



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA
EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA



Tema: Evaluación del consumo de oxígeno por bacterias aeróbicas en aguas residuales de la planta de tratamiento de Ambato contaminadas con arsénico y cromo

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

AUTOR: Sharon Mayli Freire Alegria

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 del Trabajo de Integración Curricular ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final del Trabajo de Integración Curricular bajo la Modalidad de 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 de Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 08 de febrero del 2023

Dr. - Ing. Rodny David Peñafiel Ayala

C.I. 171228352-0

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Sharon Mayli Freire Alegria, manifiesto que los resultados obtenidos en el Informe Final de Integración Curricular, modalidad proyecto de investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga son absolutamente originales, auténticos y personales a excepción de las citas bibliográficas.

A handwritten signature in blue ink that reads "Sharon Freire". The signature is enclosed within a blue oval shape.

Sharon Mayli Freire Alegria

C.I. 1805135108

AUTORA

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Docentes 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.

Para la constancia firman:

.....

Mg. Liliana Patricia Acurio Arcos

C.I. 1804067088

Presidente del tribunal

.....

Dr. Mario Daniel García Solís

C.I. 1103605471

.....

Mg. María Daniela Garcés Moncayo

C.I. 1803571585

Ambato, 07 de marzo del 2023

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este 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.

A handwritten signature in blue ink, reading "Sharon Freire", is enclosed within a blue oval shape.

Sharon Mayli Freire Alegria

C.I. 1805135108

AUTORA

AGRADECIMIENTOS

La culminación de este proyecto ha sido fruto de mucho trabajo y esfuerzo. Sin embargo, no hubiera sido posible sin la participación de muchas personas, a quienes deseo reconocer sus aportes, tiempo y colaboración.

Inicio con mi familia por darme fortaleza a lo largo de mi vida y brindarme su amor, su tiempo y apoyo para que esta meta se cumpla.

Al Dr. - Ing. Rodny David Peñafiel Ayala por haber depositado su confianza en mí para la realización de este proyecto, por los conocimientos impartidos y por el tiempo dedicado a la supervisión del mismo.

A los integrantes del 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, por darme la oportunidad de ejecutar esta investigación en el Laboratorio Canje de Deuda.

Gracias a los buenos amigos que motivan y han sido parte de esta etapa de mi vida, y en general a todas las personas que han dejado su huella, sus conocimientos y simpatía.

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
AGRADECIMIENTOS	vi
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
CAPÍTULO I.....	1
MARCO TEÓRICO.....	1
1.1 Antecedentes investigativos	1
1.1.1 Aguas residuales.....	1
1.1.2 Parámetros de caracterización analizados en la investigación.....	3
1.1.3 Metales pesados (arsénico, cromo hexavalente)	7
1.1.4 Inhibición de crecimiento de bacterias aeróbicas.....	8
1.1.5 Estudios respirométricos	10
1.2 Objetivos	12
1.2.1 Objetivo general	12
1.2.2 Objetivos específicos	12
1.3 Hipótesis.....	12
1.3.1 Hipótesis nula.....	12
1.3.2 Hipótesis alterativa.....	12
1.4 Variables	13
1.4.1 Variables independientes	13
1.4.2 Variables dependientes.....	13

CAPÍTULO II	14
METODOLOGÍA	14
2.1 Materiales	14
2.2 Métodos y técnicas	18
2.2.1 Toma de muestra, transporte y conservación	18
2.2.2 Preparación de las muestras	19
2.2.3 Caracterización de la muestra	19
2.2.3.1 Potencial de hidrógeno (pH), oxígeno disuelto (OD), temperatura (°C) y conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$).....	20
2.2.3.2 Turbidez	20
2.2.3.3 Metales pesados (arsénico y cromo)	20
2.2.3.4 Iones no metálicos.....	22
2.2.3.5 Sólidos.....	23
2.2.3.6 Demanda química de oxígeno (DQO)	24
2.2.3.7 Demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5)	25
2.2.4 Ensayos de toxicidad microbiana.....	26
2.2.4.1 Medición de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5) mediante el método con el equipo de OxiTop® - IDS.	26
2.2.4.2 Determinación de la tasa de consumo de oxígeno	27
2.2.5 Cálculos de índices de toxicidad	28
CAPÍTULO III.....	29
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
3.1 Análisis y discusión de los resultados.....	29
3.1.1 Caracterización de las muestras de agua residual obtenidas de tres puntos del tratamiento secundario	29
3.1.2 Tasa de consumo de oxígeno en función de la adición de arsénico y cromo hexavalente a distintas concentraciones.....	38
3.1.2.1 Tasa de consumo de oxígeno con arsénico	38
3.1.2.2 Tasa de consumo de oxígeno con cromo hexavalente	41
3.1.3 Índices de toxicidad que mantiene el arsénico y cromo hexavalente.....	43

3.1.3.1 Cálculos de concentraciones de inhibición de arsénico y cromo hexavalente.....	43
3.1.3.2 Efecto inhibitorio de arsénico	45
3.1.3.3 Efecto inhibitorio de cromo hexavalente	48
3.2 Verificación de hipótesis.....	50
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	51
4.1 Conclusiones	51
4.2 Recomendaciones.....	52
MATERIALES DE REFERENCIA	54
ANEXOS	65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Descripción de equipos de laboratorio	14
Tabla 2 Descripción de instrumentos e insumos de laboratorio.....	16
Tabla 3 Descripción de reactivos de laboratorio.....	17
Tabla 4 Parámetros de caracterización aplicados a las muestras de AR de la PTAR Ambato.....	19
Tabla 5 Rango y resolución de detección de iones no metálicos	22
Tabla 6 Volumen teórico de muestra de acuerdo con rangos de DQO.....	25
Tabla 7 Concentraciones de metales empleados en los bioensayos de toxicidad	26
Tabla 8 Resultados de la caracterización del agua residual proveniente de tres puntos del tratamiento secundario de la PTAR Ambato.....	30
Tabla 9 Inhibición (20, 50 y 80 %) que mantiene el arsénico y cromo hexavalente.	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Componentes orgánicos e inorgánicos del agua residual	3
Figura 2 Tasa de consumo de oxígeno en función de distintas concentraciones de As (V)	38
Figura 3 Tasa de consumo de oxígeno en función de distintas concentraciones de Cr (VI).....	41
Figura 4 Efecto inhibitorio en función de distintas concentraciones de As (V)	45
Figura 5 Efecto inhibitorio en función de distintas concentraciones de Cr (VI)	48

RESUMEN

Las actividades industriales y el aumento de la población han provocado un aumento del uso del recurso hídrico y, por lo tanto, de la generación de aguas residuales. Éstas presentan una alta carga de contaminación, tanto biológica como no biológica (metales pesados, materia orgánica). Por esta razón, los objetivos del proyecto de integración curricular fueron caracterizar las aguas residuales obtenidas de tres puntos de tratamiento secundario (el efluente clarificado del sedimentador primario, el licor mezcla del reactor biológico y del tanque de recirculación de biosólidos) de la planta de tratamiento de aguas residuales de Ambato.

También se realizaron bioensayos de toxicidad mediante la adición de arsénico y cromo hexavalente, para verificar cómo afectan estos metales a la tasa de consumo de oxígeno y a la inhibición del 20, 50 y 80 por ciento del metabolismo y crecimiento microbiano. Determinando que, al aumentar la concentración de los elementos la tasa de consumo de oxígeno disminuye en ambos casos, pues estas se redujeron desde 277 hasta 152 (arsénico) y desde 288 hasta 68 miligramos de oxígeno por litro al día (cromo). Además, el cromo fue más tóxico que el arsénico, ya que este último metal, necesitó concentraciones más elevadas (1000 miligramos por litro) para lograr una inhibición del 20 por ciento, frente al cromo, que solo necesitó 13 miligramos por litro. En fin, estos estudios se han realizado con el propósito de que en futuras investigaciones se provea alternativas que optimicen el tratamiento de depuración de las aguas residuales.

Palabras clave: Aguas residuales, tratamiento de aguas, bioensayos de toxicidad, arsénico, cromo hexavalente, metabolismo y crecimiento microbiano, gestión ambiental, contaminación ambiental.

ABSTRACT

Industrial activities and population growth have led to an increase in the use of water resources and, therefore, the generation of wastewater. These have a high pollution load, both biological and non-biological (heavy metals, organic matter). For this reason, the objectives of this curricular integration project were to characterize the wastewater obtained from three secondary treatment points (the clarified effluent from the primary reactor, the mixed liquor from the biological reactor and the biosolids recirculation tank) of the Ambato wastewater treatment plant.

Toxicity bioassays were also conducted by adding arsenic and hexavalent chromium, to verify how these metals affect the oxygen uptake rate and the inhibition of 20, 50 and 80 percent of microbial metabolism and growth. Determining that, as the concentration of the elements increased, the oxygen uptake rate decreased in both cases, as they decreased from 277 to 152 (arsenic) and from 288 to 68 milligrams of oxygen per liter per day (chromium). Furthermore, chromium was more toxic than arsenic, since the latter metal needed higher concentrations (1000 milligrams per liter) to achieve a 20 percent inhibition, as opposed to chromium, which needed only 13 milligrams per liter. Finally, these studies have been carried out with the purpose of providing alternatives to optimize wastewater treatment in future research.

Key words: Wastewater, treatment of water, toxicity bioassays, arsenic, hexavalent chromium, metabolism and microbial growth, environmental management and environmental pollution.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes investigativos

En el presente capítulo se describe de forma general los principales elementos y métodos que componen y sustentan la importancia del proyecto de integración curricular, que trata de la evaluación del consumo de oxígeno de las bacterias aeróbicas que se encuentran en el agua residual de la planta de tratamiento de Ambato (PTAR), sometiénolas a distintas concentraciones de arsénico y cromo hexavalente, debido a que dichos metales suelen superar los límites permisibles de la norma en la planta.

El proyecto tiene como finalidad conocer como la presencia de estos contaminantes afectan el tratamiento biológico de las aguas residuales, para que en futuras investigaciones se dé solución mediante alternativas óptimas de tratamiento, de tal forma que este recurso se mantenga en límites permisibles de concentraciones de metales pesados, previo a su descarga en el río Ambato.

1.1.1 Aguas residuales

La contaminación del agua ha sido durante mucho tiempo un serio desafío ambiental a nivel mundial. Con la continua aceleración de la industrialización y urbanización en los países, la demanda de agua sigue aumentando y surge una contradicción cada vez más prominente entre la oferta y la demanda de este recurso (**Borzooei et al., 2021**). El mundo tiene una gran población y la distribución espacial y temporal de los recursos hídricos es desigual, por lo tanto, se posee menos sauces hídricos per cápita, convirtiéndose en un gran problema (**Crini & Lichtfouse, 2019**). Además, que existe una elevada falta de compromiso por la sociedad con la conservación y ahorro del agua, debido a su uso excesivo y despilfarro, lo que resulta en una utilización ineficiente de dicho recurso y una alta descarga de aguas residuales (**Ren et al., 2022**).

Según la Secretaría Nacional del Agua (SENAGUA), menciona que del 100 % del agua que se distribuye para el consumo humano en el Ecuador, un porcentaje

aproximado del 70 % se vierte en los sistemas de alcantarillado. De dicho valor, el 55,8 % de agua residual es tratada, mientras que el otro 44,2 % es descargado directamente en pozos sépticos o canales sin un previo tratamiento (**Alarcón, 2019**). Además, el 61,86 % de los GAD Municipales del país realizan el tratamiento de agua residual, en tanto que el 38,14 % no lo hacen (**Arguello & Terán, 2021; INEC, 2016**).

Conceptualización de las aguas residuales

Se caracterizan como aquellas que contienen contaminantes originados por causas naturales y antropogénicas, dónde estos últimos pueden ser provocados de forma directa (desagües de viviendas) o indirecta (instalaciones agrícolas) por la actividad humana (**Borzooei et al., 2021**). Contienen impurezas disueltas y en suspensión, mismas que pueden ser materia orgánica biodegradable, orgánica no biodegradable e inorgánica, metales pesados, lixiviados de vertederos y patógenos que provienen de procesos industriales, aguas servidas de uso doméstico y municipal, como se muestra en la Figura 1 (**Shah & Shah, 2020**).

Las aguas residuales constituyen una forma no convencional de recurso hídrico que se ha desarrollado en los últimos años. Sin embargo, es necesario aplicar tratamientos que eliminen los contaminantes y aumenten su calidad (**World Health Organization, 2018**). De esta forma se asegura que se cumplan con los límites permisibles impuestos en el Texto Unificado de la Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente (TULSMA), previo a su vertido en fuentes de agua naturales como ríos, lagos, mares, etc. o a su vez para que puedan ser reutilizadas en el área agrícola (**TULSMA, 2017**).

Tipos de agua residual y componentes que presentan

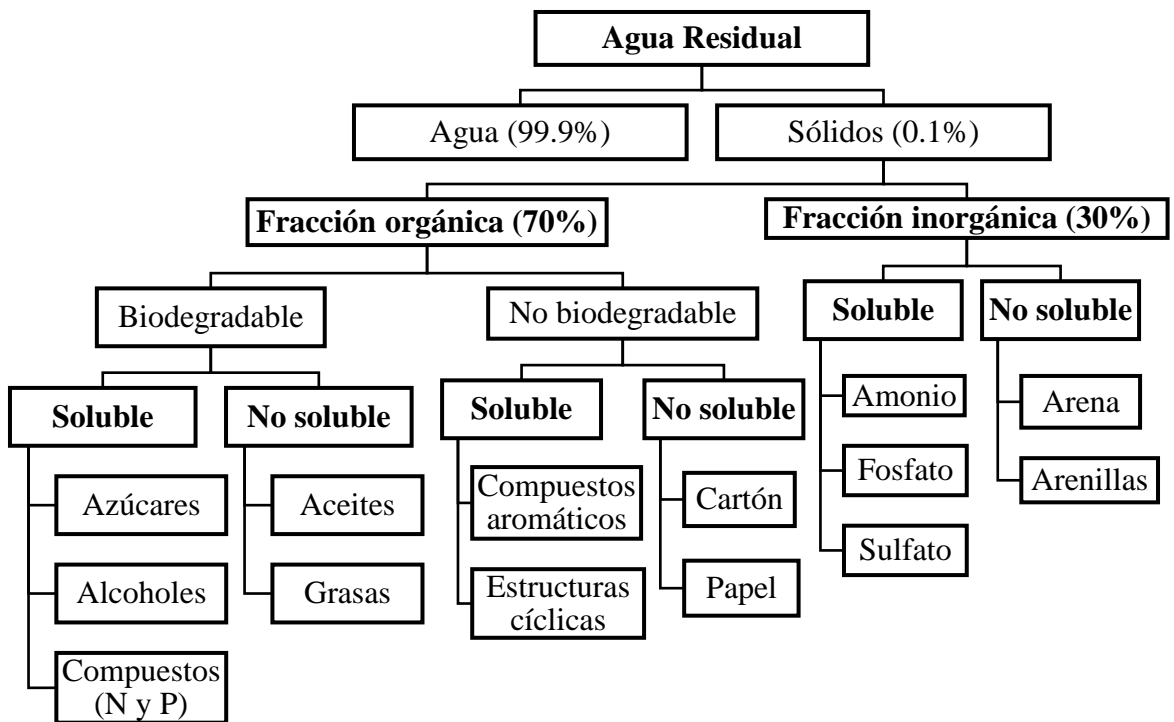
Según **Ali et al., (2021)**, existen diferentes tipos de agua residual de acuerdo a como estas se originan. Por un lado, se encuentran las aguas negras y son las que contienen el mayor porcentaje de patógenos, ya que, presentan desechos fecales y orina provenientes de inodoros. También se encuentran las aguas grises, que son aquellas

que contienen residuos de materia inorgánica como detergentes y jabones, resultantes del aseo personal o de la limpieza de la casa (Rout et al., 2021).

Adicionalmente, el agua proveniente de la lluvia, la nieve y el hielo se encuentra dentro de las aguas blancas y se las considera como un tipo de agua residual, puesto que, al ser arrastradas a través de la calle e integrarse al sistema de alcantarillado, pueden contener contaminantes orgánicos e inorgánicos. Así mismo, las aguas residuales industriales mantienen una composición variable de residuos, ya que, como su nombre lo indica son aquellas que se originan en diferentes tipos de industrias, ya sean, alimentarias, farmacéuticas, químicas, automotrices, etc (Ahmed et al., 2021).

Figura 1

Componentes orgánicos e inorgánicos del agua residual



Fuente. (Gray, 2004; Hughes & Gray, 2012)

1.1.2 Parámetros de caracterización analizados en la investigación

Según Borzooei et al., (2021), mencionan que existe un alto contenido de sustancias en aguas residuales, subterráneas y superficiales que resultan tóxicas y peligrosas para

el ecosistema y traen consigo problemas de salud pública cuando se emplean con fines domésticos o agrícolas. Por lo tanto, se ha desarrollado metodologías que evalúen las muestras, estableciendo índices de calidad, a partir de parámetros físicos y químicos, previo a su descarga en matrices de agua natural **(Hughes & Gray, 2012)**.

Entre los que más destacan, son el pH, pues este afectará a una gran cantidad de reacciones químicas y biológicas. El oxígeno disuelto es esencial, ya que, permite conocer las formas vivas aerobias en las que se encuentran los microorganismos. La temperatura es importante, puesto que, al ser un parámetro que provoca reacciones de degradación al disminuir la concentración de oxígeno, genera un mal aspecto del efluente y malos olores **(Rout et al., 2021)**. La conductividad al ser una medida de corriente que surge a través de iones disueltos permite determinar la cantidad de estos. La turbidez ayuda a verificar la eficiencia del tratamiento secundario, al relacionarse con los sólidos (totales y en suspensión) que se encuentran en la muestra **(Gray, 2004)**.

Por otro lado, la DQO y DBO, evalúan la medida y el impacto de la materia orgánica biodegradable, es decir, la DBO mide la cantidad de oxígeno consumido por los microorganismos al degradar la materia orgánica y la DQO es la cantidad de oxígeno que estequiométricamente se requiere para oxidar la materia orgánica hasta CO_2 , H_2O y NH_3 **(Rudaru et al., 2022)**. Por último, la medición de compuestos químicos como el arsénico, cromo hexavalente, cadmio, plomo, fosfato, amonio, nitrato, sulfato y cloruro es indispensable, debido a que son compuestos que deben mantenerse en los límites permisibles para que no se bioacumulen y atenten el bienestar ambiental, humano y animal **(Shah & Shah, 2020)**.

Legislación de descarga de agua residual en sistemas de alcantarillado público

Los valores permisibles de los parámetros de caracterización de aguas residuales obtenidas de la planta de tratamiento de Ambato que se consideran en el proyecto, establecidos según la Legislación Ecuatoriana en la Tabla 8, del libro VI, del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente, para la descarga de aguas residuales al sistema de alcantarillado público, considerando la periodicidad de monitoreo, los tipos de muestra y el número de estas. Son para el caso de arsénico

(0,1 mg/L), cadmio (0.002 mg/L), cloruro (1000 mg/L), cromo hexavalente (0,5 mg/L), sulfato (400 mg/L), plomo (0.5 mg/L), conductividad (500 – 1500 μ S/cm), DBO₅ (250 mg/L), DQO (500 mg/L), pH (6 – 9), sólidos suspendidos totales (220 mg/L), sólidos totales (1600 mg/L), temperatura (< 40 °C) y turbidez (< 20 NTU) (TULSMA, 2017).

