



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ  
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

**CARRERA DE MEDIO AMBIENTE**

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

**TEMA:**

**MICROORGANISMOS NATIVOS EN LA EFICIENCIA DE  
REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA DEL EFLUENTE DE LA  
ESTACIÓN DEPURADORA DE CALCETA, MANABÍ.**

**AUTORES:**

**BAZURTO MEZA LEONARDO SEBASTIÁN  
MURILLO RAMÍREZ WALTER VINICIO**

**TUTORA:**

**ING. ESTELA CUMANDÁ PHILCO VELASCO, M.Sc**

**CALCETA, NOVIEMBRE 2017**

## DERECHOS DE AUTORÍA

**Bazurto Meza Leonardo Sebastián Y Murillo Ramírez Walter Vinicio**, declaramos bajo juramento que el trabajo aquí escrito es 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 los derechos de propiedad intelectual a la Escuela **Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López**, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su reglamento.

.....  
**LEONARDO S. BAZURTO MEZA**

.....  
**WALTER V. MURILLO RAMÍREZ**

## **CERTIFICACIÓN DE TUTORA**

**Estela Cumandá Philco Velasco, M.Sc.** certifica haber tutelado la tesis **MICROORGANISMOS NATIVOS EN LA EFICIENCIA DE REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA DEL EFLUENTE DE LA ESTACIÓN DEPURADORA DE CALCETA, MANABÍ**, que ha sido desarrollada por **Bazurto Meza Leonardo Sebastián y Murillo Ramírez Walter Vinicio**, 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**.

.....  
**ING. CUMANDÁ PHILCO V, Ms.Sc.**

## **APROBACIÓN DEL TRIBUNAL**

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaran que han **APROBADO** la tesis de **MICROORGANISMOS NATIVOS EN LA EFICIENCIA DE REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA DEL EFLUENTE DE LA ESTACIÓN DEPURADORA DE CALCETA, MANABÍ**, que ha sido propuesta, desarrollada y sustentada por **Bazurto Meza Leonardo Sebastián Y Murillo Ramírez Walter Vinicio**, 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.

.....  
Ing. Juan Carlos Luque, M.Sc.  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

.....  
Ing. Sergio Alcívar Pinargote, M.Sc.  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

.....  
Ing. Agustín Leiva Pérez, Ph.D.  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, por acompañarnos y guiarnos a lo largo de nuestra carrera, por protegernos cada día, y ser nuestra fortaleza en momentos de debilidad y por brindarnos una vida llena de aprendizajes, y sobre todo momentos de mucha felicidad.

A nuestros padres por estar presentes en todo momento de nuestra etapa educativa, por los valores inculcados, por darnos la oportunidad de tener una educación digna y de calidad, y sobre todas las cosas por ser ejemplos de vida y superación.

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria De Manabí “Manuel Félix López” por darnos la oportunidad de formarnos como profesionales, por brindarnos una educación superior de calidad y gracias a esto día a día pudimos adquirir nuevos conocimientos que nos servirán en nuestro futuro.

A nuestra tutora la Ing. Cumandá Philco por haber creído en nosotros, y habernos brindado la oportunidad de desarrollar nuestra tesis, por la dedicación y apoyo que nos brindó y por haber compartido sus conocimientos y sobre todo su amistad.

Al Ing. Mario López y la Ing. Auxiliadora Anchundia por siempre estar predispuestos en brindarnos su ayuda y compartir sus conocimientos.

A cada uno de nuestros compañeros que fueron participes en nuestro proceso de aprendizaje y en nuestra vida estudiantil, quien nos brindaron su amistad, respeto y consejos en los momentos difíciles de nuestra vida.

A los miembros de tribunal por permitirnos realizar esta investigación, y que gracias a sus consejos pudimos aprender y adquirir nuevos conocimientos.

**Bazurto Meza Leonardo Sebastián**

**Murillo Ramírez Walter Vinicio**

## **DEDICATORIA**

Dedicamos este trabajo, primero que todo a Dios todo poderoso y señor nuestro, el cual nos brindó las fuerzas necesarias para luchar todos los días y a seguir adelante y superar los obstáculos presentes a lo largo de nuestra etapa universitaria.

A nuestros padres Tania Meza, Teodomiro Bazurto y Aura Ramírez, Walter Murillo quienes son y serán siempre un pilar fundamental en nuestras vidas, por la confianza brindada el apoyo incondicional y sobre todo por el amor y dedicación brindado a lo largo de nuestras vidas.

