

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE QUIMICA



**ELIMINACIÓN DE LA MATERIA ORGANICA CONTENIDA
EN UN EFLUENTE DE CURTIEMBRE MEDIANTE
OXIDACIÓN BIOLÓGICA Y QUÍMICA**

TESIS

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADO EN QUÍMICA**

**PRESENTADO POR:
Jessica Ivana Nieto Juárez**

**Lima - Perú
2002**

Dedicatoria

*A mis padres y hermanos
por su gran amor y paciencia
A Rommel por su amor
que me demuestra cada día y
a DIOS por ser mi mediador*

Índice General

Dedicatoria	ii
Índice General	iii
Índice de Tablas	vi
Índice de Figuras	viii
Prefacio	x
Agradecimientos	xiii
Abreviaturas	xvi
Resumen	xviii
1 Introducción	1
1.1 Situación en el Perú	3
1.2 Hipótesis	6
1.3 Objetivos Generales	6
1.3.1 Objetivos específicos	6
2 Marco Teórico	7
2.1 Proceso Industrial del cuero	7
2.1.1 ¿Qué es el cuero?	7
2.1.2 Diagrama del proceso productivo de curtido	9

2.1.3	Descripción del proceso productivo de curtido	11
2.1.4	Generación de residuos	14
2.1.5	Impacto sobre el ambiente y la salud	16
2.1.6	Comparación con las Normas Internacionales	17
2.2	Métodos de tratamiento del agua residual en la industria de curtiembre	18
2.2.1	Métodos de pre-tratamiento	19
2.2.2	Métodos de tratamiento primario	19
2.2.3	Métodos de tratamiento secundario	20
2.2.4	Métodos de tratamiento terciario o avanzado	20
2.3	Sistema de lodos activados (SLA)	23
2.3.1	Microbiología del sistema de lodos activados	24
2.3.2	Formación del lodo activado	25
2.3.3	Parámetros operacionales para lodos activados	26
2.3.4	Problemas relacionados con los lodos	29
2.3.5	Respirometría	30
2.3.6	Antecedentes del tratamiento aeróbico de efluentes de curtiembre	31
2.4	Procesos de oxidación avanzados (POA)	33
2.4.1	Fotocatálisis heterogénea	34
2.4.2	Reacciones de Fenton y de foto-Fenton	44
2.4.3	Antecedentes de los Procesos de Oxidación Avanzada en efluentes	46
3	Parte Experimental	48
3.1	Diagrama del procedimiento efectuado	48
3.2	Efluente crudo de pelambre	49
3.3	Inoculo	49
3.4	Sistema de lodos activados	49
3.4.1	Respirometría	51
3.5	Procesos de oxidación avanzados	53
3.5.1	Pre-tratamiento	53
3.5.2	Post-tratamiento	54

3.6	Sistemas combinados de tratamiento	55
3.6.1	POA/biológico	55
3.6.2	Biológico/POA	56
3.7	Métodos analíticos	58
3.7.1	Físico-químicos	58
3.7.2	Bioensayos de toxicidad	61
3.8	Materiales, reactivos y equipos	63
4	Resultados y discusiones	67
4.1	Caracterización del efluente crudo de pelambre	67
4.2	Sistema de lodos activados (SLA)	69
4.3	Procesos de Oxidación Avanzada	82
4.3.1	Pre-tratamiento	82
4.3.2	Post-tratamiento	84
4.4	Sistemas combinados de tratamiento	89
4.4.1	POA/biológico	89
4.4.2	biológico/POA	98
5	Conclusiones	100
	Bibliografía	102
	Anexos	110

Indice de Tablas

1.1	Distribución de las industrias de curtiembres en el Perú.	3
1.2	Características del efluente de curtiembre en el Perú.	5
2.1	Composición química de la piel de res.	8
2.2	Distribución de algunos parámetros contaminantes en los distintos procesos de la industria de curtiembre.	15
2.3	Comparación de la Norma Peruana con la Norma Internacional.	18
2.4	Posiciones de bandas de algunos semiconductores fotocatalizadores en solución acuosa a $pH=1$	37
3.1	Cantidades utilizadas de peróxido de hidrógeno y hierro.	54
3.2	Resumen de los materiales y reactivos.	63
3.3	Resumen de los equipos.	66
4.1	Caracterización del efluente crudo de curtiembre (pelambre).	68
4.2	Parámetros operacionales del sistema de lodos activados.	72
4.3	Comportamiento de los parámetros biocinéticos del SLA.	75
4.4	Comportamiento de la relación de biodegradabilidad en el SLA.	78
4.5	Toxicidad aguda del efluente de pelambre en el SLA.	79
4.6	Comportamiento de la biomasa en el sistema de lodos activados.	80
4.7	Eficiencia del pre-tratamiento mediante la reacción de Fenton en 30 minutos de aplicación.	82
4.8	Biodegradabilidad del pre-tratamiento mediante la reacción de Fenton en 30 minutos de aplicación.	83

4.9	Biodegradabilidad del post-tratamiento con $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$ a diferentes pHs en 2 h de tratamiento.	86
4.10	Biodegradabilidad del post-tratamiento mediante el sistema de Fenton y de foto-Fenton en 1 h de tratamiento.	88
4.11	Parámetros operacionales del sistema combinado POA/SLA.	90
4.12	Comportamiento de los parámetros biocinéticos del sistema combinado POA/SLA.	93
4.13	Biodegradabilidad del sistema combinado POA/SLA.	95
4.14	Toxicidad del efluente de pelambre en el sistema combinado POA/SLA.	96
4.15	Comportamiento de la biomasa en el sistema combinado POA/SLA.	97
4.16	Eficiencia de eliminación total del sistema combinado POA/SLA.	98
4.17	Eficiencia de eliminación total del sistema combinado SLA/POA.	99

Indice de Figuras

2.1	Esquema del proceso productivo y generación de residuos	10
2.2	Tratamiento del agua residual en la industria de curtido	22
2.3	Esquema de las etapas del sistema de lodos activados	24
2.4	Procesos que ocurren en la interfase semiconductor-electrolito bajo iluminación con luz UV.	36
2.5	Procesos fotocatalíticos del semiconductor-TiO ₂	40
3.1	Diagrama del procedimiento efectuado en este estudio.	48
3.2	Sistema de lodos activados utilizado en el estudio.	50
3.3	Puntos de muestreo en el sistema de lodos activados.	52
3.4	Sistema Combinado: POA/SLA.	56
3.5	Sistema Combinado: SLA/POA.	57
3.6	Curva de Calibración de la DQO.	58
3.7	Crustáceo cladóceros del género <i>Daphnia</i>	62
4.1	Comportamiento del pH en el influente del sistema de lodos activados. .	69
4.2	Comportamiento del pH en el efluente del sistema de lodos activados. .	71
4.3	Comportamiento de la carga orgánica (DQO) en la entrada y salida del SLA (a); Cinética de degradación de la DQO en el SLA (b).	73
4.4	Comportamiento de la carga orgánica (DBO ₅) presente en el SLA (a); Cinética de degradación de la DBO ₅ en el SLA (b).	74
4.5	Eficiencia del sistema de lodos activados.	77
4.6	Microorganismos presentes en el sistema de lodos activados.	81

4.7	Eficiencia de eliminación de la DQO (a) y DBO ₅ (b) del post-tratamiento mediante TiO ₂ /O ₂ /UV a diferentes pHs en 2 h de tratamiento.	85
4.8	Eficiencia de eliminación de la DQO (a) y DBO ₅ (b) del post-tratamiento mediante la reacción de Fenton y de foto-Fenton en 1 h de tratamiento.	87
4.9	Comportamiento del pH en el influente, reactor y efluente del sistema combinado POA/SLA.	89
4.10	Comportamiento de la carga orgánica en el influente y efluente (a); Cinética de degradación de la DQO (b) del sistema combinado POA/SLA.	91
4.11	Comportamiento de la carga orgánica en el influente y efluente (a); Cinética de degradación de la DBO ₅ (b) del sistema combinado POA/SLA.	92
4.12	Eficiencia de eliminación de la materia orgánica del sistema combinado POA/SLA.	94

Prefacio

El presente trabajo ha sido hecho con la finalidad de disminuir y eliminar la elevada carga orgánica que presenta el efluente de pelambre, proveniente de la industria de curtiembre, mediante un tratamiento adecuado al efluente. Utilizando como tratamiento para el efluente una oxidación biológica mediante el sistema de lodos activados (SLA) y una oxidación química utilizando los procesos de oxidación avanzada (POA). Siendo estos últimos muy estudiados y usados en los países desarrollados, pero poco difundido y estudiado a nivel Latinoamérica, por la rapidez y factibilidad que tienen de degradar compuestos orgánicos refractarios o recalcitrantes. Asimismo, los POA se utilizan en combinación con el SLA como pre-tratamiento y post-tratamiento.

El contenido de este trabajo está dividido de la siguiente manera. El **Capítulo 1**, está referido a la introducción general del trabajo, los problemas que pueden acarrear los efluentes de la industria de curtiembre y las posibles soluciones que se le pueden dar, así como también, la situación de estas industrias de tenería en nuestro país. Se plantea además la hipótesis del trabajo y los objetivos.

En el **Capítulo 2** se encuentra el contenido teórico, en donde se define qué es el cuero y cómo está constituido, una breve descripción del proceso industrial del cuero, los impactos que ocasionan sus aguas residuales (efluentes) al ambiente y los tratamientos que se hacen a las aguas residuales de curtiembres para minimizar la contaminación. A la vez, se especifican los principios, características, parámetros operacionales, reacciones y problemas que puedan darse en los tratamientos biológicos y oxidativos efectuados en este trabajo.

La metodología empleada en donde se describe paso a paso como se realizó el trabajo, de donde proviene el efluente de curtiembre, la estrategia de operación utilizada en el sistema de lodos activados y los procesos de oxidación avanzada, así como los métodos analíticos y bioensayos de toxicidad empleados y descritos se encuentran en el **Capítulo 3**.

En el **Capítulo 4** se presentan los resultados experimentales obtenidos en los tratamientos empleados y su discusión respectiva para cada caso, lo que dará paso a las conclusiones, dadas en el **Capítulo 5**.

Es deseo del autor que esta tesis sirva para futuras experiencias en cuanto al tratamiento de las aguas residuales industriales y la aplicación de ella, ya que pueden minimizar de manera eficiente los impactos generados por las descargas de los efluentes, como es el caso de este trabajo. A la vez, la difusión y aplicabilidad de los procesos de oxidación avanzada en combinación con algún tratamiento biológico para reducir la descarga contaminante de las aguas residuales, debido a que esta disminución de la contaminación del efluente constituye un mecanismo de protección ambiental y producir en forma sustentable, lo que abre nuevos mercados para las ventas de sus productos.

Por otro lado, los resultados obtenidos en este trabajo han sido presentados en Congresos Internacionales y otros tantos de carácter Nacional.

- Bornhardt C., Nieto J., Cooman K. and Vidal G., 2001. "Activated sludge treatment and toxicity evaluation of tannery wastewater streams". *IWA 2nd World Water Congress*, Berlín-Alemania, 15-19 Octubre.
- Cooman K., Gajardo M., Nieto J., Bornhardt and Vidal G., 2001. "Chemical and Toxicological characterization of tannery wastewater by *Daphnia magna* and *Daphnia pulex*". 4^{ta} Reunión Anual SETAC Latinoamérica, Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Buenos Aires-Argentina, 22-25 Octubre.
- Nieto J., Vidal G. y Bornhardt C., 2001. "Consideraciones sobre la biomasa de un reactor de lodos activados que trata efluentes segregados de la industria de curtiembre". *IX Congreso Bolivariano y XIV Congreso Peruano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental*, Lima-Perú, 06-09 Noviembre.
- Vidal G., Nieto J., Arbazúa M. y Bornhardt C., 2001. "Microorganisms as stability indicators of an activated sludge system". *XXIII Congreso Chileno de Microbiología*, Balneario El Morro, Tomé-Chile, 28-30 Noviembre.
- Nieto J., Lizama C., Bornhardt C., Vidal G., Freer J. y Mansilla H.D., 2001. "Oxidación avanzada de un efluente de curtiembre tratado biológicamente". *XXIV Jornadas Chilenas de Química*, Universidad La Frontera, Temuco-Chile, 28-30 Noviembre.
- Vidal G., Nieto J., Cooman K. and Bornhardt C., 2002. "Combinación de procesos biológicos y de oxidación avanzada para el tratamiento de una corriente de proceso de la industria de curtiembre". *XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental*, AIDIS, FEMISCA, Cancún-México, 27-31 Octubre.

Al mismo tiempo, se encuentra una publicación ISI, en prensa y otra enviada a publicar, también en revista ISI, siendo estas:

- Cooman K., Gajardo M. **Nieto J.**, Bornhardt C. and Vidal G., **2002**. “Tannery wastewater characterization and toxicity effects on *Daphnia spp.*”. *Environmental Toxicology*, *17*, *6*, (In Press).
- Vidal G., **Nieto J.**, Cooman K. Marquéz F. and Bornhardt C., **2002**. “Molecular weight distribution of the unhairing effluents treated by an activated sludge system”. *Chemosphere*, (Submitted).

Agradecimientos

Al Proyecto de la Unión Europea INCO-DC Nº ERB IC18-CT98-0286 “Reduction of environmental impacts of leather tanneries (EILT)”, que permitió mi estadía en el Laboratorio de Biotecnología Ambiental del Centro Universitario Internacional Europa-Latinoamérica de Investigación y Formación en Ciencias Ambientales (EULA-Chile), Universidad de Concepción, Concepción, Chile; y al Proyecto DIUC 201096054-1.0 “Reducción de la carga orgánica de efluentes segregados de la industria de curtiembre mediante lodos activados: estudio de las fracciones orgánicas”, que contribuyó en parte para la realización de este trabajo.

En especial quiero dar mis más sinceros agradecimientos a la Dra. Gladys Vidal por brindarme desde un principio su amistad, apoyo y confianza, en el transcurso de mi estadía, porque sin su colaboración no se hubiera podido realizar este trabajo. A la vez, por ser la gestora y tutora durante mi permanencia en el Centro de Ciencias Ambientales EULA-Chile, en especial por la formación e investigación que me inculcó profesionalmente y a quien le deseo los mejores éxitos.

Al Dr. Héctor D. Mansilla del Laboratorio de Recursos Renovables de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile, por haberme recibido muy cordialmente en su Laboratorio, por brindarme desde un principio su apoyo, amistad y confianza. A la vez, por participar como coordinador en la parte de los procesos de oxidación avanzada empleados en este estudio, transmitiéndome sus conocimientos y experiencias para la realización de la segunda parte de este trabajo.

Al Dr. Juan Rodríguez, por haber aceptado ser mi tutor y ser el contacto con la Universidad Nacional de Ingeniería. A quien le estoy muy agradecida, porque sin su ayuda y apoyo no hubiera podido presentar y defender este trabajo.

A la Escuela Profesional de Química, Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería, por la formación profesional durante el transcurso de mi carrera profesional y a todos mis compañeros que de alguna u otra manera confiaron y creyeron en mí.

Al Centro Universitario Internacional Europa-Latinoamérica de Investigación y Formación en Ciencias Ambientales (EULA-Chile), por haber permitido mi estadía en el

Laboratorio de Biotecnología Ambiental, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

Al Dr. Cristian Bornhardt, del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de La Frontera, Temuco, Chile, por haber financiado mi estadía en Chile, bajo el marco del Proyecto Europeo INCO-DC.

Al doctorando Cristian Lizama de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Concepción, por brindarme su amistad, ayuda, confianza y experiencia profesional en forma desinteresada para la realización de este trabajo, en lo que respecta a la parte de los procesos de oxidación avanzada.

*Al Laboratorio de Bioensayos del Centro de Ciencias Ambientales EULA, Universidad de Concepción, en especial a Katrien Cooman y Marisol Gajardo, por haberme brindado su amistad, experiencia profesional y colaboración en las determinaciones de los bioensayos de toxicidad con *Daphnias*, para la realización de este trabajo.*

Al Laboratorio de Residuos Líquidos (RILes) del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de La Frontera, Temuco (Chile), por la realización de algunos ensayos en la caracterización del efluente de curtiembre, proceso de pelambre.

Al Departamento de Ingeniería Matemática, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile, por haberme facilitado desde un inicio sus instalaciones para poder realizar el tipeo y las impresiones respectivas, y además de las implementaciones de algunos programas para la realización de la configuración (formato) del trabajo. En especial, al Dr. Gabriel Gatica, director del Dpto., y a todos los doctorandos de la cabina 6, en particular a Rommel Bustinza y Anibal Coronel, por haberme brindado su amistad, ayuda, paciencia y experiencia profesional.

A todo el personal profesional y técnico del Laboratorio de Química y Biología Ambiental del Centro EULA, Universidad de Concepción, por ofrecerme su amistad, confianza y apoyo en el transcurso de mi permanencia haciendo grata mi estadía en Concepción, Chile.

A todo el personal profesional y técnico del Laboratorio de Recursos Renovables de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Concepción, por la amistad, apoyo y preocupación durante mi permanencia en Concepción, haciendo muy grata mi estadía en Concepción, Chile.

A mis amigas, compañeras y colegas Andrea Jeria y Maribel Morales por haber creído en mí, por su amistad, apoyo y confianza para la realización de este estudio y durante mi permanencia en Concepción. Anhelándoles el mejor de los éxitos.

A mi gran amigo incondicional Juan Rodríguez García, que de alguna u otra forma me brindó su apoyo y ayuda en los momentos más difíciles y en la realización de este estudio.

A una persona muy especial especial para mí, Rommel Bustinza, por la paciencia, dedicación y amor que me brindó en el transcurso de mi carrera profesional y durante mi estadía.

Finalmente, pero no por último a mis padres y hermanos, por la paciencia y toda la confianza que depositaron en mí durante mi permanencia en Concepción, Chile y durante toda mi carrera profesional, porque sin ellos no hubiera podido realizar este trabajo. Que DIOS los bendiga.

Abreviaturas

<i>BC</i>	Banda de conducción
<i>BV</i>	Banda de Valencia
<i>d</i>	días
<i>DBO</i>	Demanda Bioquímica de Oxígeno
<i>DQO</i>	Demanda Química de Oxígeno
<i>g</i>	gramos
<i>h</i>	hora
<i>kg</i>	kilogramos
<i>L</i>	litros
<i>m</i>	metros
<i>mg</i>	miligramos
<i>mL</i>	mililitros
<i>POA</i>	Procesos de Oxidación Avanzada
<i>SC</i>	Semiconductor
<i>SLA</i>	Sistema de Lodos Activados
<i>SS</i>	Sólidos Suspendidos

SST Sólidos Suspendidos Totales

SSV Sólidos Suspendidos Volátiles

SSVLM Sólidos Suspendidos Volátiles del Licor Mezcla

SV Sólidos Volátiles

ton tonelada

TRH Tiempo de Retención Hidráulica

VCO Velocidad de Carga Orgánica

Resumen

La industria de curtiembre se considera como una de las que generan mayor impacto ambiental, debido a las características de sus procesos, reactivos químicos utilizados y generación de residuos producidos. Las principales etapas son: ribera, curtido y acabado, cada una de ellas presentan sus propias características. Sin embargo, dentro de la etapa de ribera, se encuentra el proceso de pelambre, uno de los procesos que necesita mayor cantidad de agua y reactivos químicos (cal, sulfuro de sodio y enzimas) y por tanto, genera efluente con elevadas concentraciones de carga orgánica, pH, sulfuros y sólidos suspendidos. Este efluente tiene un aporte relativamente importante en las características del efluente final de curtiembre. De aquí nace la necesidad de estudiar en forma segregada la biodegradabilidad y tratabilidad del efluente proveniente del proceso de pelambre.

En este trabajo se evaluó la biodegradación aeróbica del efluente de pelambre, a través del sistema de lodos activados (SLA), estudiando la adaptación de la biomasa aeróbica y optimizando los parámetros operacionales del sistema de tratamiento, para aumentar la eficiencia de depuración. Dentro de los parámetros a optimizar se encuentran la velocidad de carga orgánica (VCO) y el tiempo de retención hidráulica (TRH). Se determinó los parámetros que inciden directamente en la eficiencia de eliminación de la materia orgánica, medida como DQO y DBO₅. La disminución de la toxicidad del efluente es evaluada a través de *Daphnia magna* y *Daphnia pulex*.

Para aumentar la biodegradación de compuestos de elevado peso molecular contenido en el efluente de pelambre, se estudió la aplicación de los procesos de oxidación avanzada (POA) posterior al tratamiento biológico (SLA), utilizando como proceso oxidativo tres tipos de post-tratamiento: la reacción de Fenton, reacción de foto-Fenton y fotocatalisis heterogénea con TiO₂. En cada caso, se evalúa la eficiencia de eliminación total de este tratamiento combinado mediante los parámetros de DQO y DBO₅. Asimismo, se considera un POA, como pre-tratamiento al tratamiento biológico (SLA), utilizando como proceso oxidativo la reacción de Fenton, evaluando la eficiencia de eliminación total del sistema combinado. Considerando los sistemas combinados POA/SLA y SLA/POA, se realizó un análisis comparativo de ambos procesos, en la eficiencia de eliminación total de la materia orgánica del sistema.

Los resultados permiten establecer que el SLA alimentado con el efluente de pelambre (curtiembre), es capaz de eliminar la materia orgánica oxidativa sobre el 80% para la DQO y sobre el 98% para la DBO₅, operado en condiciones óptimas. Sin embargo,

a VCO mayor que 2 g DQO/L·d y TRH menor que 2 días se produce una capacidad de saturación de los microorganismos para biodegradar la materia orgánica contenida en el efluente, principalmente a elevadas cargas orgánicas. Esto quiere decir, que los microorganismos ya no pueden retroalimentarse más, por ello se produce una fracción recalcitrante que no es posible biodegradar y se acumula en el sistema.

Por otro lado, en el POA utilizado como pre-tratamiento, se obtiene una eficiencia de eliminación de DQO que varía de 87 a 91%, para un aumento progresivo de la carga orgánica del efluente de pelambre de 3,2 a 16,8 g DQO/L. Con respecto a la relación de biodegradabilidad del efluente (DBO_5/DQO), se puede indicar que conforme la carga orgánica aumenta, la relación DBO_5/DQO aumenta relativamente de 0,26 a 0,37. Esto mismo se pudo observar en el post-tratamiento mediante la reacción de Fenton y de foto-Fenton, donde se observaron similares resultados, obteniéndose una eficiencia de eliminación de DQO del 60% en tan solo 15 minutos y en 1 hora de aplicación la eficiencia de eliminación aumenta a un 80%. En cuanto a la relación de biodegradabilidad (medida como DBO_5/DQO) del efluente de pelambre, se produce un aumento considerable de 0,29 a 0,6 en 1 hora de aplicación, mientras que en 15 minutos se logra una relación de biodegradabilidad de 0,5 (en ambos casos). En el caso de la fotocatalisis heterogénea con TiO_2 , se obtiene a pH ácido (2,5) una eficiencia de eliminación de DQO de 43% y a pH muestra (7,6) se produce una eficiencia de eliminación del 55%. Sin embargo, la relación de biodegradabilidad del efluente a pH ácido (2,5) y muestra (7,6) varía ligeramente de 0,29 a 0,44 y de 0,29 a 0,47, respectivamente. En los dos casos, la máxima biodegradación se alcanza en 30 min de operación.

Por lo tanto, en el sistema combinado POA/SLA se obtiene una eliminación de DQO que varía de 91 a 96%, correspondiente a una velocidad de carga orgánica (VCO) de 0,4 a 1,6 g DQO/L·d. A su vez, el sistema combinado SLA/POA logra una eliminación de DQO de 91% para el proceso de Fenton y de foto-Fenton. Pero con TiO_2 a pH 2,5 y 7,6 la eficiencia de eliminación de la DQO es de 71% y 77%, respectivamente.

En cuanto a la toxicidad del efluente de pelambre, se encontró que el SLA produce una detoxificación considerablemente para ambas especies (*Daphnia magna* y *Daphnia pulex*). El valor de LC_{50} a 24h y 48h de ser expuesto el organismo en el influente fue de 9%, mientras que del efluente fue de 66%, cuando el sistema operaba a VCO de 3,6 g DQO/L·d y TRH de 1 d. Por el contrario, en el sistema POA/SLA la detoxificación fue relativa, se observó que el valor de LC_{50} a 24h y 48h fue de 13% para el influente y de 29% para el efluente. Resultados similares se observaron con *Daphnia pulex*.

Capítulo 1

Introducción

En la actualidad, la paulatina destrucción del medio ambiente provocada por las actividades humanas ha producido un interés enorme en el mundo, por cuantificar los niveles de contaminación y estudiar las fuentes principales que la originarían. Es evidente que la actividad industrial es una de ellas; sin embargo, no todos los rubros industriales generan iguales niveles de contaminación.

En todos los países, los gobiernos están preocupados en introducir normas para restringir las emisiones de los materiales contaminantes. Por ejemplo, en Perú la creciente preocupación por la problemática ambiental se materializó en la promulgación de la Ley D.S.N° 28/60-ASPL, Reglamento de desagües industriales para descargar las aguas residuales al alcantarillado y D.S.N° 007-83-SA para la calidad de los cuerpos de agua. Recientemente, en Julio del 2001, el Ministerio de Industria, Turismo, Integración y Negociaciones Comerciales Internacionales (MITINCI) presentó una propuesta para fijar normas de calidad en las aguas superficiales y alcantarillado, en cuanto al límite máximo permisible (LMP) del sub-sector curtiembre, que todavía está en estudio.

Esta aplicación de las normas legales en los países desarrollados, para controlar las emisiones industriales, ha producido que algunas industrias, sobre todo las más contaminantes, cierren sus puertas o se trasladen a otros países que les brindan facilidades para el desarrollo de sus actividades productivas. En América Latina, la falta de legislación ambiental y el bajo costo de la mano de obra propició la instalación de estas industrias, lo que ha afectado negativamente la calidad ambiental de América Latina y el Caribe. Un sector de este proceso de transferencia industrial es el de las curtiembres. Este sector tradicional y de amplia cobertura en América Latina requiere una urgente atención para minimizar la generación e impacto de sus residuos.

La industria de curtiembre se considera dentro de las más nocivas, debido a que descar-

gan una cantidad considerable de aguas residuales contaminadas, referidos al volumen de vertidos, al potencial contaminante estimado, a la ubicación de las industrias y a los cursos receptores de los efluentes. Las descargas de este tipo de efluente pueden ser sólidos, líquidos o gaseosos, que generan niveles de impacto apreciables al medio ambiente. El grado de contaminación de los efluentes de una curtiembre, depende de la piel que se procese (vacuno, ovino, caprino, etc.) y del tipo de cuero elaborado a partir de la misma. Es decir, depende de la materia prima, proceso de manufactura y producto final, las cuales poseen un elevado número de constituyentes, en cantidades variables y significativas. En este caso, las descargas líquidas son las de mayor significación.

En términos generales, estas descargas líquidas del efluente de curtiembre están caracterizadas por una elevada concentración de componentes orgánicos e inorgánicos, y sólidos en suspensión; presentan además un color oscuro y olor desagradable. Entre las sustancias inorgánicas contaminantes, están los sulfuros y las sales de cromo trivalente, que presentan especial atención, debido a sus propiedades tóxicas en el medio ambiente y a la salud de las personas. Debido a esto, la disminución de la carga de las aguas residuales (en volumen y carga contaminante) es actualmente uno de los problemas ambientales que afronta la industria de curtiembre. Esta disminución puede lograrse básicamente por dos vías: (1) mediante modificaciones tecnológicas de forma tal que se reduzcan los volúmenes de agua y la carga de sustancias contaminantes, y (2) mediante un tratamiento adecuado de los efluentes.

En general, desde el punto de vista económico y ambiental, primero se realiza una gestión interna de las aguas en la empresa, empleando conceptos de "Producción Limpia". Sin embargo, esta estrategia por sí sola no es suficiente y por tanto, es necesario introducir algún tipo de tratamiento a los vertidos ya gestionados.

Los tratamientos biológicos aeróbicos son ampliamente usados, por la capacidad que tiene de biodegradar la materia orgánica de los efluentes, lo cual puede resultar altamente conveniente para la reducción del efluente de curtiembre, debido a las características oxidativas y a los compuestos presentes en este tipo de industria. Sin embargo, hay compuestos que son persistentes a la degradación biológica, por lo cual es necesario la implementación de otros sistemas de tratamiento. Siendo estos, los procesos de oxidación avanzada (POA). Este proceso oxidativo ha mostrado su valor en la reducción de los compuestos tóxicos y/o compuestos no biodegradables, reduciendo en algunos casos completamente el material orgánico refractario presente. Por ello, la combinación de ambos procesos significaría una opción para la biodegradación orgánica total del agua residual tóxica y no biodegradable del efluente de curtiembre.

1.1 Situación en el Perú

Hoy en día, la situación en el Perú, en cuanto a las curtiembres se encuentra en un estado crítico, debido a la presencia de fuerzas internas y externas. Estas fuerzas internas se deben a que este sector industrial está conformado básicamente por PYMES, con una alta incidencia en la informalidad. Además la tecnología utilizada es obsoleta, la ubicación de las empresas están localizadas en zonas urbanas, hay una baja calidad de las pieles y un déficit en el abastecimiento de éstas. En cambio, las fuerzas externas se deben a la importación formal e informal de cueros más baratos de otros países y a la baja calidad de cueros los que permiten que no se puedan cumplir con los estándares internacionales de exportación.

En general, en el Perú se producen cueros curtidos y adobados, tales como: curtido vegetal, mineral y químico. Según estadísticas hechas por el Ministerio de Industria, Turismo, Integración y Negociaciones Comerciales Internacionales (MITINCI) hasta septiembre del 2000, hay 438 empresas registradas a nivel nacional, tal como se muestra en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1: Distribución de las industrias de curtiembres en el Perú.

Provincia	%
Lima	30,1%
Arequipa	29,5%
La Libertad	24,2%
Cuzco	3,2%
Junín	2,7%
Resto del país	10,3%

Fuente: MITINCI, 2001.

Además, hasta 1990, se estima que el 89,2% son microempresas, 5,1% pequeña empresa, 4,0% mediana empresa y 1,7% grandes empresas.

Sin embargo, muchas curtiembres formales han cerrado, pero frecuentemente los operadores y empleados de una curtiembre formal han reaparecido como curtiembres informales. Siendo una porción significativa de la economía peruana la informal. A su vez, esta creciente tendencia al informalismo en las curtiembres del Perú han resultado

en menos ingresos económicos para el gobierno, menos protección y seguridad para el trabajador. Contribuyendo a una mayor contaminación con serias consecuencias ambientales y a la Salud Pública.

Por otro lado, el crecimiento de la población ha expandido las ciudades. Las curtiembres formales, que alguna vez estuvieron lejos de las zonas residenciales, ahora se encuentran rodeadas de casas. Los residentes están indignados por el agua residual sin tratar y los desechos sólidos residuales, que generan este tipo de industria y los malos olores que emanan. Además, muchos curtidores informales operan dentro de sus propias casas, rodeados de sus vecinos, que sufren las consecuencias.

Esta carga contaminante se debe principalmente a los procesos de pelambre y curtido, que constituyen las dos áreas de mayor preocupación para las agencias reguladoras peruanas, debido a su alto contenido de materia orgánica expresada como DQO y DBO₅, al alto contenido de sólidos, sulfuros y sales de cromo (III) en solución.

Los datos presentados a continuación corresponden a la realidad de las grandes empresas peruanas de curtiembre (que corresponden aproximadamente el 2%). Procesan mensualmente una producción a razón de 6000 a 9000 pieles de bovino equivalente a 150 y 270 toneladas de piel fresca. Considerando las pieles de bovino con un peso promedio de 25-30 kg. Además, el uso intensivo de agua para este tipo de industria puede variar, siendo el consumo promedio de agua por kg de piel curtida de 25 litros/kg hasta 80 litros/kg para tecnologías aparentemente similares. En el Perú el consumo promedio total para el curtido de pieles de vacuno es de 40 a 50 m³ de agua por tonelada de piel fresca, que se transforman casi completamente en residuos líquidos.

A continuación en la Tabla 1.2 se presenta la caracterización de los efluentes líquidos de la industria de curtiembre peruana, descargados en el alcantarillado y en las aguas superficiales.

Tabla 1.2: Características del efluente de curtiembre en el Perú.

Parámetros	Unidad	Alcantarillado		Aguas Superficiales	
		Rango	Promedio	Rango	Promedio
pH		5,1-13,4	8,3	8,5-9,2	8,8
Temperatura	°C	15-30	21,4	22-26	24,5
Aceites y Grasas	mg/L	0,9-958,1	124,0	2,5-151	60,0
DBO ₅	mg/L	45,6-4 400	1422,6	15-5 132	1961,0
DQO	mg/L	1,5-18 255	3837,1	66-16 770	4922,0
SST	mg/L	3,5-38 442	3213,2	37-6 650	3007,0
Sulfuro	mg/L	0,67-3 606	303,5	4-964	378,0
Cromo VI	mg/L	0,02-13,7	1,1	0,1-0,24	0,1
Cromo total	mg/L	0,05-6 260	510,0	0,18-800	1802,8

Fuente: MITINCI, 2001.

Por otro lado, después de una breve discusión sobre la situación actual de la industria de curtiembre en el Perú y la carga contaminante relevante en este tipo de industria. Se presentará una visión de la situación en que se encuentra las curtiembres con respecto a sus efluentes líquidos. Para ello, se consultó a un especialista ambiental en este sector industrial y se visitaron curtiembres de diferentes tamaño, ubicadas mayoritariamente en Lima Metropolitana. De lo cual, se concluyó que:

- respecto a la existencia de algún tratamiento de las aguas residuales, se obtuvo que el 2% de las curtiembres realizan una recuperación de los sólidos en suspensión de gran tamaño (pelos), por un tamizado para posteriormente disponerlos en los botaderos o a la basura.
- respecto a los insumos químicos, el 100% de las curtiembres no recuperaban el cromo, ni el sulfuro residual de los baños, lo que implica un gran daño ambiental y una pérdida de insumos que pueden ser reutilizados. Además hay una excesiva descarga de estos contaminantes, cuyos valores superan en gran medida los límites establecidos por las normas nacionales e internacionales.
- el 100% de las curtiembres carecen del espacio físico para la construcción de plantas de tratamiento, lo que es una gran limitante, especialmente en Lima Metropolitana.

1.2 Hipótesis

Se plantea como hipótesis de trabajo, que el tratamiento biológico de lodos activados no es capaz de eliminar completamente la alta carga orgánica biodegradable que presenta el effluente de pelambre, debido al elevado peso molecular que presentan los compuestos orgánicos de este effluente. Por este motivo, se considera utilizar los procesos de oxidación avanzada como pre-tratamiento y post-tratamiento al sistema biológico de lodos activados. Para aumentar la relación de biodegradabilidad (DBO_5/DQO) del effluente y la eficiencia de eliminación total de la materia orgánica en el tratamiento, para así transformar la fracción orgánica no biodegradable en biodegradable.

1.3 Objetivos Generales

Evaluar el comportamiento y comparar la eficiencia de eliminación total de los procesos de oxidación avanzada (POA) utilizados como pre-tratamiento y post-tratamiento al sistema de lodos activados (SLA) del effluente de pelambre en la industria de curtiembre.

1.3.1 Objetivos específicos

- Poner en marcha los métodos analíticos, para la caracterización físico-química del effluente de pelambre proveniente de una industria de curtiembre.
- Evaluar la biodegradación aeróbica del effluente de pelambre, a través de un sistema de lodos activados, optimizando los parámetros de operación, para obtener el máximo de eficiencia.
- Estudiar el aumento de la biodegradación biológica del effluente de pelambre a través de un post-tratamiento por oxidación avanzada, evaluando la eficiencia de eliminación total del tratamiento mediante los parámetros de DQO y DBO_5 .
- Estudiar el uso de un pre-tratamiento por oxidación avanzada, seguido de un tratamiento biológico, para aumentar la biodegradación del effluente de pelambre y evaluar la eficiencia de eliminación total de este tratamiento mediante los parámetros de DQO y DBO_5 .
- Evaluar el comportamiento de la toxicidad aguda que presenta el effluente de pelambre en el sistema de lodos activados (SLA) y el sistema combinado mediante oxidación química (POA)/oxidación biológica (SLA).

Capítulo 2

Marco Teórico

2.1 Proceso Industrial del cuero

2.1.1 ¿Qué es el cuero?

Se denomina con el nombre de cuero a una parte de la piel del animal, del estado de piel bruta, fácilmente putrescible, que ha pasado a otro estado, bajo el cual resiste mejor las acciones exteriores, adquiriendo además otras propiedades ventajosas para su empleo. Esta transformación de la piel bruta puede conseguirse por la absorción de sustancias de la naturaleza más diversas denominadas sustancias curtientes; como por ejemplo, curtientes vegetales como los taninos; y curtientes minerales como la alúmina, sales de hierro, cromo, etc.

2.1.1.1 Constitución histológica

La piel está formada por tres capas de tejido, cada una diferente de la otra, en su desarrollo, constitución, composición, estructura y función histológica. Éstas son las siguientes:

Parte externa: epidermis o cutícula.

Parte central: dermis, corium o cutis.

Parte interna: hipodermis o sub-cutis.

- a. Epidermis o cutícula: es la capa exterior de la piel constituida en esencia por queratina, que representa en cuanto a espesor sólo una pequeña parte de la piel. El pelo y la parte externa es la menos importante para el curtidor, la cual es destruida y quitada durante el depilado y encalado.

- b. Dermis o Cutis: es la capa central de la piel o cuero propiamente dicho. La parte más fibrosa esta formada por un tejido a base de fibras de colágeno, siendo la más importante para la fabricación del cuero y para el curtidor, porque forma normalmente más del 80% de la piel (dependiendo del animal).
- c. Hipodermis: es la parte más interna, que une la parte central con la carne, está formada por un tejido fibroso flojo, muscular, venas, tejido graso y tejidos nervioso, que tampoco es de mucha importancia para el curtidor, que junto con la epidermis debe ser separada durante el procesamiento de la piel, en el descarne.

Las tres partes se desarrollan y crecen en forma independiente y su desarrollo depende de las características y el medio ambiente en que crece el animal [2].

2.1.1.2 Constitución química

La piel contiene, además de agua, sustancias minerales, grasas y componentes proteicos. La composición química aproximada de la piel de res es:

Tabla 2.1: Composición química de la piel de res.

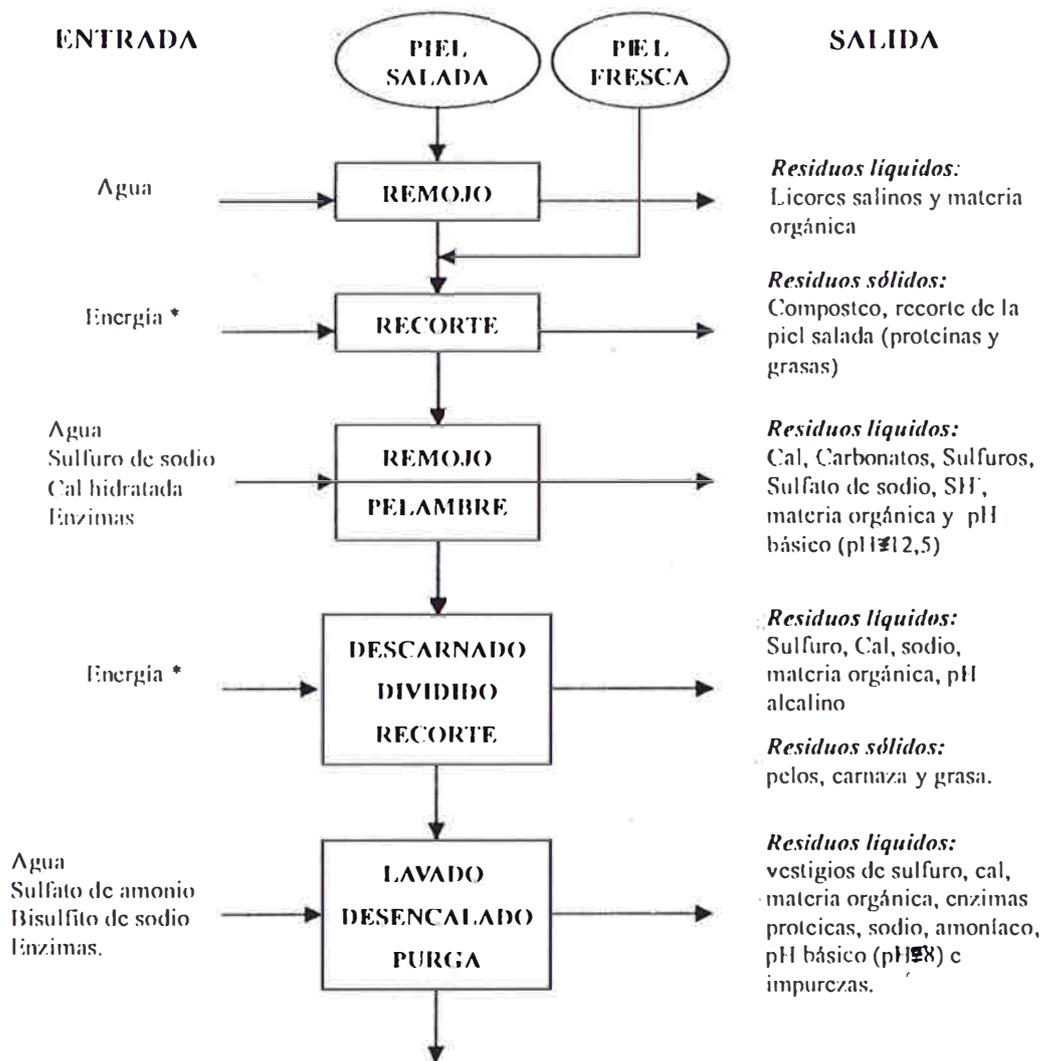
Composición	%
Agua	65
Proteínas	33
Grasas	2
Minerales	0,5

Fuente: Rodriguez, CIATEG, 1976.

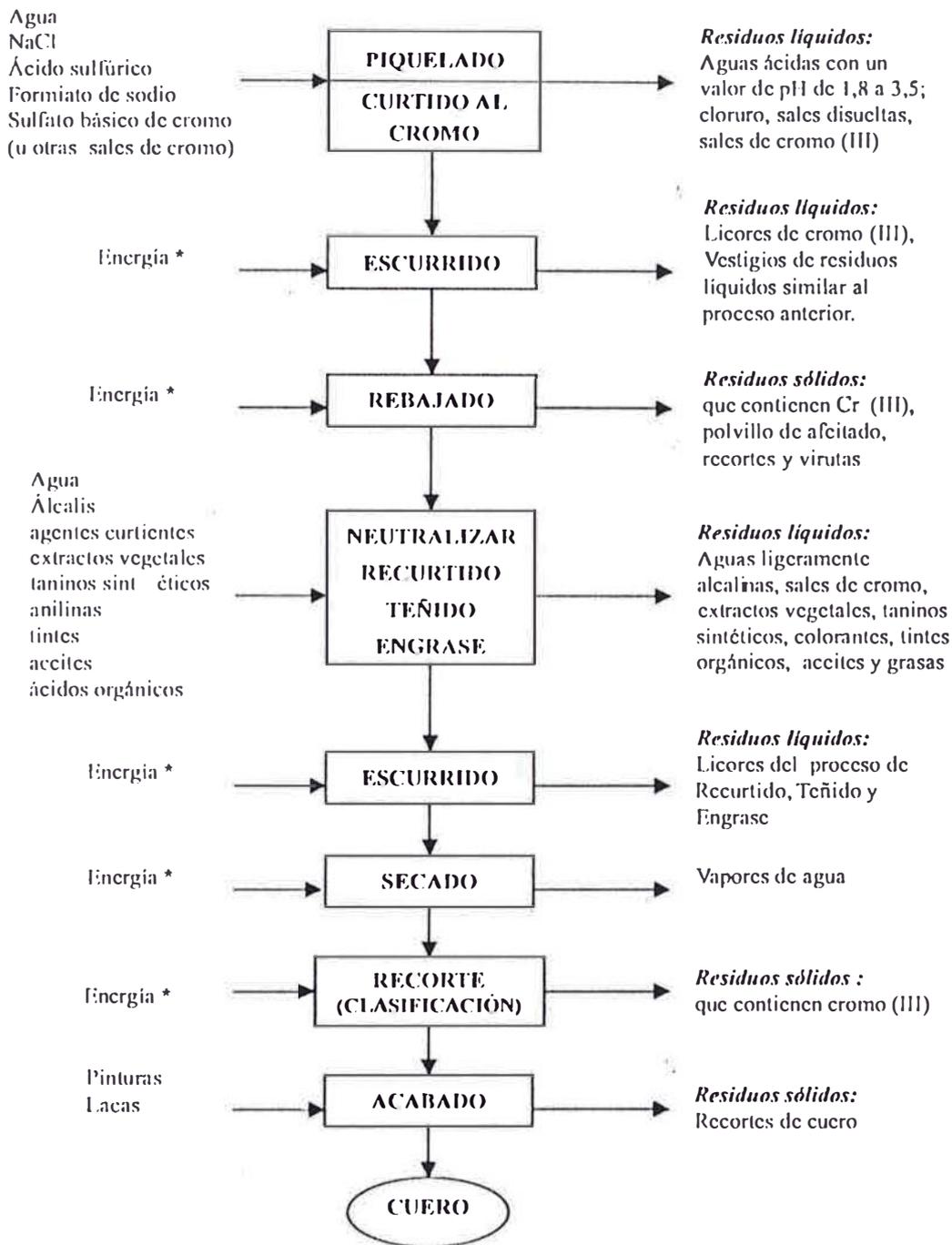
De las proteínas, la principal es el colágeno, que es el 98% de dichas proteínas. Este colágeno es lo que forma las fibras del cuero y éstas a su vez el tejido fibroso. Las fibras del colágeno son fibras sin fin que van cambiando continuamente de espesor y orientación, algunas están horizontales (acostadas), otras verticales, y otras con cierto ángulo de inclinación, de tal manera que en conjunto esten completamente entrelazadas. Estos haces de fibras se pueden ir separando y dividiendo cada vez en fibras más delgadas, que a su vez están hechas de fibrillas mucho más delgadas, hasta llegar a la base de las fibras del colágeno, que es la molécula de colágeno. Los efectos del curtido se efectúan en la parte de las fibrillas y no entre las fibras o el mismo tejido fibroso del cuero [2].

2.1.2 Diagrama del proceso productivo de curtido

A continuación la Figura 2.1 ilustra un diagrama general del proceso productivo de la curtiembre; a la vez, las posibles generaciones de residuos que pueden acarrear este tipo de industria y algunos insumos que utilizan para cada proceso.



* Opcional



Fuente: Muñoz M., 2001; MITINCI, 2001

Figura 2.1: Esquema del proceso productivo y generación de residuos

2.1.3 Descripción del proceso productivo de curtido

El proceso productivo en las curtiembres consiste en la transformación de la piel animal en cuero. Se inicia con la limpieza de aquellas sustancias adheridas a la piel que no son adecuadas para la formación del cuero. Se separan los cuernos, huesos, garras, cascos, carne, lana, epidermis, hipodermis, hocico, orejas, órganos sexuales, cola y toda clase de impurezas, como sangre o estiércol. Luego de ser limpiados, son sometidos a agentes químicos que interactúan con las fibras del colágeno para obtener un cuero más estable y durable.

La producción consiste en procesos y operaciones que se dividen en tres etapas principales: etapa de ribera, etapa de curtido, y etapa de acabado.

