



CARRERA DE INGENIERIA AMBIENTAL

**TESIS PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO EN
MEDIO AMBIENTE**

TEMA:

EFICIENCIA DE *Lactobacillus* Y *Chlorella Sp* (IN VITRO), EN LA
DISMINUCIÓN DE LA CARGA ORGÁNICA EN AGUAS RESIDUALES DE LA
DESTILERÍA DE ALCOHOL LA SOLEDAD, JUNÍN

AUTORES:

GARCÍA HERNÁNDEZ JORGE LUIS
MACÍAS JARAMILLO ANDREA JOHANNA

TUTOR:

Q.F. PATRICIO NOLES AGUILAR

CALCETA, JULIO 2016

DERECHOS DE AUTORIA

García Hernández Jorge Luis y Macías Jaramillo Andrea Johanna, declaramos bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedemos nuestros derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su reglamento.

.....

GARCIA HERNANDEZ JORGE LUIS

.....

MACIAS JARAMILLO ANDREA JOHANNA

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

Patricio Noles Aguilar certifica haber tutelado la tesis titulada **EFICIENCIA DE *Lactobacillus* Y *Chlorella Sp* (IN VITRO), EN LA DISMINUCIÓN DE LA CARGA ORGÁNICA EN AGUAS RESIDUALES DE LA DESTILERÍA DE ALCOHOL LA SOLEDAD, JUNÍN**, que ha sido desarrollada por García Hernández Jorge Luis y Macías Jaramillo Andrea Johanna, previa a la obtención del título de Ingeniero en Medio Ambiente, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TESIS DE GRADO DE TERCER NIVEL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

.....

QF. PATRICIO NOLES AGUILAR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos miembros del tribunal correspondiente, declaramos que hemos APROBADO la tesis titulada **EFICIENCIA DE *Lactobacillus* Y *Chlorella Sp* (IN VITRO), EN LA DISMINUCIÓN DE LA CARGA ORGÁNICA EN AGUAS RESIDUALES DE LA DESTILERÍA DE ALCOHOL LA SOLEDAD, JUNÍN**, que ha sido propuesta, desarrollada y sustentada por García Hernández Jorge Luis y Macías Jaramillo Andrea Johanna, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TESIS DE GRADO DE TERCER NIVEL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

.....
ING. JULIO A. LOUREIRO SALABARRÍA, M.SC
MIEMBRO

.....
ING. MARÍA M. DELGADO DEMERA, M.SC
MIEMBRO

.....
ING. CARLOS F. SOLÓRZANO SOLÓRZANO, M.PA.
PRESIDENTE

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, que me dio la oportunidad de adquirir una educación de calidad con grandes conocimientos en el campo profesional.

A Dios, por darme la oportunidad de que yo alcance mi sueño de ser un profesional.

A el Ing. Piero Fajardo y el Blog. Jhonny Navarrete, que nos apoyaron con sus conocimientos al momento del desarrollo de nuestra tesis.

A mi familia y amigos, que me apoyaron en todo momento durante mi proceso de estudio y preparación.

A mi amiga y compañera de tesis Andrea Macías que ha sido mi apoyo fundamental durante nuestro proceso de estudio.

GARCIA HERNANDEZ JORGE LUIS

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de una educación superior de calidad y los conocimientos obtenidos.

A Dios, por permitirme alcanzar mi meta propuesta.

A mi familia por su apoyo incondicional que han hecho posible la realización de mi carrera y que representa un orgullo más para ellas.

MACIAS JARAMILLO ANDREA JOHANNA

DEDICATORIA

A DIOS, porque sin su bendición no sería posible cumplir mis metas planteadas.

Al TUTOR: QF. Patricio Noles por ser nuestro guía y facilitador de contactos claves durante el desarrollo de la tesis.

A MIS PADRES. Ángela Hernández y José García, quienes con su apoyo y consejos son mi inspiración para mi superación en el ámbito profesional.

A MIS COMPAÑEROS, de curso que siempre nos apoyamos unos a otros durante nuestro proceso de estudio.

GARCIA HERNANDEZ JORGE LUIS

DEDICATORIA

A Dios en primer lugar porque sin su bendición nada de esto se hubiera podido cumplir.

Al Facilitador QF. Patricio Noles por habernos brindado su apoyo y conseguir los contactos necesarios, que en conjunto nos colaboraron durante el proceso de la tesis.

A mi mamá Ana María Jaramillo Loor por ser el pilar fundamental de este proceso de estudios que junto con el apoyo de mi abuela, tía, prima y hermana estoy ahora cumpliendo algo que antes era un sueño.

A mi compañero de tesis Jorge García por su apoyo y años de amistad.

MACIAS JARAMILLO ANDREA JOHANNA

CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORIA	II
CERTIFICACIÓN DE TUTOR.....	III
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	IV
AGRADECIMIENTO	V
AGRADECIMIENTO	VI
DEDICATORIA	VII
DEDICATORIA	VIII
CONTENIDO DE CUADROS Y FIGURAS	XI
RESUMEN	XII
ABSTRACT.....	XIII
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	1
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	2
1.3. OBJETIVOS.....	3
1.4. HIPÓTESIS.....	3
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. AGUA	4
2.2. AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES.....	4
2.3. DESTILERÍAS DE ALCOHOL.....	4
2.4. TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE LAS AGUAS RESIDUALES	7
2.5. MICRORGANISMOS	7
2.6. ANÁLISIS NECESARIOS	10
2.7. TEMAS GENERALES	13
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO	16
3.1. UBICACIÓN.....	16
3.2. DURACIÓN DEL TRABAJO	16
3.3. FACTORES EN ESTUDIO	16
3.4. TRATAMIENTOS	16

3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL	17
3.6. UNIDAD EXPERIMENTAL	18
3.7. VARIABLES A MEDIR	18
3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	19
3.9. FASES DE TESIS	20
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	23
4.1 CARACTERIZACIÓN DEL AGUA RESIDUAL	23
4.2. RESULTADOS DE LA EVOLUCION DEL ENSAYO	24
4.3. RESULTADOS DE LA EFICIENCIA DE LOS TRATAMIENTOS	27
4.4. ANALISIS DE COSTO ECONÓMICO	28
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	29
5.1. CONCLUSIONES	29
5.2. RECOMENDACIONES	30
BIBLIOGRAFIA	31
ANEXOS	36

CONTENIDO DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro 3.1.	Esquema de tratamientos.....	17
Cuadro 3.2.	Análisis de Varianza.....	17
Cuadro 3.3.	Variantes del Diseño.....	19
Cuadro 3.4.	Parámetros a analizar.....	20
Cuadro 3.5.	Esquema de análisis de varianza.....	36
Cuadro 4.1.	Resultados de los análisis de las aguas residuales de la destilería de alcohol comparando los límites máximo permisibles de TULSMA.....	23
Cuadro 4.2.	Resultados de los análisis de las aguas residuales de la destilería de alcohol después de la aplicación de los microorganismos comparando los límites máximo permisibles del TULSMA.....	24
Cuadro 4.3.	Evolución de los tratamientos día 20.....	25
Cuadro 4.4.	Evolución de los tratamientos día 30.....	26
Cuadro 4.5.	Eficiencia de los tratamientos.....	27
Cuadro 4.6.	Costo por tratamiento.....	28

RESUMEN

La presente investigación se realizó en la comunidad La Soledad del cantón Junín con el objetivo de comprobar la eficiencia de *Chlorella sp* y *Lactobacillus*, en la disminución de carga orgánica de las aguas residuales de la destilería de alcohol “La Soledad”, para ello se tomaron muestras de la laguna de la destilería para realizar la caracterización del agua residual, los análisis realizados fueron: nitritos que tuvo 10 mg/dm³, fosfato tuvo 470 mg/dm³, sólidos totales tuvo 17813 mg/dm³, DBO tuvo 10000 mg/dm³, oxígeno disuelto con 0,82 mg/dm³, pH tuvo 3,81, la temperatura fue de 33°C, Se utilizó un DCA, se realizaron 6 tratamientos: T1= *Lactobacillus* con dosis de aplicación de 0,30 ml/dm³; T2= *Lactobacillus* con dosis de aplicación de 0,45 ml/dm³; T3= *Lactobacillus* con dosis de aplicación de 0,60 ml/dm³; T4= *Chlorella* con dosis de aplicación de 0,30 ml/dm³; T5= *Chlorella* con dosis de aplicación de 0,45 ml/dm³ y T6= *Chlorella* con dosis de aplicación de 0,60 ml/dm³, se realizó un seguimiento con análisis y toma de datos cada 10 días por 30 días, para observar el comportamiento de la muestra de agua residual con los microorganismos inoculados, luego se evaluó la eficiencia de los microorganismos con respecto a la reducción de la carga orgánica, siendo el más eficiente el T1 *Lactobacillus* con una DBO final de 1500 mg/dm³ y una eficiencia de 85%, llegando a la conclusión de que el T1 es el mejor de los tratamientos.

PALABRAS CLAVE

Caracterización, microorganismos, tratamiento, agua residual, diseño experimental, concentraciones, inóculos.

ABSTRACT

This investigation was made in the community La Soledad of the canton Junín with the objective to verify the efficiency of *Chlorella* sp and *Lactobacillus*, in the decrease of organic load of the waste water of the alcohol distillery of "La Soledad", for these samples were taken from the lagoon of the distillery to make the characterization of the residual water, the analyses made were: nitrites that had 10 mg/dm³, phosphate had 470 mg/dm³, solid total had 17813 mg/dm³, DBO had 10000 mg/dm³, dissolved oxygen with 0,82 mg/dm³, pH had 3,81, the temperature was of 33°C, a DCA was in use, 6 treatments were made: T1 = *Lactobacillus* with application dose of 0,30 ml/dm³; T2 = *Lactobacillus* with application dose of 0,45 ml/dm³; T3 = *Lactobacillus* with application dose of 0,60 ml/dm³; T4 = *Chlorella* with application dose of 0,30 ml/dm³; T5 = *Chlorella* with application dose of 0,45 ml/dm³ and T6 = *Chlorella* with application dose of 0,60 ml/dm³, a follow-up was made with analysis and capture of information every 10 days by 30 days, to observe the behavior of the sample of residual water with the inoculated microorganisms, then the efficiency of the microorganisms was evaluated with regard to the reduction of the organic load, being the most efficient the T1 *Lactobacillus* with a final DBO of 1500 mg/dm³ and an efficiency of 85 %, coming to the conclusion that T1 is the best of the treatments.

KEY WORDS

Characterization, microorganisms, treatment, residual water, experimental design, concentrations, inoculums.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

La contaminación del agua a nivel mundial es un factor muy importante en estos días, las industrias han avanzado y así las fuentes de contaminación como los residuos agrícolas y efluentes contaminados que llegan a los cursos de agua; todas estas formas de contaminación afectan no solo a los animales y las plantas sino a todo ser que necesite de ella (Díaz, 2013).

Dentro de Ecuador, también existen este tipo de problemas y como productor de caña de azúcar, posee condiciones óptimas para el funcionamiento de destilerías que emplean como insumo la melaza de caña, esta industria funciona en ciertas épocas del año es decir es de tipo estacional, durante el proceso de la producción de alcohol emite varios desechos líquidos que tienen un importante impacto en las aguas receptoras, tales como las vinazas (Notizalia, 2010).

En la provincia de Manabí, el cantón Junín produce la vinaza como residuo industrial que se genera durante la destilación del alcohol, se estima que por cada litro de alcohol producido se obtiene alrededor de 13 L de vinaza, pero no hay que dejar de lado las aguas procedentes del lavado de la caña que son tan contaminantes como las vinazas cuyas descargas en conjunto van al suelo y que con el tiempo forman lagunas (Díaz, 2013).

Teniendo en cuenta la situación, dentro del cantón Junín, en el sitio La Soledad existen fábricas destiladoras de alcohol etílico cuyas aguas residuales van a dar al cuerpo de agua sin ningún mantenimiento.

Por las razones expuestas se plantea la siguiente interrogante:

¿Sería eficiente tratar este tipo de agua residual proveniente del procesamiento de alcohol etílico con *Lactobacillus* y *Chlorella Sp* para disminuir la carga orgánica?

1.2. JUSTIFICACIÓN

La obtención de alcohol etílico a partir de la caña de azúcar tiene una gran demanda en la actualidad, ya que se empieza a emplear como bio combustible en el parque automotor, de esta manera aumentan las fábricas de destilería de este tipo de alcohol, generando grandes cantidades de residuos sólidos y líquidos.

El reglamento del Texto Unificado para Aguas Residuales toma en consideración a los efluentes líquidos industriales con carga orgánica por ser aguas residuales, en donde se hace referencia al Reglamento para la Prevención y Control de la Contaminación Ambiental.

En lo que concierne a las fábricas de destilación en Junín, el problema de las aguas es inminente es por eso que el municipio ha emitido ordenanzas donde se exige que las destilerías presenten una pronta solución a los impactos negativos que produce y al no cumplirlo tendrían que suspender las actividades de producción de alcohol etílico.