1.1.3 Planta de tratamiento de aguas residuales de Ambato

La planta de tratamiento de aguas residuales “Las Viñas” ubicada al nororiente de la ciudad de Ambato, receipta entre 750 a 1200 L/s de agua residual de uso doméstico y agua residual proveniente de industrias alimenticias, textiles y de curtiembres que vierten sus líquidos en el sistema de alcantarillado, sin un previo tratamiento (Sierra, 2020). La capacidad media y máxima de tratamiento de depuración del agua receiptada por la planta es de 65 644 y 100 000 m³ por día, respectivamente, misma que es liberada en la cuenca baja del río Ambato (GAD, 2020).

Etapas de tratamiento

Las etapas para el tratamiento de dichas aguas son el pretratamiento, tratamiento primario, secundario y terciario (Quevauviller et al., 2006; Spellman, 2009). Cabe recalcar que además de estas etapas, también se tiene el tratamiento de sus subproductos como la sedimentación, recirculación, bombeo y almacenamiento de lodos, digestión aerobia, almacenamiento de gas, deshidratación de fangos y generación de energía eléctrica a partir de biogás (GAD, 2020; Sierra, 2020).

Pretratamiento

En el pretratamiento el agua residual llega a una cámara de bombeo y es sometida a un proceso de desbaste fino, donde el agua se pasa por rejas y tamices de diferente grosor para la eliminación de sólidos y material flotante de tamaño grande y mediano (palos, ramas, plásticos, trapos y vísceras) (Quevauviller et al., 2006; Spellman, 2009). Posteriormente, se retira la arena, grasa y partículas de menor tamaño, mediante

desarenadores y desengrasadores. En fin, con esta etapa inicia la depuración del agua residual y se libera de materiales que podrían ocasionar problemas de operación en la planta (GAD, 2020).

Tratamiento primario

Seguido de ello, empieza el tratamiento primario, donde su principal objetivo es la eliminación de la mayor parte de sólidos suspendidos, para ello, el agua se la deja en reposo durante 1 a 2 horas en decantadores, consiguiendo la separación de las partículas, homogeneización de caudal y en sí la eliminación de materia orgánica. Cabe recalcar que se puede añadir sustancias químicas como floculantes y coagulantes para que la sedimentación se optimice (GAD, 2020; Quevauviller et al., 2006; Spellman, 2009).

Tratamiento secundario

En el tratamiento secundario o biológico, se da la eliminación de materia orgánica, nutrientes como fósforo y nitrógeno, además de sólidos suspendidos remanentes, mediante el uso de microorganismos (lodos activados), que por lo general son bacterias heterótrofas facultativas, puesto que estas crecen de forma natural en el agua residual y transforman la materia orgánica particulada y disuelta en productos más simples, tales como el CO₂ y H₂O (Buitron et al., 2018; Spellman, 2009).

En esta etapa, el reactor biológico (RB) recibe el efluente clarificado del sedimentador primario (RP) y el agua residual del tanque de recirculación o aireador de biosólidos (RR), después que se ha dado la evacuación inicial de lodos y de impurezas de la superficie. Con la finalidad de formar, ya sea un ambiente aerobio, anaerobio o anóxico, mismo que depende de los componentes a eliminar (Quevauviller et al., 2006; Spellman, 2009). En el caso de PTAR, al ser la materia orgánica el principal sustrato a eliminar se provee concentraciones altas de oxígeno (ambiente aerobio) para que las bacterias aeróbicas lo descompongan y por lo tanto disminuya la DBO presente en el agua (GAD, 2020).

Tratamiento terciario

Es frecuente que en la mayoría de las plantas el proceso de tratamiento de aguas residuales finalice en el tratamiento secundario (**Crini & Lichtfouse, 2019**). Sin embargo, en PTAR es necesario aplicar el tratamiento terciario, ya que, su vertido va dirigido hacia el medio ambiente (cuenca baja del río Ambato). Con el fin de aumentar la calidad final del agua y eliminar agentes patógenos. Por lo que en esta etapa se realiza un proceso de desinfección, para lo que es habitual mezclar hipoclorito sódico con el agua que pasa paulatinamente desde los tanques de tratamiento secundario (**GAD, 2020**).

1.1.3 Metales pesados (arsénico, cromo hexavalente)

Los metales pesados y los metaloides se consideran entre los contaminantes más dañinos y su presencia en matrices ambientales como el suelo y el agua se ha convertido en una seria preocupación a nivel mundial (**Crini & Lichtfouse, 2019; Hou et al., 2020**). La peligrosidad de estos contaminantes se debe a su bioacumulación en sistemas bióticos y, por lo tanto, las concentraciones que se afrontan sobrepasan los estándares de calidad del agua diseñados para proteger la salud humana y animal, amenazando los uso agrícola e incluso para el proceso metabólico de microorganismos (**Aguilar et al., 2020; Kunhikrishnan et al., 2017**).

Debido a que los metales como el Cr (VI) y As no son requeridos para funciones biológicas y afectan el bienestar humano, animal y microbiológico al encontrarse en contacto con estos. Su presencia en matrices de agua considera niveles permisibles hasta de 0.5, y 0.1 mg/L, respectivamente (**TULSMA, 2017**). Además, el arsénico inhibe el crecimiento de las plantas, mantiene efectos cancerígenos e interrumpe la síntesis y reparación del ADN en humanos (**Mood et al., 2021; Zamora et al., 2021**). En tanto que la presencia de cromo puede provocar daño renal, hepático e incluso la muerte de la víctima, y en plantas ralentiza la tasa de fotosíntesis (**Kapoor & Singh, 2021**).

Por otro lado, los metales que no pueden degradarse por cambios en su estado de oxidación, se acumulan en el espacio periplasmático, la membrana y en el interior de la célula bacteriana (**Prasad et al., 2021**). De esta forma, cuando la célula se encuentra con altas concentraciones de ciertos metales pesados, estos son transportados al citoplasma y causan toxicidad (**Igiri et al., 2018**). Es decir, una vez que han entrado en la célula, forman enlaces coordinados con elementos que desplazan metales esenciales (Na, Ca), inhiben sistemas de transporte y bloquean grupos funcionales de enzima. Por aquella razón es importante comprender los efectos inhibitorios del As (V) y Cr (VI) sobre la respiración y el metabolismo de las bacterias (**Siddiquee et al., 2015**).

1.1.4 Inhibición de crecimiento de bacterias aeróbicas

Aunque hay diversas reacciones químicas que participan en el metabolismo de las bacterias, se puede identificar tres procesos que son fundamentales para la aplicación en el tratamiento biológico de las aguas residuales. Estos son la ingestión, la respiración y el crecimiento (**Kapoor & Singh, 2021**). Cabe recalcar que dichos procesos se encuentran estrechamente relacionados. Por tal motivo, cuando las sustancias químicas tóxicas entran al sistema de las bacterias, estas pueden inhibir una o varias enzimas de las vías que intervienen en las reacciones catabólicas o anabólicas (**Hartmann et al., 2020**).

En caso de que las reacciones catabólicas de la respiración sean inhibidas, disminuye la tasa de respiración, la producción de energía y, por lo tanto, la tasa de crecimiento. Mientras que, si se ven afectadas las vías anabólicas de la biosíntesis, se reduce la tasa de crecimiento, al igual que la tasa de respiración, puesto que ya no se requiere energía. Demostrando que los elementos tóxicos presentan efecto, tanto en la tasa de respiración como en la de biodegradación (**Aguilar et al., 2020; Hartmann et al., 2020**).

Estudios del efecto inhibitorio de arsénico en bacterias

De manera más específica, el arsénico existe en cuatro estados de oxidación diferente (As^{3-} , As^0 , As^{3+} , As^{5+}). Sin embargo, arsénico trivalente As (III) y pentavalente As (V) son los que mayor presencia mantienen en fuentes de agua, debido a su solubilidad en un rango amplio de pH y condiciones oxidantes, así pues, la toxicidad del arsénico va a depender de las condiciones ambientales (**Mainardis et al., 2021; Mood et al., 2021**). A pesar de que no existe gran cantidad de información de los efectos adversos que producen las especies inorgánicas del arsénico en los microorganismos, en comparación con los de los mamíferos. Se debe destacar que hay varias dianas de toxicidad de metales y mecanismos de tolerancia en microorganismos que se asemejan a los de organismos superiores (**De Francisco et al., 2021**).

Por ello, **De Francisco et al., (2021); Garbinski et al., (2019)** destacan los efectos adversos que causa el arsénico en algunas eucariotas como *Sacharomyces cereviciae*, donde afecta tres niveles celulares principales, mismos que son la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (1), el mal plegamiento y agregación de proteínas (2) y la inhibición de la reparación del ADN (3). Por lo que los resultados experimentales de sus estudios demostraron que, por un lado, el arsenito de sodio inhibía el crecimiento celular y causaba la pérdida de viabilidad celular de manera dependiente a la concentración. Además, **Johnson et al., (2016)**, mediante su estudio con 75 mutantes sensibles y resistentes a As, determinaron que la toxicidad de este metaloide se da por el daño de las proteínas.

Estudios del efecto inhibitorio de cromo hexavalente en bacterias

En el caso de cromo existen dos estados de oxidación Cr (III) y Cr (VI) de interés en el tratamiento de aguas residuales. No obstante, la toxicidad de cromo hexavalente es mayor ante la de la forma trivalente y se ha informado que es altamente mutagénico y cancerígeno. Dicho metal se encuentra en asociación con el oxígeno en compuestos como el cromato o dicromato en muestras de agua residual. Además, es permeable y altamente móvil en la membrana de las células bacterianas (**Mood et al., 2021; Prasad et al., 2021**).

En el estudio presentado por **Hartmann et al., (2020)**, se indica que ciertos tipos de microorganismos han desarrollado mecanismos para enfrentar concentraciones elevadas de metales pesados. Sin embargo, el grado relativo de inhibición máxima en la respiración en los microorganismos son $\text{Cr}^{+6} > \text{Cu}^{+2} > \text{Cd}^{+2} > \text{Ni}^{+2}$ para una planta con aguas residuales municipales (Ostrava) y $\text{Cr}^{+6} > \text{Cd}^{+2} > \text{Cu}^{+2} > \text{Ni}^{+2}$ para una planta de aguas residuales domésticas (Hermanice II). Donde el mayor porcentaje de efecto de inhibición es de 97 % en el agua proveniente de Hermanice II, para cromo hexavalente a una concentración de 4000 mg/L.

1.1.5 Estudios respirométricos

Se refieren al consumo de oxígeno por microorganismos presentes en muestras de agua residual o lodos activados en condiciones aeróbicas, ya que, se consume el oxígeno en una relación proporcional a la cantidad de materia orgánica presente en la muestra. Por lo tanto, este método se ha convertido en uno de los más empleados para la caracterización de aguas residuales. Así como para la evaluación de los efectos de inhibición que presentan algunas sustancias tóxicas en la biomasa (**Mainardis et al., 2021**).

Una de las primeras aplicaciones de dicha técnica fue reportada en 1924 por el fisiólogo Otto Heinrich Warburg al medir la oxidación de aguas residuales, misma que se basó en los cambios de presión de un gas que se encontraba en un medidor cerrado. Apoyándose en los principios del manómetro de Warburg, varios investigadores desarrollaron más técnicas manométricas, electrolíticas o a su vez mediante la medición directa del consumo de oxígeno como en el equipo Oxitop (**Mainardis et al., 2021**).

Por otro lado, **Hartmann et al., (2020)**, en su estudio acerca de la inhibición de la respiración de lodos activados por metales pesados, mencionan que los metales analizados (Cr^{+6} , Cd^{+2} , Cu^{+2} y Ni^{+2}), al considerar su límite de solubilidad y valores medios de concentración detectados en la planta, obtuvieron un perfil evidente de inhibición sobre la actividad de la biomasa. Lo que refleja un efecto bacteriostático,

donde el aumento de concentraciones (10 mg/L hasta 4000 mg/L) conduce a la mortalidad.

Por los antecedentes mencionados, hoy en día es una de las pruebas preferidas para el caso de cultivos heterogéneos de microorganismos. Donde el método estandarizado para probar los efectos de inhibición de sustancias tóxicas sobre la actividad respiratoria de los microorganismos se describe en la normativa ISO 8192:2007 y trata de la medición de la inhibición de la respiración causada por 5 concentraciones de componentes tóxicos en aguas residuales, frente a una muestra control (ISO 8192, 2007; Mainardis et al., 2021).

Importancia

Debido a que la respiración es una actividad esencial de las bacterias aerobias. Su importancia radica en que los estudios respirométricos son un factor determinante para la evaluación del riesgo ecotoxicológico que presentan las sustancias químicas como metales pesados y metaloides en las aguas residuales (**Chai et al., 2021**). Es decir, la respiración se emplea para evaluar la toxicidad que se genera en las bacterias nitrificantes y heterótrofas de los lodos activados que sirven en el tratamiento biológico (**Hartmann et al., 2020; Lember et al., 2018**).

Adicionalmente, a diferencia de otras técnicas como la bioluminiscencia, la respirometría se considera un método más directo que mide la actividad biológica de los lodos y, por tanto, la toxicidad de estos. Siendo la base de las pruebas respirométricas, la disminución de la tasa de respiración que conservan los microorganismos con la presencia de sustancias tóxicas; donde la forma más frecuente de medición es mediante el consumo de oxígeno (**Hartmann et al., 2020**).

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

Evaluar el consumo de oxígeno de las bacterias aeróbicas presentes en aguas residuales de la planta de tratamiento de Ambato (PTAR) contaminadas con metales pesados (arsénico y cromo hexavalente), durante el periodo octubre 2022 – marzo 2023.

1.2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar las propiedades físicas y químicas del agua residual proveniente de la planta de tratamiento de Ambato.
- Determinar la tasa de consumo de oxígeno de bacterias aeróbicas en función de la concentración de los metales pesados en muestras de agua residual.
- Estimar el índice de toxicidad que mantiene el arsénico y el cromo hexavalente en el crecimiento de las bacterias aeróbicas de aguas residuales.

1.3 Hipótesis

1.3.1 Hipótesis nula

Ho: Las mediciones de DBO_5 aumentan cuando las concentraciones de metales evaluadas son mayores.

1.3.2 Hipótesis alterativa

Ha: Las mediciones de DBO_5 disminuyen o se mantienen constantes cuando las concentraciones de metales evaluadas son mayores.

1.4 Variables

1.4.1 Variables independientes

1.4.1.1 Caracterización de agua residual

Muestras de los tres puntos: 1) Efluente clarificado del sedimentador primario. 2) Licor mezcla del reactor biológico. 3) Tanque de recirculación de biosólidos.

1.4.1.2 Bioensayos de toxicidad microbiana

Concentraciones de arsénico As (V) y cromo Cr (VI), añadidas en el agua residual.

1.4.2 Variables dependientes

1.4.2.1 Caracterización de agua residual

Resultados obtenidos de los parámetros determinados (potencial hidrógeno, oxígeno disuelto, temperatura, conductividad, turbidez, arsénico, cromo hexavalente, fosfato, amonio, nitrato, sulfato, cloruro, sólidos: ST, SV, SST, SSV, demanda química de oxígeno y demanda bioquímica de oxígeno).

1.4.2.2 Bioensayos de toxicidad microbiana

Tasa de consumo de oxígeno e índices de toxicidad al 20 %, 50 % y 80 %.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1 Materiales

En las Tablas 1, 2 y 3 se observan los equipos, instrumentos y reactivos de laboratorio que se utilizaron en la parte experimental del proyecto de integración curricular, acerca de la evaluación de consumo de oxígeno por bacterias aeróbicas presentes en el agua residual de la planta de tratamiento de Ambato.

Tabla 1

Descripción de equipos de laboratorio

Equipos	Descripción
Balanza analítica Radwag	Se empleó para el pesaje de reactivos.
Digestor de microondas Ethos Up	Se empleó para la digestión de muestras de agua residual, previo al análisis de arsénico y cromo total.
Digestor COD Reactor Hi 839800	Se empleó para la digestión de muestras de agua residual, previo a la medición de DQO y cromo hexavalente.
Equipo de filtrado al vacío Welch	Fue utilizado en la separación de componentes sólidos del agua residual, para la determinación de iones no metálicos y SST.
Equipo OxiTop® - IDS	Se empleó para los estudios de consumo de oxígeno, mediante la DBO ₅ . El equipo cuenta con una bandeja agitadora, frascos ámbar, cabezales medidores, soportes de goma e imanes de agitación.
Espectrofotómetro de absorción atómica con horno	Se utilizó en la detección de metales pesados en las muestras de agua residual.

de grafito y lámparas PG Instruments A500	
Estufa (Horno Binder)	Se empleó para secar las muestras y determinar los ST y SST.
Fotómetro multiparamétrico Hanna HI 83399	Se utilizó para determinar iones no metálicos, cromo hexavalente y DQO.
Incubadora (Lab incubator)	Se empleó para proveer una temperatura constante (20 °C) en la determinación de DBO ₅ .
Medidor multiparámetro HI 9829	Se empleó para las mediciones de los parámetros que requerían ser analizados <i>in situ</i> .
Mufla Biobase	Fue utilizada para generar cenizas y determinar los SV y SSV.
Plancha de agitación VWR	Fue empleada para mantener en agitación el medio enriquecido durante 24 horas.
Refrigeradora LG	Fue empleada para almacenar las muestras de agua residual recolectadas.
Turbidímetro LaMotte	Fue utilizado para determinar la turbidez de las muestras.

Nota. Los equipos descritos, se encuentran disponibles en los laboratorios de la Unidad Operativa de la Dirección de Investigación y Desarrollo (UODIDE) de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Tabla 2*Descripción de instrumentos e insumos de laboratorio*

Materiales	Descripción
Balones volumétricos	Fueron utilizados para la realización de soluciones.
Bolsas de hielo	Fueron empleadas para mantener las muestras a 4 °C, en el transporte desde la planta hacia el laboratorio.
<i>Cooler</i>	Se lo empleó como contenedor para mantener las muestras a 4 °C, en el transporte desde la planta hacia el laboratorio.
Crisoles	Fueron empleados en la determinación de sólidos.
Frascos de vidrio ámbar	Recipientes en los que se recogió las muestras.
Gradillas	Fueron empleadas para colocar los tubos de vidrio al momento de realizar las digestiones de las muestras.
Imán agitador	Es parte del equipo de OxiTop® - IDS, se lo empleó para generar un campo magnético en las muestras y que se logre mezclar homogéneamente.
Muestreador	Fue empleado para recoger el AR de los reactores.
Papel aluminio	Se empleó para pesar los reactivos utilizados.
Papel filtro	Material que se utilizó para filtrar las muestras y eliminar contaminantes sólidos.
Pipetas graduadas y micropipetas	Fueron empleadas para medir con precisión el volumen de las muestras a utilizar.
Pinzas	Se emplearon para pesar los crisoles y para introducirlos en la mufla.
Puntas de micropipetas	Se utilizaron en las micropipetas para tomar el volumen exacto de muestras y agua destilada.
Tubos de ensayo	Se emplearon para colocar las muestras al momento de realizar la digestión.
Vasos de precipitación	Se utilizaron para realizar las diferentes diluciones.

Nota. Los materiales descritos, se encuentran disponibles en los laboratorios académicos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Tabla 3*Descripción de reactivos de laboratorio*

Reactivo	Fórmula	Descripción
Ácido sulfúrico	H ₂ SO ₄	Se utilizó para la digestión de muestras.
Ácido nítrico	HNO ₃	Se utilizó para hacer las digestiones de las muestras de agua residual.
Agua destilada	H ₂ O	Se usó para realizar soluciones y lavados.
Agua residual	H ₂ O	Agua problema, que fue considerada para los estudios. Provino de la planta de tratamiento de agua residual de la ciudad de Ambato.
Arseniato de sodio dibásico heptahidratado	Na ₂ HAsO ₄ ·7H ₂ O	Se utilizó para realizar los ensayos de inhibición de arsénico para la medición de DBO ₅ .
Cloruro de amonio	NH ₄ Cl	Se empleó para realizar un enriquecimiento del agua residual.
Dicromato de potasio	K ₂ Cr ₂ O ₂	Se utilizó para realizar los ensayos de inhibición de cromo hexavalente para la medición de DBO ₅ .
Fosfato monopotásico	KH ₂ PO ₄	Se utilizó para realizar un enriquecimiento del agua residual.
Glucosa	C ₆ H ₁₂ O ₆	Se empleó para realizar un enriquecimiento del agua residual.
Hidróxido de sodio	NaOH	Sustancia que se utilizó para recoger el CO ₂ para que la presión no aumente en la determinación de la DBO ₅ .
Solución digestora	-	Se utilizó para la digestión de muestras.