2.1.3.1 Etapa de Rivera

El objetivo de esta etapa es limpiar y preparar la piel del animal para facilitar la etapa del curtido. En esta etapa se devuelve el estado húmedo inicial de las pieles que se conservaron antes de ser llevadas a la curtiembre. También permite la limpieza y desinfección de ésta antes de comenzar el proceso de pelambre, es un proceso en donde se efectúa la eliminación del pelo o lana de la piel. Además, antes de comenzar con la segunda etapa de curtido se procede al descarte, donde se quitan las grasas y carnazas todavía unidas en la parte interna de la piel. En esta etapa se produce un gran consumo de agua y elevado pH.

a. Recorte en recepción, conservación y almacenamiento

Cuando se separa la piel de la carne del animal y llega a la curtiembre, se procede al recorte de la piel a partir del cuello, cola, barriga y extremidades. Como es difícil procesar en la tenería todas las pieles inmediatamente después del desollado del animal, es necesario darles un tratamiento en el cual las mismas puedan conservarse durante períodos más o menos largos mientras esperan ser procesados para evitar su degradación biológica. Los procedimientos más usados son el secado al aire y el salado con sal común [1, 4, 5].

b. Remojo y lavado

Como la conservación de las pieles de los animales se efectúa mediante una deshidratación total o parcial de ellos, esta deshidratación hace que las pieles de los animales pierdan su suavidad y flexibilidad natural. Este proceso por tanto, tiene como finalidad devolver a la piel del animal conservado por deshidratación, las cualidades mencionadas anteriormente que poseían recién quitados del animal, es decir, restituir la humedad perdida en el proceso anterior. Además sirve para limpiar la suciedad que traen consigo y para eliminar del interior del mismo algunos de sus constituyentes no deseables tales como: remoción de la tierra, sal,

sangre, estiércol y proteínas no fibrosas que lleva incorporada a la piel; y que no serán transformados en cuero curtido. Estos baños de agua están enriquecidos con humectantes, detergentes, bactericidas, y desinfectantes [1, 2, 5].

c. Pelambre (depilado y encalado)

Durante este proceso se determina en cierta medida, las características de suavidad y resistencia que tendrá el cuero terminado. La realización de este proceso implica una serie de operaciones y efectos ocasionados por diferentes principios mecánicos y particularmente químicos. Estos últimos se basan en la facilidad de ataque del pelo, y por diferentes productos químicos y enzimas.

La función del depilado y encalado es doble: primero, eliminar los pelos de las pieles del animal y segundo, prepararlas para la curtición abriendo y separando las fibras por medio de un hinchamiento de la estructura fibrosa, que es producido por la cantidad de agua que penetra a la piel, para así facilitar cuanto sea posible la penetración de los agentes curtientes.

Hay distintos tipos de pelambre, actualmente la tecnología de cal-sulfuro, es la más usada, debido a que esta combinación de cal con sulfuro de sodio forma una serie de intercambios químicos, dando como resultado, en la solución de los baños un efecto de pelambre reforzado con grandes subefectos posibles para el tratamiento de las pieles. El sulfhidrato formado con presencia de iones alcalinos (OH^-) tiene una actividad altamente depilante, mientras que la sosa cáustica hincha la fibra y al mismo tiempo saponifica las grasas, es decir, las lava. La temperatura durante este proceso tiene una gran influencia en la rapidez con que se depila. Este proceso de pelambre dura aproximadamente tres horas, la temperatura varía entre 25-28 °C y el pH es de 12 [1, 2, 5].

d. Descarnado

La operación del descarnado involucra la remoción del tejido celular de la hipodermis o tejidos grasos sueltos, tejidos adiposos, subcutáneos, musculares, incluyendo las porciones a él adheridas de carne, grasa y cebo, para permitir una penetración más fácil de los procesos curtientes. Este proceso puede ser realizado manualmente con un cuchillo de descarnar, colocando la piel del animal sobre un caballete con el lado de carne hacia arriba, o bien, con una máquina descarnadora provistas de rodillos y cuchillas siendo más rápido y homogéneo el proceso. Además, los restos son utilizados para la obtención de gelatina o cola [2].

2.1.3.2 Etapa de Curtido

La etapa de curtido comprende las operaciones y proceso que preparan a la piel del animal para ser curtida, es decir, transformarla en cuero. Los procesos de desencalado,

desengrase y purga eliminan la cal, el sulfuro y las grasas contenidas en la piel y limpian los poros de la misma. El piquelado en un medio salino y ácido prepara la piel para el curtido con agentes vegetales o minerales. El consumo de agua no es tan alto como la etapa de ribera y ésta alcanza valores de pH neutros.

a. Desencalado

El propósito de esta operación es preparar las pieles física y químicamente para el proceso de curtido. A la vez, se pretende reducir el pH, disminuir la hinchazón y remover los productos proteicos. Este proceso remueve la cal y sulfuro residual de la piel para evitar posibles interferencias en las etapas posteriores del curtido. Para este procedimiento se usan sustancias que tiendan a bajar la alcalinidad, tales como: sales, sales ácidas, ácidos, etc., siendo el pH de este proceso ligeramente alcalino entre 8-9. Los procesos de desencalado se basa en solubilizar el hidróxido de calcio absorbido por la piel, transformándolo en sales solubles de calcio mediante la adición de productos químicos [2].

b. Rendido (purga)

Es un proceso enzimático que permite el aflojamiento y ligera peptización de la estructura del colágeno. Al mismo tiempo sirve de limpieza, que tiene como objetivo dejar la piel libre de sustancias químicas y orgánicas (restos de proteínas, pelos y grasas) que hayan quedado de los procesos anteriores [2].

c. Piquelado

Esta operación tiene como objetivo acondicionar las pieles para el curtido, consiste en la acidulación de las pieles. Para interrumpir la acción de las enzimas sobre el colágeno, hay que evitar el hinchamiento de éstas, el cual es un efecto secundario producido por el ácido, y no deseado por el curtidor. A la vez, se debe preparar las pieles para no fijar tan rápidamente las sales de cromo, y así obtener un rápido avance de las mismas a través del espesor de las pieles [2].

d. Desengrasado

Se realiza en el curtido de pieles lanares, ya que estas poseen un alto contenido de grasa. Se puede realizar con agentes tensoactivos (jabones sódicos, detergentes sintéticos) o con disolventes orgánicos (kerosene, percloroetileno) [5].

e. Curtido

Es el proceso donde se estabilizan las fibras del colágeno de la piel, mediante agentes curtientes, transformando la piel del animal en cuero comercial. Esta fijación por los agentes curtientes se hace en fulones durante un tiempo determinado. El tiempo de curtido depende del tipo de producto a obtener, el agente curtiente y el proceso en sí. Posteriormente, el cuero se lava para eliminar el exceso del agente curtiente y luego se seca. Los agentes curtientes más usados son las sales de cromo y los curtientes naturales (taninos) [2, 5].

f. Engrase

Se realiza con el objeto de evitar el cuarteamiento del cuero, para obtener un cuero suave, doblable, fuerte, flexible y resistente. Consiste en la impregnación de aceites vegetales y animales. Estas sustancias se depositan en las fibras del cuero donde son fijadas [1, 5].

g. Recurtido

Consiste en el tratamiento del cuero curtido con uno o más productos químicos con el objeto de obtener un cuero más lleno, con mejor resistencia al agua, mayor blandura o para favorecer la igualación de tintura que no se han podido obtener con la sola curtición convencional [5].

h. Teñido

Las pieles recurtidas son teñidas en fulones mediante colorantes (natural, artificial o sintético) ácidos o básicos. Este baño se desecha después de cada operación. Los efluentes en esta etapa del proceso son mínimos en comparación al de pelambre y no justifica acción alguna de tratamiento. Los ácidos que contienen sirven para neutralizar el efluente general [1, 5].

i. Secado

La operación de secado se realiza luego del teñido. Los procesos usados para realizar esta operación son secados al vacío, secado en secotérmicas, empastado o pasting, secado por templado en marcos (toggling) [1].

2.1.3.3 Etapa de Acabado

La etapa de acabado comprende las operaciones y procesos que dan al cuero las características finales que requiere para la confección de diferentes artículos. Por ejemplo, en esta etapa el cuero puede ser prensado, rebajado, neutralizado, recurtido, blanqueado, teñido, engrasado, secado, pulido (lijado) y estirado [1, 4, 5].

2.1.4 Generación de residuos

Las operaciones y procesos de curtiembres generan residuos líquidos y sólidos que están caracterizados por su elevada carga orgánica, materiales en suspensión y presencia de agentes químicos que pueden tener efectos tóxicos, como lo es, el sulfuro y las sales de cromo trivalente. Las variaciones en cuanto al volumen de los residuos y a la concentración de la carga contaminante se presenta de acuerdo a la materia prima procesada y a la tecnología utilizada.

Los procesos de ribera, principalmente el remojo y el pelambre, son los responsables del

80% de la carga contaminante total expresada en términos de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅), debido esencialmente a la elevada polución orgánica por la presencia de proteínas y sus productos de degradación, esto ocurre cuando se emplea un sistema de pelambre destructor del pelo, contribuyendo con el 60% de los sólidos suspendidos.

Cuando se emplea un sistema de pelambre a base de sulfuro (el cual, está muy generalizado en este tipo de industria), se incorpora en el efluente final el sulfuro residual alcanzando concentraciones muy superiores a las permitidas por las autoridades sanitarias.

Por otro lado, hay que tener en cuenta que la descarga del efluente de pelambre representa el 70% de materia orgánica, aporta la totalidad de los sulfuros residuales, el 55% de residuos sólidos sin cromo, el 35% de nitrógeno total y el 50% del volumen total del efluente, tal como se indica en la Tabla 2.2. Por ello, si hay algún lugar donde se debe tratar de reducir la contaminación a su máxima expresión es aquí.

Tabla 2.2: Distribución de algunos parámetros contaminantes en los distintos procesos de la industria de curtiembre.

Parámetros (*)	Efluente Total	Remojo	Pelambre	Desencalado Purga	Piquelado curtido	Otros Procesos
DBO ₅	90 $\frac{kg}{ton.}$	10%	70%	3%	2%	15%
Sól. Susp.	140 $\frac{kg}{ton.}$	5%	55%			40%
Sulfuro	80 $\frac{kg}{ton.}$		100%			
Cromo	6 $\frac{kg}{ton.}$				100%	
Salinidad	300 $\frac{kg}{ton.}$	60%		8%	25%	7%

(*) El valor en el efluente total está expresado en kg/tonelada de piel vacuna salada procesada.

Fuente: Cantero y Angeniletti, 1982

El efluente proveniente del proceso de curtido contiene menor cantidad de sustancias orgánicas disueltas y suspendidas que el proceso anterior, ver Tabla 2.2, pero contribuye con la presencia de cromo trivalente que alcanza en el efluente total concentraciones superiores a la permitida por la legislación ambiental [4, 6].

2.1.5 Impacto sobre el ambiente y la salud

Estos desechos de tenería pueden causar efectos negativos sobre el ambiente. La disposición de residuos líquidos, sólidos y gaseosos sobre los cuerpos de agua, aire y suelo degradan la calidad de estos cuerpos receptores ocasionando daños ambientales, muchas veces irreversibles. También causan efectos sobre la salud de las personas, por contacto directo con los insumos químicos en el proceso productivo y por contacto de los residuos peligrosos que se generan.

Cuando las aguas residuales de las curtiembres se descargan directamente en las aguas superficiales, éstas ocasionan impactos negativos, produciendo un deterioro en las propiedades físicas, químicas y biológicas del agua superficial. Los residuos pueden emanar olores nocivos producto de la descomposición de la materia orgánica. Esta descomposición agota el oxígeno disuelto en las aguas, el cual es vital para la vida acuática presente. Además, el agua puede adquirir características de salinidad y dureza debido a la presencia de sales inorgánicas y algún nivel de toxicidad proveniente del cromo, el sulfuro y el amoníaco contenidos en los desechos.

Si los efluentes de curtiembres son descargados en el suelo, éste tiene cierta capacidad para neutralizar la carga contaminante recibida. Pero si los niveles de contaminación son altos, estos pueden producir daños en la composición o estructura del suelo, produciendo una disminución en el uso de suelo y acelerando la erosión. Asimismo, estas aguas residuales descargadas en el suelo, pueden percolar o filtrar, llegando a las aguas subterráneas, en donde la contaminación es problemática y persistente, debido a que toman un largo tiempo en autodepurarse, ya que se mueven lentamente y no están en contacto con el aire.

Otro problema es cuando los efluentes de curtiembres son descargados a la red de alcantarillado, provocando incrustaciones debido al carbonato de calcio y a la deposición de sólidos en las tuberías. Además, la presencia de sulfuros y sulfatos acelera el deterioro de materiales de concreto o cemento. En las plantas de tratamiento que poseen proceso biológico, si la carga contaminante del efluente presenta sustancias tóxicas, como el Cr^{+3} o Cr^{+6} , puede interferir impidiendo la oxidación biológica porque limita la acción de las enzimas para oxidar la materia orgánica, inhibiéndolas.

Estos efluentes emanan malos olores, debido esencialmente a la descomposición de la

materia orgánica y a la emisión de sulfuro proveniente de este tipo de industria, estas emisiones de sulfuro provienen del proceso de pelambre. Las emisiones de otros gases como amoníaco y vapores de solventes provienen del proceso de desencalado y de acabado; las carnazas y grasas del descarte son fuentes importantes que producen malos olores y que pueden eliminarse mediante un buen manejo de estas operaciones.

Por otro lado, estos efluentes de curtiembre provocan riesgos a la salud, se presenta por un descuido de manejo de los insumos químicos que se emplean en los procesos de la industria de curtiembre; así como por una inadecuada disposición de sus residuos al interior y fuera de la planta industrial. Por lo que el riesgo de accidentes por derrames de insumos químicos son los que requieren especial cuidado, en cuanto al transporte, almacenamiento y manipulación de estos productos. Por ejemplo, el sulfuro de sodio, las sales de cromo, las bases o álcalis, los ácidos, así como los solventes y pesticidas, son los insumos que requieren un manejo cuidadoso porque pueden causar serias intoxicaciones y accidentes en los trabajadores.

También existe el riesgo de que algunos residuos dentro de la industria sean nocivos para la salud de los trabajadores, tal es el caso de aquellos que contienen sulfuro y en especial ácido sulfhídrico, que muchas veces han provocado desmayos, accidentes fatales durante la limpieza de canaletas y tanques recolectores de efluentes. Además, los gases o vapores de solventes de la etapa de acabado son también nocivos para la salud si son inhalados por largos períodos de tiempo [4].

2.1.6 Comparación con las Normas Internacionales

En la Tabla 2.3 se presenta una comparación de valores del límite máximo permisible (LMP) de la norma peruana con respecto a un rango de valores de normas internacionales para la calidad de los cuerpos de aguas superficiales. Asimismo, estos valores del LMP en la norma peruana está referido a la propuesta que hace el Ministerio de Industria, Turismo, Integración y Negociaciones Comerciales Internacionales (MITINCI) para las descargas de los residuos industriales líquidos de las industrias de curtiembres con respecto a la calidad de las aguas superficiales, que aún está en estudio.

Tabla 2.3: Comparación de la Norma Peruana con la Norma Internacional.

Párametro mg/L	Brasil	Chile	Alemania	EEUU	Suiza	B.Mundial	Japón	Perú
pH	5-9	5,5-9	6,5-9,5	6-9	5,5-8,5	6-9	5-9	5-8,5
T °C	40	35	35	-	30	-	-	35
DBO ₅	120	35	20-25	40	20	50	160	50
DQO	360	-	200-250	-	-	250	160	250
SST	130	300	*	60	20	50	200	50
Sulfuro	1	5	1	-	1	1	-	1
Cr ⁺⁶	-	0,5	0,5	-	0,1	0,1	-	0,3
Cr total	0,5	10	-	1	2	0,5	2	2,5

Fuente: MITINCI, 2001; Márquez et al., 2001.

(-) No se encontraron los datos

2.2 Métodos de tratamiento del agua residual en la industria de curtiembre

La industria del cuero es una fuente de contaminación importante en las aguas. La importancia surge por el uso del agua en la industria que es un hecho bien conocido y que ha cambiado drásticamente en los últimos años. Debido a que el agua no tiene una gran accesibilidad y no es un recurso barato y por ello, se ha convertido en un producto escaso y de alto valor.

El consumo de agua por peso en este tipo de industria es muy superior a otros elementos implicados en los procesos de producción, incluyendo las propias pieles. Por decir, el consumo de agua por piel vacuno es de 50 m³/ton en promedio y de oveja es 5 a 7 veces más (250-350 L/kg piel). Este alto consumo de agua en esta industria lleva a plantear una serie de acciones correctoras que ayuden a enfrentar esta situación de escasez, de elevado costo y a la presión de las diferentes reglamentaciones de vertido, con el objeto de minimizar el costo global del producto y a disminuir la carga contaminante que se genera en cada etapa.

Por eso, hay que reducir el consumo de agua, recircular el agua de los baños de remojo, pelambre, encalado, piquelado y curtido al cromo. Además, de todo el ahorro del agua por recirculación dentro de los baños, debe ser considerada la recogida de toda el agua residual, así como tratarla y reutilizarla en algunas operaciones específicas del proceso tanto como sea posible.

Esto reducirá la cantidad de agua limpia requerida y el volumen de vertido a la planta de tratamiento de aguas residuales. Siendo las ventajas económicas en ambos casos obvias. Desde este punto de vista, se describen brevemente los principales métodos de purificación o depuración de las aguas residuales, éstos son:

2.2.1 Métodos de pre-tratamiento

El método de pre-tratamiento es el proceso o procesos (físicos y/o químicos) que preparan las condiciones del agua residual que pueden someterse a posteriores procesos de tratamientos secundarios biológicos convencionales. Por ejemplo, se puede efectuar la reducción del Cr^{6+} a Cr^{3+} o la oxidación de determinadas materias orgánicas no biodegradables, que pueden inhibir el tratamiento biológico. Además, es muy frecuente en las aguas residuales de curtiembres encontrar residuos como carnazas, pelos, etc. provenientes de las operaciones del descarte, dividido y rebajado del cuero, lo que pueden ser retirados por rejillas metálicas con una limpieza manual o mecánica [8].

2.2.2 Métodos de tratamiento primario

Los tratamientos primarios de la mayoría de los efluentes industriales suelen ser muy semejantes, mientras que los tratamientos posteriores son variables en función del efluente que se trate. Se aplica en vertidos líquidos con contaminantes inorgánicos o con materia orgánica no biodegradable y/o insoluble (en suspensión), se basa en la reducción o eliminación de los sólidos y del material no disuelto (por ejemplo: grasas y coloides), empleando decantadores donde sedimentan por acción de la gravedad. En algunos casos, se incluyen tratamientos que requieren la utilización de productos químicos (floculantes y/o coagulantes) para mejorar la separación de las partículas.

Este método de tratamiento consiste principalmente en procedimientos físicos, cuyo objetivo es eliminar los materiales flotantes, aceites y grasas, sólidos en suspensión, precipitación de metales pesados, ajuste de pH y homogenización. Siendo estos tipos fundamentales de tratamiento primario el cribado, la sedimentación, la flotación, la neutralización y la homogenización. Estos tipos de tratamiento pueden eliminar la materia orgánica en un 30-40% de DBO_5 y en un 60-70% de sólidos suspendidos (SS) [9].

2.2.3 Métodos de tratamiento secundario

Finalizando los tratamientos previos y primarios, el efluente todavía contiene materia orgánica e inorgánica, así como sólidos coloidales y algunos sólidos en suspensión. El efluente posteriormente suele pasar a los tratamientos secundarios que normalmente son los tratamientos biológicos convencionales. Los tratamientos biológicos consisten en degradar la materia orgánica presente en el agua residual, llevado a cabo por microorganismos que utilizan dicha materia orgánica como nutrientes. Pero hay que tener en cuenta que no toda la materia orgánica se degrada a la misma velocidad y que además existe materia orgánica no biodegradable.

En general, los tratamientos biológicos serán los más adecuados cuando la mayor parte de la materia orgánica presente en el efluente sea biodegradable y no haya ninguna sustancia nociva para los microorganismos.

La biodegradación de la materia orgánica puede tener lugar en presencia o en ausencia de oxígeno (tratamiento biológico aerobio y anaerobio, respectivamente), y requiere de unas determinadas condiciones del medio, temperatura y pH.

Los tratamientos biológicos más usuales son: lodos activados, filtros percoladores, lagunas de aireación, biodiscos y digestión anaerobia. No obstante, el sistema biológico más ampliamente extendido en este tipo de tratamiento es el llamado sistema biológico aerobio de lodos activados en suspensión, lo que debe atribuirse al hecho de ser una tecnología desarrollada y difundida a nivel mundial para tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales.

En este tipo de tratamiento se elimina materia orgánica en un 85-95% de DBO₅ y 10-20% de SS [9, 10].

2.2.4 Métodos de tratamiento terciario o avanzado

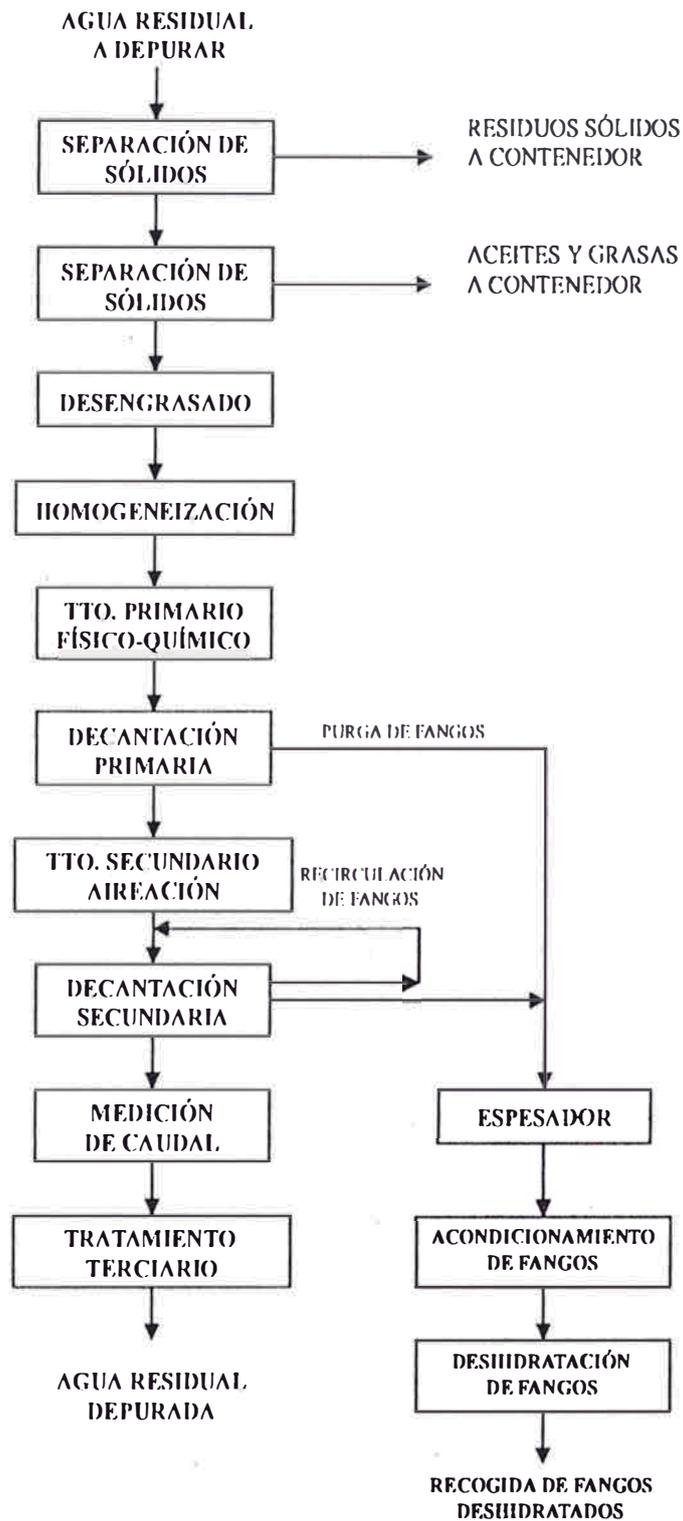
Una vez finalizados los tratamientos primarios y los secundarios, en algunos casos todavía quedan presentes contaminantes en concentraciones superiores a la permitidas por la ley, por lo que hay que completar el tratamiento con un tratamiento terciario. En otras ocasiones, aunque el efluente de salida cumpla con la normativa de vertido, se puede utilizar un tratamiento terciario para conseguir un agua de calidad apta para ser reciclada al proceso productivo.

Este tratamiento está destinado a conseguir una calidad del efluente superior a la de un tratamiento secundario convencional, eliminando gran parte de la contaminación producida por las sustancias disueltas en las aguas residuales industriales. Estos métodos se basan tanto en procedimientos físicos, como químicos.

En este método se incluye sistemas para eliminar contaminantes como metales, nutrientes (nitrógeno y fósforo), compuestos coloreados y compuestos no biodegradables (recalcitrantes o refractarios).

Entre este tipo de procesos destacan la adsorción por carbón activado, intercambio iónico, ósmosis inversa, electrodiálisis y métodos de oxidación húmeda y química. Muchos de estos métodos se encuentran en plena fase de experimentación y desarrollo, previéndose que con el transcurso del tiempo y a medida que las exigencias de la calidad de las aguas aumenten, se utilizarán en mayor escala. Este tipo de tratamiento elimina la materia orgánica en un 95-99% de DBO₅ y SS [9, 11].

Acontinuación después de todos los métodos de depuración del agua residual en la industria de curtiembre se presenta en la Figura 3.1 un diagrama de flujo simplificado para el tratamiento de ésta.



Fuente: MITINCI, 1999.

Figura 2.2: Tratamiento del agua residual en la industria de curtido

2.3 Sistema de lodos activados (SLA)

El sistema de lodos activados fue desarrollado en Inglaterra a inicios del siglo XIX en 1914, siendo este proceso biológico el más usado para el tratamiento de aguas residuales urbanas e industriales. El diseño de las plantas de lodos activados se llevó a cabo fundamentalmente de una forma empírica. Solo a comienzos de los años sesenta se desarrolla una solución más racional para el diseño del sistema de lodos activos. Este proceso nació de la observación realizada hace mucho tiempo de que si cualquier agua residual, urbana o industrial, se somete a aereación durante un período de tiempo se reduce su contenido de materia orgánica, formándose a la vez un lodo floculento. A su vez, el examen microscópico de este lodo revela que está constituido por una gran variedad de microorganismos, que cambian continuamente en función de las variaciones de la composición de las aguas residuales y de las condiciones ambientales [9].

Por todo lo dicho anteriormente, el sistema de lodos activados tiene como objetivo eliminar y estabilizar la materia orgánica presente en el agua residual mediante la acción de microorganismos, que transforman la materia orgánica coloidal y disuelta en materia floculable y sedimentable, fácilmente separable del agua mediante procesos físicos de sedimentación [10].

Los mecanismos básicos del sistema de lodos activados está representado por la siguiente reacción biológica:



MO: Materia Orgánica

El sistema de lodos activados consta de dos etapas básicas, como se muestra en la Figura 2.3.

- **Bioreactor aireado:** en donde se produce el contacto del agua residual con la biomasa natural (lodo activado). En dicho lodo activado se encuentran los microorganismos, los cuales en presencia de oxígeno son capaces de oxidar la materia orgánica, formando flóculos.
- **Sedimentador:** dichos flóculos (lodos) son separados del líquido clarificado por el sedimentador y parte del lodo es reciclado al proceso para mantener una concentración suficiente de microorganismos depuradores en el bioreactor.

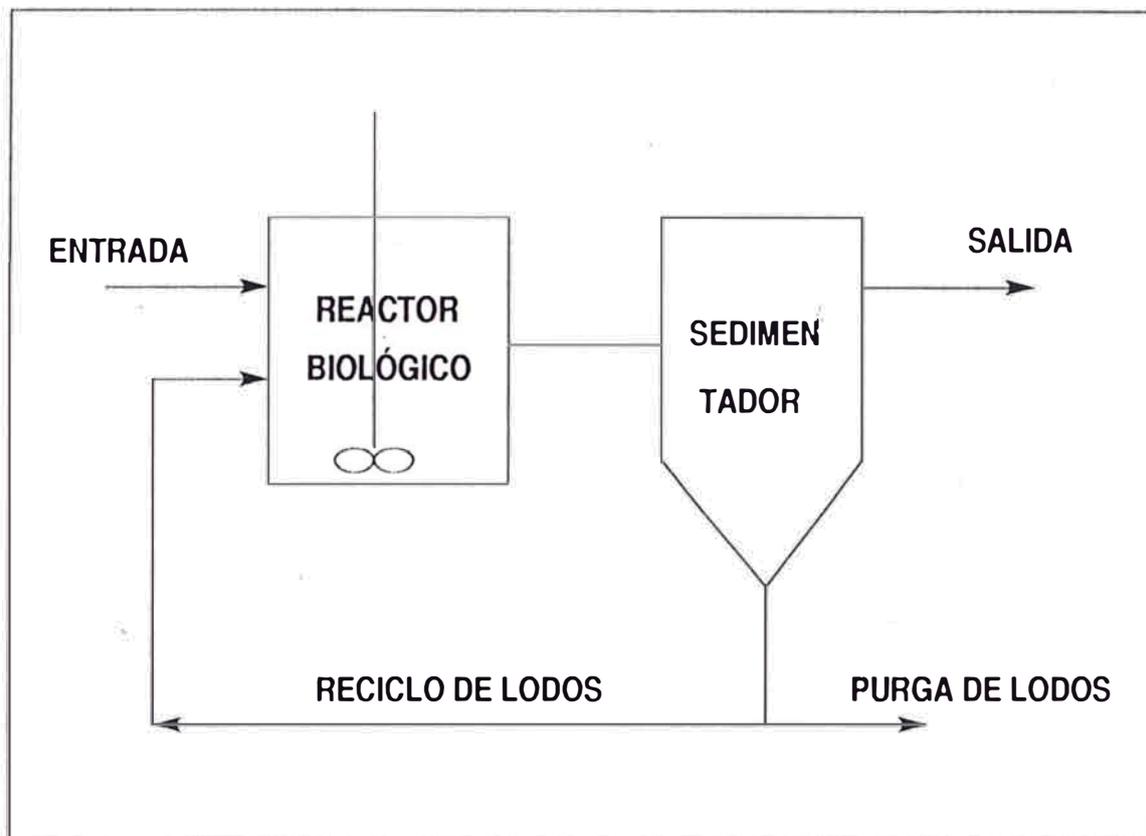


Figura 2.3: Esquema de las etapas del sistema de lodos activados

2.3.1 Microbiología del sistema de lodos activados

El sistema de lodos activados consiste esencialmente, en la acción combinada de las poblaciones microbianas que utilizan las sustancias orgánicas presentes en los efluentes como fuente de alimento, para cubrir sus necesidades metabólicas. De esta manera dan origen a nuevos microorganismos o biomasa que constituye el lodo producido por el sistema; y dan lugar a productos finales (CO_2 , H_2O , etc.). El dióxido de carbono formado se escapa disperso a la atmósfera, el agua como parte del proceso y la energía, la cual utilizan los microorganismos para mantener sus sistemas de vida (por ejemplo: reproducción, crecimiento, movimiento, etc.).

La concentración de materia orgánica en las aguas residuales sin tratamiento es muy alta, mientras la concentración de microorganismos y la proporción en la cual el oxígeno está siendo usado, es bien baja. Sin embargo, tan pronto los microorganismos empiezan a comer, asimilan la materia orgánica, usan el oxígeno presente y reproducen más células, como consecuencia la proporción de consumo de oxígeno y la concentración de los sólidos

biológicos en el sistema aumentan rápidamente. Asimismo, al ser degradada la materia orgánica disminuye la cantidad de alimento, así como el oxígeno presente y los microorganismos comienzan a morir [12].

La microbiología en el lodo activado está constituido por una gran variedad de microorganismos, pero mayoritariamente por bacterias, las cuales en base a su naturaleza procariótica presentan una gran versatilidad en la utilización de una amplia gama de sustratos (agua residual); en menor proporción se encuentran los hongos, protozoos y rotíferos. Esta biomasa está representada generalmente por un 95 % de bacterias y 5 % de Protozoos y Metazoos [13].

Las bacterias presentes en los diferentes procesos metabólicos para la oxidación del carbono orgánico son del género: *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Zooglea*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Bacillus* y *Achromobacter* [14].

2.3.2 Formación del lodo activado

El lodo activado se forma mediante tres pasos: transferencia, digestión y floculación [12]. Estas ocurren simultánea y continuamente en el tanque de aireación.

a. Transferencia

Las partículas de sólidos no solubles son absorbidos en las paredes de la célula y digerida por ésta. La transferencia del material soluble a través de las paredes de la célula y la digestión toma más tiempo .

b. Digestión

Este paso incluye dos fases: síntesis y oxidación. La síntesis se refiere simplemente a la reproducción de las células y la oxidación involucra la formación de dióxido de carbono (CO_2), agua (H_2O) y energía. Estas dos reacciones forman el proceso metabólico del organismo. Es recomendable tener una población biológica grande en el sistema de tratamiento de forma que mientras algunos microorganismos están digiriendo su alimento, otros, que han usado su suministro de alimentación interna, pasan a degradar compuestos orgánicos en el agua residual.

c. Floculación

Los microorganismos permanecen mezclados en el bioreactor de aireación formando una gran partícula llamado flóculo. El flóculo tiene un aspecto aglomerado y gelatinoso con dimensiones que van desde 150 hasta 500 μm [13]. A este flóculo se agrega material suspendido y coloides aumentando el tamaño del mismo, los microorganismos se alimentan también de éste con frecuencia abriendo sitios para que más material se adhiera al flóculo.

2.3.3 Parámetros operacionales para lodos activados

Existen varios parámetros operacionales claves para el buen funcionamiento del proceso:

- Nivel de carga de la planta.
- Tiempo de residencia (retención) hidráulico.
- Velocidad de carga orgánica.
- Concentración de lodos (biomasa).
- Tiempo de residencia de los lodos.

A continuación se revisarán los principales conceptos acerca de estos parámetros:

2.3.3.1. Nivel de carga en la entrada al reactor biológico

Se refiere a la cantidad de material orgánico que se carga para la entrada al reactor. Los parámetros usados comúnmente para describir la tasa de carga son:

a. Velocidad de carga orgánica (VCO)

Es la cantidad de carga orgánica de DBO_5 o DQO alimentada, que entra diariamente al reactor, por unidad de volumen de reactor, expresada como kg (g) DQO o DBO_5 /L·d.

$$VCO = (Q) \left(\frac{C}{V} \right)$$

donde Q es el caudal diario que entra al reactor a tratar, se expresa en L/d; C es la concentración de sustrato (agua residual) o materia orgánica, expresada como DQO o DBO_5 en g/L y V es el volumen del reactor biológico expresado en L. La carga orgánica varía con la operación de la planta, tanto en flujo como en concentración de materia orgánica.

b. Tiempo de retención hidráulico (TRH)

Es el tiempo de residencia del líquido, debe ser suficiente para permitir un tiempo de contacto adecuado entre el material orgánico disuelto y los microorganismos, se expresa mediante la relación entre el volumen del reactor y el caudal diario que entra al sistema.

$$TRH = \frac{V}{Q}$$

2.3.3.2. Nivel de carga en el reactor biológico

Se refiere a la cantidad de material orgánico que se carga en el reactor. Los parámetros usados comúnmente para describir la tasa de carga son:

c. Carga másica (F/M)

Es el factor entre la carga orgánica diaria y la biomasa presente en el reactor (alimento/microorganismos), se refiere a la cantidad de DBO_5 alimentado por unidad de lodos presentes en el reactor, expresada como $\text{g DBO}_5/\text{g SSVLM}\cdot\text{d}$.

$$F/M = \frac{(Q)(C)}{(V)(X)}$$

donde X es la concentración de biomasa o lodo activado, suele medirse como SSVLM (sólidos suspendidos volátiles en el licor mezcla). Los valores normales de carga másica para sistemas biológicos convencionales de carga media, oscilan entre 0,2 a 0,6 [9, 15, 16]. Este factor es uno de los únicos parámetros que pueden ser manipulados, ya que la concentración de microorganismos en el sistema puede ser modificada aumentando o disminuyendo la purga de lodos.

d. Tiempo de residencia celular (TRC)

Es la edad de los lodos. También se conoce como SRT (solids retention time) o MCRT (mean cell residence time), es el tiempo que permanecen los microorganismos biológicamente activos en el sistema. Por lo tanto, el TRC es uno de los parámetros más importantes de la operación. Se calcula como la relación entre la cantidad total de biomasa (g SSVLM del reactor) y la biomasa purgada diariamente del sistema ($\text{g SSVLM}/\text{d}$). Debe purgarse la misma cantidad de fango que se producen en el sistema para mantener la biomasa constante, se expresa en días (d).

e. Concentración de lodos

Se refiere a la masa de lodos (X) por unidad de volumen del reactor. Cuando la masa de lodos se expresa como peso total seco, la concentración se denomina sólidos suspendidos totales del licor mezcla (SSTLM). Cuando la masa de lodos se expresa en términos del peso seco de material orgánico se habla de sólidos suspendidos volátiles del licor mezcla (SSVLM). La concentración de lodos en el sistema está determinada por la tasa de reciclo de los lodos y por la capacidad del clarificador secundario para concentrar los flóculos.

f. pH

Debe encontrarse preferentemente entre 6,5 y 8; dado que el pH óptimo de las bacterias (componentes mayoritarias de la biomasa) está entre 7 y 7,5. Este valor se puede controlar mediante un pHmetro en el reactor y/o a la entrada del mismo,

y puede mantenerse mediante adición de ácidos o álcalis. Por otro lado, el efecto del pH tiene una doble influencia en las reacciones biológicas de oxidación, ya que puede inhibir el desarrollo de los microorganismos en el intervalo de pH superior a 9 u/o inferior de 5, y al mismo tiempo tiene un efecto sobre la velocidad de las reacciones [17].

g. Temperatura

La actividad de los microorganismos está influenciada por la temperatura. Los sistemas de lodos activados trabajan con floras bacterianas mesofílicas y por tanto es deseable que la temperatura esté por encima de 15 °C y no supere los 35 °C. Un aumento de la temperatura influye positivamente en la velocidad de reacción a nivel celular, pero disminuye la solubilidad de los gases, afectando especialmente a la solubilidad del oxígeno tan necesario para mantener las reacciones metabólicas.

h. Nutrientes

En el reactor biológico se forma biomasa a partir de agua residual, y para su formación es necesario un equilibrio entre la fuente de carbono, el nitrógeno y fósforo, la relación adecuada de C:N:P es de 100:5:1 [17, 18].

i. Oxígeno disuelto (O.D.)

La concentración del O.D. es esencial para el buen funcionamiento de los sistemas aeróbicos. Normalmente no debe ser inferior a 2 mg/L y se controla mediante un oxigenómetro, en caso de que la concentración de O.D. desciende debe suministrarse más aire.

2.3.3.3. Características de decantabilidad del lodo

Además de un buen funcionamiento del sistema biológico, el lodo debe mostrar una buena decantabilidad para que pueda separarse del agua depurada en el decantador secundario. La unidad funcional que tiene que depurar y a la vez separarse por decantación es el flóculo que se encuentra presente en el lodo activado del reactor biológico. Los parámetros que definen la decantabilidad de los lodos son:

j. Índice volumétrico (IV_{30})

También llamado velocidad de sedimentación. Es el volumen que ocupa el lodo cuando un litro de muestra del reactor es decantado durante 30 minutos. Aunque este parámetro es dependiente de los sólidos en suspensión, es un indicador inmediato de si el lodo es compacto y decantará bien, o si empieza a abultarse. Se expresa en mL/L.

k. Índice volumétrico de lodos (IVL)

Es el volumen que ocupa 1 g. de lodo. Se expresa en mL/g SSVLM. En general, se considera que el valor de IVL no debe superar los 150.

Si alguno de los parámetros arriba mencionados no se encuentra en los valores adecuados, el sistema biológico puede funcionar deficientemente, o la decantabilidad de los lodos puede verse comprometida por una alteración en la morfología del floculo, descrito con mayor detalle en la siguiente apartado.

2.3.4 Problemas relacionados con los lodos

Lejos de un sistema homogéneo, los lodos son sistemas ecológicos complejos, formado por una mezcla de diferentes clases de organismos, aglomerados, adsorbidos en sedimentos inorgánicos, floculados, etc. Además, contienen compuestos orgánicos e inorgánicos. La composición en cada sistema depende de los nutrientes, de las condiciones de operación, de las características locales, condiciones climáticas, etc., como se menciona en el apartado 2.3.3.

Los floculos microbiales de los lodos son cúmulos de varios millones de células bacterianas, junto a otros organismos y materiales, que se encuentran en un equilibrio dinámico. Los protozoos contribuyen al proceso de floculación y su presencia en alta concentración se considera un signo de buena salud del sistema biológico. Su importancia radica en su capacidad para alimentarse de las bacterias dispersas, las que no serían separables por sedimentación. Algunos protozoos están fijos en los floculos, mientras que otros nadan libremente. Muchos protozoos segregan una mucosidad que permite acelerar la floculación [11].

En la sección 2.3.3 se describió los indicadores para determinar las características de sedimentación de los lodos.

Cuando la densidad del lodo disminuye, es decir, es menor que la del agua, éstos tienden a flotar produciéndose un fenómeno llamado bulking (abultamiento), lo que presenta un serio problema operacional. Es un fenómeno en el cual el lodo activado que habitualmente se separa efizcamente en el decantador secundario debido a una correcta floculación, pierde esta capacidad de decantar debido generalmente a la proliferación excesiva de bacterias filamentosas, entre los que se encuentran principalmente algunos hongos y protozoos ciliados, siendo el resultado un incremento en el volumen del lodo (hinchamiento o bulking). Esto se evidencia por un incremento en el IV_{30} y el IVL. Como consecuencia se produce una pérdida del lodo en el decantador secundario, lo que conduce a una disminución de la biomasa en el sistema biológico y por lo tanto a una disminución en la eficiencia de depuración. Existe controversia sobre los factores

que favorecen la formación del bulking. Al parecer, las condiciones ácidas, el desbalance de nutrientes, las altas temperaturas (sobre 30 °C), el descenso de la concentración de O₂ bajo 1 mg/L, las altas concentraciones de sulfuros, las grasas y las bajas tasas de carga orgánica favorecen el crecimiento de las bacterias filamentosas.

Las deficiencias en la decantabilidad de los lodos puede ser debido a un flóculo muy pequeño (pin point flocc) que puede acabar en un crecimiento disperso (ausencia de flóculo). En este caso lo que se observa es un efluente turbio por el decantador secundario. En ocasiones se desarrolla un tipo de microorganismo no filamentosos conocido como *Zooglea ramigera* que puede dar lugar al denominado bulking zooglear. Estas bacterias tienden a agregarse dando lugar a formaciones ramificadas, que interfieren en la decantación de manera similar. En este caso se observa un fango viscoso debido a las cápsulas celulares producidas por dichos microorganismos.

Algunos de estos microorganismos filamentosos pueden dar lugar a la formación de espumas (foaming). En este caso los microorganismos tienden a acumularse por flotación en la superficie del reactor biológico, empujados por las burbujas de aire, y favorecidos también por la presencia de materias grasas en el reactor, dando lugar a unas espumas densas, de color marrón, que pueden llegar a tener una gran consistencia constituyendo en ocasiones un grave problema eliminarlas.

Los fenómenos de bulking y foaming son uno de los problemas más frecuentes y más difíciles de solucionar con los que se enfrentan los responsables de las estaciones depuradoras. Para poder solucionar estas disfunciones es de capital importancia realizar una observación microscópica detallada del lodo, identificar los microorganismos filamentosos responsables y elegir la solución más adecuada en función de los microorganismos identificados [17, 19, 20].

2.3.5 Respirometría

La respirometría se entiende como una medida de variación de la concentración de oxígeno disuelto en un determinado tiempo en el reactor biológico de lodos activados. Para este estudio se midió la respirometría exógena para saber la actividad de los microorganismos, es decir, si con el tratamiento aplicado estos morían o estaban activos en el reactor biológico.

Esta variación de oxígeno se mide en función del tiempo y se le conoce como tasa de absorción de oxígeno (TAO) o velocidad de consumo o utilización de oxígeno, que en otras palabras, es el oxígeno utilizado por los microorganismos por unidad de tiempo

expresado como g O₂/L·d. Denotado por la siguiente fórmula:

$$T_{AO} = \frac{\text{Conc. de } O_2}{\text{tiempo}} = \frac{\text{mg } O_2}{L \cdot \text{min}}$$

Mediante la definición anterior se puede determinar la velocidad específica de consumo de oxígeno denotado por b' , que es la velocidad de consumo de oxígeno (TAO) por unidad de masa del lodo biológico, representado la masa del lodo como sólidos suspendidos volátiles del licor mezcla (SSVLM) presente en el reactor expresado como g O₂/g SSVLM·d. Algunos investigadores lo expresan como d⁻¹, representado por la siguiente fórmula:

$$b' = \frac{T_{AO}}{SV} = \frac{g \text{ } O_2}{g \text{ SSVLM} \cdot d}$$

Asimismo, la velocidad de muerte de los microorganismos esta representado como k_d . Definido como la fracción de sólidos suspendidos volátiles del licor mezcla (SSVLM) por unidad de tiempo oxidado, es decir, un valor de $k_d = 0,1 \text{ d}^{-1}$ significa que el 10% de la cantidad total de SSVLM presente en el reactor continuo, en cualquier momento, es la cantidad oxidada por día. Es calculada mediante la siguiente fórmula, de acuerdo a Ramalho [9] y Ferrer y Seco [15]:

$$b' = (1,42)(k_d)$$

Esto quiere decir que se consumen 1,42 g de oxígeno para oxidar 1 g de SSVLM.

2.3.6 Antecedentes del tratamiento aeróbico de efluentes de curtiembre

Investigaciones realizadas al tratamiento de este tipo de industria han demostrado que es posible reducir la contaminación de las corrientes de las distintas líneas mediante tratamientos biológicos por bacterias anaeróbicas [21, 22, 23], aeróbicas [24, 25, 26, 27] y por sistemas combinados aeróbicos/anaeróbicos para eliminar carga orgánica y nitrógeno [28, 29, 30].

Los sistemas aeróbicos pueden resultar altamente convenientes para el tratamiento de efluentes provenientes de la industria de curtiembre, debido a sus características oxidativas y a los compuestos presentes en este tipo de industria. Ram *et al.* [27] trabajó con efluentes provenientes del proceso de curtido en un sistema de lodos activados a temperaturas entre 12 y 34 °C, encontrando que es posible eliminar entre un 84 y 92% la carga biodegradable. Para estudiar la cinética de biodegradación aeróbica de estos efluentes se determinó por respirometría la velocidad de utilización del sustrato (1,56-2,42 d⁻¹), mientras que la constante de velocidad media fue de 113-142 mg/L y el coeficiente de demanda de oxígeno fue de 0,324-0,481, determinando un valor de respiración endógena

de 0,0883-0,1605 por día. Debido a la importancia de la caracterización de bacterias resistentes al cromo. Basu *et al.* [31] aislaron bacterias tolerantes a concentraciones en el rango de 25 a 250 $\mu\text{g/ml}$ Cr^{6+} . La aislación de estas bacterias contenidas en efluentes de tenerías pueden ser aplicables en bioremediación.

Similares estudios fueron realizados por Gopalan and Veeramani [24], logrando aislar cepas resistentes al cromo y capaces de eliminar cromo VI, lo que se evidenció en un aumento de la eliminación de este compuesto de un 40% a un 81% en un efluente y se determinó que el lodo poseía una concentración del 3% aproximadamente, la eliminación de DQO fue del 44%.

Experiencias con *Zoogloea ramigera* 115 (ATCC 25935) presentes en sistemas de lodos activados han sido altamente alentadoras, pues además de obtener eficiencias de DQO sobre el 80% en efluente con valores de 880 a 1000 mg DQO/L, 180 mg/L de carbono orgánico total y 65,8 mg/L de nitrógeno total Kjeldahl, ha sido posible estabilizar el sistema frente a choques de cargas orgánicas elevadas, añadiendo un polímero excretado por *Z. ramigera* [26].