Las destilerías de alcohol, generan un importante ingreso económico al cantón Junín, ya que es un buen aportador de la comercialización de bebidas y su cierre podría afectar este sector exportador.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

- Determinar la eficiencia del *Lactobacillus* y *Chlorella Sp* (*in vitro*) en la disminución de la carga orgánica en aguas residuales de la destilería de alcohol, La Soledad, Junín.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Caracterizar las aguas residuales de la destilería de alcohol.
- Calcular la eficiencia de los microorganismos de cada tratamiento con respecto a la disminución de la carga orgánica, y compararla con las normas TULSMA.

1.4. HIPÓTESIS

La aplicación de *Lactobacillus* y *Chlorella Sp* en el tratamiento de las aguas residuales de las destilerías de alcohol reducirá la concentración de carga orgánica.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. AGUA

El agua, el líquido indispensable para la vida en la Tierra cada vez se ve más amenazada, con una población que aumenta cada día y el cambio climático haciendo estragos en varias partes del mundo hace que su conservación y acceso sea cada vez más difícil (González; Pérez; Claro, 2014).

2.2. AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES

La generación de aguas residuales de diferentes fuentes que muchas veces no se le da el tratamiento adecuado, produce riesgos en la salud pública y el entorno ambiental, es por eso que cada descarga al efluente de curso de agua debe cumplir con un índice de contaminación mínima además de remover la materia orgánica y los sólidos suspendidos (Silva; Torres; Madera, 2008).

Varios cuerpos de agua en la actualidad están siendo contaminados sin control alguno mayormente por procesos antropogénicos, en los países en desarrollo los desechos industriales se vierten al agua sin tratamiento alguno, mientras que los países industrializados generan grandes cantidades de desechos peligrosos que impactan los ecosistemas y deterioran el agua, el aire y el suelo (Arango, 2013).

2.3. DESTILERÍAS DE ALCOHOL

Las destilerías de alcohol a partir de la caña de azúcar es una manera de ganarse la vida para muchas familias en esta región de Ecuador, la caña se cosecha a

mano y por medio de un proceso tradicional se produce el alcohol, que muchas veces no se usan químicos.

Una vez que la caña esta apta para ser cortada se hace lo más abajo posible debido a que los azúcares tienden a descender por el tallo, la cantidad de alcohol producido se da mientras más azúcar tenga la caña, una vez cortada se le sacan las hojas y se las coloca en el sol para que se sequen y así puedan usarse como abono.

El tallo de la caña es colocado en los rodillos de los molinos de la caña y comienza el proceso pasando de una etapa a otra, el residuo que se genera en los molinos es utilizado como combustible para la misma destilería y se lo conoce como “bagazo”, el jugo de las cañas se los coloca en unos tanques para que empiece el proceso de fermentación, se le puede colocar levadura, pero normalmente fermentan con la levadura natural del aire, una vez cumplido todo el proceso se obtiene una bebida conocida como “aguardiente” y tiene un 60% a 65% de contenido alcohólico (Progreso Verde, 2014).

2.3.1. CONTAMINACIÓN POR AGUAS RESIDUALES DE LA DESTILERÍA

En una destilería, las descargas a más de contener vinazas también contiene aguas de lavado que provienen de los fermentadores y aguas de limpieza general, el mosto residual varia 1.4 – 1.6 m³ /hl de alcohol producido, mientras que las aguas de lavado de fermentadores se encuentran entre 2.5 a 5 % de esta cantidad (Pérez; Silvana, 2004).

También se generan residuales con concentraciones de DQO que oscilan entre 50 y 70 kg de DQO/m³ y están compuestos por un 93% de agua, 2% de compuestos inorgánicos (potasio, calcio, sulfatos, cloruros, nitrógeno y fósforo) y un 5% de compuestos orgánicos que combustionan a 650 °C (Díaz, 2013).

Las vinazas que es uno de los desechos más contaminantes generados por la destilería de alcohol a partir de los mostos de azúcar tiene una composición química que varía según la fábrica, dependiendo de la materia prima utilizada en la fermentación, la destilación y el grado de madurez de la caña (Gallego; Muñoz, 2012).

La problemática principal radica en que por cada hectolitro de alcohol producido a partir de miel final, se obtienen de manera adicional 15 hectolitros de vinaza como residual, la acumulación de este subproducto en cuerpos de agua causa la muerte de peces y otros tipos de vida acuática (Quiroz, 2011).

2.3.2. COMPOSICIÓN Y NATURALEZA DE LAS VINAZA

Las características generales que se señalan en torno a este residuo resultante de la destilación del alcohol, varían de acuerdo a la materia prima utilizada y a la eficiencia del proceso, pero por lo general se presentan con un olor característico, color café o ámbar oscuro, sabor amargo, su solubilidad en agua se da en todas las proporciones el cual contienen todas las materias no volátiles, sales minerales, además gozan de propiedades no tóxicas ni inflamables, haciéndolas fácilmente manejables (Quiroz, 2011).

Las vinazas tienen composiciones diferentes entre destilerías de alcohol, las melazas contienen, por término medio, un 11% de materias minerales y un 11% de materias no-azucaradas, constituidas principalmente por ácidos orgánicos, DBO con valores de 10000 a 62000 mg/dm³, hierro de 7 mg/dm³, Nitrógeno de 269mg/dm³, fósforo de 428 mg/dm³, cloro de 926,30 mg/dm³, sulfato de 563,10 mg/dm³, las materias nitrogenadas se encuentran casi en su totalidad en forma de betaína y de ácidos de amidas (Quiroz, 2011).

2.4. TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE LAS AGUAS RESIDUALES

Hay numerosos estudios de cómo tratar las vinazas como los tratamientos anaerobios que son más atractivos para la eliminación de contaminantes de la vinaza; sin embargo, los tratamientos anaerobios no degradan melanoidinas, que son los que le da el color marrón de la vinaza y también son compuestos persistentes (Machuca, 2013).

También se empezó a trabajar con microorganismos eficientes que fue desarrollada por Teruo Higa, profesor de horticultura de la Universidad de Ryukyus en Okinawa, Japón, a comienzos de los años sesenta, el Profesor Higa comenzó la búsqueda de una alternativa incursionado en procesos de compostaje y tratamiento de aguas residuales (Cardona; García, 2008).

La tecnología de producto EM (efficient microorganisms), ha sido reportada como una alternativa para el tratamiento de aguas, estos han sido aplicados, ya que incrementan las densidades de microorganismos que puedan utilizar los compuestos presentes en el agua como fuente de carbono y energía para su metabolismo, reduciendo sus concentraciones, se han realizado estudios para el tratamiento de aguas domésticas por Silva y Silva en 1995 demostrando que el consumo de oxígenos disminuyó al igual que la DQO, DBO5, SS y malos olores (Cardona; García, 2008).

2.5. MICRORGANISMOS

2.5.1. BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS: *Lactobacillus acidophilus*

Este tipo de bacterias, es la más conocida y estudiada del género *Lactobacillus*, ha sido utilizada para remediar aguas domésticas principalmente, al producir ácido láctico a partir de azúcares y otros carbohidratos sintetizados por bacterias

fototróficas y levaduras, suprime microorganismos patógenos e incrementa la descomposición de materia orgánica (Merck, 2003).

Acidophilus significa con *afinidad* por los ácidos, crece fácilmente en medios más ácidos que los ideales para otros microorganismos (pH 4.5 o menores hasta 3.5) y crece en condiciones óptimas de 37°C, con temperatura máxima de 43-48°C (Zambrano, 2010).

No hay muchos reportes de su uso en aguas residuales pero no se descarta la idea de que puedan ser efectivas en un tratamiento por sus propiedades, para su crecimiento se emplea una incubación de 3 días a 37°C o hasta 5 días a 30°C, ya que son microorganismos de crecimiento lento (Mejia, 2007).

2.5.1.1. CULTIVO DE *Lactobacillus*

Para cultivar el *Lactobacillus*, se coloca en un matraz 1L de agua destilada, a la cual se agrega 50ml de melaza, se mezcla y se lleva a esterilizar, luego se coloca una parte en una fiola y se llevan tanto el matraz como la fiola a la estufa a 37°C para que empiece a reproducirse.

Para el conteo del *Lactobacillus* se aplica la técnica de dilución y siembra en placa, para lo cual es necesario preparar un medio el cual es Agar MRS que normalmente es sólido pero se lleva a la plancha para que pase a estado líquido sin dejar que empiece a hacer ebullición, una vez líquido se toman 3 cajas Petri y se coloca en cada una de ellas 10ml del Agar, este se debe esparcir y dejar secar.

Se coloca 90ml de agua destilada y 10 ml de la muestra a contar en una fiola, la cual será la solución madre; luego con una pipeta se coloca 9ml de agua destilada en los tubos de ensayo para hacer la dilución seriada, una vez hecho esto se toma 1ml de la solución madre y se la lleva al primer tubo y así mismo de ese tubo se toma 1ml y se la lleva al segundo tubo y así sucesivamente hasta llegar al quinto tubo del que se toma 0,5 ml de esa mezcla y se coloca la misma cantidad en cada una de las cajas Petri.

El agar que está en la plancha para que se mantenga en estado líquido a 45°C, se lo saca y en las 3 caja Petri se colca 10ml del agar; una vez realizado esto se deja reposar un rato luego se le sella y se colocan las cajas en la estufa a 37°C.

Para poder ver los *Lactobacillus* se debe esperar de 3 a 7 días para que comiencen a aparecer en la caja Petri (Volke; Prado, 2012).

2.5.2. MICROALGAS: *Chlorella Sp.*

La *Chlorella* perteneciente al grupo de las algas eucariotas, las clorofitas o algas verdes, son conocidas por su capacidad de eliminar nutrientes del agua como el fosfato, se desarrolla por tanto en medios ricos en nutrientes; es una de las microalgas de más rápido crecimiento, es esférica y su diámetro oscila normalmente entre las 2 y 10 μm .

Estas microalgas en promedio, son capaces de tolerar hasta unas 150.000 ppm de CO₂ en aire, aunque hay especies que han demostrado que toleran hasta 400.000 ppm, recientemente el cultivo de microorganismos fotosintéticos, en especial las microalgas en aguas residuales se ha erigido como una alternativa viable tecnológicamente, este organismo es capaz de sobrevivir y desarrollarse satisfactoriamente en condiciones cambiantes (Romero, 2012).

Varios investigadores han cultivado la *Chlorella* en diferentes condiciones y han determinado patrones de comportamiento y desarrollo en diferentes medios y zonas del planeta, se desarrolla mejor en un pH de 6 a 9, con una temperatura de hasta 35°C; son utilizadas ampliamente en procesos de tratamiento biológico de aguas residuales para la remoción de, fósforo, demanda química de oxígeno entre otros metales (Miyashita, 2010).

El proceso del uso de microalgas según un grupo de investigadores esta dado en dos aspectos principales:

- Las microalgas antes de empezar a crecer, consumen nitrógeno y fósforo cuando se cultivan en aguas residuales.
- Las microalgas acumulan nutrientes en su interior, por lo que la asimilación de nutrientes comienza antes del crecimiento (UCA, 2013).

2.5.2.1. CULTIVO DE *Chlorella*

Para realizar el cultivo de la *Chlorella*, se utiliza 3 L de agua destilada colocada en un recipiente de vidrio, a la cual se le agregaba 3ml de Nitrofoska que es el fertilizante y una cantidad considerable de *Chlorella* madre, para que así al pasar de los días esta se reproduzca.

Para el conteo de las *Chlorellas*, se aplica la técnica de conteo directo en la cámara de Neubauer, se toma una cantidad pequeña de uno de los tratamientos con una micropipeta y se la coloca en la cámara de Neubauer previamente desinfectada con alcohol, se la lleva al microscopio y se comienza a contabilizar cada una de ellas por cuadrante y luego este resultado se lo multiplica por 10000 y dará la cantidad de *Chlorella* por ml (Volke; Prado, 2012).

2.6. ANÁLISIS NECESARIOS

Hay que destacar que en las aguas residuales hay componentes que son necesarios para una síntesis celular, son energía de las reacciones bioquímicas para los microorganismos responsables de la descomposición de la materia, como el nitrógeno y fósforo que son los más destacados nutrientes (Cubillos, 2009).

Por lo tanto se tomaron en cuenta los parámetros más relevantes a evaluar durante el ensayo para hacer un seguimiento de ellos y como actuaban frente a los microorganismos:

2.6.1. PH

El pH es una unidad de medida que sirve para establecer el nivel de acidez o alcalinidad de una sustancia, dicho en otras palabras es un coeficiente que indica el grado de acidez o basicidad de una solución acuosa, si el pH es 7 es considerado neutro, si es mayor a 7 la solución es básica, y si es menor, es ácida (Cortéz; Sánchez, 2013).

El método utilizado para la determinación de este parámetro es el Potenciométrico, midiendo el potencial generado (en mili volts) por un electrodo de vidrio que es sensible a la actividad del ión H⁺, este potencial es comparado contra un electrodo de referencia, que genera un potencial constante e independiente del pH (Noles, 2014).

2.6.2. FOSFATO

Es un nutriente esencial para el crecimiento de los microorganismos, generalmente se encuentra en aguas naturales, residuales y residuales tratadas como fosfatos, si las actividades humanas permiten que un exceso de fósforo y nitrógeno alcance los cuerpos de agua dulce podrían provocar un gran aumento en la producción de algas (Lida, 2009).

