



Remoción De Metales Pesados Presentes En Lodos De Plantas De Tratamiento De Aguas

Residuales Utilizando *Pleurotus Ostreatus*

Guamán Chilibingua, Wendy Carina

Departamento de Ciencias de la Vida y Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología

Msc. Camacho López, Christian Orlando

30 de agosto del 2023

Reporte de verificación de contenido

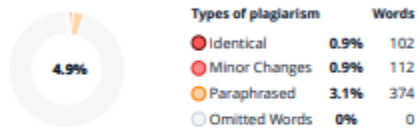


Guaman_Wendy_Trabajo_Integración...

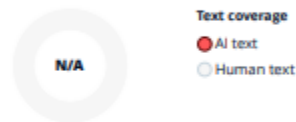
Scan details

Scan time: August 31th, 2023 at 15:57 UTC
Total Pages: 48
Total Words: 11934

Plagiarism Detection



AI Content Detection



Plagiarism Results: (5)

FINAL	4.3%
https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/211... laura ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL FACULTAD DE INGENIERÍA MARÍTIMA, CIENCIAS BIOLÓGICAS, OCEÁNICAS Y RECURSOS NATURALES...	
Aplicación del hongo pleurotus ostreatus como alte...	2.8%
https://11brary.co/document/ynpg521z-aplicacion-pleurotus-... --	
Estudio del potencial aprovechamiento de los lodos...	0.4%
https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=304... Yahaira Fernández Montes Universidad de La Salle Ciencia Unisalle Ingeniería Ambiental y Sanitaria Facultad de Ingeniería 2022 Estudio del potencial aprovecha...	

Firma:



Firmado electrónicamente por:
CHRISTIAN ORLANDO
CAMACHO LOPEZ

CAMACHO LOPEZ, CHRISTIAN ORLANDO

C. C. 1804639894



Departamento de Ciencias de la Vida y Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Certificación

Certifico que el trabajo de integración curricular: **"Remoción de metales pesados presentes en lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales utilizando *Pleurotus Ostreatus*"** fue realizado por el/los señor/señores **Guamán Chiliquina, Wendy Carina**, el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizada en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 30 de agosto de 2023

Firma:



.....
CAMACHO LOPEZ, CHRISTIAN ORLANDO

C. C. 1804639894



Departamento de Ciencias de la Vida
Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Autorización de Publicación

Yo/ nosotros **Guamán Chilibingua, Wendy Carina** con cédula de ciudadanía n° 171865524-2, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **"Remoción de metales pesados presentes en lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales utilizando *Pleurotus Ostreatus*"** el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 30 de agosto de 2023

Firma

Guaman Chilibingua, Wendy Carina

C.C.: 171865524-2



Departamento de Ciencias de la Vida
Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Responsabilidad de Autoría

Yo, Guamán Chiliquinga, Wendy Carina, con cédula de ciudadanía n° 171865524-2, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **“Remoción de metales pesados presentes en lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales utilizando *Pleurotus Ostreatus*”** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 30 de agosto de 2023

Firma

Guamán Chiliquinga, Wendy Carina

C.C.: 171865524-2

Dedicatoria

Dedico este trabajo a mi familia, mis padres, Lucia y Alfonso y mis hermanos, Dayra e Ismael, por haberme acompañado en esta trayectoria académica de forma incondicional.

A mi abuelita, Lucila y tía, Carmen por su ternura y amor desde mi infancia.

Agradecimientos

A mis padres, Alfonso y Lucia, por creer y confiar en mí, por impulsarme a ser mejor persona todos los días, les admiro demasiado; a mis hermanos, Dayra e Ismael, por ser mis confidentes de vida, por crecer juntos, por ser mi hogar. Los amo. Por su paciencia y amor incondicional estaré eternamente agradecida.

A toda mi familia, por su apoyo y compañía.

A mi profesor, Armando Reyna Bello por su confianza, apoyo y amistad desde los inicios de mi carrera universitaria. Por apasionarnos y hacer de la ciencia más interesante.

A mi tutor, Christian Camacho, por su guía en cada parte del proceso de mi proyecto de titulación.

A Paul Gamboa, por abrirme las puertas del Micolab y apoyarme en este proyecto de investigación. Por enseñarme y apasionarme por el vasto mundo de los hongos.

Al equipo del Micolab, Sylvia, Sara, Mabe, Miguel, Josue y Karen por ayudarme y compartir conmigo todos sus conocimientos, por hacer del laboratorio mi lugar feliz para aprender sobre hongos.

Al Laboratorio de Micología Aplicada, la Facultad de Ingeniería Química y a la Universidad Central por darme la oportunidad de desarrollar mi proyecto de titulación en sus instalaciones.

A mis amigas/os: Marjorie, Nicole, Lila, Maria Grazia y Daniel que la vida me permitió conocer y coincidir para compartir momentos memorables.

A mis amigas/os que hice en la universidad: Keyla, Diana, Evelyn, Alejandra, Tania, Lissette, Melanie, Roxana, Boris, Kevin, Joel, Brandon y Diego por acompañarme en mi etapa universitaria, estoy orgullosa de ustedes, les admiro y siempre les desearé lo mejor.

A Roxana, por ayudarme, enseñarme y escucharme con mucha paciencia cuando más lo necesitaba, por las risas y lágrimas compartidas. Tu presencia también es entrañable.

Finalmente, la experiencia y los conocimientos que adquirí en esta investigación han fortalecido mi compromiso con este campo. Espero contribuir al desarrollo del mismo en el futuro.

Wen

Tabla de contenido

Caratula.....	1
Reporte de verificación de contenido.....	2
Certificación	3
Responsabilidad de autoría	4
Autorización de Publicación.....	5
Dedicatoria.....	6
Agradecimientos	7
Tabla de contenido	8
Índice de figuras.....	14
Capítulo I.....	17
Introducción.....	17
Planteamiento del problema	17
Justificación del problema	18
Objetivos	21
Objetivo general.....	21
Objetivos específicos	21
Hipótesis	21
Diseño AXBXC.....	21

Hipótesis factor A (Concentración)	21
Hipótesis factor B (Temperatura)	22
Hipótesis factor C (Humedad).....	22
Capítulo II	23
Revisión de Literatura	23
Planta de Tratamiento de Agua Residual.....	23
Aguas Residuales.....	23
Lodos residuales.....	24
Tipos de Lodo Residual	24
Clasificación de lodos.....	24
En cuanto a su origen:.....	24
En cuanto a su nivel de tratamiento:.....	25
Contaminantes principales de lodos residuales	26
Contaminantes orgánicos	26
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP)	27
Productos farmacéuticos (PhC) y de cuidado personal (PCP).....	27
Nanopartículas.....	28
Patógenos	28
Contaminantes inorgánicos	29
Oligoelementos metálicos	29

	10
Metales Pesados	29
Toxicidad de metales pesados	30
Metales pesados esenciales y no esenciales	30
Tratamientos de lodos residuales.....	30
Tratamientos químicos	31
Ozono y Cloro.....	31
Oxidación húmeda (WO).....	32
Fenton y Foto-Fenton	32
Hidrólisis termoquímica (TCH)	33
Tratamientos termales.....	33
Pirólisis	33
Tratamientos biológicos.....	34
Biorremediación.....	34
Tipos de biorremediación	35
Fitorremediación.....	35
Biodegradación	35
Mikorremediación.....	35
Bioabsorción y Biacumulación de metales pesados por hongos.....	36
Pleurotus ostreatus.....	37
Capítulo III.....	38

	11
Metodología.....	38
Ubicación geográfica.....	38
Materiales	38
Recolección de la muestra	38
Análisis químico de las muestras	39
Crecimiento del hongo.....	39
Análisis Estadístico	40
Interacción de tratamientos Interacciones con sus respectivos tratamientos (Concentración de metales pesados, temperatura y humedad).....	41
Interacciones y tratamientos de la investigación	42
Tipo de diseño.....	42
Punto de recolección de muestra	43
Análisis químico de las muestras	44
Extracción de metales pesados.....	44
Activación del hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i>	46
Acondicionamiento del hongo	46
Inóculo primario.....	46
Inóculo secundario.....	47
Inóculo terciario	48
Capítulo IV Resultados	50
Análisis estadístico	53

Análisis descriptivo	53
Análisis de varianza (ANOVA) de Plomo	57
Pruebas de significancia de Tukey de la concentración de plomo (Factor A, Factor B y Factor C)	58
Análisis de varianza (ANOVA) de Cadmio	59
Pruebas de significancia de Tukey de la concentración de cadmio (Factor A y Factor B)	60
Análisis de Varianza (ANOVA) de Cobalto.....	60
Pruebas de significancia de Tukey de la concentración de cobalto (Factor A, Factor B y Factor C)	61
Discusión V	63
Caracterización los lodos contaminados por metales pesados	63
Identificación las condiciones óptimas para el desarrollo del hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i> en el lodo contaminado.....	64
Evaluación del proceso de biorremediación de metales pesados en el lodo contaminado	66
Conclusiones VI	70
Caracterización de lodos contaminados por metales pesados	70
Identificación las condiciones óptimas para el desarrollo del hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i> en el lodo contaminado.....	70
Evaluación del proceso de biorremediación de metales pesados en el lodo contaminado	71
Recomendaciones VII.....	72

Índice de tablas

Tabla 1 Tratamientos de lodos residuales	31
Tabla 2 Taxonomía de Pleurotus Ostreatus	37
Tabla 3 Materiales de muestreo de lodos	38
Tabla 4 Materiales para el análisis químico de las muestras	39
Tabla 5 Materiales para el crecimiento del hongo	39
Tabla 6 Materiales para el acondicionamiento del hongo	40
Tabla 7 Factores y niveles de la investigación	40
Tabla 8 Interacción con sus respectivos tratamientos.....	41
Tabla 9 Metales pesados agregados a los lodos	49
Tabla 10 Concentraciones iniciales de metales pesados	50
Tabla 11 Acondicionamiento del hongo en el inóculo primario	51
Tabla 12 Crecimiento miceliar a diferentes temperaturas	52
Tabla 13 Crecimiento miceliar a diferentes humedades	53
Tabla 14 Análisis de varianza para la remoción de Plomo.....	57
Tabla 15 Análisis de varianza para la remoción de Cadmio.....	59
Tabla 16 Análisis de varianza para la remoción de Cobalto	60
Tabla 17 Valores máximos permisibles para metales pesados	63

Índice de figuras

Figura 1 Planta de Tratamiento de Aguas Residuales del complejo ambiental, Santo Domingo de los Tsachilas	43
Figura 2 Activación de Pleurotus Ostreatus.....	46
Figura 3 Diluciones de lodos residuales y mezcla con medios de cultivo PDA	47
Figura 4 Inoculación secundaria de Pleurotus Ostreatus	48
Figura 5 Soluciones madre de metales pesados	48
Figura 6 Tendencia de la remoción de Plomo.....	54
Figura 7 Tendencia de la remoción de Cadmio.....	55
Figura 8 Tendencias en la remoción de Cobalto.....	56
Figura 9 Prueba de significación de Tukey para los factores en estudio	58
Figura 10 Prueba de significancia de Tukey de concentraciones (Factor A).....	60
Figura 11 Prueba de significancia de Tukey de concentraciones (Factor A).....	61

Resumen

Los metales pesados son elementos químicos que poseen una densidad alta, son conocidos por su toxicidad en el medio ambiente y la salud humana. La contaminación por metales pesados en agua y suelo son un problema causado por procesos industriales, mineros y demás actividades antropogénicas. Esta investigación tiene como objetivo remover metales pesados de lodos residuales utilizando *Pleurotus Ostreatus*. La parte experimental tuvo espacio en lugares diferentes, los análisis químicos se realizaron en el CENCINAT ubicado en la ESPE Matriz y ESPE Sede Santo Domingo, los análisis biológicos se realizaron en el Laboratorio de Micología Aplicada ubicada en la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Central del Ecuador. Se realizó el muestreo en el Complejo Ambiental de la empresa EP-CONST y posterior a eso los análisis químicos iniciales de metales pesados presentes en los lodos residuales. Se activó la cepa del hongo *Pleurotus Ostreatus* y se acondicionó con los lodos residuales en tres inóculos de crecimiento. Finalmente, se estudió la remoción metales pesados estudiados; Cadmio, Cobalto y Plomo, en el último inóculo ya adaptado a los lodos residuales y con diferentes concentraciones de los metales pesados. Los resultados mostraron la importancia de los factores ambientales (temperatura y humedad) vinculados al crecimiento óptimo del hongo y la mayor remoción de metales pesados en concentraciones bajas. Se concluyó, con los resultados del estudio que el hongo *Pleurotus Ostreatus* remueve metales pesados como Plomo, Cadmio y Cobalto, que varía notablemente según la concentración notablemente según la concentración inicial de los metales y las condiciones empleadas en cada tratamiento.

Palabras: Metales pesados, lodos residuales, micorremediación, *Pleurotus Ostreatus*.

Abstract

Heavy metals are chemical elements that have high density and are known for their toxicity to the environment and human health. Heavy metal contamination in water and soil is a problem caused by industrial processes, mining, and other anthropogenic activities. This research aims to remove heavy metals from sewage sludge using *Pleurotus Ostreatus*. The experimental part took place in different locations; chemical analyses were performed at CENCINAT located at ESPE Matriz and ESPE Sede Santo Domingo, while biological analyses were conducted at the Laboratory of Applied Mycology located at the Faculty of Chemical Engineering of the Central University of Ecuador. Sampling was carried out at the EP-CONST company's Environmental Complex, followed by the initial chemical analysis of heavy metals present in the sewage sludge. The *Pleurotus Ostreatus* fungus strain was activated and conditioned with the sewage sludge in three growth inocula. Finally, the removal of the heavy metals studied, namely Cadmium, Cobalt, and Lead, was examined in the last inoculum already adapted to the sewage sludge and with different concentrations of the heavy metals. The results underscored the significance of environmental factors (temperature and humidity) in relation to the optimal growth of the fungus and the enhanced removal of heavy metals at lower concentrations. In conclusion, based on the study results, it was found that the fungus *Pleurotus Ostreatus* effectively removes heavy metals such as Lead, Cadmium, and Cobalt, with significant variations depending on the initial metal concentrations and the conditions used in each treatment.

Key words: Heavy metals, sewage sludge, mycoremediation, *Pleurotus Ostreatus*

Capítulo I

Introducción

Planteamiento del problema

Los metales pesados son elementos químicos que poseen densidades altas, a bajas cantidades los metales pesados pueden mostrar toxicidad, al acumularse en tejidos corporales durante un extenso periodo de tiempo resultando perjudiciales para la salud humana. Algunos metales pesados tienen potencial cancerígeno, mutagénicos, y/o teratógenos en humanos y animales, se relacionan con la dosis (Ali, H., et al. 2019).

La contaminación por metales pesados es una preocupación a nivel mundial. Los metales pesados y metaloides más relevantes por el impacto negativo en el entorno medioambiental son: Cadmio, Cromo, Cobre, Mercurio, Manganeso, Níquel, Plomo, Zinc y Arsénico. Se estima que el contenido total de metales pesados presentes en lodos residuales es aproximadamente 0,5% a 2,0%, en peso seco y, en peso húmedo puede variar hasta un 4%, cambiando la cantidad de contaminación de un sitio a otro. La presencia o ausencia de estos elementos dependerá de las fuentes de aguas residuales tratadas (Ali, H., et al. 2019).