Por su parte, Menéndez *et al.* [32] trabajó con efluentes de pelambre (24 g DQO/L, 7 g DBO_5/L y 53 g ST/L), curtición (5 g DQO/L, 0,5 g DBO_5/L y 3 g cromo/L), y agua residual total (3,5 g DQO/L, 1,1 g DBO_5/L , 11 g ST/L y 0,2 g cromo/L). Estos autores abordaron los tratamientos de las distintas líneas a través de un pre-tratamiento inicial, seguido de un tratamiento mediante lodos biológicos. El efluente proveniente del proceso de pelambre y curtido fue sometido a un pre-tratamiento mediante aireación intensiva por espacio de 1 a 4 horas con flujos de aire entre 70 y 210 L/h, mientras que al efluente proveniente del proceso de curtido se procedió a recuperar el cromo a través de un ajuste de pH seguido de una precipitación, para su recuperación e ingreso nuevamente a este proceso. Todos los efluentes fueron posteriormente tratados mediante un sistema de lodos activados. Se observó que a medida que la edad del lodo aumentaba de 4 a 10 días, la relación kg $\text{DBO}_5/\text{g SSV}\cdot\text{d}$ disminuía de 1,29 a 0,56; mientras que la eliminación de la DBO_5 aumentaba de 85 a 91%.

Un problema adicional de estos efluentes es su elevado contenido proteico y de sales de amonio, lo que hace necesario la eliminación de nitrógeno. Una de las alternativas de mayor viabilidad económica y medio-ambiental para la eliminación de nitrógeno es considerar un sistema biológico anóxico/aeróbico. Los sistemas de nitrificación y desnitrificación están siendo altamente utilizados en efluentes con estas características [28, 29, 30], han demostrado la factibilidad a nivel piloto de eliminar nitrógeno en un efluente compuesto de un 90% de efluentes de curtiembre y 10% de aguas domésticas. El sistema estaba compuesto por una unidad desnitrificante (550 L) y una unidad de lodos activados (1000 L), sin pretratamiento físico/químico y considerando una fuente

de carbono externa. Este sistema logró elevados niveles de desnitrificación con razones de 12,5 mg DQO/mg N desnitrificado. Se pudo determinar que tanto el cromo como el sulfuro no indujeron a problemas de inhibición. Sin embargo, se observó efectos negativos en la velocidad de desnitrificación debido a la alta velocidad entre la concentración de oxígeno retornado y la DQO de entrada. Con este mismo objetivo (la eliminación intensiva de material proteico), Roets [33] desarrolló un sistema para tratar efluentes de la industria de curtiembres, entre otras, que considera la mezcla de aire en pequeñas burbujas con el líquido. Este sistema fue eficiente para eliminar más del 98% de sólidos totales, sulfuro y cromo, mientras que la eliminación de DQO y DBO₅ fue del 70%.

Es importante señalar que el tratamiento por separado de los vertidos con mayor poder contaminante, que se producen en el proceso tecnológico de pelambre disminuye la agresividad de los efluentes residuales parciales y con ello disminuye la carga contaminante de la corriente de agua residual integral [32].

2.4 Procesos de oxidación avanzados (POA)

Son técnicas nuevas, basadas fundamentalmente en la destrucción total o parcial de los contaminantes, dependiendo de la naturaleza y las propiedades físico-químicas de los efluentes a tratar, utilizando para ello agentes químicos fuertemente oxidantes, como: ozono, oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno.

En la actualidad, se han implementado agentes oxidantes en presencia de radiación ultravioleta y/o de un catalizador (semiconductor) como el dióxido de titanio (TiO₂), debido a que la luz UV no es capaz de degradar rápidamente los compuestos orgánicos y por eso se usa una combinación con estos agentes oxidantes, como: UV/H₂O₂, UV/H₂O₂/O₃, UV/catalizador o UV/catalizador/oxidante. También, es posible la combinación del H₂O₂ con iones de Hierro (Fe²⁺ y Fe³⁺) conocido como reacción de Fenton, y en presencia de luz UV es conocido como reacción de foto-Fenton.

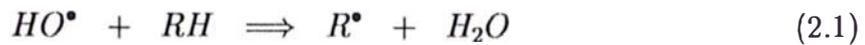
El principio de estos procesos o tecnologías de oxidación avanzada se basan en la formación de radicales libres con un alto poder oxidante, fundamentalmente el radical HO•, que es capaz de destruir rápidamente otras especies en solución [34]. El radical hidroxilo es un agente oxidante altamente reactivo y no se genera fácilmente en la solución. Su potencial estándar de reducción es de $\epsilon^\circ = 2,8 \text{ V}$ a 25 °C [35], cuya reacción se describe como:



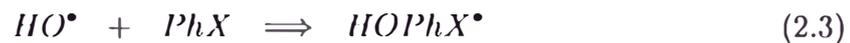
Los radicales hidroxilo, generados por los procesos descritos anteriormente, son capaces de mineralizar rápida y completamente una gran variedad de contaminantes orgánicos hasta CO₂ y H₂O.

Hay varios métodos combinados para la producción de radicales hidroxilo, que han sido divulgados por muchos autores para la descomposición de una amplia variedad de contaminantes orgánicos [36, 37], siendo los principales:

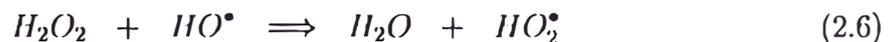
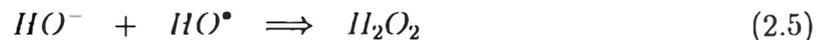
Los radicales HO^\bullet son generados en solución y debido a su naturaleza fuertemente oxidativa, son los responsables de la oxidación de los compuestos orgánicos, principalmente atrapando el hidrógeno y generando radicales orgánicos libres (Ecuación 2.1). Luego, este radical puede reaccionar con oxígeno molecular formando peroxiradicales (Ecuación 2.2), empezando una serie de reacciones de degradación oxidativa que puede llevar a una completa mineralización de los compuestos orgánicos.



El radical HO^\bullet en presencia de un sustrato orgánico, puede seguir mecanismos de adición electrófila (Ecuación 2.3) y transferencia de electrón simple (Ecuación 2.4).



También se debe tomar en cuenta la recombinación radical-radical (Ecuación 2.5) y la producción de radicales hidroxiperoxilo en presencia de exceso de H_2O_2 (Ecuación 2.6), los cuales son mucho menos reactivos y no contribuyen en la degradación oxidativa del sustrato orgánico.



2.4.1 Fotocatálisis heterogénea

La fotocatalisis heterogénea es un proceso basado en la adsorción directa o indirecta de energía radiante (UV) por un sólido (catalizador) que normalmente es un semiconductor (SC) de banda prohibida. En la zona interfacial entre sólido y la solución tienen lugar las reacciones de destrucción o de remoción de los contaminantes, sin que el catalizador sufra cambios químicos. El proceso es heterogéneo porque hay dos fases activas, sólido y líquido. El orbital molecular del semiconductor tiene una estructura de banda. Las bandas de interés en fotocatalisis son las bandas de valencia (BV) de menor energía y las bandas de conducción (BC) de mayor energía, separados por una distancia de energía llamada banda de energía prohibida o ancho de banda óptico (E_g).

La Figura 2.4, esquematiza los procesos químicos que ocurren en la partícula de un

semiconductor cuando es iluminado con luz ($h\nu$) de mayor energía que la banda prohibida o ancho de banda óptico. Un electrón es promovido de la BV a la BC, dejando un hueco positivo en la BV; en ese lapso el electrón migra a la superficie y reacciona con especies adsorbidas (procesos c y d). Después de la separación, el par electrón (e^-) y hueco (h^+) que no alcanzan a separarse y a reaccionar con especies en la superficie, se recombinan, tanto en la superficie como en el seno de la partícula (procesos a y b, respectivamente) generando calor. El proceso neto es la catálisis de la reacción entre el oxidante A (aceptor de electrones) y el reductor D (dador de electrones) [35, 38].

A continuación, en la Figura 2.4 se muestra el esquema de los procesos que ocurren en la interfase semiconductor-electrolito cuando es bombardeado con radiación ultravioleta de determinadas longitudes de onda provocando la transferencia de un electrón desde la banda de valencia de un semiconductor hasta su banda de conducción, produciendo lo que se conoce como par electrón-hueco (e^-/h^+) según:



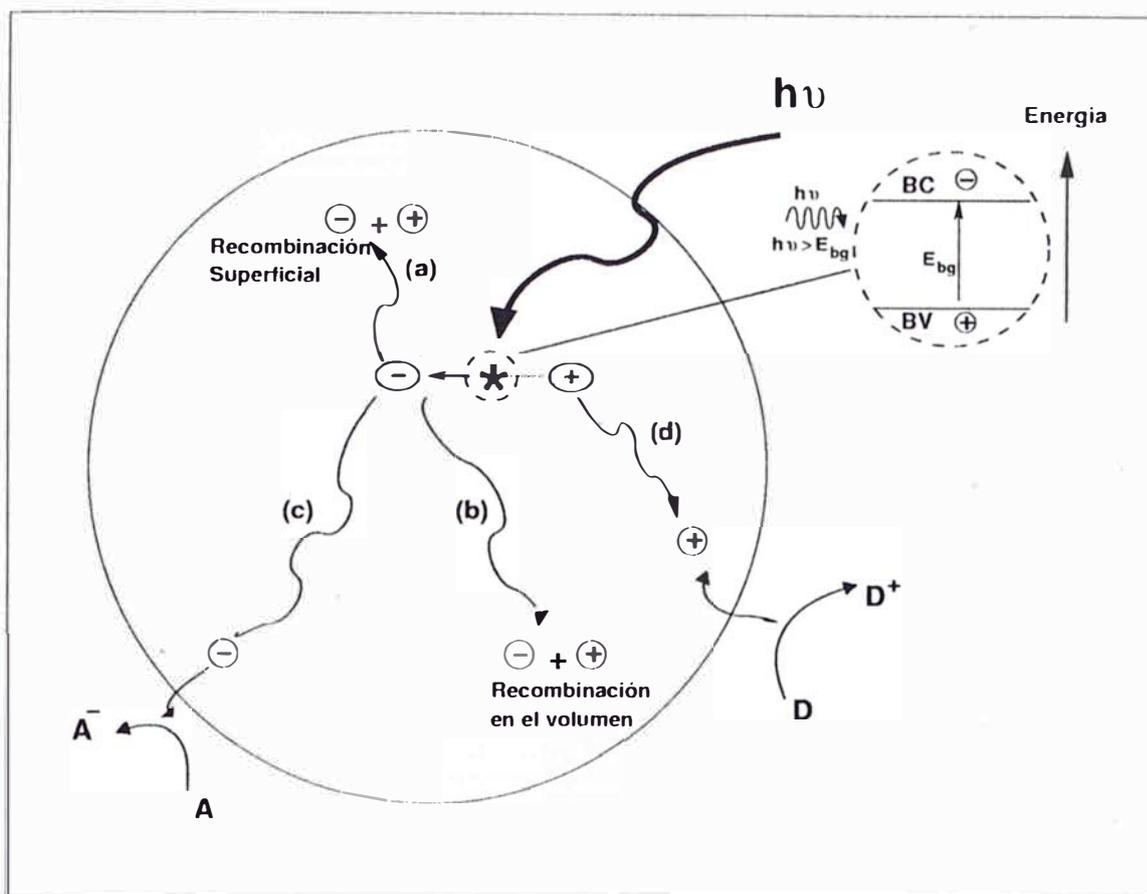


Figura 2.4: Procesos que ocurren en la interfase semiconductor-electrolito bajo iluminación con luz UV.

El potencial redox de la banda de valencia (BV) y banda de conducción (BC) para diferentes semiconductores (SC) varía entre +4,0 y -1,5 voltios vs. el potencial estándar de hidrógeno [37]. Para que las reacciones de oxidación ocurran, la BV debería tener un potencial de oxidación más alto que el material bajo consideración. Por tanto, para la selección cuidadosa de un semiconductor (SC) que actúa como fotocatalizador, hay un amplio rango de especies, que puede ser tratado vía estos procesos.

Los óxidos de metales y sulfuros (calcogenuros) representan una gran clase de materiales semiconductores adecuados para propósitos fotocatalíticos [39]. La Tabla 2.4 presenta una lista de algunos materiales semiconductores, con sus respectivas bandas de valencia, bandas de conducción, bandas de energía prohibida o anchos de banda óptico y las longitudes de onda requerido para activar el catalizador.

En la cantidad de semiconductores listados, el TiO_2 ha probado ser el más adecuado

y difundido para aplicaciones medio-ambientales, debido a que presenta una elevada estabilidad química que lo hace apto para trabajar en un amplio rango de pH, al mismo tiempo es capaz de producir transiciones electrónicas por absorción de luz en el ultravioleta cercano (UV-A). Por ello, hoy en día es una de las aplicaciones fotoquímicas que más interés ha despertado en la comunidad científica internacional.

Tabla 2.4: Posiciones de bandas de algunos semiconductores fotocatalizadores en solución acuosa a pH=1.

Semiconductor	Banda de	Banda de	Ancho de banda óptico	
	Valencia (V vs. NHE)	Conducción (V vs. NHE)	E_g (eV)	nm
TiO ₂	+3.1	-0.1	3.2	387
SnO ₂	+4.1	+0.3	3.9	318
ZnO	+3.0	-0.2	3.2	387
ZnS	+1.4	-2.3	3.7	335
WO ₃	+3.0	+0.2	2.8	443
CdS	+2.1	-0.4	2.5	496
CdSe	+1.6	-0.1	1.7	729
GaAs	+1.0	-0.4	1.4	886
GaP	+1.3	-1.0	2.3	539

Fuente: Parra, 2001

2.5.1.1. Propiedades del dióxido de titanio

El dióxido de titanio es un polvo blanco usado ampliamente en la industria como pigmentos para pinturas blancas, material de bloqueador solar y cosméticos, entre muchos otros. Su utilización como fotocatalizador se basa tanto en sus propiedades de semiconductor así como en la posibilidad de obtenerlo en forma de partículas de muy pequeño diámetro y de gran área superficial [40].

El dióxido de titanio es químicamente y biológicamente inerte, estable a la corrosión química y fotoquímica, siendo sólo atacado por el ácido sulfúrico concentrado caliente y por el ácido fluorhídrico concentrado. Por otra parte, el TiO₂ es de especial interés

desde que puede usar radiación UV natural (solar) [37], esto es porque el TiO_2 tiene una separación energética apropiada entre su banda de valencia (BV) y banda de conducción (BC), los cuales pueden ser superado por la energía de un fotón solar.

Este semiconductor existe en tres formas cristalinas: anatasa, rutilo y brookita [41], pero sólo las dos primeras se producen en forma industrial. La anatasa es un cristal tetragonal, negativo uniáxico, $\epsilon = 2,493$, $\omega = 2,554$; la celda elemental contiene cuatro moléculas de TiO_2 y un volumen de $136,1 \text{ \AA}^3$. El rutilo es tetragonal e isómero, pero no isomorfo de la anatasa, es positivo monoáxico, $\epsilon = 2,586$, $\omega = 2,616$; la celda elemental contiene dos unidades TiO_2 y un volumen de $62,4 \text{ \AA}^3$.

Ambas formas cristalinas (anatasa y rutilo) han sido estudiadas como posibles fotocatalizadores, siendo la estructura tipo anatasa la que ha entregado los mejores resultados prácticos, por la capacidad que tiene de adsorber fácil y rápidamente iones hidroxilo sobre su superficie activa. Siendo el más usado y efectivo para tratamiento de aguas residuales [35, 40].

En cuanto a la diferencia energética entre la BV y BC para las distintas formas cristalinas del dióxido de titanio es de aproximadamente $+3,2 \text{ eV}$ para la anatasa y de $+3,0 \text{ eV}$ para el rutilo; con una longitud de onda de 385 nm y de 400 nm respectivamente, y clasificándose dentro del rango del UV cercano. Por otra parte, la anatasa tiene una superficie específica que llega normalmente a $50 \text{ m}^2/\text{g}$ para las partículas de tamaño promedio de $200\text{-}250 \text{ nm}$, y que puede alcanzar los $150 \text{ m}^2/\text{g}$ para partículas de 20 nm de diámetro. Siendo la anatasa termodinámicamente menos estable que el rutilo, pero su formación es cinéticamente favorable a bajas temperaturas ($< 600 \text{ }^\circ\text{C}$), lo cual puede explicar su gran área superficial y muy alta densidad superficial de sitios activos para adsorción y catálisis. Esto, unido a su gran estabilidad ya mencionada, lo han puesto a la cabeza de los fotocatalizadores, llamados así porque son capaces de inducir procesos electroquímicos de oxidación y reducción sin participar directamente en la reacción [38, 41].

La anatasa tiene un valor de pH o punto de carga cero (PCC) en el cual la carga eléctrica neta en una determinada especie química es cero, siendo el PCC de éste compuesto a pH 6,3; como consecuencia, por debajo de ese valor adsorbe iones hidronio y a pH mayores, adsorbe iones hidroxilos, provocando que su superficie se cargue positiva o negativamente según el grado de acidez. Esta característica superficial le permite atraer hacia su superficie a especies cargadas, las que en algunos casos se adhieren fuertemente al catalizador [38].

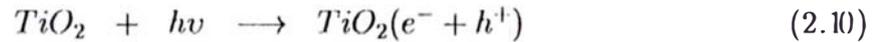
El dióxido de titanio comercialmente conocido como Degussa P-25 ha llegado a ser el estándar más utilizado en medio ambiente. Se prepara a través de hidrólisis por

llama a altas temperaturas (mayor que 1200 °C) de $TiCl_4$ en presencia de hidrógeno y oxígeno. El TiO_2 así formado es tratado con vapor para remover el ácido clorhídrico, el cual es también producido como parte de la reacción. El producto es 99,5% puro (razón de anatasa:rutilo es 70:30), las posiciones de la BV y BC para el Degussa P-25 ha sido calculado como +2,9 V y -0,3 V respectivamente a pH=0 [37, 40].

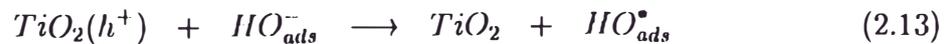
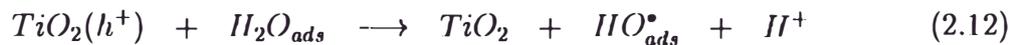
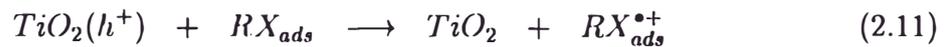
2.5.1.2. Mecanismos del TiO_2 - degradación fotocatalítica

Hoy en día, hay evidencia que el radical HO^\bullet es la principal especie oxidante responsable de la foto-oxidación de la mayoría de los compuestos orgánicos. Lo primero que ocurre después de la absorción de la radiación ultravioleta cercana a menos de 380 nm es la generación del par electrón-hueco (Ecuación 2.10), separado entre la banda de conducción (BC) y la banda de valencia (BV), como se muestra en la Figura 2.5.

El esquema muestra algunos eventos fotoquímicos y fotofísicos que pueden ocurrir sobre una partícula semiconductor irradiada.



Algunos sucesos que toman lugar después de la adsorción de la luz UV por partículas de TiO_2 y la subsecuente generación y separación de electrones (e_{bc}^-) y huecos (h_{bv}^+) son expresadas en las Ecuaciones 2.11-2.18 y la Figura 2.5. Las tres reacciones de oxidación han sido experimentalmente observadas: la transferencia de electrón de RX (Ecuación 2.11), H_2O (Ecuación 2.12) y HO^\bullet (Ecuación 2.13) adsorbido en la superficie del catalizador. Las reacciones (2.12) y (2.13) son de gran importancia en los procesos de degradación oxidativo, debido a la alta concentración de HO^\bullet y H_2O adsorbido en la superficie del catalizador.



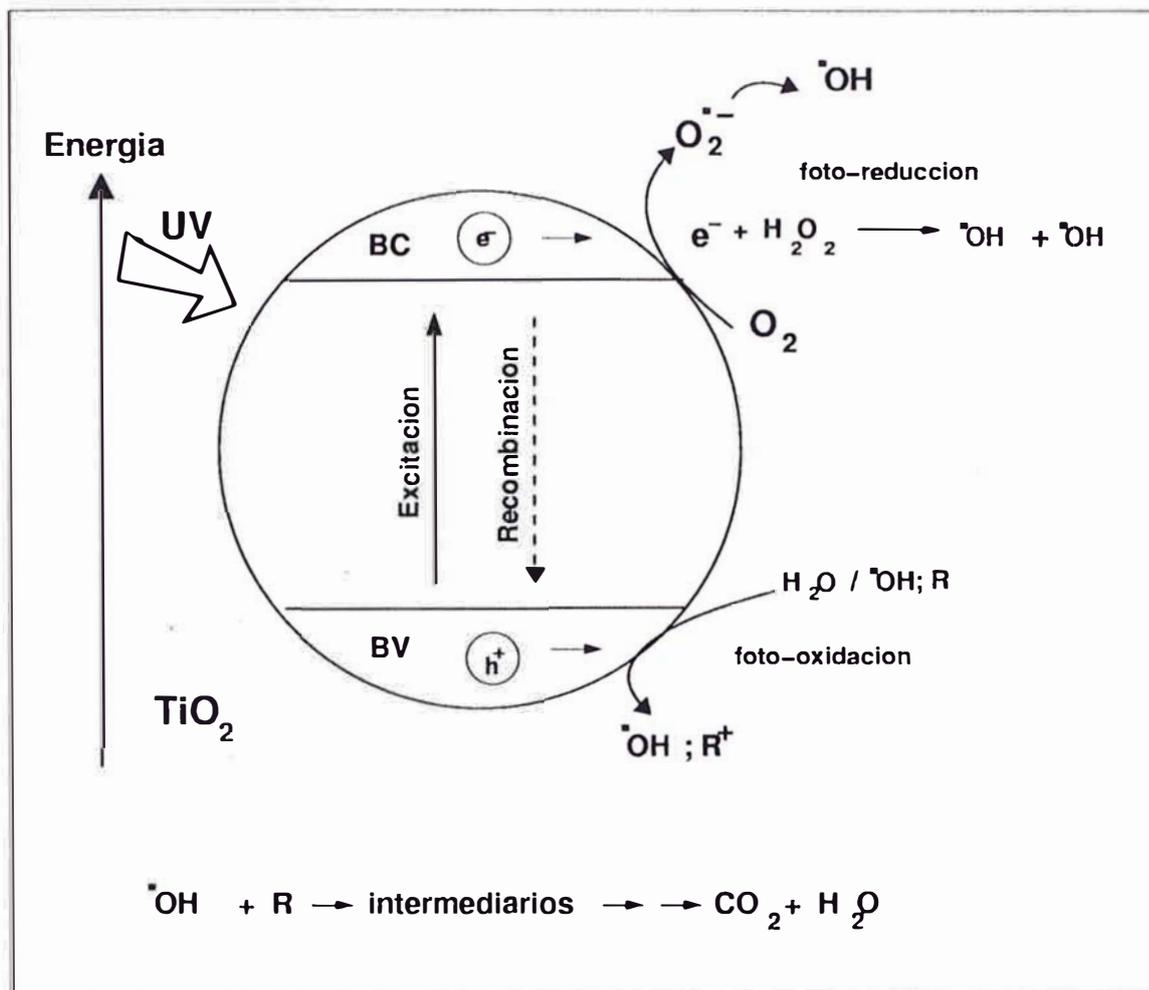
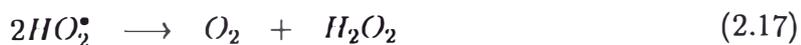
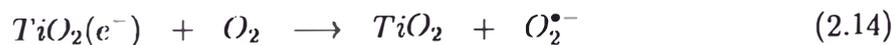
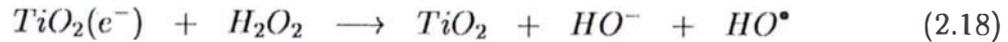


Figura 2.5: Procesos fotocatalíticos del semiconductor- TiO_2 .

El oxígeno molecular presente en todo el proceso de degradación oxidativo es la especie aceptora, reacciona mediante una transferencia de electrón en la BC (Ecuación 2.14). El anión superóxido y su forma protonada subsecuente dismuta para formar H_2O_2 o anión peróxido (Ecuaciones 2.15, 2.16, 2.17).



También ha sido mostrado que la adición de peróxido de hidrógeno influye considerablemente, aumentando la razón de fotodegradación (Ecuación 2.18) o por dismutación de la superficie catalizada del H_2O_2 .



Los contaminantes orgánicos adsorbidos sobre la superficie de las partículas de dióxido de titanio serán oxidados por los radicales HO^\bullet [37]. Por otra parte, se ha encontrado que hay diversos factores que influyen en los procesos de fotocatalisis heterogénea, tal como se describe en la siguiente sección.

Entre los contaminantes que han sido estudiados y que pueden ser degradados mediante el uso de TiO_2 se encuentran los pesticidas, herbicidas, hidrocarburos, surfactantes, colorantes y una serie de compuestos inorgánicos como metales pesados, nitritos, cianuros, etc.

2.5.1.3. Influencia de algunos parámetros sobre la cinética de reacción

Esta parte describe algunos de los parámetros fundamentales que influyen tanto en la reacción de oxidación-reducción en el proceso de fotocatalisis heterogénea y como consecuencia resultan determinantes en la eficiencia global de proceso.

a. Masa del catalizador

En fotoreactores de flujo dinámico o estático, las tasas de reacción inicial son directamente proporcional a la masa del catalizador (m) indicando un régimen catalítico heterogéneo verdadero. Sin embargo, por encima de un cierto valor límite m , las tasas de reacción se desnivelan y se vuelven independientes de m . Este valor depende de la naturaleza y geometría del componente a ser tratado, así como también las condiciones de trabajo del fotoreactor correspondiente a la máxima concentración del TiO_2 , en el cual todas las partículas (por ejemplo toda la superficie expuesta) son totalmente iluminadas. A concentración del catalizador más alto, un efecto de pantallamiento de partículas excitadas enmascaran parte de la superficie fotosensitiva. En la práctica, esta masa del catalizador óptimo tiene que ser elegido para evitar el exceso del catalizador y asegurar una eficiente adsorción total de los fotones, siendo el rango óptimo de concentración del catalizador TiO_2 (Degussa P-25) de 0,1 a 5,0 g/L [38, 42].

b. Concentración inicial del contaminante

Generalmente, para describir la cinética de degradación de los compuestos (contaminante), se sigue el mecanismo de Langmuir-Hinshelwood, en la que participa una tasa de reacción (r) variando proporcionalmente a la fracción de superficie cubierta por el sustrato (q) como sigue:

$$r = (k)(q) = k \left(\frac{KC}{1 + KC} \right) \quad (2.19)$$

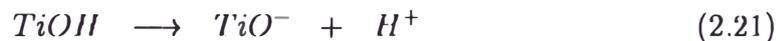
donde k es la constante de la tasa de reacción, K es la constante de adsorción del componente, C es la concentración de componente inicial.

Para soluciones diluidas, si KC llega a ser $\ll 1$, la reacción es de orden uno aparente; mientras que a concentraciones más altas $KC \gg 1$, la tasa de reacción es máxima y de orden cero [38, 43].

c. Temperatura y pH

La mayoría de las reacciones fotocatalíticas no son sensibles a pequeñas variaciones de temperatura. Pero si el pH de la solución acuosa varía, afecta significativamente el tamaño de la partícula, la carga de superficie y las posiciones de borde de la banda del TiO_2 debido a su carácter anfotérico.

El punto de carga cero (PCC) o pH al cual la superficie del óxido no está cargado (TiO_2), es a pH 6,3; por arriba y por debajo de este valor, el catalizador es cargado negativo o positivamente de acuerdo a las Ecuaciones 2.20 y 2.21, en consecuencia la degradación fotocatalítica de compuestos orgánicos es afectado por el pH [44].



d. Iones inorgánicos

Algunos aniones comúnmente encontrados en aguas naturales y contaminadas. (por ejemplo cloruro, bromuro, sulfato y fosfatos) tienen un efecto inhibitor sobre el proceso de fotodegradación. Estos aniones son acotados por el TiO_2 o cerca a su superficie. Como consecuencia, el pH y pH_{pcc} deberían ser propiedades determinantes para los efectos de los iones, así como la afinidad química de los iones para TiO_2 . Por otro lado, se ha observado que hay una inhibición significativa en la tasa de degradación para diferentes compuestos en presencia de cloruros a pH 3, de acuerdo a la Ecuación 2.20 a pH ácido. Las principales especies dominantes sobre la superficie del catalizador son TiOH^{2+} y TiOH , y los iones Cl^- compiten con los compuestos orgánicos por sitios activos bajando la tasa de degradación. A pH mayores, la superficie del catalizador esta cargado negativamente (Ecuación

2.21), repele el acercamiento de los iones Cl^- y ningún efecto de inhibición es observado [37, 44].

e. Intensidad de luz

Se ha observado que la tasa de degradación es proporcional a la intensidad de luz, los cuales confirman la naturaleza foto-inducida de la activación de los procesos catalíticos, con la participación de cargas eléctricas foto-inducidas (e^- y h^+) en el mecanismo de reacción. Sin embargo, a intensidad de luz alta, la razón de degradación llega a ser proporcional a la raíz cuadrada de este parámetro. La utilización del poder de luz óptimo corresponde al dominio donde la razón de degradación es proporcional a la intensidad de luz [35, 44].

f. Oxígeno

El oxígeno es el oxidante más empleado y barato, y no compite con el sustrato en el proceso de adsorción. La tasa y eficiencia de degradación foto-asistida de sustratos orgánicos son mejorados con la presencia de oxígeno o por adición de varias especies oxidadas tales como peroxodisulfato o peróxido. La dependencia de la concentración de oxígeno molecular ha sido explicado involucrando la adsorción y reducción de O_2 , ambos en la oscuridad y durante la iluminación a la superficie fotocatalizada. El oxígeno molecular actúa como una banda de conducción atrapando el electrón, suprimiendo total y parcialmente la recombinación superficial electrón-hueco como se muestra en la Ecuación 2.14. El superóxido formado es un efectivo agente oxidante. Alternativamente, la secuencia mostrada en las Ecuaciones 2.15 a 2.18 genera peróxido de hidrógeno para formar radicales $\cdot\text{OH}$, los cuales son reacciones oxidativas iniciales [35, 37].

g. Longitud de onda

Para TiO_2 la energía de banda prohibida es de 3,2 eV, absorbe cerca del UV cercano a $\lambda < 387$ nm. Además, debe ser chequeado que los reactantes no absorben esta longitud de onda, para conservar la foto-activación exclusiva del catalizador, para un verdadero régimen de catálisis heterogénea (no homogénea, ni fotoquímico en la fase adsorbida) [38].

h. Adsorción

Una importante consideración de las reacciones fotocatalizadas del TiO_2 es la adsorción de los compuestos orgánicos sobre la superficie de las partículas semiconductoras. La relación de Langmuir entre las tasas de degradación y las concentraciones del componente orgánico inicial, indican que la adsorción juega un rol en la reacción fotocatalítica. Sin embargo, este rol sobre la tasa de degradación es aún incierto [37].

2.4.2 Reacciones de Fenton y de foto-Fenton

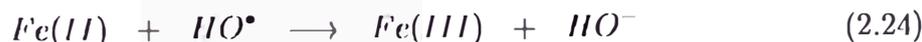
La reacción de Fenton fue descubierta por H.J.H.Fenton en 1894. Pero su utilidad no fue reconocida hasta 1930, en donde los mecanismos fueron identificados. El mecanismo Haber-Weis sugirió que el agente oxidativo efectivo en la reacción de Fenton es el radical HO^\bullet (Ec. 2.23). Desde luego, algunos grupos han tratado de explicar el mecanismo completo [45, 46].

En general, se puede describir la reacción de Fenton como sigue:



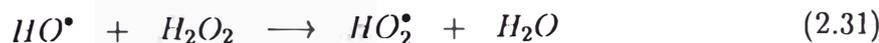
donde M es un metal de transición como el Fe o Cu.

Dichos radicales pueden reaccionar por dos vías, la oxidación de Hierro (II), una reacción inproductiva (Ecuación 2.24) y el ataque a la materia orgánica (Ecuaciones 2.25-2.27).



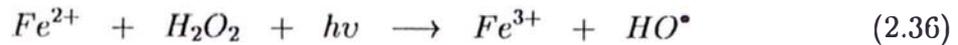
Hay que tener en cuenta, que en ausencia de luz y otros ligandos acomplejantes distintos del agua, el mecanismo de reacción más aceptado para la descomposición del H_2O_2 en solución acuosa (medio ácido) se produce la formación de radicales hidroxilos HO^\bullet (HO_2^\bullet/O_2^-) y radicales hidroxilos HO^\bullet .

El radical HO^\bullet , una vez en solución, ataca casi a todos los compuestos orgánicos, indicado en las Ecuaciones 2.25-2.27. La generación del metal puede seguir pasos diferentes. Para Hierro (II), el esquema más aceptado se describe en las Ecuaciones 2.28-2.35 [45].





Las tasas de la reacción de Fenton son fuertemente incrementados por irradiación con luz UV/VIS [36]. Durante la reacción los iones Fe^{3+} son acumulados en el sistema y después los iones Fe^{2+} son consumidos, la reacción prácticamente se detiene. Se produce una regeneración fotoquímica (Ecuación 2.36) de iones ferroso (Fe^{2+}) por fotoreducción de iones férrico (Fe^{3+}). El nuevo ión ferroso generado reacciona con H_2O_2 generando un segundo radical HO^{\bullet} e iones férrico y el ciclo continúa.



Las reacciones de Fenton y de foto-Fenton no sólo dependen de la concentración del peróxido de hidrógeno y de la adición de Fe, sino también del pH.

2.5.2.1. Influencia de algunos parámetros en la cinética de reacción

A continuación se describe brevemente algunos de los parámetros que influye en la cinética de la reacción.

a. Efecto del pH

Los procesos de Fenton y de foto-Fenton tienen una máxima actividad catalítica a pH menor que 3. El valor del pH influye en la generación de radicales HO^{\bullet} y por tanto en la eficiencia oxidativa. Para valores de pH mayores que 5, la degradación decrece fuertemente, generando barros de hierro (III) particulado, reduciendo la disponibilidad de hierro (II) y la transmisión de radiación [37].

b. Efecto de la concentración inicial de peróxido de hidrógeno

La tasa de degradación se incrementa con la concentración de H_2O_2 , sin embargo, sobre una cierta concentración de H_2O_2 , la tasa de reacción se estabiliza y algunas veces es afectado negativamente, por el progresivo incremento del peróxido de hidrógeno. Esto puede ser debido a la auto-descomposición de H_2O_2 a O_2 y H_2O , y a la recombinación de radicales HO^{\bullet} (Ecuaciones 2.31 y 2.32). Por tanto, el H_2O_2 debería ser adicionado a una concentración óptima para alcanzar la mejor degradación. Esta concentración óptima depende de la naturaleza y concentración del componente a tratar y de la concentración de Fe [35, 37].

c. Efecto por la cantidad de sales de Fe (II)

Como en el caso anterior, la tasa de degradación se incrementa con la cantidad de sales de hierro (Fe), pero después de una determinada concentración de Fe la eficiencia decrece, debido a que el exceso de estos iones produce el atrapamiento de los radicales hidroxilos, (Ecuación 2.24), y también el peróxido o radical peroxi-hidroxilo (Ecuaciones 2.31 y 2.32). Formando una turbiedad marrón (precipitados

de hidroxido férrico) que dificulta la adsorción de la luz requerida para el proceso de foto-Fenton o para la recombinación de radicales HO^\bullet .

Es deseable que la relación estequiométrica molar de H_2O_2 a Fe^{2+} sea lo más pequeño posible, para que la recombinación pueda ser evitada y la producción de complejos de hierro reducido. Según varios autores proponen que la tasa óptima molar de $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}$ debe oscilar entre 10 y 25 [47, 48].

2.4.3 Antecedentes de los Procesos de Oxidación Avanzada en efluentes

Las investigaciones realizadas para el tratamiento oxidativo mediante los procesos de oxidación avanzada (POA) en el efluente de la industria de curtiembre son muy pocas. Sin embargo, estos procesos de oxidación han mostrado que es posible reducir la alta contaminación de estas corrientes de los distintos procesos, de este tipo de industria mediante tratamiento oxidativo [49] y tratamientos combinados oxidativos-biológicos [49, 50, 51].

Como se expuso anteriormente en el apartado 2.3.6, los sistemas biológicos aeróbicos son altamente convenientes para tratar los efluentes provenientes de la industria de curtiembre. Pero debido a los compuestos orgánicos de elevado peso molecular presentes en este tipo de efluente y produciendo una disminución en la eficiencia de depuración. Es por eso, que algunos autores han considerado evaluar el efecto de los procesos químicos fuertemente oxidativos, como es el caso del Ozono [49, 50], aplicando una dosis de 2 g O_3/g DQO como pre-tratamiento, seguido de un tratamiento aeróbico por lodos activados, para así fragmentar la carga orgánica poco disponible para dichas bacterias y con ello aumentar la eficiencia de eliminación de DQO del sistema. Más aún, un pre-tratamiento por oxidación vía ozono permite mejorar los niveles de eliminación de nitrógeno, debido a la disponibilidad de fuente de carbono.

Por otro lado, hay muchas investigaciones realizadas para reducir la contaminación de otros tipos de efluentes industriales como es el caso de la industria de papel y pulpa [52, 53, 54, 55, 56, 57, 58]; la industria textil [58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65]; así como para desinfección y eliminación de microorganismos patógenos [66, 67, 68] y otros compuestos orgánicos recalcitrantes [69, 70, 71, 72].

Es importante recalcar que los procesos oxidativos para el tratamiento de las aguas residuales han mostrado su valor en el campo de la eliminación de compuestos tóxicos. Sin embargo, la mineralización total por estos medios es muy caro. Por otro lado, los tratamientos biológicos son realmente baratos y confiables, pero no obstante hay

sustancias que mediante este tratamiento son incapaces de tratarse. Resultando una alternativa muy tentativa la combinación de ambas clases de tratamiento o procesos que significan una opción muy barata, para aumentar la degradación y tratabilidad del sistema, reduciendo la contaminación orgánica presente en las aguas residuales tóxicas [73].

Capítulo 3

Parte Experimental

3.1 Diagrama del procedimiento efectuado

La Figura 3.1 muestra el procedimiento experimental efectuado en este estudio.

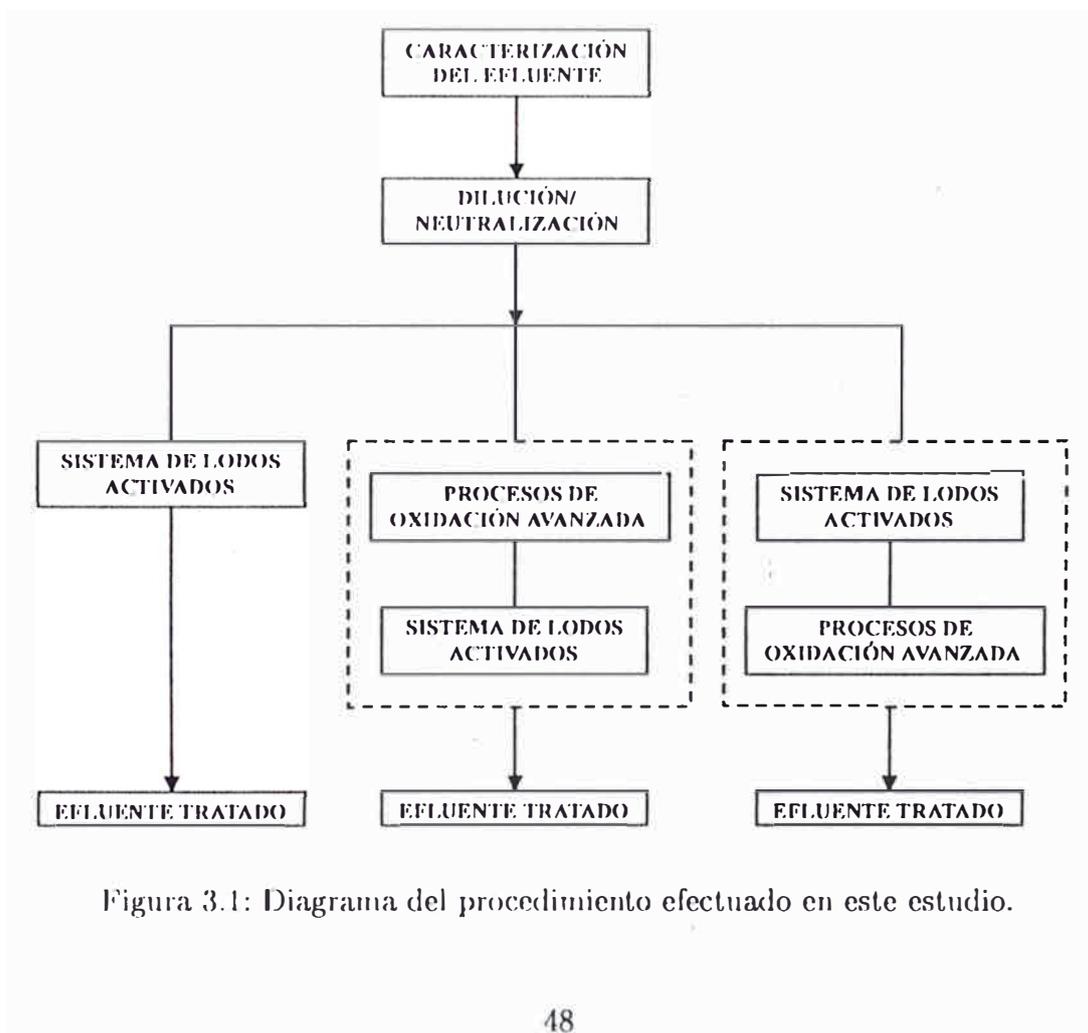


Figura 3.1: Diagrama del procedimiento efectuado en este estudio.

3.2 Efluente crudo de curtiembre

El efluente utilizado proviene del proceso de pelambre de una industria de curtiembre del Sur de Chile. En todo el estudio de este trabajo se muestreo 2 veces por un período de 1 año. La misma clase de piel del animal (bovino) y reactivos fueron usados en todo el proceso. El efluente fue previamente tratado por un sistema físico (filtración) para remover los sólidos gruesos tales como los pelos, piezas de piel y grasas. El efluente crudo fue transportado al laboratorio y almacenado en oscuridad a 4 ± 1 °C.

3.3 Inoculo

Antes de empezar con el tratamiento, el reactor de lodos activados fue inoculado con un lodo aerobio de una planta de tratamiento de celulosa kraft, debido a que no existen plantas de lodos activados en la industria de curtiembre. Dicho inóculo se cultivó y aclimató a pH entre 7,2 y 7,8 y a temperatura entre 20 y 22 °C.

3.4 Sistema de lodos activados

Este sistema de tratamiento está constituido por un reactor biológico aeróbico (1,83 L) y un sedimentador (0,88 L), los cuales fueron diseñados y construidos para ser utilizados en el presente trabajo, cuyas dimensiones son para el reactor biológico de 30 cm x 10cm x 4mm (alto, ancho y espesor) y del sedimentador es de 30 cm x 7 cm x 5 mm. El material utilizado para la construcción del reactor y el sedimentador fue con PVC de alta densidad, tal como se describe en la Figura 2.3 y se presenta en la Figura 3.2. La alimentación al sistema de lodos activados (SLA) se realizó en forma continua.

Para evaluar el comportamiento del sistema de lodos activados (SLA) en estudio, se recolectaron muestras en la entrada al reactor biológico llamado **influyente** y a la salida del sistema llamado **efluente**, tal como se muestra en la Figura 3.3. A la vez, se evaluó el comportamiento de la biomasa del sistema donde se recolectaron muestras en el reactor biológico llamado **reactor**, indicado en la Figura 3.3, para cada variación de la velocidad de carga orgánica (VCO) y tiempo de retención hidráulico (TRH) que presenta el estudio. Las muestras son previamente filtradas con una membrana de 0,45 μm de tamaño, para determinar la materia orgánica soluble o filtrada medida mediante los parámetros de DQO y DBO_5 .

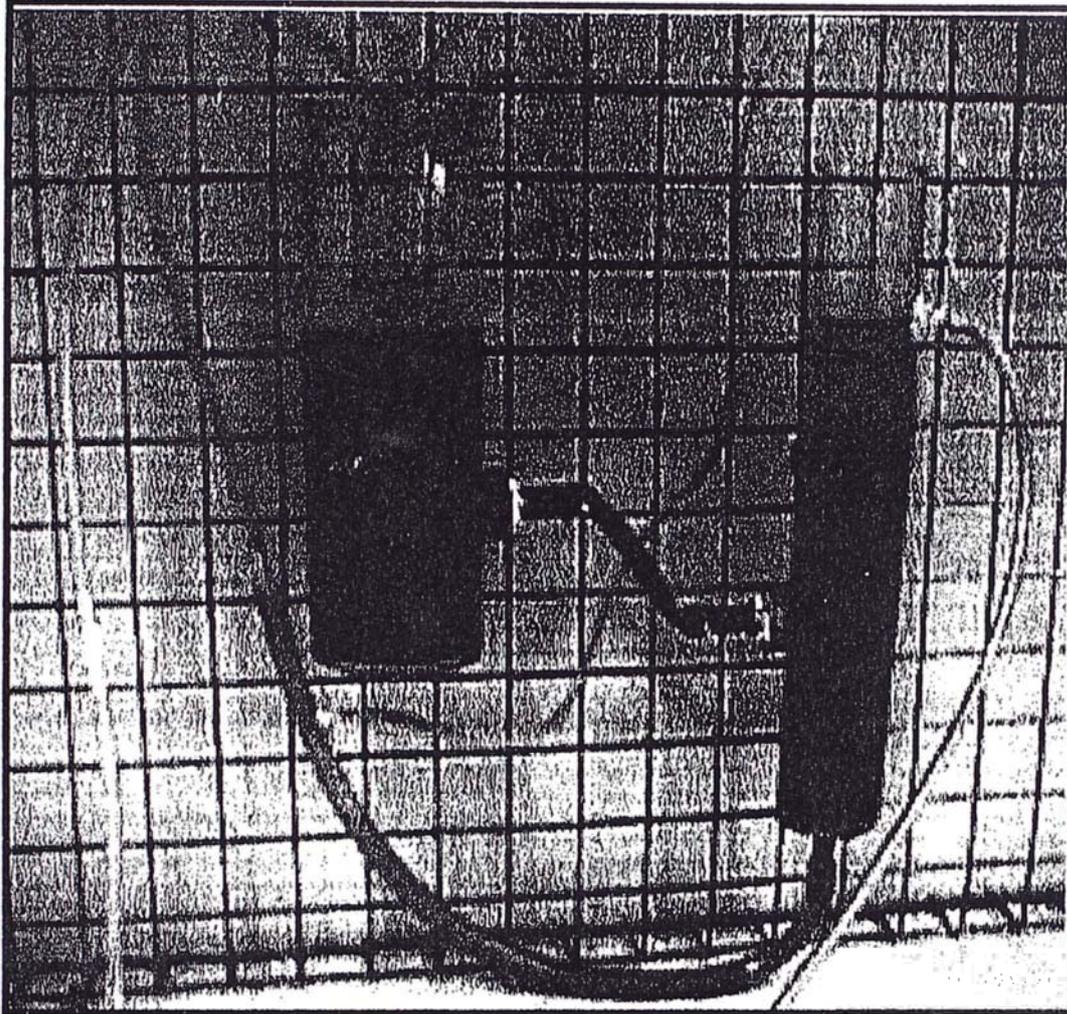


Figura 3.2: Sistema de lodos activados utilizado en el estudio.