Nota. Los reactivos descritos, se encuentran disponibles en los laboratorios de la UODIDE de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

2.2 Métodos y técnicas

2.2.1 Toma de muestra, transporte y conservación

La toma de muestra se realizó en la planta de tratamiento de aguas residuales de Ambato, ubicada en Las Viñas, al norte de la ciudad. Para ello, se contó con envases ámbar de vidrio de 500 ml, 1000 ml y 2.5 L, limpios, secos y correctamente etiquetados de modo que se indicaba el código, nombre de la muestra, réplica, la fecha y la hora, como se observa en el Anexo 12, Foto 3 (INEN, 2013, 2014). Antes de llenar los envases, fue necesario lavarlos de 2 a 3 veces con el agua que se iba a recoger. Algunos parámetros como la conductividad, oxígeno disuelto, pH y temperatura, se determinaron *in situ*, debido a su variación indefectible. Una vez finalizado el muestreo, se cerraron herméticamente las botellas para que se conserven las propiedades originales del material, tal y como se establece en las normativas: NTE INEN, 2176:2013 y NTE INEN-ISO 5667-1:2014.

Con la ayuda de un muestreador se tomó el agua residual del tanque de mezcla del sedimentador primario (RP) y se llenó 2 frascos de 1000 ml para su caracterización y otro de 500 ml, previamente acidificado con 0.5 ml de ácido nítrico para la determinación de metales. De manera similar, se llenó 2 frascos de 1000 ml y otro de 500 ml acidificado con agua residual del tanque de recirculación (RR). Además, se llenó 4 frascos de 2.5 L con agua residual del reactor biológico (RB). En el Anexo 2, se observa la cadena de custodia que otorgó la planta de tratamiento, misma que constó con los parámetros determinados *in situ*, así como las coordenadas de cada muestra.

Finalmente, el material fue transportado en coolers con hielo hacia los laboratorios (canje de deuda y análisis ambiental), encontrados en la UODIDE de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato. Cabe mencionar que las muestras recolectadas, se almacenaron en una refrigeradora a una temperatura entre 3 a 5 °C, hasta su correspondiente análisis (INEN, 2014).

2.2.2 Preparación de las muestras

El agua residual que se empleó se trata de muestras solubles o disueltas, mismas que fueron filtradas con el equipo de filtrado al vacío Welch para eliminar partículas sólidas de mayor tamaño, también se realizó diluciones con agua destilada o se acidificó con ácido nítrico, de acuerdo a lo que correspondía para cada análisis, en base a la norma *NTE INEN-ISO 5667-1:2014* (Aguilar et al., 2020; INEN, 2014).

2.2.3 Caracterización de la muestra

Los parámetros que se caracterizaron en el material tomado de la planta de tratamiento de aguas residuales de Ambato (Tabla 4), fueron analizados bajo la adaptación de los protocolos descritos en el *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23 Ed* (Baird et al., 2017).

Tabla 4

Parámetros de caracterización aplicados a las muestras de AR de la PTAR Ambato

Parámetro	Método de referencia
Amonio	<i>SM Ed. 23 – 4500 (NH₄⁺)</i>
Arsénico	<i>SM Ed. 23 – 3500 (As)</i>
Cloruro	<i>SM Ed. 23 – 4500 (Cl)</i>
Conductividad	<i>SM Ed. 23 – 2510 B</i>
Cromo hexavalente	<i>SM Ed. 23 – 3500 (Cr)</i>
Demanda bioquímica de oxígeno	<i>SM Ed. 23 - 5210</i>
Demanda química de oxígeno	<i>SM Ed. 23 - 5220</i>
Fosfato	<i>SM Ed. 23 – 4500 (PO₄³⁻)</i>
Nitrato	<i>SM Ed. 23 – 4500 (NO₃⁻)</i>
Oxígeno disuelto	<i>SM Ed. 23 – 4500 (O)</i>
Potencial hidrógeno	<i>SM Ed. 23 – 4500B (H⁺).</i>
Sólidos (ST, SV, SST, SSV)	<i>SM Ed. 23 – 2540 B, C, E, G</i>
Sulfato	<i>SM Ed. 23 - 4500 (SO₄²⁻)</i>

Temperatura

SM Ed. 23 – 2550 B

Turbidez

SM Ed. 23 – 2130 C

Nota. Los métodos de referencia fueron obtenidos del Libro *Standard Methods Ed. 23* (SM Ed. 23). *Fuente.* (Baird et al., 2017).

2.2.3.1 Potencial de hidrógeno (pH), oxígeno disuelto (OD), temperatura (°C) y conductividad (µS/cm).

La determinación del pH, OD, temperatura y conductividad se realizó *in situ*. Para la medición se usó el medidor multiparámetro HI 9829, equipado con sus respectivas sondas de detección. Previo a las lecturas el medidor tuvo que ser calibrado de acuerdo con el manual Hi 9829 (HANNA instruments, 2021). Entonces, el equipo se introdujo en los reactores en los que se iba a recoger las muestras y se esperó entre 5 a 10 minutos hasta que se estabilice. Finalmente, se anotó los valores obtenidos y se realizó tres réplicas. Cabe recalcar que los datos fueron tomados como correctos siempre y cuando las anotaciones se diferenciaban en un máximo de 0.2 de la media, caso contrario se debía repetir las mediciones (Baird et al., 2017).

2.2.3.2 Turbidez

Para la determinación de la turbidez se usó el turbidímetro LaMotte previamente calibrado. Se emplearon muestras que fueron almacenadas a 4 °C y se las colocó en las cubetas que contenía el equipo. En primera instancia se realizó la medición de un blanco y seguido de ello, la muestra a analizar fue agitada tenuemente para que se homogenice y se esperó a que quede libre de burbujas de aire, luego se colocó 10 ml en una cubeta, se la llevó al equipo e inmediatamente se obtuvo las lecturas por triplicado y reportó los valores en unidades nefelométricas de turbidez (NTU) (Baird et al., 2017).

2.2.3.3 Metales pesados (arsénico y cromo)

Para determinar arsénico y cromo total en las muestras de agua residual se usó el espectrofotómetro de absorción atómica con horno de grafito y lámparas PG

Instruments A500 (**PG instruments, 2022**). Previo a este paso, el material contenido en los frascos ámbar fue digerido bajo una adaptación del protocolo *Standard Methods Ed. 23 3030 D* en el digestor de microondas Ethos Up (**Baird et al., 2017**).

Para ello, primero se colocó 45 ml de agua residual de los tres reactores y 5 ml de ácido nítrico, en 3 tubos que contenía el equipo, donde se acumuló un volumen total de 50 ml en cada uno. Luego se tapó bien los tubos, se invirtieron varias veces para que se mezcle el contenido completamente y se colocó durante 1 hora en el microondas para que se digiera. Por consiguiente, se dejó enfriar durante 15 minutos, se traspasó el contenido de los tubos a balones volumétricos de 100 ml y se aforó. Por último, se transfirió a botellas ámbar de 250 ml y se almacenó a una temperatura entre 3 a 5 °C para los respectivos análisis (**Baird et al., 2017**).

Una vez que las muestras fueron digeridas, el espectrofotómetro se configuró a la temperatura y longitud de onda de cada metal (de acuerdo con el *Analytical Cookbook PG Instruments AA500*), mismos que fueron 193.7 nm y 357.9 nm, para arsénico y cromo, respectivamente (**PG instruments, 2022**). Se añadió entre 2 a 3 ml de las muestras digeridas en viales que luego fueron colocados en el equipo. Por último, se esperó entre 7 a 8 minutos y se registró los datos (absorbancia, concentración, SD y % RSD) que reportó el espectrofotómetro. Cabe recalcar, que debido a que el equipo registra valores muy pequeños (ppb), en algunos casos fue necesario realizar diluciones de las muestras (**Baird et al., 2017**).

Adicionalmente, para la determinación de cromo hexavalente se empleó el fotómetro multiparamétrico Hanna HI 83399 y se utilizaron muestras filtradas. Como paso previo a la medición el equipo se calibró y ajustó al rango y resolución de medición que se detalla en el manual del fotómetro HI 83399. El agua residual fue homogenizada, luego se colocó 10 ml de esta en una de las cubetas con las que contaba el equipo. Para las mediciones, primero se realizó la lectura como un blanco, enseguida se procedió a disolver los reactivos necesarios que se indicaban en la metodología propuesta en el manual del equipo. Cabe mencionar que cuando las muestras no cumplían el rango de medición fue necesario realizar diluciones (**HANNA instruments, 2021**). Por último, se registró los valores obtenidos en unidades de mg/L y se los expresó en Cr (VI)

2.2.3.4 Iones no metálicos

Los iones no metálicos como el fosfato, amonio, nitrato, sulfato y cloruro se determinaron en el Fotómetro Multiparamétrico Hanna HI 83399. Previo a la medición el equipo tuvo que estar calibrado y ajustado al rango y resolución de medición que se detalla en el manual del fotómetro HI 83399 (**HANNA instruments, 2021**). Cabe recalcar que se empleó muestras previamente filtradas y refrigeradas a temperaturas entre 3 y 5 °C (**INEN, 2013**).

En primera instancia la muestra fue agitada para que se homogenice y se esperó a que quede libre de burbujas de aire, luego se aplicó la metodología explicada en el manual del equipo para las respectivas mediciones. En la que se debía colocar 10 ml de la muestra a analizar en una de las cubetas que contenía el equipo, luego se realizó la lectura de este como un blanco e inmediatamente se procedió a disolver los reactivos necesarios que se indicaba para cada ion. Cabe mencionar, que cuando las muestras no cumplían el rango de medición fue necesario realizar diluciones (**HANNA instruments, 2021**). Por último, se registró los valores obtenidos en unidades de mg/L y se los expresó como se indica en la Tabla 5.

Tabla 5

Rango de detección de iones no metálicos

Ion no metálico	Rango de detección	Expresado como
Amonio	0.00 a 30.0	NH ₄ ⁺
Cloruro	0.00 a 20.0	Cl ⁻
Fosfato	0.00 a 30.0	PO ₄ ³⁻
Nitrato	0.00 a 30.0	NO ₃ ⁻
Sulfato	0.00 a 150	SO ₄ ²⁻

Nota. Valores del rango de detección, resolución y forma de expresión de los iones no metálicos para la caracterización de aguas residuales de la planta de tratamiento de Ambato. *Fuente.* (**HANNA instruments, 2021**).

2.2.3.5 Sólidos

Sólidos totales (ST)

En primera instancia, se pesó 9 crisoles vacíos (previamente tarados en la mufla a 550 °C durante 30 minutos) en la balanza analítica Radwag. Cada crisol correspondió a tres réplicas de agua residual recogida del sedimentador primario y reactores biológico y de recirculación. A continuación, se tomó 10 ml de cada una de las muestras, bien homogeneizadas y se las colocó en cada crisol. Luego fueron sometidos a una temperatura entre 103 a 105 °C durante 24 horas en la estufa (horno Binder) y una vez que transcurrió dicho tiempo se tomó el peso. Para finalizar, se realizó una diferencia de peso según la ecuación 1, donde PCM_s , PC y V_m , indican el peso del crisol más la muestra seca, el peso del crisol vacío y el volumen de la muestra, respectivamente (**Baird et al., 2017**).

$$ST \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{PCM_s - PC}{V_m} \quad (1)$$

Sólidos volátiles (SV)

Los crisoles obtenidos en la determinación de ST, fueron sometidos a 550 °C durante 3 a 4 horas en la mufla Biobase y una vez que salieron se pesó las cenizas. Para finalizar, se realizó una diferencia de peso según la ecuación 2, donde PCM_s , PCZ y V_m , indicaban el peso del crisol más la muestra seca, el peso del crisol más las cenizas y el volumen de la muestra, respectivamente (**Baird et al., 2017**).

$$SV (g/L) = \frac{PCM_s - PCZ}{V_m} \quad (2)$$

Sólidos suspendidos totales (SST)

Se determinó los sólidos suspendidos totales de las muestras mediante una filtración en papeles filtro de 4.7 cm de diámetro (previamente pesados) que se los colocó en el equipo de filtrado al vacío. Entonces, se añadió 30 ml de las muestras en el equipo, se filtró y después, los sólidos retenidos en el papel filtro se los sometió a 105 °C durante 24 horas en la estufa. Por último, se pesó y se hizo una diferencia de peso según la

ecuación 3 para la determinación de la cantidad de sólidos suspendidos totales presentes. Donde PFM_s, PF y V_m, indican el peso del filtro más la muestra seca, el peso del filtro y el volumen de la muestra, respectivamente (**Baird et al., 2017**).

$$SST(g/L) = \frac{PFM_s - PF}{V_m} \quad (3)$$

Sólidos suspendidos volátiles (SSV)

Los papeles filtro con muestra seca obtenidos en la determinación de SST fueron colocados en crisoles vacíos, previamente tarados y se los sometió a 550 °C durante 3 a 4 horas en la mufla y una vez que transcurrió dicho tiempo se pesó las cenizas. Por último, se obtuvo el valor de los SSV, mediante una diferencia de peso según la ecuación 4, donde PFM_s, PFZ y V_m, indicaban el peso del filtro más la muestra seca, el peso del filtro más las cenizas y el volumen de la muestra, respectivamente (**Baird et al., 2017**).

$$SST(g/L) = \frac{PFM_s - PFZ}{V_m} \quad (4)$$

2.2.3.6 Demanda química de oxígeno (DQO)

La DQO se determinó en el Fotómetro Multiparamétrico Hanna HI 83399. Previo a la medición el equipo tuvo que ser calibrado y ajustado al rango y resolución de medición que se detalla en el manual del equipo (**HANNA instruments, 2021**). Cabe recalcar que se emplearon muestras refrigeradas a temperaturas entre 3 y 5 °C, mismas que fueron digeridas de acuerdo con el protocolo Standard Methods Ed. 23 3030 D.

Para la digestión se colocó 2.5 ml de agua residual, 1.5 ml de solución digestora y 3.5 ml de ácido sulfúrico en 9 tubos de vidrio y uno adicional con agua destilada en vez de muestra (control), acumulando un volumen total de 7.5 ml en cada uno. Luego se tapó bien los tubos, se los invirtió varias veces para que se mezcle el contenido completamente y se los colocó durante 2 horas a 150 °C en el digestor COD Reactor

Hi 839800 para que se digiera. Como siguiente paso, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se colocó los tubos en gradillas (Baird et al., 2017). Para finalizar, una vez que las muestras fueron digeridas, se realizó las lecturas por triplicado en el fotómetro y se registró los valores obtenidos en unidades de mg/L.

2.2.3.7 Demanda bioquímica de oxígeno (DBOs)

Para realizar el análisis de la DBO se empleó el equipo OxiTop® - IDS, donde su funcionamiento se basó en la medición de la presión del sistema cerrado (botella de vidrio), cuando los microorganismos presentes en las muestras consumían el oxígeno, a la vez que producían CO₂ (Xylem Analytics, 2020). Como primer paso, fue necesario determinar la DQO con la finalidad de obtener un valor de volumen de muestra estimado para utilizar en los experimentos de la DBO, de acuerdo con los manuales del equipo (Tabla 6).

Una vez que se encontró el valor teórico del volumen a utilizar, se lo colocó con la ayuda de pipetas y micropipetas en cada botella que son parte del equipo, se añadió el imán agitador y la cápsula de goma en la que se colocó 2 bolitas de sosa o NaOH (recogen el CO₂ para que la presión no aumente). Finalmente se tapó con el cabezal medidor, se ubicó las botellas en la bandeja agitadora y se incubó durante 5 días a 20 °C (Baird et al., 2017; Xylem Analytics, 2020).

Tabla 6

Volumen teórico de muestra de acuerdo con rangos de DQO

Volumen de la muestra (ml)	Rango de medición (DQO)	Factor de multiplicación
22,7	0 – 4000	100
43,5	0 – 2000	50
97	0 – 800	20
164	0 – 400	10
250	0 – 200	5

365	0 – 80	2
432	0 – 40	1

Nota. Valores del volumen teórico que se utilizaron en el equipo OxiTop para los análisis de DBO, de acuerdo con el rango de DQO previamente obtenido en las muestras de agua residual. *Fuente:* (Baird et al., 2017; Xylem Analytics, 2020).

2.2.4 Ensayos de toxicidad microbiana

Para los ensayos de toxicidad microbiana se emplearon arseniato de sodio dibásico heptahidratado al 99,4 % y dicromato de potasio al 99,9 %, para el caso del arsénico y cromo hexavalente, respectivamente. Los valores con una concentración de microgramo por litro (ppm) utilizados se encuentran detallados en la Tabla 7. Dichos valores, fueron considerados a partir de estudios de inhibición o tolerancia que mantienen los microorganismos de diferentes matrices a dichos metales (Çeçen et al., 2010; Hartmann et al., 2020; Peinado et al., 2014). Cabe recalcar que se realizó un enriquecimiento del AR con nutrientes como cloruro de amonio, fosfato monopotásico y glucosa, para mantener la biomasa en condiciones adecuadas.

Tabla 7

Concentraciones de metales empleados en los bioensayos de toxicidad

Ensayos	Control	1	2	3	4	5	6
Arsénico V (mg/L)	0	100	1000	2000	3000	5000	10000
Cromo VI (mg/L)	0	25	50	100	200	-	-

2.2.4.1 Medición de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅) mediante el método con el equipo de OxiTop® - IDS.

El volumen encontrado para los ensayos de DBO en el apartado 2.2.3.7, fue empleado para los bioensayos con metales, mismo que fue de 43.5 ml. Entonces se colocó el volumen a utilizar, con la ayuda de pipetas y micropipetas en cada botella que son parte del equipo, se añadió el imán agitador y la cápsula de goma en la que se colocó 2 bolitas de sosa o NaOH, luego de ello se añadió la cantidad necesaria de arseniato

de sodio dibásico heptahidratado o de dicromato de potasio (Tabla 7), dependiendo del análisis del metal que se realizaba. Finalmente se tapó las botellas con los cabezales medidores, se las ubicó en la bandeja agitadora y se incubó durante 5 días a 20 °C (Baird et al., 2017; Xylem Analytics, 2020). Cabe mencionar que, al transcurrir dicho tiempo y retirar las muestras de la incubadora, el equipo otorgaba los valores de DBO de cada día (5 días).