En todo el mundo las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR), producen cada año millones de toneladas de lodos residuales. Las descargas de aguas residuales a nivel industrial, municipal y agrícola en los ríos han sido identificadas como fuente importante de metales pesados en cuerpos acuáticos, mediante suspensión o sedimentan se liberan en columnas de agua. De esta forma, se convierten en una fuente secundaria de polución, alterando gravemente a los ecosistemas (Manoj, K., et al. 2012).

En la Unión Europea, el 30% de lodos residuales se emplean como fertilizantes en el sector agrícola para ello existen tres diferentes alternativas para el tratamiento: incineración, enterramiento y uso como fertilizante agrícola. (Sánchez, C. *et al.* 2017). En otros países como EEUU, Nueva Zelanda y Australia los lodos residuales no son utilizados únicamente en la agricultura, sino que además pueden ser reutilizados en bosques, montañas y otros suelos no dedicados a la agricultura (Sánchez, C. *et al.* 2017).

Investigaciones realizadas en países de Latinoamérica como México y Brasil, llegaron a la conclusión de que los lodos residuales después de eliminar cualquier compuesto que ha significado un grave problema pueden reutilizarse sin presentar riesgos a la salud, incrementando el rendimiento de los cultivos del 10 al 85% en comparación con los fertilizantes comunes, esto después de eliminar cualquier compuesto que ponga en riesgo su aplicación (Perez, M, 2016).

En Ecuador, la disposición final de los lodos que provienen de las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) es una de las principales incertidumbres, puesto que es una problemática reciente y escasamente estudiada en el país. Además, la información sobre el volumen total de lodos residuales generados en una PTAR, al igual que su impacto ambiental sobre los rellenos sanitarios, son desconocidos (Bermeo, A. *et al.* 2014).

La provincia de Santo Domingo produce aproximadamente 300 toneladas diarias de basura que representa anualmente 106.000 TM/año, esta basura es depositada en el complejo ambiental de la empresa pública EP-CONST donde se realizan el tratamiento de agua residual de sus lixiviados desconociendo sus componentes físico químicos. (GADM - SD, 2017).

Justificación del problema

Los metales pesados producen efectos tóxicos en la microbiota, plantas, animales y humanos por su permanencia en el ambiente dado que no son metabolizados en otros compuestos ni se

descomponen. Así pues, afectan la supervivencia, crecimiento y reproducción de un organismo vivo, ingresando a la cadena alimentaria a través de su transporte en agua, sedimentos y suelo. Por ejemplo, en los peces los metales pesados ingresan a su cuerpo de forma directa, desde el agua o sedimentos mediante las branquias/la piel o desde su canal alimentario (Paithankar et al., 2021)

En las plantas los metales pesados tienen efectos negativos en su crecimiento, puesto que, altas cantidades de metales pesados en suelos impiden la germinación de las semillas, del sistema vegetal, su producción, los elementos fisiológicos, bioquímicos y genéticos. Además, la transferencia de metales pesados del suelo a la planta es crucial en el paso a cadenas alimentarias. Las plantas absorben los metales pesados del suelo contaminado y después son consumidos por animales herbívoros. Así pues, la cadena alimentaria humana también se verá perjudicada por la contaminación en los cultivos.

Un estudio realizado por la Universidad de Malakand evaluó la susceptibilidad de contaminación en cultivos de arroz por metales pesados, tales como; Cadmio (Cd), Plomo (Pb), Mercurio (Hg) y Arsénico (As), convirtiéndolo en un problema de salud pública. Por ejemplo, dicho estudio revela que la ingesta humana de cadmio es mayor mediante el consumo de arroz. Por esta razón, organismos internacionales como la Agencia para el Registro de Sustancias Tóxicas y Enfermedades (ATSDR), el programa para el Medio Ambiente (PNUMA), la Agencia de Protección del Medio Ambiente de los EEUU (EPA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) consideran estos elementos altamente peligrosos (Ali et al., 2019).

Otras formas de ingreso de los metales pesados al cuerpo humano ocurren por la exposición a aguas contaminadas a través de absorción dérmica e inhalación. Los metales se absorben principalmente a través del intestino ya que son solubles en agua y se transmiten a otros órganos a través del sistema circulatorio. La inhalación de los metales pesados en bajas concentraciones afecta el tracto respiratorio y varias células endoteliales, epiteliales, etc (Ali & Khan, 2018).

Las plantas de tratamiento de aguas residuales permiten eliminar altas cantidades de contaminantes químicos y biológicos, sin embargo, los metales pesados persisten en los lodos residuales resultantes del proceso, los mismos que deberán ser tratados antes de ser depositados al ambiente. Actualmente, los lodos residuales son depositados en vertederos, dado que son considerados únicamente como un desecho (Brown et al., 1973).

Estos lodos pueden ser aprovechados en la recuperación de suelos degradados, fertilizantes, compostaje, fertilización de plantaciones forestales, generación de energía, material de construcción, entre otros. Sin embargo, una característica común de los lodos residuales es el alto contenido de metales pesados más o menos acomplejados con la fracción orgánica, lo cual impide su aplicación en el sector agrícola (Oliver & Cosgrove, 1974).

En Ecuador existen alrededor de ocho tipos de tratamientos para lodos residuales en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales, siendo la disposición final de lodos tratados y sin tratar en rellenos sanitarios el 50%, seguidos del 30% que siguen almacenados en la PTAR y el 20% se aplican directamente al suelo o pantanos secos (Pinto & Rodrigues, 2022).

Una de las estrategias para degradar o eliminar contaminantes de lodos residuales permitiendo su reutilización es la biorremediación, que emplea agentes biológicos que permiten disminuir elevadas cantidades de compuestos tóxicos. Existe una gran variedad de biomasa viva y muerta de bacterias, algas, hongos y plantas capaces de secuestrar metales tóxicos de sedimentos residuales, un ejemplo de ello es la micosorción que es la biosorción de metales, por hongos y levaduras (Singh, H. 2006).

Así, tratar los lodos residuales no solo presenta beneficios ambientales a las PTAR, sino que además puede generar un ingreso económico al transformarlo en abono, o para la producción de energías renovables como el biogás. Por lo cual, la presente investigación se centra en la remoción de

metales pesados presentes en lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales utilizando *Pleurotus Ostreatus* que permitan este fin.

Finalmente, el tratamiento de lodos residuales beneficiaría de forma directa a los agricultores de Santo Domingo de los Tsáchilas, debido a que es un sector altamente agrícola, pudiendo reutilizar este insumo para fertilizar la tierra de sus cultivos, mejorando la producción.

Objetivos

Objetivo general

Remover metales pesados presentes en lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales utilizando *Pleurotus Ostreatus*.

Objetivos específicos

- Caracterizar los lodos contaminados por metales pesados.
- Identificar las condiciones óptimas para el desarrollo del hongo *Pleurotus Ostreatus* en el lodo contaminado.
- Evaluar el proceso de biorremediación de metales pesados en el lodo contaminado.

Hipótesis

Diseño AXBXC

Hipótesis factor A (Concentración)

H01: No hay diferencia significativa en las concentraciones de metales pesados en los lodos contaminados después de aplicar el proceso de biorremediación con *Pleurotus Ostreatus*.

HI1: El proceso de biorremediación utilizando *Pleurotus Ostreatus* tiene un efecto significativo en la reducción de las concentraciones de metales pesados en los lodos contaminados.

Hipótesis factor B (Temperatura)

H0: No hay diferencia significativa en el desarrollo del hongo *Pleurotus Ostreatus* en los lodos contaminados bajo diferentes condiciones de temperatura.

HI: El desarrollo del hongo *Pleurotus Ostreatus* en los lodos contaminados varía significativamente bajo diferentes condiciones de temperatura.

Hipótesis factor C (Humedad)

H0: No hay diferencia significativa en el desarrollo del hongo *Pleurotus Ostreatus* en los lodos contaminados bajo diferentes condiciones de humedad.

HI: El desarrollo del hongo *Pleurotus Ostreatus* en los lodos contaminados varía significativamente bajo diferentes condiciones de humedad.

Capítulo II

Revisión de Literatura

Planta de Tratamiento de Agua Residual

Las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (PTARs), están conformadas por varias operaciones unitarias que involucran procesos químicos, físicos y biológicos que permiten tratar el agua residual de diferentes efluentes con el fin de realizar una depuración de forma individualizada (Nemerow et al., 2009).

El agua residual atraviesa por diferentes etapas para disminuir microorganismos patógenos, materia orgánica y sólidos suspendidos, evitando que la disposición final del agua residual genere algún tipo de contaminación en el ambiente y así cumplir con los estándares de descarga. La eficiencia de depuración que tenga una PTAR depende de los procesos utilizados y de la escala (Nemerow et al., 2009)

Aguas Residuales

Las aguas residuales provienen de actividades antropológicas, que se clasifican en: domésticas, industriales y agrícolas. El aumento de las actividades industriales y el crecimiento poblacional hacen que se produzcan mayores volúmenes de aguas residuales de fuentes industrial y doméstica, las cuales tienen diversos contaminantes; y es necesario procesarlas en las PTARs antes de su disposición final (Trejos Vélez & Agudelo Cardona, 2012).

Las PTARs generan subproductos que principalmente incluyen: basuras, arena, espumas y lodos, concentrando compuestos peligrosos que forman parte de las aguas residuales. El lodo obtenido de las PTARs en diferentes procesos de tratamientos se clasifica: residuo sólido, semisólido o líquido, en el cual la composición varía dependiendo de las características del agua residual y del tratamiento empleado en la planta (Nemerow et al., 2009)

Lodos residuales

Los lodos residuales, en la industria son llamados como biosólidos y se refieren a la parte sólida o sólida - líquida resultantes de las etapas de tratamiento primario, secundario y terciario realizadas en plantas de tratamiento de agua residual. Los lodos residuales poseen compuestos orgánicos, microorganismos y contaminantes del agua tratada. El volumen de producción de lodos incrementa a medida que la población crece, y se vuelve un problema para las PTAR ya que su disposición final sin previo tratamiento genera una problemática ambiental (Gualberto et al., 2013).

Tipos de Lodo Residual

Los lodos producidos en las instalaciones de tratamiento de aguas residuales exhiben una amplia gama de características y propiedades, las cuales están asociadas tanto al método de descontaminación utilizado como al origen del agua en cuestión (Reis et al., 2019) .

Los lodos que generan las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) son una combinación de aguas residuales y sólidos sedimentados. Según su origen, se clasifican en lodos primarios, secundarios y terciarios. Por su estado de tratamiento, pueden denominarse lodos crudos o frescos, lodos digeridos o tratados, y lodos húmedos o secos (Reis et al., 2019) .

Más adelante se describen las características más relevantes de cada tipo de lodo.

Clasificación de lodos

En cuanto a su origen:

Estos lodos se consiguen a partir de las técnicas de tratamiento primario de las aguas residuales. También se considera lodo primario aquel que se encuentra en el fondo del tanque de sedimentación primaria. Las características de estos residuos varían en función de las peculiaridades del área de recolección de las aguas (Zat et al., 2021).

Por lo general, contienen materia orgánica, restos vegetales, frutas, papel, entre otros, y su contenido de humedad fluctúa en un rango de aproximadamente el 93% al 97%. El color de los lodos varía en función de la dosis aplicada, por ejemplo, una dosis elevada de hidróxido de sodio resultará en lodos de color blanco, mientras que dosis más bajas darán lugar a lodos de color café (Zat et al., 2021).

Lodos secundarios

Este tipo de lodos se generan en técnicas de tratamiento biológico que transforman residuos o sustratos solubles en biomasa. Además, incluye la materia sólida que persiste en el agua después de la sedimentación primaria y se incorpora a la biomasa. La cantidad de lodos secundarios producidos depende de diversos factores, como la eficacia del procedimiento primario, la relación entre los Sólidos Suspendidos Totales (SST) y la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), el sustrato soluble, la eliminación de nutrientes y los juicios de diseño del sistema de tratamiento (Nancharaiah & Sarvajith, 2019)

Lodos terciarios

Los lodos terciarios resultan de procesos avanzados de tratamiento de aguas residuales, como la precipitación química y la filtración. En estos procesos, se utilizan productos químicos como aluminio, hierro, sales, cal o polímeros orgánicos, los cuales aumentan la masa y, por lo general, el volumen del lodo. En general, si se emplea cal o polímeros, las propiedades de espesamiento y deshidratación del lodo serán mejores. (Gualberto et al., 2013).

En cuanto a su nivel de tratamiento:

Lodos crudos o frescos

Son lodos que se obtienen directamente de las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales y no han sido sometidos a ningún tipo de tratamiento o proceso de estabilización. Cuando se someten a procesos de digestión, estos lodos experimentan acidificación y generan olores.

Lodos procesados

Los lodos procesados se generan mediante la aplicación de métodos de digestión aeróbica. Por lo general, estos residuos contienen entre un 45% y un 60% de materia orgánica, presentando un color negro característico y un aroma similar al de la tierra (Alicia Velázquez Machuca et al., 2019).

Lodos con diferentes niveles de humedad

Tanto los lodos con alta humedad como los lodos con baja humedad contienen la mayor cantidad de contaminantes presentes en las aguas residuales, especialmente metales pesados. Por lo tanto, se ejerce un estricto control sobre su uso para prevenir la contaminación en las áreas donde se aplican. (Alicia Velázquez Machuca et al., 2019)

Contaminantes principales de lodos residuales

Contaminantes orgánicos

Se han documentado más de 1,5 mil compuestos orgánicos, muchos de los cuales se encuentran tanto en las aguas residuales como en los lodos generados en los procesos de tratamiento de aguas (Harrison et al., 2006).

El procesamiento de estos contaminantes está influenciado por diversos factores, como las propiedades fisicoquímicas de los compuestos (como su peso molecular, hidrofobicidad, solubilidad en agua, pKa y resistencia a la biodegradación), así como las características del lodo mismo (como su pH y contenido de materia orgánica) (Harrison et al., 2006).

Se han identificado diversas contaminantes orgánicos de preocupación, clasificadas en orden descendente de prioridad. Entre ellas se encuentran las sustancias químicas perfluoradas (PFOS, PFOA), los alcanos policlorados (PCA), los naftalenos policlorados (PCN), los organoestaños (OT), los éteres de difenilo polibromados (PBDE), el triclosán (TCS), el triclocarbán (TCC), los benzotiazoles, los antibióticos y productos farmacéuticos, los almizcles sintéticos, el bisfenol A, los compuestos de amonio cuaternario

(QAC), los esteroides, los ésteres de ácido ftalato (PAE) y los polidimetilsiloxanos (PDMS) (Harrison et al., 2006).

La presencia de contaminantes orgánicos en los lodos de tratamiento de aguas residuales está directamente vinculada a las concentraciones de estos contaminantes en las aguas residuales que ingresan al sistema de tratamiento.

Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP)

Los HAP son compuestos orgánicos persistentes y potencialmente tóxicos que se forman durante procesos de combustión incompleta de materiales orgánicos. Debido a su estructura química, son resistentes a la degradación biológica y pueden acumularse en el medio ambiente, incluyendo las aguas residuales (Olofsson et al., 2012).