A nuestros hermanos que siempre han compartido nuestros logros obtenidos a lo largo de esta etapa estudiantil y estamos completamente seguros que están muy orgullosos de todo lo conseguido.

A nuestros amigos, que gracias a su apoyo, hicieron de esta experiencia una de las más especiales.

Por último y no menos importante yo; Murillo Ramírez Walter quiero dedicar este logro obtenido a mi amada novia y futura esposa, quien ha sido participe en toda mi carrera universitaria, por su apoyo, confianza, cariño y amor incondicional.

**Bazurto Meza Leonardo Sebastián**

**Murillo Ramírez Walter Vinicio**

## CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA.....	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTORA.....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	iv
AGRADECIMIENTO .....	v
DEDICATORIA .....	vi
CONTENIDO GENERAL.....	vii
CONTENIDO DE CUADROS Y FIGURAS.....	ix
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xii
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES .....	1
1.1.  PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	1
1.2.  JUSTIFICACIÓN .....	2
1.3.  OBJETIVOS .....	4
1.3.1.  OBJETIVO GENERAL.....	4
1.3.2.  OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
1.4.  HIPÓTESIS .....	4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1.  MICROORGANISMOS EFICIENTES DE AGUAS RESIDUALES.....	5
2.2.  BACTERIAS.....	5
2.2.2.  HONGOS .....	7
2.3.  CONSORCIO MICROBIANO.....	8
2.3.1.  CONSORCIOS NATIVOS .....	9
2.4.  PREPARACIÓN Y ACTIVACIÓN DE CONSORCIO MICROBIANO .....	9
2.5.  AGUA RESIDUAL .....	9
2.6.  TIPOS DE AGUAS RESIDUALES .....	10

2.6.1. AGUA RESIDUAL DOMÉSTICA .....	10
2.7. CARACTERÍSTICAS DE LAS AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS ..	10
2.7.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS .....	10
2.7.2. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS .....	11
2.7.3. CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS .....	11
2.8. LÍMITES PERMISIBLES DE DESCARGAS A UN CUERPO DE AGUA DULCE.....	11
2.9. SISTEMAS DE TRATAMIENTOS DE AGUAS RESIDUALES .....	12
2.9.1. SISTEMAS DE TRATAMIENTO BIOLÓGICOS .....	12
2.10. REACTOR BIOLÓGICO .....	12
2.11. REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA .....	12
2.12. PARÁMETROS A CARACTERIZAR EN EL AGUA RESIDUAL.....	13
2.12.1. DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO .....	13
2.12.2. POTENCIAL DE HIDRÓGENO.....	14
2.12.3. OXÍGENO DISUELTO .....	15
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO.....	16
3.1. UBICACIÓN .....	16
3.2. DURACIÓN DEL TRABAJO .....	16
3.3. VARIABLES EN ESTUDIO.....	17
3.4. CUADRO DE VARIANTES.....	17
3.5. MÉTODOS Y TÉCNICAS .....	17
3.6. TIPO DE INVESTIGACIÓN .....	18
3.7. TRATAMIENTOS .....	18
3.8. ESQUEMA DE ANÁLISIS DE VARIANZA .....	18
3.9. PARÁMETROS A MONITOREAR .....	19
3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS .....	19
3.11. PROCEDIMIENTO .....	19

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
4.1. DETERMINAR MICROORGANISMOS NATIVOS EFICIENTES. ....	26
4.1.1. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS Y BACTERIAS.....	26
4.2. PONDERAR LA EFICIENCIA DE REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA EN AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS.....	30
4.2.1. GEORREFERENCIACIÓN DE LOS PUNTOS DE MUESTREO.....	30
4.2.2. VALORACIÓN INICIAL DE LA CALIDAD DEL AGUA DEL EFLUENTE DE LA ESTACIÓN DEPURADORA DE CALCETA .....	30
4.2.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO CON DIFERENTES DOSIS DE CONSORCIO MICROBIANO EN AGUA RESIDUAL DOMESTICA.....	31
4.3. DISCUSIÓN.....	37
4.4. VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS .....	38
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	39
5.1. CONCLUSIONES .....	39
5.2. RECOMENDACIONES .....	39
BIBLIOGRAFÍA.....	40
ANEXOS.....	49

## **CONTENIDO DE CUADROS Y FIGURAS**

Cuadro 2.1.Limite permisible de descargas a cuerpos de agua dulce .....	12
Cuadro 3.1.Referencias geográficas.....	16
Cuadro 3.2.Variables. ....	17
Cuadro 3.3. Descripción del tratamiento. ....	18
Cuadro 3.4. Análisis de varianza.....	18
Cuadro 3.5. Parámetros a evaluar .....	19
Cuadro 3.6. Metodologías a usar para la caracterización.....	24