El método usado para este análisis es el NOVA 60 que es un instrumento para el análisis rutinario de todos los tipos de agua capaz de medir todas las pruebas en cubeta listas para usar, así como pruebas de reactivos económicas; una vez más, la unidad NOVA 60 es compacta, móvil y funciona tanto con baterías recargables como con corriente eléctrica (Millipore, 2015).

2.6.3. NITRITOS

El Nitrógeno es un nutriente fundamental para los organismos foto sintetizadores, en conjunto con el fósforo, es causante del proceso de eutrofización, su presencia en aguas es un indicador de calidad de las mismas y por este motivo es necesario poder cuantificarlo, se lo puede hacer por el método colorimétrico o

espectrofotometría, son fuente de energía para diversos microorganismos. (Goyenola, 2007).

La espectrofotometría es el método de análisis óptico más usado en las investigaciones biológicas; el espectrofotómetro es un instrumento que permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto, y una que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia (Ram, 2011).

2.6.4. OXIGENO DISUELTO

El OD es uno de los principales indicadores de contaminación de aguas, los bajos niveles de OD son principalmente causados por la presencia de materia orgánica o de material inorgánico parcialmente oxidado, en ambos casos, se presenta una demanda de oxígeno, ya sea para la respiración de los organismos capaces de digerir la materia orgánica o por la oxidación de los compuestos inorgánicos (Mojica; Pino; Bustamante, 2013).

Para este análisis se usa el medidor de oxígeno, conocido como oxímetro para analizar muestras de agua superficial, residual doméstica e industrial, aplicando el método recomendado en el Standard Methods 19ed. 1995, el cual ya da el valor de OD que se encuentre en la muestra y la temperatura (IDEAM, 2007).

2.6.5. DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (DBO)

Es una estimación de la cantidad de oxígeno que requiere una población microbiana heterogénea para oxidar la materia orgánica de una muestra de agua (Aguilar, 2001).

El método se basa en medir la cantidad de oxígeno que requieren los microorganismos para efectuar la oxidación de la materia orgánica presente en aguas naturales y residuales y se determina por la diferencia entre el oxígeno disuelto inicial y el oxígeno disuelto al cabo de cinco días de incubación a 20°C, es

un método aplicable en aguas superficiales continentales como ríos, lagos, acuíferos, etc., aguas residuales o cualquier agua que pueda contener una cantidad apreciable de materia orgánica (Noles, 2014).

2.6.6. SÓLIDOS TOTALES

Los sólidos totales abarcan toda la materia, excepto el agua contenida en los materiales líquidos, los sedimentos en suspensión transportan cargas de nutrientes, restos de pesticidas, metales pesados y otros elementos (Beltrán; Rangel, 2012).

Analíticamente se define el contenido de sólidos totales como la materia seca aplicando el método gravimétrico en el que se obtiene un residuo después de someter el agua a un proceso de evaporación a temperaturas de 103 y 105°C y su determinación se determina por diferencia de peso, consiste en si en determinar la cantidad proporcionada de un elemento, radical o compuesto presente en una muestra, eliminando todas las sustancias que interfieren y convirtiendo el constituyente o componente deseado en un compuesto de composición definida, que sea susceptible de pesarse. (Noles, 2014).

2.7. TEMAS GENERALES

2.7.1. TOMA DE MUESTRAS

El muestreo es la recolección de una pequeña porción de una gran unidad, que represente exactamente la calidad de la masa de agua en el lugar y en el momento de obtención de la muestra, la recolección de la muestra representativa constituye uno de los elementos fundamentales de un programa de control de calidad analítica a fin de obtener datos reales de las características físicas, químicas y microbiológicas de los cuerpos de agua, para realizar la toma de muestra simple se siguió un protocolo aplicado para las aguas residuales. (CAMB, 2011) **(ANEXO 2)**.

2.7.2. LA GEORREFERENCIACIÓN

La georreferenciación es la técnica de posicionamiento espacial de una entidad en una localización geográfica única y bien definida en un sistema de coordenadas y datum específicos, para georreferenciar una imagen de satélite es indispensable disponer de puntos de control (GCP, por su sigla en inglés), adquiridos a través de mapas, de otras imágenes georreferenciadas o de mediciones en terreno con GPS (Gónima; Ruiz, 2010).

2.7.3. GPS (GLOBAL POSITIONING SYSTEM)

El GPS trabaja conjuntamente con los veinticuatro satélites que orbitan la tierra a una altura aproximada de 20 200 km., que conforman la red satelital de posicionamiento global, los satélites del GPS emiten continuamente a hora y su paso orbital para proporcionar a una unidad terrestre de GPS la información que utiliza para computar la longitud, la latitud y la altitud.

La información recibida de tres satélites permite a la unidad GPS calcular la latitud y la longitud, esta información nos permite posicionarnos en el espacio generando una imagen del lugar para un rápido reconocimiento del área misma (Chang; Roper, 1998).

2.7.4. DISEÑO EXPERIMENTAL

2.7.4.1. DCA (DISEÑO COMPLETAMENTE AL AZAR)

Este diseño es llamado así porque tiene un orden aleatorio de corridas experimentales, así durante el proceso de estudio se hacen N pruebas que corren al azar de manera que los posibles efectos ambientales y temporales se vayan repartiendo equitativamente entre los tratamientos (Contreras, 2007).

2.7.4.2. ANOVA

Es un método para poder probar la hipótesis establecida de más de 2 grupos poblacionales son iguales, conocido así por las iniciales que se obtienen del nombre en inglés (Analysis of Variance) se fundamenta en el estudio de las varianzas, como establece diferencia entre las medias poblaciones (Llopis, 2012).

2.7.4.3. PRUEBA DE TUCKEY

Sirve para probar y comparar todas las diferencias entre medias de tratamientos de una experiencia, la única exigencia es que el número de repeticiones sea constante en todos los tratamientos (Puerto, 2012).

2.7.4.4. INFO STAT

Es un software para análisis estadístico de aplicación general desarrollado bajo la plataforma Windows, el cual cubre tanto las necesidades elementales para la obtención de estadísticas descriptivas y gráficos para el análisis exploratorio, como métodos avanzados de modelación estadística y análisis multivariado. Una de sus fortalezas es la sencillez de su interfaz combinada con capacidades profesionales para el análisis estadístico y el manejo de datos (UNC, 2010).

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN

La presente investigación se realizó en el sitio La Soledad, cantón Junín, de la provincia de Manabí, situado geográficamente en las coordenadas UTM: 9897627 y 588424; limita al norte con Tosagua, al sur con Portoviejo, al este con Bolívar y al oeste con Rocafuerte, con una extensión de 270,49 km² (DATOS INAMI).

3.2. DURACIÓN DEL TRABAJO

La presente investigación tuvo una duración de 9 meses a partir del mes de septiembre del mes de septiembre del 2015 hasta el mes de junio del 2016.

3.3. FACTORES EN ESTUDIO

- *Lactobacillus*
- *Chlorella* sp
- Muestra de agua residual

3.4. TRATAMIENTOS

En la investigación se obtuvo 6 tratamientos con sus respectivas réplicas

Cuadro 3.1. Esquema de tratamientos

Tratamientos	Microorganismos	Volúmen de microorganismos aplicados	Días		
			10	20	30
T1	<i>Lactobacillus</i>	0,30mL	T1C1	T1C1	T1C1
T2	<i>Lactobacillus</i>	0,45mL	T2C2	T2C2	T2C2
T3	<i>Lactobacillus</i>	0,60mL	T3C3	T3C3	T3C3
T4	<i>Chlorella Sp</i>	0,30mL	T4C1	T4C1	T4C1
T5	<i>Chlorella Sp</i>	0,45mL	T5C2	T5C2	T5C2
T6	<i>Chlorella Sp</i>	0,60mL	T6C3	T6C3	T6C3

Fuente: García Jorge y Macías Andrea

3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL

En este caso de investigación y las características del ensayo se utilizó el Diseño Completamente al Azar (DCA), con 6 tratamientos y 3 repeticiones cada una, dando un total de 54 análisis, los cuales serán evaluados en un rango de 30 días dentro de los cuales se tomarán datos cada 10 días.

3.5.1 ESQUEMA DE ANÁLISIS DE VARIANZA

Cuadro 3.2. Análisis de varianza.

Fuente de Variación		Grados de Libertad
Tratamiento	k-1	5
Error	N-k	12
Total	N-1	17

Fuente: García Jorge y Macías Andrea

3.5.2. HIPOTESIS A PROBAR

Hipótesis nula: Los tratamientos tienen el mismo efecto sobre la variable en estudio.

$$H_0: u_1 = u_2 = u_3 = u_4 = u \quad (3.1)$$

Hipótesis alternativa: No todos los tratamientos tienen el mismo efecto sobre la variable en estudio, al menos uno produce un resultado distinto.

$$H_A: u_i \neq u_j \quad \text{para algún } i \neq j \quad (3.2)$$

3.6. UNIDAD EXPERIMENTAL

De acuerdo a las características de la unidad experimental, las muestras a estudiar fueron *Lactobacillus* y *Chlorella Sp*, para los cuales se tomaron 0,60 ml, 0,45 ml y 0,30ml para los tratamientos, se realizó 3 réplicas por cada tratamiento en un rango de 30 días, tomando datos cada 10 días.

3.7. VARIABLES A MEDIR

3.7.1. VARIABLE INDEPENDIENTE

Disminución de carga orgánica.

3.7.2. VARIABLE DEPENDIENTE

Eficiencia de *Lactobacillus* y *Chlorella Sp*

3.7.3. CUADRO DE VARIANTES

Cuadro 3.3. Variantes del diseño

VARIABLES	CONCEPTO	INDICADORES	UNIDADES
<p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <p>Eficiencia de los microorganismos.</p>	<p>Lactobacillus. Importantes promotores de actividad probiótica, antimicrobiana y Bioconservadora.</p> <p>Chlorella. Alga unicelular con todos los nutrientes necesarios para la vida, un alimento completo conocido por su capacidad para eliminar toxinas y metales pesados.</p>	<p>FISICOS</p> <p>pH</p> <p>T°</p> <p>Tiempo</p> <p>QUÍMICOS</p> <p>DBO</p> <p>Nitritos</p> <p>Oxígeno Disuelto</p> <p>Sólidos totales</p> <p>Fosfato</p>	<p>°C</p> <p>Dias</p> <p>mg/ dm³</p> <p>mg/ dm³</p> <p>mg/ dm³</p> <p>mg/ dm³</p> <p>mg/ dm³</p>
<p>VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <p>Disminución de carga orgánica</p>	<p>La carga orgánica es la cantidad de materia orgánica en el líquido que ejerce un efecto en el cuerpo receptor de agua.</p>		

Fuente: García Jorge y Macías Andrea

3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de la información recopilada se utilizó el paquete estadístico INFO STAT versión 2008, para obtener el ANOVA y la prueba de Tuckey al 0,5 de probabilidad.

3.9. FASES DE TESIS

La ejecución del trabajo de investigación se la realizó en las siguientes fases:

3.9.1. PRIMERA FASE

FASE 1. CARACTERIZACIÓN DE LAS AGUAS RESIDUALES DE LA DESTILERÍA DE ALCOHOL.

ACTIVIDAD 1. GEORREFERENCIACIÓN

Para la ubicación se utilizó un GPS (Sistema de Posicionamiento Global) para referenciar con precisión los puntos donde se tomaron las muestras, el punto de salida del efluente de la destilería a la laguna y punto de descarga de las aguas residuales al desagüe. **(ANEXO 3)**.

ACTIVIDAD 2. ANÁLISIS DE LABORATORIO

Se diagnosticó la muestra de agua residual en base a 6 diferentes parámetros, antes de la aplicación de los microorganismos.

Cuadro 3.3. Parámetros a analizar

DETERMINACIÓN	TECNOLOGÍA	MÉTODO
DBO	Respirométrico	S.M. 21TH 5220 D
Nitritos	Espectrofotométrico	4500-NO2 - B.
Fosfato	Espectrofotométrico	NOVA 60 147290
Oxígeno disuelto	Oximetría	Standard Methods 19ed. 1995
PH	Potenciométrico	S.M. 21TH 4500-H+ B
Solidos totales	Gravimetría	S.M. 21TH 2540 B

Fuente: García Jorge y Macías Andrea

3.9.2 SEGUNDA FASE

FASE 2. CALCULO DE LA EFICIENCIA DE LOS MICROORGANISMOS DE CADA TRATAMIENTO CON RESPECTO A LA DISMINUCIÓN DE LA CARGA ORGÁNICA.

ACTIVIDAD 3. PREPARACIÓN DE MICROORGANISMOS

Se hizo la preparación de los microorganismos y algas, en este caso el de *Lactobacillus* que fue un tratamiento anaerobio y *Chlorella Sp* un tratamiento aerobio para su utilización en los análisis en el momento de aplicar los microorganismos eficientes a las muestras de aguas residuales de la destilería de alcohol.

ACTIVIDAD 4. DOSIFICACIONES

El proceso de dosificación se hizo de la siguiente manera basándose en el ejemplo del Manual Práctico de Uso de EM (Higa, 2009).