Se ha observado que hasta un 95% de los HAP pueden ser eliminados de las aguas residuales y posteriormente asociados con los lodos residuales. Los valores totales de HAP detectados en aguas residuales y lodos residuales varían significativamente, abarcando un amplio rango que va desde 0,002 hasta 20 mg/kg de materia seca (Olofsson et al., 2012).

Productos farmacéuticos (PhC) y de cuidado personal (PCP)

El contenido de PCP (Productos Farmacéuticos y de Cuidado Personal) en los lodos residuales contiene un grupo diverso de compuestos. Estos incluyeron analgésicos/antiinflamatorios, antihistamínicos, hormonas, antisépticos, antianginosos, antiarrítmicos, antineoplásicos, reguladores de lípidos, filtros UV, antibióticos, antiplaquetarios, fármacos psiquiátricos, almizcles sintéticos, anticoagulantes, antiprotozoarios, tensioactivos no iónicos, antidiabéticos, beta-agonistas, antagonistas de los receptores, beta-bloqueantes, estimulantes y antifúngicos (Verlicchi & Zambello, 2015).

La concentración de productos farmacéuticos y de cuidado personal (PCP) y productos químicos específicos varía dependiendo del tratamiento y procesamiento de los lodos.

Nanopartículas

El creciente enfoque en la aplicación de nanotecnología está impulsando la presencia de nanopartículas en el medio ambiente. Específicamente, las nanopartículas de plata, dióxido de titanio y óxido de zinc se están utilizando cada vez más en una amplia gama de productos industriales y de consumo comunes, como textiles, cosméticos y protectores solares (Kim et al., 2012).

Estas nanopartículas pueden ingresar fácilmente a las plantas de tratamiento de aguas residuales y permanecer en los lodos residuales en forma de nanomateriales. Las nanopartículas como Cu, TiO₂, Ag⁰ o CeO₂ son eliminadas principalmente de las aguas residuales a través del tratamiento primario y secundario y luego se asocian con las fases sólidas de los lodos en más del 80 % en masa (Kim et al., 2012).

Patógenos

Los lodos de depuradora representan una mezcla compleja de diferentes organismos, incluyendo tanto organismos saprofitos como patógenos, lo que los convierte en una especie de "cóctel biológico". Entre estos organismos, las bacterias heterótrofas y quimioautotróficas son los grupos más abundantes y diversos presentes en los lodos de depuradora, junto con los saprófitos y los patógenos (Zhang et al., 2015).

Análisis moleculares mediante la secuenciación Illumina MiSeq del ADN presente en la biopelícula reveló los géneros dominantes en los lodos residuales y el biofilm. Los géneros más prominentes fueron *Gemmatimonas*, *Nitrosomonas*, *Thermomonas* y *Truepera*, mientras que en el biofilm se encontraron *Nitrosomonas*, *Opitutus*, *Nitrospira* y *Truepera* (Zhang et al., 2015).

En cuanto a los organismos patógenos, se han identificado diversos grupos principales en los lodos residuales. Estos incluyen bacterias entéricas, parásitos, virus y hongos, representando una potencial preocupación para la salud pública debido a su presencia en estos lodos (Zhang et al., 2015).

Contaminantes inorgánicos

Oligoelementos metálicos

Los contaminantes inorgánicos son sustancias que no son biodegradables, lo que significa que no se descomponen naturalmente en el medio ambiente. Estos contaminantes tienen la capacidad de acumularse en el suelo y, a través de la cadena alimentaria, pueden bioconcentrarse en los organismos y en el entorno natural (Fijalkowski et al., 2017).

Uno de los grupos de contaminantes inorgánicos más significativos históricamente son los metales pesados. Estos metales se clasifican como elementos químicos que tienen un peso específico superior a $4,5 \text{ g/cm}^3$. La acumulación de metales pesados en el medio ambiente puede tener efectos adversos para la salud humana y el ecosistema, por lo que es crucial tomar medidas adecuadas para controlar y minimizar su liberación y exposición (Fijalkowski et al., 2017).

Metales Pesados

Los metales pesados son un conjunto diverso de elementos con distintas funciones y propiedades químicas. Principalmente se encuentran en la sección de elementos de transición en la tabla periódica. Se consideran metales pesados aquellos elementos cuya densidad es superior a 5 g/cm^3 . También se definen como metales pesados aquellos que tienen una densidad al menos cinco veces mayor que la del agua (Kiran et al., 2022)

Las aguas residuales industriales y la escorrentía superficial son las principales fuentes de metales pesados presentes en los lodos de depuradora. Estos metales se originan a partir de estas fuentes y se encuentran en concentraciones variables en los lodos, que pueden oscilar ampliamente, generalmente entre el 0,5% y el 2% del contenido de lodo seco (Kiran et al., 2022).

Toxicidad de metales pesados

La producción de lodos residuales en plantas de tratamiento de aguas residuales, junto con la industrialización, la urbanización y otras actividades naturales y antropogénicas, ha resultado en una liberación y lixiviación excesiva de metales pesados. Los distintos metales pesados presentan diversos mecanismos de toxicidad tales como:

- El plomo que induce estrés oxidativo debido a un desequilibrio en los radicales libres;
- El mercurio, el arsénico y el cromo, que son responsables de la formación de compuestos tóxicos y derivados metálicos perjudiciales;
- El aluminio y el cadmio, que propician la sustitución de iones metálicos;
- El cromo (VI) que altera la permeabilidad de las membranas celulares, desencadena desequilibrios en los canales iónicos y daña el ADN y las proteínas; y
- El hierro que causa corrosión, saturación, infiltración en los órganos y peroxidación de los lípidos.

Metales pesados esenciales y no esenciales

Los metales pesados esenciales son importantes y necesarios en concentraciones mínimas para los organismos vivos. Algunos ejemplos de estos metales esenciales son Mn, Fe, Cu y Zn. Por otro lado, los metales pesados no esenciales, como Cd, Pb, Ni, As y Hg, no desempeñan ningún papel biológico conocido en organismos vivos, ya que son altamente tóxicos (Kiran et al., 2022)

Tratamientos de lodos residuales

El principal objetivo de los tratamientos de lodos es lograr estabilizarlos y garantizar la reducción controlada de las sustancias orgánicas, inorgánicas, patógenos y olores. Además, se busca disminuir el volumen y la inactivación de los organismos patógenos para permitir su utilización o disposición final de

manera segura. La siguiente tabla presenta los tratamientos más comunes aplicados a los lodos residuales

Tabla 1

Tratamientos de lodos residuales

Tratamiento	Métodos aplicados
Operaciones previas	Bombeo, trituración, desarenado, homogenización
Espesamiento	Gravedad, flotación, centrifugación, filtros de bandas
Estabilización	Cal, tratamiento térmico, digestión anaerobia y aerobia
Deshidratación	Filtraciones, centrifugación, secado
Desinfección	Pasteurización, química, almacenamiento de larga duración
Acondicionamiento	Químico, térmico
Secado térmico	Hornos, incineración, evaporadores múltiples
Compostaje	Biológico aerobio

Nota. Tratamientos y métodos empleados en lodos residuales.

Tratamientos químicos

Los tratamientos químicos de los lodos residuales son métodos en los que se usan productos químicos para cambiar las propiedades y características de los lodos producidos en las plantas de tratamiento de aguas residuales. Estos tratamientos químicos son aplicados con el objetivo de mejorar la eficiencia de la deshidratación, disminuyendo la cantidad de agua presente en los lodos y estabilizar su contenido de materia orgánica.

Ozono y Cloro

Son reactivos químicos convencionales, el O₃ y el cloro. Se trata de una técnica de vanguardia que se puede utilizar tanto en la etapa de tratamiento del agua, directamente sobre los lodos que se

recirculan, como en la etapa de tratamiento de los propios lodos, después del espesador y antes del proceso de estabilización. El propósito principal de este tratamiento es llevar a cabo la oxidación e hidrólisis parcial de la materia orgánica presente en los lodos, lo que resulta en la transformación de dicha materia en compuestos de menor peso molecular, lo que a su vez los hace más fácilmente biodegradables (Tyagi & Lo, 2011).

Oxidación húmeda (WO)

Este tratamiento permite lograr una reducción significativa de la cantidad de materia orgánica presente en los sólidos suspendidos (SS) en ciertas condiciones específicas de temperatura (150-360 °C), concentración de oxígeno (o aire) y presión (30-250 bar), y en un proceso continuo con un tiempo de contacto de 15-120 minutos (Bertanza et al., 2015).

Mediante este tratamiento, los sólidos suspendidos se transforman en dos productos distintos: (i) una fase gaseosa y (ii) una fase líquida. Esta técnica se puede aplicar antes de los procesos de deshidratación, ya que WO puede tratar lodos con un contenido sólido que varía entre el 1% y el 6% (Bertanza et al., 2015)

Fenton y Foto-Fenton

El proceso Fenton es una técnica de oxidación avanzada (AOP) que resulta muy útil para reducir la producción de sólidos suspendidos (SS) y mejorar la deshidratación del lodo. Este proceso consta de cuatro etapas consecutivas: (i) ajuste del pH a niveles ácidos bajos, (ii) oxidación, (iii) neutralización y (iv) coagulación (Atay & Akbal, 2016).

Cuando se utiliza como pretratamiento, el proceso Fenton tiene la capacidad de incrementar la solubilización y biodegradabilidad de los lodos, al degradar las sustancias poliméricas extracelulares y romper las paredes celulares de los microorganismos (Atay & Akbal, 2016).

Hidrólisis termoquímica (TCH)

La digestión anaeróbica se compone de tres etapas: hidrólisis, acidificación y metanogénesis. Con el fin de favorecer la disolución de partículas orgánicas y la hidrólisis de la materia orgánica, se han empleado diversos métodos de pretratamiento. Uno de los métodos comúnmente utilizados en el pretratamiento de lodos es el TCH, ya que es fácil de controlar, presenta un rendimiento estable y ofrece flexibilidad durante la operación. Este método puede ser implementado tanto en la línea de agua, con un reactor ubicado sobre la recirculación de lodos, como en la línea de lodos (Park et al., 2005)

Tratamientos termales

Los tratamientos térmicos, como la combustión, la pirólisis y la gasificación, se utilizan para procesar los sólidos suspendidos (SS), lo que resulta en una disminución del contenido de agua y de la fracción de sólidos volátiles. Estos tratamientos ofrecen ventajas significativas, ya que no solo minimizan la cantidad de SS generados en la salida de la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR), sino que también brindan la posibilidad de recuperar la energía generada directamente dentro de la PTAR (Collivignarelli et al., 2019).

Pirólisis

La pirólisis es un proceso que implica la descomposición térmica del combustible en una atmósfera inerte, sin la presencia de agentes oxidantes, a temperaturas que oscilan entre los 500 °C y los 1000 °C. Durante este proceso, el material sometido a pirólisis no se quema, sino que su estructura molecular se descompone únicamente debido al efecto de la temperatura. Como resultado de estas reacciones termolíticas, se generan tres subproductos: (i) carbón bituminoso, (ii) aceite pirolítico y (iii) gas de síntesis (Jayaraman & Gökalp, 2015).

Tratamientos biológicos

La biorremediación es un tratamiento biológico que ofrece una solución ecológica y segura para la eliminación de contaminantes que se encuentran en los lodos y las aguas residuales. Este método respeta el entorno natural, evita riesgos para la salud, resulta rentable y sostenible, y muestra numerosos beneficios en contraste con los métodos no biológicos (Rahman et al., 2014)

La aplicación de microorganismos con el propósito de disminuir o eliminar los contaminantes presentes en el agua, suelos o aire, se conoce mediante diferentes términos como biotransformación, bioacumulación, biosorción, bioseparación, biodegradación, biolixiviación, biodetoxicación, entre otros, y generalmente se agrupan bajo el término amplio de "biorremediación" (Molla & Fakhru'l-Razi, 2012)

Biorremediación

La efectividad de los métodos de remediación depende del conocimiento de los factores hidrológicos y geológicos del sitio, la solubilidad y especiación de los metales pesados, los procesos de atenuación e inmovilización, y la capacidad de los metales para dispersarse tanto horizontal como verticalmente a medida que se desplazan a través del suelo (Divya & Aanand, n.d.)

Por otro lado, la aplicación de métodos biológicos para remediar ambientes contaminados (biorremediación) ofrece una alta especificidad en la eliminación del metal de interés, junto con una flexibilidad operativa tanto en sistemas in situ como ex situ. La biorremediación es una técnica que utiliza organismos biológicos para remediar, restaurar o devolver la limpieza a suelos, agua o aire, eliminando o reduciendo la concentración de contaminantes a niveles no tóxicos (Divya & Aanand, n.d.)

La biorremediación es una tecnología que se utiliza para controlar la contaminación mediante el uso de sistemas biológicos que aceleran la degradación o transformación de compuestos tóxicos en formas menos dañinas. Uno de los objetivos de la biorremediación es aumentar y mejorar la capacidad

de biodegradación de los organismos nativos, es decir, la microflora presente en el ambiente contaminado, lo cual se conoce como biorremediación intrínseca. (Divya & Aanand, n.d.)

Tipos de biorremediación

Fitorremediación

La fitorremediación implica el uso de plantas y microorganismos del suelo para reducir las concentraciones o los efectos perjudiciales de los contaminantes en el medio ambiente. Es reconocida ampliamente como una técnica rentable para la restauración ambiental. La fitorremediación se considera una alternativa a los métodos de ingeniería que pueden ser más destructivos para el suelo (Wang et al., 2021).

Idealmente, se espera que la fitorremediación de sitios contaminados tome menos de una década para lograr niveles aceptables de contaminantes en el entorno. Sin embargo, su efectividad está limitada al área de las raíces de las plantas. Además, esta tecnología tiene aplicaciones restringidas en casos donde las concentraciones de contaminantes resultan tóxicas para las plantas (Wang et al., 2021).

Biodegradación

La biodegradación es un proceso en el que microorganismos como bacterias y otros microorganismos que metabolizan los contaminantes, convirtiéndolos en productos más simples y menos tóxicos. Estos microorganismos utilizan los contaminantes como fuente de alimento y energía en su ciclo vital. La biodegradación es una estrategia para tratar la contaminación ambiental causada por diversos compuestos orgánicos como hidrocarburos, disolventes, pesticidas y otros contaminantes orgánicos sintéticos (Gupta & Thakur, 2015).

Micorremediación

La micorremediación se enmarca dentro de la biorremediación y se basa en el uso de enzimas producidas por hongos en lugar de bacterias, con el objetivo de descomponer los contaminantes y

restaurar el equilibrio del ecosistema. En esencia, los hongos solo producen las enzimas que necesitan, lo que significa que ciertas vías metabólicas pueden permanecer inactivas en los genomas fúngicos durante varias generaciones. (Foundation Fungi, n.d.)