Cuadro 4.1. Microorganismos presentes en el agua residual de la estación depuradora de calceta. ....	26
Cuadro 4.2. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas del hongo.....	29
Cuadro 4.3. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas de la bacteria .....	30
Cuadro 4.4. Coordenadas obtenidas del sitio de muestreo .....	30
Cuadro 4.5. Características fisicoquímicas del agua residual.....	31
cuadro 4.6.resultado de análisis al agua residual doméstica.....	32
cuadro 4.7. Análisis de varianza (Anova, DBO).....	34
cuadro 4.8. Análisis de varianza (Anova, OD) .....	36

## **CONTENIDO DE FIGURAS**

Figura 3.1. Ubicación de la estación depuradora de aguas residuales. ....	16
---	----

## **CONTENIDO DE GRÁFICOS**

Gráfico 4.1. Variación de la DBO en los tratamientos.....	32
Gráfico 4.2. Promedio de remoción de materia orgánica (mg/dm <sup>3</sup> ).....	33
Gráfico 4.3.Variación del oxígeno disuelto en los tratamientos. ....	35
Gráfico 4.4.Variación del pH en los tratamientos.....	36

## RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo evaluar la eficiencia de un consorcio microbiano compuesto de (*Bacillus sp.*, *Aspergillus oryzae*) para la remoción de materia orgánica en agua residual doméstica de la estación depuradora de Calceta. La investigación constó de dos etapas: en la primera etapa, se tomó muestras de agua residual y se le realizó un control microbiológico de mohos, levaduras y bacterias con el fin de obtener cultivos de microorganismos y realizar la clasificación de los mismos mediante caracterización morfológica macroscópica-microscópica, para conformar un consorcio microbiano. Para la segunda etapa, mediante bibliografía, se determinó los microorganismos idóneos para tratamiento primario de las aguas residuales domésticas. Luego se procedió a inocular las unidades experimentales que contenían 2 dm<sup>3</sup> de agua residual con una demanda bioquímica de oxígeno inicial de 480 mg/dm<sup>3</sup>, Se usó un diseño completamente al azar simple con 4 tratamientos y 3 repeticiones: para esto se evaluaron parámetros como demanda bioquímica de oxígeno, potencial de hidrogeno y oxígeno disuelto, dando como resultado el tratamiento uno con dosis de 5 cm<sup>3</sup>/dm<sup>3</sup> registró una demanda bioquímica de oxígeno final de 37 mg/dm<sup>3</sup> tuvo una eficiencia de remoción 92%. El tratamiento dos con dosis de 10 cm<sup>3</sup>/dm<sup>3</sup> con una demanda bioquímica de oxígeno final de 57 mg/dm<sup>3</sup> presentó una eficiencia de remoción de 88% y el tratamiento tres con dosis de 15 cm<sup>3</sup>/dm<sup>3</sup> con una demanda bioquímica de oxígeno final de 67 mg/dm<sup>3</sup> y una eficiencia de remoción de 86%. Se concluye que los microorganismos *Bacillus sp* y *Aspergillus oryzae* en dosis de 5cm<sup>3</sup> permitieron una alta remoción de materia orgánica (92%) con la aplicación del consorcio microbiano nativo.

## PALABRAS CLAVE

Agua residual doméstica, *Bacillus sp*, *Aspergillus oryzae*, demanda bioquímica de oxígeno.

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the efficiency of a microbial consortia consisting of (*Bacillus sp.*, *Aspergillus oryzae*) to achieve removal organic matter in domestic wastewater from Calceta sewage treatment plant. The research encompassed two phases: in the first phase, it was collected water samples and a microbiological follow up was done of moulds, yeasts and bacteria to obtain cultures of microorganisms and to and classify them by macroscopical and microscopical morphological characterization, to form a microbial consortia. In the second phase, it was determined the microorganisms suitable for primary treatment of domestic wastewater by a systematic review of the literature. We then inoculated the experimental units containing 2 dm<sup>3</sup> of wastewater with an initial biochemical oxygen demand of 480 mg/dm<sup>3</sup>. A single completely randomized design was used with 4 treatments and 3 replicates: for this we evaluated parameters such as demand biochemistry of oxygen, hydrogen potential and dissolved oxygen, resulting in a treatment with a dose of 5 cm<sup>3</sup>/dm<sup>3</sup> recorded a final biochemical oxygen demand of 37 mg/dm<sup>3</sup> had a 92% removal efficiency. Treatment with doses of 10 cm<sup>3</sup>/dm<sup>3</sup> with a final biochemical oxygen demand of 57 mg/dm<sup>3</sup> presented a removal efficiency of 88% and treatment three with doses of 15 cm<sup>3</sup>/dm<sup>3</sup> with a final biochemical oxygen demand of 67 mg/dm<sup>3</sup> and a removal efficiency of 86 %. It is concluded that the microorganisms *Bacillus sp* and *Aspergillus oryzae* in doses of 5cm<sup>3</sup> allowed a high removal of organic matter (92%) with the application of the native microbial consortium.

