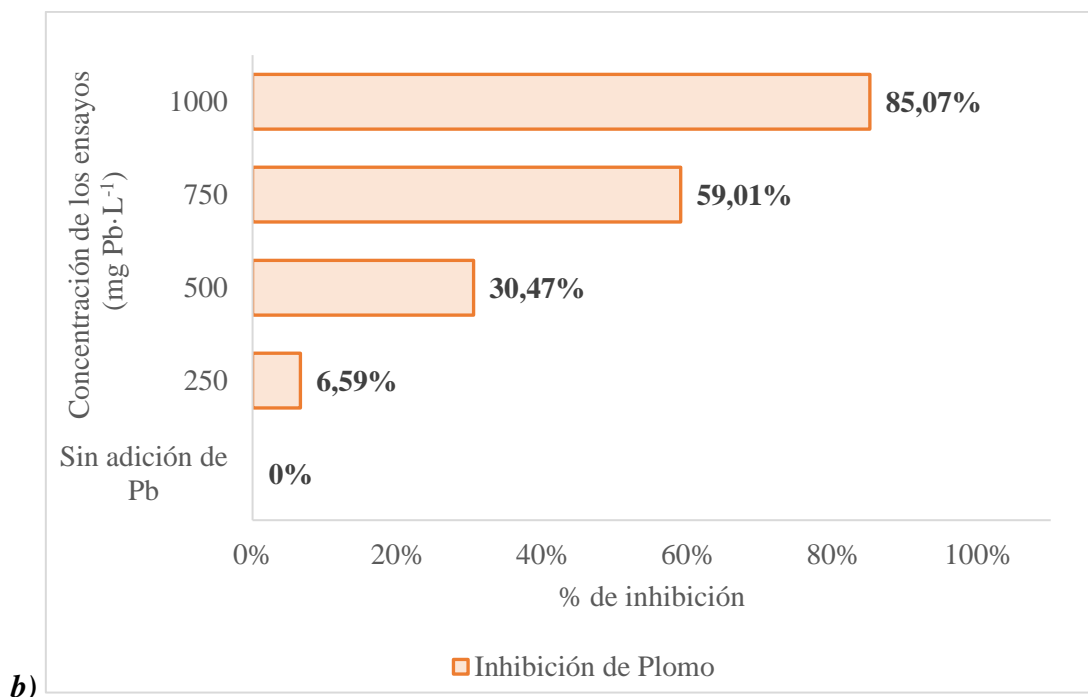
degradación de la materia orgánica. Esto se debe a que los iones metálicos pueden ingresar al metabolismo de las bacterias, lo que afecta las reacciones catabólicas o anabólicas (Hartmann et al., 2020). La afección en las reacciones catabólicas se da al reducir la tasa de respiración, con ello una disminución en la producción de energía, en consecuencia, reducción en la tasa de crecimiento (Böger et al., 2021). Por otro lado, al inhibir las vías anabólicas, se reduce la tasa de crecimiento del consorcio bacteriano, lo que afecta la tasa de respiración, debido a que se reduce la necesidad de energía. Esto demuestra que, al existir un efecto tóxico, la inhibición afecta la tasa de respiración y/o de la tasa de biodegradación (Buaisa et al., 2021; Hartmann et al., 2020).

En la *figura 5*, se muestra claramente la inhibición en la degradación de la materia orgánica presente en el licor mezcla en función al incremento de la concentración del cadmio y de plomo.

**Figura 5.**

*Bioensayo de toxicidad sobre bacterias aeróbicas presentes en el licor mezcla en función a distintas concentraciones de cadmio y de plomo*





*Nota.* Se indican los valores de la inhibición de los ensayos realizados con cadmio y plomo sobre las bacterias aeróbicas presentes en el licor mezcla del reactor biológico. *a)* Se visualiza los ensayos de cadmio realizados a concentraciones de 50, 500, 1000 y 2000 mg Cd·L<sup>-1</sup>, en donde se obtuvieron inhibiciones del 42.88%, 75.77 %, 84.92% y 97.75 %, respectivamente. *b)* Se visualiza los valores de la inhibición de los ensayos de plomo a concentraciones de 250, 500, 750 y 1000 mg Pb·L<sup>-1</sup>, en donde se obtuvieron inhibiciones del 6.59%, 30.47 %, 59.01% y 85.07 %, respectivamente.

En la *figura 5a*, el porcentaje de inhibición del cadmio aumentó a medida que incrementa la concentración para cada ensayo, en relación con el control el cual no tiene adición del metal. En el ensayo de 50 mg Cd·L<sup>-1</sup> se encontró una inhibición de la del 42.88% mientras que, el ensayo con mayor adición del metal, 2000 mg Cd·L<sup>-1</sup>, la inhibición fue del 97.75%. Esta inhibición se debe a la toxicidad del cadmio la cual se atribuye a su capacidad para inhibir muchas enzimas importantes de las bacterias presentes en el tratamiento de las aguas residuales. Además, el cadmio también es capaz de interrumpir los metabolismos microbianos, así como de dañar la membrana celular de las bacterias (Roane et al., 2015). Según Kapoor et al. (2015), las bacterias nitrificantes, presentes en el consorcio bacteriano de un reactor biológico, son uno de los organismos más sensibles al cadmio; esto se debe a que son debido a su baja tasa de crecimiento.

En la *figura 5b*, es evidente el incremento del porcentaje de inhibición del plomo en relación con el aumento de la concentración del metal. A una concentración de 250 mg Pb·L<sup>-1</sup> la inhibición fue del 6.59%, mientras que, en la mayor adición de concentración del metal, 1000 mg Pb·L<sup>-1</sup>, la inhibición fue del 85.07%. Esta inhibición se debe a que el plomo puede actuar como un agente de inhibición de la división celular, lo que puede conducir a la muerte celular. Además, el plomo también puede causar daño en la membrana celular y en el material genético de las células bacterianas, lo que puede afectar su supervivencia (**Gidlow, 2015; Tiquia, 2018**).

En la *tabla 12*, se observa las concentraciones de cadmio y de plomo que producen el 20%, 50% y 80% de inhibición en el consumo de oxígeno sobre la degradación de las bacterias aeróbicas del tratamiento biológico de la PTAR-Ambato, esto respecto a los ensayos control (sin adición de metales).

**Tabla 12.**

*Concentraciones inhibitoria del 20%, 50% y 80% de cadmio y plomo*

	Cd (mg·L <sup>-1</sup> )	Pb (mg·L <sup>-1</sup> )
<b>IC<sub>20</sub></b>	23.32	390.39
<b>IC<sub>50</sub></b>	147.40	671.08
<b>IC<sub>80</sub></b>	731.12	951.38

*Nota.* Se representa la concentración de cadmio y de plomo que provoca el 20%, 50% y 80% de inhibición en la actividad de los microorganismos del tratamiento biológico.

Con base a los porcentajes de inhibición del tratamiento biológico presentados en la *tabla 12*, se puede indicar que el cadmio es más tóxico que el plomo. La toxicidad del cadmio y el plomo puede variar dependiendo de las bacterias o microorganismos utilizados en este sistema (**Tytla, 2020**). Ya que, algunas bacterias son capaces de degradar o remover eficazmente el cadmio o el plomo, mientras que otras pueden ser menos. **Sobrino et al. (2007)**, quien determinó los efectos adversos del cadmio, cromo y plomo, evidenciaron que la toxicidad del cadmio fue ocho veces mayor que el cromo y dos veces mayor que el plomo. De igual manera, **Zhang et al. (2019)**, en su estudio sobre efectos a corto y largo plazo de cadmio, consideran que es un metal altamente tóxico, inclusive mayor que el plomo, ya que se disuelve fácilmente en el agua y se transporta rápidamente a las células microbianas lo que disminuye las eficiencias de procesos de tratamiento de aguas residuales.