Se tomó 300 mL de agua residual para cada uno de los tratamientos a los cuales se les aplicó diferentes concentraciones de microorganismos en función de la muestra a tratar que corresponde a 0,30 mL, 0,45 mL y 0,60 mL, de solución madre de microorganismos.

ACTIVIDAD 5. EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA

Se evaluó la eficiencia in vitro de los microorganismos en relación a la disminución de la DBO de las aguas residuales de la destilería de alcohol “La Soledad” en Junín, con la siguiente fórmula:

$$E = \frac{DBO\ afluyente - DBO\ efluente}{DBO\ afluyente} \times 100 \quad (3.3)$$

Dónde:

E= eficiencia

DBO afluente= concentración de DBO antes del tratamiento

DBO efluente= concentración del DBO después del tratamiento

Para comprobar que la carga orgánica de la muestra estaría disminuyendo, se realizó un seguimiento a cada tratamiento durante 30 días luego se procedió a hacer una curva estadística para visualizar mejor el cambio de carga orgánica que se dió con el pasar del tiempo (Olea, 2013).

ACTIVIDAD 6. ANÁLISIS DE COSTO

Se realizó un análisis de costo de cada uno de los tratamientos aplicados para determinar cuál era el gasto de cada uno y determinar el más económico.

ACTIVIDAD 7. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se analizaran los resultados obtenidos en cada uno de los tratamientos y sus repeticiones y se compararon para determinar cuál es el más eficiente en la degradación de materia orgánica.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 CARACTERIZACIÓN DEL AGUA RESIDUAL

Luego de extraer las muestras y llevarlas al laboratorio se obtuvieron los siguientes resultados:

Cuadro 4.1. Resultados de los análisis de las aguas residuales de la destilería de alcohol comparando los límites máximo permisibles de TULSMA.

Parámetros	Métodos	Resultados	Unidades	Límites permisibles
pH	Potenciómetro	3,81	--	5-9
Temperatura	Termómetro	33,1	°C	<40
DBO	Respirométrico	10000	mg/dm ³	250
OD	Oximetría	0.85	mg/dm ³	>60
ST	Gravimétrico	17813	mg/dm ³	1600
Fosfato	Espectofotómetro.	460	mg/dm ³	3,16
Nitritos	Espectofotómetro.	10	mg/dm ³	0.2

Fuente: TULSMA y Autores

Según los resultados de los diferentes parámetros analizados en la caracterización de las aguas residuales de la destilería de alcohol “LA SOLEDAD”, ninguno está dentro de los límites permisibles establecidos en el TULSMA “Texto Unificado de legislación Secundaria Medio Ambiental”, por lo que es necesario darles un tratamiento a estas aguas.

Todos los parámetros analizados en la caracterización concuerdan con los expuestos por Olarte (2016), el nivel de DBO es sumamente alto, al igual que los otros parámetros.

4.2. RESULTADOS DE LA EVOLUCION DEL ENSAYO

Cuadro 4.2. Resultados de los análisis de las aguas residuales de la destilería de alcohol después de la aplicación de los microorganismos comparando los límites máximo permisibles del TULSMA.

Tratamientos	Parámetros	Resultados			Unidades	Límites permisibles	
		Día 10	Día 20	Día 30			
T1	<i>Lactobacillus</i> (0,30mL)	pH	3,99	4,23	4,33	--	5-9
T2	<i>Lactobacillus</i> (0,45mL)	pH	3,92	4,16	4,37	--	5-9
T3	<i>Lactobacillus</i> (0,60mL)	pH	3,98	4,19	4,31	--	5-9
T4	<i>Chlorella</i> (0,30mL)	pH	4,10	4,37	4,53	--	5-9
T5	<i>Chlorella</i> (0,45mL)	pH	4,09	4,31	4,50	--	5-9
T6	<i>Chlorella</i> (0,60mL)	pH	4,13	4,30	4,41	--	5-9
T1	<i>Lactobacillus</i> (0,30mL)	DBO	7199	1500	1889	mg/ dm ³	250
T2	<i>Lactobacillus</i> (0,45mL)	DBO	6099	2531	3009	mg/ dm ³	250
T3	<i>Lactobacillus</i> (0,60mL)	DBO	8099	3500	3900	mg/ dm ³	250
T4	<i>Chlorella</i> (0,30mL)	DBO	8410	3900	5301	mg/ dm ³	250
T5	<i>Chlorella</i> (0,45mL)	DBO	8790	5370	6100	mg/ dm ³	250
T6	<i>Chlorella</i> (0,60mL)	DBO	8910	5732	6362	mg/ dm ³	250
T1	<i>Lactobacillus</i> (0,30mL)	OD	2,75	5,08	4,33	mg/ dm ³	>60
T2	<i>Lactobacillus</i> (0,45mL)	OD	4,34	4,60	4,39	mg/ dm ³	>60
T3	<i>Lactobacillus</i> (0,60mL)	OD	2,61	4,07	4,02	mg/ dm ³	>60
T4	<i>Chlorella</i> (0,30mL)	OD	2,78	3,63	1,89	mg/ dm ³	>60
T5	<i>Chlorella</i> (0,45mL)	OD	2,28	2,42	1,84	mg/ dm ³	>60
T6	<i>Chlorella</i> (0,60mL)	OD	2,25	1,61	1,43	mg/ dm ³	>60
T1	<i>Lactobacillus</i> (0,30mL)	ST	9454	8142	7910	mg/ dm ³	1600
T2	<i>Lactobacillus</i> (0,45mL)	ST	9742	9108	8992	mg/ dm ³	1600
T3	<i>Lactobacillus</i> (0,60mL)	ST	9967	9095	8118	mg/ dm ³	1600
T4	<i>Chlorella</i> (0,30mL)	ST	8844	7984	6682	mg/ dm ³	1600
T5	<i>Chlorella</i> (0,45mL)	ST	8947	8010	7949	mg/ dm ³	1600
T6	<i>Chlorella</i> (0,60mL)	ST	8945	8193	7783	mg/ dm ³	1600
T1	<i>Lactobacillus</i> (0,30mL)	Fosfato	460,91	448,00	440,06	mg/ dm ³	3,16
T2	<i>Lactobacillus</i> (0,45mL)	Fosfato	459,02	454,84	441,52	mg/ dm ³	3,16
T3	<i>Lactobacillus</i> (0,60mL)	Fosfato	467,00	480,12	441,06	mg/ dm ³	3,16
T4	<i>Chlorella</i> (0,30mL)	Fosfato	468,21	464,04	460,03	mg/ dm ³	3,16
T5	<i>Chlorella</i> (0,45mL)	Fosfato	463,01	462,25	460,81	mg/ dm ³	3,16
T6	<i>Chlorella</i> (0,60mL)	Fosfato	469,02	466,01	460,05	mg/ dm ³	3,16
T1	<i>Lactobacillus</i> (0,30mL)	Nitritos	9,46	13,10	14,01	mg/ dm ³	0,2
T2	<i>Lactobacillus</i> (0,45mL)	Nitritos	9,67	13,50	14,41	mg/ dm ³	0,2
T3	<i>Lactobacillus</i> (0,60mL)	Nitritos	9,55	14,19	15,10	mg/ dm ³	0,2
T4	<i>Chlorella</i> (0,30mL)	Nitritos	9,27	15,90	18,01	mg/ dm ³	0,2
T5	<i>Chlorella</i> (0,45mL)	Nitritos	9,72	17,02	18,89	mg/ dm ³	0,2
T6	<i>Chlorella</i> (0,60mL)	Nitritos	9,55	16,11	19,39	mg/ dm ³	0,2

Fuente: TULSMA y Autores

Haciendo un análisis de los resultados obtenidos, el parámetro de pH, el mejor tratamiento de *Lactobacillus* fue el del 0,45 mL (T2) a los 30 días, mientras que del

tratamiento de la *Chlorella* el mejor fue el de 0,30 mL (T4) de igual manera a los 30 días, y el microorganismo con mejor resultado de los dos fue el de la *Chlorella* al 0,30 mL (T4) donde se obtuvo 4,53 de pH **(ANEXO 4)**.

En el parámetro de DBO el mejor tratamiento de *Lactobacillus* fue el del 0,30 mL (T1) a los 20 días, y en el tratamiento de la *Chlorella* el mejor fue el de 0,30 mL (T4) a los 20 días, y el microorganismo con mejor resultado de los dos fue el de *Lactobacillus* al 0,30 mL (T1) donde obtuvo 1500 mg/L de DBO, de acuerdo a su reducción de carga orgánica **(ANEXO 5)**.

En el parámetro de Oxígeno disuelto, el mejor tratamiento de *Lactobacillus* fue el del 0,30 mL (T1) a los 20 días, y en el tratamiento de la *Chlorella* el mejor fue el de 0,30 mL (T4) a los 20 días también, y el microorganismo con mejor resultado de los dos fue el de *Lactobacillus* al 0,30 mL (T1) con una cantidad de 5,08 mg/L de OD. **(ANEXO 6)**.

En sólidos totales, el mejor tratamiento de *Lactobacillus* fue el del 0,30 mL (T1) a los 30 días, y en el tratamiento de la *Chlorella* el mejor fue el de 0,30 mL (T4) a los 30 días también, y el microorganismo con mejor resultado fue el de *Chlorella* al 0,30 mL (T4) donde se obtuvo 6682 mg/L de sólidos totales **(ANEXO 7)**.

El parámetro de fosfatos, el mejor tratamiento de *Lactobacillus* fue el del 0,30 mL (T1) a los 30 días, y en el tratamiento de la *Chlorella* el mejor fue el de 0,30 mL (T4) a los 30 días también, y el microorganismo con mejor resultado fue el de *Lactobacillus* 0,30mL con una cantidad de 440,06 mg/L de fosfato **(ANEXO 8)**.

Por último con respecto al parámetro de nitritos, el mejor tratamiento de *Lactobacillus* fue el del 0,30 mL (T1) a los 10 días, y en el tratamiento de la *Chlorella* el mejor fue el de 0,30 mL (T4) a los 10 días también, y el microorganismo con mejor resultado de los dos fue el de *Chlorella* al 0,30 mL donde se obtuvo 9,27 mg/L de nitritos. **(ANEXO 9)**.

Cuadro 4.3. Evolución de los tratamientos día 20

Detalles		DIA 20					
Parámetros	Inicio	T1 LACT 0,30mL	T2 LACT 0,45mL	T3 LACT 0,60mL	T4 CHLO 0,30mL	T5 CHLO 0,45MI	T6 CHLO 0,60mL
DBO	10000	1500	2530	3500	3900	5370	5730
PH	3,81	4,22	4,12	4,21	4,38	4,34	4,29
OD	0,85	5,08	4,60	4,07	3,62	2,42	1,61
FOSFATO	460,00	448,00	454,84	453,78	464,04	462,25	466,01
NITRITOS	10,00	13,10	13,50	14,19	15,90	17,02	16,11
ST	17813,00	8142,00	9108,00	9095,00	7984,00	8010,00	8192,00

A parte de la eficiencia de cada uno de los tratamientos con respecto a la carga orgánica, podría decirse que el mejor tratamiento es el 1 (*Lactobacillus* 0,30 mg/dm³) ya que además de que al día 20 disminuyó considerablemente la DBO, también fue muy significativa en otros parámetros a controlar como el oxígeno disuelto, el consumo de fosfato y medianamente en el de nitrito, y los tratamiento 2 (*Lactobacillus* 0,45 mg/dm³) y el tratamiento 3 (*Lactobacillus* 0,60 mg/dm³) le siguieron de igual manera pero no tan efectiva como el tratamiento 1.

Por su parte el tratamiento 4 (*Chlorella* 0,30 mg/dm³) disminuyó la carga orgánica pero de una manera menos efectiva que con respecto al tratamiento 1 de *Lactobacillus*, a pesar de que por una diferencia mínimo redujo más cantidad de sólidos totales que los otros tratamientos, los tratamientos 5 (*Chlorella* 0,45 mg/dm³) y 6 (*Chlorella* 0,60 mg/dm³), presentaron valores por debajo del tratamiento 4; por ende el mejor resultado de los microorganismos es el 1. Cuadro 4.4.

Evolución de los tratamientos día 30

Detalles		DIA 30					
Parámetros	Inicio	T1 LACT 0,30MI	T2 LACT 0,45mL	T3 LACT 0,60mL	T4 CHLO 0,30mL	T5 CHLO 0,45mL	T6 CHLO 0,60mL
DBO	10000	1890	3010	3900	5300	6100	6360
PH	3,81	4,33	4,37	4,31	4,53	4,50	4,41
OD	0,85	4,33	4,39	4,02	1,89	1,84	1,43
FOSFATO	460,00	440,06	441,52	441,06	460,03	460,81	463,05
NITRITOS	10,00	14,01	14,41	15,10	18,01	18,89	19,39
ST	17813,00	7910,00	8992,00	8118,00	6682,00	7949,00	7783,00

Aun así en el día 30 del ensayo, el tratamiento 1 de *Lactobacillus* a 0,30 ml se registraron los niveles más bajos de DBO, Fosfato Y Nitritos con respecto a los otros tratamientos

4.3. RESULTADOS DE LA EFICIENCIA DE LOS TRATAMIENTOS

Cuadro 4.5. Eficiencia de los tratamientos.