## KEY WORDS

Domestic wastewater, *Bacillus sp*, *Aspergillus oryzae*, Biochemical Oxygen Demand

# CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

## 1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

El desarrollo de la población a nivel mundial ha permitido que las actividades económicas se incrementen y los niveles de contaminación asciendan, como por ejemplo la generación de desechos, emisiones atmosféricas y también descargas de aguas residuales sin tratar a cuerpos hídricos este último es un problema muy importante a tratar. Esto se debe a los deficientes tratamientos que se les da al agua residual, donde la carga contaminante de estas representa altos porcentajes de materia orgánica y microorganismos patógenos de origen fecal, donde estos microorganismos pueden causar enfermedades de bajo riesgo como gastroenteritis y hasta fatales como hepatitis, disentería, diarrea. (Arcos *et al.*, 2005). Según la Organización de las Naciones Unidas para el desarrollo, el 80% de las aguas residuales en el mundo carecen de un adecuado tratamiento (ONU, 2015); las mismas que son descargadas directamente en aguas superficiales generando un gran riesgo, siendo los países en desarrollo los más afectados por esta situación (Cárdenas, 2012).

En América Latina de los 52 millones de metros cúbicos de agua residual que se generan al día, solo el 6% (3.100.000 m<sup>3</sup>) se le aplica un tratamiento eficiente (Yee, 2013). Según Stewart (2005) a partir de esta problemática surge la necesidad de contrarrestar los niveles de contaminación para minimizar los problemas tendientes a alterar el bienestar de la sociedad. Las aguas residuales al estar constituidas por compuestos físicos, químicos, y biológicos, materiales orgánicos e inorgánicos y al no recibir un tratamiento eficiente se vuelven agentes de proliferación de patógenos, emanación de malos olores, alterando las propiedades físicas, químicas y biológicas del lugar donde se vierten (Díaz *et al.*, 2012).

En el ámbito nacional, las estaciones depuradoras de aguas residuales no cuentan con una administración adecuada de sus instalaciones y procesos, la falta de compromiso con el medio ambiente por incumplimiento de legislaciones ambientales establecidas, son factores que disminuyen su eficiencia (Barbecho

y Bosques, 2008). Por su parte Cárdenas, (2012) citando al MIDUVI y la AME en su investigación menciona que solo el 53,1% de la población hace uso del servicio de alcantarillado donde solo el 24,6 % de las aguas residuales tienen un tratamiento adecuado.

En la ciudad de Calceta, el Gobierno Autónomo Descentralizado de Bolívar señala que hay un constante monitoreo de la calidad del agua desde la descarga misma (represa la esperanza) y en varios sectores aguas abajo, lo que indica que el río Carrizal es agredido en al menos 13 sectores antes de llegar a la estación de captación, especialmente por descargas de aguas negras, residuos agroquímicos, descargas de camales (GAD, 2016), por lo tanto es indispensable establecer procesos biológicos que sean idóneos en el tratamiento de agua residual. Arnaiz (2000) establece que el uso de tratamientos biológicos en la depuración de aguas residuales es muy viable ya que dichos métodos son muy eficientes, y se pueden obtener buenos resultados en poco tiempo. Por lo que seguir utilizando los sistemas de depuración convencionales con una deficiente gestión pondrán en riesgo la salud humana y del ecosistema.

Se estima que si no se toman las medidas adecuadas para el tratamiento de aguas residuales, la contaminación provocada por las mismas causarán daños irremediables a los ecosistemas ante esta situación se plantea la siguiente interrogante.

¿Cómo influye la aplicación de consorcios microbianos nativos en la eficiencia de remoción de materia orgánica del efluente de la estación depuradora de Calceta?