En este estudio la concentración inhibitoria al 20% (IC<sub>20</sub>) y al 50% (IC<sub>50</sub>) fueron de 23.32 mg Cd·L<sup>-1</sup> y 147.04 mg Cd·L<sup>-1</sup>, respectivamente. En contraste a los valores de inhibición planteados en este estudio, **Bhat et al. (2020)**, investigaron el efecto del cadmio sobre la actividad enzimática de las comunidades microbianas en un reactor discontinuo, concluyendo que concentraciones de 10 a 40 mg Cd·L<sup>-1</sup> afectaban al sistema biológico, e inhibían cerca del 60% (IC<sub>60</sub>). Estos resultados son comparables a los de **Çeçen et al. (2010)**, quienes investigaron el efecto inhibitorio del cadmio, encontrando que la inhibición era evidente cuando se añadía este metal en un rango de 0-50 mg·L<sup>-1</sup>. La concentración que lleva a un 10% de inhibición (IC<sub>10</sub>) fue de aproximadamente 3.8 mg Cd·L<sup>-1</sup>. Mientras que, a una dosis de 40 mg Cd·L<sup>-1</sup>, la inhibición era de alrededor del 80% (IC<sub>80</sub>). De igual manera, **Zhang et al. (2019)**, mostraron que el cadmio tenía una toxicidad aguda y mostró que el IC<sub>50</sub> en exposición a corto plazo fue de tan solo 5.43 mg Cd·L<sup>-1</sup>.

Por otro lado, la concentración inhibitoria del plomo al 20% (IC<sub>20</sub>) fue de 390.39 mg Pb·L<sup>-1</sup>, del 50% (IC<sub>50</sub>) a 671.08 mg Pb·L<sup>-1</sup> y del 80% a 951.4 mg Pb·L<sup>-1</sup>. Este último valor se asemeja a la inhibición encontrada por **Kapoor et al. (2015)**, que determinó que a una dosis de 1000 mg Pb·L<sup>-1</sup> se alcanza una inhibición del 84% de la tasa de consumo de oxígeno. Esto se debió a que el plomo puede inhibir procesos como la nitrificación al disminuir la oxidación del amoníaco, debido a una disminución en los niveles de transcripción de los genes *amoA* y *hao* en las bacterias nitrificantes.

De igual manera, los valores de inhibición en este estudio difieren significativamente con los encontrados en literatura. Por ejemplo, **Aguilar et al. (2020)**, encontraron que la concentración inhibitoria al 50% (IC<sub>50</sub>) del plomo se produce a una concentración de 87.2 mg Pb·L<sup>-1</sup>, y en la investigación de **Yuan et al. (2015)**, en el que se estudió la toxicidad del plomo en un reactor discontinuo, habiéndose descrito una inhibición de hasta el 50% en la actividad de las bacterias inhibidos con la adición de 10 mg·Pb·L<sup>-1</sup>. La diferencia en las concentraciones inhibitorias es posible debido a que las bacterias del reactor biológico puedan aclimatarse a ciertos niveles de concentración de metales. El incremento de aguas residuales industrial provoca la presencia de metales pesados en el medio ambiente lo que induce esta aclimatación en las bacterias (**Hernandez et al., 2018**).

Las concentraciones de cadmio y plomo estudiadas son elevadas y difieren con la literatura, es importante señalar que los efectos tóxicos varían por diferentes variables, algunos autores atribuyen esta variación a las diferencias en las propiedades del agua residual (pH, cantidad de oxígeno, edad de los lodos, entre otros) así como la disponibilidad de sustancias orgánicas e inorgánicas ya que pueden afectar en gran medida la concentración de toxicidad, movilidad y solubilidad de los metales (**Govin et al., 2020; Liu et al., 2021**). Sin embargo, es importante tener en cuenta que cualquier concentración elevada de cadmio y de plomo puede tener efectos negativos en los sistemas biológicos.

Otra de las principales razones se debe a la discrepancia que existe en los microorganismos presentes en el consorcio bacteriano (**Dai et al., 2019**) Ya que se evidencia una tolerancia de ciertas bacterias hacia los metales pesados. Esto es corroborable, debido a que ciertos investigadores han informado de microorganismos resistentes a metales pesados en el tratamiento biológico. Por ejemplo, **Dai et al., (2019)**, aislaron con éxito una cepa bacteriana con genes de resistencia al cadmio (*czcA*). La cepa aislada se caracterizó y determinaron que perteneció a *Pseudomonas*, un género muy utilizado en este sistema.

Por otro lado, ciertas bacterias han desarrollado mecanismos para evitar el efecto tóxico del plomo entre los más importantes se destaca la barrera extracelular, el secuestro extracelular y el transporte activo de iones metálicos (eflujo) (**Liu et al., 2019**). Esto se evidencia en una investigación que realizaron **Zare et al. (2015)**, acerca de la inhibición del plomo en las bacterias aeróbicas presentes en un consorcio bacteriano, en donde observaron que los efectos tóxicos dependen de la especie bacteriana ya que, este metal presenta un elevado efecto inhibitor en bacterias del género *Pseudomonas* y *Aeromonas* que en bacterias del género *Enterobacter* y *Bacillus*.

### **3.2. Verificación de hipótesis**

Según los resultados obtenidos durante los ensayos, es posible aceptar la hipótesis alternativa; dado que, la adición de concentraciones superiores a  $50 \text{ mg Cd}\cdot\text{L}^{-1}$  o  $250 \text{ mg Pb}\cdot\text{L}^{-1}$  tienen un efecto inhibitorio sobre la respiración aeróbica de microorganismos heterotróficos en la degradación de la materia orgánica del agua residual urbana de la ciudad de Ambato.

## CAPITULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 4.1. Conclusiones

- Se realizó una caracterización al agua residual cruda procedente del efluente clarificado del reactor primario de la PTAR-Ambato, y se determinó que los diferentes parámetros analizados como pH, temperatura, conductividad, turbidez, sólidos, DQO y DBO<sub>5</sub> se encuentran dentro de los límites máximos permisibles establecidos por la legislación ecuatoriana. Sin embargo, el ion nitrato se encuentra en niveles elevados por encima del rango de composición típica de aguas residuales municipales, esto probablemente se debe que las tasas de nitrificación aumentan con concentraciones de oxígeno disuelto (OD) de 3 a 4 mg·L<sup>-1</sup>, lo cual está alineado con los valores determinados. Pese a esto, se puede afirmar que se está ejecutando la degradación de los contaminantes en las aguas residuales sin novedades, ya que el resto de las condiciones son favorables para la actividad de los microorganismos. Esto significa que las bacterias aeróbicas están trabajando adecuadamente para degradar los contaminantes presentes en el agua residual y que no se han presentado obstáculos que impidan la degradación.
- A través del análisis respirométrico de cadmio y de plomo se determinó el consumo de oxígeno, los resultados mostraron que, al aumentar las concentraciones de estos metales en el agua residual del tratamiento biológico, se redujo la tasa de consumo de oxígeno por parte de las bacterias aeróbicas. Con la adición de 50, 500, 1000, 2000 mg Cd·L<sup>-1</sup> se obtuvieron tasas de consumo de oxígeno de: 161.82, 68.64, 42.73 y 6.37 mg O<sub>2</sub>·L<sup>-1</sup>·día<sup>-1</sup>, respectivamente. Esto indica que hubo una disminución del 100% al 2.25% en la capacidad de los microorganismos para degradar la materia orgánica, en comparación con el control establecido previamente. Mientras que, con la adición 250, 500, 750 y 1000 mg Pb·L<sup>-1</sup> los valores de las tasas de consumo de oxígeno fueron de: 286.14, 267.28, 199.96, 117.29 y 42.73 mg O<sub>2</sub>·L<sup>-1</sup>·día<sup>-1</sup>, respectivamente. De igual manera la depreciación en la degradación de materia orgánica fue del 100% al 14.93%. Esto indica que el cadmio y plomo tienen efecto tóxico sobre el consorcio bacteriano, ya que se observa dicha disminución en las tasas de consumo de oxígeno, lo que evidencia un efecto inhibitorio sobre las bacterias aerobias impidiendo la degradación de la materia orgánica.