La micorremediación aprovecha el uso de hongos para llevar a cabo procesos de biorremediación. Los hongos forman largos hilos llamados hifas, que se adhieren a las raíces, rocas y partículas del suelo, formando una estructura filamentosa capaz de tolerar metales pesados y adaptar su crecimiento a condiciones extremas de temperatura, pH y nutrición (Akpasi et al., 2023)

En entornos contaminados, la biorremediación favorece el crecimiento de hongos en lugar de bacterias debido a las características únicas de su red de hifas, su biomasa y su ciclo de vida prolongado. Además, los hongos resistentes a los metales compiten con las bacterias nativas en entornos altamente adversos (Akpasi et al., 2023)

Bioabsorción y Biacumulación de metales pesados por hongos

La eliminación de metales pesados se divide en 3 categorías: (i) biosorción de iones metálicos en la superficie de los hongos, (ii) captación intracelular de iones metálicos en la superficie de los hongos, (iii) transformación química de iones metálicos por hongos. Los 2 últimos procesos requieren de biomasa fúngica viva, debido a que la biomasa fúngica muerta no está vinculada al crecimiento, energía metabólica y transporte (Singh, 2006).

La bioabsorción es el proceso por el cual los metales pesados se unen a la superficie de los hongos. Este proceso puede ser físico o químico. La bioacumulación es el proceso por el cual los metales pesados se acumulan en el interior de los hongos. Este proceso puede ser pasivo o activo.

Los hongos pueden absorber y acumular metales pesados de diferentes maneras. Los metales pesados pueden unirse a la superficie de los hongos a través de fuerzas electrostáticas o de enlaces

covalentes. Los metales pesados también pueden ser transportados a través de la membrana celular de los hongos por medios transportadores específicos (Singh, 2006).

Los hongos de esta naturaleza que son considerados para la remoción de metales pesados incluyen: *Pleurotus ostreatus*, *Agaricus bisporus*, *Boletus edulis*, *Chlorophyllum rachodes*, *Coprinus comatus*, *Flammulina velutipes*, *Lycoperdon perlatum*, *Marasmius oreades*, *Trametes versicolor* *Tricholoma magnivelare*, y otros (Stamets, 2005).

Pleurotus ostreatus

También conocido como hongo ostra, es un hongo comestible comercializado a nivel mundial debido a sus propiedades nutricionales. Pertenece al grupo de hongos de pudrición blanca de la madera. Su característica principal es su sistema enzimático, que produce enzimas lignocelulósicas que se utilizan en la biorremediación. El hongo ostra puede crecer en residuos agrícolas y también es capaz de mineralizar desechos industriales no convencionales que contengan hemicelulosa, lignina y celulosa (Watkinson et al., 2015).

Tabla 2

Taxonomía de Pleurotus Ostreatus

Reino	Fungi
División	Basidiomycota
Clase	Agaricomycetes
Orden	Agaricales
Familia	Pleurotaceae
Género	Pleurotus
Especie	Ostreatus

Nota. Elaboración propia

Capítulo III

Metodología

Ubicación geográfica

La muestra de lodos para el tratamiento con *Pleurotus Ostreatus* fue obtenida de la Planta de Tratamiento de Agua Residual perteneciente al complejo ambiental EP-CONST ubicado en Santo Domingo de los Tsáchilas en el km 32 la vía Quevedo.

El análisis y evaluación de la micorremediación fue realizado en el laboratorio de Micología Aplicada de la Universidad Central del Ecuador, Quito. En los laboratorios del CENCINAT de la Universidad de las Fuerzas Armadas “ESPE” Matriz, Sangolquí, en los laboratorios de Química, Bromatología y Fitopatología y Fisiología Vegetal de la Universidad de las Fuerzas Armadas “ESPE” Sede Santo Domingo.

Materiales

Recolección de la muestra

Tabla 3

Materiales de muestreo de lodos

Insumos
Bolsas Zyploc
Bolsas de papel
Pala
Rotulador
Cooler
Guantes

Nota. Insumos utilizados para la recolección de muestras.

Análisis químico de las muestras

Tabla 4

Materiales para el análisis químico de las muestras

Equipo	Reactivo	Insumos
Espectrofotómetro de absorción atómica	Ácido clorhídrico concentrado	Vaso de precipitación
Mufla	Ácido clorhídrico 10%	Pipeta de vidrio
Campana de extracción de gases	Ácido nítrico concentrado	Balón de aforo de 250 mL
Balanza	Agua destilada	Envases ámbar
Plancha de calentamiento		

Nota. Materiales utilizados para el análisis químico.

Crecimiento del hongo

Tabla 5

Materiales para el crecimiento del hongo

Equipo	Reactivo	Insumo
Incubadora	Medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA)	Cajas petri
Autoclave	Alcohol etílico 70%	Parafilm
Cámara de flujo laminar		Bisturí
Mechero de bunsen		Pinzas

Nota. Materiales para el crecimiento del hongo

Acondicionamiento del hongo

Tabla 6

Materiales para el acondicionamiento del hongo

Equipo	Reactivo	Insumos
Incubadora	Medio de cultivo Papa	Cajas petri
	Dextrosa Agar (PDA)	
Autoclave	Alcohol al 70%	Parafilm
Cámara de flujo laminar	Lodos residuales con metales pesados	Bisturí
Mechero de bunsen		Pinzas
		Envases de vidrio

Nota. Materiales para el acondicionamiento del hongo

Análisis Estadístico**Niveles y factores de investigación**

La siguiente investigación se clasificó por niveles y factores de experimento (tabla 7)

Tabla 7

Factores y niveles de la investigación

Factores	Niveles
Concentración de Metales Pesados	A0: Concentración base A1: Concentración lim. Max permisible A2: Concentración lim. Max permisible x2
Temperatura	B0: 20 °C B1: 25 °C B2: 30 °C

Humedad

C0: 30%

C1: 50%

C2: 70%

Nota. Factores y niveles empleados en la investigación

Interacción de tratamientos

Interacciones con sus respectivos tratamientos (Concentración de metales pesados, temperatura y humedad)

Tabla 8

Interacción con sus respectivos tratamientos

Tratamiento	Interacción	Combinación
T1	A0B0C0	Concentración base + 20 °C + 30%
T2	A0B0C1	Concentración base + 20 °C + 50%
T3	A0B0C2	Concentración base + 20 °C + 70%
T4	A0B1C0	Concentración base + 25 °C + 30%
T5	A0B1C1	Concentración base + 25 °C + 50%
T6	A0B1C2	Concentración base + 25 °C + 70%
T7	A0B2C0	Concentración base + 30 °C + 30%
T8	A0B2C1	Concentración base + 30 °C + 50%
T9	A0B2C2	Concentración base + 30 °C + 70%
T11	A1B0C0	Concentración normativa + 20 °C + 30%
T12	A1B0C1	Concentración normativa + 20 °C + 50%
T13	A1B0C2	Concentración normativa + 20 °C + 70%
T14	A1B1C0	Concentración normativa + 25 °C + 30%
T15	A1B1C1	Concentración normativa + 25 °C + 50%

T16	A1B1C2	Concentración normativa + 25 °C + 70%
T17	A1B2C0	Concentración normativa + 30 °C + 30%
T18	A1B2C1	Concentración normativa + 30 °C + 50%
T20	A1B2C2	Concentración normativa + 30 °C + 70%
T21	A2B0C0	Concentración doble + 20 °C + 30%
T22	A2B0C1	Concentración doble + 20 °C + 50%
T23	A2B0C2	Concentración doble + 20 °C + 70%
T24	A2B1C0	Concentración doble + 25 °C + 30%
T25	A2B1C1	Concentración doble + 25 °C + 50%
T26	A2B1C2	Concentración doble + 25 °C + 70%
T27	A2B2C0	Concentración doble + 30 °C + 30%

Nota. Interacción de factores por cada tratamiento

Interacciones y tratamientos de la investigación

Tipo de diseño

En el presente estudio se aplicó un diseño trifactorial AxBxC (ANOVA) en los parámetros de remoción de metales pesados, obteniendo en total 27 tratamientos con tres controles.

Se realizó para el procesamiento de datos obtenidos varios análisis estadísticos empezando con una gráfica de tendencia, análisis de varianza, prueba de significancia y prueba de Tukey.

Gráfico de tendencia

Se realizaron los gráficos de tendencias para mostrar cómo cambia una variable a lo largo del tiempo. Además, nos ayuda a identificar patrones y tendencias, y de esta forma comparar diferentes variables.

Análisis de varianza (ANOVA)

Se realizó un ANOVA para comparar las medias de dos o más grupos del experimento debido a que el ANOVA permite determinar la existencia de diferencia significativa entre los grupos medios y finalmente identificar cuáles grupos son diferentes. Así, se comparó los efectos de diferentes tratamientos o condiciones.

Prueba de significancia

Se realizó prueba de significancia para determinar diferencias significativas entre dos o más grupos de datos. Además, las pruebas de significación se utilizaron para determinar si los resultados de la presente investigación son lo suficientemente diferentes de lo que se esperó para ser considerados significativos.

Prueba de Tukey

La prueba de Tukey es una prueba complementaria post hoc que se utiliza para comparar las medias de dos o más grupos después de haber realizado una prueba de varianza (ANOVA). La prueba de Tukey se utilizó para determinar si existe una diferencia significativa entre los medios de los grupos, y para identificar qué grupos fueron diferentes.

Métodos

Punto de recolección de muestra

La toma de muestra de los lodos residuales se realizó en la planta de tratamiento de agua residual perteneciente al complejo ambiental de la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas (Figura

Figura 1 Planta de Tratamiento de Aguas Residuales del complejo ambiental, Santo Domingo de los Tsachilas

1.) Se cogieron 2 kg de muestra de lodo residual de diferentes puntos del tratamiento y se guardaron en bolsas Ziploc, obteniendo una muestra compuesta para el análisis de los metales pesados de interés.



Posteriormente, se procedió a mezclar el contenido de lodo de cada bolsa para obtener una muestra representativa y realizar el análisis de los metales pesados de interés.

Análisis químico de las muestras

La cuantificación de metales pesados que se encuentran presentes en las muestras de lodos residuales se realizó por Espectrofotometría de Absorción Atómica de cada elemento en los laboratorios del CENCINAT de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE-Sangolquí.

El análisis consideró los metales pesados más abundantes y con efectos nocivos para el ser humano: Cadmio (Cd), Plomo (Pb) y Cobalto (Co).

Extracción de metales pesados

La extracción de los metales pesados de las muestras de lodos se realizó en el laboratorio de Química de la Universidad de las Fuerzas Armadas – Santo Domingo y se siguió el siguiente protocolo:

- Se incineraron los crisoles en la mufla durante 2 horas a 600 °C para eliminar la humedad y cualquier contaminación orgánica presente, se dejó enfriar dentro del desecador para evitar que adquiriera humedad.
- Se añadió 1 g de lodo y se pesó la muestra junto con el crisol, posterior a eso se colocó en el horno durante 18-20 horas a 110 °C para eliminar la humedad de la muestra.
- Al finalizar ese periodo se pesó nuevamente y se calculó el porcentaje de humedad de los lodos.
- Después los crisoles con la muestra se colocaron nuevamente en la mufla durante 3 horas a 600 °C para disminuir la muestra únicamente a la porción inorgánica, y se enfriaron en el desecador.
- Al terminar de enfriarse, las muestras de lodo en cada crisol se transfirieron de forma cuantitativa a un vaso de precipitación de 600 ML. Se colocaron tres porciones de 1 ml de ácido clorhídrico concentrado y después se realizaron lavados de los crisoles con ácido. Luego se le añadió 1 ml de ácido nítrico al crisol y se pasó al vaso de precipitado. Se volvió a repetir la acción con tres porciones de 1 ml de ácido clorhídrico al 10%.
- Se utilizaron cristales de reloj para cubrir los vasos de precipitación los cuales se calentaron en una plancha de calentamiento a una temperatura moderada de aproximadamente 350 °C durante 15 minutos. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y nuevamente se añadieron las mismas porciones de ácido clorhídrico y nítrico pero esta vez de forma directa a la plancha de calentamiento con la muestra en lugar de a los crisoles.
- Se calentó nuevamente en la plancha de calentamiento, se dejó reposar para que se enfriaran y todo el contenido se filtró utilizando un papel filtro #40 y matraces volumétricos de 100 ML.

- En el proceso de filtración se lavó el residuo con ácido clorhídrico al 10% hasta que quede incoloro. El papel filtro se lavó varias veces con ácido al 10% hasta que se removió completamente todo el residuo. Terminada la filtración el matraz volumétrico se llevó a un volumen con ácido clorhídrico al 10%.
- Por último, el filtrado se transfirió a botellas ámbar y se almacenaron cadena de frío hasta el momento de la lectura con el espectrofotómetro de absorción atómica.



Activación del hongo *Pleurotus Ostreatus*

La cepa de *Pleurotus Ostreatus* fue adquirida en la micoteca del laboratorio de Micología Aplicada de la Universidad Central del Ecuador (Figura 2.). Se reactivó la cepa del hongo en seis cajas petri con medio PDA y se incubaron a 25 °C por un periodo de 7 días hasta que el micelio crezca y cubra la caja petri completamente.

Figura 2 Activación de Pleurotus Ostreatus

Acondicionamiento del hongo

Inóculo primario

Se diluyeron los lodos en agua destilada en tres tratamientos correspondientes al 0,25%, 0,50%, y 0,75% (m/v) en matraces Erlenmeyer con el propósito de adaptar al hongo a los lodos residuales junto con el medio de cultivo sólido, medio PDA. (Figura 3.). Para cada porcentaje de lodo residual, se llevaron

a cabo tres repeticiones con sus respectivos grupos control. Una vez enfriados, se procedió a realizar la inoculación de cuadrados de micelio de 1.5-2 cm en todos los medios con diferentes porcentajes de lodos residuales. Luego de la inoculación, se incubaron las cajas Petri a 27°C durante dos semanas, hasta observar el crecimiento completo del micelio.

Figura 3

Diluciones de lodos residuales y mezcla con medios de cultivo PDA



Nota. Elaboración propia

Inóculo secundario

Transcurridas las dos semanas de incubación en el inóculo primario, se procedió a pasar al inóculo secundario. Que consistió en una mezcla de trigo y lodos residuales en las siguientes proporciones: 1:1, 1:2 y 1:3 (m/m). Para comenzar, se realizaron lavados al grano de trigo con el fin de eliminar residuos. Luego, se dejó en remojo durante aproximadamente 24 horas para que absorba la humedad necesaria para el crecimiento del hongo. Los envases de vidrio en los que se colocaron las mezclas de trigo y lodo residual en las proporciones correspondientes fueron lavados. Se llevaron a cabo 3 repeticiones con su correspondiente control.

Una vez que el sustrato junto con los lodos residuales fueron colocados, se procedió a autoclavarlos para posteriormente realizar la inoculación. Se inoculó la cepa con mejor crecimiento en el medio PDA mezclados con los lodos durante el inóculo primario. Después de enfriar las muestras, se ubicaron dentro de la cámara de flujo laminar y se procedió a inocular en cada muestra 2 cuadros de

micelio de aproximadamente 3 cm (Figura 4). Una vez finalizado este proceso con cada muestra, se almacenaron en un espacio oscuro y se esperó un periodo de 2 semanas para observar una correcta colonización del sustrato.

Figura 4

Inoculación secundaria de Pleurotus Ostreatus



Inóculo terciario

Se prepararon las soluciones concentradas de metales pesados, cadmio, plomo y cobalto en el laboratorio (Figura 5). Estas soluciones serán utilizadas para enriquecer los lodos residuales con concentraciones más altas de los metales de interés, considerando 3 tratamientos, el primero corresponde a una concentración inicial, el segundo a una concentración normativa y el tercero al doble de concentración de la normativa.