La estrategia de operación se dividió en dos fases. La **primera fase**, consistió en una puesta en marcha del reactor. El sistema se alimentó con un influente sintético de sacarosa (10 g/L) y nutrientes (NH_4Cl como fuente de nitrógeno y H_2KPO_4 como fuente de fósforo), de tal modo que la relación C:N:P corresponde a la relación de 100:5:1. El sistema se alimentó con una velocidad de carga orgánica (VCO) de 0,1 g DQO/L·d y un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 16,6 d (durante 21 días de operación), para aumentar la concentración de biomasa heterótrofa hasta 3 g ST/L y así poder empezar con el tratamiento propiamente tal; la **segunda fase (tratamiento)** se subdividió en dos partes, utilizando como alimentación el efluente crudo de curtiembre, el cual fue diluido previamente durante todo el estudio (189 días de operación). Variando la velocidad de carga orgánica (VCO) y tiempo de retención hidráulica (TRH) de 0,23 a 6,34 g DQO/L·d y de 16,6 a 1 d, respectivamente. En la primera parte de esta segunda

fase, la estrategia de operación consistió en disminuir el TRH desde 17 d hasta 1 d. Esto se logró regulando el flujo de la bomba periestática y del temporizador, manteniendo relativamente constante el ingreso del influente diluido al sistema de lodos activados (SLA) durante los períodos de operación de 22 a 128 d. En la segunda parte, la estrategia de operación se basó en ir aumentando la velocidad de carga orgánica (VCO) de 2,0 a 6,3 g DQO/L·d manteniendo constante el tiempo de retención hidráulica (TRH) a 1 día, durante los períodos de operación de 129 d hasta el final del tratamiento. Esto se logró aumentando la cantidad en volumen de la materia orgánica en el influente diluido de pelambre, en la entrada al sistema.

Por otro lado, la biomasa presente en el reactor biológico fue periódicamente reciclada cada 15 minutos y el exceso de lodo fue purgado para mantener una edad de lodo relativamente constante que varió de 27 a 30 días. La concentración de oxígeno disuelto en el reactor fue mantenida sobre los 6 mg/L, mediante burbujeo por una bomba de aire.

Los parámetros medidos y determinados en el tratamiento fueron: caudal (influyente y efluente); pH (influyente, reactor y efluente); oxígeno disuelto (reactor); tiempo de retención hidráulica (TRH); velocidad de carga orgánica (VCO); eficiencia de eliminación de la materia orgánica medida mediante los parámetros de DQO y DBO₅; relación de biodegradabilidad medida como DBO₅/DQO; carga másica (F/M); edad del lodo o tiempo de residencia celular (TRC); velocidad de sedimentación o índice volumétrico (IV₃₀); índice volumétrico de lodos (IVL); sólidos suspendidos totales (SST); sólidos suspendidos volátiles (SSV); y finalmente, se determinó toxicidad aguda en el influente y efluente del sistema mediante bioensayos con *Daphnia magna* y *Daphnia pulex*.

3.4.1 Respirimetría

Se tomaron 400 ml de muestra del reactor biológico aeróbico previamente homogenizado, se puso en un frasco que contenía un oxigenómetro en su interior, y se dejó airear por 20 minutos mediante burbujeo de una bomba de aire, hasta saturación del oxígeno. Inmediatamente se midió el consumo de oxígeno por los microorganismos tomando medidas en cada minuto hasta la totalidad del consumo de oxígeno por un tiempo de 2 horas.

Estos resultados obtenidos de consumo de oxígeno (mg O₂/L) en función del tiempo (min) son graficados y la pendiente de la curva es un indicador de la tasa de absorción de oxígeno (TAO) que es el oxígeno utilizado por los microorganismos por unidad de tiempo expresado como g O₂/L·d.

De este resultado se pueden obtener la velocidad específica de consumo de oxígeno denotado por b' , que es la velocidad de consumo de oxígeno (TAO) por unidad de masa

del lodo biológico, representado la masa como sólidos suspendidos volátiles del licor mezcla (SSVLM) presente en el reactor biológico expresado como $\text{g O}_2/\text{g SSVLM}\cdot\text{d}$.

Y con el resultado anterior se determina la velocidad de muerte de los microorganismos representado como k_d . Definido como la fracción de sólidos suspendidos volátiles del licor mezcla (SSVLM) por unidad de tiempo oxidado, es decir, un valor de $k_d = 0,1 \text{ d}^{-1}$ significa que el 10% de la cantidad total de SSVLM presente en el reactor continuo, en cualquier momento, es la cantidad oxidada por día.

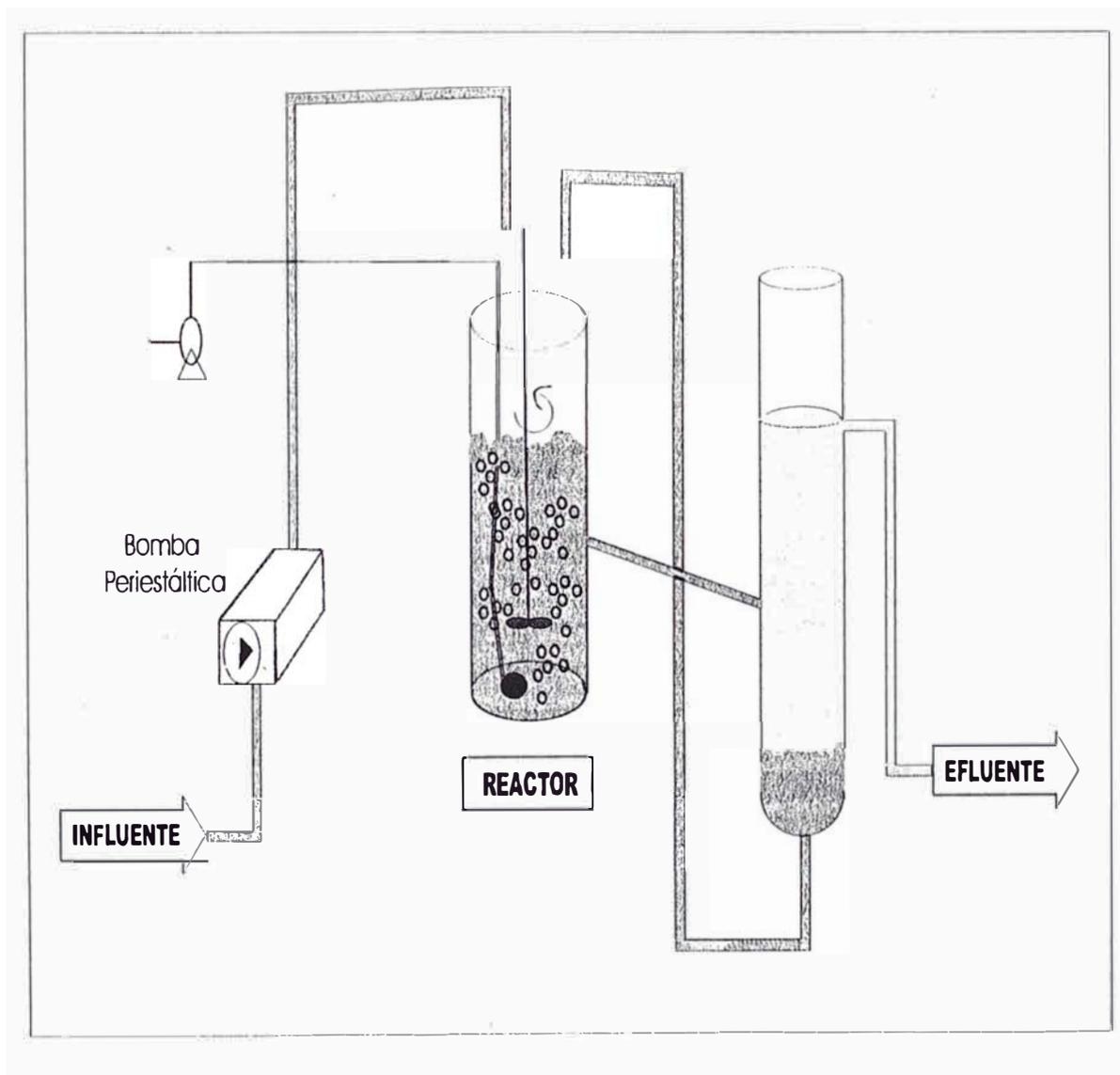


Figura 3.3: Puntos de muestreo en el sistema de lodos activados.

3.5 Procesos de oxidación avanzados

Este método de tratamiento se utilizó en dos secuencias referidas al sistema biológico. La primera fue un pre-tratamiento mediante oxidación avanzada utilizando como proceso la reacción de Fenton y la otra, un post-tratamiento con oxidación avanzada utilizando fotocatalisis heterogénea con $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$, reacción de Fenton y de foto-Fenton. A continuación se describe la metodología empleada para cada proceso de tratamiento.

3.5.1 Pre-tratamiento

El efluente fue pre-tratado químicamente mediante la reacción de Fenton ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$), manteniendo una relación constante entre $\text{H}_2\text{O}_2/\text{DQO}$ de 4 y $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ de 9 (expresado en unidades de moles), según Tang and Huang [47]. Los reactivos utilizados fueron $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y H_2O_2 concentrado al 30%.

La estrategia de operación consistió en tres ensayos “batch” con el efluente crudo, diluido en proporciones de 8, 4 y 2. Se utilizó entre 15 a 25 litros del efluente crudo de curtiembre diluido para cada ensayo, enseguida se ajustó el pH a 2,5 con ácido sulfúrico 6N, se adiciona sulfato ferroso sólido y se agita la solución hasta disolución completa con un agitador magnético; concluida la disolución se le agrega lentamente H_2O_2 (concentrado) según la relación entre DQO, H_2O_2 y Fe^{2+} descrita anteriormente, para cada variación de DQO total que aumenta desde 5,075 a 20,3 g DQO/L, como lo indica la Tabla 3.1 y finalmente se deja reposar el efluente tratado por un día, para eliminar parte del peróxido residual.

Los parámetros medidos y determinados en el tratamiento fueron la eliminación de la materia orgánica medida mediante los parámetros de DQO y DBO_5 y la relación de biodegradabilidad expresada como DBO_5/DQO . Para lo cual, se caracterizó el efluente crudo diluido y el sobrenadante del efluente tratado que fue ajustado hasta pH 7 con hidróxido de sodio, para la determinación analítica de la DQO y DBO_5 . Ambas muestras fueron filtradas previamente con membrana de 0,45 μm de tamaño.

Tabla 3.1: Cantidades utilizadas de peróxido de hidrógeno y hierro.

Effluente crudo diluido	DQO g/L	Fe ²⁺ g/L	H ₂ O ₂ ml/L
8	5,075	18,40	60,21
4	10,15	36,81	120,42
2	20,30	73,62	240,84

3.5.2 Post-tratamiento

Se trabajó con el effluente proveniente del tratamiento biológico mediante lodos activados descrito en el apartado 3.4, con una velocidad de carga orgánica (VCO) de 3,6 g DQO/L/d y un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 1 d, en tiempo de operación de 129 a 143 días, conteniendo una DQO y DBO₅ inicial de 1,95 g DQO/L y 0,569 g DBO₅/L, cuya eficiencia de eliminación de la materia orgánica está por debajo del 50%.

Este proceso de oxidación avanzada (POA) consistió en estudiar tres procesos oxidativos, analizando y evaluando la eficiencia de remoción de la materia orgánica y el aumento de la relación de biodegradabilidad en el tratamiento para cada uno de estos procesos.

El primer tratamiento utilizado fue la reacción de Fenton (Fe²⁺/H₂O₂) que consiste en utilizar 300 ml del effluente descrito anteriormente. La muestra del effluente pretratado biológicamente se ajusta a pH 2,5 con ácido sulfúrico 6N, se adiciona sulfato ferroso sólido (2 g) y se agita hasta disolución completa, con un agitador magnético, y finalmente se adiciona H₂O₂ concentrado (8 mL), lentamente en porciones sucesivas a intervalos de tiempo de 15 minutos durante media hora, terminando el proceso completo en una hora. Se recogieron luego muestras de 40 ml en lapsos de tiempos de 0, 15, 30 y 60 minutos, manteniendo una relación total de H₂O₂/DQO de 5 y H₂O₂/Fe²⁺ de 11, según Tang and Huang [47].

El segundo método utilizado fue la reacción de foto-Fenton (Fe²⁺/H₂O₂/UV). Es el mismo procedimiento del sistema Fenton descrito anteriormente, pero en presencia de una lámpara Philips HPN 125 con potencia de 250 W y una longitud de onda (λ) mayor a 250nm.

El tercer procedimiento que se utilizó fue mediante fotocatalisis heterogénea con $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$. Se efectuaron dos experimentos utilizando 300 ml de efluente pre-tratado biológicamente descrito previamente en la parte de arriba, uno a pH muestra de 7,6 y la otra se ajustó a pH ácido de 2,5 con ácido sulfúrico a 6N, para evaluar el efecto del pH en este tipo de efluente y ver si presenta algún efecto sobre el catalizador. Se colocó la muestra de efluente dentro de una caja negra, que en su interior contenía una lámpara Philips HPN 125 ($P=250$ W) y longitud de onda (λ) mayor a 250 nm, se hace burbujear oxígeno a la muestra de efluente y se adiciona 1 g/L de óxido de titanio (Degussa P-25) según [57]. Se mantiene agitada la solución mediante agitador magnético dentro de la caja y se prende la lámpara para el tratamiento durante 2 horas, tomando 40 ml de muestra a intervalos de tiempo de 0, 30, 60 y 120 minutos en todo el tratamiento.

Para los tres métodos de tratamiento, se midió y determinó la materia orgánica medida por medio de los parámetros de DQO y DBO_5 , la eficiencia de eliminación de la materia orgánica y la relación de biodegradabilidad medida como DBO_5/DQO . Las muestras son previamente filtradas antes del análisis con membrana de $0,45 \mu\text{m}$ de tamaño.

3.6 Sistemas combinados de tratamiento

3.6.1 POA/biológico

El efluente de curtiembre proveniente de la etapa de pelambre fue pre-tratado mediante los POA, tal como se describió en el apartado 3.5.1, seguido de un tratamiento biológico aeróbico de lodos activados, como se ilustra en la Figura 3.4. El efluente que se utiliza para alimentar al sistema de lodos activados (SLA) denominado influente es el sobrenadante del proceso de Fenton (pre-tratamiento) que se dejó reposar por espacio de un día para eliminar el peróxido residual. El SLA se alimentó con una velocidad de carga orgánica (VCO) que aumenta de 0,4 a 1,6 gDQO/L.d , manteniendo constante el TRH a 1 día durante 27 días de operación.

Se caracterizó en el sistema combinado el influente (sobrenadante del efluente tratado mediante el POA, descrito en el apartado 3.5.1) que es la alimentación (entrada) al sistema de lodos activados y el efluente del sistema, determinando la DQO y DBO_5 , ambas muestras son previamente filtradas con membrana $0,45 \mu\text{m}$ de tamaño.

También se midió y determinó en el sistema combinado el pH (influyente, reactor y efluente); caudal (influyente y efluente); oxígeno disuelto; tiempo de retención hidráulica (TRH); velocidad de carga orgánica (VCO); eficiencia de eliminación total de la materia orgánica medida mediante los parámetros de DQO y DBO_5 ; la relación de biodegradabilidad expresada como DBO_5/DQO ; carga másica (F/M); velocidad de sedimentación

o índice volumétrico (IV_{30}); índice volumétrico de lodos (IVL); sólidos suspendidos totales (SST); sólidos suspendidos volátiles (SSV); parámetros biocinéticos (tasa de absorción de oxígeno (TAO), velocidad específica de consumo de oxígeno (b') y velocidad de muerte de los microorganismos (k_d)) y finalmente, se determinó la toxicidad aguda que fue medida mediante bioensayos con *Daphnia magna* y *Daphnia pulex*.

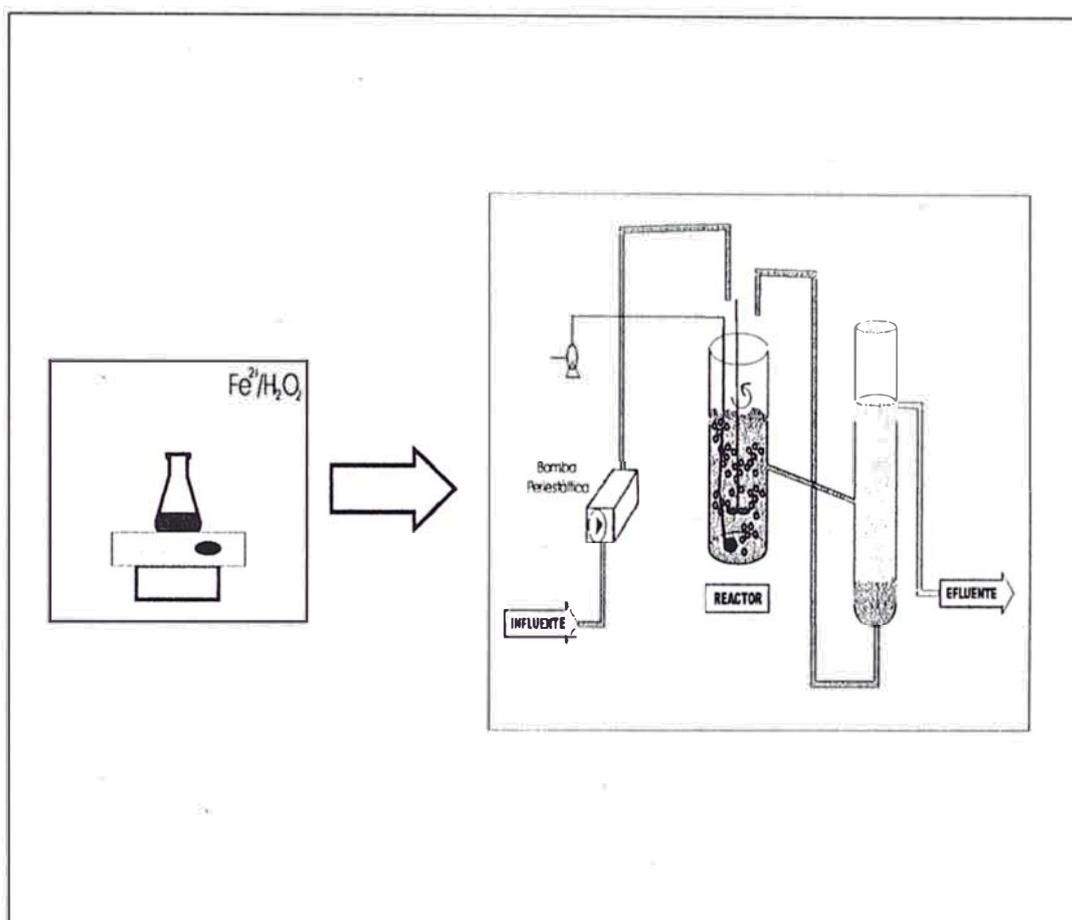


Figura 3.4: Sistema Combinado: POA/SLA.

3.6.2 Biológico/POA

Se trabajó con el efluente del sistema de lodos activados (SLA), que se describe en el apartado 3.4, seguido de los procesos de oxidación avanzada (POA) descrito en el apartado 3.5.2, tal como se ilustra en la Figura 3.5. Los parámetros medidos en el tratamiento fue la eficiencia de eliminación total de la materia orgánica medida mediante los parámetros de DQO y DBO_5 .

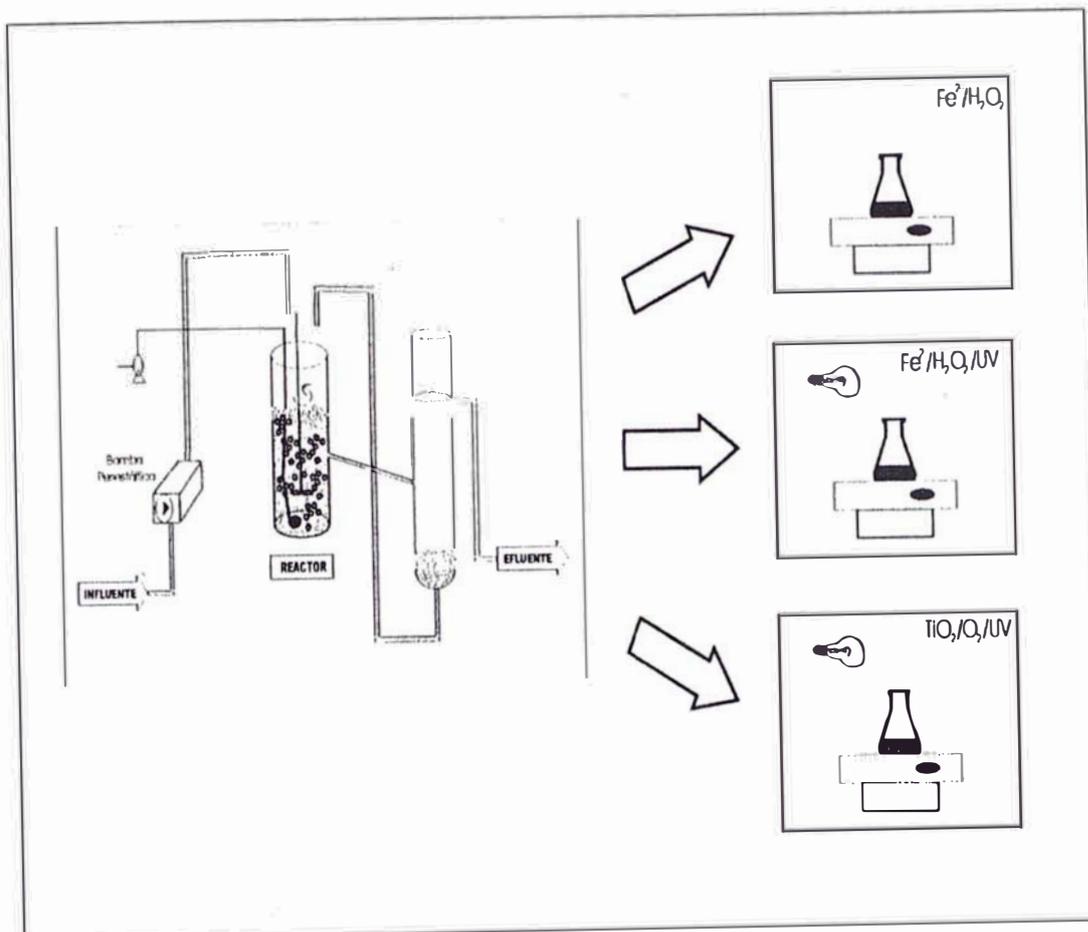


Figura 3.5: Sistema Combinado: SLA/POA.

3.7 Métodos analíticos

A continuación se describen los métodos de análisis empleados para este estudio.

3.7.1 Físico-químicos

a. Medición de temperatura y pH

Se colocó 100 ml de muestra en un vaso de vidrio y se midió la temperatura y pH mediante un termómetro y pHmetro, para las muestras del influente, efluente y reactor del sistema de lodos activados.

b. Determinación de la Demanda Química de oxígeno (DQO)

Se toma 2,5 ml de muestra y se colocan en el tubo de digestión, enseguida se agrega 1,5 ml de la solución digestora (solución de dicromato de potasio) y 3,5 ml de la solución catalítica (solución de sulfato de plata y de mercurio), se cierra herméticamente, se agita cuidadosamente el tubo para homogenizar el contenido y se lleva al reactor de digestión durante 2 horas a 150 °C. Se deja enfriar el tubo y se mide la absorbancia a 600 nm en un espectrofotómetro. En forma paralela se somete a digestión un blanco de reactivo, que contiene agua destilada como muestra y los mismos reactivos mencionados anteriormente. La diferencia de absorbancia entre el blanco y la muestra es interpolada en la curva de calibración, como se muestra en la Figura 3.6, construida para tal efecto en el espectrofotómetro [74].

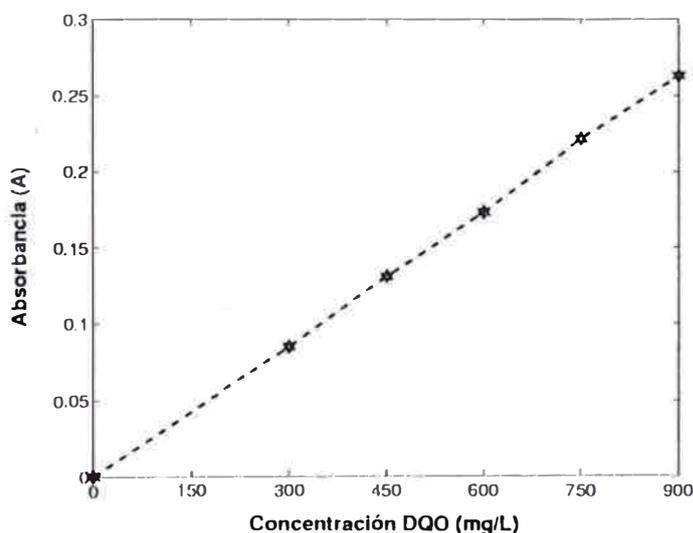


Figura 3.6: Curva de Calibración de la DQO.

Las muestras que contienen peróxido de hidrógeno se eliminan adicionando catalasa, esto es para descomponer catalíticamente el peróxido en oxígeno y agua. La cantidad de enzima a adicionar depende de su actividad. Por ello, se prepara solución de catalasa de 1 mg/ml y se adiciona 1,2 ml de dicha solución para un volumen de 40 ml de muestra a pH 7 y temperatura de 25 °C. Se deja reposar un día y se procede con el mismo análisis ya mencionado arriba.

En forma paralela para la determinación efectiva de la DQO en las muestras que contienen catalasa se prepara un blanco de reactivo con catalasa, que consiste en adicionar la misma cantidad de enzima que se adiciona a las muestras que contenían peróxido, y los mismos reactivos que la determinación estándar.

El resultado real de la muestra corresponde a la diferencia entre la DQO muestra con catalasa y la DQO blanco con catalasa, para así evitar la interferencia de la materia orgánica que tiene la enzima.

c. Determinación de la Demanda Biológica de oxígeno (DBO₅)

Se prepara el agua de dilución previamente aerado con sus respectivos nutrientes (Fe, Ca, Mg) y con una solución tampón de pH 7, para mantener el pH en la muestra que es vital para el crecimiento de los microorganismos. Se agrega en los frascos de DBO₅ el agua de dilución hasta la mitad, sin formar burbujas de aire al verterlo, se adiciona la muestra dependiendo de la dilución requerida (alícuotas), se termina de verter el agua de dilución hasta finalizar la capacidad del frasco de 300 ml y se cierra herméticamente para evitar la formación de burbujas de aire en los alrededores. La muestra se hace por duplicado para medir la DBO₅ al inicio y al final (quinto día). Esta determinación se hace por el método de Winkler, para determinar el oxígeno disuelto (O.D.) en la muestra que es consumido por los microorganismos.

Una muestra es colocada en la incubadora por espacio de 5 días a 20 °C, y la otra muestra es analizada de inmediato, mediante el método de Winkler, que consiste en adicionar a la muestra 1 ml de solución A (sulfato de manganeso) y 1 ml de solución B (azida de sodio, ioduro de potasio e hidróxido de sodio), se tapa el frasco y se vierte para homogenizar la solución. Se deja reposar hasta que decante todo el precipitado formado por la adición de los dos reactivos anteriores, por espacio de 10 minutos, se adiciona luego 1 ml de ácido sulfúrico concentrado, para disolver el precipitado y se determina el O.D. inicial mediante titulación con solución de tiosulfato de sodio 0,025N. El mismo procedimiento se efectúa en la segunda muestra dejado en la incubadora, determinando el O.D. final al quinto día.

La diferencia entre el O.D. inicial y el final, multiplicado por el factor de con-

centración de DBO_5 .

Asimismo, el titulante es previamente valorado con solución de biyodato de potasio (20 mL), ioduro de potasio (2g) y ácido sulfúrico a 6 N (1 mL) diluido la solución con agua destilada hasta 100 mL, enseguida se comienza a titular con el $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ de 0,025 N, cuando el color de la solución baja a un amarillo pálido se adiciona el indicador de almidón al 2%, y se continúa la titulación hasta que la solución se torne incolora, para obtener la concentración real del titulante [74].

En presencia de peróxido de hidrógeno se procede de la misma manera mencionada en el apartado b.

d. Determinación de los sólidos

Para la determinación de los sólidos totales (ST), primero se tara la cápsula, enseguida se toma 50 ml de muestra que se coloca en la cápsula y se pone en la estufa a 105 °C durante un día. Se deja enfriar en el desecador por media hora y se vuelve a pesar la cápsula con la muestra. La diferencia de estas dos pesadas da como resultado la concentración de ST en la muestra. Los sólidos suspendidos totales (SST) se determina de la misma manera que los ST, con la única diferencia de que se filtra los 50 mL de muestra en un papel de filtro de 0,45 μm y el papel de filtro que contiene los SST se pone en la cápsula previamente tarada con el papel de filtro sin muestra y se procede de la misma manera que el procedimiento de los ST.

Para la determinación de los sólidos volátiles (SV), se prosigue de la siguiente manera. Después de la pesada de los ST, la misma muestra se pone en la mufla a 550 °C, durante 30 minutos, se deja enfriar, primero en la mufla por un lapso de tiempo aproximadamente a 1 hora y luego se pone en el desecador durante 30 minutos y se pesa de nuevo la cápsula, para saber la cantidad de SV presente en la muestra. Esta determinación de los SV en la muestra se realiza mediante la diferencia entre los ST y la última pesada. Asimismo, los sólidos suspendidos volátiles (SSV) se procede de la misma manera descrita por los SV, con la única diferencia de que se filtra la muestra (50 mL).

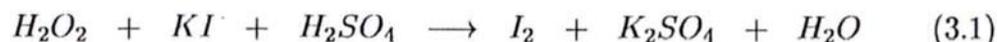
Para determinar los sólidos sedimentables, se toma 100 ml. de muestra se pone en un probeta y se mide la cantidad de sólidos que decanta en el lapso de 3 minutos, en reemplazo del cono Imhoff [74].

e. Determinación del peróxido residual

Para la determinación del peróxido de hidrógeno, se implementó la metodología mediante la técnica iodométrica (titulación). Se cuantificó el H_2O_2 residual después de cada tratamiento con oxidación avanzada, debido a su toxicidad hacia

los microorganismos del SLA, y porque interfiere en la determinación de algunos análisis como en la DBO₅ y DQO.

El principio de esta técnica se basa en que el H₂O₂ presente actúa como agente oxidante, el cual oxida el ioduro a iodo en medio ácido y en presencia de un catalizador de molibdato. El iodo formado es valorado con solución de tiosulfato de sodio, como se aprecia en las Ecuaciones 3.1 y 3.2.



El método consiste en tomar 3 ml de la muestra, se adiciona 10 ml de solución de KI al 1% (p/v), 5 ml de H₂SO₄ 6N y 10 gotas de solución de molibdato de amonio, como catalizador; se completa el volumen hasta 50 ml con agua destilada, se agita para homogenizar la muestra y se deja reposar por un lapso de tiempo de 5 a 10 minutos en la oscuridad. El iodo liberado se valora con solución de tiosulfato de sodio 0,1 N, utilizando como indicador solución de almidón al 0,5% [75].

3.7.2 Bioensayos de toxicidad

Se determinó la toxicidad aguda a través de bioensayos de toxicidad. Éstos son metodologías sencillas y eficaces que permiten detectar y evaluar la capacidad inherente de un agente de producir efectos tóxicos sobre los organismos vivos utilizando especies de prueba [76]. Para este estudio se utilizó como organismo de prueba *Daphnia pulex* y *Daphnia magna*.

Estos organismos empleados son crustáceos cladóceros del género *Daphnia*, que viven en aguas dulces lénticas, y son ampliamente utilizados como especies de prueba para la realización de bioensayos, debido a que presentan una gran sensibilidad frente a sustancias tóxicas. Asimismo, por su tamaño pequeño es muy fácil de manejar a nivel de laboratorio, lo que junto a su sencillez de cultivo lo transforman en un organismo ideal para realizar bioensayos. Por consiguiente, son organismos estandarizados para este tipo de estudio.

La Figura 3.7 ilustra un crustáceo cladóceros adulta del género *Daphnia*, conocidos también como pulgas de agua. Estos organismos pueden alcanzar los 5 mm de tamaño (entre 0,8 y 1,0 mm miden los ejemplares recién nacidos), dotado de un cuerpo transparente, protegido por un caparazón vivalvo que deja libre la cabeza; presenta dos ojos compuestos y fusionados en uno solo. También tiene antenas grandes, natatorias y con largas sedas plumosas.

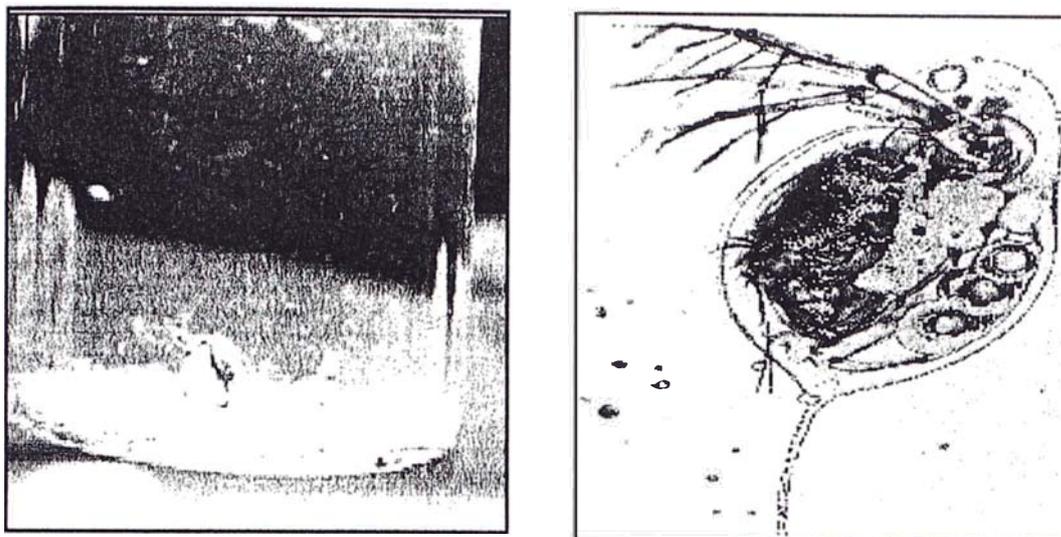


Figura 3.7: Crustáceo cladócero del género *Daphnia*.

Los individuos utilizados para el estudio, se obtuvieron de un cultivo del Laboratorio de Bioensayos del Centro EULA de la Universidad de Concepción. Los cultivos de las *Daphnia* están constituidos de 25 a 30 adultos en recipientes de un litro de agua reconstituida, la cual es renovada cada 48 horas junto con el suministro de alimento, que consiste en una mezcla de levadura, alfalfa y harina de pescado. Esta agua reconstituida es agua destilada con ciertas cantidades de sales, para la mantención de los cultivos presentando una dureza para las *Daphnia pulex* de 125 mg/L CaCO_3 y 250 mg/L para las *Daphnia magna* a pH 7,6 y un contenido de oxígeno disuelto mayor al 80% [77, 78].

Una vez alcanzada la madurez reproductiva de los cultivos (alrededor de los 10 días) y después de la tercera postura se obtuvieron los neonatos (< 24 horas) que se utilizaron para la realización de los bioensayos.

Se determinó la concentración letal a la cual muere el 50% de los organismos a 24 y 48 horas de exposición, representado mediante las siguientes nomenclaturas: 24hLC₅₀ y 48hLC₅₀. Los bioensayos se hicieron a diferentes diluciones de 100, 50, 25, 12,5 y 6,25 % en un volumen total de 20 ml para cada frasco, con un número de réplicas de 4 para cada dilución. El agua utilizada fue con agua reconstituida que contenían 125 y 250 mg/L de CaCO_3 para cada una de las especies. Se mantuvo la temperatura a 20 °C, la aereación sobre el 80 % de saturación, con una duración total de la prueba de 24 horas, a 16 horas luz y 8 horas oscuridad.

3.8 Materiales, reactivos y equipos

En la Tabla 3.2 se presenta un resumen de los reactivos y materiales utilizados, con sus respectivas características.

Tabla 3.2: Resumen de los materiales y reactivos.

Reactivos y Materiales	Marca y Características
Dicromato de potasio	Scharlau Chemie S.A., 99,9% pureza. Grado análisis.
Sulfato de plata	Sudelab S.A., 99,1% pureza. Grado análisis.
Sulfato de mercurio	Sudelab S.A., 99,2% pureza. Grado análisis.
biftalato de potasio	Merck, 99,5% pureza. Grado análisis.
Cloruro férrico	Scharlau Chemie S.A., 99% pureza. Grado análisis.
Cloruro de calcio	Merck, Grado análisis.
Sulfato de magnesio	Merck, Grado análisis.
Hidróxido de sodio	Merck, 99% pureza. Grado análisis.
Sulfato de manganeso	Merck, 99,5% pureza. Grado análisis.
Ioduro de potasio	Merck, 99,7% pureza. Grado análisis.
Ácido L-glútamico	Sigma, 99% pureza. Grado análisis.
Azida de sodio	Merck, 99% pureza. Grado análisis.
Tiosulfato de sodio	Merck, Tritisol (24,818 g. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ a 100 ml) correspondiente a 0,1 N. Grado análisis.
D(+)-glucosa	Merck, reactivo anhidro para fines bioquímicos. Grado análisis.

Reactivos y Materiales	Marca y Características
Solución buffer de pH 7	Merck, Tritisol pH 7 \pm 0,02 (20 °C) de fosfatos, contiene KH_2PO_4 (0,026 mol/L) y Na_2HPO_4 (0,041 mol/L). Grado análisis.
Sulfato ferroso	Scharlau Chemie S.A., 99,5% pureza. Grado análisis.
Peróxido de hidrógeno	Merck, ácido concentrado al 30%(p). Grado análisis.
Catalasa	Sigma, 1 unidad descompone 1,0 mmol H_2O_2 por minuto a pH 7 a 25 °C. 2800 Unidades/ 1 mg.de sólido
Molibdato de amonio	Merck, 99% pureza. Grado análisis.
Ácido sulfúrico	Merck, 95-97%. Grado análisis.
Ácido clorhídrico	Merck, 37%.Grado análisis.
Nitrato de amonio	Merck. Grado análisis.
TiO_2	Degussa P-25.
Oxígeno molecular	AGA, Gas comprimido, no inflamable
Hidróxido de sodio	Merck. Grado análisis.
Filtro	MFS, GC5047MM, poro: 0,45 μm ., diám.: 47mm. Material: microfibra de borosilicato.
Tubos de digestión para DQO	HACH, frascos de vidrio resistente a altas temp.(150 °C) provistos de tapa atornillada. Capacidad: 12 ml. (aprox.)
Frascos para DBO_5	Corning, frascos de vidrio esmerilado, de cuello largo, capacidad: 300 ml.

Reactivos y Materiales	Marca y Características
Cápsulas	Porcelana, capacidad: 100 ml.
Bureta de 10 ml	Pyrex, precisión: 10 ml \pm 0,02.
Termómetro	Mercurio, precisión: 100 °C \pm 0,1.
Agitador magnético	Equilab, VELP científica AGE, 10 velocidades.
Solución Buffer de pH	WTW, pH 4,01; pH 7,0 y pH 10,0; a 25°C para calibración del pHmetro.
Solución de KCl	WTW, KCL 3 mol/L, para sumergir el electrodo del pHmetro.
Reactor biológico	Dimensiones: 30 cmx10 cmx4 mm, Capacidad: 1,83 Litros. Material: Acrílico
Sedimentador	Dimensiones: 40 cmx7 cmx5 mm, Capacidad: 0,88 Litros. Material: Acrílico.
Bomba Periestáltica	Masterflex. Modelo 7014-20.
Mangueras	Masterflex, 6409-14, Tygon.
Temporizador	Lovato, para fijar tiempo de alimentación y pausa en el SLA.
Aireadores	Difusores de peceras y bomba para airear.
lámpara UV	Philips HPN 125, $\lambda > 250$ nm.

En la Tabla 3.3 se presentan un resumen de los equipos utilizados.

Tabla 3.3: Resumen de los equipos.

Equipos	Marca y Características
Balanza Analítica	Precisa XB 120 A.
pHmetro	WTW, inolab pH level 1, electrodo pH Sen Tix 41, pH 0....14/0....80°C.
Espectrofotómetro UV-VIS	Genesys 10UV, Thermo Spectronic.
Incubadora	WTW, BSB-Controller Model 1020, T = 20 °C, para análisis de DBO.
Digestor	HACH, digestor para DQO, mantiene T = 150 °C, para análisis de DQO.
Oxigenómetro	HANNA, Modelo HI9142, Portable water proof. Dissolved Oxigen Meter
Estufa	Memmert, T= 30 220 °C.
Mufla	Naberthermle, T= 100-1000 °C.
Microscopio	Zeiss, D-7082. Microscopio de luz transmitida y epifluorescencia.

Capítulo 4

Resultados y discusiones

4.1 Caracterización del efluente crudo de pelambre

Para empezar con el tratamiento propiamente tal, primero hay que caracterizar el efluente crudo de curtiembre del proceso de pelambre. Esto se realiza para conocer la cantidad de constituyentes presentes y principalmente con cuanta carga orgánica se encuentra.

La Tabla 4.1 muestra la caracterización del efluente crudo de pelambre de la industria de curtiembre.

Como se puede observar el efluente de pelambre (curtiembre) presenta un alto valor de pH, el cual es de 12 y es característico en este tipo de proceso, principalmente debido a la presencia de cal y sulfuro de sodio que se utilizan para quitar el pelo de las pieles (pelambre). A la vez, presenta una elevada carga orgánica medida mediante los parámetros de DQO y DBO₅, debido principalmente a las proteínas solubles de las pieles presentes en el efluente generado. Unido a esto, se determinó además una alta concentración de nitrógeno total de 3 g/L, por lo mismo antes indicado. Paralelo a esto, se observa que hay una alta concentración de sólidos, debido a que el objetivo del proceso de pelambre es desprender el pelo de las pieles tratadas.

Por otro lado, el efluente presenta una alta concentración de cloruros (23 g/L), debido a las elevadas concentraciones de sal incorporada en las pieles para su adecuada conservación. Asimismo, presenta una alta concentración de sulfuros, debido a que en este proceso de pelambre se utiliza el sulfuro de sodio como insumo, generando una cantidad de sulfuro residual en el efluente.

En cuanto a la toxicidad aguda del efluente de curtiembre (pelambre) según los resul-

tados obtenidos, se puede observar que la concentración letal media (LC_{50}) es de 2% en 24 horas de exposición con *Daphnia pulex* ($24hLC_{50} = 2\%$). Esto quiere decir que tomando tan solo 2 ml de efluente y llevándolo a un volumen de 100 ml, produce la muerte del 50% de este organismo en 24 horas de exposición.

Tabla 4.1: Caracterización del efluente crudo de curtiembre (pelambre).

Parámetro	Abreviación	Unidad	Promedio	Rango
pH	pH		12,345	12,31 - 12,38
Demanda Química de Oxígeno	DQO	mg/L	35 100	29 600 - 40 600
Demanda Biológica de Oxígeno	DBO ₅	mg/L	8795	7005 - 10 584
Color*		UPtCo	26 095	21 540 - 30 650
Sólidos Totales	ST	mg/L	45 995	39 320 - 52 670
Sólidos Volátiles	SV	mg/L	24 015	15 520 - 32 510
Nitrógeno Total Kjeldahl*	NKT	mg/L	3158	2040 - 4275
Nitrógeno Amoniacal*	N-NH ₃	mg/L	232	189 - 275
N-Nitrito*	N-NO ₂ ⁻	mg/L	0,32	0,14 - 0,50
N-Nitrato*	N-NO ₃ ⁻	mg/L	0,90	0,2 - 1,6
Cloruros*	Cl ⁻	mg/L	22 750	18 400 - 27 100
Sulfuro*	S ⁼	mg/L	1166	1048 - 1284
Sulfato*	SO ₄ ⁼	mg/L	215	100 - 330
Toxicidad aguda	24h LC ₅₀	%	2,04	(1,76- 2,57)

(*) Estos análisis fueron determinados en el Laboratorio de Residuos Líquidos (RILes) en Temuco-Chile.

Los valores en paréntesis representan el 95% de confiabilidad.

Similares resultados en cuanto a la caracterización química y toxicológica del efluente de pelambre en la industria de curtiembre obtuvieron Cooman *et al.* [79]; Bornhardt *et al.* [80] y Menéndez and Díaz [32] en la determinación de algunos parámetros tales como: pH, DQO, DBO₅, sólidos, sulfuros y cloruros.

4.2 Sistema de lodos activados (SLA)

El sistema de lodos activados se mantuvo en operación durante 189 días. Considerando dos fases para la operación. La Fase I consistió en una puesta en marcha con alimentación sintética. La Fase II consistió en utilizar el efluente crudo de pelambre, el cual se diluyó y acondicionó el pH para la alimentación al sistema llamado en este estudio influente. La estrategia de operación en la Fase II, consistió en disminuir el tiempo de retención hidráulica (TRH) y aumentar la velocidad de carga orgánica (VCO) variando de 16,6 a 1 d y de 0,23 a 6,34 g DQO/L·d, respectivamente; para evaluar el comportamiento que presenta el influente de pelambre bajo estas condiciones de operación.

La Figura 4.1 muestra la variación del pH en el influente en función del tiempo de operación del sistema de lodos activados.

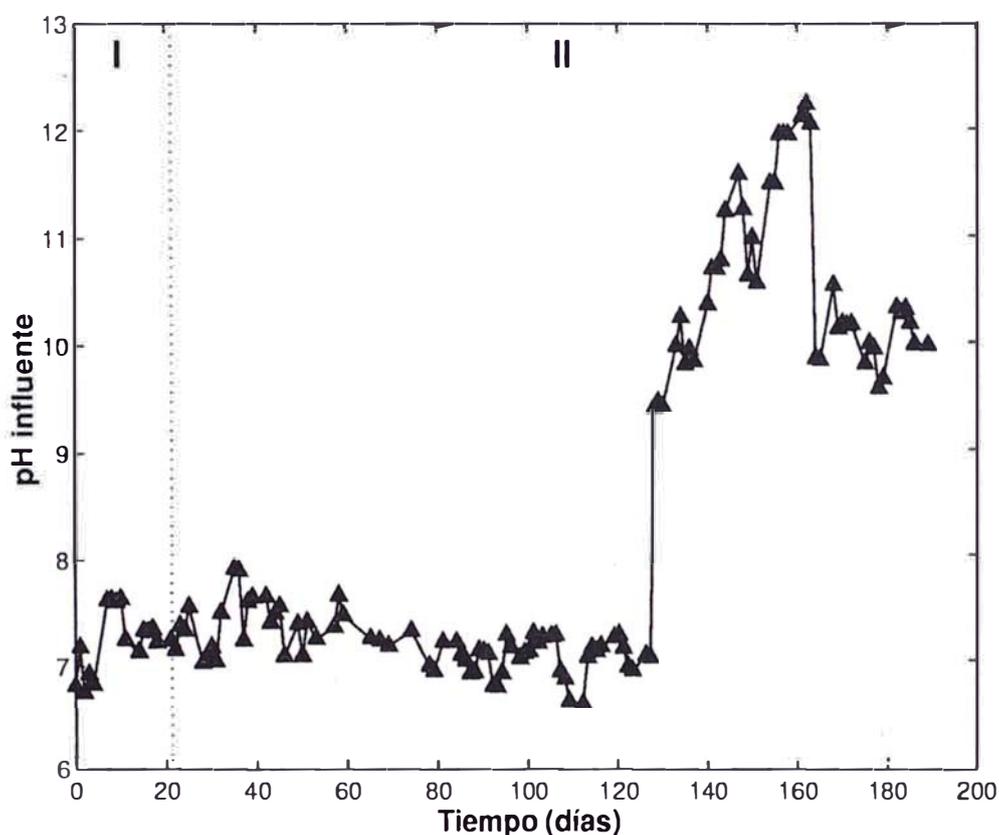


Figura 4.1: Comportamiento del pH en el influente del sistema de lodos activados.

El influente que alimenta al SLA proviene del mismo proceso de pelambre, pero como se muestreo dos veces, el primer influente de pelambre correspondía a un proceso de pelambre para calzado, que fue utilizado durante 128 días del estudio, y el segundo in-

fluyente procede de un proceso de pelambre para vestuario que fue utilizado en reemplazo del anterior desde el día 129 hasta el final del estudio. Por lo dicho anteriormente, en el comportamiento del pH del influente se observan dos grandes variaciones; la primera, a pH relativamente constante y variando de 7,2 a 7,8 aproximadamente y la segunda a pHs variando entre 10,1 a 10,6. Para el primer influente de pelambre, diluido previamente, se pudo ajustar el pH hasta 7 manteniendo la materia orgánica en suspensión, pero en el segundo influente de pelambre no fue posible ajustar a pH 7, debido a la floculación de toda la materia orgánica en suspensión, posiblemente debido a la gran cantidad de cal y enzimas presentes en el efluente crudo de pelambre para vestuario, formando un desequilibrio en la reacción y produciendo la decantación total.