## **1.2. JUSTIFICACIÓN**

La presente investigación tiene como finalidad evaluar la eficiencia de un consorcio con microorganismos nativos a escala de laboratorio, en efluentes de la estación depuradora de Calceta, debido a que en la actualidad los efluentes provenientes de ésta, presentan altos índices de materia orgánica (Bermúdez, 2016) debido al manejo inadecuado de la estación, lo cual afecta directa e indirectamente a los diferentes tipos de ecosistemas existentes en la zona,

siendo los microorganismos eficientes nativos una alternativa para el tratamiento de los efluentes debido a que con su aplicación a la aguas residuales proveen ventajas y beneficios siendo el más importante la reducción de materia orgánica fenómeno ampliamente conocido y así de esta manera preservar un ambiente sano y equilibrado contribuyendo así con el objetivo 7 del Plan Nacional para el Buen Vivir 2013-2017, que tiene como meta garantizar los derechos de la naturaleza y promover la sostenibilidad ambiental, territorial y global.

Como se ha mencionado, la utilización de microorganismos es un método muy eficiente en el tratamiento de aguas residuales por eso surge la necesidad de evaluar un consorcio microbiano que nos permitirá reducir la proliferación de malos olores, aumento de microorganismos patógenos, el elevado contenido de materia orgánica entre otros problemas de contaminación, producidos por el inadecuado manejo de la estación depuradora de Calceta. Existen bacterias con capacidad de depurar aguas contaminadas, no obstante también se pueden asociar con hongos con el propósito de establecer simbiosis para mejorar el proceso de reducción de materia orgánica, dicha simbiosis es muy eficiente en la depuración de aguas residuales ya que las bacterias oxidan y eliminan los contaminantes orgánicos de las aguas residuales mientras que los hongos tienen la capacidad de adaptarse sobre cualquier medio y juntos descomponen la materia orgánica presentes en las aguas residuales; por lo que la utilización de estos microorganismo en la biorremediación haría más eficiente el proceso de depuración (Cortés *et al.*, 2014).

### **1.3. OBJETIVOS**

#### **1.3.1. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la aplicación de consorcios microbianos nativos en la eficiencia de remoción de materia orgánica del efluente de la estación depuradora de Calceta.

#### **1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar microorganismos nativos eficientes.
- Ponderar la eficiencia de remoción de materia orgánica del efluente.

### **1.4. HIPÓTESIS**

El consorcio microbiano nativo (*Bacillus sp.* y *Aspergillus oryzae*) es eficiente en la remoción de materia orgánica del efluente de la estación depuradora de Calceta.

## **CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. MICROORGANISMOS EFICIENTES DE AGUAS RESIDUALES**

Según Aguilar (2012) los microorganismos eficientes en aguas residuales son la mezcla de bacterias fototróficas, levaduras, bacterias productoras de ácido láctico y hongos de fermentación que descomponen la materia orgánica incluida en aguas residuales, ayudando a disminuir la contaminación al medio ambiente. Los microorganismos se reproducen con rapidez, un solo microorganismo en plazo de un día puede dar origen a millones de microorganismos iguales a él, dependiendo de la disponibilidad de nutrientes (Alonso, 2011).

### **2.2. BACTERIAS**

Las mayorías de las bacterias requieren de compuestos orgánicos para alimentarse por lo que convierten en alimento y energía estos compuestos presentes en las aguas residuales provenientes de la materia animal y vegetal que les permite su subsistencia y reproducción (Ortiz, 2001).

#### **2.2.1.1. CULTIVO DE BACTERIA**

##### **2.2.1.1.1. MEDIO DE CULTIVOS (AGAR NUTRITIVO)**

El medio de cultivo agar nutritivo es el más usado para el cultivo de bacterias es muy eficiente porque puede mantener su estado sólido en altas temperaturas y el crecimiento de las bacterias se lo realiza en superficie y de esta forma es más fácil diferenciar las colonias de menor tamaño. Las bacterias también se cultivan en un caldo de nutrientes esta presenta una característica viscosa por lo que es difícil observar las colonias. El agar nutritivo está compuesto normalmente por: 0.5 % Peptona, 0.3 % extracto de carne/extracto de levadura, 1.5 % agar, 0.5% NaCl, Agua destilada, pH casi neutro (6.8) a 25°C (Gonzales, 2012).

### 2.2.1.1.2. CONTEO BACTERIANO

Para realizar el proceso de recuento microbiano se toma una muestra del inóculo, si el producto inicial es líquido la siembra se la realiza en la superficie de un medio de cultivo sólido en cajas petri, el proceso de inoculación se debe tomar una muestra del ensayo en dos cajas petri con agar utilizando los procedimientos necesario luego se lleva los medio de cultivo a incubación a una temperatura de 30°C a 35°C, una vez terminado el período de incubación se seleccionan las cajas que contenga entre 15 y 150 colonias, se selecciona cinco colonia de cada caja para sembrarlas mediante estriado, inoculación, por punción en la superficie del agar estas se incuban de 30°C a 35°C durante 24 horas.