2.2.4.2 Determinación de la tasa de consumo de oxígeno

A partir de las lecturas de DBO determinadas en el apartado 2.2.4.1, se procedió a realizar las gráficas respectivas para la tasa de consumo de oxígeno de acuerdo con 6 ensayos para arsénico y 4 ensayos para cromo hexavalente. En dónde el *eje x* correspondió al tiempo en días (dt), mientras que en el *eje y* se colocó los valores de la DBO ($d DBO_t$) en miligramos sobre litro (mg/L) obtenidos para cada concentración del metal (C_{metal}). Luego, se realizó una regresión lineal en donde se obtuvo la ecuación de la recta para cada gráfica y la pendiente correspondió a la tasa de consumo de oxígeno obtenidos en los ensayos de cada metal (r_{metal}), definida según la ecuación 5.

$$r_{metal} = \left(\frac{d DBO_t}{dt} \right)_{C_{metal}} \quad (5)$$

Seguido de ello, se graficó las concentraciones de los metales (*eje x*), respecto a la tasa de consumo de oxígeno de cada ensayo (*eje y*) y su actividad máxima de degradación de materia orgánica (AMD) determinada mediante la ecuación 6, es decir, la tasa de consumo de oxígeno de cada ensayo, respecto a la tasa de consumo de oxígeno del control.

$$AMD (\%) = 100 * \frac{r_{Metal}}{r_{Control}} \quad (6)$$

2.2.5 Cálculos de índices de toxicidad

Los índices de toxicidad se calcularon en base a la ecuación 7 (Hartmann et al., 2020), donde I % correspondió al 20, 50 y 80 % de la reducción de la tasa de consumo de oxígeno de cada metal (r_{Metal}), respecto a la tasa de consumo de oxígeno sin presencia de los metales evaluados ($r_{Control}$). Seguido de ello, se realizó interpolaciones y extrapolaciones, según fuera el caso, con la finalidad de obtener las concentraciones inhibitorias (IC_{20} , IC_{50} e IC_{80}), correspondiente a cada metal.

$$I(\%) = \left(1 - \frac{r_{Metal}}{r_{Control}}\right) * 100 \quad (7)$$

Finalmente, se realizó la gráfica de las concentraciones de los metales pesados que causan dichas inhibiciones, sobre la actividad metabólica o velocidad de oxidación (consumo de oxígeno) de las bacterias aerobias presentes en las muestras de agua residual de PTAR. Es decir, a que concentraciones de As (V) y Cr (VI) disminuye la actividad a un 20, 50 y 80 %, respecto a la actividad de los ensayos control que no son inhibidos. En dónde el *eje x* correspondió a la concentración de los metales añadidos, mientras que en el *eje y* se colocó los valores obtenidos de la inhibición, expresados en porcentaje.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis y discusión de los resultados

3.1.1 Caracterización de las muestras de agua residual obtenidas de tres puntos del tratamiento secundario

En la Tabla 8 se muestran los resultados de la caracterización física y química de las muestras de agua residual pertenecientes a tres puntos del tratamiento secundario de la planta de tratamiento de aguas residuales de Ambato, mismos que son: el efluente clarificado del sedimentador primario (RP), el licor mezcla del reactor biológico (RB) y del tanque de recirculación de biosólidos (RR). Así mismo, se observa los límites permisibles para su descarga al sistema de alcantarillado público, establecidos según la Legislación Ecuatoriana en la Tabla 8, del libro VI.

Tabla 8

Resultados de la caracterización del agua residual proveniente de tres puntos del tratamiento secundario de la PTAR Ambato

Parámetro	Expresado como:		Reactor secundario									Límites de AR para descarga al sistema de alcantarillado (Anexo 3)
			Efluente clarificado del sedimentador primario (RP)			Licor mezcla del reactor biológico (RB)			Reactor de recirculación de biosólidos (RR)			
Amonio	mg/L	NH ₄ ⁺	28,97	±	0,18	35,30	±	0,01	25,30	±	0,03	-
Arsénico	µg/L	As	11,763	±	0,022	14,709	±	0,002	15,025	±	0,002	100 µg/L
Cadmio	µg/L	Cd	4,354	±	0,006	5,474	±	0,006	3,944	±	0,002	20 µg/L
Cloruro	mg/L	Cl ⁻	15,33	±	0,21	55,33	±	0,21	35,33	±	0,15	1000 mg/L
Conductividad	µS/cm		770	±	8	645	±	1	689	±	3	500 - 1500 uS/cm
Cromo hexavalente	µg/L	Cr ⁶⁺	10,67	±	0,58	11,33	±	1,15	25,67	±	0,58	500 µg/L
Cromo Total	mg/L	Cr	2,169	±	0,001	16,940	±	0,010	26,899	±	0,015	-
DBO ₅	mg L		243	±	15	1150	±	50	1250	±	50	250 mg/L
DQO soluble	mg L		44	±	5	92	±	3	103	±	2	-
DQO total	mg L		480	±	45	2298	±	47	2447	±	44	500 mg/L
Fosfato	mg/L	PO ₄ ³⁻	5,5	±	0,2	9,4	±	0,1	8,3	±	0,2	-
Nitrato	mg/L	NO ₃ ⁻	5,4	±	0,1	7,0	±	0,1	4,8	±	0,1	-

Parámetro	Expresado como:		Reactor secundario									Límites de AR para descarga al sistema de alcantarillado (Anexo 3)
			Efluente clarificado del sedimentador primario (RP)			Licor mezcla del reactor biológico (RB)			Reactor de recirculación de biosólidos (RR)			
Oxígeno Disuelto	mg/L	O ₂	4,20	±	0,01	2,48	±	0,04	3,09	±	0,02	-
pH			7,84	±	0,02	7,35	±	0,02	7,20	±	0,05	6 - 9
Plomo	µg/L	Pb	64,97	±	0,01	38,75	±	0,01	13,85	±	0,01	500 µg/L
Sólidos totales	mg/L	ST	503	±	35	1970	±	36	2320	±	50	1600 mg/L
Sólidos suspendidos totales	mg/L	SST	133	±	29	1146	±	35	1596	±	31	220 mg/L
Sólidos suspendidos volátiles	mg/L	SSV	98	±	8	552	±	16	729	±	18	-
Sólidos volátiles	mg/L	SV	263	±	31	887	±	40	1060	±	46	-
Sulfato	mg/L	SO ₄ ²⁻	47,3	±	0,6	42,7	±	0,6	32,7	±	0,6	400 mg/L
Temperatura	°C		17,62	±	0,04	17,79	±	0,01	17,52	±	0,10	< 40 °C
Turbidez	NTU		32	±	2	173	±	1	172	±	1	< 20 NTU

Nota. Valores obtenidos en la caracterización del agua residual de PTAR. Cabe recalcar que dicho apartado (primer objetivo específico), fue obtenido en conjunto con el Sr. Jean Pierre Aliaga Guerrero, mismo que realizó la evaluación de toxicidad de cadmio y plomo en las mismas muestras de AR.

Los iones no metálicos evaluados en las muestras de los tres puntos antes mencionados (RP, RB y RR), fueron el amonio, cloruro, fosfato, nitrato y sulfato. La concentración de amonio fue de $28,97 \pm 0,18$; $35,30 \pm 0,01$ y $25,30 \pm 0,03$ mg NH_4^+ /L, para el efluente clarificado del sedimentador primario, el licor mezcla del reactor biológico y del tanque de recirculación de biosólidos, respectivamente. A pesar de que dicho parámetro no es regulado en la legislación ecuatoriana; **Metcalf & Eddy, (2014)** y **Valdez & Vázquez, (2003)**, en sus libros “*Wastewater Engineering Treatment and Resource Recovery*” (Anexo 4) e “*Ingeniería de los sistemas de tratamiento y disposición de aguas residuales*” (Anexo 5), respectivamente. Han establecido composiciones típicas de agua residual municipal, dónde los rangos para amonio se encuentran entre 14 a 41 mg NH_4^+ /L (**Metcalf & Eddy, 2014**) y 12 a 50 mg NH_4^+ /L (**Valdez & Vázquez, 2003**). Por lo tanto, los valores determinados se encuentran en los rangos establecidos y no demostrarían un problema para el tratamiento del efluente.

Las concentraciones de cloruro para los tres puntos (RP, RB y RR), fueron de $15,33 \pm 0,21$; $55,33 \pm 0,21$ y $35,33 \pm 0,2$ mg Cl^{-1} /L, respectivamente. Encontrándose en el límite permisible (1000 mg/L) regulado en la Tabla 8 de TULSMA e incluso se halla dentro del rango (39 a 118 mg Cl^{-1} /L y 30 a 100 mg Cl^{-1} /L) establecido por **Metcalf & Eddy, (2014)** y **Valdez & Vázquez, (2003)**, respectivamente. De tal forma que no afecta al curso de depuración del agua residual y al contrario lo beneficia, puesto que altas cantidades de este ion podrían causar toxicidad microbiana, ya que, los microorganismos no toleran ambientes con altas concentraciones de salinidad y disminuirían su capacidad de degradación; además que podrían ocasionar corrosión, afectando las aplicaciones finales de la reutilización de las aguas tratadas (**Metcalf & Eddy, 2014**).

Los valores de las concentraciones para fosfato fueron $5,5 \pm 0,2$ mg PO_4^{3-} /L (RP), $9,4 \pm 0,1$ mg PO_4^{3-} /L (RB) y $8,3 \pm 0,2$ mg PO_4^{3-} /L (RR). Este ion no es regulado en la legislación ecuatoriana, pero de acuerdo con el intervalo (3 a 10 mg PO_4^{3-} /L) establecido por **Valdez & Vázquez, (2003)**, las muestras se encuentran dentro del rango. Sin embargo, la concentración del licor mezcla del reactor biológico se acerca mucho al valor máximo. Esto se puede deber a que el tratamiento secundario solo puede eliminar entre 1 a 2 mg PO_4^{3-} /L, debido a que no suele ocurrir hidrólisis ácida y digestión que convierte el fosfato condensado y orgánico en ortofosfato. No obstante,

es necesario el uso de agentes precipitantes químicos (calcio, aluminio, hierro) para eliminarlo y así prevenir o reducir la eutrofización (**Carrillo et al., 2020; Gray, 2005**).

Las concentraciones de nitrato fueron $5,4 \pm 0,1$ mg NO_3^-/L para el RP; $7,0 \pm 0,1$ mg NO_3^-/L para el RB y $4,8 \pm 0,1$ mg NO_3^-/L para el RR. A pesar de que la legislación ecuatoriana no regula este parámetro, los autores antes mencionados consideran la ausencia (0 mg NO_3^-/L) de este ion en el análisis típico de agua residual municipal. De tal forma que ninguna de las muestras analizadas cumple dicho parámetro. Las razones para la presencia de este ion se pueden deber al uso de agentes de limpieza o por el proceso de nitrificación que consiste en la oxidación biológica del ion amonio con oxígeno para obtener nitrito mediante bacterias *Nitrosomonas* y *Nitrosococcus*, seguido de otra oxidación para obtener nitrato por la presencia de *Nitrobacter* (**Metcalf & Eddy, 2014**). Para la supresión de la nitrificación podría añadirse sustancias químicas como azul de metileno, tiourea, pues estos compuestos inhiben el crecimiento de *Nitrosomas* y *Nitrobacter* (**Ramalho, 2009**).

En el caso de sulfato las concentraciones fueron de $47,3 \pm 0,6$; $42,7 \pm 0,6$ y $32,7 \pm 0,6$ mg $\text{SO}_4^{2-}/\text{L}$, para el RP, RB y RR, respectivamente. Encontrándose en el límite permisible regulado por el TULSMA, mismo que es de 400 mg $\text{SO}_4^{2-}/\text{L}$. Adicionalmente, según el rango 24 a 72 mg $\text{SO}_4^{2-}/\text{L}$ establecido por Metcalf & Eddy, (2014), los valores obtenidos si cumplen y, por lo tanto, se puede mencionar que dicho parámetro no afecta al tratamiento de depuración. Por el contrario, si se encontrara en niveles superiores, contribuiría a la salinidad del agua, conductividad y sólidos disueltos, parámetros de calidad que si se encuentran regulados en la normativa. Además, que podría convertirse en sulfuro mediante bacterias reductoras de sulfato, sustancia que resulta ser más tóxica, corrosiva y maloliente (**Zhou et al., 2018**).

Las concentraciones obtenidas de los metales pesados evaluados fueron, para el caso de arsénico de: $11,763 \pm 0,02$ $\mu\text{g As/L}$ (RP), $14,709 \pm 0,002$ $\mu\text{g As/L}$ (RB) y $15,025 \pm 0,002$ $\mu\text{g As/L}$ (RR); para cadmio fueron de: $4,354 \pm 0,006$ $\mu\text{g Cd/L}$ (RP), $5,474 \pm 0,006$ $\mu\text{g Cd/L}$ (RB) y $3,944 \pm 0,002$ $\mu\text{g Cd/L}$ (RR); para cromo hexavalente fueron de: $10,67 \pm 0,58$ $\mu\text{g Cr}^{6+}/\text{L}$ (RP), $11,33 \pm 1,15$ $\mu\text{g Cr}^{6+}/\text{L}$ (RB) y $25,67 \pm 0,58$ $\mu\text{g Cr}^{6+}/\text{L}$ (RR); y para plomo fueron de: $64,97 \pm 0,01$ $\mu\text{g Pb/L}$ (RP), $38,75 \pm 0,01$ $\mu\text{g Pb/L}$ (RB) y $13,85 \pm 0,01$ $\mu\text{g Pb/L}$ (RR). Dichos valores, se encuentran en los límites permisibles (100 $\mu\text{g As/L}$; 20 $\mu\text{g Cd/L}$; 500 $\mu\text{g Cr}^{6+}/\text{L}$ y 500 $\mu\text{g Pb/L}$, para el arsénico, cadmio,

cromo hexavalente y plomo, respectivamente), regulados en la normativa ecuatoriana TULSMA. Por el contrario, las concentraciones obtenidas para cromo total fueron de: $2,169 \pm 0,001$ mg Cr/L (RP); $16,940 \pm 0,010$ mg Cr/L (RB) y $26,899 \pm 0,015$ mg Cr/L (RR). Dicho metal a pesar de que no es regulado en la legislación no se encuentra dentro de los rangos establecidos en la concentración típica (0,01 mg/L) establecido por **Metcalf & Eddy, (2014)** en aguas residuales. Por lo tanto, podría afectar el curso normal del tratamiento secundario, ya que, resulta tóxico para los microorganismos que ayudan en el proceso. Además, su procedencia se podría deber al agua residual receptada de curtiembres, resultado de que los sistemas colectores de la ciudad no suelen posibilitar la separación de AR urbana e industrial (**Prasad et al., 2021**).

Por otro lado, la conductividad con valores de: 770 ± 8 μ S/cm (RP), 645 ± 1 μ S/cm (RB) y 689 ± 3 μ S/cm (RR), encontrándose dentro del límite permisible de la normativa (500 – 1500 μ S/cm) para aguas residuales. Por lo tanto, al ser un parámetro que refleja la capacidad de conducción de energía eléctrica en el agua, se encuentra directamente relacionada con la cantidad de sólidos. Para este último parámetro, se obtuvieron, en el caso de sólidos totales valores de: 503 ± 35 mg/L (RP), 1970 ± 36 mg/L (RB) y 2320 ± 50 mg/L (RR). En el caso de la muestra del sedimentador primario si cumple con el límite de la normativa (1600 mg/L), mientras que el reactor biológico y de recirculación no se encuentran dentro del rango según la legislación (**TULSMA, 2017**). Esto se atribuye a que, las muestras son de los tanques del tratamiento secundario y mantienen contacto directo con los lodos activados.

Se observa la misma tendencia con los parámetros de sólidos suspendidos totales, en el que se obtuvo valores de: 133 ± 29 mg/L (RP), 1146 ± 35 mg/L (RB) y 1596 ± 31 mg/L (RR) y el límite permisible establecido en la normativa es de 220 mg/L, de tal forma que el efluente clarificado del sedimentador primario si se encuentran dentro del rango, en tanto que, el licor mezcla del reactor biológico y el tanque de recirculación de biosólidos superan el límite (**TULSMA, 2017**). En los sólidos volátiles se obtuvieron valores de: 263 ± 31 mg/L (RP), 887 ± 40 mg/L (RB) y 1060 ± 46 mg/L (RR) y en los sólidos suspendidos volátiles valores de: 98 ± 8 mg/L (RP), 552 ± 16 mg/L (RB) y 729 ± 18 mg/L (RR). A pesar de que estos dos últimos parámetros no se encuentren regulados en la normativa ecuatoriana. En el libro de **Metcalf & Eddy, (2014)**, se han establecido rangos de: 150 a 449 mg/L y 101 a 304 mg/L, para SV y

SSV, respectivamente. Mismos que mantienen la tendencia de ST y SST, y puesto que en los tanques se encuentra tanto sólidos inertes como microorganismos (biomasa), resulta lógico que los niveles sean superiores en los puntos del licor mezcla del reactor biológico y tanque de recirculación de biosólidos.

La turbidez al ser una característica óptica que describe la claridad u opacidad del agua, relacionada con la pérdida de transparencia por el efecto de material coloidal y partículas en suspensión. Mantuvo un valor menor para el efluente clarificado del sedimentador primario (32 ± 2 NTU), mientras que en el caso del licor mezcla del reactor biológico (173 ± 1 NTU) y el tanque de recirculación de biosólidos (172 ± 1 NTU) fueron mayores. A pesar de que ninguno de los tres puntos se encuentra dentro del límite permisible (< 20 NTU) (TULSMA, 2017). En estos dos últimos puntos, los valores medidos resultaron mayores con factores de 8.7 (RB) y 8.6 (RR) de discrepancia respecto a la legislación, mientras que para el RP el factor fue de 1.6. Esto se debe al manejo directo de los lodos activados que se encuentran en circulación. Así mismo se corrobora con los rangos típicos de aguas residuales municipales establecidos por Metcalf & Eddy, (2014), donde dichos valores se encuentran entre 1 a 15 NTU.

En la determinación de pH se obtuvo valores de: $7,84 \pm 0,02$ (RP), $7,35 \pm 0,02$ (RB) y $7,20 \pm 0,05$ (RR), mismos que se encuentran dentro del rango (6 – 9), establecido en la Tabla 8, del libro VI de la legislación ecuatoriana. Así mismo, la temperatura determinada en los tres puntos fue de: $17,62 \pm 0,04$ °C (RP), $17,79 \pm 0,01$ °C (RB) y $17,52 \pm 0,10$ °C (RR), encontrándose dentro del límite permisible (< 40 °C) reportado en el TULSMA y representando valores potenciales para un proceso de desinfección con cloro. Pues Metcalf & Eddy, (2014), aluden que 7.5 y 20 °C, son valores óptimos, ya que, en el caso de la temperatura si fuera 10 °C mayor traería consigo un incremento de 2 a 2.5 veces en el coeficiente de letalidad de microorganismos beneficiosos.

Mientras que, los valores de oxígeno disuelto que resulta de la unión del agua con el aire y que depende de la presión atmosférica y de la temperatura, fueron de: $4,20 \pm 0,01$ mg O₂/L (RP), $2,48 \pm 0,04$ mg O₂/L (RB) y $3,09 \pm 0,02$ mg O₂/L (RR). Si bien dicho parámetro no se regula en la legislación, se menciona que la concentración mínima de OD en un tanque biológico debe encontrarse entre 1 a 2 mg O₂/L. No obstante, en algunos casos que se mantiene sistemas con nitrificación, puede variar

entre 2 a 4 mg O₂/L. Mientras que valores más altos que 4 mg O₂/L podrían mejorar mínimamente el rendimiento, pero aumentaría significativamente los costos operativos y podría provocar el crecimiento de microorganismos espumosos (**Buitron et al., 2018; Metcalf & Eddy, 2014**). En base a lo establecido por los autores, se puede evidenciar que en la planta se está otorgando a los reactores una concentración suficiente de oxígeno que potencia la nitrificación, pero que incrementa sus costos de operación.

Los valores de DBO₅ obtenidos fueron de: 243 ± 15 (RP), 1150 ± 50 mg/L (RB) y 1250 ± 50 (RR). Según la normativa establece como límite permisible 250 mg/L. Por lo tanto, el efluente clarificado del sedimentador primario no supera el valor establecido, mientras que el licor mezcla del reactor biológico y la muestra del reactor de recirculación de biosólidos si superan dicho límite. Por otro lado, los valores de DQO total fueron de: 480 ± 45 mg/L (RP), 2298 ± 47 mg/L (RB) y 2447 ± 44 mg/L (RR), siguiendo la misma tendencia que las mediciones de DQO, el efluente clarificado no supera el límite permisible de 500 mg/L estipulado en la normativa, mientras los otros dos puntos, lo superan (**TULSMA, 2017**).