- La estimación del índice de toxicidad  $IC_{20}$  de cadmio y plomo sobre bacterias aeróbicas del agua residual se realizó mediante un análisis de inhibición, el cual reveló que la concentración de cadmio que inhibe el 20% de la actividad metabólica fue de  $23.32 \text{ mg Cd}\cdot\text{L}^{-1}$ , mientras que para plomo fue de  $390.39 \text{ mg Pb}\cdot\text{L}^{-1}$ . Estos resultados de inhibición son concentraciones elevadas, esto probablemente se debe a las variaciones en las características fisicoquímicas, disponibilidad de sustancias orgánicas e inorgánicas y propiedades bioabsorbentes de la biomasa viva y muerta, las cuales pueden afectar la concentración, movilidad y solubilidad de ambos metales. Otra posible explicación de debe a que los microorganismos presentes en el consorcio bacteriano del reactor biológico pueden adaptarse a concentraciones específicos de metales pesados del agua residual, lo que resulta en una tolerancia hacia dichos metales.
- Se estudió el impacto de la adición de cadmio y de plomo en el consumo de oxígeno por parte de las bacterias aeróbicas del agua residual. La adición de metales pesados puede representar el continuo aumento en la contaminación del agua residual, debido a la gran cantidad de industrias sin medidas de control de descarga de metales pesados. Además, se ha demostrado que un aumento en la cantidad de concentraciones de cadmio y de plomo en el agua residual puede ser tóxico e inhibir la eficacia del proceso de tratamiento. Esto puede resultar en la acumulación de este contaminante en el agua residual tratada, lo que representa un riesgo potencial para la salud humana si la gente entra en contacto con ella.

#### **4.2. Recomendaciones**

- Estudiar cómo las diferentes poblaciones microbianas interactúan entre sí cuando se encuentran en presencia de concentraciones tóxicas de metales, con el objetivo de identificar relaciones simbióticas entre géneros resistentes a los metales y poblaciones sensibles a estos.
- Realizar un estudio que permita la identificación y caracterización de bacterias utilizadas en el reactor biológico que presenten tolerancia a los metales pesados.
- Investigar sistemáticamente el impacto que los metales pesados sobre las bacterias aerobias utilizadas en la eliminación de materia orgánica en el proceso biológico de la planta de tratamiento de aguas residuales en Ambato, con ello tomar medidas preventivas para minimizar su impacto.



## MATERIALES DE REFERENCIA

### 5.1. Referencias Bibliográficas

- Aguilar, M., Llorens, M., Fernández-Garrido, J. M., Pérez-Marín, A. B., Ortuño, J. F., & Meseguer, V. (2020). *Heavy metals effect on the heterotrophic activity of activated sludge*. <https://doi.org/10.1007/s13762-020-02704-1>
- Ajala, S. O., & Alexander, M. L. (2020). Assessment of *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus*, and *Oocystis minuta* for removal of sulfate, nitrate, and phosphate in wastewater. *International Journal of Energy and Environmental Engineering*, 11(3), 311–326. <https://doi.org/10.1007/S40095-019-00333-0/TABLES/6>
- Altowayti, W. A. H., Othman, N., Shahir, S., Alshalif, A. F., Al-Gheethi, A. A., AL-Towayti, F. A. H., Saleh, Z. M., & Haris, S. A. (2021). Removal of arsenic from wastewater by using different technologies and adsorbents: a review. *International Journal of Environmental Science and Technology* 2021 19:9, 19(9), 9243–9266. <https://doi.org/10.1007/S13762-021-03660-0>
- Azimi, S., Shirini, F., & Pendashteh, A. (2019). Evaluation of COD and turbidity removal from woodchips wastewater using biologically sequenced batch reactor. *Process Safety and Environmental Protection*, 128, 211–227. <https://doi.org/10.1016/J.PSEP.2019.05.043>
- Baird, R., Rice, E., & Posavec, S. (2017a). *Standard Methods for The Examination of Water and Wastewater* (23rd ed.). Amer Public Health Assn.
- Beltrán, M. E., & Gómez, A. M. (2016). Biorremediación de metales pesados cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg), mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: una revisión. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 12(2), 172–197. <https://doi.org/10.18359/rfcb.2027>
- Bhat, S. A., Cui, G., Li, W., Wei, Y., & Li, F. (2020). Effect of heavy metals on the performance and bacterial profiles of activated sludge in a semi-continuous reactor. *Chemosphere*, 241. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2019.125035>

- BIOTAS, B. A. S. (2022). *Planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) Ambato*.  
<https://www.youtube.com/watch?v=ONsa0xM8T5E>
- Böger, B., Wacht, M., Leuck, M., Vilhena, R. D. O., Riese, M., Fischer, K., De, R., & Vilhena, O. (2021). *Inhibition of the activated sludge-associated enzyme phosphatase by transition metal oxyanions*. *11*, 2021.  
<https://doi.org/10.2166/wst.2021.172>
- Buaisha, M., Balku, S., & Özalp-Yaman, Ş. (2021). Heavy metal inhibition on an alternating activated sludge system and its comparison to conventional methods: Case study of Cu<sup>2+</sup>. *Water Science and Technology*, *84*(4), 892–905.  
<https://doi.org/10.2166/wst.2021.276>
- Burakov, A. E., Galunin, E. v., Burakova, I. v., Kucherova, A. E., Agarwal, S., Tkachev, A. G., & Gupta, V. K. (2018). Adsorption of heavy metals on conventional and nanostructured materials for wastewater treatment purposes: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *148*, 702–712.  
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.034>
- Çeçen, F., Semerci, N., & Geyik, A. G. (2010). Inhibition of respiration and distribution of Cd, Pb, Hg, Ag and Cr species in a nitrifying sludge. *Journal of Hazardous Materials*, *178*(1–3), 619–627.  
<https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2010.01.130>
- César, E., & Vázquez, A. (2003). *Ingeniería de los sistemas de tratamiento y disposición de aguas residuales*. <http://www.fundacion-ica.org.mx>
- Chen, H. B., Wang, D. B., Li, X. M., Yang, Q., Luo, K., Zeng, G. M., & Tang, M. L. (2014). Effects of Cd (II) on wastewater biological nitrogen and phosphorus removal. *Chemosphere*, *117*(1), 27–32.  
<https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2014.05.057>
- Cho, S., Kambey, C., & Nguyen, V. K. (2019). Performance of Anammox Processes for Wastewater Treatment: A Critical Review on Effects of Operational Conditions and Environmental Stresses. *Water 2020, Vol. 12, Page 20*, *12*(1), 20.  
<https://doi.org/10.3390/W12010020>