Después los lodos obtenidos se mezclaron con otro sustrato (casarilla de arroz) para más adelante realizar el inóculo terciario con el hongo y observar la cantidad de remoción de metales pesados.

Figura 5

Soluciones madre de metales pesados



Posteriormente, se preparó el inóculo terciario, utilizando el tratamiento 1:3 del inóculo secundario, se pesó cascarilla de arroz con el triple de peso de lodos residuales. Finalmente, se agregaron las cantidades de metales pesados que corresponden a las concentraciones de los tratamientos planteados. Se mezclaron de forma homogénea para lograr una distribución uniforme de los metales en los lodos.

Tabla 9

Metales pesados agregados a los lodos

Concentración/Metal	Plomo	Cadmio	Cobalto
Normativa (mg/kg)	37,0526	1,6808	28,2422
Doble (mg/kg)	73,053	2,8812	52,2422

Nota. Cantidad de metales pesados para lodos.

Capítulo IV

Resultados

Caracterización los lodos contaminados por metales pesados.

Los metales pesados caracterizados a través de espectrofotometría de absorción atómica los laboratorios del CENCINAT se muestran en la tabla 10.

Tabla 10

Concentraciones iniciales de metales pesados

Muestra	Lectura (mg/kg)
Cadmio-HM-001 (mg/kg)	1,203
Cobalto-HM-001 (mg/kg)	10,605
Plomo-HM-001 (mg/kg)	2,632

Nota. Análisis químico de los metales pesados.

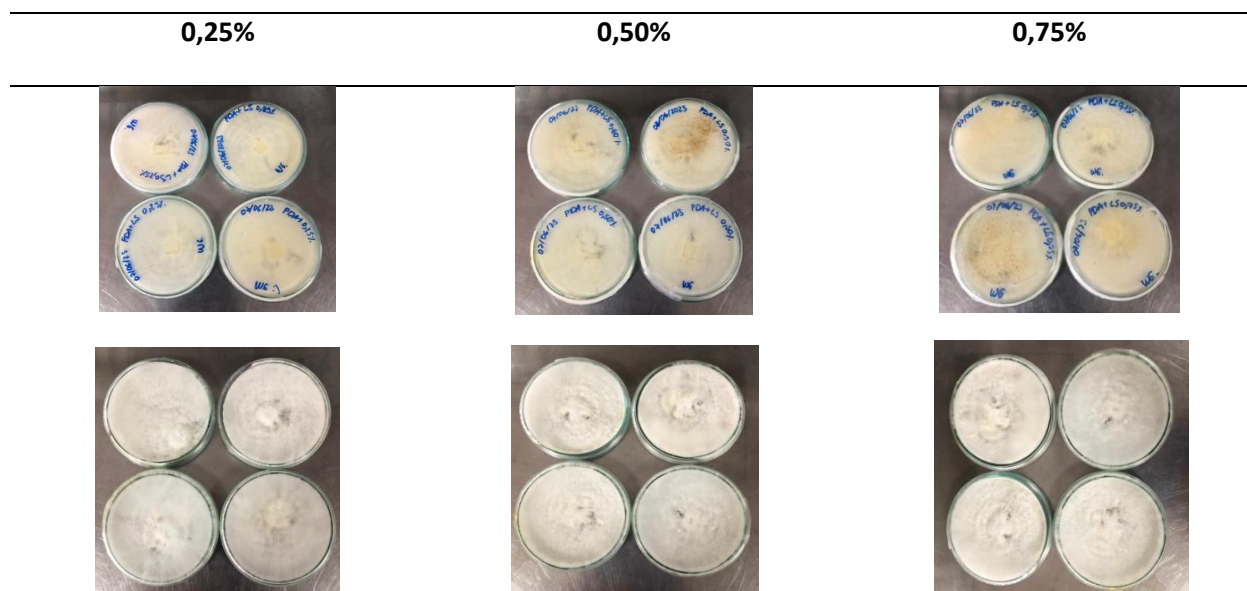
En la tabla 9 se visualizan las concentraciones iniciales de los metales pesados analizados, observando mayor concentración en Cobalto (Co) con 10,605 mg/kg, seguido el Plomo (Pb) con 2,632 mg/kg y por último el Cadmio (Cd) con 1,203 mg/kg.

Identificación de las condiciones óptimas para el desarrollo del hongo *Pleurotus Ostreatus* en el lodo contaminado.

El acondicionamiento del hongo empezó desde el inóculo primario a concentraciones bajas de lodos residuales, 0,25%, 0,50% y 0,75% (m/v) como se muestra en la tabla 11.

Tabla 11

Acondicionamiento del hongo en el inóculo primario



Nota. Crecimiento miceliar en diferentes proporciones de lodos residuales.

El micelio logró cubrir completamente las placas Petri con los diferentes porcentajes de lodos residuales en al menos 2 semanas. En ese periodo se observaron diferencias de crecimiento. En la primera semana las placas Petri con lodos residuales con porcentajes 0,25-0,50% (m/v) mostraron un crecimiento rápido, mientras que las placas Petri con lodos residuales al 0,75% (m/v) colonizaron la placa de forma lenta y heterogénea.

Inóculo secundario

Transcurridas las 2 semanas, se llevó a cabo el inóculo secundario. Los tres tratamientos contenían cortes de micelio del primer inóculo con el mayor porcentaje de lodos, es decir, 0,75%. Los tres tratamientos tomaron aproximadamente 1 mes para colonizar notablemente los sustratos. Los tratamientos que contenían porcentajes sustrato:lodos 1:1 y 1:2 mostraron crecimiento en la tercera semana, mientras que el tratamiento 1:3, el que contenía mayor cantidad de lodos residuales, tardó más tiempo en colonizar significativamente el medio en el que se desarrollaba.

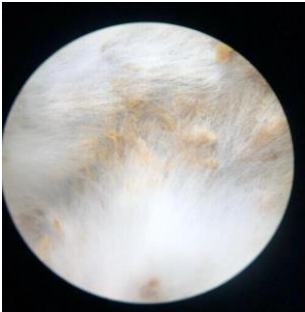
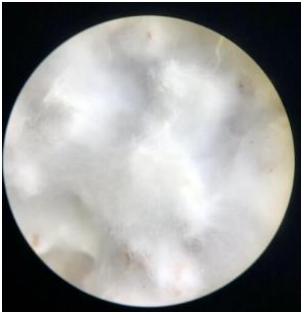
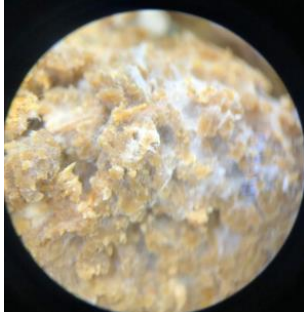
Inóculo terciario

En el inóculo terciario se tomaron en cuenta 3 parámetros que influyeron en el crecimiento del hongo entre ellos; concentración de metales pesados, temperatura y humedad.

En la tabla 12 se visualiza el crecimiento del hongo a 3 temperaturas diferentes; 20°C, 25°C y 30°C demostrando diferencias de crecimiento al influir en la temperatura. Presentando mayor desarrollo bajo las temperaturas de 20°C y 25°C, y el menor crecimiento al estar a una temperatura de 30 °C.

Tabla 12

Crecimiento miceliar a diferentes temperaturas

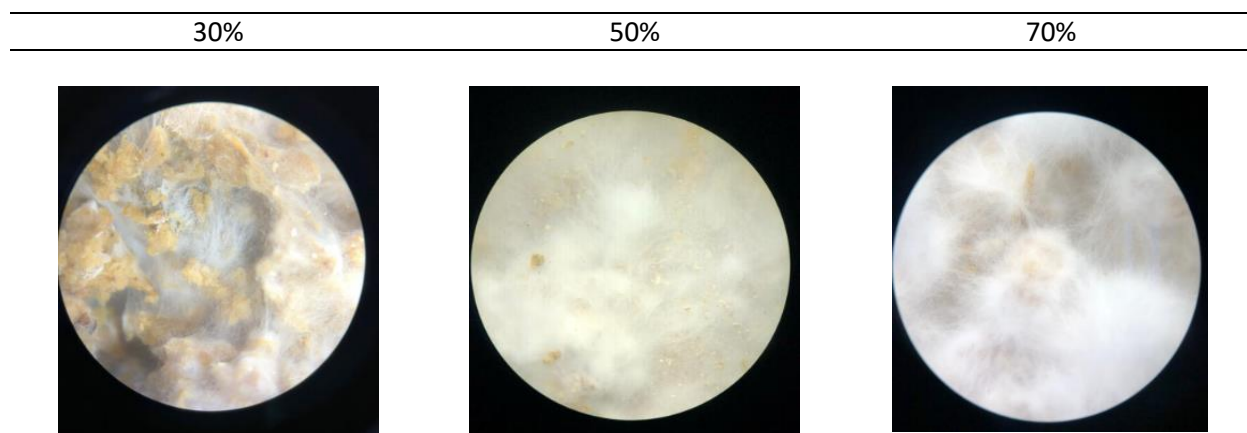
20 °C	25 °C	30 °C
		

Nota. Crecimiento miceliar en sustrato de lodos residuales y cascarilla de arroz, diferentes temperaturas.

Además, se observó el crecimiento del hongo en tres niveles diferentes de humedad: 30%, 50% y 70% como se muestra en la tabla 12.

Tabla 13

Crecimiento miceliar a diferentes humedades



Nota. Crecimiento miceliar en sustrato de lodos residuales y cascarilla de arroz, diferentes humedades.

En la tabla 13 se visualiza el crecimiento del hongo a diferentes porcentajes de humedad, demostrando que a 30% no presentó un mayor crecimiento, mientras que 70% mostró ser una humedad óptima para el crecimiento del hongo, su observándose la diferencia luego en 1 semana de inoculación.

Mientras que el estudio de la exposición del hongo con los lodos residuales a diferentes concentraciones fue durante un periodo de tiempo de una semana.