Eficiencia respecto a la disminución de la carga orgánica				
Tratamientos		DBO inicial (mg/L)	DBO final (mg/dm ³)	Eficiencia %
T1	<i>Lactobacillus</i> (0,30mL)	10000	1500	85
T2	<i>Lactobacillus</i> (0,45mL)	10000	3009	70
T3	<i>Lactobacillus</i> (0,60mL)	10000	3900	61
T4	<i>Chlorella</i> Sp (0,30mL)	10000	5301	47
T5	<i>Chlorella</i> Sp (0,45mL)	10000	6100	39
T6	<i>Chlorella</i> Sp (0,60mL)	10000	6361	36

Fuente: Jorge García y Andrea Macías

El tratamiento que tuvo la mayor eficiencia fue el tratamiento 1 que contiene la aplicación de *Lactobacillus* con 0,30mL, este tuvo una eficiencia de 85%, y luego el tratamiento 2 que contiene 0,45mL de solución de *Lactobacillus* que obtuvo una eficiencia de 70%.

Con respecto a una comparación de los análisis realizados en la investigación después de la colocación del *Lactobacillus* y la *Chlorella*, Olarte (2016) comenta que obtuvieron un mejor rendimiento de los microorganismos debido a que se controló los índices del pH antes de ser éstos colocados, por ende el resultado del tratamiento en el agua fue óptimo, incluso para la *Chlorella* ya que se encontraba en su pH indicado para su mejor desarrollo, aunque en esta investigación el pH no fue controlado hay un rendimiento por parte de los microorganismos.

El mayor porcentaje de eficiencia la obtuvo el tratamiento 1 de *Lactobacillus* al 0,30 mL por lo cual se confirma la teoría de Mejía (2007) ya que el *Lactobacillus* a parte de desarrollarse perfectamente en este tipo de aguas residuales es un

microorganismo fuerte y se reproduce rápidamente por lo cual el resultado es el esperado.

4.3.1. PRUEBA DE HIPÓTESIS

De acuerdo con los resultados obtenidos en la investigación la hipótesis alternativa se acepta, es decir: “Los microorganismos *Lactobacillus* y *Chlorella sp* sí reducen la concentración de materia orgánica en las aguas residuales de la destilería de alcohol La Soledad”, en tal sentido los tratamientos sí tienen diferencia y efectos significativos.

4.4. ANALISIS DE COSTO ECONÓMICO

Cuadro 4.6. Costo por tratamiento

Trat.	Microorganismos	Cantidad en m ³	Valor	m ³ de agua residual	m ³ de microorg/caudal	Valor semanal del tratamiento	Valor mensual del tratamiento
T1	<i>Lactobacillus</i> (0,30mL)	1,0	1,25	6,43	6,43	8,04	32,17
T2	<i>Lactobacillus</i> (0,45mL)	1,5	1,88	6,43	9,65	18,14	72,56
T3	<i>Lactobacillus</i> (0,60mL)	2,0	2,50	6,43	12,87	32,17	128,66
T4	<i>Chlorella sp</i> (0,30mL)	1,0	2,00	6,43	6,43	12,87	51,46
T5	<i>Chlorella sp</i> (0,45mL)	1,5	3,00	6,43	9,65	28,95	115,79
T6	<i>Chlorella sp</i> (0,60mL)	2,0	4,00	6,43	12,87	51,46	205,86

Como se puede observar en la tabla, se realizó un costo por tratamiento aplicado, sabiendo la descarga semanal de aguas residuales de la destilería de 6,43 m³ más el valor comercial del *Lactobacillus* y la medida necesaria de microorganismos para tratar la laguna se obtuvo que el tratamiento 1 de *Lactobacillus* al 0,30 mg/dm³ aparte de ser el más significativo es también el más rentable de todos, seguido del segundo tratamiento de *Lactobacillus* al 0,45 mg/dm³.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

Los resultados nos permiten concluir que:

- Ninguno de los parámetros de caracterización del agua residual de la destilería está dentro del rango permisible del Texto Unificado de legislación Secundaria de Medio ambiente TULSMA.
- El mejor tratamiento de microorganismos aplicados al agua residual es *Lactobacillus* al 0,30mL con una eficiencia de 85% con respecto a la carga orgánica.
- El tratamiento más rentable dentro del análisis de costo es el T1 del microorganismo *Lactobacillus* al 0,30 mL, que tratando la laguna incluso mensualmente resulta muy económico.

5.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda utilizar el *Lactobacillus* para futuros tratamientos de aguas residuales ya que tiene buenos índices de degradación de la materia orgánica.
- Regular los parámetros del agua residual antes de colocar el *Lactobacillus*, sería aún más óptimo para el desarrollo del microorganismo.
- Los microorganismos que se utilicen como tratamiento de aguas residuales deben tener la capacidad de adaptarse a las diferentes condiciones en las que se encuentran estas aguas para poder actuar de la manera eficaz.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, M. 2001. DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES (DBO5) Y RESIDUALES TRATADAS. (En línea). Formato htm. Consultado el 12 de Julio de 2015. Disponible en: <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Noticias/NMX-AA-028-SCFI-2001.pdf>
- Arango, A. 2013. Crisis mundial del agua. (En línea). Formato htm. Consultado el 29 de Noviembre de 2015. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1909-04552013000200001&lang=es
- Beltrán, J; Rangel, J. 2012. MODELACIÓN DINÁMICA DE LOS SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES EN EL HUMEDAL JABOQUE, BOGOTÁ (COLOMBIA). (En línea). Formato htm. Consultado el 29 de Noviembre de 2015. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-07392012000200004&lang=es
- CAMB (Centro Agro empresarial y Minero de Bolívar). 2011. (En línea). Formato html. Consultado el 22 de Julio de 2015. Disponible en: <http://tecnologosencontrolambientalsenacicuc.blogspot.com/p/manual-de-procedimiento-de-toma-de.html>
- Cardona, J; García, L. 2008. Evaluación de los microorganismos eficaces sobre la calidad de un agua residual. (En línea). Formato PDF. Consultado el 12 de Julio de 2015. Disponible en: <http://repository.javeriana.edu.co/bitstream/10554/8207/1/tesis204.pdf>
- Chang, O; Roper, M. 1998. Las Necesidades del Trabajador en Salud y el Sistema de Posicionamiento Global (GPS). GPS convencional (GPSC) y GPS diferencial (GPSD). (En línea). Formato htm. Consultado el 29 de Noviembre de 2015. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46341998000100005&lang=es
- Contreras M, 2007. Diseño experimental y método científico. (En línea). Formato htm. Consultado el 15 de Julio de 2015. Disponible en: <http://disexperimental.blogspot.com/>

- Cortéz, F; Sánchez, I. 2013. Cálculo de pago de derechos para descarga de agua residual con variaciones de pH* (En línea). Formato htm. Consultado el 29 de Noviembre de 2015. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342013000200009&lang=es
- Cubillos, A. 2009. Parámetros y características de las aguas residuales. (En línea). Formato PDF. Consultado el 08 de Junio de 2016. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/scan2/011643/011643-09.pdf>
- Díaz, M. 2013. Tratamiento de vinaza cubana en un reactor anaerobio empacado de flujo ascendente. (En línea). Formato htm. Consultado el 29 de Noviembre de 2015. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1680-03382013000200004&lang=es
- Gallego, J; Muñoz, E. 2012. Efectos de una aplicación de mezcla de vinaza-microorganismo en un Vertisol con la caña de azúcar. (En línea). Formato htm. Consultado el 29 de Noviembre de 2015. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652012000100016&lang=es
- Gónima, L; Ruiz, L. 2010. DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA SENCILLA PARA LA GEORREFERENCIACIÓN Y MEDICIÓN DE DISTANCIAS A PARTIR DE IMÁGENES DE SATÉLITE SISTEMÁTICAMENTE GEORREFERENCIADAS. (En línea). Formato htm. Consultado el 29 de Noviembre de 2015. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-97612010000100001&lang=es
- González, O; Pérez, T; Claro, M. 2014. 2014. Reúso de aguas residuales domésticas en agricultura.(En línea). Formato htm. Consultado el 29 de Noviembre de 2015. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-37862014000300339&lang=es
- Goyenola, G. 2007. Determinación de nitratos y nitritos. (En línea). Formato PDF. Consultado el 12 de Julio de 2015. Disponible en: http://imasd.fcien.edu.uy/difusion/educamb/propuestas/red/curso_2007/cartillas/tematicas/nitrato_nitrito.pdf
- Higa, T. 2009. Manual Práctico de Uso de EM. (En línea). Formato PDF. Consultado el 15 de Julio de 2015. Disponible en: www.emuguay.org/images/Manual_Practico_Uso_EM_OISCA_BID.pdf

- IDEAM (Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales), 2007. DETERMINACION DE OXÍGENO DISUELTTO POR EL MÉTODO ELECTROMÉTRICO – MEDIDOR DE OXÍGENO YSI. Formato htm. Consultado el 24 de Julio de 2015. Disponible en: <http://www.ideam.gov.co/documents/14691/38155/Ox%C3%ADgeno+Disueltto+por+Electrometr%C3%ADa.pdf/9d532efc-805a-4561-94db-a82649af5f91>
- Lida, C. 2009. El dilema del fósforo. (En línea). Formato htm. Consultado el 29 de Noviembre de 2015. Disponible en: <http://ir.library.oregonstate.edu/xmlui/bitstream/handle/1957/20521/em8939-s-e.pdf>
- Llopis J, 2012. Anova. (En línea). Formato htm. Consultado el 15 de Julio de 2015. Disponible en: <https://estadisticaorquestainstrumento.wordpress.com/2012/12/20/tema-15-anova/>
- Machuca, F. 2013. El tratamiento de la vinaza mediante el uso de electrodisolución y floculación química (En línea). Formato htm. Consultado el 29 de Noviembre de 2015. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-30332013000200018&lang=es
- Mejia, R. 2007. Caracterización in-vitro como potenciales probióticas. Revista Cient. (Maracaibo). Vol.17, n.2. p. 178-185.
- Merk, 2003. Manual de medios de cultivo. Agar para Lactobacillus. Según DE MANN, ROGOSA Y SHARPE. Barcelona. España. 126pp. Citado en línea en: <http://repository.javeriana.edu.co/bitstream/10554/8207/1/tesis204.pdf>
- Millipore, M. 2015. Fotometros spectroquant. (En línea). Formato htm. Consultado el 23 de Julio de 2015. Disponible en: https://es.vwr.com/store/catalog/product.jsp?catalog_number=1.09748.0001
- Miyashita, H. 2010 Crecimiento y composición bioquímica de Chlorella sp. Cultivada en residual pesquero. (En línea). Formato PDF. Consultado el 08 de Junio de 2016. Disponible en: <http://www.produccioncientificaluz.org/index.php/boletin/article/view/193>
- Mojica, D; Pino, N; Bustamante, C. 2013. ESTABLECIMIENTO DE ÍNDICES DE CALIDAD AMBIENTAL DE RÍOS CON BASES EN EL COMPORTAMIENTO DEL OXÍGENO DISUELTTO Y DE LA TEMPERATURA. APLICACIÓN AL CASO DEL RÍO MEDELLÍN, EN EL VALLE DE ABURRÁ EN COLOMBIA. (En línea). Formato htm. Consultado el 29 de Noviembre de 2015. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0012-73532013000500021&lang=es

- Noles, P. 2014. Prácticas Ambientales de Calidad de Aguas y Aguas Residuales. Primera Edición. Pág. 19-33.
- Notizalia, A. 2010. La contaminación industrial del agua; causas, consecuencias y datos. (En línea). Formato htm. Consultado el 16 de Mayo de 2015. Disponible en: <http://actualidad.notizalia.com/cambio-climatico/la-contaminacion-industrial-del-agua-causas-consecuencias-y-datos/#ixzz3anD8hNoG>
- Olea, R. 2013. Evaluación de la planta de tratamiento de aguas residuales del municipio de Coatepec, Veracruz. Formato PDF. Consultado el 23 de Julio de 2015. Disponible en: <http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/33930/1/oleamadrugarosa.pdf>
- Olarte, E. 2016. Evaluación del uso de la microalga Chlorella en el tratamiento de aguas residuales industriales (vinazas). (En línea). Formato PDF. Consultado el 13 de Junio del 2016. Disponible en: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache%3A5o9EJ3Hsdt4J%3Arepository.unad.edu.co%2Fbitstream%2F10596%2F5882%2F3%2F91535665.pdf%20&cd=2&hl=es&ct=clnk>
- Pérez, C. Silvana C. 2004. Caracterización y aprovechamiento de la vinaza como un biabono en las tierras de cultivo. (En línea). Formato htm. Consultado el 16 de Mayo de 2015. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/3077>
- Progreso Verde. 2014. Producción de alcohol a partir de la caña de azúcar. (En línea). Formato html. Consultado el 12 de Julio de 2015. Disponible en: http://www.progresoverde.org/producir_alcohol.html
- Puerto, E. 2012. Prueba de Tuckey. (En línea). Formato html. Consultado el 24 de Julio de 2015. Disponible en: <http://es.slideshare.net/erikapuerto/prueba-de-tukey>
- Quiroz, I. 2011. Percepción y actitud de productores cañeros sobre la composta de cachaza y vinaza (En línea). Formato htm. Consultado el 29 de Noviembre de 2015. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_serial&pid=1870-0462&lng=es&nrm=iso
- Ram, S. 2011. Espectrofotometría. (En línea). Formato htm. Consultado el 24 de Julio de 2015. Disponible en: <http://perso.wanadoo.es/sergioram1/espectrofotometria.htm>