Asimismo, se observa que el sistema de lodos activados (SLA) se mantuvo estable con la alimentación del influente a pH 10, ya que la población bacteriana aeróbica fue capaz de estabilizar el pH del sistema alrededor de 7,0 como lo indica la Figura 4.2. Sin embargo, en los días 158 a 164 de operación cuando se alimentó a pHs entre 11 y 12 en el influente, el sistema se desestabilizó subiendo el pH del reactor biológico de 8,2 a 9,5, viéndose este efecto reflejado en el pH del efluente, ver Figura 4.2.

La Figura 4.2 muestra la variación del pH en el efluente en función del tiempo de operación del sistema de lodos activados.

Se observa que el pH en el efluente en la puesta en marcha (Fase I) tuvo algunas variaciones, puntos inestables bajando el pH de 7 hasta 4, en tiempos de operación de 2 a 9 días, debido principalmente a las fluctuaciones en la velocidad de carga orgánica (VCO) alimentada al inicio del sistema (0.1 g DQO/L'd) o posiblemente a la baja concentración de oxígeno disuelto presente en el reactor biológico. Pero que luego, se reguló y acondicionó los microorganismos en el sistema.

Por consiguiente, se puede comprobar que el pH en el efluente presenta similar comportamiento al reactor biológico. Esto indica que el reactor se comportó como un reactor de mezcla completa y que los parámetros dentro medidos en el efluente del sistema son característicos del comportamiento interno del reactor.

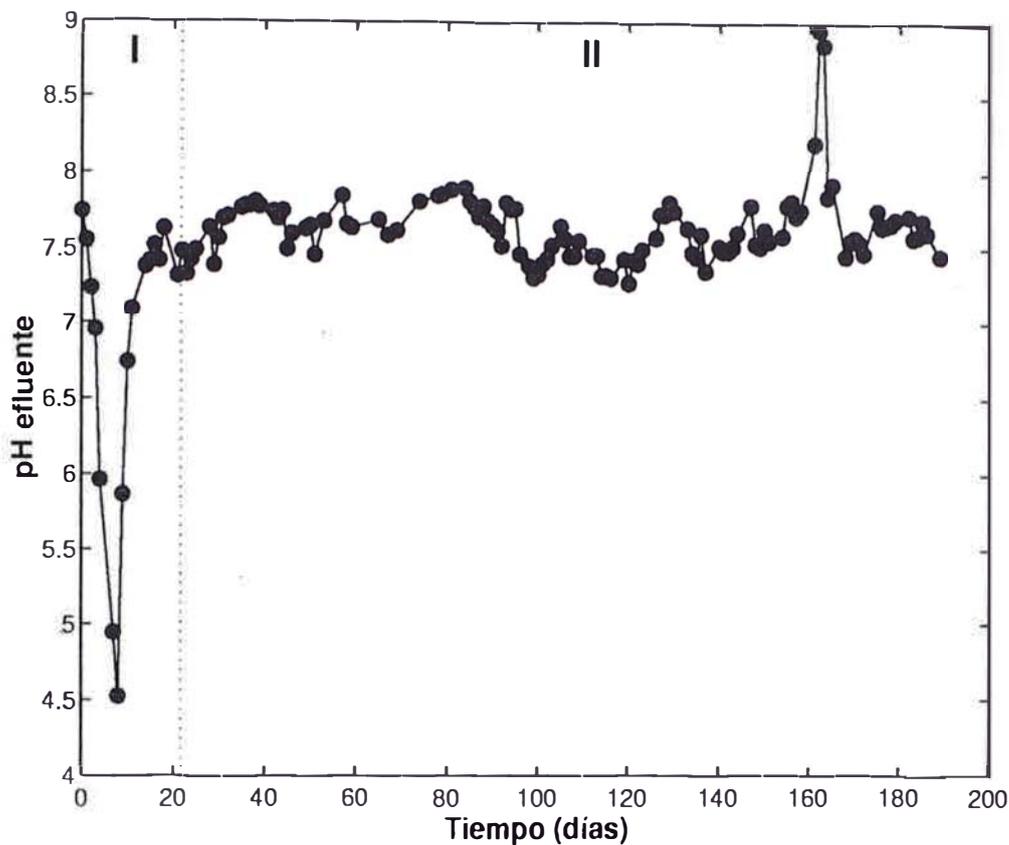


Figura 4.2: Comportamiento del pH en el efluente del sistema de lodos activados.

A continuación en la Tabla 4.2 se muestra la estrategia de operación del reactor biológico de lodos activados.

En la Tabla 4.2 y Figura 4.5 se puede observar que en los tiempos de operación de 0 a 112 d se disminuyó el tiempo de retención hidráulica (TRH) de 17 a 2 d, y la velocidad de carga orgánica (VCO) aumentó de 0,2 a 2,0 g DQO/L·d. Asimismo, en los tiempos de operación de 113 a 189 d, se mantuvo el TRH constante a 1 día y se fue aumentando la VCO de 1,8 a 6,3 g DQO/L·d. Entre los tiempos de operación de 179 y 189 días disminuyó la carga orgánica, reflejado en una disminución de VCO con el fin de evaluar una re-estabilización del sistema.

Tabla 4.2: Parámetros operacionales del sistema de lodos activados.

Tiempo (días)	TRH (días)			VCO (g DQO/L·d)		
	prom.	mín.	máx.	prom.	mín.	máx.
Fase I						
0 - 21	16,58	13,36	19,47	0,114	0,095	0,129
Fase II						
22 - 37	16,68	14,41	18,67	0,229	0,211	0,258
38 - 84	6,52	6,20	6,75	0,512	0,482	0,558
85 - 95	4,21	3,54	4,93	1,026	0,899	1,091
96 - 112	2,21	1,98	2,27	2,000	1,940	2,094
113 - 128	1,11	1,10	1,14	1,875	1,855	1,889
129 - 143	1,10	1,05	1,17	3,647	3,536	3,905
144 - 156	1,10	1,06	1,13	4,341	4,223	4,509
157 - 178	1,12	1,05	1,18	6,344	5,949	7,038
179 - 189	1,17	1,15	1,19	2,983	2,841	3,064

La Figura 4.3 ilustra el comportamiento de la degradación de la materia orgánica expresado mediante la DQO en contraste con la carga orgánica alimentada en la entrada y en la salida del sistema.

Se observa que a un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 16,58 d y a una velocidad de carga orgánica (VCO) de 0,114 g DQO/L·d, la degradación de la materia orgánica fue de 0,13 g DQO/L·d, alimentado con una DQO de entrada de 2,18 g/L para el caso del influente sintético. En cambio, para el influente de curtiembre (pelambre) se puede decir que conforme disminuía el TRH de 16 d a 2 d (22-112 d de operación) la degradación de la materia orgánica aumentaba en el sistema de lodos activados (SLA) de 0,23 a 1,48 g DQO/L·d en promedio, debido a un aumento progresivo de la alimentación de 2,7 a 4,4 g DQO/L. Asimismo, cuando se mantuvo el TRH a 1 d y la VCO aumentaba (113-178 d), la degradación de la materia orgánica permanecía relativamente constante de 1,80 a 2,03 g DQO/L·d en promedio, con una alimentación que variaba de 3,97 a 7,36 g DQO/L.

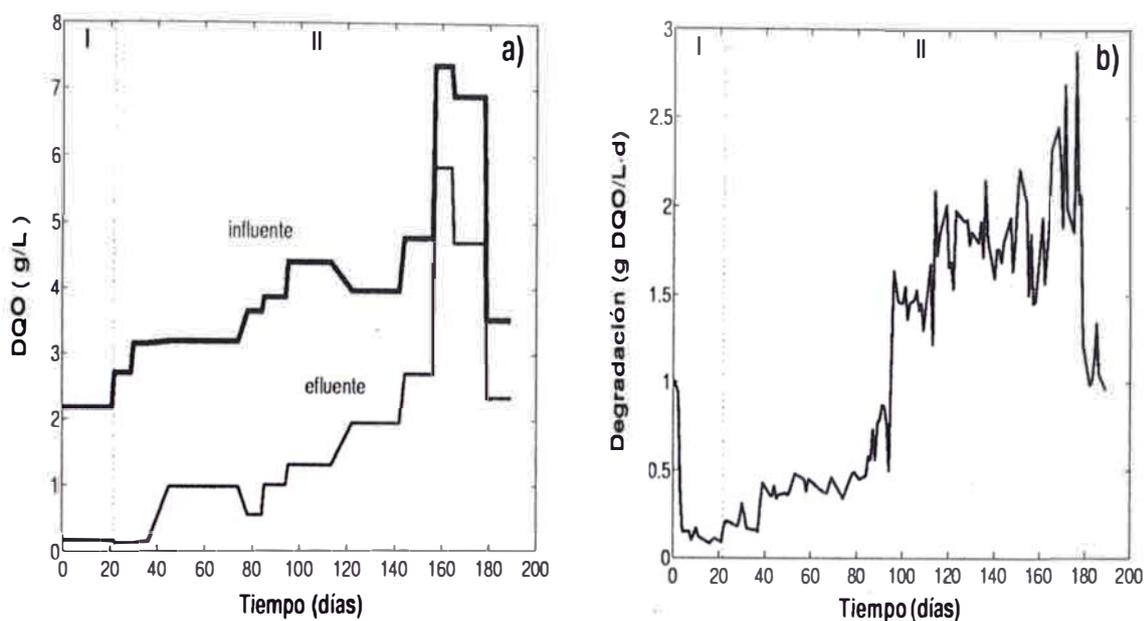


Figura 4.3: Comportamiento de la carga orgánica (DQO) en la entrada y salida del SLA (a); Cinética de degradación de la DQO en el SLA (b).

Por otro lado, se pudo observar que conforme se mantenía el TRH constante a 1 d (113-178 d) y aumentaba la VCO de 2,0 a 6,3 g DQO/L·d, la DQO de salida (efluente) iba aumentando progresivamente de 1,1 a 5,84 g DQO/L, indicando que hay compuestos que no se pueden biodegradar tan fácilmente en el sistema de lodos activados (SLA) bajo estas condiciones de operación, viéndose reflejado en la eficiencia de eliminación de la materia orgánica, como se indica en la Figura 4.5 b.

Asimismo, como se observa en la Figura 4.3 b y la Tabla 4.2, el SLA operado bajo una estrategia de operación de alimentación de carga orgánica creciente presenta una performance “robusta”, desde la perspectiva de eliminación de carga orgánica y estabilidad del sistema, como lo corrobora la Tabla 4.6. Sin embargo, las Figuras 4.3 y 4.4 indican que existe un óptimo de operación para este tipo de sistema.

La Figura 4.4 ilustra el comportamiento de la degradación de la materia orgánica expresado mediante la DBO_5 en contraste con el contenido de materia orgánica del influente y efluente del sistema.

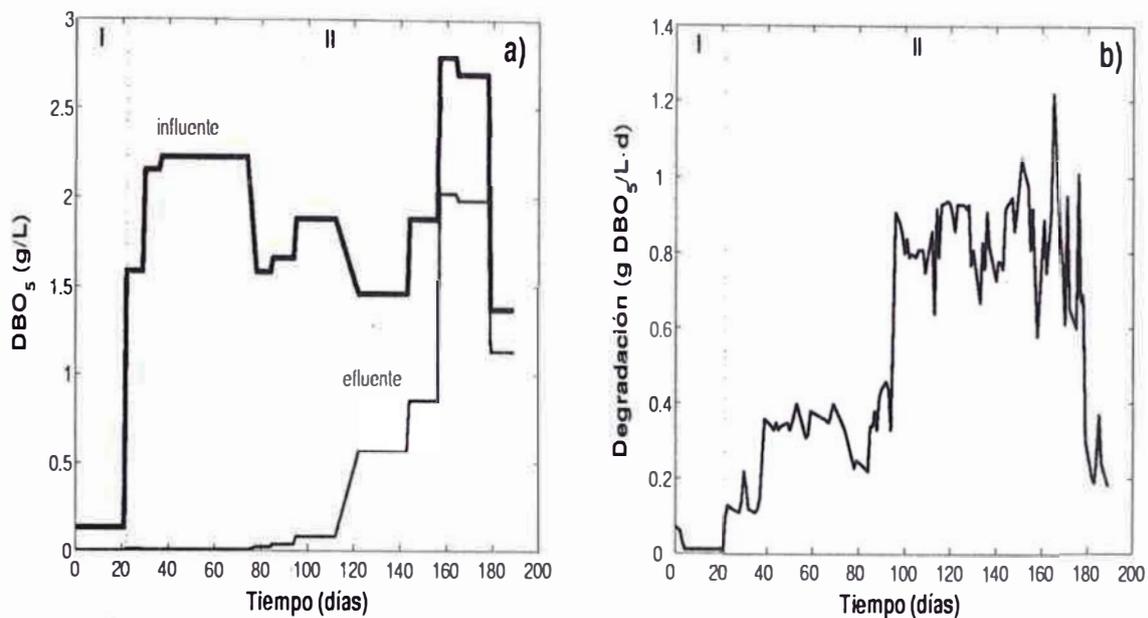


Figura 4.4: Comportamiento de la carga orgánica (DBO₅) presente en el SLA (a); Cinética de degradación de la DBO₅ en el SLA (b).

Se observa que la degradación de la materia orgánica expresada como DBO₅, tiene un comportamiento muy parecido al mostrado en la Figura 4.3. En la puesta en marcha con el alimento sintético se obtiene una completa degradación de la materia orgánica durante los primeros 21 d de operación de 0,02 g DBO₅/L·d. Pero iniciando el estudio con el efluente de curtiembre (pelambre) a un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 16,6 d a 4,2 d y velocidad de carga orgánica (VCO) de 0,2 a 1,0 g DQO/L·d (22-95 d), la degradación varió de 0,14 a 0,37 g DBO₅/L·d en promedio. Mientras que a TRH de 2 d a 1 d (96-178 d) la degradación permaneció constante a razón de 0,83 g DBO₅/L·d en promedio, a pesar de un aumento considerable en la alimentación (influyente) de 1,45 a 2,79 g DBO₅/L.

Asimismo, se observa que existe materia orgánica que no es eliminada completamente, como lo indica las Figuras 4.3 a y 4.4 a. La DBO₅ contenida en el influente alimentado al sistema de lodos activados (SLA) es eliminado completamente al cabo del día 112 de operación. Sin embargo, la DQO presenta una fracción no biodegradable que evidentemente hace disminuir la eficiencia de eliminación de DQO. Se observa en las Figuras 4.3 b, 4.4 b y 4.5 b que esta fracción recalcitrante aumenta al aumentar la velocidad de carga orgánica, debido a la constitución del influente alimentado. Se puede indicar que dicha fracción está constituida mayoritariamente por proteínas de alto peso molecular que los sistemas de oxidación biológica no son capaces de degradar. Experimentos anexos indican que estas proteínas tiene pesos moleculares mayores a 1000 Da según

Klinkow *et al.* [81]. Pero, Bornhardt *et al.* [82] obtuvieron pesos moleculares mayores a 10,000 Da en efluente de pelambre de una industria de curtiembre del Sur de Chile.

Por otro lado, se analizó el comportamiento de los parámetros cinéticos definidos y descritos en el apartado 2.3.5 y 3.4.1, respectivamente, considerando los parámetros más representativos como la tasa de absorción de oxígeno (TAO) expresado en g O₂/L·d, la velocidad específica de consumo o utilización de oxígeno (*b'*) expresado como g O₂/g SSVLM·d y la velocidad de muerte de los microorganismos (*k_d*) expresado en d⁻¹ en el sistema de lodos activados en función del índice volumétrico de lodos (IVL). A continuación en la Tabla 4.3 se muestra el comportamiento de los parámetros biocinéticos del sistema de lodos activados (SLA).

Tabla 4.3: Comportamiento de los parámetros biocinéticos del SLA.

IVL	TAO	<i>b'</i>	<i>k_d</i>
ml./g SSVLM	g O ₂ /L·d	g O ₂ /g SSVLM·d	d ⁻¹
-	0,216	0,185	0,130
44,75	0,576	0,234	0,165
46,35	0,648	0,133	0,094
18,52	0,648	0,083	0,058

Se observó que conforme la velocidad de carga orgánica (VCO) aumentaba de 0,5 a 2,0 g DQO/L·d, el índice volumétrico de lodos (IVL) se mantenía en el rango entre 44 y 47 ml./g SSVLM cuando el sistema se encontraba estable. La TAO presenta valores entre el rango de 0,22 y 0,65 g O₂/L·d, indicando que la actividad en el sistema se ve incrementada con el aumento de la carga orgánica en estos niveles. Sin embargo, a niveles de VCO de 6,3 g DQO/L·d, se produce una desestabilización y pérdida de la actividad de los microorganismos (TAO igual a 0,65 g O₂/L·d).

Asimismo, la velocidad específica de consumo de oxígeno (*b'*) disminuye de 0,234 a 0,083 en VCO de 6,3 g DQO/L·d, esto se ve reflejado en las Figuras 4.3 b, 4.4 b y 4.5 b. Al mismo tiempo, la constante de velocidad de muerte de biomasa (*k_d*) disminuye de 0,165 a 0,058 d⁻¹. Experimentos anexos relacionados con la evaluación respirométrica de los lodos aeróbicos en trabajos con efluente integral de curtiembre fueron estudiados por Veret *et al.* [83], cuyo valor de la constante *k_d* fue de 0,12 d⁻¹ y Menéndez and

Díaz [32] encontraron un valor de la k_d de $0,026 \text{ d}^{-1}$. En ambos casos la respirometría realizada fue endógena, analizando la actividad de la biomasa. Asimismo Nieto *et al.* [84] obtuvieron un valor de la constante de decaimiento que variaba entre 0,054 y 0,093 para el caso de una respirométrica exógena. Mientras que Orupold *et al.* [85] obtuvieron una TAO de $1,7 \text{ g O}_2/\text{L}\cdot\text{d}$ en el caso de un efluente de curtiembre, siendo este valor 2 veces mayor al obtenido en este trabajo.

La Figura 4.5 muestra la eficiencia del sistema de lodos activados en función del tiempo de operación, en contraste con el tiempo de retención hidráulica (TRH) y la velocidad de carga orgánica (VCO).

Como se ha indicado anteriormente, se observa una fuerte influencia en el comportamiento de la eliminación de la DQO y DBO_5 conforme la velocidad de carga orgánica (VCO) aumenta de 0,2 a $6,3 \text{ g DQO}/\text{L}\cdot\text{d}$ en el sistema de lodos activados (SLA). Produciendo una disminución en la eficiencia de eliminación de la materia orgánica medida como DQO de 96% a 31% y como DBO_5 de 100% a 20%.

Asimismo, se observa que a VCO mayor que $2 \text{ g DQO}/\text{L}\cdot\text{d}$ y TRH menor que 2 días se produce una capacidad de saturación de los microorganismos para biodegradar la materia orgánica contenida en el efluente de pelambre, principalmente a elevadas cargas orgánicas. Esto quiere decir, que los microorganismos ya no pueden retroalimentarse más, por ello se produce una fracción recalcitrante que no es posible biodegradar y se acumula en el sistema.

Finalmente, la acumulación de compuestos difícilmente biodegradables se hace evidente en la eficiencia de eliminación del sistema y en la Tabla 4.4.

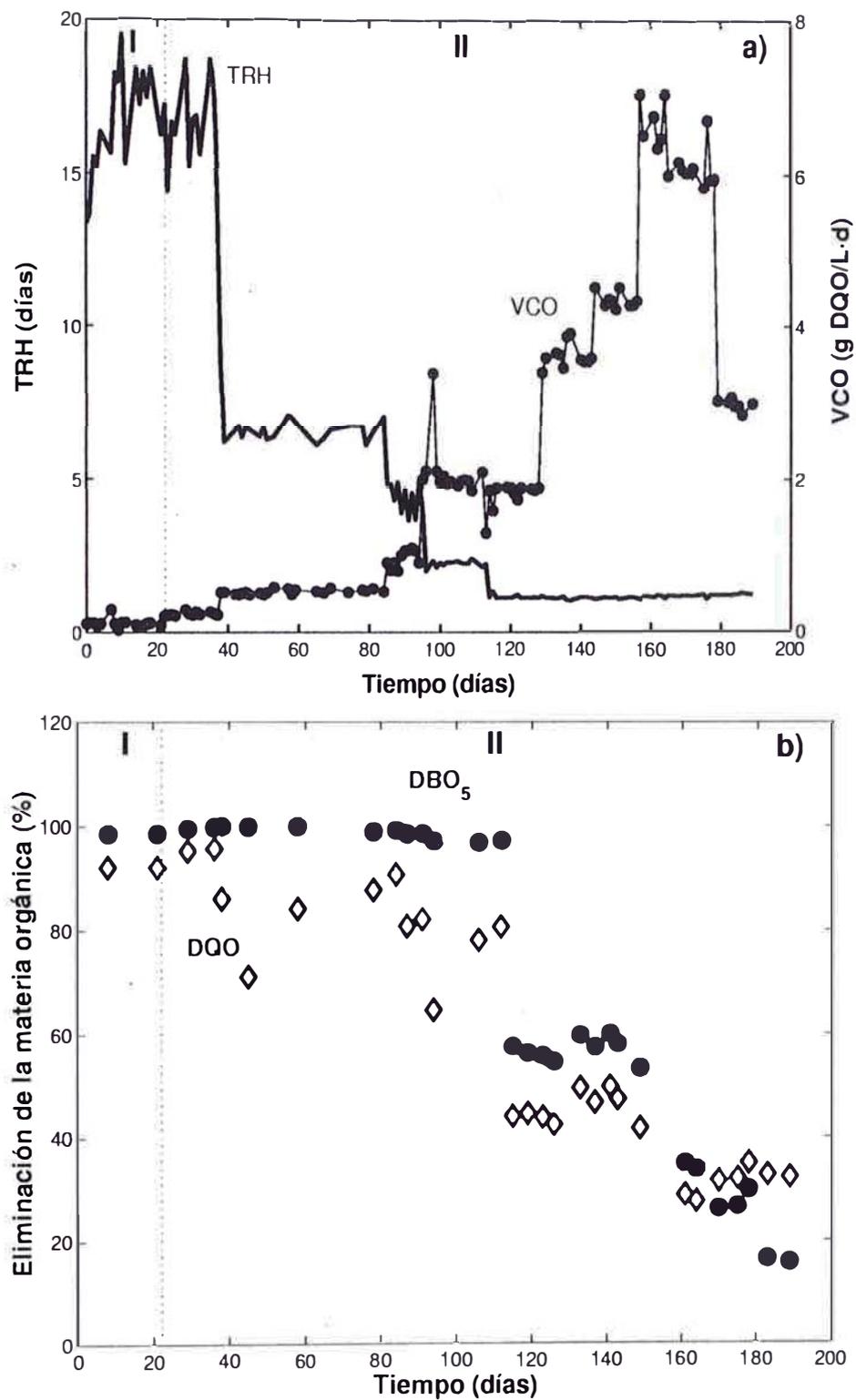


Figura 4.5: Eficiencia del sistema de lodos activados.

Esta acumulación de los compuestos no biodegradables en el sistema de lodos activados (SLA) como se dijo anteriormente se hace más evidente en la Tabla 4.4, que muestra el comportamiento de la biodegradabilidad expresada como la relación entre DBO_5/DQO tanto del influente como del efluente en el sistema.

Tabla 4.4: Comportamiento de la relación de biodegradabilidad en el SLA.

Tiempo (días)	VCO g DQO/L.d	DBO ₅ /DQO	
		influyente	efluente
Fase I			
0 - 21	0,114	0,06	0,01
Fase II			
22 - 37	0,228	0,63	0,06
38 - 84	0,512	0,57	0,04
85 - 95	0,934	0,43	0,04
96 - 112	2,000	0,43	0,06
113 - 128	1,875	0,52	0,18
129 - 143	3,627	0,37	0,29
144 - 156	4,341	0,39	0,32
157 - 178	6,344	0,39	0,39
179 - 189	2,983	0,39	0,48

Como se había indicado con anterioridad, la operación del reactor tiene un punto óptimo que puede ser identificado a través de los parámetros de operación de velocidad de carga orgánica (VCO), tiempo de retención hidráulica (TRH) y eficiencia de eliminación del sistema. En la Tabla 4.4 la relación entre DBO_5/DQO del efluente varía a lo largo de la operación. Sin embargo, después del período de operación de 96 a 112 días, éste cambia de 0,06 a 0,18, indicando una fuerte baja en la eficiencia de eliminación de la carga orgánica, como se ve en la Figura 4.5 b. Esto también indica que el efluente de salida tendrá un alto contenido de DBO_5 que puede ser degradado mejorando y/u optimizando el control del sistema de lodos activados (SLA).

Por otro lado, se puede observar que la toxicidad aguda del sistema de lodos activados (SLA) aumenta conforme se incrementa la velocidad de carga orgánica (VCO) de 0,5 a 3,6 g DQO/L·d variando en el influente de 26,32 a 8,7% en 24hLC₅₀ y de 14,46 a 5,8% en 48hLC₅₀ con *Daphnia magna*. Mientras, que con *Daphnia pulex* varió de 20,5 a 8,7% en 24hLC₅₀ y en 48hLC₅₀ oscila entre 12,3 a 8,7%. Asimismo, se obtiene en el efluente una toxicidad de 68,3 a 66% en 24hLC₅₀ y de 60,9 a 66% en 48hLC₅₀ con *Daphnia magna*. En cambio con *Daphnia pulex* se encuentra una toxicidad de 70,3 a 68,4% en 24hLC₅₀, pero en 48hLC₅₀ varió de 53,7 a 67,7%, como puede verse en la Tabla 4.5.

Tabla 4.5: Toxicidad aguda del efluente de pelambre en el SLA.

VCO g DQO/L·d	Muestra	LC ₅₀ D. Magna		LC ₅₀ D. Pulex	
		24 hrs.	48 hrs.	24 hrs.	48 hrs.
0,512	Influente	26,32%	14,46%	20,47%	12,25%
	Efluente	68,30%	60,87%	70,30%	53,66%
3,627	Influente	8,66%	5,76%	8,66%	8,66%
	Efluente	65,98%	65,98%	68,36%	67,65%

Estos resultados nos indican que la toxicidad aguda es casi parecida para ambas especies. Además se comprueba que el tratamiento mediante lodos activados baja la toxicidad del efluente de pelambre considerablemente para ambas especies, de una toxicidad de 9% que ingresa al reactor a 66% en la salida del sistema a 24 horas y 48 horas de ser expuestos ambos organismos, que correspondería a un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 1 d y velocidad de carga orgánica (VCO) de 3,6 g DQO/L·d.

Durante la operación del sistema de lodos activados (SLA) se mantuvo la edad del lodo relativamente constante, con un promedio que osciló entre 27 y 30 días.

La Tabla 4.6 muestra los parámetros referidos a la biomasa del sistema de lodos activados, analizando la concentración de biomasa expresado como sólidos suspendidos volátiles del licor mezcla (SSVLM), índice volumétrico de lodos (IVI), velocidad de sedimentación (IV₃₀), carga másica (F/M) y la relación de sólidos suspendidos volátiles con respecto a sólidos suspendidos totales (SSV/SST) todo en función de la velocidad de carga orgánica (VCO).

Tabla 4.6: Comportamiento de la biomasa en el sistema de lodos activados.

Tiempo (días)	VCO g DQO/L·d	F/M g DBO ₅ /L·d	IVL ml/g SV	IV ₃₀ ml/L	SV g SV/L	SV/ST
Fase I						
0 - 21	0,114	0,03	133,33	60	0,450	0,15
Fase II						
22 - 37	0,228	0,08	94,49	120	2,024	0,46
38 - 84	0,512	0,09	71,99	200	4,785	0,60
85 - 95	0,934	0,07	67,08	315	5,980	0,59
96 - 112	2,000	0,08	34,54	150	5,650	0,61
113 - 128	1,875	0,15	14,51	55	5,49	0,59
129 - 143	3,627	0,19	5,32	20	3,700	0,64
144 - 156	4,341	0,36	24,76	26	4,440	0,38
157 - 178	6,344	0,54	76,13	385	8,340	0,37
179 - 189	2,983	0,31	16,90	130	3,750	0,48

Los resultados de la Tabla 4.6 indican que el reactor biológico se mantuvo estable. Esto se puede comprobar por las características que presenta la biomasa, de acuerdo a la velocidad de sedimentación (IV₃₀), al índice volumétrico de lodos (IVL) y a las observaciones hechas por el microscopio. Además se observa que la razón entre los SV y ST se mantiene relativamente constante de 0,4 a 0,6 indicando que hay compuestos inorgánicos, debido a la composición del efluente de curtiembre (pelambre), principalmente por la cal que presenta. Por otro lado, los datos del IV₃₀ de 385 ml/L indican una desestabilización en el sistema a una VCO de 6,3 g DQO/L·d, desde el día 157, por lo cual se tuvo que bajar la carga orgánica a partir del día 179 hasta el día 189 con el fin de evitar el lavado en el sistema.

Asimismo, los análisis en el microscopio mostraron que en los períodos de estabilidad del lodo (biomasa), presentaba un alto porcentaje de bacterias y rotíferos. Sin embargo en períodos de desestabilización, se observó la presencia de bacterias filamentosas, como lo indica la Figura 4.6.

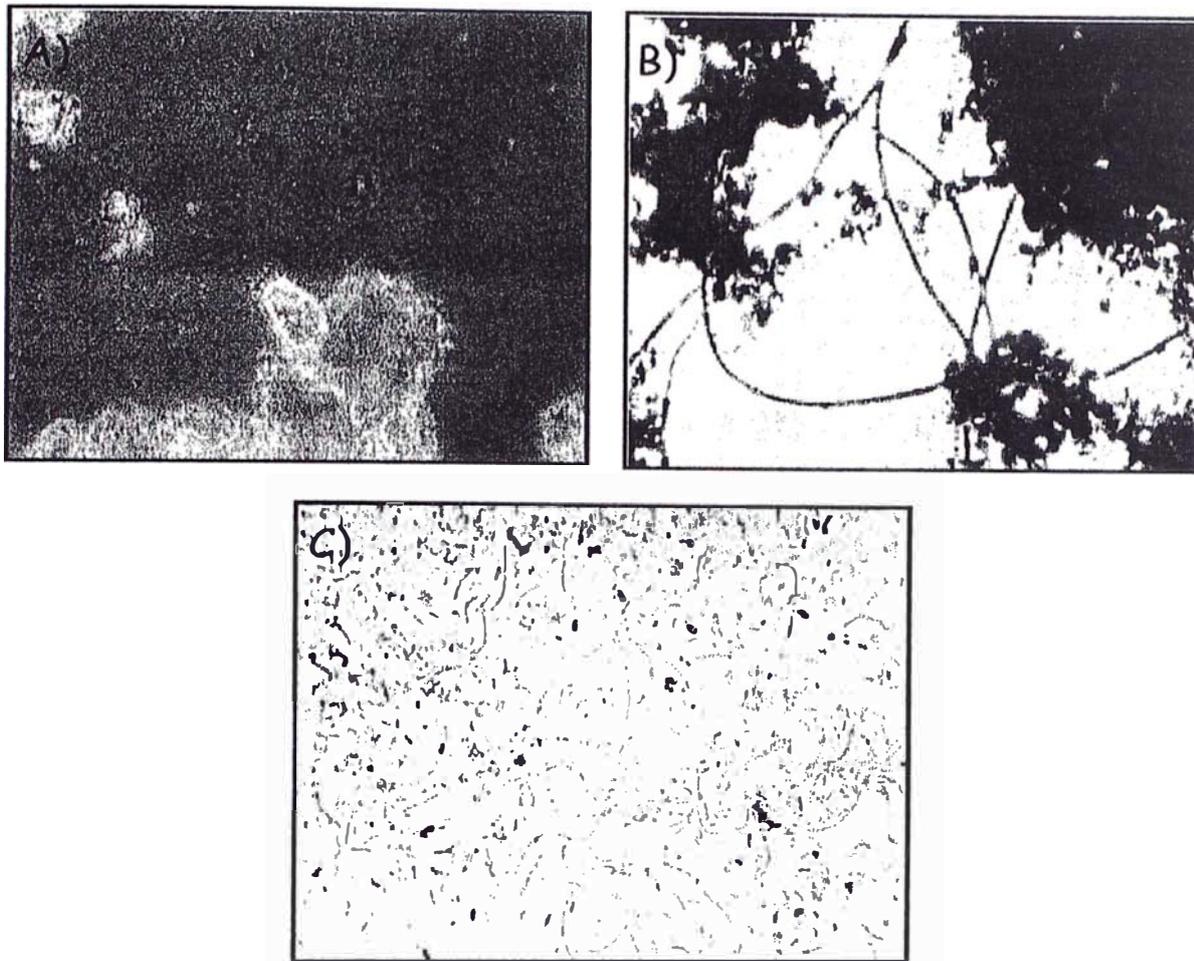


Figura 4.6: Microorganismos presentes en el sistema de lodos activados.

En los análisis al microscopio, se distinguen una variada población microbiana que en condiciones de velocidad de carga orgánica (VCO) baja hasta 2,0 g DQO/L·d y una eliminación de DBO₅ sobre el 96%, se observa que existe una elevada concentración de bacterias, ciliados y una que otra *vortichellas* como indicador de estabilidad del sistema (Figura 4.6 a). En particular, se observó comunidades bacterianas que aparentemente contienen gránulos de sulfuros, debido a la alta concentración de sulfuros de 1 g/L aproximadamente (Figura 4.6 b), que presenta este tipo de efluente de curtiembre (pelambre), como puede comprobarse en Di Marzio *et al.* [86]. Sin embargo, cuando se desestabilizó el sistema en tiempos de operación de 157 d en adelante, debido a la elevada VCO de 6,3 g DQO/L·d, se encontró un predominio de bacterias filamentosas del tipo *Spaerotilus* (Figuras 4.6 b y 4.6 c).

Lo anterior deja en evidencia que el seguimiento metódico de poblaciones microbianas puede constituir un indicador rápido de la estabilidad del SLA [87].

4.3 Procesos de Oxidación Avanzada

Como se comprueba mediante los resultados obtenidos en el apartado 4.2, que la degradación biológica aeróbica mediante el sistema de lodos activados no es suficiente para reducir la elevada carga orgánica contenida en el efluente de pelambre. Debido a esto, se consideró utilizar un sistema combinado, utilizando los POA como pre-tratamiento y post-tratamiento al sistema de lodos activados, para mejorar la eficiencia de eliminación de la materia orgánica y aumentar la biodegradabilidad expresada mediante la relación de DBO₅/DQO.

Los procesos de oxidación avanzada (POA) evaluados fueron: la reacción de Fenton como pre-tratamiento en el efluente de pelambre, previamente diluido en proporciones de 8, 4 y 2; y la oxidación del efluente pre-tratado biológicamente mediante la reacción de Fenton, de foto-Fenton y la fotocatalisis heterogénea con TiO₂/O₂/UV como post-tratamiento.

4.3.1 Pre-tratamiento

Para este estudio se utilizó la reacción de Fenton como pre-tratamiento. Se analizaron distintas diluciones del efluente de curtiembre (relaciones de 8, 4 y 2). Cada dilución fue sometida a tratamiento con la reacción de Fenton con relación molar de H₂O₂/DQO de 4 y H₂O₂/Fe²⁺ de 9, según [47].

Los resultados obtenidos en el pre-tratamiento se resumen en la Tabla 4.7. Esta tabla muestra el rendimiento del pre-tratamiento por oxidación avanzada mediante la reacción de Fenton para el efluente de pelambre en media hora de tratamiento.

Tabla 4.7: Eficiencia del pre-tratamiento mediante la reacción de Fenton en 30 minutos de aplicación.

Dilución del efluente crudo	DQO _i soluble	DQO _f soluble	%E DQO	DBO _{5i} soluble	DBO _{5f} soluble	%E DBO
8	3,197	0,418	86.93	0,841	0,130	84.54
4	7,884	0,726	90.79	1,948	0,231	88,14
2	16,797	1,643	90.22	4,485	0,602	86.58

Se observa que a medida que se va aumentando la materia orgánica de 3,2 a 16,8 g DQO/l, la eliminación de DQO se mantiene relativamente constante variando de 87 a 91%. Lo mismo ocurre con la DBO₅ variando de 84 a 88%. Esto refleja la alta eficiencia de este sistema aplicado a este tipo de efluente. En este caso se puede observar que los valores de DBO₅ se mantuvieron en el rango entre 84 y 88% aproximadamente. Sin embargo, se podría esperar que fueran cercanos a 100%. Lo cual no siempre ocurre en los POA, sucede lo contrario, posiblemente por que el objetivo de estos procesos oxidativos es oxidar el contaminante, fragmentando el compuesto orgánico en productos intermedios (aldehidos, ácidos carboxílicos), y éstos se biodegradan muy lentamente demandando menos consumo de oxígeno, que es el objetivo de este análisis.

Como lo indican los resultados, los procesos de oxidación avanzada (POA) oxidan fuertemente casi toda la materia orgánica (proteínas de elevado peso molecular) presente en el efluente de pelambre (curtiembre). Por esto, la fracción recalcitrante (no biodegradable) del sistema biológico puede ser atacada y biodegradable bajo este sistema químico.

La Tabla 4.8 muestra la relación de biodegradabilidad expresada en términos de DQO y DBO₅ del pre-tratamiento mediante la reacción de Fenton para el efluente crudo de pelambre diluido en proporciones de 8, 4 y 2 en media hora de tratamiento.

Tabla 4.8: Biodegradabilidad del pre-tratamiento mediante la reacción de Fenton en 30 minutos de aplicación.

Dilución	DBO ₅ /DQO	
	efluente crudo	efluente tratado
8	0,26	0,31
4	0,25	0,32
2	0,27	0,37

Los resultados mostrados en la Tabla 4.8 indican que mientras mayor sea el aporte de carga orgánica del efluente de curtiembre (pelambre), la biodegradabilidad medida mediante la relación de DBO₅/DQO aumenta levemente. Por esto, parecería ser más efectivo la reacción de Fenton en el efluente con dilución 2, pues se produce un aumento

de la relación de biodegradación de 0,27 a 0,37, siendo este valor aún muy bajo.

Por otro lado, se obtuvo para cada pre-tratamiento un peróxido residual de 20 a 23 mg/L, que dejado prácticamente un día en reposo, desaparecía completamente.

Finalmente, de esto se concluye que el POA mediante la reacción de Fenton, utilizado como pre-tratamiento aplicando el tratamiento durante media hora, no aumenta significativamente la relación de biodegradabilidad, como se esperaba. Pero si aumenta la eficiencia de eliminación de la materia orgánica para elevadas cargas orgánicas (alto peso molecular de los compuestos orgánicos, principalmente constituidas por proteínas) especialmente de la DQO.

4.3.2 Post-tratamiento

En el sistema de lodos activados (SLA) se observó que el comportamiento de la eficiencia de eliminación de la materia orgánica expresada como DQO y DBO₅ a elevada carga orgánica disminuye considerablemente. Por ello, para aumentar la eficiencia del tratamiento al effluente proveniente del SLA, se propuso trabajar con los procesos de oxidación avanzada (POA), considerando específicamente los siguientes procesos oxidativos: la reacción de Fenton, de foto-Fenton y la fotocatalisis heterogénea mediante TiO₂/O₂/UV. Todos los ensayos se realizaron en "batch" y se utilizó el effluente proveniente del SLA con 1,95 g DQO/L y 0,569 g DBO₅/L, que corresponde a un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 1 d y velocidad de carga orgánica (VCO) de 3,6 g DQO/L/d de acuerdo a la metodología indicada en el apartado 3.5.2.

A continuación se presentarán los resultados de los distintos tratamientos. La Figura 4.7 ilustra la eficiencia de eliminación de la DQO y DBO₅ mediante el proceso de fotocatalisis heterogénea con TiO₂/O₂/UV en el effluente pre-tratado biológicamente a diferentes pHs en dos horas de tratamiento.

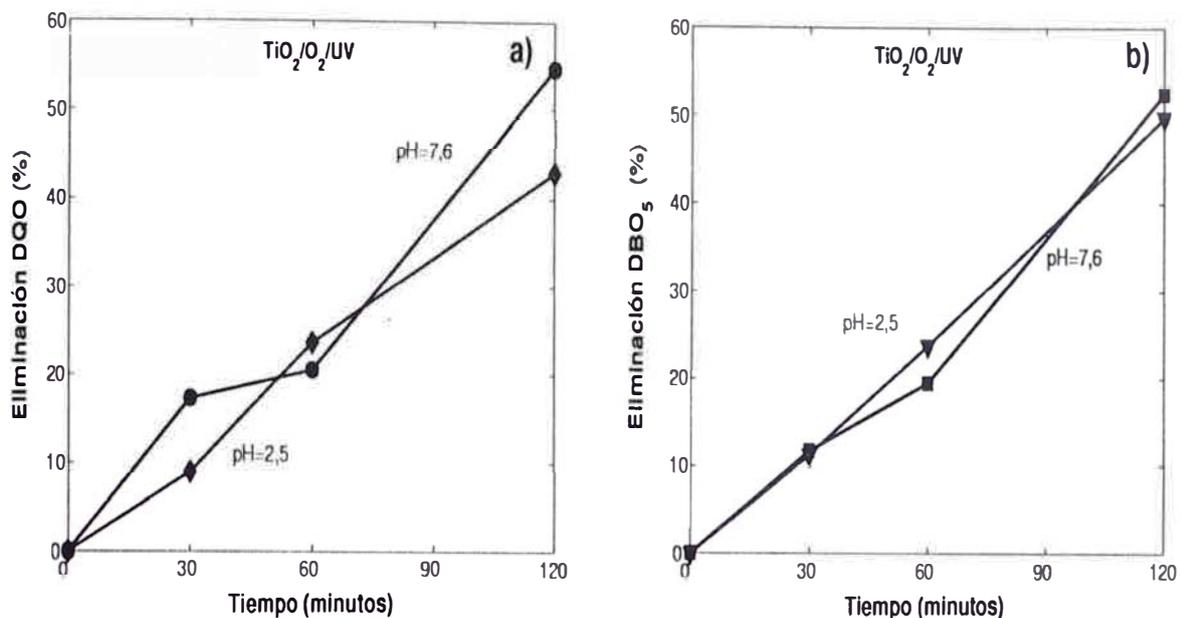


Figura 4.7: Eficiencia de eliminación de la DQO (a) y DBO₅ (b) del post-tratamiento mediante TiO₂/O₂/UV a diferentes pHs en 2 h de tratamiento.

Como se observa en la Figura 4.7 se estudió el efecto del pH en la biodegradación de la materia orgánica con el fin de evaluar las posibles interferencias por iones inorgánicos presentes en el efluente y la capacidad de adsorción del catalizador.

En los resultados obtenidos se observa que hay una similitud en la eficiencia de eliminación de la materia orgánica del efluente de pelambre pre-tratado biológicamente a distintos pHs. Se observa que la acción de este proceso de oxidación avanzada a pH 7,6 produce una eliminación del 55% y 52% para la DQO y DBO₅ respectivamente, en un tiempo de aplicación de 2 horas. La concentración final de DQO fue de 0,780 g/L y la DBO₅ fue de 0,361 g/L. Mientras que a pH ácido (2,5) la eficiencia de eliminación de la DQO y DBO₅ varió de 43% y 50% respectivamente, en 2 horas de tratamiento. Al término del tratamiento se obtuvo una DQO de 1,013 g/L y una DBO₅ de 0,393g/L. Esto prueba que a distintos pHs no hay influencia en la superficie del catalizador, ya sea cargado positivamente o en su punto de carga cero que es alrededor de 7.

La Tabla 4.9 muestra la relación de biodegradabilidad medida como la relación entre los parámetros de DBO₅ y DQO lograda con el tratamiento de fotocatalisis heterogénea con TiO₂/O₂/UV en el efluente pre-tratado biológicamente a diferentes pHs durante 2 horas de tratamiento.

Tabla 4.9: Biodegradabilidad del post-tratamiento con $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$ a diferentes pHs en 2 h de tratamiento.

Tiempo (minutos)	DBO ₅ /DQO	
	pH=2,5	pH=7,6
0	0,29	0,29
30	0,44	0,47
60	0,43	0,45
120	0,44	0,46

Los resultados indican que la biodegradabilidad, a pH ácido, varía de 0,29 a 0,44 en 120 minutos de aplicación del tratamiento. En cambio, a pH básico, la biodegradación varía de 0,29 a 0,47. Sin embargo, es posible observar que al tiempo de 30 minutos ya se alcanzó el máximo de biodegradación.

Finalmente, de esto se concluye que el post-tratamiento (POA) mediante fotocátalisis heterogénea con TiO_2 , oxida relativamente la materia orgánica recalcitrante (no biodegradable) presente en el efluente de pelambre pre-tratado biológicamente durante 2 horas de tratamiento. Pero, la relación de biodegradabilidad alcanzó su máximo en 30 minutos de aplicado el tratamiento.

Por otro lado, el uso de los procesos de oxidación avanzada (POA), del tipo fotocátalisis heterogénea mediante TiO_2 , presenta amplias ventajas para su implementación en la industria, especialmente para el tratamiento de efluentes. Específicamente no se ha difundido este tratamiento en la industria de curtiembre, pues este efluente presenta problemas por su alto contenido de color. Sin embargo, este proceso de tratamiento es bien conocido en otros tipos de efluentes industriales tales como la industria de celulosa [54, 55, 56, 58] y la industria de textil [60, 61, 62]. Asimismo, se emplea para el tratamiento de aguas residuales domésticos que presentan convenientes ventajas para la eliminación de patógenos y material orgánico [66, 67, 68].

Debido a los obstáculos que presenta el efluente de pelambre (color), se evaluó la posibilidad de aplicar el proceso de Fenton y de foto-Fenton. La Figura 4.8 muestra la eficiencia de remoción de la materia orgánica del proceso de Fenton y de foto-Fenton en el efluente de pelambre pre-tratado biológicamente en 1 hora de tratamiento.

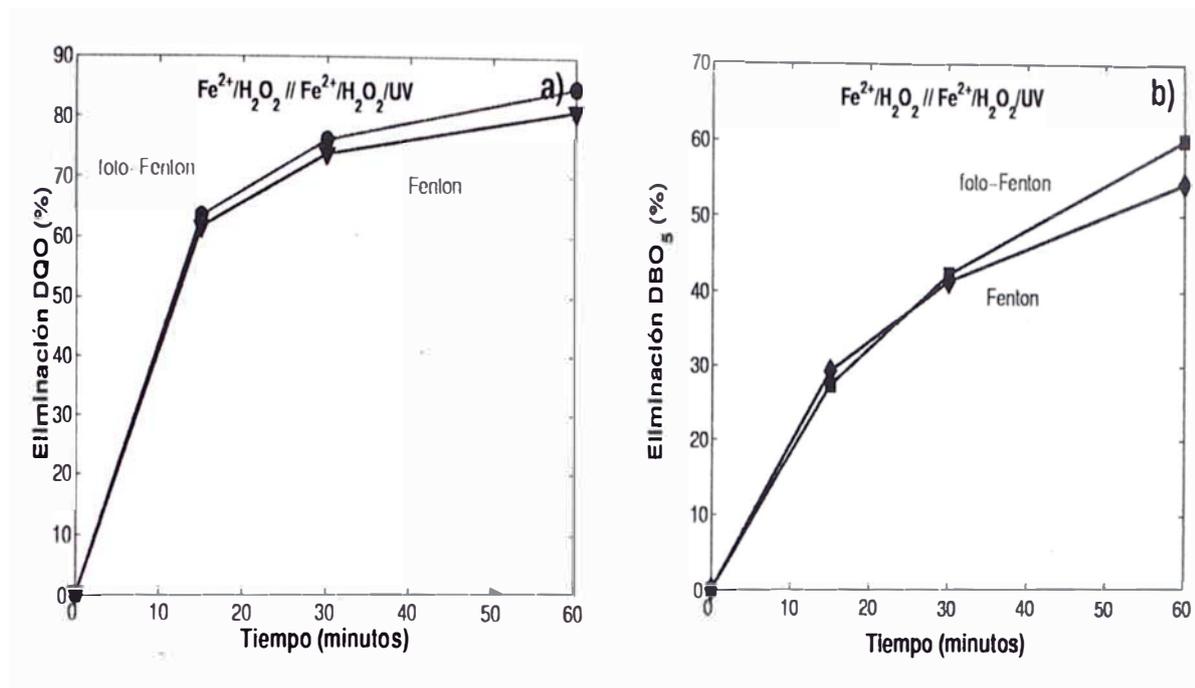


Figura 4.8: Eficiencia de eliminación de la DQO (a) y DBO₅ (b) del post-tratamiento mediante la reacción de Fenton y de foto-Fenton en 1 h de tratamiento.