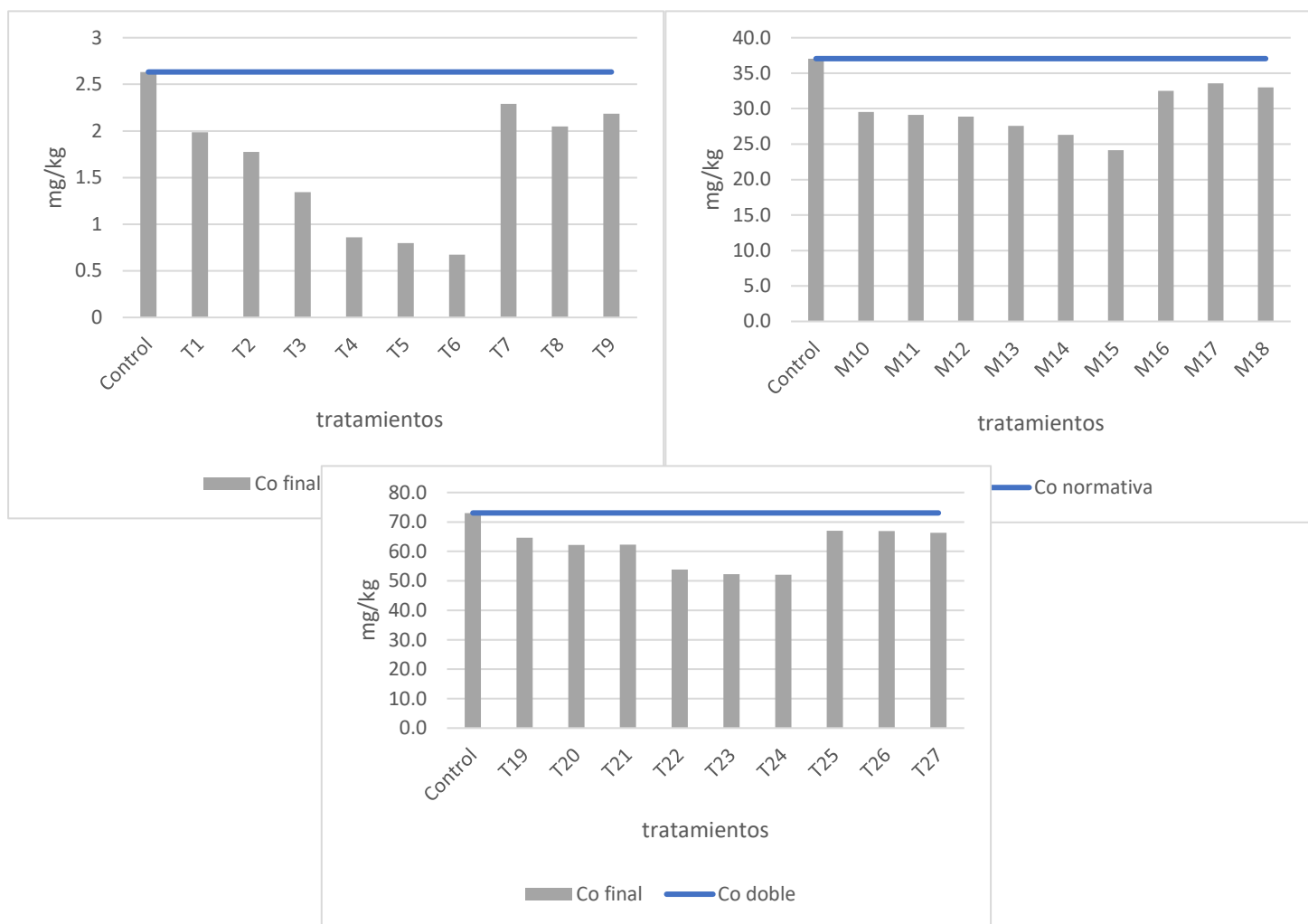
Análisis estadístico

Análisis descriptivo

Plomo

Figura 6

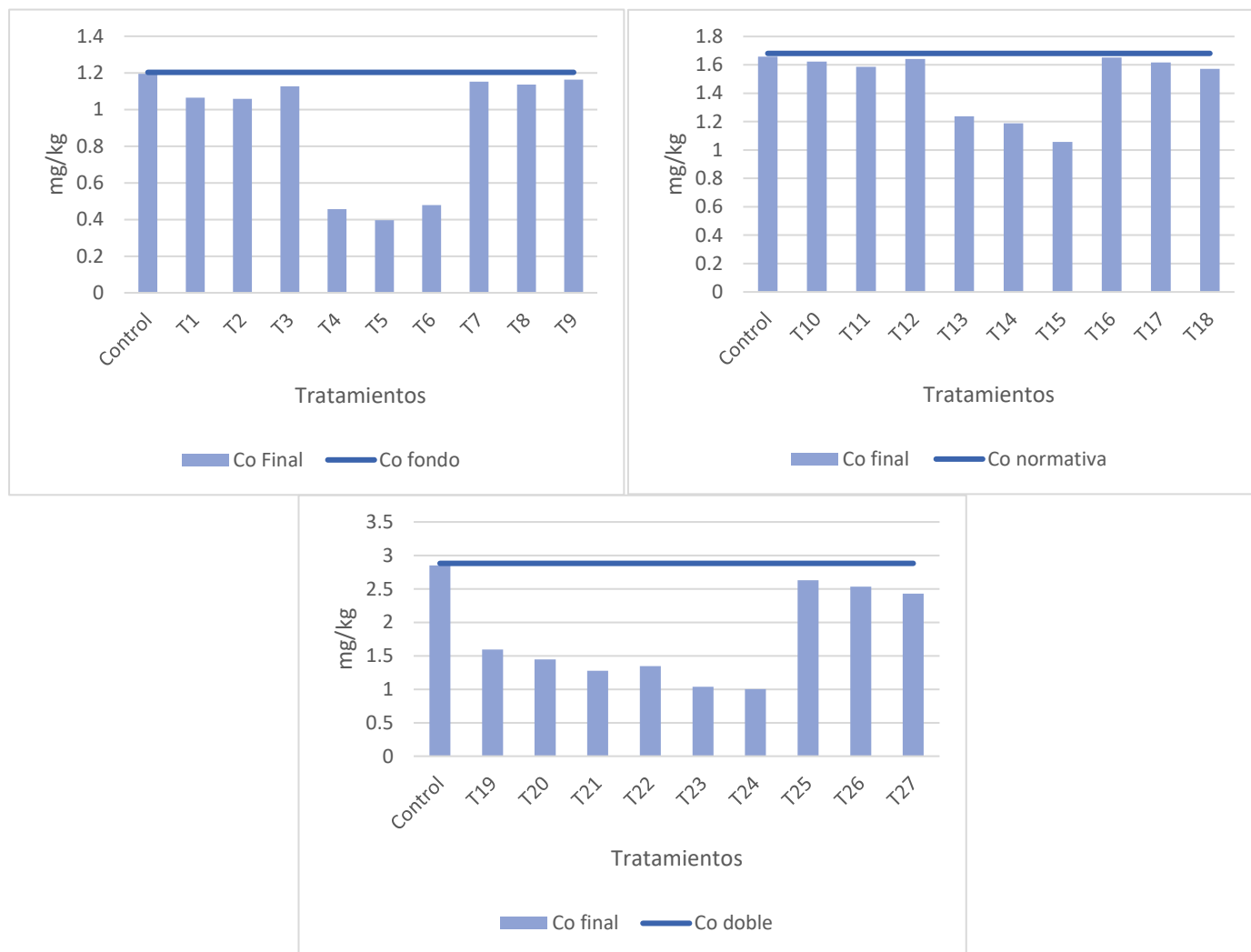
Tendencia de la remoción de Plomo



En la figura 6 se observa la las concentraciones iniciales y finales para cada tratamiento, siendo la mayor remoción un 2,0472 (74,39%) y la menor remoción 1,98 (11,57%) en la concentración de fondo, seguido de esto, en la concentración normativa se observó una mayor remoción de 24,15 (29, 82%) y menor remoción 33,56 (2,49%), finalmente, en la concentración doble se observó una mayor remoción de 52,0928 (26, 03%) y menor remoción 67,02 (4,83%)

Cadmio

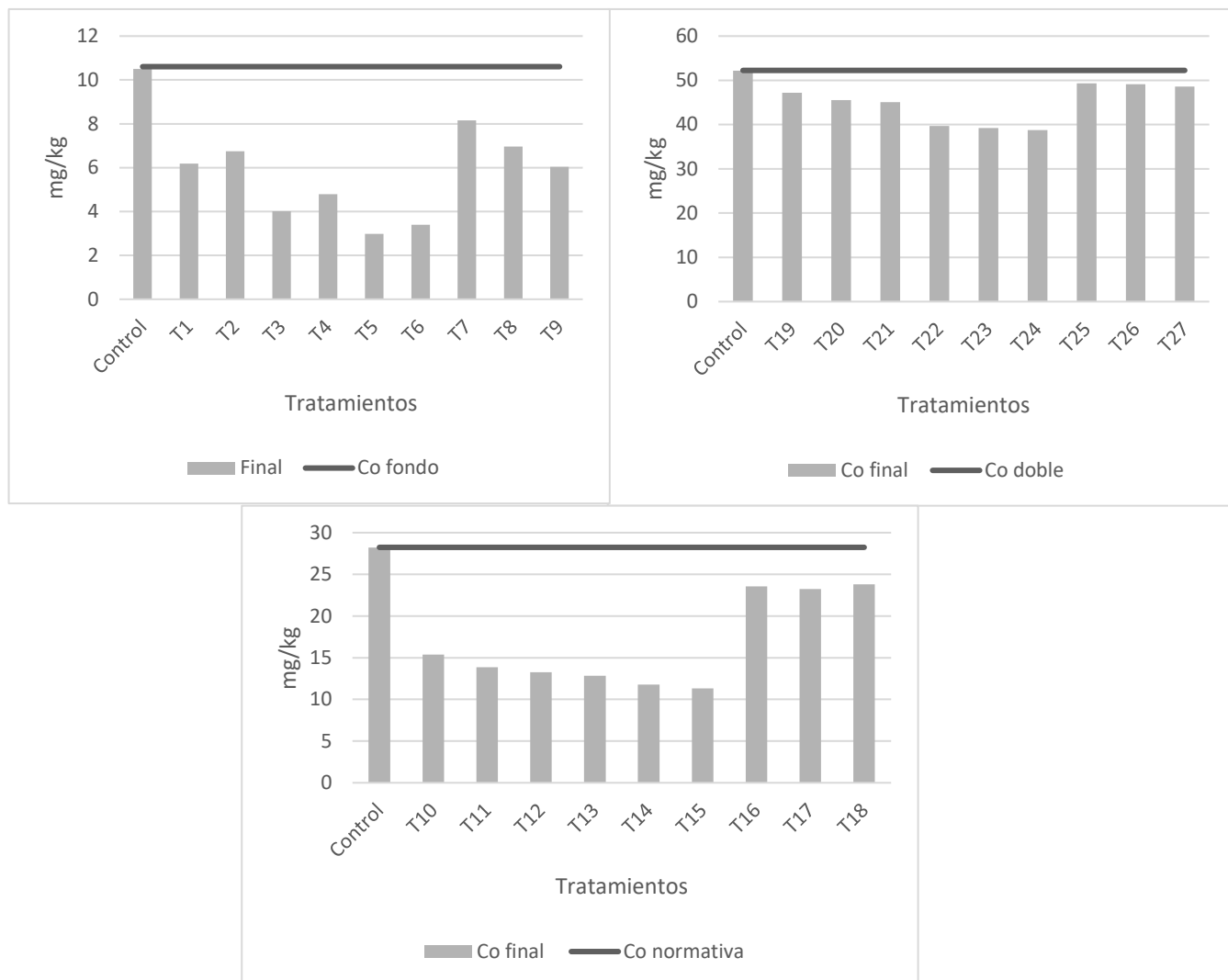
Figura 7
Tendencia de la remoción de Cadmio



En la figura 7 se observan las concentraciones iniciales y finales para cada tratamiento respecto al cadmio, siendo la mayor remoción de un 0,396 (67,04%) y la menor remoción 1,163 (3,29%) en la concentración de fondo, seguido de esto, en la concentración normativa se observó una mayor remoción de 1,057 (37,07%) y menor remoción 1,657 (1,72%), finalmente, en la concentración doble se observó una mayor remoción de 1,004 (65,14%) y menor remoción 2,627 (8,81%).

Cobalto

Figura 8
Tendencias en la remoción de Cobalto



En la figura 8 se observan las concentraciones iniciales y finales para cada tratamiento junto con el porcentaje de remoción respecto al cobalto, siendo la mayor remoción de un 2,985 (71,85%) y la menor remoción 8,150 (23,15%) en la concentración de fondo, seguido de esto, en la concentración normativa se observó una mayor remoción de 11,327 (59,89%) y menor remoción 23,79 (15,75%)

finalmente, en la concentración doble se observó una mayor remoción de 38,759 (25,81%) y menor remoción 49,119 (5,59%).

Análisis de varianza (ANOVA) de Plomo

Tabla 14

Análisis de varianza para la remoción de Plomo

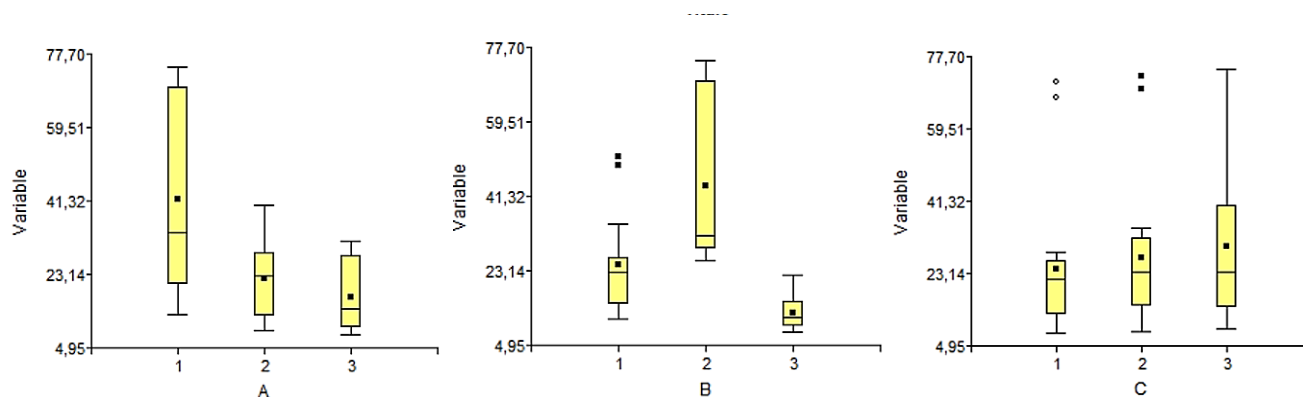
<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFECTOS PRINCIPALES					
A:A	5964,85	2	2982,43	1767,7 5	0,0000
B:B	8900,39	2	4450,19	2637,7 2	0,0000
C:C	277,716	2	138,858	82,30	0,0000
INTERACCIONES					
AB	2542,13	4	635,531	376,69	0,0000
AC	178,687	4	44,6718	26,48	0,0000
BC	114,693	4	28,6732	17,00	0,0000
ABC	284,056	8	35,507	21,05	0,0000
RESIDUOS	43,8655	2 6	1,68714		
TOTAL (CORREGIDO)	18355,3	5 3			

En cuanto a los resultados del análisis de varianza de la remoción de plomo (tabla 17), se observó que en: concentración de plomo (FA), temperatura (FB), humedad (FC), y las interacciones (A*B, A*C, B*C Y A*B*C) existió diferencia significativa (pvalor<0,05).

Pruebas de significancia de Tukey de la concentración de plomo (Factor A, Factor B y Factor C)

Figura 9

Prueba de significación de Tukey para los factores en estudio



Nota. Factor A: concentración de plomo; Factor B: Temperatura; Factor C: Humedad

La figura 11, Factor A: nos indica que la remoción de plomo dio la conformación de tres grupos independientes, en donde el grupo 1: concentración base presentó un valor de remoción de 41,71%, mientras que el grupo 2: concentración normativa indica un valor de remoción de 22,09% y por último el grupo 3: concentración doble indica un valor de remoción de 17,47%. Factor B: nos indica que la remoción de plomo dio la conformación de tres grupos independientes, en donde el grupo 1: 20°C un valor de remoción de 24,46%, mientras que el grupo 2: 25°C indica un valor de remoción de 43,97% y por último el grupo 3: 30°C indica un valor de remoción de 12,85%. Factor C nos indica que la remoción de plomo dio la conformación de tres grupos independientes, en donde el grupo 1: 30% un valor de remoción 24,29%, mientras que el grupo 2: 50% indica un valor de remoción de 27,13% y por último el grupo 3: 70% indica un valor de remoción de 29,85%

Análisis de varianza (ANOVA) de Cadmio

Tabla 15
Análisis de varianza para la remoción de Cadmio.

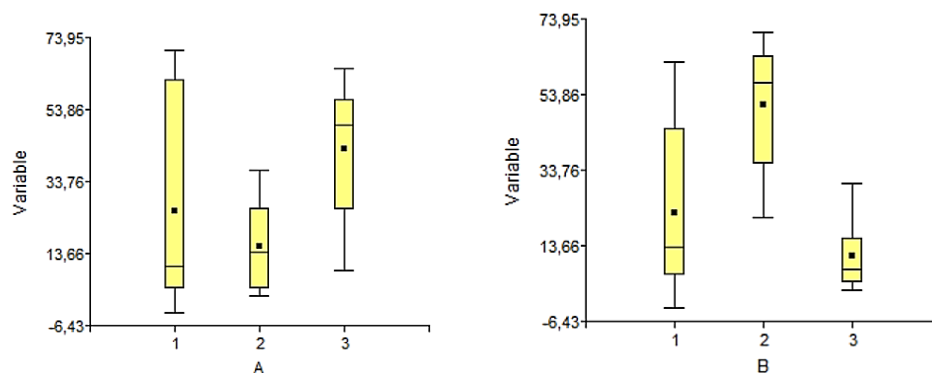
<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFECTOS PRINCIPALES					
A:A	6923,51	2	3461,76	86,13	0,0000
B:B	15259,7	2	7629,87	189,83	0,0000
C:C	83,2565	2	41,6282	1,04	0,3692
D:Replicas	118,459	1	118,459	2,95	0,0979
INTERACCIONES					
AB	5781,39	4	1445,35	35,96	0,0000
AC	420,795	4	105,199	2,62	0,0582
BC	81,2817	4	20,3204	0,51	0,7320
ABC	255,82	8	31,9775	0,80	0,6115
RESIDUOS	1045,03	2 6	40,1936		
TOTAL (CORREGIDO)	29969,3	5 3			

En cuanto a los resultados del análisis de varianza de la remoción de cadmio (tabla 14), se observó que en: concentración de plomo (FA), temperatura (FB) y la interacción (A*B) se determinó diferencia significativa. La humedad (FC) y las interacciones (A*C, B*C y A*B*C) y respecto a las repeticiones no hay diferencia significativa.

Pruebas de significancia de Tukey de la concentración de cadmio (Factor A y Factor B)

Figura 10

Prueba de significancia de Tukey de concentraciones (Factor A)



Nota. A. Factor A: concentración de plomo; B. Factor B: Temperatura

La figura 12, imagen A nos indica que la remoción de cadmio dio la conformación de tres grupos independientes, en donde el grupo 1: concentración base presentó un valor de remoción de 25,61%, mientras que el grupo 2: concentración normativa indica un valor de remoción de 15,57% y por último el grupo 3: concentración doble indica un valor de remoción de 42,98%. La imagen B, nos indica que la remoción de cadmio conformó tres grupos independientes, en donde el grupo 1: 20°C un valor de remoción de 23,34%, mientras que el grupo 2: 25°C indica un valor de remoción de 50,90% y por último el grupo 3: 30°C indica un valor de remoción de 10,93%.