- Romero, T. 2012. Riles orgánicos pesqueros para el cultivo de *Chlorella* sp. y *Moina* sp. y sus características físico-químicas. (En línea). Formato htm. Consultado el 29 de Noviembre de 2015. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1680-03382012000100007&lang=es
- Silva J; Torres, P; Madera, C. 2008. Reúso de aguas residuales domésticas en agricultura. (En línea). Formato htm. Consultado el 29 de Noviembre de 2015. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652008000200020&lang=es
- TULSMA (Texto Unificado Legislación Secundaria Medio Ambiente), 2015. Niveles de descarga de residuos a cuerpo de agua dulce. (En línea). Formato htm. Consultado el 14 de Julio de 2012. Disponible en: www.agua.gob.ec/wep-content/uploads/downloads/2012/07/TEXTO_UNIFICADO_LEGISLACION_SECUNDARIA.i.pdf
- UCA (Universidad de Cádiz). 2013. Procedimientos de eliminación de nutrientes de aguas residuales. (En línea). Formato htm. Consultado el 14 de Julio de 2015. Disponible en: <http://cth.uca.es/esp/patentes/carera-patentes/1/nuevo-procedimiento-de-eliminacion-de-nutrientes-de-aguas-residuales-mediante-fotobiotratamiento-con-microalgas>
- UNC (Universidad Nacional de Córdoba). 2010. Infostat. (En línea). Formato htm. Consultado el 08 de Junio de 2016. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar/>
- Volke T; Prado L. 2012. Manual de Practicas de Laboratorio Microbiología General. (En línea). Formato PDF. Consultado el 31 de Junio de 2016. Disponible en: http://www.izt.uam.mx/ceu/publicaciones/MMBG/files/manual_microbiologia_general.pdf
- Zambrano M, 2010. Elaboración de queso fresco con la utilización de un fermento probiótico (*Lactobacillus acidophilus*). (En línea). Formato PDF. Consultado el 07 de Junio de 2016. Disponible en: <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/1929/1/CD-2816.pdf>

ANEXOS

ANEXO 1

Diagnóstico de la destilería

Producción semanal de alcohol:	2,2 m ³
Producción semanal de jugo de caña:	36 m ³
Agua utilizada en el proceso por semana:	4,8 m ³
Agua Residual generada:	6,43 m ³
Profundidad de la laguna	0,67 m
Área de la laguna	122,64 m ²
Temperatura de salida de residuos líquidos a la laguna	80°C
Entrada media de residuos líquidos a la laguna	55°C
Temperatura del punto de toma de muestra	33°C
Salida del líquido residual de la laguna al desagüe	34°C

ANEXO 2

Protocolo a seguir para toma de muestras de aguas residuales	
El proceso de toma de muestra simple para análisis fisicoquímico, es el siguiente:	
1.	Utilizar frascos de vidrio o plástico con tapa, limpios y de preferencia proporcionados por el laboratorio.
2.	Enjuagar el frasco por lo menos tres veces con la muestra.
3.	Tomar porciones individuales del cuerpo de agua en estudio en frascos de boca ancha, y tapar inmediatamente.
4.	El tiempo de recolección de la muestra hasta el inicio del análisis no debe exceder de 48 horas, por lo que se recomienda enviar las muestras de inmediato al laboratorio.
5.	Identificar el lugar, fecha y hora de muestreo, tipo de muestra, persona encargada de tomar la muestra y otras observaciones adicionales en el formato de cadena de custodia (CAMB, 2011)

ANEXO 3

Puntos Georreferenciados Coordenadas: UTM		
Toma de muestra	X= 0590715 Y= 9902690	h= 39,1m p= 3,9m Prof.= 1,30m
Salida del efluente a la laguna	X=0590720 Y= 9902694	h= 37,3m p= 4,1m Prof.= 27cm
Salida al desagüe	X=0590710 Y= 9902702	h= 37,8m p= 4,2m Prof.= 63cm

Laguna de la destilería



ANEXO 4

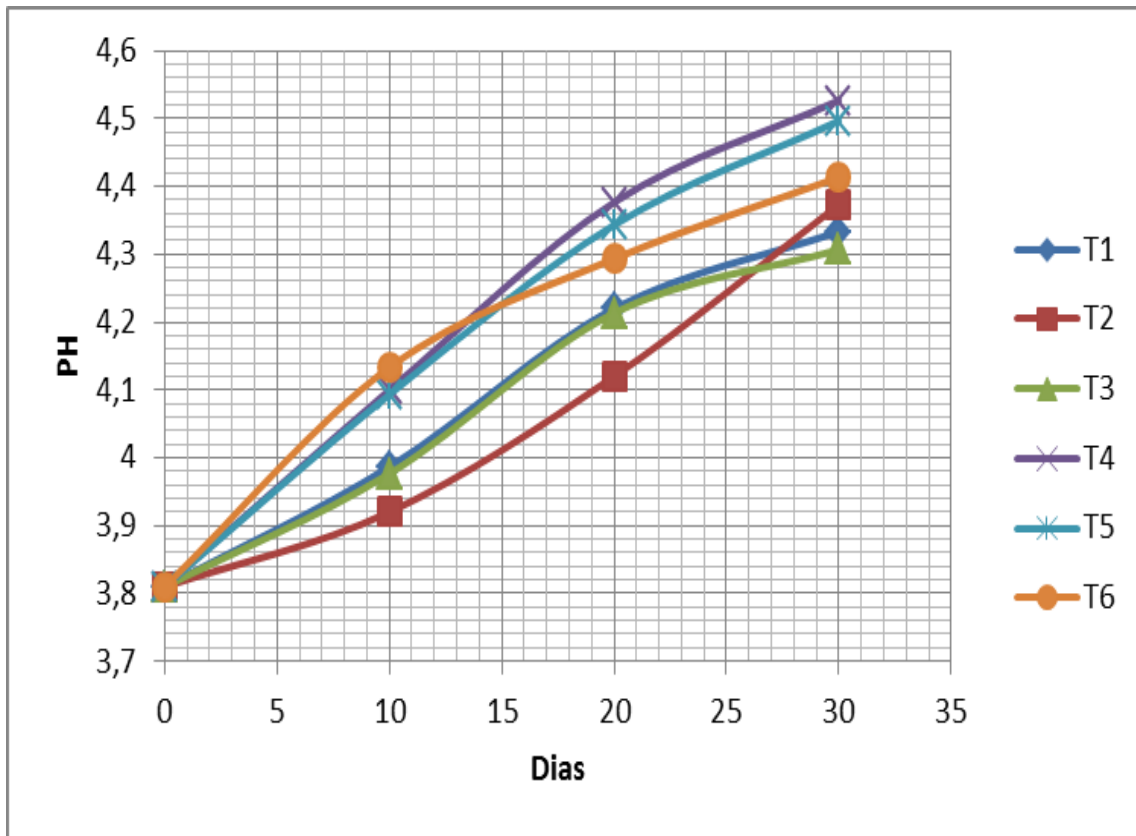
Resultados finales de pH

Tratamientos	Microorganismos	pH			
		Inicio	10 días	20 días	30 días
		pH	pH	pH	pH
T1	LACT (0,30mL)	3,81	3,99	4,22	4,33
T2	LACT (0,45mL)	3,81	3,92	4,12	4,37
T3	LACT (0,60mL)	3,81	3,98	4,21	4,31
T4	CHLO (0,30mL)	3,81	4,10	4,38	4,53
T5	CHLO (0,45mL)	3,81	4,09	4,34	4,50
T6	CHLO (0,60mL)	3,81	4,13	4,29	4,41

Significancia de cada tratamiento de pH

PRUEBA DE TUKEY											
DIA 10				DIA 20				DIA 30			
Trat.	Microorganismos	Medias	Significancia	Trat.	Microorganismos	Medias	Significancia	Trat.	Microorganismos	Medias	Significancia
T6	Chlorella 0,60mL	4,13	a	T4	Chlorella 0,30mL	4,38	a	T4	Chlorella 0,30mL	4,53	a
T4	Chlorella 0,30mL	4,10	a	T5	Chlorella 0,45mL	4,34	ab	T5	Chlorella 0,45mL	4,50	a
T5	Chlorella 0,45mL	4,09	a	T6	Chlorella 0,60mL	4,29	bc	T6	Chlorella 0,60mL	4,41	b
T1	Lactobacillus 0,30mL	3,99	b	T1	Lactobacillus 0,30mL	4,22	c	T2	Lactobacillus 0,45mL	4,37	c
T2	Lactobacillus 0,45mL	3,98	b	T3	Lactobacillus 0,60mL	4,21	c	T1	Lactobacillus 0,30mL	4,33	d
T3	Lactobacillus 0,60mL	3,92	c	T2	Lactobacillus 0,45mL	4,12	d	T3	Lactobacillus 0,60mL	4,31	d
C.V= 0,41				C.V= 0,69				C.V= 0,26			
E.E= 0,01				E.E= 0,02				E.E= 0,01			

Curva de Estadística de pH



T1	Lactobacillus 0,30mL
T2	Lactobacillus 0,45mL
T3	Lactobacillus 0,60mL
T4	Chlorella 0,30mL
T5	Chlorella 0,45mL
T6	Chlorella 0,60mL

ANEXO 5

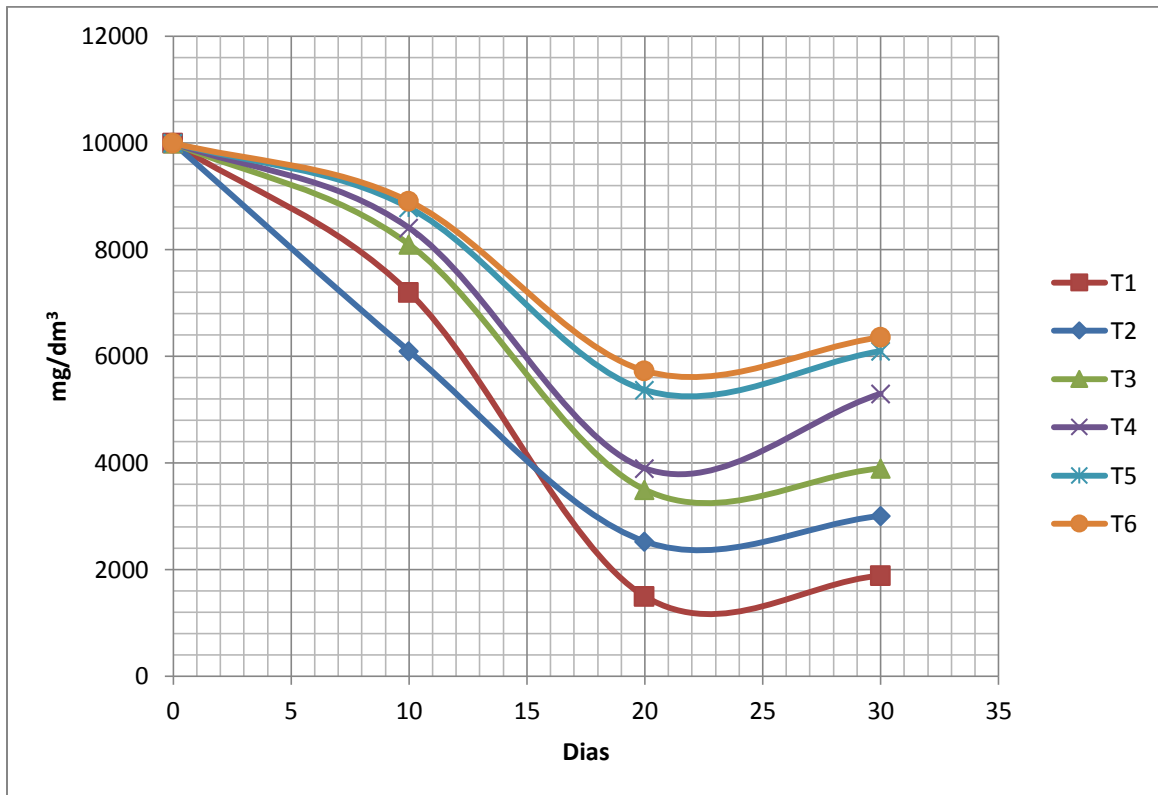
Resultados finales de DBO

DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO					
Tratamientos	Microorganismos	Inicio	10 días	20 días	30 días
		DBO (mg/dm ³)	DBO (mg/dm ³)	DBO (mg/dm ³)	DBO (mg/dm ³)
T1	LACT (0,30mL)	10000	7199	1500	1889
T2	LACT (0,45mL)	10000	6099	2531	3009
T3	LACT (0,60mL)	10000	8099	3503	3900
T4	CHLO (0,30mL)	10000	8410	3900	5301
T5	CHLO (0,45mL)	10000	8790	5370	6100
T6	CHLO (0,60mL)	10000	8910	5730	6362