De acuerdo con lo que establecen **Metcalf & Eddy, (2014)** en su libro de composición típica de aguas residuales domésticas, las medidas del RP demuestran un rango medio de contaminación con valores de 200 mg/L y 508 mg/L, para DBO₅ y DQO, respetivamente. En tanto que, el RB y el RR, indican una excesiva contaminación, pues los valores máximos señalados por los autores son de 400 mg/L (DBO₅) y 1016 mg/L (DQO). La razón por la que superan los valores de la normativa en el caso de la DBO₅ en estos dos últimos puntos se puede deber a que las muestras de agua residual al mezclarse con lodos activados, contiene una gran cantidad de materia orgánica para que los microorganismos (especialmente bacterias aeróbicas) lo tomen como alimento y lo degraden, incrementando su biomasa a medida que consumen el oxígeno (**Jaramillo, 2014**). Mientras que la DQO es por lo general mayor que la DBO debido a que muchos compuestos que pueden oxidarse químicamente no pueden serlo biológicamente (**Rahman & Singh, 2019**).

Finalmente, la DQO, puede ser soluble (sDQO) o particulada (pDQO) y a su vez, estas pueden ser biodegradable (bDQO) o no biodegradable (nbDQO). En este estudio se realizó un análisis general de DQO soluble, obteniéndose valores de: 44 ± 5 mg/L

(RP), 92 ± 3 mg/L (RB) y 103 ± 2 mg/L (RR). Si bien no se conoce a ciencia cierta los porcentajes del tipo de DQO que se encuentran en el agua analizada, se sabe que en el caso de la sDQO y bDQO van a ser fácilmente biodegradables, debido a que esta mantiene en su composición moléculas simples que son capaces de atravesar la pared celular bacteriana sin dificultad (**Rout et al., 2021; Zhang et al., 2021**).

Mientras que la pbDQO es difícilmente biodegradable, pues no se puede eliminar solo con el tratamiento biológico, si no que, al poseer moléculas grandes y complejas, que se encuentran atrapadas o adsorbidas en la masa del lodo, se necesita de enzimas extracelulares que ejecuten un proceso de hidrólisis para convertirlas en moléculas más sencillas, antes de entrar a través la pared celular y ser empleadas en el metabolismo bacteriano (**Singh et al., 2019**). Adicionalmente, en algunos estudios la sbDQO se emplea para la formulación de expresiones cinéticas, ya que, permite determinar el destino de compuestos orgánicos biodegradables, al relacionarse con la estequiometría del sustrato oxidado en el crecimiento celular (**Metcalf & Eddy, 2014**).

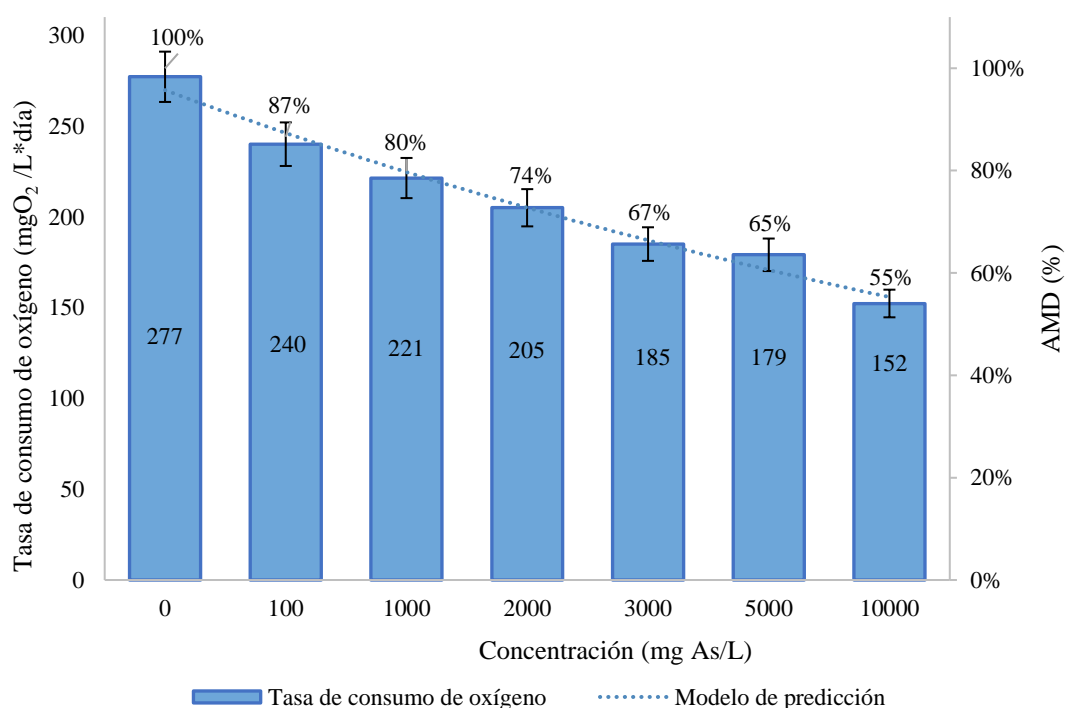
3.1.2 Tasa de consumo de oxígeno en función de la adición de arsénico y cromo hexavalente a distintas concentraciones

En las Figuras 2 y 3, se observa la tasa de consumo de oxígeno por las bacterias aeróbicas presentes en el AR del licor mixto del tratamiento secundario. Donde se añadió diferentes concentraciones de arsénico y cromo hexavalente, a un tiempo de incubación de 5 días y se normalizaron respecto al control.

3.1.2.1 Tasa de consumo de oxígeno con arsénico

Figura 2

Tasa de consumo de oxígeno en función de distintas concentraciones de As (V)



Nota. Mediante el análisis respirométrico de DBO₅ se obtuvo la tasa de consumo de oxígeno por las bacterias aeróbicas presentes en el licor del reactor biológico, en función de diferentes concentraciones de arsénico. Donde dicha tasa de consumo bajó de 277 a 152 mg O₂/L*día, para un rango de concentración entre 0 (control) a 10 000 mg As/L.

Según la Figura 2, se hace evidente la disminución de la tasa de consumo de oxígeno a medida que aumentan las concentraciones de arsénico. En el control, debido a la ausencia del metal, la DBO obtenida fue alta, de tal forma, la tasa de consumo de oxígeno por los microorganismos presentes en el agua residual evaluada fue superior (277 mg O₂/L*día), por lo tanto, su actividad máxima de degradación de materia orgánica (AMD) fue del 100 %. Mientras que, en los ensayos, se observa que cuando se incrementan las concentraciones, las tasas de consumo de oxígeno disminuyen, debido a la toxicidad que causa el arsénico, suprimiendo las actividades máximas de degradación, así como el metabolismo celular en los microorganismos degradadores de materia orgánica. Por ejemplo, para el ensayo de 3000 mg As/L la tasa fue de 185 mg O₂/L*día (67 % AMD) y en el ensayo de 5000 mg As/L, disminuyó a 179 mg O₂/L*día (65 % AMD).

La tasa de consumo de oxígeno permite evidenciar la actividad máxima de degradación que se genera en el agua residual. A pesar de que las concentraciones de arsénico que se consideraron en los ensayos fueron altas, se mantuvo la tendencia de que a una mayor concentración del metal puede interferir en las actividades enzimáticas y, por lo tanto, provocar una inhibición metabólica e incluso la muerte celular (**Du et al., 2019**). Sin embargo, la baja inhibición que se observa con el arsénico se puede deber a que la toxicidad de la forma pentavalente (arseniato) empleado en la evaluación es menos tóxico que su forma trivalente (arsenito) (**De Francisco et al., 2021; Wei et al., 2019**). De acuerdo a varios estudios, se reporta que el As (III) es hasta 60 veces más tóxico que el As (V) y 100 veces más que otras especies arsenicales metiladas, siguiendo el siguiente orden: As (III) inorgánico > As (III) orgánico > As (V) inorgánico > As (V) orgánico (**Flora, 2015; Irshad et al., 2021; Rahman & Singh, 2019**).

El As (III) es más inestable y nocivo, ya que, sus compuestos pueden formar derivados piramidales con un par de electrones no compartidos, permitiendo constituir complejos con metales de transición (hierro, cobre, plata). Además, se enlaza de forma más rápida a grupos sulfihidrilo (tioles), inhibiendo las actividades enzimáticas del organismo (**Flora, 2015**). Mientras que, los compuestos de As (V) a pesar de que pueden contribuir a su estabilidad en la naturaleza al no tener electrones no compartidos (**Irshad et al., 2021**). Al poseer un anión con estructura similar al ion fosfato

(tetraédrica), puede generar un éster inestable (arseniato-fosfato) que se hidroliza rápidamente y debido a esta arsenólisis de ATP provoca un desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, así como el agotamiento de las reservas de ATP, generando toxicidad (Flora, 2018; Marlborough & Wilson, 2015).

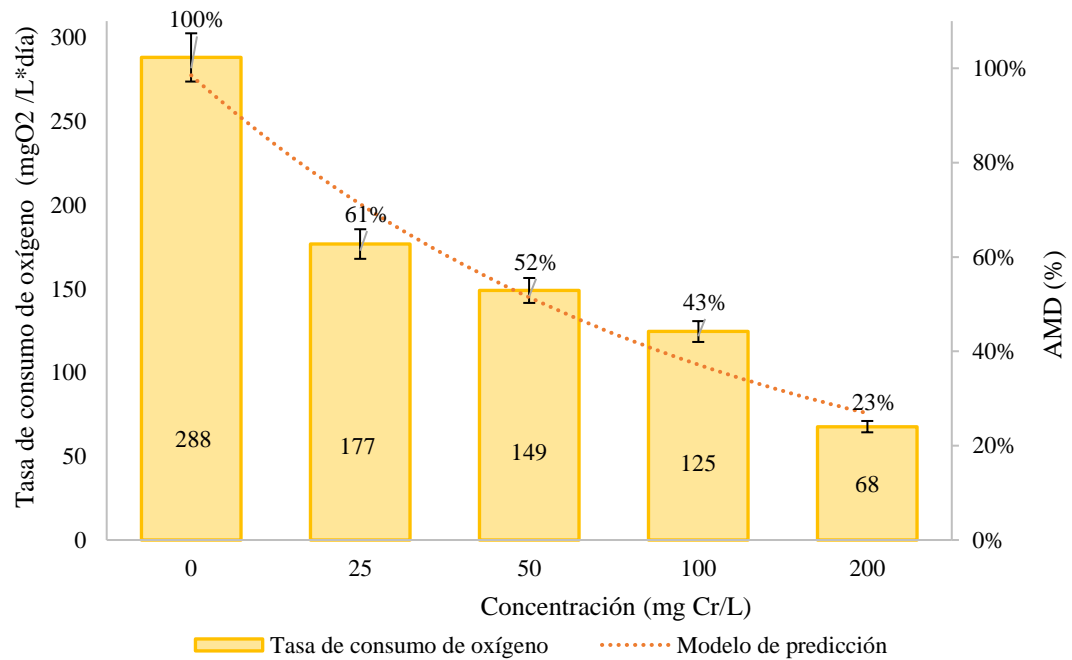
Sin embargo, autores mencionan que ciertos microorganismos han evolucionado, de tal forma que pueden resistir concentraciones moderadas, altas e incluso pueden adquirir energía a través de la respiración de As (V) (De Francisco et al., 2021). Además de combatir su toxicidad a través de mecanismos de defensa como la adsorción en las paredes celulares microbianas para poder eliminar el arsénico, dónde el metaloide ingresa a la célula bacteriana, sufre modificaciones bioquímicas por el contacto intracelular, es metilado, desmetilado y reducido, ya sea para desintoxicar o proveer energía al sistema (Altowayti et al., 2022). Por lo tanto, los microorganismos juegan un papel importante en los genes que codifican para enzimas que se encuentran implicadas en su crecimiento o en las transformaciones para adquirir resistencia a arsénico o inclusive para el reciclaje de dicho metaloide (Mazumder et al., 2020).

Por ejemplo, Biswas & Sarkar, (2019) en su estudio de la caracterización de bacterias oxidantes de arsénico, aislaron dos bacterias grampositivas (*Bacillus sp.* BAs1, BAs2), capaces de resistir concentraciones de 70 mM (5244,4 mg/L) y 1000 mM (74920 mg/L) de arsenito y arseniato, respectivamente. Así mismo, Marwa et al., (2019), reportaron en su estudio que *Bacillus flexus* y *Acinetobacter junii* pudieron crecer a 150 mmol/L (11238 mg/L) de As (V) y 70 mmol/L (5244.4 mg/L) de As (III). Adicionalmente, Biswas et al., (2019) en su investigación de la oxidación de arsenito por *Delfia spp* quimiolitotrófica facultativa, determinó que esta toleraba concentraciones de arsénico de 70 mM para As (III) y 1000 mM para As (V).

3.1.2.2 Tasa de consumo de oxígeno con cromo hexavalente

Figura 3

Tasa de consumo de oxígeno en función de distintas concentraciones de Cr (VI)



Nota. Mediante el análisis respirométrico de DBO₅ se obtuvo la tasa de consumo de oxígeno por las bacterias aeróbicas presentes en el licor del reactor biológico, en función de diferentes concentraciones de cromo hexavalente. Donde dicha tasa de consumo fue de 288, 177, 149, 125 y 68 mg O₂/L*día, para 0 (control), 25, 50, 100, y 200 mg Cr/L, respectivamente.

En la Figura 3, se observa que la tasa de consumo de oxígeno disminuye a medida que incrementan las concentraciones de cromo hexavalente. En el control, debido a que no se añadió el metal estudiado, la DBO resultó mayor a comparación de los ensayos, por lo que, la tasa de consumo de oxígeno por los microorganismos presentes en el agua residual fue más alta (288 mg O₂/L*día) y se podría decir que la AMD es del 100 %. Mientras que, en los ensayos, se observa que cuando se incrementan las concentraciones, las tasas de consumo de oxígeno disminuyen, pues esto se debe a la toxicidad que mantiene el cromo hexavalente en los microorganismos degradadores

de materia orgánica. Por ejemplo, para el ensayo de 50 mg Cr/L, la tasa fue de 149 mg O₂/L*día (52 % AMD) y en el ensayo de 100 mg Cr/L, se redujo a 125 mg O₂/L*día (43 % AMD).

Las concentraciones de cromo para la evaluación de la tasa de consumo de oxígeno, en comparación con las de arsénico, resultan relativamente menores, ya que, el Cr (VI) es más tóxico que As (V), debido a su mayor solubilidad, movilidad y por su fácil transporte por las membranas celulares, causando daño en las moléculas biológicas (**Lal et al., 2020**). La alta inhibición del Cr (VI), también se puede deber a que esta forma de cromo es aproximadamente 100 veces más tóxica que la forma trivalente Cr (III) (**Rahman & Singh, 2019**). Además, se conoce que en los microorganismos el Cr (VI) tiende a reaccionar con un agente reductor biológico (ácido ascórbico, tiol), produciendo radicales hidroxilos, iones de peróxido de hidrógeno, superóxidos (O₂⁻), que provocan daño de proteínas intracelulares y ácidos nucleicos, inhibición de crecimiento celular y estrés oxidativo intracelular, a medida que aumentan sus concentraciones (**Tang et al., 2021**).

Debido a la respuesta inmediata que proveen ciertas enzimas antioxidantes (peroxidasa, superóxido dismutasa, catalasa, ascorbato peroxidasa, glutatión reductasa, etc.) los microorganismos son capaces de crecer en ambientes que contienen Cr (VI) (**Su et al., 2018**). No obstante, cuando se encuentran altas concentraciones de dicho metal, tenderán a inhibir su actividad metabólica perturbando el equilibrio oxidativo (**Batool et al., 2017; Tang et al., 2021**). En un estudio de acerca de los efectos agudos que mantiene el Cr (VI) sobre el rendimiento y la comunidad microbiana de lodos activados, bajo concentraciones evaluadas entre 2.5, 6 y 25 mg/L, las tasas específicas de consumo de oxígeno (SOUR) fueron del 73, 68 y 31 %, respectivamente, haciéndose evidente la tendencia de disminución de consumo de oxígeno cuando aumentan las concentraciones, de manera similar al presente estudio (**Zheng et al., 2018**).

3.1.3 Índices de toxicidad que mantiene el arsénico y cromo hexavalente

3.1.3.1 Cálculos de concentraciones de inhibición de arsénico y cromo hexavalente

En la Tabla 9 se observa las concentraciones de arsénico y cromo hexavalente para producir una inhibición del 20, 50 y 80 % de la actividad metabólica y crecimiento de los microorganismos, respecto a los ensayos control (sin presencia de metales pesados). Dichas concentraciones fueron calculadas en base a las pendientes de las curvas de tasa de consumo de oxígeno de cada metal expresadas en mg O₂/L*día y se normalizó respecto al control, mediante la ecuación de inhibición (7) (véase el apartado 2.2.5) y sus respectivas interpolación o extrapolación.

Tabla 9

Inhibición (20, 50 y 80 %) que mantiene el arsénico y cromo hexavalente

	As (V) (mg As/L)	Cr (VI) (mg Cr/L)
IC ₂₀	1000	13
IC ₅₀	12556	60
IC ₈₀	28055	218

Nota. La concentración obtenida para inhibir la actividad metabólica y crecimiento microbiano en un 20 % fue de 1000 mg As/L y 13 mg Cr/L, el IC₅₀ fue de 12556 mg As/L y 60 mg Cr/L, y el IC₈₀ fue de 28055 mg As/L y 218 mg Cr/L. El primer valor mencionado corresponde a arsénico, mientras que el segundo es de cromo hexavalente.

La inhibición del 20 %, 50 % y 80 % de la actividad metabólica y de crecimiento microbiano en una muestra de AR, obtenida del licor mixto correspondiente al reactor del tratamiento secundario, fue evaluada en base a distintas concentraciones de As (V) y Cr (VI). En donde se observó que, en todos los casos para que se den dichas inhibiciones, el arsénico necesitó concentraciones más elevadas a diferencia que el cromo hexavalente (Tabla 9). En base a dichos resultados, se puede mencionar que el Cr (VI) es más tóxico que el As (V). **Diaconu et al., (2020)** en su estudio determinó que Cd (II) resulta más tóxico en comparación a Cr (VI), pues a una concentración aproximada de 150 mg/L, cadmio generó una inhibición del 93 % en el crecimiento de

todas las especies evaluadas, mientras que en presencia de cromo aún se veía crecimiento.

En una evaluación de la inhibición que provocan diferentes metales como Cd (II), Cu (II), Cr (VI) y Ni (II) se observó que el grado relativo de inhibición máxima para AR provenientes de dos plantas de tratamiento se encuentran en el siguiente orden: Cr (VI) > Cu (II) > Cd (II) > Ni (II) para Ostrava, y Cr (VI) > Cd (II) > Cu (II) > Ni (II) para Hermanice, evidenciando que, en todos los casos, la inhibición de cromo hexavalente es mayor que el resto de metales evaluados (**Hartmann et al., 2020**). Al evaluar los metales As (V), Co (II), Cu (II), Cr (VI), Fe (II), Hg (II) y Ni (II), se obtuvo concentraciones de inhibición al 50 %, que mantuvo el siguiente orden: Co (II) \geq Hg (II) > Cr (VI) \geq Cu (II) \geq Ni (II) > Fe (II) \geq As (V), dicho orden concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio para As (V) y Cr (VI) (**Ouertani et al., 2020**).