Análisis de Varianza (ANOVA) de Cobalto

Tabla 16

Análisis de varianza para la remoción de Cobalto

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:A	9276,93	2	4638,47	132,53	0,0000
B:B	8294,53	2	4147,26	118,50	0,0000
C:C	365,962	2	182,981	5,23	0,0123

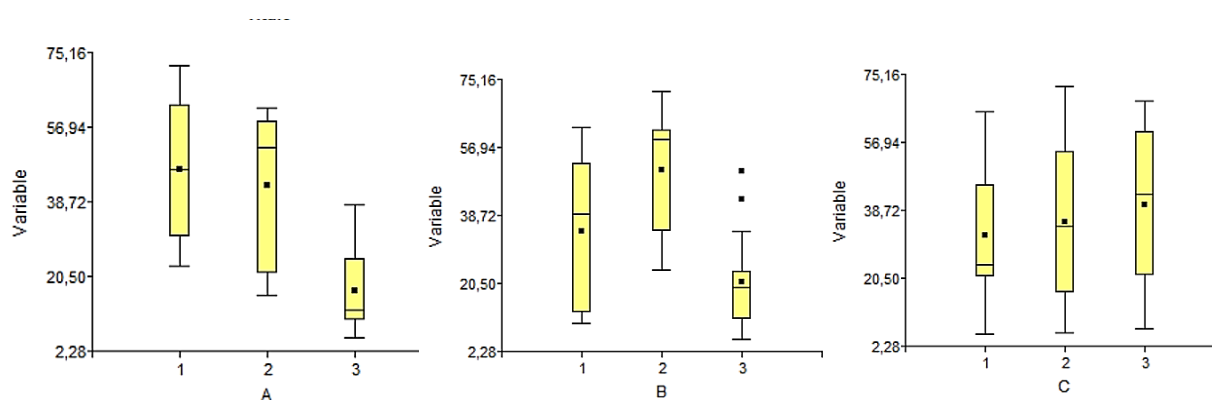
D:Replicas	22,9843	1	22,9843	0,66	0,4251
INTERACCIONES					
AB	1661,01	4	415,254	11,86	0,0000
AC	373,14	4	93,2849	2,67	0,0549
BC	257,903	4	64,4758	1,84	0,1510
ABC	489,788	8	61,2235	1,75	0,1340
RESIDUOS	909,96	2	34,9984		
		6			
TOTAL (CORREGIDO)	21652,2	5			
		3			

En cuanto a los resultados del análisis de varianza de la remoción de cobalto (tabla 20), se observó que en: concentración de cobalto (FA), temperatura (FB), humedad (FC) y las interacciones (A*B y A*C) se determinó que existe diferencia significativa. Respecto a las repeticiones no hay diferencia significativa.

Pruebas de significancia de Tukey de la concentración de cobalto (Factor A, Factor B y Factor C)

Figura 11

Prueba de significancia de Tukey de concentraciones (Factor A)



Nota. A. Factor A: concentración de plomo; B. Factor B: Temperatura; C. Factor C: Humedad

La figura 13, factor A, indica que la remoción de cobalto dio la conformación de tres grupos independientes, en donde el grupo 1: concentración base presentó un valor de remoción de 46,43%, mientras que el grupo 2: concentración normativa indica un valor de remoción de 42,70% y por último el grupo 3: concentración doble indica un valor de remoción de 16,95%. Factor B, indica que la remoción de cobalto dio la conformación de tres grupos independientes, en donde el grupo 1: 20°C un valor de remoción de 34,36%, mientras que el grupo 2: 25°C indica un valor de remoción 51,02% y por último el grupo 3: 30°C indica un valor de remoción de 20,71%. Factor C, indica que la remoción de cobalto conformó tres grupos independientes, en donde el grupo 1: 30% un valor de remoción de 32,03%, mientras que el grupo 2: 50% indica un valor de remoción de 35,66% y por último el grupo 3: 70% indica un valor de remoción de 38,39%.

Discusión V

Caracterización los lodos contaminados por metales pesados

Los lodos generados por las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) muestran composiciones distintas en comparación con los que se originan a partir de fuentes de agua. Las propiedades de los lodos residuales están estrechamente ligadas al método empleado en las PTAR, lo que puede alterar las características y propiedades de los biosólidos, afectando así su idoneidad como opción en la gestión.

La caracterización inicial de los lodos residuales resultó crucial para determinar la concentración de metales pesados, como cadmio, plomo y cobalto. Esto permitió realizar un análisis comparativo con las normativas vigentes (Tabla 17), posteriormente, la aplicación del tratamiento biológico.

Tabla 17
Valores máximos permisibles para metales pesados

Metal	Concentración (mg/kg de lodo)
Cadmio	2
Plomo	60
Cobalto	40

Nota. norma de calidad ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados.

Los valores del análisis químico de los metales en las muestras de lodos se encuentran dentro de los límites permisibles establecidos por la normativa ambiental ecuatoriana. Esto se debe a que los lodos fueron sometidos a un proceso de tratamiento físico-químico.

Estos resultados contrastan con el estudio de Camargo et al. (2016), quienes informaron que es posible eliminar metales pesados de los lodos mediante precipitación química. En este proceso, se añaden reactivos como hidróxido de sodio, sulfato de aluminio, cloruro férrico, entre otros.

Los compuestos reaccionan con los metales pesados, formando compuestos sólidos insolubles que luego precipitan y se separan del agua, reduciendo así la concentración de metales pesados en el lodo residual.

Es importante mencionar que estos métodos físico químicos, necesitan una elevada cantidad de energía para ser empleados, no son económicos y no son respetuosos con el medio ambiente pues generan más desechos contaminantes.

Identificación las condiciones óptimas para el desarrollo del hongo *Pleurotus Ostreatus* en el lodo contaminado.

Sustrato

En el inóculo terciario se identificaron las condiciones óptimas para el crecimiento del hongo en el medio contaminado con metales pesados. Puesto que el acondicionamiento con los lodos residuales partió del primer inóculo, se utilizó el tratamiento (1:3) debido a que el hongo pudo soportar una mayor cantidad de lodos residuales. Además, en el inóculo terciario se consideró una variación en la cantidad de metales pesados que también pudieron influenciar en su crecimiento.

El inóculo terciario contenía lodos y cascarilla de arroz, una proporción (1:3), Costa et al., (2023) indican que la cascarilla de arroz tiene una distribución que permite una buena ventilación y suspensión de humedad. Además, su textura permite una fácil colonización por parte del micelio de *Pleurotus ostreatus*. Es por eso que se observó crecimiento en la mayoría de muestras pese a que la cantidad del sustrato era menor que la de lodos.

Temperatura

En cuanto a temperatura, los resultados muestran un mayor crecimiento bajo condiciones de temperatura de 20°C y 25°C ya que este factor ambiental es relevante para su desarrollo. Bellettini et al. (2019), "Factores que afectan el crecimiento de *Pleurotus spp*" mencionan que, al evaluar diferentes condiciones de temperatura para *Pleurotus ostreatus*, encontraron que su rango óptimo de crecimiento es de 20 °C a 25 °C. Estos resultados coinciden con los obtenidos en esta investigación, ya que se observó una evidente colonización del sustrato a las temperaturas previamente mencionadas.

En otra investigación realizada por Hoa & Wang (2015), se relata que el crecimiento micelial de *Pleurotus ostreatus* se ve afectado a temperaturas mayores de 30 °C. La densidad del micelio del hongo es notablemente más fina y su crecimiento es más lento. En la presente investigación, el crecimiento del hongo no mostró un crecimiento micelial significativo en el sustrato cuando se encontraba a una temperatura de 30°C, incluso a partir de la primera semana bajo esta condición hubieron muestras en donde el micelio se degradó sin mostrar crecimiento alguno.

Humedad

Por otro lado, la humedad es importante considerando que el agua es uno de los factores principales que influyen en el crecimiento del hongo. La mayoría de hongos pueden crecer en un intervalo de humedad de 20-80%. Sin embargo (Bellettini et al., 2019) en su estudio evaluaron humedades en ese rango y observaron mayor crecimiento del micelio a humedades mayores, es decir a 50%, 60%, 70% y 80%. En la presente investigación las muestras con una humedad del 30% mostraron menor capacidad de crecimiento del hongo, observándose una poca colonización del micelio en el sustrato.

Bernart, (2005) menciona que la humedad óptima de crecimiento de *Pleurotus Ostratus* se encuentra en un rango del 50% y 75%, por otro lado, indica que un elevado contenido de humedad

puede dificultar la respiración del micelio, y aumentaría la posibilidad del crecimiento de organismos no deseados como nemátodo o bacterias. En la presente investigación el mayor crecimiento micelar se observó en humedades del 50% y 70%, colonizando por completo el sustrato ya que los nutrientes se transportan por el sistema hifal mediante un flujo firme de humedad.

Concentración de los metales pesados

En cuanto a la concentración de metales en cada tratamiento, se pudo observar una mayor colonización del micelio en los lodos residuales con la concentración normativa y el doble de metales pesados, mientras que en los que tenían una concentración de fondo mostraban una colonización neutral. Estos resultados se observaron en los primeros 4 días de análisis. Una vez finalizado el ensayo, los sustratos mostraban la misma línea de crecimiento, con excepción de los tratamientos en los que variaban factores de humedad y temperatura.

En otra investigación de Baldrian, (2003), resalta que el crecimiento de los hongos puede darse también por la presencia de metales pesados esenciales como: cobre, manganeso, hierro, molibdeno y zinc; y no esenciales como: plomo, cadmio y cromo. Sin embargo, su presencia en exceso puede inhibir el crecimiento, inducir cambios morfológicos y fisiológicos que afectan al desarrollo del hongo en estudio. En nuestro estudio podría vincularse el desarrollo del micelio a este fenómeno, ya que impulso su crecimiento en los lodos del tratamiento que contenía el doble de concentración de metales pesados.

Evaluación del proceso de biorremediación de metales pesados en el lodo contaminado

Plomo

Los resultados muestran que la remoción de plomo varía significativamente según la concentración inicial del metal y el tratamiento utilizado. Se observó mayor remoción 74,39% (25°C-70%) en la concentración de fondo, mientras que la menor remoción 11,57% (20°C-30%). Seguido, la concentración normativa, con mayor remoción 29,82% (25°C-70%), mientras que la menor remoción

2,49% (30°C-50%). Por último, en la concentración doble, apunta una mayor remoción 26,03% (25°C-70%) y una menor remoción 4,83% (30°C-50%). Esto registra que, al emplear concentraciones más bajas de plomo, el proceso de remoción resulta eficiente.

Los datos indican que la concentración inicial de plomo tiene un efecto importante en la remoción. Las concentraciones normativas y dobles de plomo, que son más altas que la concentración de fondo, por otro lado, indican una menor remoción porcentual. Esto puede significar que, a concentraciones más altas, el proceso de remoción se vuelve menos eficaz, esto debido a la saturación del hongo.

Aunque la concentración de fondo posee la menor remoción porcentual, es notable señalar que inclusive en estas condiciones relativamente bajas, se muestra una cierta remoción de plomo. Esto podría indicar el potencial que tiene *Pleurotus Ostreatus* para plomo en sitios con concentraciones bajas pero que aún necesitan ser tratados.

Por otro lado, los resultados del análisis de varianza (ANOVA) para la remoción de plomo proveen información importante sobre la influencia de varios factores y sus interacciones en el proceso de remoción. Los factores temperatura y humedad (FB-FC) influyen significativamente en la remoción de plomo. La temperatura presenta un efecto importante en la capacidad del hongo para eliminar el plomo. La humedad también se vinculó a la remoción de plomo, puesto que la disponibilidad de agua afecta a la movilidad de los metales pesados. En cuanto a sus interacciones los factores (AB, AC, BC y ABC) indicaron diferencias significativas, es decir, que la relación entre la concentración de plomo, temperatura y humedad deben controlarse en el proceso de remoción.

Cadmio

De igual forma que con el plomo, se observa una variabilidad notable en la remoción de cadmio en función de la concentración inicial y el tratamiento utilizado. Se observó mayor remoción 67,04%

(25°C-50%) en la concentración de fondo, mientras que la menor remoción 4,21% (20°C-30%). Seguido, la concentración normativa, con mayor remoción 37,07% (25°C-70%), mientras que la menor remoción 1,72 % (30°C-30%). Por último, en la concentración doble, apunta una mayor remoción 65,14% (25°C-70%) y una menor remoción 8,81% (30°C-30%). Esto registra la capacidad que tiene el hongo para remover cadmio en concentraciones bajas y altas, determinado la eficiencia de remoción utilizando *Pleurotus Ostreatus*.

(Vaverková et al., 2018) en su investigación “Assessment and Evaluation of Heavy Metals Removal from Landfill Leachate by *Pleurotus ostreatus*” mencionan que *Pleurotus Ostretus* es capaz de tolerar y eliminar los metales pesados como el Plomo y Cadmio en aproximadamente 1 mes, además mencionan que la bioacumulación de metales pesados por hongos puede verse afectada por factores ambientales, que involucran la temperatura, humedad, ph, concentración de metales pesados, edad del cuerpo fructifero o micelio, enzimas y proteínas procedentes del hongo.

Los resultados del ANOVA para cadmio muestran que la temperatura (FB) afectan significativamente en la remoción de cadmio, es decir que las condiciones térmicas, influyen en la capacidad del hongo para remover cadmio de los lodos. Por último, la interacción de la concentración de cadmio y la temperatura (AB) es significativa. Esto indica que la temperatura modula la remoción del metal pesado en este tratamiento. En cambio, la humedad (FC) y las interacciones (AC, BC y ABC) no presentaron diferencias significativas en la remoción de cadmio. En esta investigación esto podría indicar que la humedad y sus interacciones entre factores no generan un impacto sustancial en la remoción de cadmio.

Cobalto

Al igual que con el Plomo y el Cadmio, los datos resaltan la variabilidad significativa en la remoción del cobalto según la concentración inicial y el tratamiento. Se observó mayor remoción

71,85% (25°C-50%) en la concentración de fondo, mientras que la menor remoción 23,15% (30°C-30%). Seguido, la concentración normativa, con mayor remoción 59,89% (25°C-70%), mientras que la menor remoción 15,75% (30°C-70%). Por último, en la concentración doble, apunta una mayor remoción 25,81% (25°C-70%) y una menor remoción 5,59% (30°C-30%). Esto registra que, al emplear concentraciones más bajas y medias de plomo, el proceso de remoción resulta eficiente.

Como se observa en los datos, la concentración que pertenecen a la dobles de cobalto, y son más altas que la concentración de fondo y normativa, así pues, muestra una remoción porcentual menor.

En el análisis de varianza (ANOVA) para cobalto mostró resultados significativos en cuanto a la temperatura y la humedad, es decir, influyen notablemente en la remoción de cobalto utilizando *Pleurotus Ostreatus*. En el caso de las interacciones entre factores temperatura y concentración (AB) y concentración y humedad (AC) mostraron diferencias significativas, lo que indica que se debe controlar la temperatura y humedad de forma conjunta para los procesos de remoción de cobalto.

En cuanto al Cobalto, (Liu et al., 2019) realizaron una investigación en el que utilizaron *Pleurotus Ostreatus* para remover Cobalto de suelos en donde obtuvieron excelentes resultados, sin embargo, el periodo de estudio fue durante 30 días. En otro estudio realizado por Vaseem et al., (2017) lograron eliminar el cobalto y otros metales pesados en un 99,3% en un lapso de 20 días. Así pues, el tiempo de estudio resulta relevante en la remoción de metales pesados puesto que el tiempo de adaptación y tolerancia del hongo al sustrato contaminado a diferentes concentraciones pueden mostrar dificultades en el proceso.