- Choi, Y. Y., Baek, S. R., Kim, J. I., Choi, J. W., Hur, J., Lee, T. U., Park, C. J., & Lee, B. J. (2017). Characteristics and biodegradability of wastewater organic matter in municipal wastewater treatment plants collecting domestic wastewater and industrial discharge. *Water (Switzerland)*, 9(6). <https://doi.org/10.3390/w9060409>
- da Ros, C., Conca, V., Eusebi, A. L., Frison, N., & Fatone, F. (2020). Sieving of municipal wastewater and recovery of bio-based volatile fatty acids at pilot scale. *Water Research*, 174, 115633. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2020.115633>
- Dai, M., Zhou, G., Ng, H. Y., Zhang, J., Wang, Y., Li, N., Qi, X., Miao, M., Liu, Q., & Kong, Q. (2019). Diversity evolution of functional bacteria and resistance genes (*CzcA*) in aerobic activated sludge under Cd (II) stress. *Journal of Environmental Management*, 250, 109519. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2019.109519>
- Du, Y., Chen, Y., Zou, L., Deng, S., Li, G., & Zhang, D. (2019). Monitoring the Activated Sludge Activities Affected by Industrial Toxins via an Early-Warning System Based on the Relative Oxygen Uptake Rate (ROUR) Index. *Applied Sciences 2019, Vol. 9, Page 154*, 9(1), 154. <https://doi.org/10.3390/APP9010154>
- Elawwad, A., Matta, M. E., Abo-Zaid, M., & Abdel-Halim, H. S. (2019). *Plant-wide modeling and optimization of a large-scale WWTP using BioWin's ASDM model*. <https://doi.org/10.1016/J.JWPE.2019.100819>
- Empresa Municipal de Agua Potable y Alcantarillado de Ambato. (2018). *Servicio De Acreditación Ecuatoriano – Alcance De Acreditación*. [www.acreditacion.gob.ec](http://www.acreditacion.gob.ec)
- Frasconi, D., Rubertelli, G., Arous, F., Ragini, A., Bresciani, L., Arzu, A., & Pinelli, D. (2019). Valorisation of olive mill wastewater by phenolic compounds adsorption: Development and application of a procedure for adsorbent selection. *Chemical Engineering Journal*, 360, 124–138. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2018.11.188>
- Gidlow, D. A. (2015). Lead toxicity. *Occupational Medicine*, 65(5), 348–356. <https://doi.org/10.1093/OCCMED/KQV018>

- Govin, A., Leal, G., Bello, C. M., & Fernández, S. (2020). Characterization of heavy metals resistant *Serratia marcescens* strains isolated of lateritic deposit Moa, Cuba. *Rev. CENIC Cienc. Biol.*; Vol, 51(3), 196–206.
- Grazioso, R., García-Viñuales, S., Russo, L., D'abrosca, G., Esposito, S., Zaccaro, L., Iacovino, R., Milardi, D., Fattorusso, R., Malgieri, G., & Isernia, C. (2020). Substitution of the Native Zn (II) with Cd (II), Co (II) and Ni(II) Changes the Downhill Unfolding Mechanism of Ros87 to a Completely Different Scenario. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(21), 1–17. <https://doi.org/10.3390/IJMS21218285>
- Gui, M., Chen, Q., Ma, T., Zheng, M., & Ni, J. (2017). Effects of heavy metals on aerobic denitrification by strain *Pseudomonas stutzeri* PCN-1. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(4), 1717–1727. <https://doi.org/10.1007/S00253-016-7984-8>
- HANNA instruments. (2021). *Manual de instrucciones: HI 9829 Medidor multiparamétrico. Con GPS, sonda de registro y medición de turbidez e ISE opcional.* [https://cdn.hannacolombia.com/hannacdn/support/manual/2019/01/Manual\\_HI\\_9829.pdf](https://cdn.hannacolombia.com/hannacdn/support/manual/2019/01/Manual_HI_9829.pdf)
- Hart, O. E., & Halden, R. U. (2020). Modeling wastewater temperature and attenuation of sewage-borne biomarkers globally. *Water Research*, 172, 115473. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2020.115473>
- Hartmann, S., Skrobankova, H., & Drozdova, J. (2020). Inhibition of Activated Sludge Respiration by Heavy Metals. *International Journal of Systems Applications, Engineering & Development*, 14. <https://doi.org/10.46300/91015.2020.14.1>
- Hernandez-Martinez, G. R., Ortiz-Alvarez, D., Perez-Roa, M., Urbina-Suarez, N. A., & Thalasso, F. (2018). Multiparameter analysis of activated sludge inhibition by nickel, cadmium, and cobalt. *Journal of Hazardous Materials*, 351, 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.02.032>
- Ibrahim, S., Hassan, M., Ibraheem, Q., & Arif, K. (2020). Genotoxic Effect of Lead and Cadmium on Workers at Wastewater Plant in Iraq. *Journal of Environmental and Public Health*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/9171027>

- Igiri, B. E., Okoduwa, S. I. R., Idoko, G. O., Akabuogu, E. P., Adeyi, A. O., & Ejiogu, I. K. (2018). Toxicity and Bioremediation of Heavy Metals Contaminated Ecosystem from Tannery Wastewater: A Review. *Journal of Toxicology*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/2568038>
- Ilmasari, D., Sahabudin, E., Riyadi, F. A., Abdullah, N., & Yuzir, A. (2022). Future trends and patterns in leachate biological treatment research from a bibliometric perspective. *Journal of Environmental Management*, 318. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.115594>
- INEN. (2013a). *Agua. Calidad del agua. Muestreo. Manejo y conservación de muestras (NTE INEN 2169:2013)*. <https://www.trabajo.gob.ec/wp-content/uploads/2012/10/NTE-INEN-2169-Agua.-Calidad-Del-Agua.-Muestro.-Muestro-y-Concervacion-De-La-Muestra.pdf?x42051>
- INEN. (2013b). *Agua. Calidad del agua. Técnicas de muestreo (NTE INEN 2176:2013)*. <https://www.trabajo.gob.ec/wp-content/uploads/2012/10/NTE-INEN-2176-Agua.-Calidad-Del-Agua.-Muestro.-Tecnicas-de-Muestro.pdf?x42051>
- Jain, K., Patel, A. S., Pardhi, V. P., & Flora, S. J. S. (2021). Nanotechnology in wastewater management: A new paradigm towards wastewater treatment. En *Molecules* (Vol. 26, Issue 6). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules26061797>
- Kapoor, V., Li, X., Elk, M., Chandran, K., Impellitteri, C. A., & Santo Domingo, J. W. (2015). Impact of Heavy Metals on Transcriptional and Physiological Activity of Nitrifying Bacteria. *Environmental Science and Technology*, 49(22), 13454–13462. [https://doi.org/10.1021/ACS.EST.5B02748/SUPPL\\_FILE/ES5B02748\\_SI\\_001.PDF](https://doi.org/10.1021/ACS.EST.5B02748/SUPPL_FILE/ES5B02748_SI_001.PDF)
- Kim, T. H., Kim, J. H., le Kim, M. D., Suh, W. D., Kim, J. E., Yeon, H. J., Park, Y. S., Kim, S. H., Oh, Y. H., & Jo, G. H. (2020). Exposure assessment and safe intake guidelines for heavy metals in consumed fishery products in the Republic of Korea. *Environmental Science and Pollution Research International*, 27(26), 33042–33051. <https://doi.org/10.1007/S11356-020-09624-0>