Se observa que los procesos oxidativos mediante la reacción de Fenton y de foto-Fenton son capaces de aumentar la eficiencia de eliminación de la DQO proveniente del tratamiento mediante lodos activados en un 60% aproximadamente en tan sólo 15 minutos de aplicación del tratamiento. Si se considera la aplicación de una hora, la eliminación puede aumentar a un 80%. Por su parte, la DBO₅ solo aumenta un 30% de eliminación para ambos tratamientos, después de 15 minutos de aplicación del tratamiento. Esto puede verse incrementado a un 60% en una hora de tratamiento.

Por otro lado, en el proceso de Fenton la concentración final de la DQO del efluente es de 0,395 g/L y la DBO₅ es de 0,242 g/L. Mientras que para el proceso de foto-Fenton el resultado final de la concentración de DQO en el efluente es de 0,320 g/L, y de DBO₅ es de 0,190 g/L. Además, se puede observar en la Figura 4.8 que la eficiencia de eliminación de la materia orgánica a través del proceso de Fenton y de foto-Fenton son similares, por tanto, no hay una ventaja competitiva entre el uso de uno u otro. Por este motivo, la elección del POA para el pre-tratamiento se basó en la diferencia de consumo energético que incide directamente en la factibilidad de aplicación del sistema a nivel industrial. El proceso de Fenton es más barato y ejerce la misma eficiencia de biodegradación en el efluente que el proceso de foto-Fenton, por esto fue elegido como mejor proceso de oxidación avanzada (POA) para aplicarlo como pre-tratamiento, seguido del proceso combinado POA/biológico.

La Tabla 4.10 muestra la relación de biodegradabilidad del sistema de Fenton y de foto-Fenton, expresada en términos de DBO_5 y DQO del efluente de pelambre pre-tratado biológicamente en 1 hora de tratamiento.

Tabla 4.10: Biodegradabilidad del post-tratamiento mediante el proceso de Fenton y de foto-Fenton en 1 h de tratamiento.

Tiempo (minutos)	DBO_5/DQO	
	Fenton	foto-Fenton
0	0,29	0,29
15	0,46	0,50
30	0,57	0,61
60	0,61	0,66

Se observa que el proceso de Fenton y de foto-Fenton alcanzan una relación de biodegradabilidad que varía de 0,29 a 0,6 aproximadamente, después de 1 hora de aplicación. A la vez, se puede decir, que en tan sólo 15 minutos de aplicación se logra una biodegradabilidad aproximada al 0,50 en ambos sistemas.

Por su parte, el uso de este proceso de oxidación avanzada (POA) mediante la reacción de Fenton es muy recomendable y utilizado a nivel industrial [63, 64, 65, 69], por su bajo costo y fácil aplicación para el tratamiento de residuos líquidos [70, 73].

Finalmente, se concluye que en los post-tratamientos mediante el proceso de Fenton, de foto-Fenton y la fotocatalisis heterogénea con TiO_2 , resulta muy conveniente a nivel industrial utilizar la aplicación de la reacción de Fenton, ya que aumenta considerablemente la eficiencia de eliminación de la materia orgánica de la DQO y la relación de biodegradabilidad en tan sólo 15 minutos de aplicación del tratamiento. Pero que pasaría a tiempos menores de 15 minutos si la eficiencia de eliminación y relación de biodegradabilidad es muy rentable a este tiempo.

4.4 Sistemas combinados de tratamiento

4.4.1 POA/biológico

Después del tratamiento al efluente de pelambre (curtiembre) con el proceso de oxidación avanzada (POA) mediante la reacción de Fenton descrita la metodología en el apartado 3.5.1 y estudiado en el apartado 4.3.1, se prosiguió con el tratamiento al efluente pretratado oxidativamente mediante el sistema de lodos activados (SLA). La estrategia de operación consistió en ir aumentando la velocidad de carga orgánica (VCO) y mantener constante el tiempo de retención hidráulica (TRH) a 1 d durante 27 días de operación. A continuación se discuten los resultados obtenidos en este proceso de tratamiento combinado.

La Figura 4.9 ilustra el comportamiento del pH en el influente, reactor y efluente del sistema combinado POA/SLA.

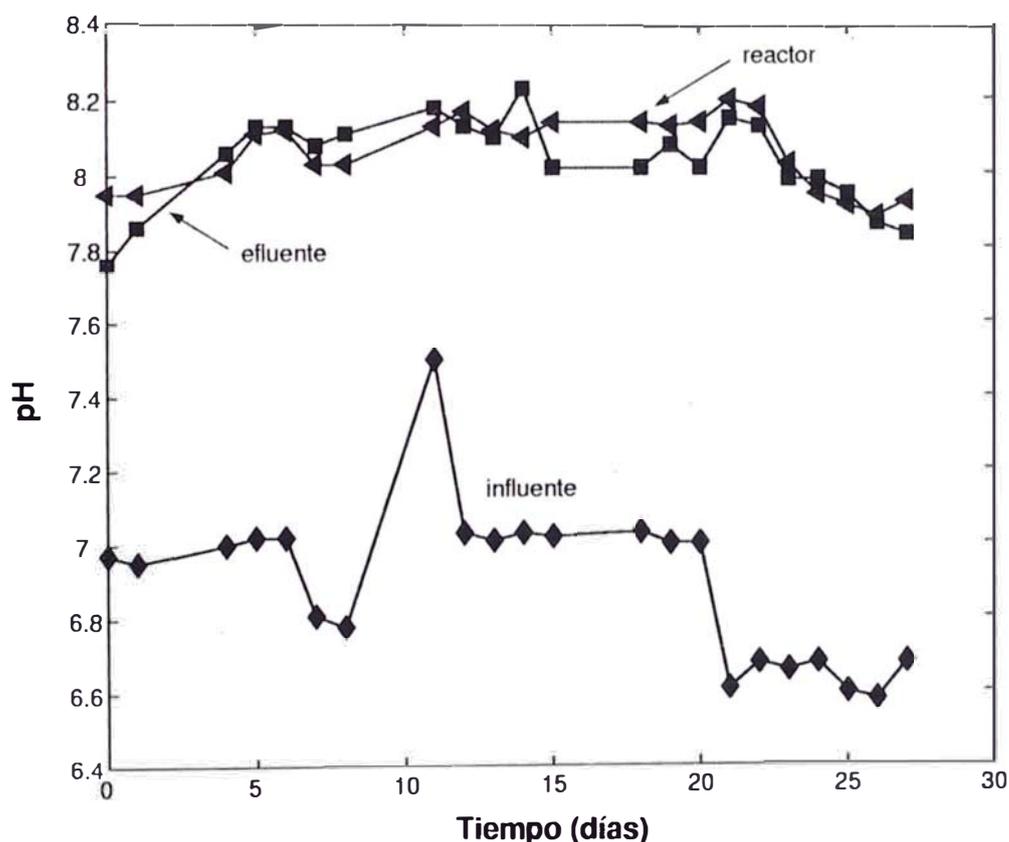


Figura 4.9: Comportamiento del pH en el influente, reactor y efluente del sistema combinado POA/SLA.

Se observa que el pH en el influente (entrada) al sistema de lodos activados (SLA) varía de $7,0 \pm 0,5$. Asimismo, el pH del reactor y del effluente se mantiene relativamente constante alrededor de 8. Además se puede notar que conforme sube el pH del reactor, el pH del effluente también aumenta, mostrando un comportamiento similar uno del otro. Por lo tanto, esto indica que el reactor biológico se comporta como un reactor de mezcla completa y que los parámetros medidos en el effluente del sistema son característicos del comportamiento interno del reactor.

La Tabla 4.11 muestra los parámetros operacionales empleados en el tratamiento combinado POA/ SLA

Tabla 4.11: Parámetros operacionales del sistema combinado POA/SLA.

Tiempo (días)	TRH			VCO		
	prom.	mín.	máx.	prom.	mín.	máx.
0 - 6	0,97	0,96	0,98	0,432	0,427	0,436
7 - 20	1,01	0,96	1,04	0,716	0,706	0,734
21 - 27	1,03	1,01	1,04	1,594	1,571	1,625

El tiempo de retención hidráulica (TRH) se mantiene constante a 1 día y la velocidad de carga orgánica (VCO) aumenta de 0,4 a 1,6 g DQO/L.d. Esto se ve reflejado por el incremento de la carga orgánica que ingresa al sistema, para cada dilución del effluente de pelambre que varía en proporciones de 8, 4 y 2.

La Figura 4.10 muestra el comportamiento de la cinética de degradación de la materia orgánica expresada como DQO en contraste con el contenido de materia orgánica del influente y effluente del sistema combinado POA/SLA.

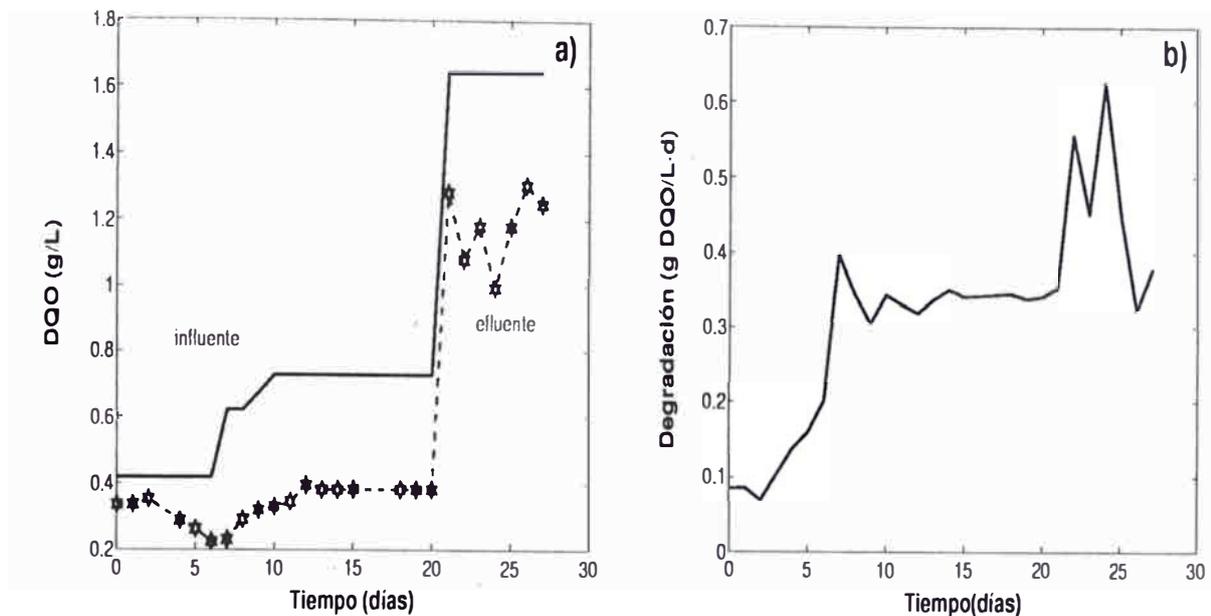


Figura 4.10: Comportamiento de la carga orgánica en el influente y efluente (a); Cinética de degradación de la DQO (b) del sistema combinado POA/SLA.

Se observa que a un TRH constante de 1 d y a una velocidad de carga orgánica (VCO) que aumenta de 0,4 a 1,6 g DQO/L·d en tiempos de operación de 0 a 27d, la degradación de la materia orgánica aumenta en el sistema de lodos activados (SLA) de 0,12 a 0,45 g DQO/L·d en promedio, debido a un aumento progresivo de la alimentación (influyente) de 0,42 a 1,64 g DQO/L. Al término del tratamiento se obtiene una DQO final de 0,3 g/L en promedio, para VCO de 0,4 y 0,7 g DQO/L·d. Mientras que, a una VCO de 1,6 g DQO/L·d, la DQO final se incrementa considerablemente a 1,18 g/L, debido a que en el SLA se estarían acumulando compuestos que no pueden ser biodegradados por los microorganismos, afectando en la eficiencia de eliminación de la materia orgánica, como lo indica la Figura 4.12.

La Figura 4.11 muestra el comportamiento de la cinética de degradación de la materia orgánica para la DBO_5 en contraste con el contenido de la materia orgánica en el influente y efluente del sistema combinado: POA/SLA.

Del mismo modo que en el caso anterior, se observa que la degradación de la materia orgánica para la DBO_5 va aumentando conforme aumenta la velocidad de carga orgánica (VCO). Se puede observar que a VCO de 0,4 y 0,7 g DQO/L·d la materia orgánica se degrada de 0,075 a 0,139 g DBO_5 /L·d en promedio, obteniendo una DBO_5 final de 58 y 91 mg/L. Mientras que a una VCO de 1,6 g DQO/L·d se obtiene una degradación de la materia orgánica de 0,41 g DBO_5 /L·d en promedio, cuyo valor de

DBO₅ final es de 190 mg/L.

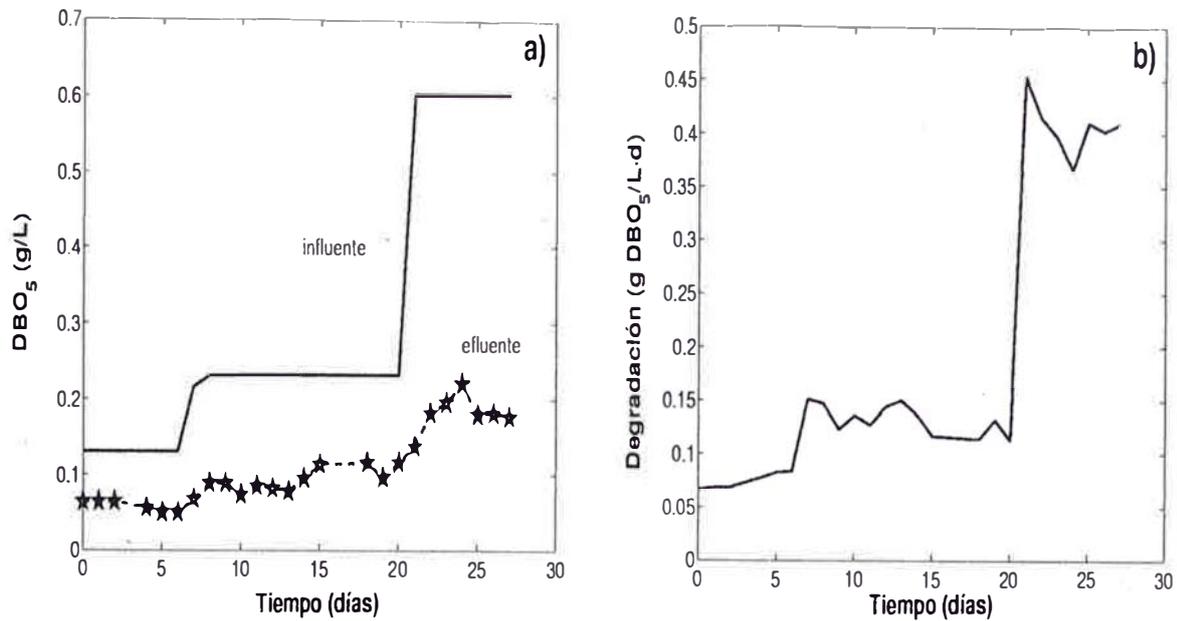


Figura 4.11: Comportamiento de la carga orgánica en el influente y efluente (a); Cinética de degradación de la DBO₅ (b) del sistema combinado POA/SLA.

Asimismo, se observa que existe una fracción recalcitrante que no es eliminada completamente, como lo indican las Figuras 4.10 b y 4.11 b. La DBO₅ contenida en el influente pre-tratado oxidativamente (POA) es eliminado parcialmente en el sistema de lodos activados (SLA) al cabo de los 27 días de operación. Sin embargo, la DQO presenta una fracción no biodegradable a VCO de 1,6 g DQO/L.d, que evidentemente hace disminuir el rendimiento de eliminación de la DQO, observándose en las Figuras 4.10 a, 4.11 a y 4.12. Esta fracción recalcitrante se hace evidente con el aumento de la velocidad de carga orgánica (VCO), debido a la constitución del influente alimentado.

Por otro lado, se analizó el comportamiento de los parámetros biocinéticos del sistema combinado POA/SLA tal como se describe en el apartado 3.4.1, considerando como los parámetros más representativos la tasa de absorción de oxígeno (TAO) o velocidad de utilización de oxígeno expresado en g O₂/L.d, la velocidad específica de consumo o utilización de oxígeno (*b'*) expresado como g O₂/g SSVLM.d o d⁻¹ y la velocidad de muerte de los microorganismos (*k_d*) expresado en d⁻¹ en función del índice volumétrico de lodos (IVL), manteniendo la carga másica (F/M) constante. A continuación en la Tabla 4.12 se muestra el comportamiento de los parámetros biocinéticos del sistema combinado POA/SLA.

Tabla 4.12: Comportamiento de los parámetros biocinéticos del sistema combinado POA/SLA.

Tiempo (días)	F/M g DBO ₅ /L·d	IVL mL/g SSVLM	TAO g O ₂ /L·d	b' d ⁻¹	k _d d ⁻¹
0 - 6	0,01	12,08	2,064	0,148	0,104
7 - 20	0,01	6,11	2,303	0,100	0,070
21 - 27	0,02	2,63	2,376	0,067	0,047

Según los resultados obtenidos, conforme la velocidad de carga orgánica (VCO) aumentaba de 0,4 a 1,6 g DQO/L·d, el índice volumétrico de lodos (IVL) disminuía de 12,0 a 3,0 mL/g SSVLM, debido a un considerable aumento de la concentración de la biomasa presente en el reactor biológico de 13,0 a 35,0 g SSVLM/L, como se puede ver en la Tabla 4.15. La TAO presenta valores de 2,0 a 2,4 g O₂/L·d, indicando que la actividad en el sistema se mantiene relativamente constante conforme se va incrementando la carga orgánica en el sistema. Asimismo, la velocidad específica de consumo de oxígeno (b') disminuye de 0,15 a 0,067, viéndose esto reflejado en las Figuras 4.10 b, 4.11 b y 4.12. Al mismo tiempo la velocidad de muerte de los microorganismos (k_d) disminuye de 0,1 a 0,05 d⁻¹.

Asimismo se puede observar que la carga másica (F/M), que es la relación entre el alimento (sustrato) y los microorganismos presentes en el reactor, se mantiene constante en 0,01 g DBO₅/L·d, indicando que el sistema se está operando en condiciones de aereación prolongada para el crecimiento microbiano [17].

La Figura 4.12 ilustra la eficiencia de eliminación de la materia orgánica en el sistema combinado POA/SLA.

Se observa a medida que aumenta la velocidad de carga orgánica (VCO), la eliminación de la DBO₅ aumenta de 59 a 73%. En cambio la eficiencia de eliminación de la DQO varía mucho, conforme la velocidad de carga orgánica (VCO) aumenta de 0,4 a 0,7 g DQO/L·d, la eliminación varía de 34 a 65%. Mientras, que a una VCO de 1,6 g DQO/L·d la eliminación disminuye considerablemente hasta un 30%.

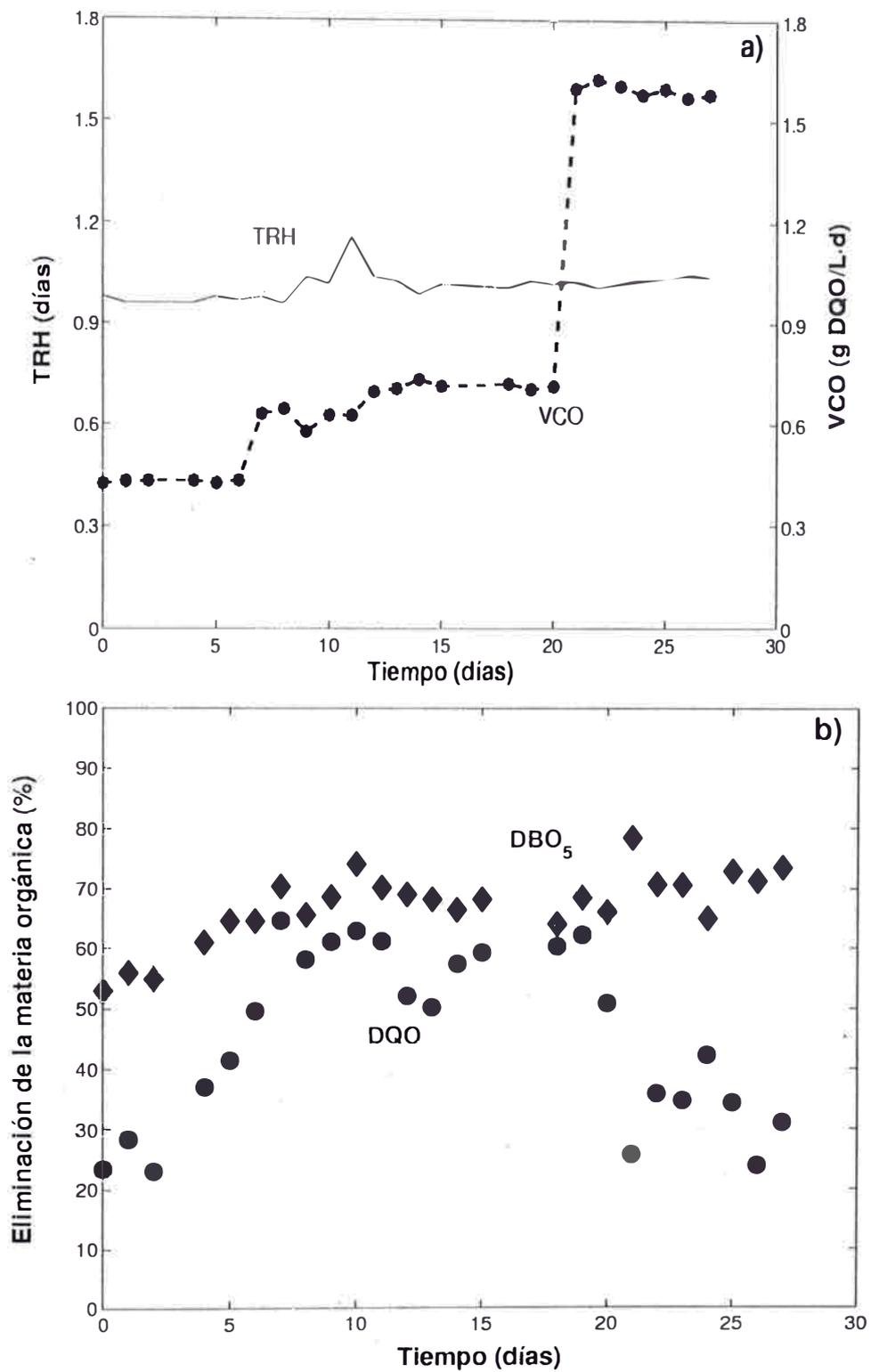


Figura 4.12: Eficiencia de eliminación de la materia orgánica del sistema combinado POA/SLA.

Por otro lado, la acumulación de los compuestos no biodegradables en el sistema de lodos activados (SLA) se hace más evidente en la Tabla 4.13 en la que se muestra el comportamiento de la relación de biodegradabilidad expresada en términos de DBO_5/DQO para el influente y efluente del sistema combinado: proceso de oxidación avanzada y sistema de lodos activados.

Tabla 4.13: Biodegradabilidad del sistema combinado POA/SLA.

Tiempo (días)	VCO g DQO/L'd	DBO_5/DQO	
		influyente	efluente
0 - 6	0,432	0,31	0,19
7 - 20	0,716	0,33	0,17
21 - 27	1,594	0,37	0,18

Los resultados muestran que los microorganismos son capaces de biodegradar la materia orgánica del efluente pre-tratado oxidativamente hasta aproximadamente la mitad del valor inicial. La biodegradabilidad del efluente (salida) se mantiene relativamente constante conforme va aumentando la velocidad de carga orgánica (VCO) de 0,4 a 1,6 g DQO/L'd, oscilando de 0,17 a 0,19.

Por otro lado, en cuanto a la toxicidad se puede decir, que el influente varió de 68,3 a 21,0% en $24hLC_{50}$ y en $48hLC_{50}$ oscila entre 49,1 y 13,1% para las *Daphnias magna*; mientras que para las *Daphnias pulex* se obtuvo una toxicidad de 59,5 a 14,9% en $24hLC_{50}$. y 19,8 a 6,2% en $48hLC_{50}$. Pero en el efluente su toxicidad fue de 35,4 % en $24hLC_{50}$ y en $48hLC_{50}$ varía de 62,1 a 28,5% para la *Daphnia magna*; en el caso, de las *Daphnias pulex* se obtuvo valores de 35,4 y 16,54% en $24hLC_{50}$ y 32,42 a 8,05% en $48hLC_{50}$, como puede verse en la Tabla 4.14.

Tabla 4.14: Toxicidad del effluente de pelambre en el sistema combinado POA/SLA.

VCO g DQO/L·d	Muestra	LC ₅₀ D. Magna		LC ₅₀ D. Pulex	
		24 hrs.	48 hrs.	24 hrs.	48 hrs.
0,432	Influente	68,30%	49,11%	59,46%	19,81%
	Effluente	N.D.	62,09%	35,36%	32,42%
1,594	Influente	21,02%	13,15%	14,87%	< 6,25%
	Effluente	35,36%	28,47%	16,54%	8,05%

Se puede notar que conforme se va aumentando la velocidad de carga orgánica (VCO) la toxicidad va aumentando en el influente y effluente. Siendo notoria una gran diferencia entre las dos especies, las *Daphnias pulex* son más sensibles en el bioensayo que las *Daphnias magna* para este tipo de tratamiento al effluente de pelambre. Además, con este tratamiento combinado la toxicidad es eliminada parcialmente, de una toxicidad de 13% que ingresa al reactor biológico (influente) a 29% en 48 horas de ser expuesto el organismo, que corresponde a una VCO de 1,6 g DQO/L·d y TRH de 1 día, ésto debido posiblemente a compuestos inorgánicos presentes como el hierro (Fe) residual que permanece en el sistema, siendo tóxico para las Daphnias.

La Tabla 4.15 muestra los parámetros referidos a la biomasa presente en el reactor biológico del sistema combinado POA/SLA. Analizando la concentración de biomasa, expresado como sólidos suspendidos volátiles del licor mezcla (SSVLM), velocidad de sedimentación (IV₃₀), índice volumétrico de lodos (IVL), carga másica (F/M) y la relación de sólidos volátiles con respecto a los sólidos totales en función de la velocidad de carga orgánica (VCO).

Tabla 4.15: Comportamiento de la biomasa en el sistema combinado POA/SLA.

Tiempo (días)	VCO g DQO/L·d	F/M g DBO ₅ /L·d	IVL ml/g SV	IV ₃₀ ml/L	SSV g/L	SSV/SST
0 - 6	0,432	0,01	12,08	154	13,056	0,84
7 - 20	0,716	0,01	6,11	140	23,045	0,92
21 - 27	1,594	0,02	2,63	92,5	35,218	0,80

Los resultados muestran que a medida que aumenta la velocidad de carga orgánica (VCO), la biomasa (SSV) se va incrementando de 13 a 35 g SSVLM/L y la velocidad de sedimentación (IV₃₀) disminuye de 155 a 96 mL/L, obteniéndose una disminución en el índice volumétrico de lodos (IVL) de 12,0 a 3,0 mL/g SSVLM, debido a que este parámetro está en función del IV₃₀ y los SSV. Asimismo, se puede observar que el reactor biológico se mantuvo estable.

Por otro lado, en el sistema combinado (POA/SLA) la biomasa fue periódicamente reciclada cada 15 minutos y el exceso del lodo no fue purgado en el sistema, por eso el excesivo crecimiento microbiano (SSV) del sistema. La concentración del oxígeno disuelto en el reactor fue mantenida sobre los 6 mg/L mediante burbujeo por medio de una bomba de aire.

A su vez, se ve un aumento en la relación de SSV y SST (SSV/SST) variando de 0,80 a 0,92, indicando que hay más compuestos orgánicos que inorgánicos, debido posiblemente al hidróxido de Fe que se forma en el pre-tratamiento, arrastrando preferentemente parte de la materia inorgánica cuando éste decanta en el ajuste a pH 7, que se hace para la alimentación (influyente) al sistema de lodos activados.

La Tabla 4.16 ilustra la eficiencia de eliminación total de la materia orgánica para el sistema combinado PAO/SLA.

Tabla 4.16: Eficiencia de eliminación total del sistema combinado POA/SLA.

%E DQO POA	% E DQO biológico	%E DQO total	%E DBO ₅ POA	%E DBO ₅ biológico	%E DBO ₅ total
86,93	33,75	91,34	84,54	59,00	93,66
90,79	57,55	96,09	88,14	69,03	96,33
90,22	39,78	94,09	86,58	69,87	95,96

Conforme los resultados obtenidos se observa un comportamiento similar en la eliminación global de la materia orgánica expresado como DQO y DBO₅, logrando un 95% en promedio de la eliminación de la materia orgánica para ambos parámetros.

Experimentos anexos sobre la utilización del tratamiento combinado biológico y oxidativo para aguas residuales de curtiembres investigaron Jochimsen *et al.*, [49, 50], encontraron una eliminación de DQO del 95% pero con la aplicación en el proceso oxidativo de ozono y peróxido, siendo este valor similar al resultado obtenido en este estudio.

4.4.2 biológico/POA

La Tabla 4.17 ilustra la eficiencia de eliminación total de la materia orgánica para el sistema combinado biológico/POA.

Tabla 4.17: Eficiencia de eliminación total del sistema combinado SLA/POA.

	%E DQO	%E DQO	%E DQO	%E DBO ₅	%E DBO ₅	%EDBO ₅
	biológico	PAO	Total	biológico	PAO	Total
TiO ₂ pH 2,5	49,42	42,92	71,13	50,28	49,71	75,00
TiO ₂ pH 7,8	49,42	54,65	77,06	50,28	52,44	76,35
Fenton	49,42	81,06	90,42	50,28	54,25	77,25
foto-Fenton	49,42	84,84	92,33	50,28	60,00	80,11

Se observa que la eficiencia global de eliminación de la materia orgánica para el sistema de Fenton y de foto-Fenton en el sistema combinado de post-tratamiento con oxidación avanzada, se logra una eliminación global del 91% en promedio para la DQO en ambos sistemas, lo mismo ocurre para la DBO₅, obteniendo una eliminación de tan solo el 79%. En cambio, para la fotocatalisis heterogénea con TiO₂, la eliminación global de la materia orgánica a distintos pHs es parecida, obteniendo una DQO a pH ácido (2,5) de 71% y a pH muestra (7,6) llegó hasta 77%; en cambio, la eliminación de la DBO₅ es de 76% en ambos pHs.

Esto nos indica que el tratamiento combinado sistema de lodos activados (SLA) y proceso de oxidación avanzada (POA), es efectivo en parte para la eliminación de la materia orgánica, porque quedan compuestos que no se pueden degradar y que aún pueden ser tratados. Por eso, el sistema combinado PAO/SLA es el más recomendable en forma aplicativa para la eliminación de la materia orgánica, a elevadas cargas orgánicas, en comparación con el sistema de lodos activados (SLA).

Capítulo 5

Conclusiones

El efluente de pelambre de la industria de curtiembre presenta una alta carga orgánica, medida como DQO cuyo valor es de 35,1 g/L y como DBO₅ de 8,8 g/L. A la vez, presenta un alto contenido de sulfuros (1 g/L), cloruros (23 g/L) y una toxicidad aguda del 2% en 24hLC₅₀. Por lo cual, este tipo de efluente sin tratamiento alguno es altamente tóxico y muy contaminante, pudiendo causar serios impactos al ambiente.

El sistema de lodos activados (SLA) alimentado con el efluente de pelambre (industria de curtiembre), operado en condiciones óptimas, degrada la materia orgánica carbonácea sobre el 98% de la DBO₅ a una velocidad de carga orgánica (VCO) menor a 2 g DQO/L·d y a un tiempo de retención hidráulica (TRH) mayor a 2 días. Sin embargo, a medida que se va aumentando la VCO de 2,0 a 6,3 g DQO/L·d, existe una fracción recalcitrante que no se biodegrada y se va aumentando en el sistema. La toxicidad aguda medida con *Daphnia pulex y magna* fue removida parcialmente a partir de 9% hasta un 66% de salida del sistema. Parte de la toxicidad residual puede ser atribuida a compuestos aniónicos presentes en el agua residual.

El proceso de oxidación avanzada (POA) utilizado como pre-tratamiento mediante la reacción Fenton, fue capaz de eliminar la materia orgánica para la DQO en un 90%, conforme aumenta la carga orgánica de 3,2 a 16,8 g DQO/L del efluente de pelambre. La relación de biodegradabilidad expresada como DBO₅/DQO solo aumenta de 0,26 a 0,37, por un aumento considerable de la carga orgánica ya antes mencionada. Pero combinando el tratamiento oxidativo con el sistema de lodos activados (POA/SLA), se obtiene una eliminación total de la materia orgánica de 95% para la DQO, correspondiente a una velocidad de carga orgánica (VCO) que varía de 0,4 a 1,6 g DQO/L·d. La toxicidad aguda, medida con *Daphnia magna y pulex*, se remueve parcialmente a 15%. Parte de la toxicidad residual puede ser atribuida a los compuestos inorgánicos presente en el agua residual, especialmente del Hierro residual que queda en el sistema.

Con la aplicación de los procesos oxidativos mediante la reacción de Fenton y de foto-Fenton se obtiene una mejor eficiencia de eliminación de la materia orgánica que la fotocatalisis heterogénea ($\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$) en el post-tratamiento con los POA. El proceso de Fenton y de foto-Fenton son capaces de aumentar la eficiencia de eliminación de la DQO en un 60% en tan solo 15 minutos de aplicación (en 1 hora aumenta en un 80%). La relación de DBO_5/DQO aumenta de 0,29 a 0,6 después de 1 hora de aplicación, mientras que en 15 minutos logra una biodegradabilidad de 0,5 en ambos sistemas. Con el tratamiento combinado entre el sistema de lodos activados y los procesos de oxidación avanzada (SLA/POA), utilizando el proceso de Fenton y de foto-Fenton, se logra una eliminación total de la materia orgánica para la DQO de 91%. Mientras que para TiO_2 , se obtiene una eliminación de DQO de 71% a pH 2,5 y hasta 77%, a pH 7,6.

Por lo tanto, el proceso oxidativo mediante la reacción de Fenton como pre-tratamiento, en combinación con el sistema de lodos activados (SLA) ha demostrado ser el más eficiente para este tipo de efluente industrial en comparación con los otros procesos de tratamientos utilizados en este estudio.

Bibliografía

- [1] Ministerio de Industria, Turismo, Integración y Negociaciones Comerciales Internacionales, 2001. *Propuesta de LMP - Dirección de Asuntos Ambientales en Curtiembres*. Vice Ministerio de Industria, Sub-sector curtiembre.
- [2] Rodríguez A., 1976. *Curtición de cueros y pieles*. Centro de Investigación y Asistencia Toxicológica (CIATEG), INDECOPI, Lima, Perú.
- [3] Msc. Muñoz M., 2001. *Tratamiento de efluentes de pelambre y curtido*. Seminario Internacional: Reducción de los impactos ambientales de curtiembres. Proyecto Europeo INCO-DC, En. 8-9, Chile-Concepción.
- [4] CEPIS & GTZ, 1993. *Informe Técnico sobre minimización de residuos en una curtiembre*. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente (CEPIS), Lima, Perú. URL: [http:// www.cepis.org.pe](http://www.cepis.org.pe)
- [5] INTEC-Chile y Fondo de Desarrollo e Innovación, 2000. *Documento de difusión, Opciones de Gestión Ambiental: Sector Curtiembres*. Proyecto FDI Corfo “Generación de Capacidades Nacionales en Tecnologías aplicables a Residuos Industriales Líquidos”.
- [6] Angelinetti R.A. y Cantera S. C., 1982. Tecnologías que reducen el consumo de insumos químicos y la carga contaminante de los efluentes de curtiembre. *Industria y Química*, 267(IV), 42-48.
- [7] Márquez F., Bezama A. y Figueroa C., 2001. *Situación legal de las curtiembres en Chile*. Seminario Internacional: Reducción de los impactos ambientales de curtiembres. Proyecto Europeo INCO-DC, En. 8-9, Chile-Concepción.
- [8] Ministerio de Industria, Turismo, Integración y Negociaciones Comerciales Internacionales, 1999. *Guía de Buenas Prácticas subsector Curtiembres*. Dirección Nacional de Industrias, Dirección de Asuntos Ambientales.
- [9] Ramalho R.S., 1991. *Tratamiento de aguas residuales*. Editorial Reverté, España, Cap. 3, 5, 6 y 8.

- [10] Winkler M.A., 1994. *Tratamiento biológico de aguas de desecho*. Editorial Limusa S.A., México, pp. 87-94.
- [11] Zaror Z. C.A., *Introducción a la Ingeniería Ambiental para la Industria de Procesos*. Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
- [12] Navarro Y., 1993. *Análisis comparativo de los procesos de lodos activados y reactor anaerobio para el tratamiento de aguas residuales*. Tesis para optar el grado de Maestro en Ingeniería Ambiental, Managua, Guatemala, pp.4-6.
- [13] Di Marzio W., Tortorelli M., Alberdi J. y Sáenz M., 1997. *Bulking filamentoso en un sistema de lodos activados de una curtiembre: diagnosis y caracterización*. Ingeniería Sanitaria y Ambiental, 33, pp. 38.
- [14] Di Marzio W., Alberdi J., Tortorelli M. y Sáenz M., 1999. *Bulking filamentoso en seis sistemas depurativos por lodos activados de la Provincia de Buenos Aires*. Ingeniería Sanitaria y Ambiental, 46, pp. 82.
- [15] Ferrer P., J. y Seco T., A., 1992. *Tratamiento de Aguas: Tratamientos biológicos*. Dpto. de Ingeniería Hidráulica y Medio Ambiente, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.
- [16] Metcalf and Eddy, 1994. *Ingeniería Sanitaria: Tratamiento, evacuación y reutilización de aguas residuales*. Mc Graw-Hill, New York.
- [17] Carceller J.M., 1998. Los fenómenos del bulking y foaming en las estaciones depuradoras de aguas residuales. *Tecnología del agua*, 179, 17-26.
- [18] Diez, M.C; Castillo, G.; Aguilar, L.; Vidal, G. and M.L. Mora, 2001. Operational factors and nutrients effect on activated sludge treatment sludge treatment for phenolic compounds degradation from Pinus radiata kraft mill effluent. *In Press. Bioresource Technol.*
- [19] Jenkins D., Richard M.G. and Daigger G.T., 1993 *Manual on the causes and control of activated sludge bulking and foaming*, 2nd edition. Lewis publishers. Chelsea. MI.
- [20] Diputación de Valencia, 1998. *Microbiología de la depuración mediante fangos activados*, EGEVASA, Valencia, España.
- [21] Viñas M., 1995. Strategies in agroindustrial waste-water treatment. *Wat. Sci. Technol.* 32(2), 113-120.
- [22] Vijayaraghavan K. and Murthy D.V.S., 1997. Effect of toxic substances in anaerobic treatment of tannery waste-water. *Bioprocess Eng.*, 16(3), 151-55.

- [23] Vijayaraghavan K. and Ramanujam T.K., 1999. Effect of chloride and condensable tannin in anaerobic degradation of tannery waste-waters. *Bioprocess Eng.*, 20(6), 499-503.
- [24] Gopalan R. and Veeramani H., 1994. Development of a *Pseudomonas* sp. for aerobic chromate reduction. *Biotechnol. Technique*, 8(7), 521-524.
- [25] Orhon D., Sözen S., Ubay Cokör E. and Genceli E., 1998. The effect of chemical settling on the cinetic and design of activated sludge for tannery wastewaters. *Wat. Sci. Technol.*, 38(4/5), 355-362.
- [26] Ahn D.H., Chung Y.C., Yoo Y.J., Pak D.W. and Cheng W.S., 1996. Improved Treatment of tannery waste-water using *Zoogloea ramigera* and its extracellular polymer in an activated sludge process. *Biotechnol. Letters*, 18(8), 917-922.
- [27] Ram B., Bajpai P.K. and Parwana H.K., 1999. Kinetics of chrome-tannery effluent treatment by the activated sludge system. *Process Biochem.*, 35(3/4), 255-265.
- [28] Yamamoto K. and Win K.M., 1991. Tannery waste-water treatment using a sequencing batch membrane reactor. *Wat. Sci. Technol.*, 23(7/9), 1639-1648.
- [29] Szpykowicz L., Rigoni, Stern S. and Grandi F.Z., 1991a. Nitrification and desnitrification of tannery waste-waters. *Water Res.*, 25(11), 1351-1356.
- [30] Szpykowicz L., Rigoni, Stern S. and Grandi F.Z., 1991b. Pilot plant studies on tannery waste-water treatment with the objetive to reduce sludge production and remove chromium. *Wat. Sci. Technol.*, 23(10/12), 1863-1871.
- [31] Basu M., Bhattacharya S., Paul A.K., 1997. Isolation and characterization of chromium-resistant bacteria from tannery effluents. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 58(4), 535-542.
- [32] Menéndez C. y Díaz M., 1998. Depuración de aguas residuales de tenerías de pieles. *Tecnología del agua*, 183, 27-32.
- [33] Roets S.D., 1982. A system developed for the treatment of tanning and other proteinaceous effluents. *Wat. Sci. Technol.*, 14(9/10), 1547-1548.
- [34] Marquéz H. M. y Tiscareño, 1999. La foto-oxidación en el tratamiento de aguas residuales. *Instituto de Investigaciones Científicas*, Universidad de Guanajuato y Dpto. de Ingeniería Química, *Instituto Tecnológico de Celaya*, México. pp. 101-107.
- [35] Cooperación iberoamericana CYTED (Ciencia y Tecnología para el desarrollo), 2001. *Eliminación de contaminantes por fotocátalisis Heterogénea*. Texto colectivo elaborado por la red CYTED VIII-G, usos de óxidos semiconductores y materiales relacionados para aplicaciones ambientales y ópticas, editado por Miguel A. Blesa, cap. 1, 3, 5.

- [36] Bauer R. and Fallmann H., 1997. The photo-Fenton oxidation-a cheap and efficient wastewater treatment method. *Res. Chem. Intermed.*, 23(4), 341-354.
- [37] Parra S., 2001. *Coupling of photocatalytic and biological processes as a contribution to the detoxification of water: catalytic and technological aspects*. Thèse N° 2470, présentée au département de génie rural, École Polytechnique Fédérale de Lausanne, pour l'obtention du grade de docteur ès sciences techniques, Lausanne, EPFL, pp. 5-14, 16-18.
- [38] Herrmann J.M., 1999. Heterogeneous photocatalysis: fundamentals and applications to the removal of various types of aqueous pollutants. *Catalysis Today*, 53, 115-129.
- [39] Ameta Suresh C., Ameta Rameshwar., Vardia J., Ameta Rohit and Ali Z., 1999. Photocatalysis: A frontier of photochemistry. *J. Indian Chem. Soc.*, 76, 281-287.
- [40] Lizama C., 1997. *Estudio de fotodegradación de surfactantes*. Universidad Técnica Federrico Santa María, Tesis para optar el título profesional de químico, Departamento de Química, Valparaiso, pp. 4-9, 11-14.
- [41] Wold A., 1993. Photocatalytic properties of TiO₂. *Chem. Mater.*, 5, 280-283.
- [42] Arslan I. and Balcioglu I.A., 1999. Degradation of commercial reactive dyestuffs by heterogenous and homogenous advanced oxidation processes: a comparative study. *Dyes and Pigments*, 43, 95-108.
- [43] Arslan I., Balcioglu I.A. and Banheman D.W., 2000. Heterogeneous photocatalysis treatment of simulated dyehouse effluents using novel TiO₂ photocatalysts. *Applied Catalysis B: Environ.*, 26, 193-206.
- [44] Herrmann, J.M.; Guillard, C. and Pichat, P., 1993. Heterogeneous photocatalysis: an emerging technology for water treatment. *Catalysis Today*, 17, 7.
- [45] Sychev A.Y. and Isak V. G., 1995. Iron compounds and the mechanisms of the homogeneous catalysis of the activation of O₂ and H₂O₂ and of the oxidation of organic substrates. *Russian Chem. Rev.*, 64(12), 1105-1129.
- [46] Bigda R.J., 1995. Consider Fenton's Chemistry for wastewater treatment. *Chem. Eng. Prog.*, pp.62-66.
- [47] Tang W.Z. and Huang C.P., 1997. Stoichiometry of Fenton's reagent in the oxidation of chlorinated aliphatic organic pollutants. *Environ. Technol.*, 18, 13-23.
- [48] Chamarro E., Marco A. and Esplugas S., 2001. Use of Fenton to improve organic chemical biodegradability. *Water Res.*, 35(4), 1047-1051.

- [49] Jochimsen J. and Jekel M., 1996. Application of ozone and advanced oxidation processes for the treatment of tannery wastewaters. *IOA Ozone Workshop Applications, Processes and Technologies*, pp. 1-13
- [50] Jochimsen J., Schenk H., Jekel M. and Hegemann W., 1997. Combined oxidative and biological treatment for separated streams of tannery wastewater. *Wat. Sci. Technol.*, 36(2/3), 209-216.
- [51] Bila D., Montalvao F., Dezotti M., 2001. Aplicacao de processos combinados no tratamento do chorume. *I Encontro sobre Aplicacões Ambientais de Processos Oxidativos Avançados*, Sao Paulo, Brasil, Oct. 8-10.
- [52] Mansilla H.D., Villaseñor J., Maturana G., Baeza J., Freer J. and Durán N., 1994. ZnO-catalysed photodegradation of kraft black liquor. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 78, 267-273.
- [53] Villaseñor J. and Mansilla H.D., 1996. Effect of temperature on kraft black liquor degradation by ZnO-photoassisted catalysis. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 93, 205-209.
- [54] Da Hora A., Mendocça E., Tanimoto Y., Ferreira L., Miranda J., Ruggiero R., Sattler C. e De Oliveira L., 2001. Estudo da degradação do efluente de uma indústria de papel e celulose, induzida por fotocatalise mediada por dióxido de titânio. *I Encontro sobre Aplicacões Ambientais de Processos Oxidativos Avançados*, Sao Paulo, Brasil, Oct. 8-10.
- [55] Yeber M., Rodríguez J., Freer J., Baeza J., Durán N. and Mansilla H.D., 1999. Advanced oxidation of a pulp mill bleaching wastewater. *Chemosphere*, 39(10), 1679-1688
- [56] Yeber M., Rodríguez J., Baeza J., Freer J., Zaror C., Durán N. and Mansilla H.D., 1999. Toxicity abatement and biodegradability enhancement of pulp mill bleaching by advanced chemical oxidation. *The 6th IAWQ symposium on Forest Industry Wastewaters*, Tampere, Finlandia, Jun. 6-10.
- [57] Pérez M., Torrades F., Peral J., Lizama C., Bravo C., Casas S., Freer J. and Mansilla H.D., 2001. Multivariate approach to photocatalytic degradation of a cellulose bleaching effluent. *Applied Catalysis B: Environ.*, 33, 89-96.
- [58] Peralta P., Gomes S., Pelegrini R., Freire M., Reyes J. and Mansilla H.D., 1998. Evaluation of ZnO, TiO₂ and supported ZnO on the photoassisted remediation of black liquor, cellulose and textile mill effluents. *Chemosphere*, 36(9), 2119-2133.
- [59] Mansilla H.D., 2001. Aplicación de la fotocatalisis en la degradación de colorantes textiles. *I Encontro sobre Aplicacões Ambientais de Processos Oxidativos Avançados*, Sao Paulo, Brasil, Oct. 8-10.