Conclusiones VI

Caracterización de lodos contaminados por metales pesados

Se analizaron las muestras de lodos residuales, y se determinó la presencia de Plomo (Pb) con una concentración de 2,632 mg/kg, Cadmio (Cd) con una concentración de 1,203 mg/kg y el Cobalto (Co) con una concentración de 10,605 mg/kg.

Posteriormente para identificar la remoción a diferentes concentraciones se generaron diferentes muestras con hasta el doble la concentración permisible.

Identificación las condiciones óptimas para el desarrollo del hongo *Pleurotus Ostreatus* en el lodo contaminado.

Se concluye, con los resultados del estudio que el hongo *Pleurotus Ostreatus* remueve metales pesados como Plomo, Cadmio y Cobalto, que varía notablemente según la concentración notablemente según la concentración inicial de los metales y las condiciones empleadas en cada tratamiento.

El inóculo terciario que contenía lodos y cascarilla de arroz en una proporción (1:3), desarrollo un buen crecimiento del hongo, inclusive cuando la cantidad de lodos residuales era mayor. Esto recalca la importancia que tiene la cascarilla de arroz como sustrato secundario, debido a todas sus propiedades lo que facilitó la colonización homogénea del micelio de *Pleurotus Ostreatus*.

En cuanto a la temperatura fue un factor crítico para el crecimiento del hongo. Se encontró que las temperaturas óptimas están en el rango de 20°C a 25°C para el desarrollo del micelio, lo cual coincide con investigaciones anteriores. Además, se observó que temperaturas superiores a 30°C inhibieron el crecimiento micelial, lo que concuerda con otros estudios que han verificado que temperaturas altas son perjudiciales para *Pleurotus ostreatus*.

Por último, la humedad el rango de óptimo crecimiento está entre el 50% y 70%. Estos resultados coincidieron con anteriores investigaciones en donde también sugirieron que estos porcentajes de humedad induce un crecimiento saludable del micelio. No obstante, se resaltó que el exceso de humedad dificulta la respiración del micelio y permite el crecimiento que organismos no deseados.

Evaluación del proceso de biorremediación de metales pesados en el lodo contaminado

Se concluye con los resultados del estudio que la remoción de plomo, cadmio y cobalto por *Pleurotus Ostreatus* varia notablemente según la concentración inicial de los metales pesados y las condiciones empleadas en cada tratamiento. En general, se observó mayor remoción de metales cuando las concentraciones son bajas.

Además, se recalca los factores de temperatura y humedad y sus interacciones que poseen un impacto significativo para remover los metales pesados estudiados. Por consiguiente, para optimizar el proceso de remoción de metales pesados al utilizar *Pleurotus Ostreatus*, es fundamental controlar y ajustar tanto la temperatura y humedad durante el tratamiento.

Finalmente, algunos estudios respaldan la capacidad de *Pleurotus Ostreatus* como buen agente biológico para tolerar y remover metales pesados del lodo residual, pero también menciona que factores ambientales y la concentración de metales puede influir significativamente en el proceso de micorremediación. Así mismo, es relevante considerar el tiempo de tratamiento debido a que el hongo necesita tiempo para adaptarse y tolerar mayores cantidades de metales pesados.

Recomendaciones VII

- Se recomienda realizar microscopia electrónica de barrido para observar las localizaciones de los metales pesados dentro del sistema hifal y así encontrar diferencias representativas en su morfología.
- Se recomienda realizar un análisis químico preciso de las concentraciones iniciales de metales pesados en los lodos contaminados antes de implementar la biorremediación.
- Se sugiere considerar la extensión del período de tiempo de tratamiento en proyectos de micorremediación para observar cambios del hongo frente a los metales pesados.
- Se debe tener en cuenta que otros parámetros como el pH, la concentración de nutrientes y la composición del sustrato también pueden influir en la eficacia de la micorremediación
- Se recomienda estudiar más el campo de micorremediación utilizando otros hongos que presenten propiedades similares a *Pleurotus Ostreatus* debido a los beneficios ambientales que tiene su uso.

Bibliografía

- Akpasi, S. O., Anekwe, I. M. S., Tetteh, E. K., Amune, U. O., Shoyiga, H. O., Mahlangu, T. P., & Kiambi, S. L. (2023). Mycoremediation as a Potentially Promising Technology: Current Status and Prospects—A Review. *Applied Sciences* 2023, Vol. 13, Page 4978, 13(8), 4978.
<https://doi.org/10.3390/APP13084978>
- Ali, H., & Khan, E. (2018). Assessment of potentially toxic heavy metals and health risk in water, sediments, and different fish species of River Kabul, Pakistan.
<https://doi.org/10.1080/10807039.2018.1438175>, 24(8), 2101–2118.
<https://doi.org/10.1080/10807039.2018.1438175>
- Ali, H., Khan, E., & Ilahi, I. (2019). Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: Environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation. *Journal of Chemistry*, 2019.
<https://doi.org/10.1155/2019/6730305>
- Alicia Velázquez Machuca, M., Rosario Equihua Soriano, J., Venegas González, J., Luis Montañez Soto, J., Luis Pimentel Equihua, J., Muñoz Navia, M., Machuca, V., Equihua Soriano, J. R., Venegas González, J., Montañez Soto, J. L., Pimentel Equihua, J. L., & Muñoz Navia, M. (2019). Physical and chemical characterization of residual sludge biochar. *Terra Latinoamericana*, 37(3), 243–251.
<https://doi.org/10.28940/TERRA.V37I3.409>
- Atay, Ş., & Akbal, F. (2016). Classification and Effects of Sludge Disintegration Technologies Integrated Into Sludge Handling Units: An Overview. *CLEAN – Soil, Air, Water*, 44(9), 1198–1213.
<https://doi.org/10.1002/CLEN.201400084>
- Baldrian, P. (2003). Interactions of heavy metals with white-rot fungi. *Enzyme and Microbial Technology*, 32(1), 78–91. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(02\)00245-4](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(02)00245-4)

Bernart, M. W. (2005). *Mushrooms. Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact*, 2nd Edition By S.-T. Chang and P. G. Miles (Chinese University of Hong Kong and State University of New York, respectively). CRC Press, Boca Raton. 2004. xx + 451 pp. 18.5 × 26 cm. \$159.95. ISBN 0-8493-1043-1. *Journal of Natural Products*, 68(4), 629–630.

<https://doi.org/10.1021/NP058221B>

Bertanza, G., Galessi, R., Menoni, L., Salvetti, R., Slavik, E., & Zanaboni, S. (2015). Wet oxidation of sewage sludge: full-scale experience and process modeling. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(10), 7306–7316. <https://doi.org/10.1007/S11356-014-3144-9/METRICS>

Brown, H. G., Hensley, C. P., McKinney, G. L., & Robinson, J. L. (1973). Efficiency of Heavy Metals Removal In Municipal Sewage Treatment Plants. *Environmental Letters*, 5(2), 103–114.

<https://doi.org/10.1080/00139307309435517>

Collivignarelli, M. C., Abbà, A., Miino, M. C., & Torretta, V. (2019). What Advanced Treatments Can Be Used to Minimize the Production of Sewage Sludge in WWTPs? *Applied Sciences* 2019, Vol. 9, Page 2650, 9(13), 2650. <https://doi.org/10.3390/APP9132650>

Costa, A. F. P., Steffen, G. P. K., Steffen, R. B., Portela, V. O., Santana, N. A., dos Santos Richards, N. S. P., & Jacques, R. J. S. (2023). The use of rice husk in the substrate composition increases *Pleurotus ostreatus* mushroom production and quality. *Scientia Horticulturae*, 321, 112372.

<https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2023.112372>

Divya, M., & Aanand, S. (n.d.). *Bioremediation-An eco-friendly tool for effluent treatment: A Review Development of environmental guidelines and operational protocol for sustainable development of cage culture in the reservoirs of Tamil Nadu View project*. Retrieved July 12, 2023, from

<https://www.researchgate.net/publication/315802463>

dos Reis, R. F., Sergio Cordeiro, J., Font, X., & Laguna Achon, C. (2019). The biodrying process of sewage sludge – a review. *https://doi.org/10.1080/07373937.2019.1629689*, 38(10), 1247–1260.

<https://doi.org/10.1080/07373937.2019.1629689>

Fijalkowski, K., Rorat, A., Grobelak, A., & Kacprzak, M. J. (2017). The presence of contaminations in sewage sludge – The current situation. *Journal of Environmental Management*, 203, 1126–1136.

<https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2017.05.068>

Gualberto, J., Macías, L., & Guadalajara, J. (2013). *LOS LODOS DE LAS PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES, ¿PROBLEMA O RECURSO?*

Gupta, A., & Thakur, I. S. (2015). Biodegradation of wastewater organic contaminants using *Serratia* sp.

ISTVKR1 isolated from sewage sludge. *Biochemical Engineering Journal*, 102, 115–124.

<https://doi.org/10.1016/J.BEJ.2015.02.007>

Harrison, E. Z., Oakes, S. R., Hysell, M., & Hay, A. (2006). Organic chemicals in sewage sludges. *Science of The Total Environment*, 367(2–3), 481–497. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2006.04.002>

Jayaraman, K., & Gökalp, I. (2015). Pyrolysis, combustion and gasification characteristics of miscanthus and sewage sludge. *Energy Conversion and Management*, 89, 83–91.

<https://doi.org/10.1016/J.ENCONMAN.2014.09.058>

Kim, B., Murayama, M., Colman, B. P., & Hochella, M. F. (2012). Characterization and environmental implications of nano- and larger TiO₂ particles in sewage sludge, and soils amended with sewage sludge. *Journal of Environmental Monitoring*, 14(4), 1128–1136.

<https://doi.org/10.1039/C2EM10809G>

Kiran, Bharti, R., & Sharma, R. (2022). Effect of heavy metals: An overview. *Materials Today: Proceedings*, 51, 880–885. <https://doi.org/10.1016/J.MATPR.2021.06.278>

<https://doi.org/10.1016/J.MATPR.2021.06.278>

- Kumar, V., & Dwivedi, S. K. (2021). Mycoremediation of heavy metals: processes, mechanisms, and affecting factors. *Environmental Science and Pollution Research* 28:9, 28(9), 10375–10412. <https://doi.org/10.1007/S11356-020-11491-8>
- Liu, B., Huang, Q., Su, Y., Xue, Q., & Sun, L. (2019). Cobalt speciation and phytoavailability in fluvo-aquic soil under treatments of spent mushroom substrate from *Pleurotus ostreatus*. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(8), 7486–7496. <https://doi.org/10.1007/S11356-018-04080-3>
- Molla, A. H., & Fakhru'l-Razi, A. (2012). Mycoremediation-a prospective environmental friendly technique of bioseparation and dewatering of domestic wastewater sludge. *Environmental Science and Pollution Research*, 19(5), 1612–1619. <https://doi.org/10.1007/S11356-011-0676-0/METRICS>
- Nancharaiah, Y. V., & Sarvajith, M. (2019). Aerobic granular sludge process: a fast growing biological treatment for sustainable wastewater treatment. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 12, 57–65. <https://doi.org/10.1016/J.COESH.2019.09.011>
- Nemerow, N. L., Agardy, F. J., Sullivan, Patrick., & Salvato, J. A. (2009). *Environmental engineering. Water, wastewater, soil, and groundwater treatment and remediation*. Wiley.
- Oliver, B. G., & Cosgrove, E. G. (1974). The efficiency of heavy metal removal by a conventional activated sludge treatment plant. *Water Research*, 8(11), 869–874. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(74\)90099-2](https://doi.org/10.1016/0043-1354(74)90099-2)
- Olofsson, U., Bignert, A., & Haglund, P. (2012). Time-trends of metals and organic contaminants in sewage sludge. *Water Research*, 46(15), 4841–4851. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2012.05.048>

- Paithankar, J. G., Saini, S., Dwivedi, S., Sharma, A., & Chowdhuri, D. K. (2021). Heavy metal associated health hazards: An interplay of oxidative stress and signal transduction. *Chemosphere*, *262*, 128350. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2020.128350>
- Park, C., Lee, C., Kim, S., Chen, Y., & Chase, H. A. (2005). Upgrading of anaerobic digestion by incorporating two different hydrolysis processes. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, *100*(2), 164–167. <https://doi.org/10.1263/JBB.100.164>
- Rahman, R. A., Molla, A. H., & Fakhru'l-Razi, A. (2014). Assessment of sewage sludge bioremediation at different hydraulic retention times using mixed fungal inoculation by liquid-state bioconversion. *Environmental Science and Pollution Research*, *21*(2), 1178–1187. <https://doi.org/10.1007/S11356-013-1974-5/METRICS>
- Singh, H. (2006). Fungal Biodegradation and Biodeterioration. *Mycoremediation: Fungal Bioremediation*, 1–3. <https://www.wiley.com/en-us/Mycoremediation%3A+Fungal+Bioremediation-p-9780471755012>
- Tyagi, V. K., & Lo, S. L. (2011). Application of physico-chemical pretreatment methods to enhance the sludge disintegration and subsequent anaerobic digestion: an up to date review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology 2011 10:3*, *10*(3), 215–242. <https://doi.org/10.1007/S11157-011-9244-9>
- Vaseem, H., Singh, V. K., & Singh, M. P. (2017). Heavy metal pollution due to coal washery effluent and its decontamination using a macrofungus, *Pleurotus ostreatus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *145*, 42–49. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2017.07.001>
- Vaverková, M. D., Adamcová, D., Radziemska, M., Voběrková, S., Mazur, Z., & Zloch, J. (2018). Assessment and Evaluation of Heavy Metals Removal from Landfill Leachate by *Pleurotus*

ostreatus. *Waste and Biomass Valorization*, 9(3), 503–511. <https://doi.org/10.1007/S12649-017-0015-X>

Verlicchi, P., & Zambello, E. (2015). Pharmaceuticals and personal care products in untreated and treated sewage sludge: Occurrence and environmental risk in the case of application on soil — A critical review. *Science of The Total Environment*, 538, 750–767.
<https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2015.08.108>

Wang, M., Chen, S., Jia, X., & Chen, L. (2021). Concept and types of bioremediation. *Handbook of Bioremediation: Physiological, Molecular and Biotechnological Interventions*, 3–8.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819382-2.00001-6>

Watkinson, S. C., Boddy, L., & Money, N. P. (2015). The Fungi. In *The Fungi*. Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382034-1.09992-8>

Zat, T., Bandeira, M., Sattler, N., Segadães, A. M., Cruz, R. C. D., Mohamad, G., & Rodríguez, E. D. (2021). Potential re-use of sewage sludge as a raw material in the production of eco-friendly bricks. *Journal of Environmental Management*, 297, 113238. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2021.113238>

Zhang, P., Guo, J. S., Shen, Y., Yan, P., Chen, Y. P., Wang, H., Yang, J. X., Fang, F., & Li, C. (2015). Microbial communities, extracellular proteomics and polysaccharides: A comparative investigation on biofilm and suspended sludge. *Bioresource Technology*, 190, 21–28.
<https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2015.04.058>