- Layer, M., Villodres, M. G., Hernandez, A., Reynaert, E., Morgenroth, E., & Derlon, N. (2020). Limited simultaneous nitrification-denitrification (SND) in aerobic granular sludge systems treating municipal wastewater: Mechanisms and practical implications. *Water Research* X, 7, 100048. <https://doi.org/10.1016/J.WROA.2020.100048>
- Liu, P., Chen, S., Cui, Y., & Tan, W. (2021). Insights into the inhibition effects of Cd on soil enzyme activities: From spatial microscale to macroscale. *Journal of Hazardous Materials*, 418. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2021.126274>
- Liu, Z., Liu, Q., Qi, X., Li, Y., Zhou, G., Dai, M., Miao, M., & Kong, Q. (2019). Evolution and resistance of a microbial community exposed to Pb (II) wastewater. *The Science of the Total Environment*, 694. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.133722>
- López, C., Buitrón, G., García, H., & Cervantes, F. (2008). *Tratamiento biológico de aguas residuales: Principios, modelación y diseño*. <https://doi.org/10.2166/9781780409146>
- Lourinho, G., & Brito, P. S. D. (2020). Electrolytic Treatment of Swine Wastewater: Recent Progress and Challenges. *Waste and Biomass Valorization* 2020 12:2, 12(2), 553–576. <https://doi.org/10.1007/S12649-020-00951-4>
- Lu, Q., Zou, X., Liu, J., Liang, Z., Shim, H., Qiu, R., & Wang, S. (2020). Inhibitory effects of metal ions on reductive dechlorination of polychlorinated biphenyls and perchloroethene in distinct organohalide-respiring bacteria. *Environment International*, 135, 105373. <https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2019.105373>
- Malamis, S., Katsou, E., Daskalakis, N., & Haralambous, K. J. (2012). Investigation of the inhibitory effects of heavy metals on heterotrophic biomass activity and their mitigation through the use of natural minerals. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 47(13), 1992–1999. <https://doi.org/10.1080/10934529.2012.695266>
- Matyja, K., Wasiela, A., Dobicki, W., Pokorny, P., & Trusek, A. (2021). Dynamic modeling of the activated sludge microbial growth and activity under exposure to

heavy metals. *Bioresource Technology*, 339, 125623.  
<https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2021.125623>

Metcalf & Eddy. (2014). *Wastewater Engineering Treatment and Resource Recovery: Vol. Fifth Edition* (McGraw-Hill Education, Ed.; Fifth Edition).

Metcalf, A., & Eddy, F. (2014). *Wastewater Engineering Treatment and Resource Recovery*.

Ministerio del Ambiente (2015). *Registro Oficial Edición Especial. N° 387*. (Núm. 387). [https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/2018-09/Documento\\_Registro-Oficial-No-387-04-noviembre-2015\\_0.pdf](https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/2018-09/Documento_Registro-Oficial-No-387-04-noviembre-2015_0.pdf)

Montero, S., Aldás, G., Arboleda, A., & Torres, A. (2021). La depuración de aguas residuales. Estudios de soluciones para el municipio de Ambato. Ecuador. *ConcienciaDigital*, 4(3), 250–270.  
<https://doi.org/10.33262/concienciadigital.v4i3.1803>

Moyola, M. (2018). *Eliminación de nitrógeno de aguas residuales provenientes de rastros y casas de matanza*. Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica.

Mullins, D., Jones, E., Glavin, M., Coburn, D., Hannon, L., & Clifford, E. (2018). A novel image processing-based system for turbidity measurement in domestic and industrial wastewater. *Water Science and Technology*, 77(5), 1469–1482.  
<https://doi.org/10.2166/WST.2018.030>

Noyola, A., Morgan, J., & Guereca, L. (2013). *Selección de tecnologías para el tratamiento de aguas residuales municipales* (McGraw-Hill Interamericana, Ed.; Primera edición). <http://proyectos2.iingen.unam.mx/LACClimateChange/docs/Guia.pdf>

Organización de las Naciones Unidas. (2022). *Las aguas residuales también pueden ser herramientas para el desarrollo sostenible*. Agenda de Desarrollo Sostenible. <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/2017/03/las-aguas-residuales-tambien-pueden-ser-herramientas-para-el-desarrollo-sostenible/>

- Orozco, Á. (2008). *Bioingeniería de aguas residuales teoría y diseño segunda edición*.  
<https://doi.org/10.2166/9781780409146>
- Paśmionka, I. B., Bulski, K., Herbut, P., Boligłowa, E., Vieira, F. M. C., Bonassa, G., Bortoli, M., & de Prá, M. C. (2021). Toxic Effect of Ammonium Nitrogen on the Nitrification Process and Acclimatization of Nitrifying Bacteria to High Concentrations of NH<sub>4</sub>-N in Wastewater. *Energies* 2021, Vol. 14, Page 5329, 14(17), 5329. <https://doi.org/10.3390/EN14175329>
- Ramalho, R. (2008). *Tratamiento de Aguas Residuales* (Reverte, Ed.; Segunda, Vol. 2).
- Roane, T. M., Pepper, I. L., & Gentry, T. J. (2015). Microorganisms and Metal Pollutants. *Environmental Microbiology: Third Edition*, 415–439. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394626-3.00018-1>
- Rodríguez, A., letón, P., Roberto, G., García, R., Dorado, M., Susana, V., Fernández, V., & Sanz García, J. M. (2018). *Tratamientos avanzados de aguas residuales industriales*. [www.madrimasd.org](http://www.madrimasd.org)
- Rodríguez, R., Espada, J. J., Gallardo, M., Molina, R., & López-Muñoz, M. J. (2018). Life cycle assessment and techno-economic evaluation of alternatives for the treatment of wastewater in a chrome-plating industry. *Journal of Cleaner Production*, 172, 2351–2362. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2017.11.175>
- Rosas, G., Puentes, Y., & Menjivar, J. (2017). pH relationship and nutrient availability for cacao in an Entisol from the Colombian Amazon. *Revista Ciencia y Tecnología Agropecuaria; Vol 18 Núm.3 (2017); 529-541, 18(3), 529–541*. [https://doi.org/10.21930/RCTA.VOL18\\_NUM3\\_ART:742](https://doi.org/10.21930/RCTA.VOL18_NUM3_ART:742)
- Ruan, G., Mi, W., Yin, X., Song, G., & Bi, Y. (2022). Molecular Responses Mechanism of *Synechocystis* sp. PCC 6803 to Cadmium Stress. *Water (Switzerland)*, 14(24), 4032. <https://doi.org/10.3390/W14244032/S1>
- Shrestha, R., Ban, S., Devkota, S., Sharma, S., Joshi, R., Tiwari, A. P., Kim, H. Y., & Joshi, M. K. (2021). Technological trends in heavy metals removal from industrial wastewater: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4), 105688. <https://doi.org/10.1016/J.JECE.2021.105688>



- Sillanpää, M., & Shestakova, M. (2017). Electrochemical Water Treatment Methods. *Electrochemical Water Treatment Methods: Fundamentals, Methods, and Full-Scale Applications*, 47–130. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811462-9.00002-5>
- Sobrinho, A. S., Cáceres, C., Botello, V., & Nunez, G. (2007). Effect of cadmium, chromium, lead and metal mixtures on survival and growth of juveniles of the scallop *Argopecten ventricosus* (Sowerby II, 1842). *Journal of Environmental Science and Health. Part A, Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 42(10), 1443–1447. <https://doi.org/10.1080/10934520701480821>
- Tan, T. W., & Ng, H. Y. (2008). Influence of mixed liquor recycle ratio and dissolved oxygen on performance of pre-denitrification submerged membrane bioreactors. *Water Research*, 42(4–5), 1122–1132. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2007.08.028>
- Tiquia, S. (2018). Lead absorption mechanisms in bacteria as strategies for lead bioremediation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(13), 5437–5444. <https://doi.org/10.1007/S00253-018-8969-6>
- Tyła, M. (2020). Identification of the Chemical Forms of Heavy Metals in Municipal Sewage Sludge as a Critical Element of Ecological Risk Assessment in Terms of Its Agricultural or Natural Use. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(13), 1–22. <https://doi.org/10.3390/IJERPH17134640>
- Valdez, E., & Vázquez, A. (2003). *Ingeniería de los sistemas de tratamiento y disposición de aguas residuales*. <http://www.fundacion-ica.org.mx>
- Vardhan, K. H., Kumar, P. S., & Panda, R. C. (2019). A review on heavy metal pollution, toxicity, and remedial measures: Current trends and future perspectives. *Journal of Molecular Liquids*, 290, 111197. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2019.111197>
- Vasistha, P., & Ganguly, R. (2020). Water quality assessment of natural lakes and its importance: An overview. *Materials Today: Proceedings*, 32, 544–552. <https://doi.org/10.1016/J.MATPR.2020.02.092>