En el estudio acerca del efecto que mantienen el Cr (III), Pb (II), Ni (II), Hg (II) y Zn (II), la toxicidad de los metales sigue el orden: Hg (II) > Zn (II) > Cr (III) > Pb (II) > Ni (II), donde el cromo trivalente mantiene una concentración de 82.50 mg/L para causar una inhibición del 50 %. En contraste con los resultados planteados en este estudio la concentración de IC₅₀ para Cr (VI) fue de 60 mg Cr/L, corroborando a lo que se menciona en bibliografía, es decir, que la forma trivalente del cromo es menos tóxica que su forma hexavalente (**Lal et al., 2020**).

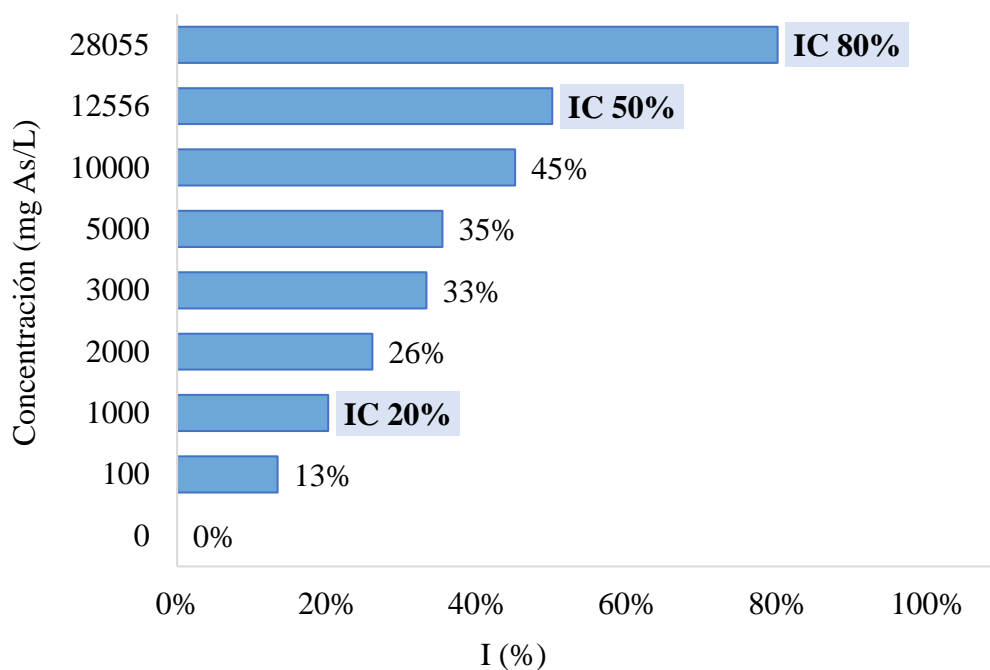
Hartmann et al., (2020), indican que las sustancias químicas tóxicas como los metales pesados Cr, As, Cu, Cd, Ni, Pb, Hg, etc. presentes en el agua residual, pueden penetrar en las bacterias, inhibiendo una o más enzimas que se encuentran implicadas en el catabolismo o anabolismo. Así pues, si se perturban las reacciones catabólicas de la respiración, disminuye la tasa de respiración, la producción de energía y, por lo tanto, su tasa de crecimiento (**Ouertani et al., 2020**). Por el contrario, si se afectan las vías anabólicas de biosíntesis, disminuye su tasa de crecimiento y como consecuencia se reduce su tasa de respiración y consumo energético, debido a que ya no hay necesidad. Consecuentemente, se demuestra que, si hay una sustancia tóxica, producirá una inhibición, tanto en la tasa de respiración, como en la de biodegradación (**Mood et al., 2021**).

3.1.3.2 Efecto inhibitorio de arsénico

En las Figuras 4 y 5 se observan las curvas de las concentraciones de arsénico y cromo hexavalente que causan inhibición de la actividad metabólica y el crecimiento de las bacterias aeróbicas presentes en el AR del licor mixto del tratamiento secundario, a un tiempo de incubación de 5 días.

Figura 4

Efecto inhibitorio en función de distintas concentraciones de As (V)



Nota. Mediante los bioensayos de toxicidad se obtuvo la inhibición que mantiene el arsénico en las bacterias aeróbicas presentes en el licor del reactor biológico. Donde dichas inhibiciones se incrementaron desde 0 hasta el 80 % para concentraciones entre 0 (control) a 28055 mg As/L. Cabe recalcar que en la gráfica se encuentran incluidos los valores de la concentración de inhibición del 20, 50 y 80 %, determinados en el apartado 3.1.3.1.

Como se observa en la Figura 4, se hace evidente que el efecto de inhibición reduce la actividad metabólica de las bacterias presentes en el AR a medida que aumentan las concentraciones de arsénico. En el control debido a la ausencia del metal, no hay inhibición, lo que demuestra que la actividad metabólica se mantiene. Mientras que,

en los ensayos, a una concentración de 1000 mg As/L se ha obtenido el 20 % de inhibición, para 2000 mg As/L se ha llegado a un valor de 26 % de inhibición, en el ensayo de 10000 mg As/L se ha conseguido 45 %, es decir, un aproximado del IC₅₀, que corresponde al 50 % de inhibición (12556 mg As/L). Por último, se observa la concentración correspondiente al IC₈₀ (Tabla 9) con un 80 % de inhibición.

Aunque el arsénico ha representado una amenaza en los últimos años, por encontrarse en fuentes de agua de consumo humano y agua subterránea (**Bundschuh et al., 2021; Pratush et al., 2018; Ran et al., 2021**). No existe mucha información publicada acerca de los efectos inhibitorios que provoca en poblaciones microbianas presentes en los lodos activados que sirven para el tratamiento secundario de una PTAR (**Shahid et al., 2021; Yadav et al., 2021**). Sin embargo, en un estudio acerca de la identificación de bacterias nativas resistentes al arsénico como alternativa de biorremediación, se estimó la concentración inhibitoria mínima (CMI) que provoca el As (III) y As (V), a partir de ensayos con concentraciones entre 100 y 1000 mg/L. Donde los autores mencionan que se ve una CIM de 800 mg/L para As (III) y 900 mg/L As (V), en la mayoría de sus cepas estudiadas (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Lysinibacillus macroides* y *Micrococcus luteus*) (**Hamood et al., (2020)**).

En otro estudio de aislamiento e identificación de cepas bacterianas nativas resistentes a arsénico en recursos hídricos, realizada por **Jebelli et al., (2018)**, determinaron que las concentraciones máximas inhibitorias que toleran dichos microorganismos rondan los 20280 mg/L para As (V) y 3250 mg/L para As (III). Considerando que en el presente estudio se determinó la concentración inhibitoria (28055 mg As/L, véase la Tabla 9) de As (V) que provoca una inhibición del 80 % de la actividad metabólica de los microorganismos (Anexo 8). Se puede mencionar que los 900 mg/L determinados por **Hamood et al., (2020)**, se encuentra entre el 10 al 20 % de inhibición que provoca el As, mientras que la determinación de **Jebelli et al., (2018)**, se aproxima al 80 % de inhibición. Además, mencionan que dichas bacterias son tolerantes al elemento, debido a la bioacumulación de biomasa y las reacciones de reducción de As (V) a As (III), también indican que los microorganismos grampositivos suelen ser más resistentes a arsénico que los gramnegativos (**Hamood et al., 2020; Jebelli et al., 2018**).

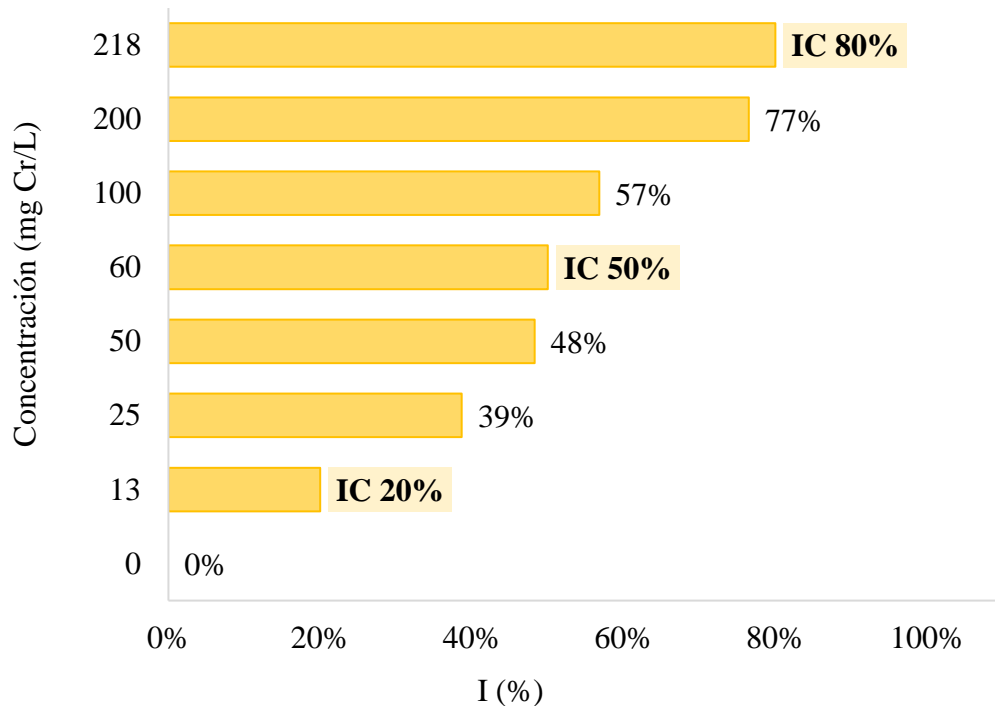
Por otro lado, en el presente estudio, se determinó que la PTAR Ambato, cumple con la concentración de arsénico establecido en la legislación. **Buitron et al., (2018); Metcalf & Eddy, (2014)**, aluden que las concentraciones de dicho metaloide pueden ser fluctuantes, específicamente en los lodos activados, debido a que estos se quedan en el sistema de tratamiento durante unos 10 a 15 días, por lo que podrían bioacumularse de forma paulatina. Sin embargo, las concentraciones del metal evaluado en las muestras de AR del reactor biológico de esta planta fueron elevadas (100 a 10000 mg As/L) y no presentaron una inhibición drástica.

Por lo que, se puede decir que el arsénico no sería un contaminante amenazante en el tratamiento del agua residual, pues los microorganismos a concentraciones relativamente pequeñas como las caracterizadas en las muestras ($11,763 \pm 0,02 \mu\text{g As/L}$ (RP), $14,709 \pm 0,002 \mu\text{g As/L}$ (RB) y $15,025 \pm 0,002 \mu\text{g As/L}$ (RR)), no mantendrían un efecto de inhibición en su crecimiento, ni actividad metabólica. Tampoco sería una problemática dicho metaloide en la descarga del agua tratada en sistemas de agua dulce como el río Ambato, debido a que cumpliría con los niveles permisibles establecidos en la legislación. Y al contrario, se podría considerar a la comunidad microbiana que participa en el tratamiento secundario de la planta como una alternativa de biorremediación en matrices con altos porcentajes de arsénico, por su alta tolerancia, similar a los estudios establecidos por **Hamood et al., (2020)** y **Jebelli et al., (2018)**.

3.1.3.3 Efecto inhibitorio de cromo hexavalente

Figura 5

Efecto inhibitorio en función de distintas concentraciones de Cr (VI)



Nota. Mediante los bioensayos de toxicidad se obtuvo la inhibición que mantiene el cromo hexavalente en las bacterias aeróbicas presentes en el licor del reactor biológico. Donde dichas inhibiciones fueron del 0, 20, 39, 48, 50, 57, 77 y 80 % para 0 (control), 13, 25, 50, 60, 100, 200 y 218 mg As/L, respectivamente. Cabe recalcar que en la gráfica se encuentran incluidos los valores de la concentración de inhibición del 20, 50 y 80 %, determinados en el apartado 3.1.3.1.

En la Figura 5, se observa el efecto de inhibición que mantiene el Cr (VI) en una muestra de agua residual, haciendo evidente la reducción de la actividad metabólica de las bacterias presentes cuando se aumentan las concentraciones del metal. En el control debido a la ausencia de Cr (VI), no se observa inhibición, por lo que la actividad metabólica se mantiene. Mientras que, en los ensayos, a una concentración de 13 mg Cr/L (valor teórico) se ha obtenido el 20 % de inhibición, seguido de 50 mg Cr/L, concentración con la que se ha llegado a un valor del 48 %, es decir, un

aproximado del IC₅₀, que corresponde a 50 % de inhibición (60 mg Cr/L, valor teórico). A una concentración de 100 mg/L la inhibición fue de 57 % y, por último, se observa la concentración correspondiente al IC₈₀ (Tabla 9) con un 80 % de inhibición.

En un estudio acerca de la determinación de especies de bacterias aisladas de aguas residuales provenientes de una curtiduría que promueven el crecimiento de plantas y desintoxican el cromo, se encontraron valores de concentración de IC₅₀ de 676 mg/L y concentración de inhibición máxima de aproximadamente 2500 mg/L. Si bien dichos datos mantienen la tendencia de a mayor concentración mayor inhibición (**Ouertani et al., 2020**). Se debe mencionar, que los resultados obtenidos por los distintos autores pueden diferir de manera considerable, debido a que los microorganismos presentes en cada muestra de licor mixto no son precisamente los mismos, además que influye otras variables como la concentración de microorganismos, el oxígeno disuelto, la temperatura, la aclimatación, la edad de las muestras, el tiempo de exposición, la disponibilidad de materia orgánica, el pH, etc (**Aguilar et al., 2020; Hartmann et al., 2020; Lember et al., 2018**).

Así mismo, en un estudio acerca de la caracterización de la toxicidad de metales pesados, se menciona que la concentración de Cr (VI) que mantiene un porcentaje mayor al 50 % de inhibición en el crecimiento de biomasa, ronda los 90 mg/L. Mientras que para un 93 % de inhibición sus concentraciones son superiores a 200 mg/L. Los autores atribuyen dicha inhibición a que la actividad de la deshidrogenasa y catalasa se inhibe significativamente cuando aumenta la concentración y ocurre una acumulación de iones metálicos (**Diaconu et al., 2020**). Por otro lado, **Sun et al., (2019)**, si bien no mencionan concentraciones de inhibición, en su estudio determinaron que a altas concentraciones de Cr (VI) se puede inhibir drásticamente la nitrificación y desnitrificación, reduciendo la diversidad y riqueza de las comunidades microbianas.

Aunque en el presente estudio, se determinó que la PTAR Ambato, cumple con la concentración de cromo hexavalente establecido en la legislación, el cromo total mantiene una concentración elevada, de acuerdo con los reportes de **Metcalf & Eddy, (2014)**. Adicionalmente, **Buitron et al., (2018)**, aluden que las concentraciones de dicho metal pueden ser fluctuantes, específicamente en los lodos activados, debido a

que estos se quedan en el sistema de tratamiento durante unos 10 a 15 días, por lo que podrían bioacumularse de forma paulatina. Siendo necesario el control de dicho metal, ya sea, por métodos biológicos, químicos o físicos (**Elahi et al., 2020; Guo et al., 2021; Pushkar et al., 2021; Tang et al., 2021**). Con la finalidad de optimizar el proceso de depuración y evitar la supresión de las actividades de degradación de materia orgánica de los microorganismos degradadores.

Por otro lado, a pesar de que las concentraciones del metal evaluado en las muestras de AR del reactor biológico de esta planta fueron moderados (25 a 200 mg As/L), si presentaron una inhibición en los microorganismos que podría afectar al curso normal del tratamiento. Demostrando que si en la PTAR Ambato, la concentración de Cr (VI) se elevara a concentraciones mayores de 13 mg Cr/L (Figura 5), ya se generaría una inhibición en los microorganismos del 20% de su actividad metabólica y crecimiento.

Caso contrario, si se mantiene o no sobrepasa dicho límite, el Cr (VI) no sería un contaminante amenazante en la depuración del AR, pues a concentraciones bajas como las caracterizadas, los microorganismos no mantienen un efecto de inhibición. Pudiendo incluso considerar a la comunidad microbiana que participa en el tratamiento secundario de la planta como una alternativa de biorremediación en matrices con porcentajes moderados de Cr (VI), por su tolerancia, similar al estudio establecido por (**Diaconu et al., 2020**). Además, que el agua tratada, no representaría un problema en su descarga hacia sistemas de agua dulce como el río Ambato, debido a que cumpliría con los niveles permisibles establecidos en la legislación.

3.2 Verificación de hipótesis

$H_0 \neq 0$ “Se rechaza la hipótesis nula”; $H_a = 0$ “Se acepta la hipótesis alternativa”

En base a los resultados obtenidos en el estudio se acepta la hipótesis alternativa. Pues en los Anexos 6 y 9, se indica que, tanto para arsénico como para cromo hexavalente, las mediciones de DBO_5 disminuyen o se mantienen constantes cuando las concentraciones de metales evaluadas son mayores.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- A partir de la caracterización realizada a las muestras de agua residual, provenientes del efluente clarificado del sedimentador primario, licor mezcla del reactor biológico y reactor de recirculación de biosólidos se verificó que la mayoría de parámetros analizados se encuentran dentro de los rangos los límites permisibles establecidos en la legislación ecuatoriana, así como de los de composición típica de aguas residuales domésticas no tratadas, a excepción de parámetros como: cromo total, nitrato y turbidez.
- Al realizar ensayos con la adición de distintas concentraciones de arsénico (0 a 10000 mg As/L) a una muestra de licor mixto del reactor biológico del tratamiento secundario, se obtuvo tasas de consumo de oxígeno que se redujeron desde 277 mg O₂/L*día hasta 152 mg O₂/L*día. Mientras que, con la evaluación de cromo hexavalente disminuyó desde 288 mg O₂/L*día hasta 68 mg O₂/L*día para concentraciones entre 0 y 200 mg Cr/L. En donde se evidenció que en los dos casos a medida que se aumentaron las concentraciones, las tasas de consumo disminuyeron, manteniendo una relación inversamente proporcional.
- Las concentraciones de índices de toxicidad que inhibieron el 20, 50 y 80 % de la actividad metabólica y crecimiento bacteriano en una muestra de agua residual del reactor biológico del tratamiento secundario de PTAR, con la presencia de arsénico, fueron de: 1000 mg As/L (IC₂₀), 12556 mg As/L (IC₅₀) y 28055 mg As/L (IC₈₀) y para cromo hexavalente los valores fueron de: 13 mg Cr/L (IC₂₀), 60 mg Cr/L (IC₅₀) y 218 mg Cr/L (IC₈₀). Los datos demostraron que el Cr (VI) resultó más tóxico que el As (V), pues las concentraciones necesarias para causar dichas inhibiciones en el caso del cromo resultaron ser menores.
- A través de la realización de bioensayos respirométricos de toxicidad con la adición de metales como arsénico y cromo hexavalente, se determinó que a medida

que se aumentan las concentraciones, generan inhibición e impiden que la actividad máxima de degradación de materia orgánica sea óptima. Sin embargo, al evaluar el AR, se requirieron concentraciones muy elevadas (respecto a las determinadas en la caracterización) para que haya dichas inhibiciones. Por lo tanto, se puede mencionar que la comunidad microbiana ha presentado una alta tolerancia.