- [60] Lizama C., Yeber M., Baeza J. and Mansilla H.D., 2001. Reactive dyes decolouration by TiO_2 photo-assisted catalysis. *Wat. Sci. Technol.*, 44(5), 197-203.
- [61] Saia Fl. e Daniel L., 2000. Aplicação do processo avançado de oxidação na remoção de Cor e DQO de efluente têxtil. *XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental*, Porto Alegre, Brasil, Dic. 1-8.
- [62] Saia Fl. e Daniel L., 2001. Avaliação da aplicação do ozônio e peróxido de hidrogênio/ozônio como pos-tratamento para a redução de Cor e DQO de efluente têxtil. *I Encontro sobre Aplicações Ambientais de Processos Oxidativos Avançados*, Sao Paulo, Brasil, Oct. 8-10.
- [63] Carissimi E., Pizzolato T., Machado Ê. e Schneider I., 2001. Caracterização do processo Fenton aplicado no tratamento de efluentes do tingimento de ágatas. *I Encontro sobre Aplicações Ambientais de Processos Oxidativos Avançados*, Sao Paulo, Brasil, Oct. 8-10.
- [64] Teixeira A., Nascimento Cl., Guardani R. y Oshiro P., 2001. Degradação Fenton e foto-Fenton de polímero à base de silicone em efluentes têxteis industriais. *I Encontro sobre Aplicações Ambientais de Processos Oxidativos Avançados*, Sao Paulo, Brasil, Oct. 8-10.
- [65] Sheng H. and Lo Ch., 1997. Fenton process for treatment of desizing wastewater. *Water Res.*, 31(8), 2050-2056.
- [66] Donaire P., Jardim W. e Guimarães J., 2001. Desinfecção de um efluente proveniente de uma ete utilizando radiação UV e fotocatalise heterogênea. *I Encontro sobre Aplicações Ambientais de Processos Oxidativos Avançados*, Sao Paulo, Brasil, Oct. 8-10.
- [67] Galarza P., Murtua D., Languasco J., Sanchez E., Rodríguez J. y Estrada W., 2001. Desinfección fotocatalítica de agua utilizando TiO_2 bajo irradiación solar. *I Encontro sobre Aplicações Ambientais de Processos Oxidativos Avançados*, Sao Paulo, Brasil, Oct. 8-10.
- [68] Orlanda J., Kondo M., Grassi M. e Ferreira M., 2001. Inativação fotocatalítica de microrganismos patogênicos no controle da qualidade do ar em sistemas de climatização. *I Encontro sobre Aplicações Ambientais de Processos Oxidativos Avançados*, Sao Paulo, Brasil, Oct. 8-10.
- [69] Chen J., Rulkens W. and Bruning H., 1997. Photochemical elimination of phenols and COD in industrial wastewaters. *Wat. Sci. Technol.*, 35(4), 231-238.
- [70] Gulyas H., 1997. Processes for the removal of recalcitrant organics from industrial wastewaters. *Wat. Sci. Technol.*, 26(2/3), 9-16.

- [71] Teel A., Warberg C., Atkinson D. and Watts R., 2001. Comparison of mineral and soluble iron Fenton's catalysts for the treatment of trichloroethylene. *Water Res.*, 35(4), 977-984.
- [72] Vilela F., Carvalho c. e Machado R., 2001. Tratamento de efluentes industriais contendo fenol utilizando processo de oxidação avançado. *I Encontro sobre Aplicações Ambientais de Processos Oxidativos Avançados*, Sao Paulo, Brasil, Oct. 8-10.
- [73] Marco A., Esplugas S. and Saum G., 1997. How and why combine chemical and biological processes for wastewater treatment. *Wat. Sci. Technol.*, 35(4), 321-327.
- [74] APHA, AWWA and WPCF, 1995. *Standard Methods for the examination of water and wastewater*, USA.
- [75] Reference Library Peroxide Applications. Hydrogen Peroxide. *Industrial Wastewater*. URL: <http://www.H2O2.com>
- [76] Gajardo M., 2001. *Evaluación y caracterización toxicológica de un efluente industrial de curtiembre utilizando el organismo de prueba Daphnia pulex (crustace: cladocera)*. Tesis para optar el título profesional de biólogo. Facultad de ciencias naturales y Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
- [77] EPA, 1993. *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms*, prepared by environmental protection agency and department of the army, Washington, D.C.
- [78] EPA, 1993. *Systems, Ecology, Life History and Culture Methods Daphnia pulex and Daphnia magna*. Environmental monitoring systems laboratory, office of research and development U.S. environmental protection agency, Cincinnati, Ohio, 131-148.
- [79] Cooman K., Gajardo M., Nieto J., Bornhardt C. y Vidal G., 2001. Chemical and Toxicological characterization of tannery wastewater by Daphnia Magna y Daphnia Pulex. *4^{ta} Reunión Anual SETAC Latinoamérica, Society of Environmental Toxicology and Chemistry*, Buenos Aires, Argentina, Oct. 22-25.
- [80] Bornhardt C., Vidal G. y Torres. M., 2000. Reducción del impacto ambiental generado por efluentes de la industria de curtiembre. *XXVII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental*, Porto alegre, Brasil, Dic. 1-8.
- [81] Klinkow N., Oleksy J.-Frenzel and jekel M., 1998. Toxicity-directed fractionation of organic compounds in tannery wastewater with regard to their molecular weight and polarity. *Water Res.*, 32(9), 2583-2592.
- [82] Bornhardt C., Nieto J., Cooman K. and Vidal G., 2001. Activated sludge treatment and toxicity evaluation of tannery wastewater streams. *IWA 2nd World Water Congress*, Berlín, Alemania, Oct. 15-19.

- [83] Veret S., Galisteo M. y Viñas Sendic M. Evaluación respirométrica de la biodegradabilidad aeróbica de un efluente de curtiembre. *XXVII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental*, Porto Alegre, Brasil, Dic. 1-8.
- [84] Nieto J., Vidal G. y Bornhardt C., 2001. Consideraciones sobre la biomasa de un reactor de lodos activados que trata efluentes segregados de la industria de curtiembre. *IX Congreso Bolivariano y XIV Congreso Peruano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental*, Lima, Perú, Nov. 6-9.
- [85] Orupold K., Hellat K. and Tenno T., 1999. Estimation of treatability of different industrial wastewaters by activated sludge oxygen uptake measurements. *Wat. Sci. Technol.*, 40(1), 31-36.
- [86] Di Marzio W., Tortorelli M.C., Alberdi J.L. y Sáenz M.E., 1997. Bulking filamentoso en un sistema de lodos activados de una curtiembre: diagnosis y caracterización. *Ingeniería Sanitaria y Ambiental*, 33, 38-42.
- [87] Vidal G., Nieto J., Arbazúa M. and Bornhardt C., 2001. Microorganisms as stability indicators of an activated sludge system. *XXIII Congreso Chileno de Microbiología*, Balneario el Morro, Tomé, Chile, Nov. 28-30.

ANEXOS

ANEXO 1:

MÉTODO ANALÍTICO EMPLEADO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (DBO₅).

STANDARD METHODS APHA-AWWA: 5210 A, B, C y 5500-0 C.

5210 BIOCHEMICAL OXYGEN DEMAND (BOD)*

5210 A. Introduction

1. General Discussion

The biochemical oxygen demand (BOD) determination is an empirical test in which standardized laboratory procedures are used to determine the relative oxygen requirements of wastewaters, effluents, and polluted waters. The test has its widest application in measuring waste loadings to treatment plants and in evaluating the BOD-removal efficiency of such treatment systems. The test measures the molecular oxygen utilized during a specified incubation period for the biochemical degradation of organic material (carbonaceous demand) and the oxygen used to oxidize inorganic material such as sulfides and ferrous iron. It also may measure the amount of oxygen used to oxidize reduced forms of nitrogen (nitrogenous demand) unless their oxidation is prevented by an inhibitor. The seeding and dilution procedures provide an estimate of the BOD at pH 6.5 to 7.5.

Measurements of oxygen consumed in a 5-d test period (5-d BOD or BOD₅, 5210B), oxygen consumed after 60 to 90 d of incubation (ultimate BOD or UBOD, 5210C), and continuous oxygen uptake (respirometric method, 5210D) are described here. Many other variations of oxygen demand measurements exist, including using shorter and longer incubation periods and tests to determine rates of oxygen uptake. Alternative seeding, dilution, and incubation conditions can be chosen to mimic receiving-water conditions, thereby providing an estimate of the environmental effects of wastewaters and effluents.

The UBOD measures the oxygen required for the total degradation of organic material (ultimate carbonaceous demand) and/or the oxygen to oxidize reduced nitrogen compounds (ultimate nitrogenous demand). UBOD values and appropriate kinetic descriptions are needed in water quality modeling studies such as UBOD: BOD₅ ratios for relating stream assimilative capacity to regulatory requirements; definition of river, estuary, or lake deoxygenation kinetics; and instream ultimate carbonaceous BOD (UCBOD) values for model calibration.

2. Carbonaceous Versus Nitrogenous BOD

A number of factors, for example, soluble versus particulate organics, settleable and floatable solids, oxidation of reduced iron and sulfur compounds, or lack of mixing may affect the accuracy and precision of BOD measurements. Presently, there is no way to include adjustments or corrections to account for the effect of these factors.

Oxidation of reduced forms of nitrogen, such as ammonia and organic nitrogen, can be mediated by microorganisms and exert nitrogenous demand. Nitrogenous demand historically has been considered an interference in the determination of BOD, as clearly evidenced by the inclusion of ammonia in the dilution water. The interference from nitrogenous demand can now be prevented by an inhibitory chemical.¹ If an inhibiting chemical is not used, the oxygen demand measured is the sum of carbonaceous and nitrogenous demands.

Measurements that include nitrogenous demand generally are not useful for assessing the oxygen demand associated with organic material. Nitrogenous demand can be estimated directly from ammonia nitrogen (Section 4500-NH₃); and carbonaceous demand can be estimated by subtracting the theoretical equivalent of the reduced nitrogen oxidation from uninhibited test results. However, this method is cumbersome and is subject to considerable error. Chemical inhibition of nitrogenous demand provides a more direct and more reliable measure of carbonaceous demand.

The extent of oxidation of nitrogenous compounds during the 5-d incubation period depends on the concentration and type of microorganisms capable of carrying out this oxidation. Such organisms usually are not present in raw or settled primary sewage in sufficient numbers to oxidize sufficient quantities of reduced nitrogen forms in the 5-d BOD test. Many biological treatment plant effluents contain sufficient numbers of nitrifying organisms to cause nitrification in BOD tests. Because oxidation of nitrogenous compounds can occur in such samples, inhibition of nitrification as directed in 5210B.4e6) is recommended for samples of secondary effluent, for samples seeded with secondary effluent, and for samples of polluted waters.

Report results as carbonaceous biochemical oxygen demand (CBOD₅) when inhibiting the nitrogenous oxygen demand. When nitrification is not inhibited, report results as BOD₅.

3. Dilution Requirements

The BOD concentration in most wastewaters exceeds the concentration of dissolved oxygen (DO) available in an air-saturated sample. Therefore, it is necessary to dilute the sample before incubation to bring the oxygen demand and supply into appropriate balance. Because bacterial growth requires nutrients such as nitrogen, phosphorus, and trace metals, these are added to the dilution water, which is buffered to ensure that the pH of the incubated sample remains in a range suitable for bacterial growth. Complete stabilization of a sample may require a period of incubation too long for practical purposes; therefore, 5 d has been accepted as the standard incubation period.

If the dilution water is of poor quality, the BOD of the dilution water will appear as sample BOD. This effect will be amplified by the dilution factor. A positive bias will result. The methods included below (5210B and 5210C) contain both a dilution-water check and a dilution-water blank. Seeded dilution waters are checked further for acceptable quality by measuring their consumption of oxygen from a known organic mixture, usually glucose and glutamic acid.

The source of dilution water is not restricted and may be distilled, tap, or receiving-stream water free of biodegradable organics and bioinhibitory substances such as chlorine or heavy metals. Distilled water may contain ammonia or volatile organics; deionized waters often are contaminated with soluble organics leached from the resin bed. Use of copper-lined stills or copper fittings attached to distilled water lines may produce water containing excessive amounts of copper (see Section 3500-Cu).

* Approved by Standard Methods Committee. A, B, C, 1992; D, 1994.

4. Reference

1. YOUNG, J.C. 1973. Chemical methods for nitrification control. *J. Water Pollut. Control Fed.* 45:637.

5. Bibliography

THIERIAULT, E.J., P.D. MCNAMEE & C.T. BUTTERFIELD. 1931. Selection of dilution water for use in oxygen demand tests. *Pub. Health Rep.* 46:1084.

LEA, W.L. & M.S. NICHOLS. 1937. Influence of phosphorus and nitrogen on biochemical oxygen demand. *Sewage Works J.* 9:34.

RUCHHOFFT, C.C. 1941. Report on the cooperative study of dilution waters made for the Standard Methods Committee of the Federation of Sewage Works Associations. *Sewage Works J.* 13:669.

MOHLMAN, F.W., E. HURWITZ, G.R. BARNETT & H.K. RAMER. 1950. Experience with modified methods for BOD. *Sewage Ind. Wastes* 22:31.

5210 B. 5-Day BOD Test

1. General Discussion

a. Principle: The method consists of filling with sample, to overflowing, an airtight bottle of the specified size and incubating it at the specified temperature for 5 d. Dissolved oxygen is measured initially and after incubation, and the BOD is computed from the difference between initial and final DO. Because the initial DO is determined immediately after the dilution is made, all oxygen uptake, including that occurring during the first 15 min, is included in the BOD measurement.

b. Sampling and storage: Samples for BOD analysis may degrade significantly during storage between collection and analysis, resulting in low BOD values. Minimize reduction of BOD by analyzing sample promptly or by cooling it to near-freezing temperature during storage. However, even at low temperature, keep holding time to a minimum. Warm chilled samples to 20°C before analysis.

1) Grab samples—If analysis is begun within 2 h of collection, cold storage is unnecessary. If analysis is not started within 2 h of sample collection, keep sample at or below 4°C from the time of collection. Begin analysis within 6 h of collection; when this is not possible because the sampling site is distant from the laboratory, store at or below 4°C and report length and temperature of storage with the results. In no case start analysis more than 24 h after grab sample collection. When samples are to be used for regulatory purposes make every effort to deliver samples for analysis within 6 h of collection.

2) Composite samples—Keep samples at or below 4°C during compositing. Limit compositing period to 24 h. Use the same criteria as for storage of grab samples, starting the measurement of holding time from end of compositing period. State storage time and conditions as part of the results.

2. Apparatus

a. Incubation bottles: 250- to 300-mL capacity. Clean bottles with a detergent, rinse thoroughly, and drain before use. As a precaution against drawing air into the dilution bottle during incubation, use a water-seal. Obtain satisfactory water seals by inverting bottles in a water bath or by adding water to the flared mouth of special BOD bottles. Place a paper or plastic cup or foil cap over flared mouth of bottle to reduce evaporation of the water seal during incubation.

b. Air incubator or water bath, thermostatically controlled at 20 ± 1°C. Exclude all light to prevent possibility of photosynthetic production of DO.

3. Reagents

a. Phosphate buffer solution: Dissolve 8.5 g KH₂PO₄, 21.75 g K₂HPO₄, 33.4 g Na₂HPO₄·7H₂O, and 1.7 g NH₄Cl in about 500 mL distilled water and dilute to 1 L. The pH should be 7.2 without further adjustment. Discard reagent (or any of the following reagents) if there is any sign of biological growth in the stock bottle.

b. Magnesium sulfate solution: Dissolve 22.5 g MgSO₄·7H₂O in distilled water and dilute to 1 L.

c. Calcium chloride solution: Dissolve 27.5 g CaCl₂ in distilled water and dilute to 1 L.

d. Ferric chloride solution: Dissolve 0.25 g FeCl₃·6H₂O in distilled water and dilute to 1 L.

e. Acid and alkali solutions, 1N, for neutralization of caustic or acidic waste samples.

1) Acid—Slowly and while stirring, add 28 mL conc sulfuric acid to distilled water. Dilute to 1 L.

2) Alkali—Dissolve 40 g sodium hydroxide in distilled water. Dilute to 1 L.

f. Sodium sulfite solution: Dissolve 1.575 g Na₂SO₃ in 1000 mL distilled water. This solution is not stable; prepare daily.

g. Nitrification inhibitor, 2-chloro-6-(trichloromethyl) pyridine.*

h. Glucose-glutamic acid solution: Dry reagent-grade glucose and reagent-grade glutamic acid at 103°C for 1 h. Add 150 mg glucose and 150 mg glutamic acid to distilled water and dilute to 1 L. Prepare fresh immediately before use.

i. Ammonium chloride solution: Dissolve 1.15 g NH₄Cl in about 500 mL distilled water, adjust pH to 7.2 with NaOH solution, and dilute to 1 L. Solution contains 0.3 mg N/mL.

4. Procedure

a. Preparation of dilution water: Place desired volume of water in a suitable bottle and add 1 mL each of phosphate buffer, MgSO₄, CaCl₂, and FeCl₃ solutions/L of water. Seed dilution water, if desired, as described in ¶ 4d. Test and store dilution water as described in ¶s 4b and c so that water of assured quality always is on hand.

Before use bring dilution water temperature to 20°C. Saturate with DO by shaking in a partially filled bottle or by aerating with organic-free filtered air. Alternatively, store in cotton-plugged

* Nitrification Inhibitor 2579-24 (2.2% TCMP), Hach Co., or equivalent.

bottles long enough for water to become saturated with DO. Protect water quality by using clean glassware, tubing, and bottles.

b. Dilution water check: Use this procedure as a rough check on quality of dilution water.

If the oxygen depletion of a candidate water exceeds 0.2 mg/L, obtain a satisfactory water by improving purification or from another source. Alternatively, if nitrification inhibition is used, store the dilution water, seeded as prescribed below, in a darkened room at room temperature until the oxygen uptake is sufficiently reduced to meet the dilution-water check criteria. Check quality of stored dilution water on use, but do not add seed to dilution water stored for quality improvement. Storage is not recommended when BODs are to be determined without nitrification inhibition because nitrifying organisms may develop during storage. Check stored dilution water to determine whether sufficient ammonia remains after storage. If not, add ammonium chloride solution to provide a total of 0.45 mg ammonia/L as nitrogen. If dilution water has not been stored for quality improvement, add sufficient seeding material to produce a DO uptake of 0.05 to 0.1 mg/L in 5 d at 20°C. Incubate a BOD bottle full of dilution water for 5 d at 20°C. Determine initial and final DO as in §§ 4g and j. The DO uptake in 5 d at 20°C should not be more than 0.2 mg/L and preferably not more than 0.1 mg/L.

c. Glucose-glutamic acid check: Because the BOD test is a bioassay its results can be influenced greatly by the presence of toxicants or by use of a poor seeding material. Distilled waters frequently are contaminated with copper; some sewage seeds are relatively inactive. Low results always are obtained with such seeds and waters. Periodically check dilution water quality, seed effectiveness, and analytical technique by making BOD measurements on pure organic compounds and samples with known additions. In general, for BOD determinations not requiring an adapted seed, use a mixture of 150 mg glucose/L and 150 mg glutamic acid/L as a "standard" check solution. Glucose has an exceptionally high and variable oxidation rate but when it is used with glutamic acid, the oxidation rate is stabilized and is similar to that obtained with many municipal wastes. Alternatively, if a particular wastewater contains an identifiable major constituent that contributes to the BOD, use this compound in place of the glucose-glutamic acid.

Determine the 5-d 20°C BOD of a 2% dilution of the glucose-glutamic acid standard check solution using the techniques outlined in §§ 4d-j. Evaluate data as described in § 6, Precision and Bias.

d. Seeding:

1) Seed source—It is necessary to have present a population of microorganisms capable of oxidizing the biodegradable organic matter in the sample. Domestic wastewater, unchlorinated or otherwise-undisinfected effluents from biological waste treatment plants, and surface waters receiving wastewater discharges contain satisfactory microbial populations. Some samples do not contain a sufficient microbial population (for example, some untreated industrial wastes, disinfected wastes, high-temperature wastes, or wastes with extreme pH values). For such wastes seed the dilution water by adding a population of microorganisms. The preferred seed is effluent from a biological treatment system processing the waste. Where this is not available, use supernatant from domestic wastewater after settling at room temperature for at least 1 h but no longer than 36 h. When effluent from a biological treatment process is used, inhibition of nitrification is recommended.

Some samples may contain materials not degraded at normal rates by the microorganisms in settled domestic wastewater. Seed such samples with an adapted microbial population obtained from the undisinfected effluent of a biological process treating the waste. In the absence of such a facility, obtain seed from the receiving water below (preferably 3 to 8 km) the point of discharge. When such seed sources also are not available, develop an adapted seed in the laboratory by continuously aerating a sample of settled domestic wastewater and adding small daily increments of waste. Optionally use a soil suspension or activated sludge, or a commercial seed preparation to obtain the initial microbial population. Determine the existence of a satisfactory population by testing the performance of the seed in BOD tests on the sample. BOD values that increase with time of adaptation to a steady high value indicate successful seed adaptation.

2) Seed control—Determine BOD of the seeding material as for any other sample. This is the *seed control*. From the value of the seed control and a knowledge of the seeding material dilution (in the dilution water) determine seed DO uptake. Ideally, make dilutions of seed such that the largest quantity results in at least 50% DO depletion. A plot of DO depletion, in milligrams per liter, versus milliliters seed should present a straight line for which the slope indicates DO depletion per milliliter of seed. The DO-axis intercept is oxygen depletion caused by the dilution water and should be less than 0.1 mg/L (§ 4f). To determine a sample DO uptake subtract seed DO uptake from total DO uptake. The DO uptake of seeded dilution water should be between 0.6 and 1.0 mg/L.

Techniques for adding seeding material to dilution water are described for two sample dilution methods (§ 4f).

e. Sample pretreatment:

1) Samples containing caustic alkalinity or acidity—Neutralize samples to pH 6.5 to 7.5 with a solution of sulfuric acid (H_2SO_4) or sodium hydroxide (NaOH) of such strength that the quantity of reagent does not dilute the sample by more than 0.5%. The pH of seeded dilution water should not be affected by the lowest sample dilution.

2) Samples containing residual chlorine compounds—If possible, avoid samples containing residual chlorine by sampling ahead of chlorination processes. If the sample has been chlorinated but no detectable chlorine residual is present, seed the dilution water. If residual chlorine is present, dechlorinate sample and seed the dilution water (§ 4f). Do not test chlorinated/dechlorinated samples without seeding the dilution water. In some samples chlorine will dissipate within 1 to 2 h of standing in the light. This often occurs during sample transport and handling. For samples in which chlorine residual does not dissipate in a reasonably short time, destroy chlorine residual by adding Na_2SO_3 solution. Determine required volume of Na_2SO_3 solution on a 100- to 1000-mL portion of neutralized sample by adding 10 mL of 1 + 1 acetic acid or 1 + 50 H_2SO_4 , 10 mL potassium iodide (KI) solution (10 g/100 mL) per 1000 mL portion, and titrating with Na_2SO_3 solution to the starch-iodine end point for residual. Add to neutralized sample the relative volume of Na_2SO_3 solution determined by the above test, mix, and after 10 to 20 min check sample for residual chlorine. (NOTE: Excess Na_2SO_3 exerts an oxygen demand and reacts slowly with certain organic chlorine compounds that may be present in chlorinated samples.)

3) Samples containing other toxic substances—Certain industrial wastes, for example, plating wastes, contain toxic metals. Such samples often require special study and treatment.

4) Samples supersaturated with DO—Samples containing more than 9 mg DO/L at 20°C may be encountered in cold waters or in water where photosynthesis occurs. To prevent loss of oxygen during incubation of such samples, reduce DO to saturation at 20°C by bringing sample to about 20°C in partially filled bottle while agitating by vigorous shaking or by aerating with clean, filtered compressed air.

5) Sample temperature adjustment—Bring samples to 20 ± 1°C before making dilutions.

6) Nitrification inhibition—If nitrification inhibition is desired add 3 mg 2-chloro-6-(trichloro methyl) pyridine (TCMP) to each 300-mL bottle before capping or add sufficient amounts to the dilution water to make a final concentration of 10 mg/L. (NOTE: Pure TCMP may dissolve slowly and can float on top of the sample. Some commercial formulations dissolve more readily but are not 100% TCMP; adjust dosage accordingly.) Samples that may require nitrification inhibition include, but are not limited to, biologically treated effluents, samples seeded with biologically treated effluents, and river waters. Note the use of nitrogen inhibition in reporting results.

f. *Dilution technique:* Dilutions that result in a residual DO of at least 1 mg/L and a DO uptake of at least 2 mg/L after 5 d incubation produce the most reliable results. Make several dilutions of prepared sample to obtain DO uptake in this range. Experience with a particular sample will permit use of a smaller number of dilutions. A more rapid analysis, such as COD, may be correlated approximately with BOD and serve as a guide in selecting dilutions. In the absence of prior knowledge, use the following dilutions: 0.0 to 1.0% for strong industrial wastes, 1 to 5% for raw and settled wastewater, 5 to 25% for biologically treated effluent, and 25 to 100% for polluted river waters.

Prepare dilutions either in graduated cylinders and then transfer to BOD bottles or prepare directly in BOD bottles. Either dilution method can be combined with any DO measurement technique. The number of bottles to be prepared for each dilution depends on the DO technique and the number of replicates desired.

When using graduated cylinders to prepare dilutions, and when seeding is necessary, add seed either directly to dilution water or to individual cylinders before dilution. Seeding of individual cylinders avoids a declining ratio of seed to sample as increasing dilutions are made. When dilutions are prepared directly in BOD bottles and when seeding is necessary, add seed directly to dilution water or directly to the BOD bottles.

1) Dilutions prepared in graduated cylinders—If the azide modification of the titrimetric iodometric method (Section 4500-O.C) is used, carefully siphon dilution water, seeded if necessary, into a 1- to 2-L-capacity graduated cylinder. Fill cylinder half full without entraining air. Add desired quantity of carefully mixed sample and dilute to appropriate level with dilution water. Mix well with a plunger-type mixing rod; avoid entraining air. Siphon mixed dilution into two BOD bottles. Determine initial DO on one of these bottles. Stopper the second bottle tightly, water-seal, and incubate for 5 d at 20°C. If the membrane electrode method is used for DO measurement, siphon dilution mixture into one BOD bottle. Determine initial DO on this bottle and replace any displaced contents with sample dilution to fill the bottle. Stopper tightly, water-seal, and incubate for 5 d at 20°C.

2) Dilutions prepared directly in BOD bottles—Using a wide-tip volumetric pipet, add the desired sample volume to individual

BOD bottles of known capacity. Add appropriate amounts of seed material to the individual BOD bottles or to the dilution water. Fill bottles with enough dilution water, seeded if necessary, so that insertion of stopper will displace all air, leaving no bubbles. For dilutions greater than 1:100 make a primary dilution in a graduated cylinder before making final dilution in the bottle. When using titrimetric iodometric methods for DO measurement, prepare two bottles at each dilution. Determine initial DO on one bottle. Stopper second bottle tightly, water-seal, and incubate for 5 d at 20°C. If the membrane electrode method is used for DO measurement, prepare only one BOD bottle for each dilution. Determine initial DO on this bottle and replace any displaced contents with dilution water to fill the bottle. Stopper tightly, water-seal, and incubate for 5 d at 20°C. Rinse DO electrode between determinations to prevent cross-contamination of samples.

g. *Determination of initial DO:* If the sample contains materials that react rapidly with DO, determine initial DO immediately after filling BOD bottle with diluted sample. If rapid initial DO uptake is insignificant, the time period between preparing dilution and measuring initial DO is not critical.

Use the azide modification of the iodometric method (Section 4500-O.C) or the membrane electrode method (Section 4500-O.G) to determine initial DO on all sample dilutions, dilution water blanks, and where appropriate, seed controls.

h. *Dilution water blank:* Use a dilution water blank as a rough check on quality of unseeded dilution water and cleanliness of incubation bottles. Together with each batch of samples incubate a bottle of unseeded dilution water. Determine initial and final DO as in ¶s 4g and j. The DO uptake should not be more than 0.2 mg/L and preferably not more than 0.1 mg/L.

i. *Incubation:* Incubate at 20°C ± 1°C BOD bottles containing desired dilutions, seed controls, dilution water blanks, and glucose-glutamic acid checks. Water-seal bottles as described in ¶ 4f.

j. *Determination of final DO:* After 5 d incubation determine DO in sample dilutions, blanks, and checks as in ¶ 4g.

5. Calculation

When dilution water is not seeded:

$$\text{BOD}_5, \text{ mg/L} = \frac{D_1 - D_2}{P}$$

When dilution water is seeded:

$$\text{BOD}_5, \text{ mg/L} = \frac{(D_1 - D_2) - (B_1 - B_2) f}{P}$$

where:

- D_1 = DO of diluted sample immediately after preparation, mg/L,
- D_2 = DO of diluted sample after 5 d incubation at 20°C, mg/L,
- P = decimal volumetric fraction of sample used,
- B_1 = DO of seed control before incubation, mg/L (¶ 4d),
- B_2 = DO of seed control after incubation mg/L (¶ 4d), and
- f = ratio of seed in diluted sample to seed in seed control = (% seed in diluted sample)/(% seed in seed control).

If seed material is added directly to sample or to seed control bottles:

$$f = (\text{volume of seed in diluted sample})/(\text{volume of seed in seed control})$$

Report results as CBOD₅ if nitrification is inhibited.

If more than one sample dilution meets the criteria of a residual DO of at least 1 mg/L and a DO depletion of at least 2 mg/L and there is no evidence of toxicity at higher sample concentrations or the existence of an obvious anomaly, average results in the acceptable range.

In these calculations, do not make corrections for DO uptake by the dilution water blank during incubation. This correction is unnecessary if dilution water meets the blank criteria stipulated above. If the dilution water does not meet these criteria, proper corrections are difficult and results become questionable.

6. Precision and Bias

There is no measurement for establishing bias of the BOD procedure. The glucose-glutamic acid check prescribed in ¶ 4c is intended to be a reference point for evaluation of dilution water quality, seed effectiveness, and analytical technique. Single-laboratory tests using a 300-mg/L mixed glucose-glutamic acid solution provided the following results:

Number of months:	14
Number of triplicates:	421
Average monthly recovery:	204 mg/L
Average monthly standard deviation:	10.4 mg/L

In a series of interlaboratory studies,¹ each involving 2 to 112 laboratories (and as many analysts and seed sources), 5-d BOD measurements were made on synthetic water samples containing a 1:1 mixture of glucose and glutamic acid in the total concentration range of 3.3 to 231 mg/L. The regression equations for mean value, \bar{X} , and standard deviation, S , from these studies were:

$$\begin{aligned} X &= 0.658 (\text{added level, mg/L}) + 0.280 \text{ mg/L} \\ S &= 0.100 (\text{added level, mg/L}) + 0.547 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

For the 300-mg/L mixed primary standard, the average 5-d BOD would be 198 mg/L with a standard deviation of 30.5 mg/L.

a. Control limits: Because of many factors affecting BOD tests in multilaboratory studies and the resulting extreme variability in test results, one standard deviation, as determined by inter-

laboratory tests, is recommended as a control limit for individual laboratories. Alternatively, for each laboratory, establish its control limits by performing a minimum of 25 glucose-glutamic acid checks (¶ 4c) over a period of several weeks or months and calculating the mean and standard deviation. Use the mean \pm 3 standard deviations as the control limit for future glucose-glutamic acid checks. Compare calculated control limits to the single-laboratory tests presented above and to interlaboratory results. If control limits are outside the range of 198 ± 30.5 , re-evaluate the control limits and investigate source of the problem. If measured BOD for a glucose-glutamic acid check is outside the accepted control limit range, reject tests made with that seed and dilution water.

b. Working range and detection limit: The working range is equal to the difference between the maximum initial DO (7 to 9 mg/L) and minimum DO residual of 1 mg/L multiplied by the dilution factor. A lower detection limit of 2 mg/L is established by the requirement for a minimum DO depletion of 2 mg/L.

7. References

1. U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, OFFICE OF RESEARCH AND DEVELOPMENT. 1986. Method-by-Method Statistics from Water Pollution (WP) Laboratory Performance Evaluation Studies. Quality Assurance Branch, Environmental Monitoring and Support Lab., Cincinnati, Ohio.

8. Bibliography

- SAWYER, C.N. & L. BRADNEY. 1946. Modernization of the BOD test for determining the efficiency of the sewage treatment process. *Sewage Works J.* 18:1113.
- RUCHHOFF, C.C., O.R. PLACAK, J. KACHMAR & C.E. CALBERT. 1948. Variations in BOD velocity constant of sewage dilutions. *Ind. Eng. Chem.* 40:1290.
- ABBOTT, W.E. 1948. The bacteriostatic effects of methylene blue on the BOD test. *Water Sewage Works* 95:424.
- SAWYER, C.N., P. CALLEJAS, M. MOORE & A.Q.Y. TOM. 1950. Primary standards for BOD work. *Sewage Ind. Wastes* 22:26.
- YOUNG, J.C., G.N. McDERMOTT & D. JENKINS. 1981. Alterations in the BOD procedure for the 15th edition of Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. *J. Water Pollut. Control Fed.* 53:1253.

5210 C. Ultimate BOD Test (PROPOSED)

1. General Discussion

The ultimate BOD test is an extension of the 5-d dilution BOD test as described in 5210B but with a number of specific test requirements and differences in application. The user should be familiar with the 5210B procedure before conducting tests for UBOD.

a. Principle: The method consists of placing a single sample dilution in full, airtight bottles and incubating under specified conditions for an extended period depending on wastewater, effluent, river, or estuary quality.¹ Dissolved oxygen (DO) is measured (with probes) initially and intermittently during the test. From the DO versus time series, UBOD is calculated by

an appropriate statistical technique. For improved accuracy, run tests in triplicate.

Bottle size and incubation time are flexible to accommodate individual sample characteristics and laboratory limitations. Incubation temperature, however, is 20°C. Most effluents and some naturally occurring surface waters contain materials with oxygen demands exceeding the DO available in air-saturated water. Therefore, it is necessary either to dilute the sample or to monitor DO frequently to ensure that low DO or anaerobic conditions do not occur. When DO concentrations approach 2 mg/L, the sample should be reaerated.

Because bacterial growth requires nutrients such as nitrogen, phosphorus, and trace metals, the necessary amounts may be

phoric acid (H_3PO_4) instead of sulfuric acid (H_2SO_4) for acidification. This procedure has not been tested for Fe(III) concentrations above 20 mg/L.

Use the alum flocculation modification (E) in the presence of suspended solids that cause interference and the copper sulfate-sulfamic acid flocculation modification (F) on activated-sludge mixed liquor.

3. Collection of Samples

Collect samples very carefully. Methods of sampling are highly dependent on source to be sampled and, to a certain extent, on method of analysis. Do not let sample remain in contact with air or be agitated, because either condition causes a change in its gaseous content. Samples from any depth in streams, lakes, or reservoirs, and samples of boiler water, need special precautions to eliminate changes in pressure and temperature. Procedures and equipment have been developed for sampling waters under pressure and unconfined waters (e.g., streams, rivers, and reservoirs). Sampling procedures and equipment needed are described in American Society for Testing and Materials Special Technical Publication No. 148-1 and in U.S. Geological Survey Water Supply Paper No. 1454.

Collect surface water samples in narrow-mouth glass-stoppered BOD bottles of 300-mL capacity with tapered and pointed ground-glass stoppers and flared mouths. Avoid entraining or dissolving atmospheric oxygen. In sampling from a line under pressure, attach a glass or rubber tube to the tap and extend to bottom of bottle. Let bottle overflow two or three times its volume and replace stopper so that no air bubbles are entrained.

Suitable samplers for streams, ponds, or tanks of moderate depth are of the APIIA type shown in Figure 4500-O:1. Use a Kemmerer-type sampler for samples collected from depths greater than 2 m. Bleed sample from bottom of sampler through a tube extending to bottom of a 250- to 300-mL BOD bottle. Fill bottle to overflowing (overflow for approximately 10 s), and prevent turbulence and formation of bubbles while filling. Record sample temperature to nearest degree Celsius or more precisely.

4500-O C. Azide Modification

1. General Discussion

Use the azide modification for most wastewater, effluent, and stream samples, especially if samples contain more than 50 μg NO_2^- -N/L and not more than 1 mg ferrous iron/L. Other reducing or oxidizing materials should be absent. If 1 mL KF solution is added before the sample is acidified and there is no delay in titration, the method is applicable in the presence of 100 to 200 mg ferric iron/L.

2. Reagents

a. Manganous sulfate solution: Dissolve 480 g $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 400 g $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, or 364 g $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ in distilled water, filter, and dilute to 1 L. The MnSO_4 solution should not give a color with starch when added to an acidified potassium iodide (KI) solution.

4. Preservation of Samples

Determine DO immediately on all samples containing an appreciable oxygen or iodine demand. Samples with no iodine demand may be stored for a few hours without change after adding manganous sulfate (MnSO_4) solution, alkali-iodide solution, and H_2SO_4 , followed by shaking in the usual way. Protect stored samples from strong sunlight and titrate as soon as possible.

For samples with an iodine demand, preserve for 4 to 8 h by adding 0.7 mL conc H_2SO_4 and 1 mL sodium azide solution (2 g NaN_3 /100 mL distilled water) to the BOD bottle. This will arrest biological activity and maintain DO if the bottle is stored at the temperature of collection or water-sealed and kept at 10 to 20°C. As soon as possible, complete the procedure, using 2 mL MnSO_4 solution, 3 mL alkali-iodide solution, and 2 mL conc H_2SO_4 .

5. References

- POTTER, E.C. & G.E. EVERITT. 1957. Advances in dissolved oxygen microanalysis. *J. Appl. Chem.* 9:642.
- MANCY, K.H. & T. JAFFE. 1966. Analysis of Dissolved Oxygen in Natural and Waste Waters. Publ. No. 99-WP-37, U.S. Public Health Serv., Washington, D.C.
- OULMAN, C.S. & E.R. BAUMANN. 1956. A colorimetric method for determining dissolved oxygen. *Sewage Ind. Wastes* 28:1461.
- ALSTERBERG, G. 1925. Methods for the determination of elementary oxygen dissolved in water in the presence of nitrite. *Biochem. Z.* 159:36.
- RIDEAL, S. & G.G. STEWART. 1901. The determination of dissolved oxygen in waters in the presence of nitrites and of organic matter. *Analyst* 26:141.
- RUCHHOFT, C.C. & W.A. MOORE. 1940. The determination of biochemical oxygen demand and dissolved oxygen of river mud suspensions. *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.* 12:711.
- PLACAK, O.R. & C.C. RUCHHOFT. 1941. Comparative study of the azide and Rideal-Stewart modifications of the Winkler method in the determination of biochemical oxygen demand. *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.* 13:12.
- RUCHHOFT, C.C. & O.R. PLACAK. 1942. Determination of dissolved oxygen in activated-sludge sewage mixtures. *Sewage Works J.* 14:638.

b. Alkali-iodide-azide reagent:

1) For saturated or less-than-saturated samples—Dissolve 500 g NaOH (or 700 g KOH) and 135 g NaI (or 150 g KI) in distilled water and dilute to 1 L. Add 10 g NaN_3 dissolved in 40 mL distilled water. Potassium and sodium salts may be used interchangeably. This reagent should not give a color with starch solution when diluted and acidified.

2) For supersaturated samples—Dissolve 10 g NaN_3 in 500 mL distilled water. Add 480 g sodium hydroxide (NaOH) and 750 g sodium iodide (NaI), and stir until dissolved. There will be a white turbidity due to sodium carbonate (Na_2CO_3), but this will do no harm. CAUTION—Do not acidify this solution because toxic hydrazoic acid fumes may be produced.

c. Sulfuric acid, H_2SO_4 , conc: One milliliter is equivalent to about 3 mL alkali-iodide-azide reagent.

d. Starch: Use either an aqueous solution or soluble starch powder mixtures.

TABLE 4500-O:1 SOLUBILITY OF OXYGEN IN WATER EXPOSED TO WATER-SATURATED AIR AT ATMOSPHERIC PRESSURE (101.3 kPa)¹

Temperature °C	Oxygen Solubility mg/L					
	Chlorinity: 0	5.0	10.0	15.0	20.0	25.0
0.0	14.621	13.728	12.888	12.097	11.355	10.657
1.0	14.216	13.356	12.545	11.783	11.066	10.392
2.0	13.829	13.000	12.218	11.483	10.790	10.139
3.0	13.460	12.660	11.906	11.195	10.526	9.897
4.0	13.107	12.335	11.607	10.920	10.273	9.664
5.0	12.770	12.024	11.320	10.656	10.031	9.441
6.0	12.447	11.727	11.046	10.404	9.799	9.228
7.0	12.139	11.442	10.783	10.162	9.576	9.023
8.0	11.843	11.169	10.531	9.930	9.362	8.826
9.0	11.559	10.907	10.290	9.707	9.156	8.636
10.0	11.288	10.656	10.058	9.493	8.959	8.454
11.0	11.027	10.415	9.835	9.287	8.769	8.279
12.0	10.777	10.183	9.621	9.089	8.586	8.111
13.0	10.537	9.961	9.416	8.899	8.411	7.949
14.0	10.306	9.747	9.218	8.716	8.242	7.792
15.0	10.084	9.541	9.027	8.540	8.079	7.642
16.0	9.870	9.344	8.844	8.370	7.922	7.496
17.0	9.665	9.153	8.667	8.207	7.770	7.356
18.0	9.467	8.969	8.497	8.049	7.624	7.221
19.0	9.276	8.792	8.333	7.896	7.483	7.090
20.0	9.092	8.621	8.174	7.749	7.346	6.964
21.0	8.915	8.456	8.021	7.607	7.214	6.842
22.0	8.743	8.297	7.873	7.470	7.087	6.723
23.0	8.578	8.143	7.730	7.337	6.963	6.609
24.0	8.418	7.994	7.591	7.208	6.844	6.498
25.0	8.263	7.850	7.457	7.083	6.728	6.390
26.0	8.113	7.711	7.327	6.962	6.615	6.285
27.0	7.968	7.575	7.201	6.845	6.506	6.184
28.0	7.827	7.444	7.079	6.731	6.400	6.085
29.0	7.691	7.317	6.961	6.621	6.297	5.990
30.0	7.559	7.194	6.845	6.513	6.197	5.896
31.0	7.430	7.073	6.733	6.409	6.100	5.806
32.0	7.305	6.957	6.624	6.307	6.005	5.717
33.0	7.183	6.843	6.518	6.208	5.912	5.631
34.0	7.065	6.732	6.415	6.111	5.822	5.546
35.0	6.950	6.624	6.314	6.017	5.734	5.464
36.0	6.837	6.519	6.215	5.925	5.648	5.384
37.0	6.727	6.416	6.119	5.835	5.564	5.305
38.0	6.620	6.316	6.025	5.747	5.481	5.228
39.0	6.515	6.217	5.932	5.660	5.400	5.152
40.0	6.412	6.121	5.842	5.576	5.321	5.078
41.0	6.312	6.026	5.753	5.493	5.243	5.005
42.0	6.213	5.934	5.667	5.411	5.167	4.933
43.0	6.116	5.843	5.581	5.331	5.091	4.862
44.0	6.021	5.753	5.497	5.252	5.017	4.793
45.0	5.927	5.665	5.414	5.174	4.944	4.724
46.0	5.835	5.578	5.333	5.097	4.872	4.656
47.0	5.744	5.493	5.252	5.021	4.801	4.589
48.0	5.654	5.408	5.172	4.947	4.730	4.523
49.0	5.565	5.324	5.094	4.872	4.660	4.457
50.0	5.477	5.242	5.016	4.799	4.591	4.392

NOTE:

1. The table provides three decimal places to aid interpolation. When computing saturation values to be used with measured values, such as in computing DO deficit in a receiving water, precision of measured values will control choice of decimal places to be used.

2. Equations are available to compute DO concentration in fresh water¹⁻³ and in seawater¹ at equilibrium with water-saturated air. Figures and tables also are available.¹

Calculate the equilibrium oxygen concentration, C*, from equation:

$$\ln C^* = -139.344 \ 11 + (1.575 \ 701 \times 10^6/T) - (6.642 \ 308 \times 10^9/T^2) + (1.243 \ 800 \times 10^{10}/T^3) - (8.621 \ 949 \times 10^{11}/T^4) - \text{Chl} [(3.1929) \times 10^{-2}] - (1.9428 \times 10^6/T) + (3.8673 \times 10^9/T^2)$$

where:

C* = equilibrium oxygen concentration at 101.325 kPa, mg/L,
 T = temperature (°K) = °C + 273.150, (°C is between 0.0 and 40.0 in the equation; the table is accurate up to 50.0), and
 Chl = Chlorinity (see definition in Note 4, below).

Example 1: At 20°C and 0.000 Chl, ln C* = 2.207 442 and C* = 9.092 mg/L;

Example 2: At 20°C and 15.000 Chl,
 ln C* = (2.207 442) - 15.000 (0.010 657)
 = 2.0476 and C* = 7.749 mg/L.

When salinity is used, replace the chlorinity term (-Chl[. . .]) by:
 -S(1.7674 × 10⁻²) - (1.0754 × 10⁶/T) + (2.1407 × 10⁹/T²)

where:

S = salinity (see definition in Note 4, below).

3. For nonstandard conditions of pressure:

$$C_p = C^* P \left[\frac{(1 - P_{sw}/P)(1 - \theta P)}{(1 - P_{sw})(1 - \theta)} \right]$$

where:

C_p = equilibrium oxygen concentration at nonstandard pressure, mg/L,
 C* = equilibrium oxygen concentration at standard pressure of 1 atm, mg/L,
 P = nonstandard pressure, atm.
 P_{sw} = partial pressure of water vapor, atm, computed from: ln P_{sw} = 11.8571 - (3840.70/T) - (216 961/T²),
 T = temperature, °K,
 θ = 0.000 975 - (1.426 × 10⁻²/t) + (6.436 × 10⁻⁴/t²), and
 t = temperature, °C.

N.B.: Although not explicit in the above, the quantity in brackets in the equation for C_p has dimensions of atm⁻¹ per Reference 4, so that P multiplied by this quantity is dimensionless.

Also, the equation for ln P_{sw} is strictly valid for fresh water only, but for practical purposes no error is made by neglecting the effect of salinity. An equation for P_{sw} that includes the salinity factor may be found in Reference 1.

Example 3: At 20°C, 0.000 Chl, and 0.700 atm,
 C_p = C* P (0.990 092) = 6.30 mg/L.

4. Definitions:

Salinity: Although salinity has been defined traditionally as the total solids in water after all carbonates have been converted to oxides, all bromide and iodide have been replaced by chloride, and all organic matter has been oxidized (see Section 2520), the new scale used to define salinity is based on the electrical conductivity of seawater relative to a specified solution of KCl in water.⁵ The scale is dimensionless and the traditional dimension of parts per thousand (i.e., g/kg of solution) no longer applies.

Chlorinity: Chlorinity is defined in relation to salinity as follows:

$$\text{Salinity} = 1.806 \ 55 \times \text{chlorinity}$$

Although chlorinity is not equivalent to chloride concentration, the factor for converting a chloride concentration in seawater to include bromide, for example, is only 1.0045 (based on the relative molecular weights and amounts of the two ions). Therefore, for practical purposes, chloride concentration (in g/kg of solution) is nearly equal to chlorinity in seawater. For wastewater, it is necessary to know the ions responsible for the solution's electrical conductivity to correct for their effect on oxygen solubility and use of the tabular value. If this is not done, the equation is inappropriate unless the relative composition of the wastewater is similar to that of seawater.

To prepare an aqueous solution, dissolve 2 g laboratory-grade soluble starch and 0.2 g salicylic acid, as a preservative, in 100 mL hot distilled water.

e. Standard sodium thiosulfate titrant: Dissolve 6.205 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ in distilled water. Add 1.5 mL 6*N* NaOH or 0.4 g solid NaOH and dilute to 1000 mL. Standardize with bi-iodate solution.