- Wang, J., Yang, H., Liu, X., Wang, J., & Chang, J. (2020). The impact of temperature and dissolved oxygen (DO) on the partial nitrification of immobilized fillers, and application in municipal wastewater. *RSC Advances*, *10*(61), 37194–37201. <https://doi.org/10.1039/D0RA05908K>
- Yang, C. C., Lu, M. S., Dao, K. C., Lin, J. W., Chou, Y. H., & Tsai, Y. P. (2020). Comparison of the Influences of Cadmium Toxicity to Phosphate Removal in Activated Sludge Separately Fed by Glucose and Acetic Acid as Carbon Sources. *Water* 2020, Vol. 12, Page 1205, 12(4), 1205. <https://doi.org/10.3390/W12041205>
- Yuan, L., Zhi, W., Liu, Y., Karyala, S., Vikesland, P. J., Chen, X., & Zhang, H. (2015). Lead toxicity to the performance, viability, and community composition of activated sludge microorganisms. *Environmental Science and Technology*, *49*(2), 824–830. [https://doi.org/10.1021/ES504207C/SUPPL\\_FILE/ES504207C\\_SI\\_001.PDF](https://doi.org/10.1021/ES504207C/SUPPL_FILE/ES504207C_SI_001.PDF)
- Zare, M. R., Amin, M. M., Nikaeen, M., Bina, B., Rahmani, A., Hemmati-Borji, S., & Rahmani, H. (2015). Acute toxicity of Hg, Cd, and Pb towards dominant bacterial strains of sequencing batch reactor (SBR). *Environmental Monitoring and Assessment*, *187*(5), 1–8. <https://doi.org/10.1007/S10661-015-4457-Y/TABLES/5>
- Zhang, L., Fan, J., Nguyen, H. N., Li, S., & Rodrigues, D. F. (2019). Effect of cadmium on the performance of partial nitrification using sequencing batch reactor. *Chemosphere*, *222*, 913–922. <https://doi.org/10.1016/J.chemosphere.2019.02.006>
- Zhang, Q., Zhang, W., He, Q., Li, M., Li, Y., & Huang, W. (2020). Effects of dissolved oxygen concentrations on a bioaugmented sequencing batch reactor treating aniline-laden wastewater: Reactor performance, microbial dynamics, and functional genes. *Bioresource Technology*, *313*, 123598. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2020.123598>

## 5.2. Anexos

### Anexo A. Carta compromiso con EMAPA

#### Figura 6.

*Carta compromiso realizada con la PTAR-Ambato*



**Figura 7.**

*Cadena de custodia de las muestras de agua residual provenientes de la PTAR-Ambato*

LUGAR MONITOREO		Planta de Tratamiento de Aguas Residuales PTAR Ambato		DIRECCIÓN		Las Viñas- Carr. Panamericana, Ambato			
PROVINCIA		Tungurahua		CANTÓN		Ambato			
MUESTRA	CÓDIGO DE MUESTRA	COORDENADAS	FECHA	HORA	PARÁMETROS IN SITU				
					pH	Temperatura (°C)	Turbidez (NTU)	Oxígeno disuelto	Conductividad (µS/cm)
1	UTA-FCIAB-RB1	1° 14' 51.9" S 78° 35' 07.1" W	19/10/2022	10:15	✓	✓	✓	✓	
2	UTA-FCIAB-RB2	1° 14' 22.5" S 78° 35' 05.7" W		10:20	✓	✓	✓	✓	
3	UTA-FCIAB-RB3	1° 14' 22.5" S 78° 35' 05.7" W		10:25	✓	✓	✓	✓	
4	UTA-FCIAB-RB4	1° 14' 23.3" S 78° 35' 06.4" W		10:30	✓	✓	✓	✓	
5	UTA-FCIAB-RB5	1° 14' 23.3" S 78° 35' 06.4" W		10:35	✓	✓	✓	✓	
RESPONSABLE DE LA TOMA DE MUESTRAS			TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN		TÉCNICO DEL LUGAR DE MUESTREO				
NOMBRE	Sharon Górriz - Juan Alipaza.		NOMBRE	Ph.D. Rodney Paracuel		NOMBRE	Nilda Cecilia Ramos Gavilanes		
FIRMA			FIRMA			FIRMA			

**Anexo B. Límites máximos permisibles por la legislación ecuatoriana y composición típica de aguas municipales según el libro *Waster Engineering***

**Tabla 13.**

*Límite máximo permisible de descarga al sistema de alcantarillado público establecido en el TULSMA Libro VI Anexo 6. Tabla 8*

<b>Parámetros</b>	<b>Expresado como</b>	<b>Unidad</b>	<b>Valor máximo permisible</b>
Aceites y grasas	Sust. solubles en hexano	mg·L <sup>-1</sup>	70.0
Aluminio	Al	mg·L <sup>-1</sup>	5.0
Arsénico (total)	As	mg·L <sup>-1</sup>	0.01
Cadmio	Cd	mg·L <sup>-1</sup>	0.02
Cianuro (total)	CN <sup>-</sup>	mg·L <sup>-1</sup>	0.2
Cinc	Zn	mg·L <sup>-1</sup>	25.0
Cobre	Cu	mg·L <sup>-1</sup>	0.5
Cromo hexavalente	Cr <sup>+6</sup>	mg·L <sup>-1</sup>	1.0
Materia flotante	visible		Ausencia
Manganeso	Mn	mg·L <sup>-1</sup>	0.5
Mercurio (total)	Hg	mg·L <sup>-1</sup>	0.01
Nitratos + nitritos	N	mg·L <sup>-1</sup>	10.0
Nitritos	N-nitrito	mg·L <sup>-1</sup>	1.0
Níquel	Ni	mg·L <sup>-1</sup>	0.5
Oxígeno disuelto	O.D.	mg·L <sup>-1</sup>	3.0
Potencial de hidrógeno	pH		6-9
Plata	Ag	mg·L <sup>-1</sup>	0.05
Plomo	Pb	mg·L <sup>-1</sup>	0.05
Selenio	Se	mg·L <sup>-1</sup>	0.01
Sólidos disueltos totales		mg·L <sup>-1</sup>	3 000
Vanadio	V	mg·L <sup>-1</sup>	10.0

*Fuente:* (Ministerio del Ambiente, (2015).