Significancia de cada tratamiento de DBO

PRUEBA DE TUKEY											
DIA 10				DIA 20				DIA 30			
Trat.	Microorganismos	Medias	Significancia	Trat.	Microorganismos	Medias	Significancia	Trat.	Microorganismos	Medias	Significancia
T2	Lactobacillus 0,45mL	6099,33	a	T1	Lactobacillus 0,30mL	1500,00	a	T2	Lactobacillus 0,45mL	1889,33	a
T1	Lactobacillus 0,30mL	7199,33	b	T2	Lactobacillus 0,45mL	2531,67	b	T1	Lactobacillus 0,30mL	3009,67	b
T3	Lactobacillus 0,60mL	8099,00	c	T3	Lactobacillus 0,60mL	3503,67	c	T3	Lactobacillus 0,60mL	3900,00	c
T4	Chlorella 0,30mL	8410,33	d	T4	Chlorella 0,30mL	3900,00	d	T4	Chlorella 0,30mL	5301,33	d
T5	Chlorella 0,45mL	8790,00	e	T5	Chlorella 0,45mL	5370,00	e	T5	Chlorella 0,45mL	6100,00	e
T6	Chlorella 0,60mL	8910,00	f	T6	Chlorella 0,60mL	5730,67	f	T6	Chlorella 0,60mL	6362,00	f
C.V=0,01				C.V=0,08				C.V=0,03			
E.E=0,58				E.E=1,67				E.E=0,75			

Curva Estadística de la DBO



T1	Lactobacillus 0,30mL
T2	Lactobacillus 0,45mL
T3	Lactobacillus 0,60mL
T4	Chlorella 0,30mL
T5	Chlorella 0,45mL
T6	Chlorella 0,60mL

ANEXO 6

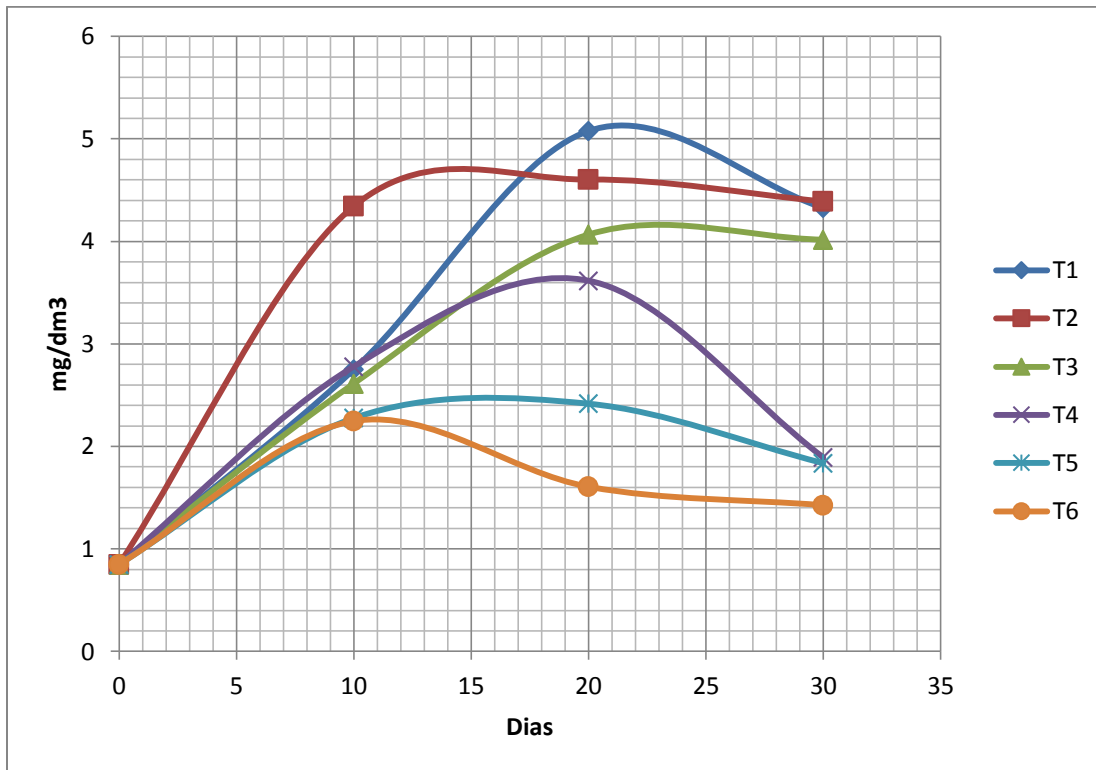
Resultados finales de Oxígeno Disuelto

OXIGENO DISUELTO					
Tratamientos	Microorganismos	Inicio	10 días	20 días	30 días
		OD (mg/dm ³)	OD (mg/dm ³)	OD (mg/dm ³)	OD (mg/dm ³)
T1	LACT (0,30mL)	0,85	2,75	5,08	4,33
T2	LACT (0,45mL)	0,85	4,34	4,60	4,39
T3	LACT (0,60mL)	0,85	2,61	4,07	4,02
T4	CHLO (0,30mL)	0,85	2,78	3,62	1,89
T5	CHLO (0,45mL)	0,85	2,28	2,42	1,84
T6	CHLO (0,60mL)	0,85	2,25	1,61	1,43

Significancia de cada tratamiento de OD

PRUEBA DE TUKEY											
DIA 10				DIA 20				DIA 30			
Trat.	Microorganismos	Medias	Significancia	Trat.	Microorganismos	Medias	Significancia	Trat.	Microorganismos	Medias	Significancia
T2	Lactobacillus 0,45mL	4,34	a	T1	Lactobacillus 0,30mL	5,08	a	T2	Lactobacillus 0,45mL	4,39	a
T4	Chlorella 0,30mL	2,78	b	T2	Lactobacillus 0,45mL	4,6	b	T1	Lactobacillus 0,30mL	4,33	b
T1	Lactobacillus 0,30mL	2,75	b	T3	Lactobacillus 0,60mL	4,07	c	T3	Lactobacillus 0,60mL	4,02	c
T3	Lactobacillus 0,60mL	2,61	c	T4	Chlorella 0,30mL	3,62	d	T4	Chlorella 0,30mL	1,89	d
T5	Chlorella 0,45mL	2,28	d	T5	Chlorella 0,45mL	2,42	e	T5	Chlorella 0,45mL	1,84	e
T6	Chlorella 0,60mL	2,25	d	T6	Chlorella 0,60mL	1,61	f	T6	Chlorella 0,60mL	1,43	f
C.V= 0,55				C.V= 0,34				C.V= 0,49			
E.E= 0,01				E.E= 0,01				E.E= 0,01			

Curva Estadística de la OD



T1	Lactobacillus 0,30mL
T2	Lactobacillus 0,45mL
T3	Lactobacillus 0,60mL
T4	Chlorella 0,30mL
T5	Chlorella 0,45mL
T6	Chlorella 0,60mL

ANEXO 7

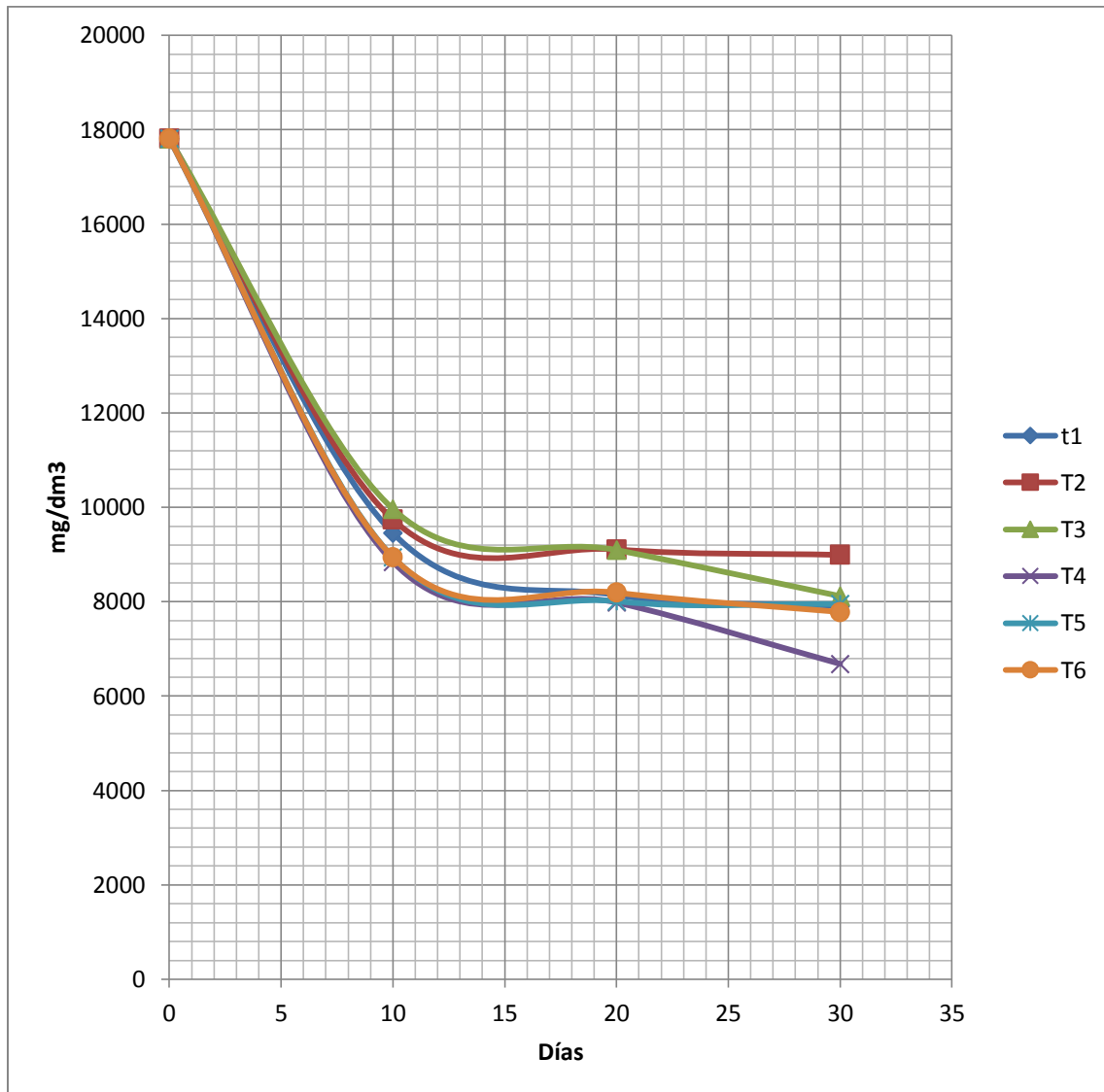
Resultados finales de Solidos Totales

SÓLIDOS TOTALES					
Tratamientos	Microorganismos	Inicio	10 días	20 días	30 días
		ST mg/dm ³	ST mg/dm ³	ST mg/dm ³	ST mg/dm ³
T1	LACT (0,30mL)	17813	9454	8142	7910
T2	LACT (0,45mL)	17813	9742	9108	8992
T3	LACT (0,60mL)	17813	9967	9095	8118
T4	CHLO (0,30mL)	17813	8844	7984	6682
T5	CHLO (0,45mL)	17813	8947	8010	7949
T6	CHLO (0,60mL)	17813	8945	8192	7783

Significancia de cada tratamiento de Solidos Totales

PRUEBA DE TUKEY											
DIA 10				DIA 20				DIA 30			
Trat.	Microorganismos	Medias	Significancia	Trat.	Microorganismos	Medias	Significancia	Trat.	Microorganismos	Medias	Significancia
T4	Chlorella 0,30mL	8844,33	a	T4	Chlorella 0,30mL	7984,00	a	T4	Chlorella 0,30mL	6682,33	a
T6	Chlorella 0,60mL	8944,67	b	T5	Chlorella 0,45mL	8009,67	b	T6	Chlorella 0,60mL	7783,00	b
T5	Chlorella 0,45mL	8947,00	b	T1	Lactobacillus 0,30mL	8142,00	c	T1	Lactobacillus 0,30mL	7910,33	c
T1	Lactobacillus 0,30mL	9454,00	c	T6	Chlorella 0,60mL	8192,33	d	T5	Chlorella 0,45mL	7948,67	d
T2	Lactobacillus 0,45mL	9741,67	d	T3	Lactobacillus 0,60mL	9095,33	e	T6	Lactobacillus 0,60mL	8118,33	e
T3	Lactobacillus 0,60mL	9966,67	e	T2	Lactobacillus 0,45mL	9108,33	f	T2	Lactobacillus 0,45mL	8991,67	f
C.V = 0,04				C.V = 0,04				C.V = 0,04			
E.E. = 2,00				E.E. = 2,11				E.E. = 1,76			

Curva Estadística de la ST



T1	Lactobacillus 0,30mL
T2	Lactobacillus 0,45mL
T3	Lactobacillus 0,60mL
T4	Chlorella 0,30mL
T5	Chlorella 0,45mL
T6	Chlorella 0,60mL