Para presentar los resultados se usa el siguiente método de cálculo:

$$N = \frac{\sum a}{V(n_1 + 0,1n_2)d} \quad (2.1)$$

Donde:

$\sum C$  = suma de las colonias contadas o calculadas en todas las placas elegidas

$N_1$  = número de placas contadas de la primera dilución seleccionada

$N_2$  = dilución de placas contadas de la segunda dilución seleccionada

$D$  = dilución de la cual se obtuvieron los primeros recuentos, por ejemplo  $10^{-2}$

$V$  = volumen del inóculo sembrado en cada placa (INEN, 2013)

### 2.2.1.2. *BACILLUS SP.*

Según una investigación realizada por Layton *et al.*, (2011) los *Bacillus sp* son bacterias productoras de endoesporas resistentes a diferentes condiciones climáticas, la principal función del *Bacillus sp* es la descomposición de polisacáridos, ácidos nucleicos y lípidos degradadores de fosfato y azufre, además son capaces de eliminar patógenos presentes en aguas residuales.

## 2.2.2. HONGOS

### 2.2.2.1. CULTIVO DE HONGOS

El medio más usado para el cultivo de hongos es el Agar sabouraud, los hongos son un grupo de seres vivos diferentes de las plantas y de los animales, razón por la cual se clasifican en un reino aparte llamado Fungí, además poseen gran capacidad de adaptación y pueden desarrollarse sobre cualquier medio o superficie, tanto en los bosques como en las ciudades (Cañedo y Ames, 2004).

### 2.2.2.2. CONTEO DE HONGOS

El método para el conteo de hongos consiste en inocular una cantidad de muestra en un medio de cultivo por lo que se aprovecha la capacidad de los hongos de usar como nutrientes a polisacáridos existentes en el medio de cultivo, la capacidad de los hongos a sobrevivir a pH altos no genera problema a la hora de inocularlos en un medio de cultivo acidificado, dicha acidificación permite la eliminación de la mayor cantidad de bacterias y la incubación de estos a una temperatura de 25°C da el crecimiento de las colonias (CEINCI-ESPE, 2011). Normalmente se utiliza el agar papa dextrosa para la detección y cuantificación de los hongos y levaduras; sin embargo, Camacho *et al.*, (2009) sugiere que para estos procesos se utilice el agar extracto de malta acidificado debido a que este es un medio muy rico en nutrientes lo que lo hace un medio adecuado para el crecimiento de los hongos y levaduras.

El método de cuantificación consiste en el cultivo a una temperatura de 22°C a 25°C de los inóculos, se utiliza el método de recuento en placa por siembra en profundidad y el medio de cultivo compuesto por extracto de levadura, glucosa y sales minerales, una vez que se haya cumplido el tiempo incubación se debe seleccionar las placas que presente entre 10 y 150 colonias.

La fórmula a continuación se usa para calcular el número de unidades propagadoras de mohos o levaduras por centímetro cubico o gramo de la muestra.

$$N = \frac{\text{número total de colonias contadas o calculadas}}{\text{cantidad total de muestrara sembrada}} \quad (2.2)$$

$$N = \frac{\sum C}{V(n_1 + 0,1n_2)d} \quad (2.3)$$

**Donde:**

a = es la suma de las colonias de las cajas seleccionadas en cada dilución

$\sum C$  = suma de las colonias de Bacillus contadas después de la identificación en todas las cajas seleccionadas.

$N_1$  = número de placas contadas de la primera dilución seleccionada

$N_2$  = dilución de placas contadas de la segunda dilución seleccionada

d = es el factor de dilución correspondiente a la primera dilución (INEN, 2013)

0,1 = constante debido al método de siembra en superficie

**2.2.2.3. ASPERGILLUS ORYZAE**

Son organismos unicelulares o pluricelulares, autótrofos, eucariotas, fotosintéticos, que a diferencia de las plantas y animales, se alimentan mediante la absorción directa de nutrientes que obtienen mediante la degradación de moléculas del medio, junto con las bacterias se alimentan de material orgánico y son los causantes de la putrefacción y descomposición de la materia orgánica (Yépez, 2011). El *Aspergillus oryzae* es un hongo de fermentación el cual actúa descomponiendo rápidamente la materia orgánica para producir alcohol, ésteres y sustancias antimicrobianas (Cortes *et al.*, 2014).