*f. Standard potassium bi-iodate solution, 0.0021*M*:* Dissolve 312.4 mg $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ in distilled water and dilute to 1000 mL.

Standardization—Dissolve approximately 2 g KI, free from iodate, in an erlenmeyer flask with 100 to 150 mL distilled water. Add 1 mL 6*N* H_2SO_4 or a few drops of conc H_2SO_4 and 20.00 mL standard bi-iodate solution. Dilute to 200 mL and titrate liberated iodine with thiosulfate titrant, adding starch toward end of titration, when a pale straw color is reached. When the solutions are of equal strength, 20.00 mL 0.025*M* $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ should be required. If not, adjust the $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ solution to 0.025*M*.

g. Potassium fluoride solution: Dissolve 40 g $\text{KF} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ in distilled water and dilute to 100 mL.

Procedure

a. To the sample collected in a 250- to 300-mL bottle, add 1 mL MnSO_4 solution, followed by 1 mL alkali-iodide-azide reagent. If pipets are dipped into sample, rinse them before returning them to reagent bottles. Alternatively, hold pipet tips just above liquid surface when adding reagents. Stopper carefully to exclude air bubbles and mix by inverting bottle a few times. When precipitate has settled sufficiently (to approximately half the bottle volume) to leave clear supernate above the manganese hydroxide floc, add 1.0 mL conc H_2SO_4 . Restopper and mix by inverting several times until dissolution is complete. Titrate a volume corresponding to 200 mL original sample after correction for sample loss by displacement with reagents. Thus, for a total of 2 mL (1 mL each) of MnSO_4 and alkali-iodide-azide reagents in a 300-mL bottle, titrate $200 \times 300 / (300 - 2) = 201$ mL.

b. Titrate with 0.025*M* $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ solution to a pale straw color. Add a few drops of starch solution and continue titration to first appearance of blue color. If end point is overrun, back-titrate with 0.0021*M* bi-iodate solution added dropwise, or by adding measured volume of treated sample. Correct for amount of bi-

iodate solution or sample. Disregard subsequent recolorations due to the catalytic effect of nitrite or to traces of ferric salts that have not been complexed with fluoride.

4. Calculation

a. For titration of 200 mL sample, 1 mL 0.025*M* $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 = 1$ mg DO/L.

b. To express results as percent saturation at 101.3 kPa, use the solubility data in Table 4500-O:1. Equations for correcting solubilities to barometric pressures other than mean sea level and for various chlorinities are given below the table.

5. Precision and Bias

DO can be determined with a precision, expressed as a standard deviation, of about 20 $\mu\text{g/L}$ in distilled water and about 60 $\mu\text{g/L}$ in wastewater and secondary effluents. In the presence of appreciable interference, even with proper modifications, the standard deviation may be as high as 100 $\mu\text{g/L}$. Still greater errors may occur in testing waters having organic suspended solids or heavy pollution. Avoid errors due to carelessness in collecting samples, prolonging the completion of test, or selecting an unsuitable modification.

6. References

- BENSON, B.B. & D. KRAUSE, JR. 1984. The concentration and isotopic fractionation of oxygen dissolved in freshwater and seawater in equilibrium with the atmosphere. *Limnol. Oceanogr.* 29:620.
- BENSON, B.B. & D. KRAUSE, JR. 1980. The concentration and isotopic fractionation of gases dissolved in fresh water in equilibrium with the atmosphere: 1. Oxygen. *Limnol. Oceanogr.* 25:662.
- MORTIMER, C.H. 1981. The oxygen content of air-saturated fresh waters over ranges of temperature and atmospheric pressure of limnological interest. *Int. Assoc. Theoret. Appl. Limnol.*, Communication No. 22, Stuttgart, West Germany.
- SULZER, F. & W.M. WESTGARTH. 1962. Continuous D. O. recording in activated sludge. *Water Sewage Works* 109: 376.
- UNITED NATIONS EDUCATIONAL, SCIENTIFIC & CULTURAL ORGANIZATION. 1981. Background Papers and Supporting Data on the Practical Salinity Scale 1978. Tech. Paper Mar. Sci. No. 37.

4500-O D. Permanganate Modification

General Discussion

Use the permanganate modification only on samples containing ferrous iron. Interference from high concentrations of ferric iron (up to several hundred milligrams per liter), as in acid mine water, may be overcome by the addition of 1 mL potassium fluoride (KF) and azide, provided that the final titration is made immediately after acidification.

This procedure is ineffective for oxidation of sulfite, thiosulfate, polythionate, or the organic matter in wastewater. The error with samples containing 0.25% by volume of digester waste from manufacture of sulfite pulp may amount to 7 to 8 mg DO/L. With such samples, use the alkali-hypochlorite modification.¹ At

best, however, the latter procedure gives low results, the deviation amounting to 1 mg/L for samples containing 0.25% digester wastes.

2. Reagents

All the reagents required for Method C, and in addition:
a. Potassium permanganate solution: Dissolve 6.3 g KMnO_4 in distilled water and dilute to 1 L.

b. Potassium oxalate solution: Dissolve 2 g $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ in 100 mL distilled water; 1 mL will reduce about 1.1 mL permanganate solution.

ANEXO 2:

MÉTODO ANALÍTICO EMPLEADO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO).

STANDARD METHODS APHA-AWWA: 5220 D.

duces a potential source of contamination and increases the probability of leakage. Use an oven for culture-tube digestion only when it has been determined that 2 h exposure at 150°C will not damage the caps.

d. Ampule sealer: Use only a mechanical sealer to insure strong, consistent seals.

3. Reagents

a. Standard potassium dichromate digestion solution, 0.0167M: Add to about 500 mL distilled water 4.913 g $K_2Cr_2O_7$, primary standard grade, previously dried at 103°C for 2 h, 167 mL conc H_2SO_4 , and 33.3 g $HgSO_4$. Dissolve, cool to room temperature, and dilute to 1000 mL.

b. Sulfuric acid reagent: See Section 5220B.3b.

c. Ferroin indicator solution: See Section 5220B.3c.

d. Standard ferrous ammonium sulfate titrant (FAS), approximately 0.10M: Dissolve 39.2 g $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ in distilled water. Add 20 mL conc H_2SO_4 , cool, and dilute to 1000 mL. Standardize solution daily against standard $K_2Cr_2O_7$ digestion solution as follows:

Add reagents according to Table 5220:I to a culture tube containing the correct volume of distilled water substituted for sample. Cool tube to room temperature and add 0.05 to 0.10 mL (1 to 2 drops) ferroin indicator and titrate with FAS titrant.

Molarity of FAS solution

$$\frac{\text{Volume 0.0167M } K_2Cr_2O_7 \text{ solution titrated, mL}}{\text{Volume FAS used in titration, mL}} \times 0.10$$

e. Sulfamic acid: See Section 5220B.3f.

f. Potassium hydrogen phthalate standard: See Section 5220B.3g.

4. Procedure

Wash culture tubes and caps with 20% H_2SO_4 before first use to prevent contamination. Refer to Table 5220:I for proper sample and reagent volumes. Place sample in culture tube or ampule and add digestion solution. Carefully run sulfuric acid reagent down inside of vessel so an acid layer is formed under the sample-digestion solution layer. Tightly cap tubes or seal ampules, and invert each several times to mix completely. **CAUTION: Wear face shield and protect hands from heat produced when contents of vessels are mixed. Mix thoroughly before applying heat to prevent local heating of vessel bottom and possible explosive reaction.**

5220 D. Closed Reflux, Colorimetric Method

1. General Discussion

a. Principle: See Section 5220B.1a. Colorimetric reaction vessels are sealed glass ampules or capped culture tubes. Oxygen consumed is measured against standards at 600 nm with a spectrophotometer.

b. Interferences and limitations: See Section 5220C.1b.

2. Apparatus

a. See Section 5220C.2.

TABLE 5220:I. SAMPLE AND REAGENT QUANTITIES FOR VARIOUS DIGESTION VESSELS

Digestion Vessel	Sample mL	Digestion Solution mL	Sulfuric Acid Reagent mL	Total Final Volume mL
Culture tubes:				
16 × 100 mm	2.5	1.5	3.5	7.5
20 × 150 mm	5.0	3.0	7.0	15.0
25 × 150 mm	10.0	6.0	14.0	30.0
Standard 10-mL ampules	2.5	1.5	3.5	7.5

Place tubes or ampules in block digester or oven preheated to 150°C and reflux for 2 h. Cool to room temperature and place vessels in test tube rack. Remove culture tube caps and add small TFE-covered magnetic stirring bar. If ampules are used, transfer contents to a larger container for titrating. Add 0.05 to 0.10 mL (1 to 2 drops) ferroin indicator and stir rapidly on magnetic stirrer while titrating with 0.10M FAS. The end point is a sharp color change from blue-green to reddish brown, although the blue-green may reappear within minutes. In the same manner reflux and titrate a blank containing the reagents and a volume of distilled water equal to that of the sample.

5. Calculation

$$\text{COD as mg O}_2/\text{L} = \frac{(A - B) \times M \times 8000}{\text{mL sample}}$$

where:

- A* = mL FAS used for blank,
- B* = mL FAS used for sample, and
- M* = molarity of FAS.

6. Precision and Bias

Sixty synthetic samples containing potassium hydrogen phthalate and NaCl were tested by six laboratories. At an average COD of 195 mg O_2/L in the absence of chloride, the standard deviation was ± 11 mg O_2/L (coefficient of variation, 5.6%). At an average COD of 208 mg O_2/L and 100 mg Cl^-/L , the standard deviation was ± 10 mg O_2/L (coefficient of variation, 4.8%).

b. Spectrophotometer, for use at 600 nm with access opening adapter for ampule or 16-, 20-, or 25-mm tubes.

3. Reagents

a. Digestion solution: Add to about 500 mL distilled water 10.216 g $K_2Cr_2O_7$, primary standard grade, previously dried at 103°C for 2 h, 167 mL conc H_2SO_4 , and 33.3 g $HgSO_4$. Dissolve, cool to room temperature, and dilute to 1000 mL.

b. Sulfuric acid reagent: See 5220B.3b.

- c. *Sulfamic acid*: See Section 5220B.3f.
 d. *Potassium hydrogen phthalate standard*: See Section 5220B.3g.

4. Procedure

a. *Treatment of samples*: Measure suitable volume of sample and reagents into tube or ampule as indicated in Table 5220:I. Prepare, digest, and cool samples, blank, and one or more standards as directed in Section 5220C.4.

b. *Measurement of dichromate reduction*: Invert cooled samples, blank, and standards several times and allow solids to settle before measuring absorbance. Dislodge solids that adhere to container wall by gentle tapping and settling. Insert unopened tube or ampule through access door into light path of spectrophotometer set at 600 nm. Read absorbance and compare to calibration curve. Use optically matched culture tubes or ampules for greater sensitivity; discard scratched or blemished glassware.

c. *Preparation of calibration curve*: Prepare at least five standards from potassium hydrogen phthalate solution with COD equivalents from 20 to 900 mg O₂/L. Make up to volume with distilled water; use same reagent volumes, tube, or ampule size, and digestion procedure as for samples. Prepare calibration curve for each new lot of tubes or ampules or when standards prepared in ¶ 4a differ by ≥5% from calibration curve.

5. Calculation

$$\text{COD as mg O}_2/\text{L} = \frac{\text{mg O}_2 \text{ in final volume} \times 1000}{\text{mL sample}}$$

6. Precision and Bias

Forty-eight synthetic samples containing potassium hydrogen phthalate and NaCl were tested by five laboratories. At an average COD of 193 mg O₂/L in the absence of chloride, the standard deviation was ± 17 mg O₂/L (coefficient of variation 8.7%). At an average COD of 212 mg O₂/L and 100 mg Cl⁻/L, the standard deviation was ± 20 mg O₂/L (coefficient of variation, 9.6%).

7. Bibliography

- JIRKA, A.M. & M.J. CARTER. 1975. Micro semi-automated analysis of surface and wastewaters for chemical oxygen demand. *Anal. Chem.* 47:1397.
 HIMEBAUGH, R.R. & M.J. SMITH. 1979. Semi-micro tube method for chemical oxygen demand. *Anal. Chem.* 51:1085.

5310 TOTAL ORGANIC CARBON (TOC)*

5310 A. Introduction

1. General Discussion

The organic carbon in water and wastewater is composed of a variety of organic compounds in various oxidation states. Some of these carbon compounds can be oxidized further by biological or chemical processes, and the biochemical oxygen demand (BOD) and chemical oxygen demand (COD) may be used to characterize these fractions. The presence of organic carbon that does not respond to either the BOD or COD test makes them unsuitable for the measurement of total organic carbon. Total organic carbon (TOC) is a more convenient and direct expression of total organic content than either BOD or COD, but does not provide the same kind of information. If a repeatable empirical relationship is established between TOC and BOD or COD, then TOC can be used to estimate the accompanying BOD or COD. This relationship must be established independently for each set of matrix conditions, such as various points in a treatment process. Unlike BOD or COD, TOC is independent of the oxidation state of the organic matter and does not measure other organically bound elements, such as nitrogen and hydrogen, and inorganics that can contribute to the oxygen demand measured by BOD and COD. TOC measurement does not replace BOD and COD testing.

To determine the quantity of organically bound carbon, the organic molecules must be broken down to single carbon units

and converted to a single molecular form that can be measured quantitatively. TOC methods utilize heat and oxygen, ultraviolet irradiation, chemical oxidants, or combinations of these oxidants to convert organic carbon to carbon dioxide (CO₂). The CO₂ may be measured directly by a nondispersive infrared analyzer, it may be reduced to methane and measured with a flame ionization detector, or CO₂ may be titrated chemically.

2. Fractions of Total Carbon

The methods and instruments used in measuring TOC analyze fractions of total carbon (TC) and measure TOC by two or more determinations. These fractions of total carbon are defined as: inorganic carbon (IC)—the carbonate, bicarbonate, and dissolved CO₂; total organic carbon (TOC)—all carbon atoms covalently bonded in organic molecules; dissolved organic carbon (DOC)—the fraction of TOC that passes through a 0.45-µm-pore-diam filter; particulate organic carbon (POC)—also referred to as nondissolved organic carbon, the fraction of TOC retained by a 0.45-µm filter; volatile organic carbon (VOC)—also referred to as purgeable organic carbon, the fraction of TOC removed from an aqueous solution by gas stripping under specified conditions; and nonpurgeable organic carbon (NPOC)—the fraction of TOC not removed by gas stripping.

In most water samples, the IC fraction is many times greater than the TOC fraction. Eliminating or compensating for IC interferences requires multiple determinations to measure true TOC.

* Approved by Standard Methods Committee, 1990.

5220B.4a, C.4, or D.4. Use procedure 5220B.4b to determine, with lesser accuracy, COD values from 5 to 50 mg O₂/L.

2. Interferences and Limitations

Volatile straight-chain aliphatic compounds are not oxidized to any appreciable extent. This failure occurs partly because volatile organics are present in the vapor space and do not come in contact with the oxidizing liquid. Straight-chain aliphatic compounds are oxidized more effectively when silver sulfate (Ag₂SO₄) is added as a catalyst. However, Ag₂SO₄ reacts with chloride, bromide, and iodide to produce precipitates that are oxidized only partially. The difficulties caused by the presence of the halides can be overcome largely, though not completely, by complexing with mercuric sulfate (HgSO₄) before the refluxing procedure. Although 1 g HgSO₄ is specified for 50 mL sample, a lesser amount may be used where sample chloride concentration is known to be less than 2000 mg/L, as long as a 10:1 ratio of HgSO₄:Cl⁻ is maintained. Do not use the test for samples containing more than 2000 mg Cl⁻/L. Techniques designed to measure COD in saline waters are available.^{1,2}

Nitrite (NO₂⁻) exerts a COD of 1.1 mg O₂/mg NO₂⁻-N. Because concentrations of NO₂⁻ in waters rarely exceed 1 or 2 mg NO₂⁻-N/L, the interference is considered insignificant and usually is ignored. To eliminate a significant interference due to NO₂⁻, add 10 mg sulfamic acid for each mg NO₂⁻-N present in the sample volume used; add the same amount of sulfamic acid to the reflux vessel containing the distilled water blank.

Reduced inorganic species such as ferrous iron, sulfide, manganous manganese, etc., are oxidized quantitatively under the test conditions. For samples containing significant levels of these species, stoichiometric oxidation can be assumed from known initial concentration of the interfering species and corrections can be made to the COD value obtained.

3. Sampling and Storage

Preferably collect samples in glass bottles. Test unstable samples without delay. If delay before analysis is unavoidable, preserve sample by acidification to pH ≤ 2 using conc H₂SO₄. Preferably acidify any sample that cannot be analyzed the same day it is collected. Blend samples containing settleable solids with a homogenizer to permit representative sampling. Make preliminary dilutions for wastes containing a high COD to reduce the error inherent in measuring small sample volumes.

4. References

- BURNS, E.R. & C. MARSHALL. 1965. Correction for chloride interference in the chemical oxygen demand test. *J. Water Pollut. Control Fed.* 37:1716.
- BAUMANN, F.I. 1974. Dichromate reflux chemical oxygen demand: A proposed method for chloride correction in highly saline waters. *Anal. Chem.* 46:1336.

5220 B. Open Reflux Method

1. General Discussion

a. Principle: Most types of organic matter are oxidized by a boiling mixture of chromic and sulfuric acids. A sample is refluxed in strongly acid solution with a known excess of potassium dichromate (K₂Cr₂O₇). After digestion, the remaining unreduced K₂Cr₂O₇ is titrated with ferrous ammonium sulfate to determine the amount of K₂Cr₂O₇ consumed and the oxidizable organic matter is calculated in terms of oxygen equivalent. Keep ratios of reagent weights, volumes, and strengths constant when sample volumes other than 50 mL are used. The standard 2-h reflux time may be reduced if it has been shown that a shorter period yields the same results.

2. Apparatus

Reflux apparatus, consisting of 500- or 250-mL erlenmeyer flasks with ground-glass 24/40 neck* and 300-mm jacket Liebig, West, or equivalent condenser† with 24/40 ground-glass joint, and a hot plate having sufficient power to produce at least 1.4 W/cm² of heating surface, or equivalent.

3. Reagents

a. Standard potassium dichromate solution, 0.0417M: Dissolve 12.259 g K₂Cr₂O₇, primary standard grade, previously dried at 103°C for 2 h, in distilled water and dilute to 1000 mL.

* Corning 5000 or equivalent.

† Corning 2360, 91548, or equivalent.

b. Sulfuric acid reagent: Add Ag₂SO₄, reagent or technical grade, crystals or powder, to conc H₂SO₄ at the rate of 5.5 g Ag₂SO₄/kg H₂SO₄. Let stand 1 to 2 d to dissolve Ag₂SO₄.

c. Ferroin indicator solution: Dissolve 1.485 g 1,10-phenanthroline monohydrate and 695 mg FeSO₄·7H₂O in distilled water and dilute to 100 mL. This indicator solution may be purchased already prepared.‡

d. Standard ferrous ammonium sulfate (FAS) titrant, approximately 0.25M: Dissolve 98 g Fe(NH₄)₂(SO₄)₂·6H₂O in distilled water. Add 20 mL conc H₂SO₄, cool, and dilute to 1000 mL. Standardize this solution daily against standard K₂Cr₂O₇ solution as follows:

Dilute 10.0 mL standard K₂Cr₂O₇ to about 100 mL. Add 30 mL conc H₂SO₄ and cool. Titrate with FAS titrant using 0.10 to 0.15 mL (2 to 3 drops) ferroin indicator.

Molarity of FAS solution

$$\frac{\text{Volume } 0.0417M \text{ K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \text{ solution titrated, mL}}{\text{Volume FAS used in titration, mL}} \times 0.25$$

e. Mercuric sulfate, HgSO₄, crystals or powder.

f. Sulfamic acid: Required only if the interference of nitrites is to be eliminated (see 5220A.2 above).

g. Potassium hydrogen phthalate (KHP) standard: Lightly crush and then dry potassium hydrogen phthalate (HOOC₆H₄COOK)

‡ GFS Chemical Co., Columbus, Ohio.

to constant weight at 120°C. Dissolve 425 mg in distilled water and dilute to 1000 mL. KHP has a theoretical COD¹ of 1.176 mg O₂/mg and this solution has a theoretical COD of 500 µg O₂/mL. This solution is stable when refrigerated for up to 3 months in the absence of visible biological growth.

4. Procedure

a. Treatment of samples with COD of >50 mg O₂/L: Place 50.0 mL sample (for samples with COD of >900 mg O₂/L, use smaller sample portion diluted to 50.0 mL) in a 500-mL refluxing flask. Add 1 g HgSO₄, several glass beads, and very slowly add 5.0 mL sulfuric acid reagent, with mixing to dissolve HgSO₄. Cool while mixing to avoid possible loss of volatile materials. Add 25.0 mL 0.0417M K₂Cr₂O₇ solution and mix. Attach flask to condenser and turn on cooling water. Add remaining sulfuric acid reagent (70 mL) through open end of condenser. Continue swirling and mixing while adding the sulfuric acid reagent. **CAUTION:** *Mix reflux mixture thoroughly before applying heat to prevent local heating of flask bottom and a possible blowout of flask contents.*

Cover open end of condenser with a small beaker to prevent foreign material from entering refluxing mixture and reflux for 2 h. Cool and wash down condenser with distilled water. Disconnect reflux condenser and dilute mixture to about twice its volume with distilled water. Cool to room temperature and titrate excess K₂Cr₂O₇ with FAS, using 0.10 to 0.15 mL (2 to 3 drops) ferroin indicator. Although the quantity of ferroin indicator is not critical, use the same volume for all titrations. Take as the end point of the titration the first sharp color change from blue-green to reddish brown. The blue-green may reappear. In the same manner, reflux and titrate a blank containing the reagents and a volume of distilled water equal to that of sample.

b. Alternate procedure for low-COD samples: Follow procedure of ¶ 4a, with two exceptions: (i) use standard 0.00417M K₂Cr₂O₇, and (ii) titrate with 0.025M FAS. Exercise extreme care with this procedure because even a trace of organic matter on the glassware or from the atmosphere may cause gross errors. If a further increase in sensitivity is required, concentrate a larger volume of sample before digesting under reflux as follows: Add all reagents to a sample larger than 50 mL and reduce total volume to 150 mL by boiling in the refluxing flask open to the atmosphere without the condenser attached. Compute amount of HgSO₄ to be added (before concentration) on the basis of a

weight ratio of 10:1, HgSO₄:Cl⁻, using the amount of Cl⁻ present in the original volume of sample. Carry a blank reagent through the same procedure. This technique has the advantage of concentrating the sample without significant losses of easily digested volatile materials. Hard-to-digest volatile materials such as volatile acids are lost, but an improvement is gained over ordinary evaporative concentration methods.

c. Determination of standard solution: Evaluate the technique and quality of reagents by conducting the test on a standard potassium hydrogen phthalate solution.

5. Calculation

$$\text{COD as mg O}_2/\text{L} = \frac{(A - B) \times M \times 8000}{\text{mL sample}}$$

where:

- A = mL FAS used for blank,
- B = mL FAS used for sample, and
- M = molarity of FAS.

6. Precision and Bias

A set of synthetic samples containing potassium hydrogen phthalate and NaCl was tested by 74 laboratories. At a COD of 200 mg O₂/L in the absence of chloride, the standard deviation was ± 13 mg/L (coefficient of variation, 6.5%). At COD of 160 mg O₂/L and 100 mg Cl⁻/L, the standard deviation was ± 14 mg/L (coefficient of variation, 10.8%).

7. Reference

1. PITWELL, L.R. 1983. Standard COD. *Chem. Brit.* 19:907.

8. Bibliography

- MOORE, W.A., R.C. KRONER & C.C. RUCHHOFT. 1949. Dichromate reflux method for determination of oxygen consumed. *Anal. Chem.* 21:953.
- MEDALIA, A.I. 1951. Test for traces of organic matter in water. *Anal. Chem.* 23:1318.
- MOORE, W.A., F.J. LUDZACK & C.C. RUCHHOFT. 1951. Determination of oxygen-consumed values of organic wastes. *Anal. Chem.* 23:1297.
- DOBBS, R.A. & R.T. WILLIAMS. 1963. Elimination of chloride interference in the chemical oxygen demand test. *Anal. Chem.* 35:1064.

5220 C. Closed Reflux, Titrimetric Method

1. General Discussion

a. Principle: See 5220B.1a.

b. Interferences and limitations: See 5220A.2. Volatile organic compounds are more completely oxidized in the closed system because of longer contact with the oxidant. Before each use inspect culture-tube caps for breaks in the TFE liner. Select culture-tube size for the degree of sensitivity desired. Use the 25- × 150-mm tube for samples with low COD content because a larger volume sample can be treated.

2. Apparatus

a. Digestion vessels: Preferably use borosilicate culture tubes, 16- × 100-mm, 20- × 150-mm, or 25- × 150-mm, with TFE-lined screw caps. Alternatively, use borosilicate ampules, 10-mL capacity, 19- to 20-mm diam.

b. Heating block, cast aluminum, 45 to 50 mm deep, with holes sized for close fit of culture tubes or ampules.

c. Block heater or oven, to operate at 150 ± 2°C. **NOTE:** Severe damage of most culture tube closures from oven digestion intro-

ANEXO 3:

**BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CON ORGANISMO
DE PRUEBA *DAPHNIA*.**

STANDARD METHODS APHA-AWWA: 8711 A.

4. LAROCHE, G., R. EISLER & C.M. TARZWELL. 1970. Bioassay procedures for oil and oil dispersant toxicity evaluation. *J. Water Pollut. Control Fed.* 42:1982.
5. LOOSANOFF, V.L. & H.C. DAVIS. 1963. Rearing of bivalve mollusks. *Advan. Mar. Biol.* 1:1.
6. WOELKE, C.E. 1972. Development of a Receiving Water Quality Bioassay Criterion Based on the 48-h Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*) Embryo. Tech. Rep. 9. Washington Dep. Fisheries, Olympia.
7. DIMICK, R.E. & W.P. BREESE. 1965. Bay mussel embryo bioassay. *In Proc. 12th Pacific Northwest Industrial Waste Conf.*, Univ. Washington, Seattle. p. 165.
8. BUTLER, P.A. 1965. Reaction of some estuarine mollusks to environmental factors. *In C.M. Tarzwell, ed. Biological Problems in Water Pollution.* U.S. Public Health Serv. Publ. 999-WP-25, p. 92.
9. LOWE, J.I. 1964. Chronic exposure of spot, *Leiostomus xanthurus*, to sub-lethal concentrations of toxaphene in seawater. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 93:396.
10. HAVINGA, B. 1928. The daily rate of growth of oysters during summer. *J. Cons. Perma. Int. Explor. Mer.* 3:231.
11. ANDREWS, J.D. 1961. Measurement of shell growth in oysters by weighing in water. *Proc. Nat. Shellfish. Assoc.* 52:1.
12. LOWE, J.I., P.D. WILSON, A.J. RICK & A.J. WILSON, JR. 1971.

Chronic exposure of oysters to DDT, toxaphene and parathion. *Proc. Nat. Shellfish. Assoc.* 61:231.

4. Bibliography

- OKUBO, K. & T. OKUBO. 1962. Study of the bioassay method for the evaluation of water pollution. II. Use of fertilized eggs of sea urchins and bivalves. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.* No. 32.
- WOELKE, C.E. 1965. Bioassays of pulp mill wastes with oysters. *In C.M. Tarzwell, ed. Biological Problems in Water Pollution.* U.S. Public Health Serv. Publ. 999-WP-25, p. 67.
- WOELKE, C.E. 1965. Development of a Bioassay Method Using the Marine Alga, *Monochrysis lutheri*. Washington Dep. Fisheries Shellfish Progress Rep., Olympia.
- WOELKE, C.E. 1967. Measurement of water quality with the Pacific oyster embryo bioassay. *In Water Quality Criteria.* ASTM STP 416, p. 112., American Soc. Testing & Materials, Philadelphia, Pa.
- WOELKE, C.E. 1968. Application of shellfish bioassay results to the Puget Sound pulp mill problem. *Northwest Sci.* 42(4):125.
- WOELKE, C.E., T.D. SCHINK & E.W. SANBORN. 1970. Development of an *in situ* marine bioassay with clams. Annu. Rep. Oct. 1, 1969-Sept. 30, 1970. July 6, 1970. Washington Dep. Fisheries, Olympia.

8610 D. Reporting and Analyzing Results

Except for special studies, analyze data, calculate results, and report results as described in Section 8010G.

8710 MICROCRUSTACEANS

Microcrustaceans are arthropods that have a very important role in aquatic ecosystems. These planktonic animals harvest smaller organisms and serve as food for many larger animals. The extreme diversity of microcrustaceans requires a complex classification scheme.

Many microcrustaceans exhibit an interesting type of circadian rhythm, which is the vertical migrations normally regulated by light. The movement is typically up into or toward surface waters in the evening hours and back down into the deeper waters at other times, except for some upward movement around dawn.

The carbon content of a wide variety of zooplankton ranges

from approximately 30 to 40% of the dry weight, and the nitrogen and phosphorus values generally lie in the ranges of 5 to 10% and 0.5 to 1%, respectively.¹

The freshwater cladoceran, *Daphnia*, commonly known as the water flea, is used as a freshwater toxicity test organism. It belongs to the subclass Branchiopoda, of the class Crustacea.

Reference

1. PARSONS, T.R., M. TAKAHASHI & B. HARGRAVE. 1984. *Biological Oceanographic Processes.* Pergamon Press, Oxford, England.

8711 DAPHNIA*

8711 A. Introduction

Daphnia sp. are small freshwater crustaceans. They have been used for many years to assess the acute and chronic effects of single chemicals and complex mixtures.¹

1. Life History

D. pulex attains a maximum length of approximately 3.5 mm, whereas *D. magna* is much larger and attains a length of 5 to 6 mm. These species are differentiated with certainty only by determining the size and number of spines on the postabdominal claws when using a dissecting or compound microscope.²

* Approved by Standard Methods Committee. 1993.

The life span of *Daphnia*, from the release of the egg into the brood chamber until adult death, is highly variable and depends on species and environmental conditions.² Generally, it increases as temperature decreases. The average life span of *D. magna* is about 40 d at 25°C and about 56 d at 20°C. The average life span of *D. pulex* at 20°C is approximately 50 d. Four distinct life-cycle periods are recognized: egg,¹ juvenile, adolescent, and adult.² The adolescent period is a single instar between the last juvenile instar and the first adult instar; during this instar the first clutch of eggs reaches full development in the ovary.² Under laboratory conditions, a clutch of 6 to 10 eggs (15 to 20 eggs in older animals) typically is released into the brood chamber. The eggs hatch and the juveniles, already similar in form to the adults, are released in approximately 2 d when the female molts. The time required to reach sexual maturity varies from 6 to 10 d and appears to depend on temperature.¹ The growth rate is greatest during juvenile stages (early instars); body size may double during each of these stages. *D. pulex* has three to four juvenile instars, whereas *D. magna* has three to five juvenile instars. Each instar stage is terminated by a molt. Growth occurs immediately after each molt while the new carapace is still elastic.

Populations of *Daphnia* consist almost exclusively of females during most of the year; males are abundant only in spring or autumn. For most of the year reproduction is parthenogenic, and only females produce young.² Males are distinguished from females by their smaller size, larger antennules, modified postabdomen, and first legs having a stout hook used in clasping. Production of males appears to be induced principally by high population densities and subsequent accumulations of excretory

products and/or a decrease in available food. These conditions, along with exposure to temperature extremes, may induce the appearance of sexual (resting) eggs in cases (ephippia) that are cast off during the next molt. The shift towards male and sexual egg production appears related to the metabolic rate of the parent. As a rule, males and ephippia will not be observed unless stock cultures are neglected or the culture experiences stress.

2. References

1. WEBER, C.I., ed. 1991. Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents to Freshwater and Marine Organisms, 4th ed. EPA-600/4-90-027, Environmental Monitoring Systems Lab., U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio.
2. PENNAK, R.W. 1989. Freshwater Invertebrates of the United States, 3rd ed. John Wiley & Sons, New York, N.Y.

3. Bibliography

- ANDERSON, B.G. & L.J. ZUPANCIC, JR. 1937. Growth and variability in *Daphnia pulex*. *Biol. Bull.* 73:444.
- ANDERSON, B.G. & J.C. JENKINS. 1942. A time study of the events in the life span of *Daphnia pulex*. *Biol. Bull.* 83:260.
- ADEMA, D.M.M. 1978. *Daphnia magna* as a test animal in acute and chronic toxicity tests. *Hydrobiologia* 59:125.
- DOMA, S. 1979. Ehippia of *Daphnia magna* Straus—A technique for their mass production and quick revival. *Hydrobiologia* 67:183.
- CARVALHO, G.R. & R.N. HUGHES. 1983. The effect of food availability, female culture-density and photoperiod on ehippia *Daphnia magna* Straus (Crustacea:Cladocera). *Freshwater Biol.* 13:37.

8711 B. Selecting and Preparing Test Organisms

1. Obtaining and Selecting Test Species

Daphnia are widely available from many laboratories and commercial biological supply houses. Only 20 to 30 organisms are needed to start a culture. Some biologists prefer *D. pulex* to *D. magna* because it is more widely distributed and easier to culture. However, *D. magna* neonates (first instar) are larger and somewhat easier to use. Verify species used.

2. Culturing Organisms

a. Water supply: Although *Daphnia* cultures can be maintained successfully in some natural waters, preferably use a synthetic (reconstituted) water medium. Reconstituted water is easily prepared, is of known standardized quality, produces predictable results, and permits adequate growth and reproduction. Because daphniads are very sensitive to media hardness, reconstituted hard water (160 to 180 mg CaCO₃/L) is recommended for *D. magna*, whereas reconstituted moderately hard water (80 to 90 mg CaCO₃/L) is recommended for *D. pulex*.¹ See Table 8010:1 for materials needed to prepare reconstituted water.

Dissolve salts in distilled or deionized water and aerate vigorously for several hours before use. Initial pH is approximately 8.0 but it will rise as much as 0.5 unit as the *Daphnia* population increases. Although *Daphnia* can survive over a wide pH range, the optimum is 7.0 to 8.6.² Because pH usually remains within

this range, pH monitoring or adjustment during cultivation generally is unnecessary.

b. Food and feeding: Feed *Daphnia* either a suspension of trout chow, alfalfa, and yeast, or cultured green algae. If the former diet does not provide adequate nutrition for organisms used in acute toxicity tests, supplement with some green algae^{3,4} as discussed below. Prepare suspension as follows:

Place 6.3 g trout chow pellets,* 2.6 g dried yeast,† and 0.5 g dried alfalfa‡ in a blender jar. Add 500 mL deionized water and mix at high speed for 5 min. Let settle in a refrigerator for 1 h. Decant and save top 300 mL; discard remainder. Freeze 30- to 50-mL portions in small (50- to 100-mL) polyethylene bottles with screw caps. Thaw portions as needed. After thawing, refrigerate but do not hold for longer than 1 week.

Feed 1.5 mL prepared food per 1000 mL of medium, three times per week. There may be excess food at this rate of feeding, but if the medium is aerated continuously and replaced each week, no problems should result.

The green alga *Selenastrum capricornutum* (Printz) can be used as a *Daphnia* food source.⁵ Combinations of other green algae

* Conforming to U.S. Fish and Wildlife Service Specification PR(11)-78; obtainable at livestock feed stores.

† Fleischmann's or equivalent.

‡ Obtainable at most health food stores.

are also suitable (see three-algae/food procedure below). The *Selenastrum capricornutum* culture procedure produces 7-d-old cultures containing four to five million algal cells per mL and 2- to 4-d-old cultures containing one to three million cells per mL. Prepare algal food and feed it three times per week to *Daphnia* as follows:

Combine volumes of 7-d-old and 3-d-old algal cultures in a ratio of two volumes to one, respectively. Centrifuge algal cells and resuspend in a volume of reconstituted moderately hard or hard water calculated to yield a combined algal culture containing approximately ten million cells/mL. Add sufficient volume of cell suspension to stock cultures daily to provide approximately 300 000 algal cells/mL of culture, e.g., add approximately 30 mL cell suspension to 1 L *Daphnia* stock culture.

Food consisting of several species of algae is preferable.⁴ For example, use three algae, *Ankistrodesmus falcatus*, *Selenastrum capricornutum*, and either *Chlamydomonas reinhardi* or *Chlorella* sp. To prepare the algal mixture, centrifuge algae, wash in filter-sterilized lake water (water passed through 0.22- μ m filter), and centrifuge again. Transfer *Daphnia* to fresh culture water and feed using a sterile pasteur pipet by adding to *Daphnia* \leq 9 to 10 d old, 2 drops of each alga per *Daphnia* culture beaker or to *Daphnia* $>$ 9 to 10 d old, 1 drop of each alga per 2 adults, rounding up when there is an odd number of adults.

At the end of a work week (e.g., Friday) add 1 extra drop of each alga per *Daphnia* culture beaker. Adjust algae feed so that the algae are almost cleared before *Daphnia* are transferred to fresh culture beakers. If only 2 of the 3 algae are available, add proportionately more of the two algae.

c. Temperature: Protect *Daphnia* from sudden changes in temperature that may cause death or induce ephippial (sexual egg) production. Optimal temperature range is approximately 20° to 25°C. If laboratory temperatures are 20 \pm 2°C, normal growth and reproduction of *Daphnia* can be maintained.

d. Lighting: Variations in ambient light intensities (538 to 1076 lux) and prevailing day/night cycles in most laboratories do not affect *Daphnia* growth and reproduction significantly. Provide a minimum of 16 h of light/d.

e. Culture vessels: Use culture vessels of clear glass or plastic to allow easy observation. A practical culture vessel is a 3-L glass beaker filled with approximately 2.75 L of medium.

Maintain at least five culture vessels to ensure backup cultures. A 3-L vessel stocked with 30 *Daphnia* will provide approximately 300 young/week.

Wash all culture vessels before use. After culture is established, clean each chamber weekly with distilled or deionized water and wipe with a clean sponge to remove accumulated food and dead *Daphnia*. Monthly, wash each vessel with detergent during medium replacement. After washing, rinse three times with tap water and then with culture medium to remove all traces of detergent.

f. Air supply: *Daphnia* can survive when the dissolved oxygen concentration is as low as 3 mg/L but grow better when the concentration is above 6 mg/L. Gently but continuously aerate each culture vessel using an aquarium air pump or a general laboratory compressed air supply (oil-free).

g. Culture maintenance: Replace medium in each stock culture vessel weekly. If large tanks ($>$ 100 L) are used, weekly replacement may be unnecessary.

Cull *Daphnia* populations weekly to about 30 adults per stock vessel to prevent overcrowding, preferably during medium re-

placement. Transfer *Daphnia* with large-bore (~5-mm-diam) glass pipet (with fire-polished end) or disposable plastic pipet.

3. Selecting Test Organisms

Use *D. magna* or *D. pulex* neonates (first instar \leq 24 h old) preferably from the second or third brood, to initiate tests. To obtain young for a test, remove females bearing embryos from the stock cultures 24 h before starting the test and place them in 400-mL beakers containing 300 mL medium and either 0.5 mL trout chow yeast-alfalfa suspension (see B.2b) or 10 mL cultured algae. Use the young found in the beakers within 24 h. Five beakers, each containing 10 adults, usually will supply enough first instars for one toxicity test.

Because the appearance of ephippia is indicative of unfavorable conditions, do not use *Daphnia* from cultures producing ephippia.

4. References

1. WEBER, C.I., ed. 1991. Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents to Freshwater and Marine Organisms, 4th ed. EPA-600/4-90-027, Environmental Monitoring Systems Lab., U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio.
2. LEWIS, P.A. & C.I. WEBER. 1985. A study of the reliability of *Daphnia* acute toxicity tests. In R.D. Cardwell, R. Purdy & R.C. Bahner, eds., Seventh Symposium on Aquatic Toxicology and Hazard Assessment. ASTM STP 854, American Soc. Testing & Materials, Philadelphia, Pa.
3. WINNER, R.W., T. KEELING, R. YEAGER, & M.P. FARRELL. 1977. Effect of food type on the acute chronic toxicity of copper to *Daphnia magna*. *Freshwater Biol.* 7:343.
4. GOULDEN, C.E., R.M. COMOTTO, J.A. HENDRICKSON, JR., L.L. HORNIG & K.L. JOHNSON. 1982. Procedure and recommendations for the culture and use of *Daphnia* in bioassay studies. In J.G. Pearson, R.B. Foster & W.E. Bishop, eds. Aquatic Toxicology and Hazard Assessment. Fifth Symposium on Aquatic Toxicology. ASTM STP 766, American Soc. Testing & Materials, Philadelphia, Pa.
5. MILLER, W.E., J.C. GREENE & T. SHIROYAMA. 1978. The *Selenastrum capricornutum* Printz, Algal Assay Bottle Test. EPA-600/9-78-018, U.S. Environmental Protection Agency, Environmental Research Lab., Corvallis, Ore.

5. Bibliography

- DAVIS, P. & G.W. OZBURN. 1969. The pH tolerance of *Daphnia pulex* (Leydig, emend., Richard). *Can. J. Zool.* 47:1173.
- BIESINGER, K.E. & G.M. CHRISTENSEN. 1972. Effects of various metals on survival, growth, reproduction, and metabolism of *Daphnia magna*. *J. Fish. Res. Board Can.* 29:1691.
- TENBERGE, W.F. 1978. Breeding *Daphnia magna*. *Hydrobiologia* 59:121.
- PARENT, S. & R.D. CHEETHAM. 1980. Effects of acid precipitation on *Daphnia magna*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 25:298.
- SCHULTZ, T.W., S.R. FREEMAN & N.N. DUMONT. 1980. Uptake, depuration and distribution of selenium in *Daphnia* and its effects on survival and ultrastructure. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 9:23.
- PUCKE, S.C. 1981. Development and standardization of *Daphnia* culturing and bioassays. M.S. thesis, Univ. Cincinnati, Cincinnati, Ohio.
- LEONHARD, S.L. & S.C. LAWRENCE. 1981. *Daphnia magna* (Straus), *Daphnia pulex* (Leydig) Richard. In S.G. Lawrence, ed. Manual for the Culture of Selected Freshwater Invertebrates. *Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci.* 54:31.
- GOPHEN, M. & B. GOLD. 1981. The use of inorganic substances to stimulate gut evacuation in *Daphnia magna*. *Hydrobiologia* 80:43.

- HAVAS, M. 1981. Physiological response of aquatic animals to low pH. In R. Singer, ed. *Effects of Acidic Precipitation on Benthos*. North American Benthological Soc., Springfield, Ill.
- ALIBONE, M.R. & P. FAIR. 1981. The effects of low pH on the respiration of *Daphnia magna* Straus. *Hydrobiologia* 85:155.

- FRANCE, R.L. 1982. Comment on *Daphnia* respiration in low pH water. *Hydrobiologia* 94:195.
- WALTON, W.E., S.M. COMPTON, J.D. ALLAN & R.E. DANIELS. 1982. The effect of acid stress on survivorship and reproduction of *Daphnia pulex* (Crustacea:Cladocera). *Can. J. Zool.* 60:573.

8711 C. Procedures

1. Short-Term Tests

Prepare test materials and concentrations, dilution water, and toxicant solutions as described in Section 8010F. Make up test solutions and controls in 100-mL quantities in 125-mL wide-mouth flint-glass bottles or equivalent vessels.

After preparing test solutions, segregate neonates that have been released from the mothers' brood chambers during the preceding 24 h at 20°C or 25°C and collect in one vessel (neonates used in the test should have been cultured at the test temperature). Introduce the same number of neonates (at least 10) into each test vessel and control. Use a plastic, disposable pipet with a 5-mm bore for collecting and transferring neonates. Alternatively, use a glass bulb pipet.

Introduce neonates to test solutions by releasing them below the surface of the solution. Observe animals regularly, ideally after 1 h and 4 h and daily thereafter. A 48-h exposure is generally accepted for a *Daphnia* acute toxicity test.¹ Record number of motile animals in each test vessel. Consider an animal nonmotile if it shows no independent movement even after gentle squirting with test solution from a pipet (nonmotile animals are not necessarily dead). At threshold concentrations of such substances as ethanol, acetone, and chlorobutanol, animals may show no movement and the heart may have ceased to beat but on transfer to dilution water they will recover. However, such animals maintained in the test medium will die. Continue observations for a minimum of 48 h or as long as there is no more than 10% control mortality. Run tests in replicates of at least three.

Do not feed animals during tests. Longer-term tests require modifications of standard conditions.

2. Long-Term Tests

a. Determination of toxicity effect(s) on survival, growth, and reproduction: Sublethal effects may occur at lower toxicant concentrations than those causing acute toxicity. Precede long-term tests by acute (48-h) toxicity tests to establish the maximum concentration to be used.

b. Preparation of test medium: Prepare test medium as regular culture medium, but use water representative of that receiving the effluent discharge, or the dilution water used to culture the daphnids when testing chemicals. Prepare a series of 6 to 10 1-L quantities of medium to which graded amounts of effluents, mixtures, or chemicals have been added. Use as the highest concentration of chemical or effluent the equivalent to the 48-h LC50 or EC50 values. Reduce each successive concentration in a consistent progression (e.g., geometric). Use test dilution water as a negative control. Dispense each liter of test medium in 100-mL quantities to each of 10 glass or plastic chambers. Run tests in replicates of at least six (the minimum needed to detect statistical significance).

c. Performing tests: Preferably conduct test according to Good Laboratory Practice standards/regulations.²⁻⁵ Segregate and collect < 24-h-old neonate *Daphnia* that have been cultured at the test temperature. Introduce one neonate into each chamber randomly. On the following day and on alternate days thereafter, add an appropriate amount of food (see Section 8711B.2b). First-generation *Daphnia* (those animals used to begin the test) may be transferred to new media as necessary, but at least three times weekly. Make daily observations and note dead or immobilized animals. As the animals grow and reproduce, remove young and record their number. Cover all test chambers loosely with plate glass or equivalent to minimize evaporation. Continue test for 21 d at 25°C. If desired, continue observations until a set number of broods, e.g., six, are reached in control animals; this may take 30 d at 20°C. Handle animals as in the individual cultures of stock animals.

At the end of the exposure period, analyze results and test for statistically significant differences in the number of young produced, first-generation *Daphnia* survival, and, if appropriate, the dry weights of surviving animals in each treatment. Note appearance of first broods and number of broods. A test is invalid if control mortality exceeds 20% during exposure.

Assemble, analyze, evaluate, and report data as described in Section 8010G. Use regression analysis for statistical treatment.

3. References

- WEBER, C.I., ed. 1991. *Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents to Freshwater and Marine Organisms*, 4th ed. EPA-600/4-90-027, Environmental Monitoring Systems Lab., U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio.
- U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. 1987. *Good Laboratory Practice (GLP) Regulations for Nonclinical Laboratory Studies*. 21 CFR, Part 58.
- U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 1989. *Good Laboratory Practice Standards*. 40 CFR, Parts 160 and 792.
- ORGANIZATION OF ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT. 1989. *Principles of Good Laboratory Practice, Annex 2, OECD Guidelines for Testing of Chemicals C(81) 30(Final)*. *Offic. J. European Communities* 32(315):1.
- GARNER, W.Y. & M.S. BARGE, eds. 1988. *Good Laboratory Practices—An Agrochemical Perspective*. ACS Symp. Ser. 369, American Chemical Soc., Washington D.C.
- STEPHAN, C.E. & J.W. ROGERS. 1985. Advantages of using regression analysis to calculate results of chronic toxicity tests. In R.C. Bahner & D.J. Hansen, eds. *Aquatic Toxicity and Hazard Assessment*. Eighth Symposium on Aquatic Toxicology. ASTM STP 891, American Soc. Testing & Materials, Philadelphia, Pa.
- STEPHAN, C.E. 1989. Topics on expressing and predicting results of life cycle tests. In G.W. Sutter II & M.A. Lewis, eds. *Aquatic Toxicology and Environmental Fate*. Eleventh Symposium on Aquatic Toxicology. ASTM STP 1007, American Soc. Testing & Materials, Philadelphia, Pa.