ANEXO 8

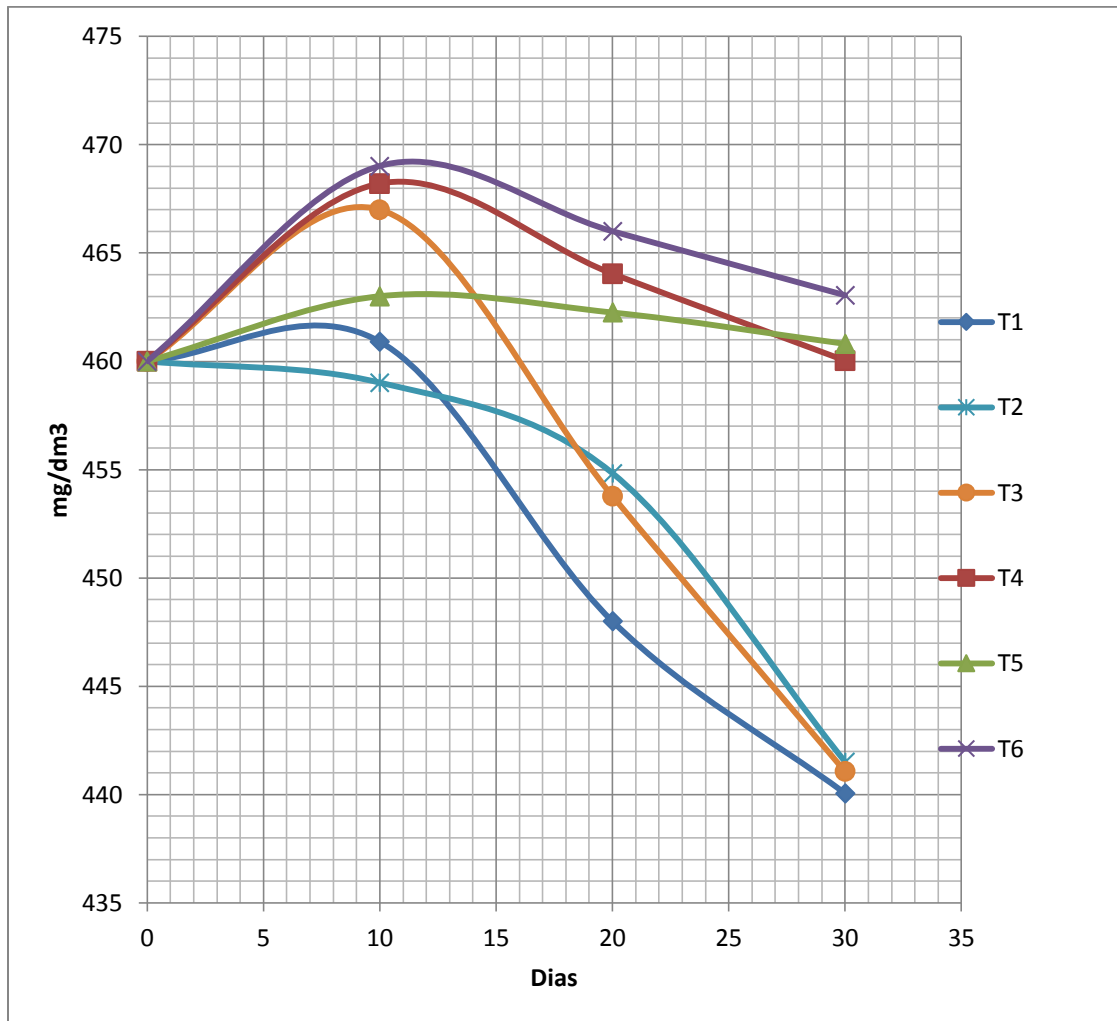
Resultados finales de Fosfato

FOSFATO					
Tratamientos	Microorganismos	Inicio	10 días	20 días	30 días
		fosfato mg/dm ³	fosfato mg/dm ³	fosfato mg/dm ³	fosfato mg/dm ³
T1	LACT (0,30mL)	460	460,91	448,00	440,06
T2	LACT (0,45mL)	460	459,02	454,84	441,52
T3	LACT (0,60mL)	460	467,00	453,78	441,06
T4	CHLO (0,30mL)	460	468,21	464,04	460,03
T5	CHLO (0,45mL)	460	463,01	462,25	460,81
T6	CHLO (0,60mL)	460	469,02	466,01	463,05

Significancia de cada tratamiento de Fosfato

PRUEBA DE TUKEY											
DIA 10				DIA 20				DIA 30			
Trat.	Microorganismos	Medias	Significancia	Trat.	Microorganismos	Medias	Significancia	Trat.	Microorganismos	Medias	Significancia
T2	Lactobacillus 0,45mL	459,02	a	T1	Lactobacillus 0,30mL	448,00	a	T1	Lactobacillus 0,30mL	440,06	a
T1	Lactobacillus 0,30mL	460,91	b	T3	Lactobacillus 0,60mL	453,45	b	T2	Lactobacillus 0,45mL	441,52	a
T5	Chlorella 0,45mL	463,01	c	T2	Lactobacillus 0,45mL	454,84	b	T3	Lactobacillus 0,60mL	447,4	a
T6	Chlorella 0,60mL	467,00	d	T5	Chlorella 0,45mL	462,25	c	T4	Chlorella 0,30mL	460,03	b
T3	Lactobacillus 0,60mL	468,21	e	T4	Chlorella 0,30mL	464,04	c	T5	Chlorella 0,45mL	460,81	b
T4	Chlorella 0,30mL	469,02	f	T6	Chlorella 0,60mL	466,01	d	T6	Chlorella 0,60mL	463,05	b
C.V= 0,0025				C.V= 0,21				C.V= 0,99			
E.E= 0,01				E.E= 0,55				E.E= 2,59			

Curva Estadística de la Fosfato



T1	Lactobacillus 0,30mL
T2	Lactobacillus 0,45mL
T3	Lactobacillus 0,60mL
T4	Chlorella 0,30mL
T5	Chlorella 0,45mL
T6	Chlorella 0,60mL

ANEXO 9

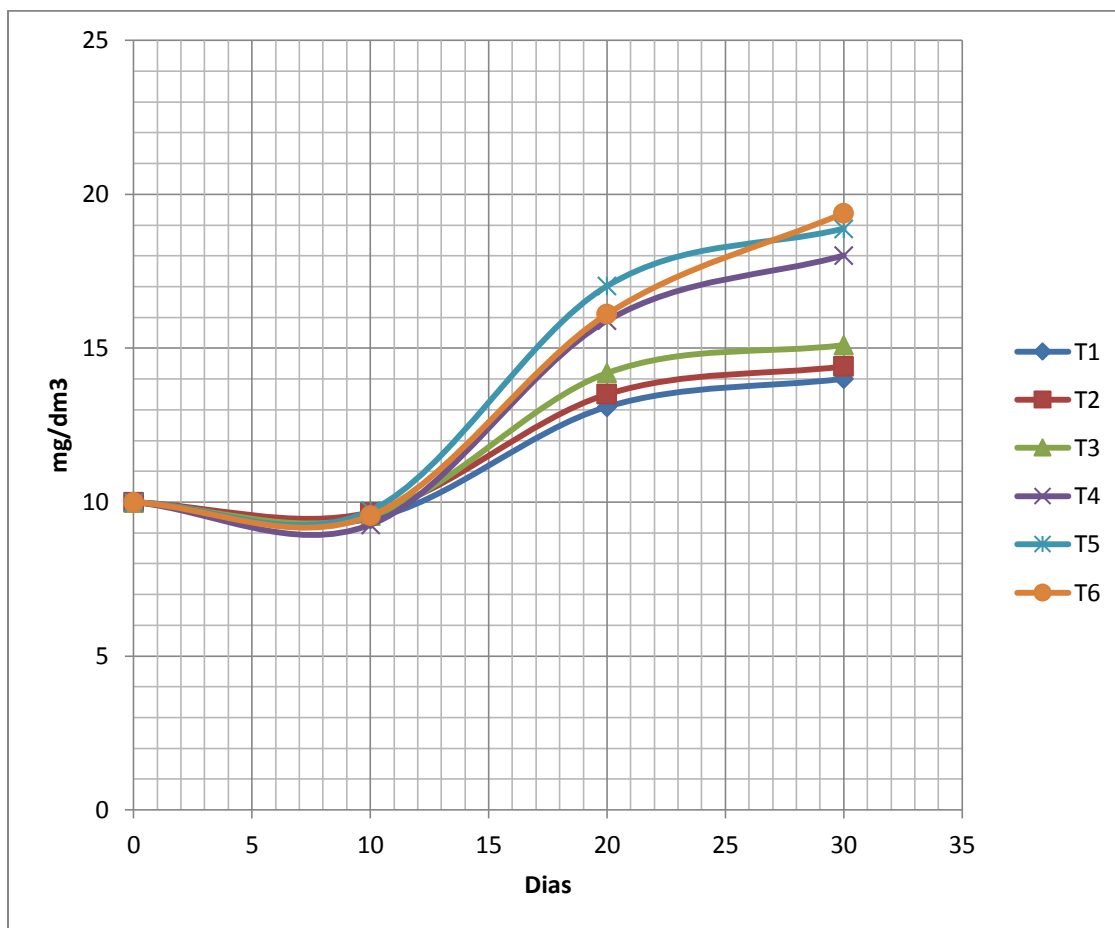
Resultados finales de Nitritos

Nitritos					
Tratamientos	Microorganismos	Inicio	10 días	20 días	30 días
		Nitrito mg/dm ³	Nitrito mg/dm ³	Nitrito mg/dm ³	Nitrito mg/dm ³
T1	LACT (0,30mL)	10,00	9,46	13,10	14,01
T2	LACT (0,45mL)	10,00	9,67	13,50	14,41
T3	LACT (0,60mL)	10,00	9,55	14,19	15,10
T4	CHLO (0,30mL)	10,00	9,27	15,90	18,01
T5	CHLO (0,45mL)	10,00	9,72	17,02	18,89
T6	CHLO (0,60mL)	10,00	9,55	16,11	19,39

Significancia de cada tratamiento de Nitritos

PRUEBA DE TUKEY											
DIA 10				DIA 20				DIA 30			
Trat.	Microorganismos	Medias	Significancia	Trat.	Microorganismos	Medias	Significancia	Trat.	Microorganismos	Medias	Significancia
T4	Chlorella 0,30mL	9,27	a	T1	Lactobacillus 0,30mL	13,10	a	T1	Lactobacillus 0,30mL	14,01	a
T1	Lactobacillus 0,30mL	9,46	b	T2	Lactobacillus 0,45mL	13,50	b	T2	Lactobacillus 0,45mL	14,41	b
T6	Chlorella 0,60mL	9,55	c	T3	Lactobacillus 0,60mL	14,19	c	T3	Lactobacillus 0,60mL	15,10	c
T3	Lactobacillus 0,60mL	9,55	c	T4	Chlorella 0,30mL	15,9	d	T4	Chlorella 0,30mL	18,01	d
T2	Lactobacillus 0,45mL	9,67	d	T5	Chlorella 0,60mL	16,11	e	T5	Chlorella 0,45mL	18,89	e
T5	Chlorella 0,45mL	9,72	d	T6	Chlorella 0,45mL	17,02	f	T6	Chlorella 0,60mL	19,39	f
C.V= 0,23				C.V= 0,14				C.V= 0,09			
E.E= 0,01				E.E= 0,01				E.E= 0,01			

Curva Estadística de Nitritos



T1	Lactobacillus 0,30mL
T2	Lactobacillus 0,45mL
T3	Lactobacillus 0,60mL
T4	Chlorella 0,30mL
T5	Chlorella 0,45mL
T6	Chlorella 0,60mL

ANEXO 10



DBO



Fosfato

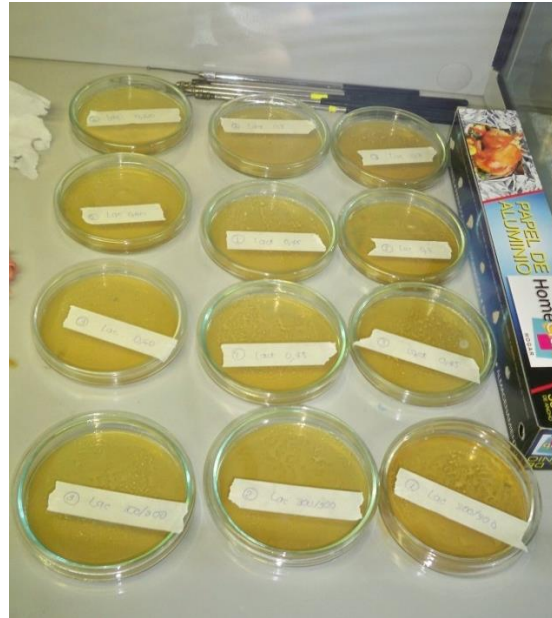
*Chlorella**Lactobacillus*



Montaje de Ensayo



Conteo de *Chlorella*



Conteo de *Lactobacillus*



Solidos Totales