**2.3. CONSORCIO MICROBIANO**

Un inoculante microbiano es aquel que contiene varios tipos de microorganismos benéficos, naturalmente llamado "microorganismos eficientes" El concepto de los microorganismos eficaces fue desarrollado por el Prof. japonés Teuro Higa, de la Universidad de Ryukus, Okinawa, Japón. Él informó que una combinación de aproximadamente 80 diferentes microorganismos fueron capaces de influir de manera positiva en la descomposición de materia; un consorcio microbiano es una comunidad de dos o más microorganismos en las que existe una simbiosis

donde cada uno de ellos se benefician y esta asociación hace que estos microorganismos sean menos vulnerables a cualquier cambio en el medio, debido a la simbiosis entre ellos (López *et al.*, 2007).

### **2.3.1. CONSORCIOS NATIVOS**

Los consorcios microbianos con microorganismos nativos, son muy eficientes ya que estos actúan rápidamente por que no tienen que adaptarse a condiciones climáticas y a otros microorganismos presentes en la zona donde se los utiliza (Arias, 2007).

## **2.4. PREPARACIÓN Y ACTIVACIÓN DE CONSORCIO MICROBIANO**

En su investigación Campos *et al.*, (2014) recomiendan el uso de melaza para el aumento adicional de EM ya que tiene abundante mezcla de minerales y proteínas. Guzmán (2010) citado por Vera y Conforme (2015) indica que para la preparación de un medio de cultivo líquido optimizado para bacterias y hongos, debe estar compuesto por melaza y levadura autolizada, con un pH de 7 para bacterias y 5,6 para hongos.

### **2.5. AGUA RESIDUAL**

Según el grupo de investigadores Aguilar (2012) las aguas residuales son cualquier tipo de agua, cuya calidad fue afectada negativamente por influencia antropogénica, para Díaz *et al.*, (2012) las aguas residuales son productos de las acciones y efectos en las que el hombre introduce materias contaminantes de modo directo o indirecto, implica alteraciones perjudiciales de su calidad con relación a los usos posteriores o con su función ecológica. Por otra parte Mass y Medrano (2015) las definen como aguas provenientes del sistema de abastecimiento de una población, después de haber sido modificado por diversos usos en actividades domésticas industriales y comunitarias.

## **2.6. TIPOS DE AGUAS RESIDUALES**

Las aguas residuales pueden provenir de diferentes lugares, es así, que dependiendo de su origen pueden ser clasificadas como: aguas residuales domésticas, aguas residuales industriales y aguas residuales municipales (Valencia, 2013).

### **2.6.1. AGUA RESIDUAL DOMÉSTICA**

Según la OEFA (2014) se denominan aguas residuales domésticas a aquellas aguas de origen residencial y comercial que contiene desechos fisiológicos, entre otros, provenientes de la actividad humana, y deben ser dispuestas adecuadamente. Delgadillo *et al.*, (2010) afirman que este tipo de agua contienen principalmente papel, jabón, orina, heces y detergentes.

## **2.7. CARACTERÍSTICAS DE LAS AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS**

Las aguas residuales domésticas se caracterizan por su composición física, química y biológica relacionándose entre varios parámetros que forman esta composición (Kestler, 2004).

### **2.7.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS**

#### **2.7.1.1. COLOR:**

El color determina la calidad del agua residual según el tiempo que estén retenidas (Orellana, 2005). Esta característica se debe al contenido de sustancias en suspensión o disueltas tales como materia orgánica resultante de la degradación de vegetales y diversos compuestos que normalmente se encuentran en ella (Marín, 2010).

#### **2.7.1.2. OLOR:**

Este surge por la presencia de algunas sustancias que se producen por la descomposición anaerobia de la materia orgánica, en las aguas residuales

recientes los niveles de mal olor son bajos, con el tiempo estos desagradables olores aumentan por la liberación de gases como sulfhídrico o compuestos amoniacales (Muñoz, 2008).

### **2.7.2. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS**

Las aguas residuales están compuestas de elementos orgánicos, estos pueden ser de origen vegetal o animal, aunque el desarrollo de la población ha hecho que las aguas residuales contengan cada vez más compuestos orgánicos sintéticos (García *et al.*, 2006). Los compuestos orgánicos presentes en el agua residual comúnmente son: hidratos de carbono, proteínas, y lípidos, y sus derivados, estos pueden ser biodegradables y por consiguiente se pueden eliminar por oxidación (Rojas, 2002). En su investigación Lutenberg (2010) indica que las aguas residuales domésticas están compuestas por gases en diferentes concentraciones entre ellos los que más destacan: Oxígeno disuelto, Ácido sulfhídrico, Anhídrido carbónico, Metano.