4.2 Recomendaciones

- Debido a que, en las muestras evaluadas, la comunidad microbiana toleró altas y moderadas concentraciones de arsénico y cromo hexavalente, respectivamente, resultaría interesante aislar y estudiar a los microorganismos presentes, para conocer más acerca de sus mecanismos de tolerancia y así poder emplearlos como una alternativa de biorremediación en matrices ambientales contaminadas con estos metales.
- En los bioensayos de toxicidad de AR, del licor mezcla del reactor biológico de la PTAR Ambato, bajo la adición de metales pesados como arsénico y cromo, sería interesante utilizar compuestos con sus dos valencias, para el caso de arsénico, As (III) y As (V); y en el caso de cromo, Cr (III) y Cr (VI), con la finalidad de verificar cuál de los dos metales causa una mayor inhibición en los microorganismos.
- Para aumentar la fiabilidad de los resultados de la caracterización de una muestra de agua residual, es recomendable que los análisis sean realizados en un lapso corto, pues a medida que transcurre el tiempo en estas se alteran sus propiedades, debido a la alta carga de materia orgánica, así como de microorganismos.
- Es importante leer las fichas de bioseguridad de las sustancias utilizadas (arseniato de sodio dibásico heptahidratado, dicromato de potasio, ácido sulfúrico, ácido nítrico, etc.), pues estos son altamente tóxicos y cancerígenos al contacto con humanos.

- Es necesario manipular las muestras de AR en campanas extractoras de gases y utilizar equipos de bioseguridad adecuados (guantes, mascarilla, mandil), pues debido a su alta carga de contaminantes orgánicos e inorgánicos, desprenden olores y atentarían contra la salud.

MATERIALES DE REFERENCIA

Referencias bibliográficas

- Aguilar, M., Lloréns, M., Fernández, J., Pérez, A., Ortuño, J., & Meseguer, V. (2020). Heavy metals effect on the heterotrophic activity of activated sludge. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 17(5), 3111–3118. <https://doi.org/10.1007/s13762-020-02704-1>
- Ahmed, S., Mofijur, M., Nuzhat, S., Chowdhury, A., Rafa, N., Uddin, A., Inayat, A., Mahlia, T., Ong, H., Chia, W., & Show, P. (2021). Recent developments in physical, biological, chemical, and hybrid treatment techniques for removing emerging contaminants from wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, 416, 125912. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125912>
- Alarcón, I. (2019, August 17). Aguas servidas, un riesgo para los ríos del país. *El Comercio*. <https://www.elcomercio.com/tendencias/ambiente/aguas-servidas-riesgo-rios-ecuador.html>
- Ali, I., Naz, I., Peng, C., Elsalam, K., Khan, Z., Islam, T., Pervez, R., Amjed, M., Tehrim, A., Perveen, I., & Sehar, S. (2021). Sources, classifications, constituents, and available treatment technologies for various types of wastewater: An overview. In *Aquananotechnology* (pp. 11–46). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821141-0.00019-7>
- Altowayti, W., Othman, N., Shahir, S., Alshalif, A., Gheethi, A., Towayti, F., Saleh, Z., & Haris, S. (2022). Removal of arsenic from wastewater by using different technologies and adsorbents: a review. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 19(9), 9243–9266. <https://doi.org/10.1007/s13762-021-03660-0>
- Arguello, J., & Terán, C. (2021). *Documento metodológico de la estadística de información ambiental económica en Gobiernos Autónomos Descentralizados Municipales. Gestión de agua potable y saneamiento*. https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas_Ambientales/Municipios_2021/Agua_potable_alcantarrillado_2021/Documento_Metodológico_APA_2021_V2JA.pdf

- Baird, R., Eaton, A., & Rice, E. (2017). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (23th ed.). Amer Public Health Association.
- Batool, R., Tabassum, T., & Ali, M. (2017). Evaluation of Cr (VI) remediation potential of *Eichornia sp* in conjunction with chromium resistant bacterial strains. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 16(5), 1005. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v16i5.6>
- Biswas, R., & Sarkar, A. (2019). Characterization of arsenite-oxidizing bacteria to decipher their role in arsenic bioremediation. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 49(1), 30–37. <https://doi.org/10.1080/10826068.2018.1476883>
- Biswas, R., Vivekanand, V., Saha, A., Ghosh, A., & Sarkar, A. (2019). Arsenite oxidation by a facultative chemolithotrophic *Delftia spp.* BAs29 for its potential application in groundwater arsenic bioremediation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 136, 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.10.006>
- Borzooei, S., Simonetti, M., Scibilia, G., & Zanetti, M. (2021). Critical evaluation of respirometric and physicochemical methods for characterization of municipal wastewater during wet-weather events. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(3), 105238. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105238>
- Buitron, G., Reino, C., & Carrera, J. (2018). Manual técnico sobre tecnologías biológicas aerobias aplicadas al tratamiento de aguas residuales industriales. In *Cyted*. http://www.cyted.org/sites/default/files/manual_sobre_oxidaciones_avanzadas_0.pdf
- Bundschuh, J., Schneider, J., Alam, M., Niazi, N., Herath, I., Parvez, F., Tomaszewska, B., Guilherme, L., Maity, J., López, D., Cirelli, A., Pérez, A., Morales, N., Alarcón, M., Baisch, P., Mohan, D., & Mukherjee, A. (2021). Seven potential sources of arsenic pollution in Latin America and their environmental and health impacts. *Science of The Total Environment*, 780, 146274. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146274>
- Carrillo, V., Fuentes, B., Gómez, G., & Vidal, G. (2020). Characterization and

- recovery of phosphorus from wastewater by combined technologies. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 19(2), 389–418. <https://doi.org/10.1007/s11157-020-09533-1>
- Çeçen, F., Semerci, N., & Geyik, A. (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>
- Chai, W., Cheun, J., Kumar, S., Mubashir, M., Majeed, Z., Banat, F., Ho, S., & Show, P. (2021). A review on conventional and novel materials towards heavy metal adsorption in wastewater treatment application. *Journal of Cleaner Production*, 296, 126589. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126589>
- Crini, G., & Lichtfouse, E. (2019). Advantages and disadvantages of techniques used for wastewater treatment. *Environmental Chemistry Letters*, 17(1), 145–155. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0785-9>
- De Francisco, P., Martín, A., Rodríguez, D., & Díaz, S. (2021). Interactions with arsenic: Mechanisms of toxicity and cellular resistance in eukaryotic microorganisms. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(22), 12226. <https://doi.org/10.3390/ijerph182212226>
- Diaconu, M., Pavel, L., Hlihor, R., Rosca, M., Fertu, D., Lenz, M., Corvini, P., & Gavrilescu, M. (2020). Characterization of heavy metal toxicity in some plants and microorganisms. A preliminary approach for environmental bioremediation. *New Biotechnology*, 56, 130–139. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2020.01.003>
- 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*, 9(1), 154. <https://doi.org/10.3390/app9010154>
- Elahi, A., Arooj, I., Bukhari, D., & Rehman, A. (2020). Successive use of microorganisms to remove chromium from wastewater. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(9), 3729–3743. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10533-y>
- Flora, S. (2015). Arsenic: Chemistry, occurrence, and exposure. In *Handbook of*

- Arsenic Toxicology* (pp. 1–49). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-418688-0.00001-0>
- Flora, S. (2018). Arsenic: Exposure, toxicology, use and misuse. In *Encyclopedia of the Anthropocene* (Vols. 1–5, pp. 215–224). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809665-9.09884-0>
- GAD. (2020). *Descontaminación ambiental. Se adjudica Planta de Tratamiento de Aguas Residuales*. [https://gadmatic.ambato.gob.ec/lotaip/2015/lotaip-julio/anexo literal m/Planta de aguas residuales 9-7-15.pdf](https://gadmatic.ambato.gob.ec/lotaip/2015/lotaip-julio/anexo%20literal%20m/Planta%20de%20aguas%20residuales%209-7-15.pdf)
- Garbinski, L., Rosen, B., & Chen, J. (2019). Pathways of arsenic uptake and efflux. *Environment International*, *126*, 585–597. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.02.058>
- Gray, N. (2004). *Biology of wastewater treatment* (2nd ed.). Imperial College Press.
- Gray, N. (2005). *Water technology: An Introduction for Environmental Scientists and Engineers* (2nd ed.). Elsevier Butterworth Heinemann.
- Guo, S., Xiao, C., Zhou, N., & Chi, R. (2021). Speciation, toxicity, microbial remediation and phytoremediation of soil chromium contamination. *Environmental Chemistry Letters*, *19*(2), 1413–1431. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01114-6>
- Hamood, W., Almoalemi, H., Shahir, S., & Othman, N. (2020). Comparison of culture independent and dependent approaches for identification of native arsenic resistant bacteria and their potential use for arsenic bioremediation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *205*, 111267. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111267>
- 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
- 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>
- Hou, D., O'Connor, D., Igalavithana, A., Alessi, D., Luo, J., Tsang, D., Sparks, D., Yamauchi, Y., Rinklebe, J., & Ok, Y. S. (2020). Metal contamination and bioremediation of agricultural soils for food safety and sustainability. *Nature Reviews Earth & Environment*, 1(7), 366–381. <https://doi.org/10.1038/s43017-020-0061-y>
- Hughes, T., & Gray, N. (2012). Acute and chronic toxicity of acid mine drainage to the activated sludge process. *Mine Water and the Environment*, 31(1), 40–52. <https://doi.org/10.1007/s10230-011-0168-y>
- Igiri, B., Okoduwa, S., Idoko, G., Akabuogu, E., Adeyi, A., & Ejiogu, I. (2018). Toxicity and bioremediation of heavy metals contaminated ecosystem from tannery wastewater: A review. *Journal of Toxicology*, 2018, 1–16. <https://doi.org/10.1155/2018/2568038>
- INEC. (2016). *Estadística de información ambiental económica en Gobiernos Autónomos Descentralizados Municipales*.
- INEN. (2013). *Agua. Calidad del agua. Muestreo. Manejo y conservación de muestras. NTE INEN 2176:2013*.
- INEN. (2014). *Calidad del agua. Muestreo. Parte 1: guía para el diseño de los programas de muestreo y técnicas de muestreo (ISO 5667-1:2006, IDT)*.
- Irshad, S., Xie, Z., Mehmood, S., Nawaz, A., Ditta, A., & Mahmood, Q. (2021). Insights into conventional and recent technologies for arsenic bioremediation: A systematic review. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(15), 18870–18892. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12487-8>
- ISO 8192. (2007). *Water quality. Test for inhibition of oxygen consumption by activated sludge for carbonaceous and ammonium oxidation*. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:8192:ed-2:v1:en>
- Jaramillo, A. (2014). *Bioingeniería de aguas residuales. Teoría y diseño* (2da ed.). Asociación colombiana de ingeniería sanitaria y ambiental.

- Jebelli, M., Maleki, A., Amoozegar, M., Kalantar, E., Gharibi, F., Darvish, N., & Tashayoe, H. (2018). Isolation and identification of the native population bacteria for bioremediation of high levels of arsenic from water resources. *Journal of Environmental Management*, 212, 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.01.075>
- Johnson, A., Veljanoski, F., O'Doherty, P., Zaman, M., Petersingham, G., Bailey, T., Münch, G., Kersaitis, C., & Wu, M. (2016). Molecular insight into arsenic toxicity via the genome wide deletion mutant screening of *Saccharomyces cerevisiae*. *Metallomics*, 8(2), 228–235. <https://doi.org/10.1039/C5MT00261C>
- Kapoor, D., & Singh, M. (2021). Heavy metal contamination in water and its possible sources. In *Heavy Metals in the Environment* (pp. 179–189). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821656-9.00010-9>
- Kunhikrishnan, A., Choppala, G., Seshadri, B., Wijesekara, H., Bolan, N., Mbene, K., & Kim, W. (2017). Impact of wastewater derived dissolved organic carbon on reduction, mobility, and bioavailability of As(V) and Cr(VI) in contaminated soils. *Journal of Environmental Management*, 186, 183–191. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.08.020>
- Lal, S., Singhal, A., & Kumari, P. (2020). Exploring carbonaceous nanomaterials for arsenic and chromium removal from wastewater. *Journal of Water Process Engineering*, 36, 101276. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101276>
- Lember, E., Retšnoi, V., Pachel, K., & Loigu, E. (2018). Combined effect of heavy metals on the activated sludge process. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences*, 65(4), 305. <https://doi.org/10.3176/proc.2018.4.02>
- Mainardis, M., Buttazzoni, M., Cottes, M., Moretti, A., & Goi, D. (2021). Respirometry tests in wastewater treatment: Why and how? A critical review. *Science of The Total Environment*, 793, 148607. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148607>
- Marlborough, S., & Wilson, V. (2015). Arsenic speciation driving risk based corrective action. *Science of The Total Environment*, 520, 253–259. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.037>

- Marwa, N., Singh, N., Srivastava, S., Saxena, G., Pandey, V., & Singh, N. (2019). Characterizing the hypertolerance potential of two indigenous bacterial strains (*Bacillus flexus* and *Acinetobacter junii*) and their efficacy in arsenic bioremediation. *Journal of Applied Microbiology*, *126*(4), 1117–1127. <https://doi.org/10.1111/jam.14179>
- Mazumder, P., Sharma, S., Taki, K., Kalamdhad, A., & Kumar, M. (2020). Microbes involved in arsenic mobilization and respiration: a review on isolation, identification, isolates and implications. *Environmental Geochemistry and Health*, *42*(10), 3443–3469. <https://doi.org/10.1007/s10653-020-00549-8>
- Metcalf, A., & Eddy, F. (2014). *Wastewater engineering treatment and resource recovery* (5th ed.). Mc Graw Hill Education.
- Mood, M., Naseri, K., Tahergorabi, Z., Khazdair, M. R., & Sadeghi, M. (2021). Toxic Mechanisms of five heavy metals: mercury, lead, chromium, cadmium, and arsenic. *Frontiers in Pharmacology*, *12*, 227. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.643972>
- Ouertani, R., Ouertani, A., Mahjoubi, M., Bousselmi, Y., Najjari, A., Cherif, H., Chamkhi, A., Mosbah, A., Khdhira, H., Sghaier, H., Chouchane, H., Cherif, A., & Neifar, M. (2020). New plant growth promoting, chromium detoxifying microbacterium species isolated from a tannery wastewater: Performance and genomic insights. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *8*, 521. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00521>
- Peinado, F., Romero, A., Arco, E., Aragón, S., Ortiz, I., & Abaslou, H. (2014). Assessment of arsenic toxicity in spiked soils and water solutions by the use of bioassays. *Spanish Journal of Soil Science*, *2*. <https://doi.org/10.3232/SJSS.2012.V2.N3.05>
- PG instruments. (2022). *Anatycal Cookbook: AA500 Atomic Absorption - PG Instruments*. <http://www.pginstruments.com/>
- Prasad, S., Yadav, K., Kumar, S., Gupta, N., Cabral, M., Rezanian, S., Radwan, N., & Alam, J. (2021). Chromium contamination and effect on environmental health and its remediation: A sustainable approaches. *Journal of Environmental*

- Management*, 285, 112174. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112174>
- Pratish, A., Kumar, A., & Hu, Z. (2018). Adverse effect of heavy metals (As, Pb, Hg, and Cr) on health and their bioremediation strategies: a review. *International Microbiology*, 21(3), 97–106. <https://doi.org/10.1007/s10123-018-0012-3>
- Pushkar, B., Sevak, P., Parab, S., & Nilkanth, N. (2021). Chromium pollution and its bioremediation mechanisms in bacteria: A review. *Journal of Environmental Management*, 287, 112279. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112279>
- Quevauviller, P., Thomas, O., & Beken, A. van der. (2006). *Wastewater quality monitoring and treatment*. John Wiley & Sons, Ltd.
- Rahman, Z., & Singh, V. (2019). The relative impact of toxic heavy metals (THMs) (arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr)(VI), mercury (Hg), and lead (Pb)) on the total environment: an overview. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191(7), 419. <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7528-7>
- Ramalho, R. (2009). *Tratamiento de Aguas Residuales* (2da ed.). Reverté, S. A.
- Ran, H., Guo, Z., Yi, L., Xiao, X., Zhang, L., Hu, Z., Li, C., & Zhang, Y. (2021). Pollution characteristics and source identification of soil metal loids at an abandoned arsenic containing mine, China. *Journal of Hazardous Materials*, 413, 125382. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125382>
- Ren, F., Sun, Y., Liu, J., Chen, K., & Shi, N. (2022). A modified dynamic DEA model to assess the wastewater treatment efficiency: perspective from Yangtze River and Non Yangtze River Basin. *Scientific Reports*, 12(1), 9931. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14105-0>
- Rout, P., Zhang, T., Bhunia, P., & Surampalli, R. (2021). Treatment technologies for emerging contaminants in wastewater treatment plants: A review. *Science of The Total Environment*, 753, 141990. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141990>
- Rudaru, D., Lucaciu, I., & Fulgheci, A. (2022). Correlation between BOD₅ and COD – biodegradability indicator of wastewater. *Romanian Journal of Ecology & Environmental Chemistry*, 4(2), 80–86. <https://doi.org/10.21698/rjeec.2022.207>

- Shah, A., & Shah, M. (2020). Characterization and bioremediation of wastewater: A review exploring bioremediation as a sustainable technique for pharmaceutical wastewater. *Groundwater for Sustainable Development*, 11, 100383. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2020.100383>
- Shahid, M., Khalid, S., Niazi, N. K., Murtaza, B., Ahmad, N., Farooq, A., Zakir, A., Imran, M., & Abbas, G. (2021). Health risks of arsenic buildup in soil and food crops after wastewater irrigation. *Science of The Total Environment*, 772, 145266. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145266>
- Siddiquee, S., Rovina, K., & Azad, S. (2015). Heavy metal contaminants removal from wastewater using the potential filamentous fungi biomass: A Review. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 07(06). <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000243>
- Sierra, C. (2020). *Ambato tratará las aguas residuales con la moderna planta que será inaugurará el viernes 21 de febrero de 2020*. El Comercio. <https://www.elcomercio.com/actualidad/ecuador/ambato-aguas-residuales-planta-inauguracion.html>
- Singh, S., Alexander, K., Op, V., Rai, A. K., Zia, S., & Manikpuri, P. (2019). Relation between COD and BOD in Sangam water samples for pre and post bath during Kumbh 2019. ~ 1130 ~ *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 7(3), 1130–1132.
- Spellman, F. R. (2009). *Handbook of water and wastewater treatment plant operations* (2nd ed.). CRC Press/Taylor & Francis. <https://doi.org/https://doi.org/10.1201/9781420075311>
- Su, Y., Zhao, Y., Wu, N., Chen, Y., Zhang, W., Qiao, D., & Cao, Y. (2018). Chromium removal from solution by five photosynthetic bacteria isolates. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(4), 1983–1995. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8690-x>
- Sun, F., Fan, L., Wang, Y., & Huang, L. (2019). Metagenomic analysis of the inhibitory effect of chromium on microbial communities and removal efficiency in A2O sludge. *Journal of Hazardous Materials*, 368, 523–529.