**Tabla 14.***Composición típica de las aguas residuales domésticas no tratadas*

Constituyente	Unidad	Concentración		
		Débil	Media	Fuerte
Sólidos totales (ST)	mg·L <sup>-1</sup>	537	806	1612
Sólidos disueltos totales (STD)	mg·L <sup>-1</sup>	374	560	1121
Fijos	mg·L <sup>-1</sup>	224	336	672
Volátiles	mg·L <sup>-1</sup>	150	225	449
Sólidos suspendidos totales (SST)	mg·L <sup>-1</sup>	130	195	389
Fijos	mg·L <sup>-1</sup>	29	43	86
Volátiles	mg·L <sup>-1</sup>	101	152	304
Sólidos sedimentables	mg·L <sup>-1</sup>	8	12	23
Demanda bioquímica de oxígeno, 5 días, 20 °C (DBO <sub>5</sub> )	mg·L <sup>-1</sup>	133	200	400
Carbono orgánico total (COT)	mg·L <sup>-1</sup>	109	164	328
Demanda química de oxígeno (DQO)	mg·L <sup>-1</sup>	339	508	1016
Nitrógeno (total como N)	mg·L <sup>-1</sup>	23	35	69
Orgánico	mg·L <sup>-1</sup>	10	14	29
Amonio libre	mg·L <sup>-1</sup>	14	20	41
Nitritos	mg·L <sup>-1</sup>	0	0	0
Nitratos	mg·L <sup>-1</sup>	0	0	0
Fósforo (total como P)	mg·L <sup>-1</sup>	3.7	5.6	11.0
Orgánico	mg·L <sup>-1</sup>	2.1	3.2	6.3
Inorgánico	mg·L <sup>-1</sup>	1.6	2.4	4.7
Potasio	mg·L <sup>-1</sup>	11	16	32
Cloruros	mg·L <sup>-1</sup>	39	59	118
Sulfato	mg·L <sup>-1</sup>	24	36	72
Aceite y grasa	mg·L <sup>-1</sup>	51	76	153

*Fuente. Waster Engineering, Tabla 3-18, (Metcalf & Eddy, 2014)*

## Anexo C. Lecturas de DBO y curvas de consumo de oxígeno

**Tabla 15.**

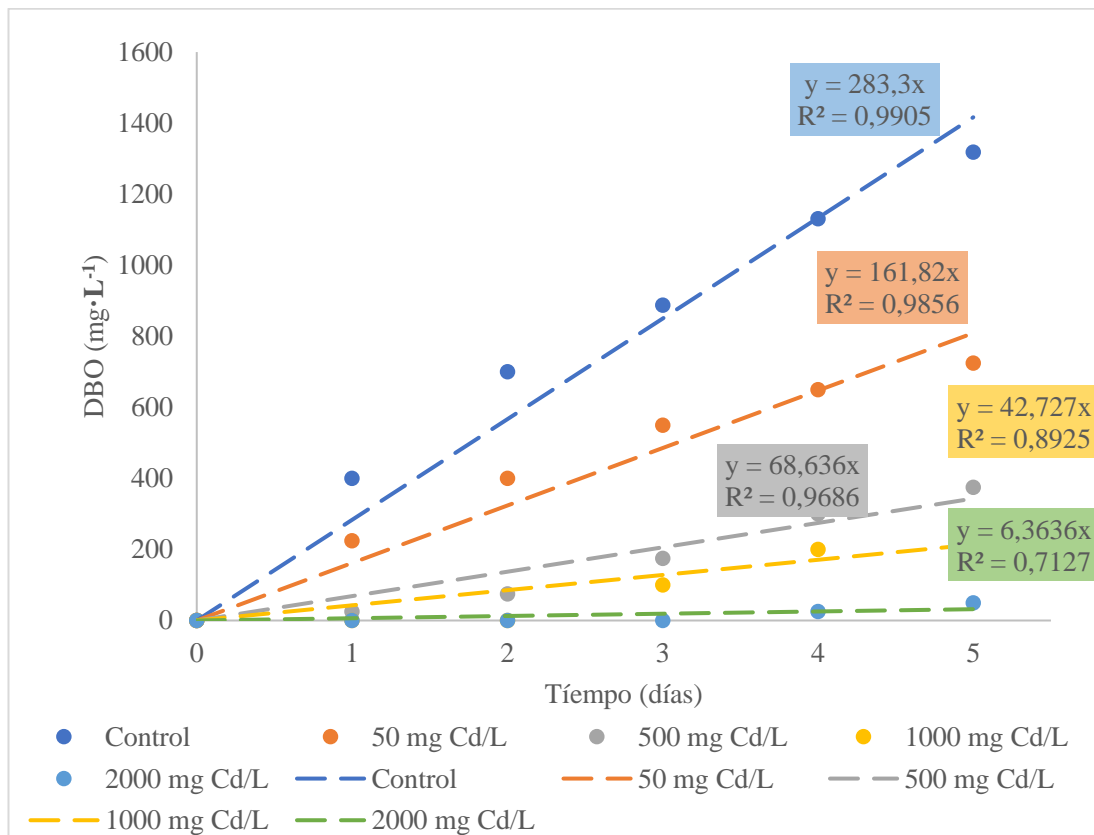
Valores de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) para cadmio

Ensayo	Concentración (mg Cd·L <sup>-1</sup> )	Días					
		0	1	2	3	4	5
Control	0	0	400	700	887.5	1131.25	1318.75
Ensayo 1	50	0	225	400	550	650	725
Ensayo 2	500	0	25	75	175	300	375
Ensayo 3	1000	0	0	0	100	200	250
Ensayo 4	2000	0	0	0	0	25	50

*Nota.* Resultados de consumo de oxígeno por las bacterias aeróbicas presentes en el AR del licor mixto del tratamiento secundario con la adición de diferentes.

**Figura 8.**

Curvas de los ensayos de DBO<sub>5</sub> del agua residual a diferentes concentraciones de cadmio



*Nota:* Se representa la ecuación de la recta en donde la pendiente (r) representa la tasa de consumo de oxígeno.

**Tabla 16.**

*Actividades de degradación de la materia orgánica por parte de bacterias aeróbicas en función a distintas concentraciones de cadmio*

<b>Ensayo</b>	<b>Concentración (mg Cd·L<sup>-1</sup>)</b>	<b>r</b>	<b><math>\frac{r_{Cd}}{r_{Control}}</math></b>	<b>Actividad máxima de degradación (%)</b>	<b>Inhibición (%)</b>
Sin adición de Cd	0	283.30	1	100	0
<b>IC<sub>20</sub></b>	<b>23.32</b>	<b>226.64</b>	<b>0.8</b>	<b>80</b>	<b>20</b>
Primero	50	161.82	0.57	57.12	42.88
<b>IC<sub>50</sub></b>	<b>147.40</b>	<b>141.65</b>	<b>0.5</b>	<b>50</b>	<b>50</b>
Segundo	500	68.64	0.24	24.23	75.77
<b>IC<sub>80</sub></b>	<b>731.12</b>	<b>56.66</b>	<b>0.2</b>	<b>20</b>	<b>80</b>
Tercero	1000	42.73	0.15	15.08	84.92
Cuarto	2000	6.37	0.02	2.25	97.75

*Nota.* Se representa las pendientes (r) de las curvas de degradación a diferentes concentraciones de Cd y se normalizaron con respecto al promedio de todos los controles.