<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.01.076>

- Tang, X., Huang, Y., Li, Y., Wang, L., Pei, X., Zhou, D., He, P., & Hughes, S. S. (2021). Study on detoxification and removal mechanisms of hexavalent chromium by microorganisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 111699. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111699>
- TULSMA. (2017). *Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes: Recurso agua. Libro VI, anexo 1*. <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu112180.pdf>
- Valdez, E., & Vázquez, A. (2003). *Ingeniería de los sistemas de tratamiento y disposición de aguas residuales*. Fundación ICA, A.C.
- Wei, Z., Wang, Z., Yan, J., Liu, Y., Wu, Y., Fang, Y., Yu, L., Cheng, G., Pan, Z., & Hu, G. (2019). Adsorption and oxidation of arsenic by two kinds of β -MnO₂. *Journal of Hazardous Materials*, 373, 232–242. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.03.071>
- World Health Organization. (2018). *Progress on wastewater treatment 2018 piloting the monitoring methodology and initial findings for SDG indicator 6.3.1*.
- Xylem Analytics. (2020). *OxiTop®-IDS (/B) Multi 3630/3620 IDS Funcionamiento Inalámbrico Cabezales de Medición OxiTop®-IDS (/B)*.
- Yadav, M., Saidulu, D., Gupta, A., Ghosal, P., & Mukherjee, A. (2021). Status and management of arsenic pollution in groundwater: A comprehensive appraisal of recent global scenario, human health impacts, sustainable field-scale treatment technologies. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(3), 105203. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105203>
- Zamora, C., Negrete, D., Figueroa, F., Zamora, E., Ni, M., Alexis, F., & Guerrero, V. (2021). Heavy metal water pollution: A fresh look about hazards, novel and conventional remediation methods. *Environmental Technology & Innovation*, 22, 101504. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101504>
- Zhang, J., Shao, Y., Liu, G., Qi, L., Wang, H., Xu, X., & Liu, S. (2021). Wastewater COD characterization: RBCOD and SBCOD characterization analysis methods. *Scientific Reports 2021 11:1*, 11(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-020->

80700-8

Zheng, Q., Na, S., Li, X., Li, N., Hai, R., & Wang, X. (2019). Acute effects of hexavalent chromium on the performance and microbial community of activated sludge in aerobiotic reactors. *Environmental Technology*, *40*(14), 1871–1880. <https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1432695>


Zhou, H., Sheng, Y., Zhao, X., Gross, M., & Wen, Z. (2018). Treatment of acidic sulfate-containing wastewater using revolving algae biofilm reactors: Sulfur removal performance and microbial community characterization. *Bioresource Technology*, *264*, 24–34. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.05.051>

ANEXOS

Anexo 1

Carta compromiso otorgada por la planta de tratamiento de aguas residuales de Ambato

EP-EMAPA-A-TH-1233-2022
Ambato, 25 de julio de 2022



Ingeniero
Alex Valencia Silva
DECANO SUBROGANTE
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

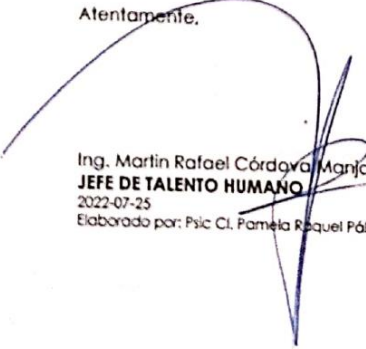
Presente,

De mi consideración:


Reciba un cordial saludo, en referencia al Oficio N° UTA-FICIAB-2022-003-M de fecha 2022-07-20, presentado por la señorita **SHARON MAYLI FREIRE ALEGRÍA** con CC: 1805135108, estudiante de la Carrera de Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato; al respecto, me permito informar que la estudiante ha sido **ACEPTADA** para que realice la parte experimental del Trabajo de Titulación "Evaluación del consumo de oxígeno por bacterias aeróbicas en aguas residuales de la Planta de Tratamiento de Ambato contaminadas con cromo y arsénico" en la EP-EMAPA-A.

Particular que comunico para los fines pertinentes.

Atentamente,



Ing. Martín Rafael Córdova Manjarrez
JEFE DE TALENTO HUMANO
2022-07-25
Elaborado por: Psic. Cl. Pamela Raquel Pólit Ibarra



EMPRESA CERTIFICADA ISO 9001 17025
www.emapa.gob.ec

Matriz: Antonio Clavijo e Isafas Sánchez
Telf.: (03) 299-7700 / Ext: 701 - 702
Ambato - Ecuador

Anexo 2

Cadena de custodia del muestreo de agua residual en la planta de tratamiento de aguas residuales de 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' 21.9" 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 Girona - Juan Allica		NOMBRE	Ph.D. Rodny Paraguel	NOMBRE	NILDA CERVINO RAMOS GAVILANES
FIRMA			FIRMA		FIRMA	

Anexo 3

TULSMA, Tabla 8, Límites permisibles de AR para descarga al sistema de alcantarillado público, Libro VI

Parámetros	Unidad	Expresado como:	Límite máximo permisible
Zinc	mg/L	Zn	10
Vanadio	mg/L	V	5
Tensoactivos	mg/L	Sustancias activas al azul de metileno	2
Temperatura	mg/L	°C	< 40
Sulfuros	mg/L	S	1
Sulfuro de carbono	mg/L	Sulfuro de carbono	1

Parámetros	Unidad	Expresado como:	Límite máximo permisible
Sulfatos	mg/L	SO ⁴⁻	400
Sólidos totales	mg/L		1 600
Sólidos Suspendidos Totales	mg/L		220
Sólidos Sedimentables	mg/L		20
Selenio	mg/L	Se	0,5
Potencial de hidrógeno	mg/L	pH	5 – 9
Plomo	mg/L	Pb	0,5
Plata	mg/L	Ag	0,5
Nitrógeno Total Kjeldahl	mg/L	N	40
Níquel	mg/L	Ni	2
Mercurio (total)	mg/L	Hg	0,01
Hierro total	mg/L	Fe	25
Fósforo Total	mg/L	P	15
Dicloroetileno	mg/L	Dicloroetileno	1
Demanda Química de Oxígeno	mg/L	DQO	500
Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	mg/L	DBO ₅	250
Cromo Hexavalente	mg/L	Cr ⁺⁶	0,5
Cobre	mg/L	Cu	1
Cobalto total	mg/L	Co	0,5
Cloroformo	mg/L	Extracto carbón cloroformo (ECC)	0,1
Cloro Activo	mg/L	Cl	0,5
Cianuro total	mg/L	CN-	1

Parámetros	Unidad	Expresado como:	Límite máximo permisible
Caudal máximo	L/s		1.5 veces el caudal promedio
Carbonatos	mg/L	CO ₃	0,1
Cadmio	mg/L	Cd	0,02
Bario	mg/L	Ba	5
Arsénico total	mg/L	As	0,1
Aluminio	mg/L	Al	5
Alkil mercurio	mg/L		No detectable
Aceites y grasas	mg/L	Sustancias solubles en hexano	100

Fuente. (TULSMA, 2019).

Anexo 4

Waster Engineering, Tabla 3-18, Composición típica de las aguas residuales domésticas no tratadas

Constituyente	Unidad	Concentración		
		Débil	Media	Fuerte
Aceite y grasa	mg/L	51	76	153
Amonio	mg/L	14	20	41
Carbono orgánico total (COT)	mg/L	109	164	328
Cloruros	mg/L	39	59	118
Coliformes fecales	No/100 mL	10 ³ – 10 ⁵	10 ⁴ – 10 ⁶	10 ⁵ - 10 ⁸
Coliformes totales	No/100 mL	10 ⁶ - 10 ⁸	10 ⁷ – 10 ⁹	10 ⁷ – 10 ¹⁰
Compuestos orgánicos volátiles (COVs)	mg/L	<100	100 – 400	>400
<i>Cryptosporidium oocysts</i>	No/100 mL	10 ⁻¹ – 10 ¹	10 ⁻¹ – 10 ²	10 ⁻¹ – 10 ³

Constituyente	Unidad	Concentración		
		Débil	Media	Fuerte
Demanda bioquímica de oxígeno, 5 días, 20 °C (DBO ₅)	mg/L	133	200	400
Demanda química de oxígeno (DQO)	mg/L	339	508	1016
Fósforo inorgánico	mg/L	1.6	2.4	4.7
Fósforo orgánico	mg/L	2.1	3.2	6.3
Fósforo total	mg/L	3.7	5.6	11.0
<i>Giardia lamblia</i> cysts	No/100 mL	10 ⁻¹ – 10 ²	10 ⁻¹ – 10 ³	10 ⁻¹ – 10 ⁴
Nitratos	mg/L	0	0	0
Nitritos	mg/L	0	0	0
Nitrógeno orgánico	mg/L	10	14	29
Nitrógeno total	mg/L	23	35	69
Potasio	mg/L	11	16	32
Sólidos disueltos fijos (SDF)	mg/L	224	336	672
Sólidos disueltos totales (STD)	mg/L	374	560	1121
Sólidos disueltos volátiles (SDV)	mg/L	150	225	449
Sólidos sedimentables	mg/L	8	12	23
Sólidos suspendidos fijos (SSF)	mg/L	29	43	86
Sólidos suspendidos totales (SST)	mg/L	130	195	389
Sólidos suspendidos volátiles (SSV)	mg/L	101	152	304
Sólidos totales (ST)	mg/L	537	806	1612
Sulfato	mg/L	24	36	72

Fuente. (Metcalf & Eddy, 2014)

Anexo 5

Ingeniería de los sistemas de tratamiento y disposición de aguas residuales, Tabla 2.2, Análisis típico de agua residual municipal

Constituyente	Unidad	Concentración		
		Débil	Media	Fuerte
Alcalinidad (CaCO ₃)	mg/L	50	100	200
Carbono orgánico total (COT)	mg/L	80	160	290
Cloruros	mg/L	30	50	100
Demanda bioquímica de oxígeno, 5 días, 20 °C (DBO ₅)	mg/L	110	220	400
Demanda química de oxígeno (DQO)	mg/L	250	500	1000
Fósforo inorgánico	mg/L	3	5	10
Fósforo orgánico	mg/L	1	3	5
Fósforo total	mg/L	4	8	15
Grasas	mg/L	50	100	150
Nitratos	mg/L	0	0	0
Nitritos	mg/L	0	0	0
Nitrógeno amoniacal	mg/L	12	25	50
Nitrógeno orgánico	mg/L	8	15	35
Nitrógeno total	mg/L	20	40	85
Sólidos disueltos fijos (SDF)	mg/L	145	300	525
Sólidos disueltos totales (STD)	mg/L	250	500	850
Sólidos disueltos volátiles (SDV)	mg/L	105	200	325
Sólidos sedimentables	mg/L	5	10	20
Sólidos suspendidos fijos (SSF)	mg/L	20	55	75

Constituyente	Unidad	Concentración		
		Débil	Media	Fuerte
Sólidos suspendidos totales (SST)	mg/L	100	220	350
Sólidos suspendidos volátiles (SSV)	mg/L	80	165	275
Sólidos totales (ST)	mg/L	350	720	1200

Fuente. (Valdez & Vázquez, 2003).

Anexo 6

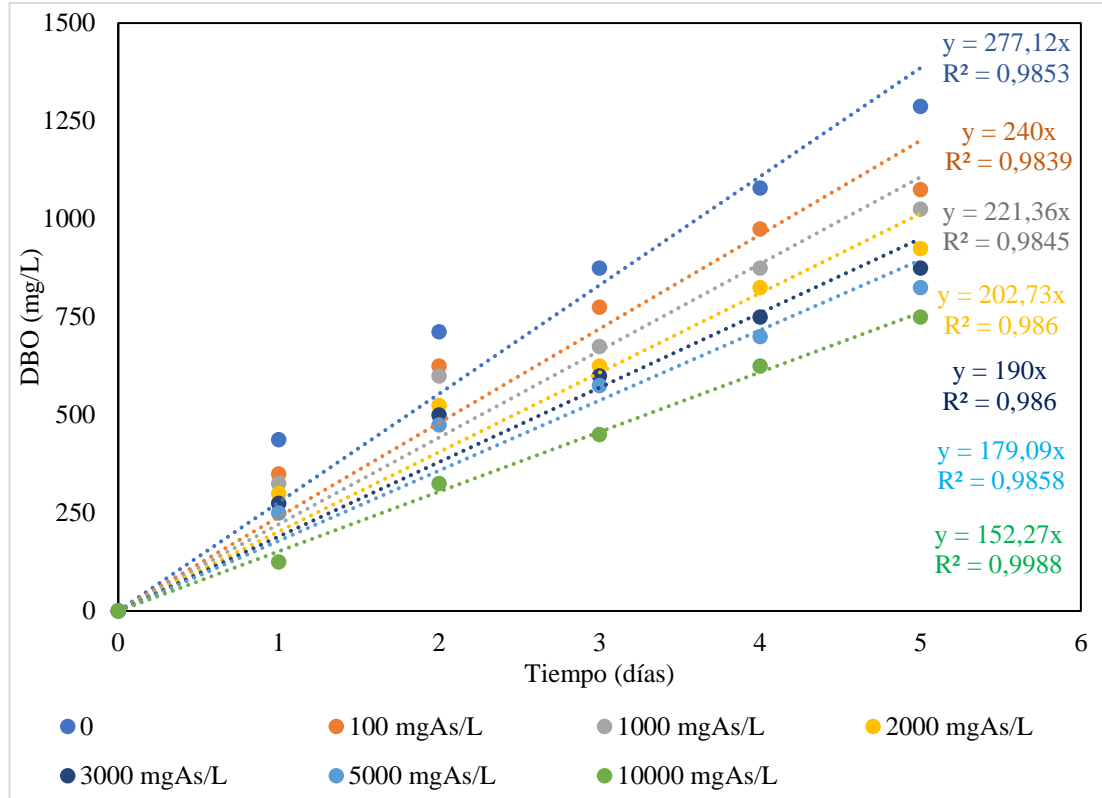
Lecturas diarias de DBO en una muestra AR con la adición de As

Ensayo	Concentración mg As/L	Días					
		0	1	2	3	4	5
Control	0	0	438	713	875	1079	*1288
1	100	0	350	625	775	975	*1075
2	1000	0	325	600	675	875	*1025
3	2000	0	300	525	625	825	*925
4	3000	0	275	500	600	750	*875
5	5000	0	250	475	575	700	*825
6	10000	0	125	325	450	625	*750

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 concentraciones de arsénico. *DBO₅, obtenida en el quinto día de incubación (mg O₂/L).

Anexo 7

Ajuste lineal de DBO a una incubación de 5 días y distintas concentraciones de As



Nota. Ecuación de la recta (la pendiente, representa la tasa de consumo de oxígeno) y coeficiente de correlación lineal obtenida para cada ensayo de arsénico (0, 100, 1000, 2000, 3000, 5000 y 10000 mg As/L).

Anexo 8

Actividad máxima de degradación e inhibición de As

Ensayo	Concentración (mg/L)	r	rAs/rControl	Actividad	
				máxima de degradación de MO (%)	Inhibición (%)
Control	0	277,12	1,00	100%	0%
1	100	240,00	0,87	87%	13%
IC20	1000	221,37	0,80	80%	20%

3	2000	205,00	0,74	74%	26%
4	3000	185,00	0,67	67%	33%
5	5000	179,09	0,65	65%	35%
6	10000	152,27	0,55	55%	45%
IC50	12556	138,56	0,50	50%	50%
IC80	28055	55,42	0,20	20%	80%

Nota. Resultados de índices de toxicidad en la actividad metabólica y crecimiento de los microorganismos presentes en las muestras de AR del reactor biológico, en donde se observa que a una concentración de 1000 mg As/L se obtuvo el IC20, a 12556 mg As/L el IC50 y a 28055 mg As/L el IC80. También se observa los porcentajes de actividad máxima de degradación de materia orgánica (AMD).

Anexo 9

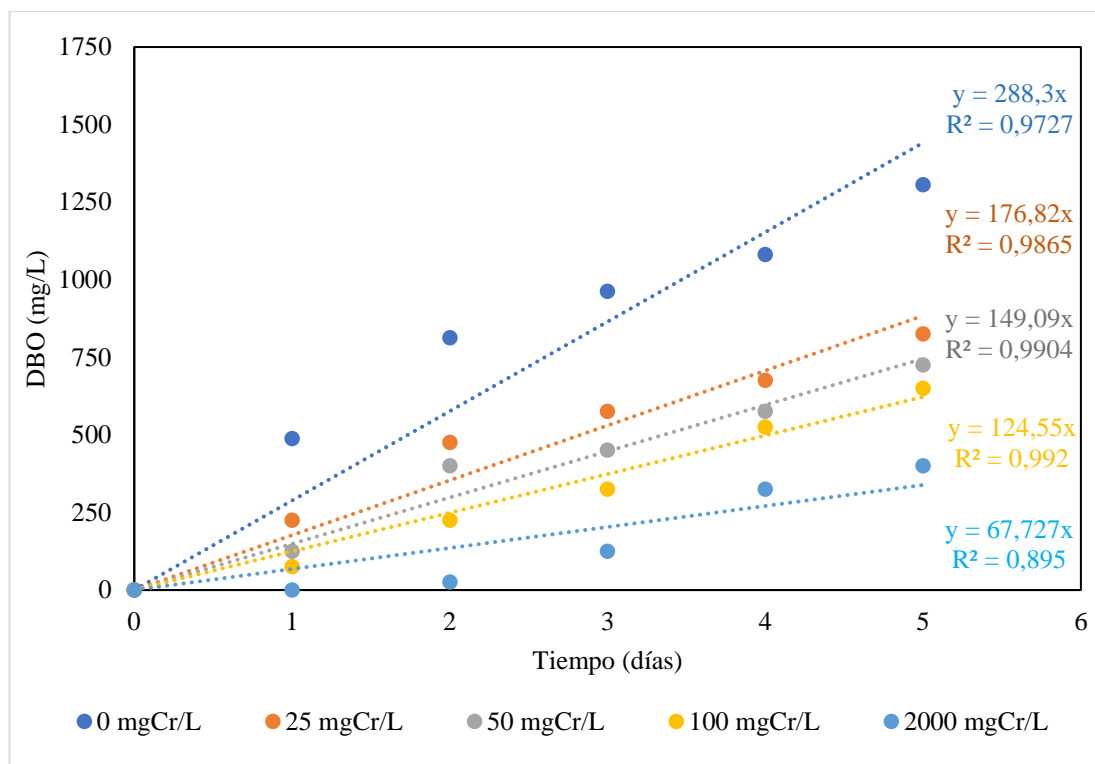
Lecturas de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) para Cr (VI)

Ensayo	Concentración mg Cr/L	Días					
		0	1	2	3	4	5
Control	0	0	488	813	963	1081	*1306
1	25	0	225	475	575	675	*825
2	50	0	125	400	450	575	*725
3	100	0	75	225	325	525	*650
4	200	0	0	25	125	325	*400

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 concentraciones de cromo hexavalente. *DBO₅, obtenida en el quinto día de incubación (mg O₂/L).

Anexo 10

Ajuste lineal de DBO a una incubación de 5 días y distintas concentraciones de Cr (VI)



Nota. Ecuación de la recta (la pendiente, representa la tasa de consumo de oxígeno) y coeficiente de correlación lineal obtenida para cada ensayo de arsénico (0, 25, 50, 100 y 200 mg Cr/L).

Anexo 11

Actividad máxima de degradación e inhibición de Cr (VI)

Ensayo	Concentración (mg Cr/L)	r	rAs/rControl	Actividad máxima de degradación de MO (%)	Inhibición (%)
Control	0	288,30	1,00	100%	0%
IC20	13	230,64	0,80	80%	20%
1	25	176,82	0,61	61%	39%

2	50	149,09	0,52	52%	48%
IC50	60	144,15	0,50	50%	50%
3	100	124,55	0,43	43%	57%
4	200	67,73	0,23	23%	77%
IC80	218	57,66	0,20	20%	80%

Nota. Resultados de índices de toxicidad, en donde se observa que a una concentración de 13 mg Cr/L se obtuvo el 20% de inhibición, a 60 mg Cr/L se obtuvo el 50% de inhibición y a 218 mg As/L se obtuvo el 80% de inhibición de la actividad metabólica y crecimiento de los microorganismos presentes en las muestras de AR del reactor biológico. También se observa los porcentajes de actividad máxima de degradación de materia orgánica (AMD).

Anexo 12

Anexo fotográfico

Foto 1

Toma de muestra en los reactores de la planta de tratamiento de aguas residuales de Ambato



Foto 2

Medición de parámetros in situ de las muestras tomadas de los reactores de la planta de tratamiento de aguas residuales de Ambato



Foto 3

Muestras de agua residual



Foto 4

Caracterización de muestras de agua residual



Foto 5

Determinación de DBO en bioensayos de toxicidad con arsénico y cromo hexavalente