**Tabla 17.**

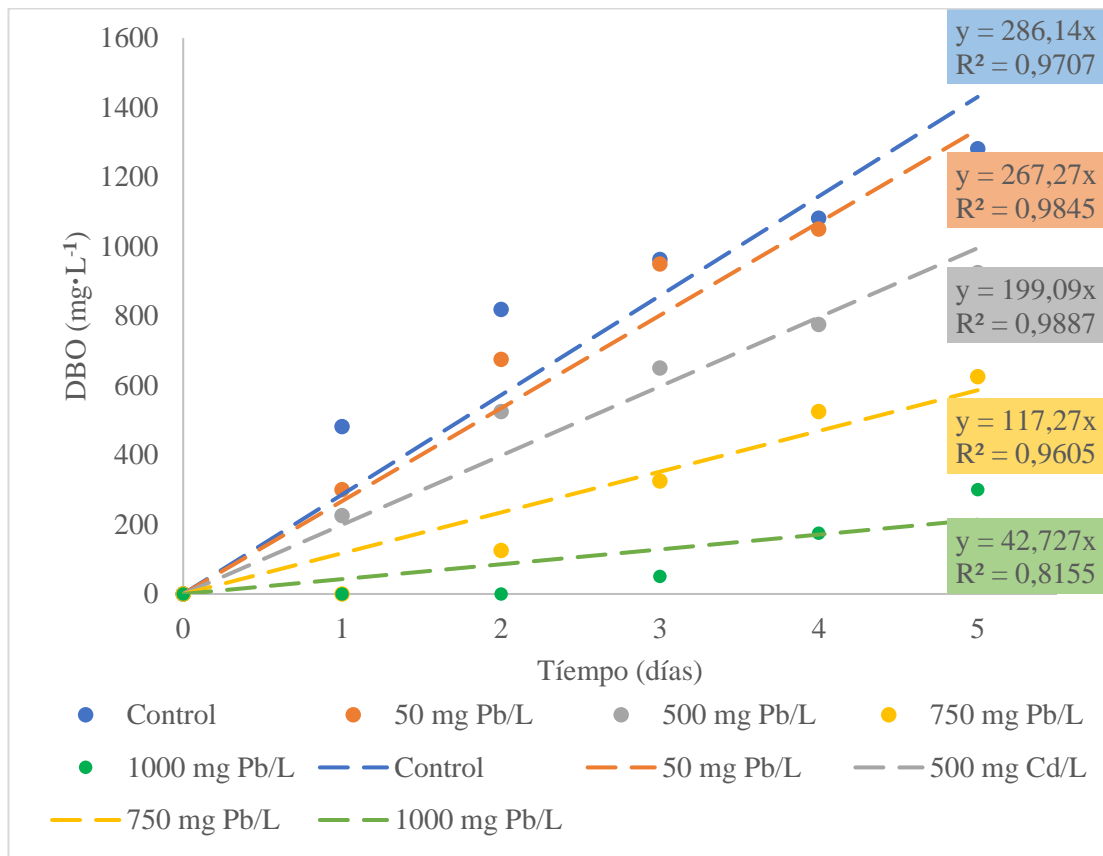
Valores de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) para Pb

Ensayo	Concentración (mg Pb·L <sup>-1</sup> )	Días					
		0	1	2	3	4	5
Control	0	0	481.25	818.75	962.5	1081.25	1281.25
Ensayo 1	250	0	300	675	950	1050	1200
Ensayo 2	500	0	225	525	650	775	925
Ensayo 3	750	0	0	125	325	525	625
Ensayo 4	1000	0	0	0	50	175	300

Nota. Resultados de consumo de oxígeno por las bacterias aeróbicas presentes en el del licor mixto del tratamiento secundario.

**Figura 9.**

Curvas de los ensayos de DBO<sub>5</sub> del agua residual a diferentes concentraciones de plomo



Nota: Se representa la ecuación de la recta en donde la pendiente (r) representa la tasa de consumo de oxígeno y coeficiente de correlación (R<sup>2</sup>).

**Tabla 18.**

*Actividades de degradación de la materia orgánica por parte de bacterias aeróbicas en función a distintas concentraciones de plomo*

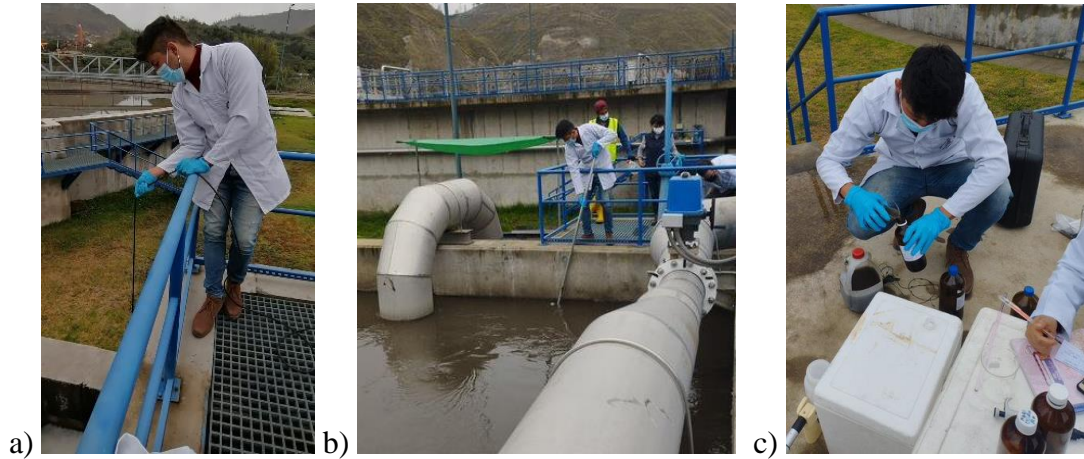
Ensayo	Concentración (mg Pb·L <sup>-1</sup> )	r	$\frac{r_{Pb}}{r_{Control}}$	Actividad máxima de degradación (%)	Inhibición (%)
Sin adición de Pb	0	286.14	1	100	0
Primero	250	267.27	0.93	93.41	6.59
<b>IC<sub>20</sub></b>	<b>390.39</b>	<b>228.9</b>	<b>0.80</b>	<b>80</b>	<b>20</b>
Segundo	500	199.09	0.70	69.53	30.47
<b>IC<sub>50</sub></b>	<b>671.08</b>	<b>143.06</b>	<b>0.50</b>	<b>50</b>	<b>50</b>
Tercero	750	117.2	0.41	40.99	59.01
<b>IC<sub>80</sub></b>	<b>951.4</b>	<b>57.23</b>	<b>0.20</b>	<b>20</b>	<b>80</b>
Cuarto	1000	42.73	0.15	14.93	85.07

*Nota.* Se representa las pendientes (r) de las curvas de degradación a diferentes concentraciones de Pb y se normalizaron con respecto al promedio de todos los controles.

## Anexo D. Anexo Fotográfico

### Figura 10.

#### Toma de muestras



*Nota.* Se representa la toma de muestra de diferentes puntos en la PTAR-Ambato. a) Muestreo del ECTP b) Muestreo del LM c) Muestreo del TR

### Figura 11.

#### Análisis in situ



*Nota.* El análisis in situ se realizó con el equipo multiparámetro HI 9829

### Figura 12.

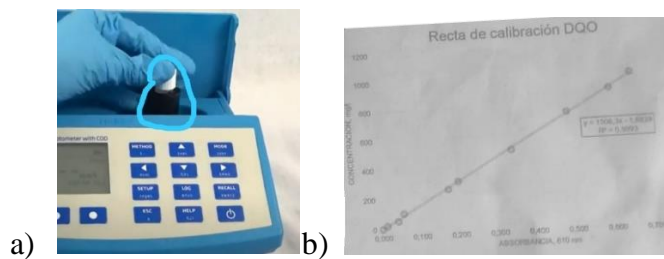
*Recolección de muestras*



*Nota.* Recolección de muestras en el laboratorio de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

### Figura 13.

*Análisis de las muestras*



*Nota.* Análisis para la caracterización de la muestra. a) Medición de iones no metálicos b) Representa la recta de calibración para la determinación de la DQO mediante el método fotométrico.

### Figura 14.

*Análisis inhibitorio con el equipo OxiTop*



*Nota.* Determinación de DBO con el equipo OxiTop para análisis inhibitorios.