### **2.7.3. CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS**

Las aguas residuales domésticas presentan una gran variedad de organismos vivos con elevada capacidad metabólica y una capacidad potencialmente degradadora de materia orgánica e inorgánica. La presencia de componentes orgánicos vuelven a las aguas residuales un medio muy eficiente para el crecimiento de microorganismos que son de gran importancia ya que estos cierran los ciclos biogeoquímicos, del carbono, nitrógeno, fósforo y azufre (Marín, 2010). Entre los microorganismos que se pueden encontrar en las aguas residuales son algas, mohos, bacterias, virus, flagelados, ciliados, rotíferos, nematodos, anélidos, larvas, etc. (García *et al.*, 2006).

## **2.8. LÍMITES PERMISIBLES DE DESCARGAS A UN CUERPO DE AGUA DULCE**

Toda descarga de agua residual a un cuerpo de agua dulce debe cumplir con los siguientes parámetros establecidos (TULSMA, 2013).

Cuadro 2. 1.Limite permisible de descargas a cuerpos de agua dulce

Parámetros	Descripción	Unidad	Lim. Max. Permisible
Demanda bioquímica de oxígeno (5 días)	DBO <sub>5</sub>	mg/dm <sup>3</sup>	100
Oxígeno disuelto		mg/dm <sup>3</sup>	6

Fuente: TULSMA, 2013 (Texto unificado de legislación ambiental secundaria del ministerio de ambiente)

## 2.9. SISTEMAS DE TRATAMIENTOS DE AGUAS RESIDUALES

### 2.9.1. SISTEMAS DE TRATAMIENTO BIOLÓGICOS

Los sistemas de tratamientos biológicos están compuestos por procesos que consisten en la utilización de microorganismos para la eliminación de contaminantes en el agua, estos sistemas aprovechan su actividad metabólica sobre los contaminantes (Rodríguez *et al.*, 2006). El metabolismo bacteriano es un mecanismo muy importante en la remoción de la materia orgánica del agua residual ya que consiste en utilizar la materia organica como fuente de energía y carbono para la produccion de biomasa (Rodríguez, 2010).

### 2.10. REACTOR BIOLÓGICO

López y Borzacconi (2009) definen a los reactores biológicos como un sistema que mantiene un ambiente biológicamente activo, también nos dicen que en algunos casos dentro del mismo, se lleva a cabo un proceso químico que involucra microorganismos o sustancias bioquímicamente activas derivadas de dichos organismos, este proceso puede ser anaerobio o aerobio. Scraag (2002) sostiene que la principal función de un biorreactor, es mantener ciertas condiciones ambientales óptimas tales como (pH, temperatura, concentración de oxígeno, entre otras) las cuales favorezcan al organismo o sustancia química que se cultiva.

### 2.11. REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA

La remoción de materia orgánica es uno de los objetivos más importantes para el tratamiento de las aguas residuales, utilizándose en la mayoría de los casos procesos biológicos. El mecanismo más importante para la remoción de la materia orgánica presente en el agua residual, es el metabolismo bacteriano. El metabolismo consiste en la utilización por parte de las bacterias, de la materia

orgánica como fuente de energía y carbono para generar nueva biomasa. Cuando la materia orgánica es metabolizada, parte de ella es transformada químicamente a productos finales, en un proceso que es acompañado por la liberación de energía llamado "Catabolismo". Otro proceso denominado "Anabolismo o Síntesis" ocurre simultáneamente, donde parte de la materia orgánica se transforma en nuevo material celular (Rodríguez, 2010).

## **2.12. PARÁMETROS A CARACTERIZAR EN EL AGUA RESIDUAL**

### **2.12.1. DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO**

Es una medida de la cantidad de oxígeno consumido en la degradación de la materia orgánica mediante procesos biológicos aerobios, es utilizada para determinar la contaminación de agua. Si el valor es alto, significa que los niveles disueltos serán bajos, porque las bacterias han consumido en gran cantidad el oxígeno Navarro *et al.*, (2005).

**Método:** NTE INEN 1202 (1985)

Para la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno se dispone de métodos de dilución y métodos instrumentales que se derivan de métodos respirométricos que permiten seguir automáticamente la evolución de la DBO<sub>5</sub> a 20°C en el curso de oxidación de las materias orgánicas contenidas en el agua, los reactivos que habitualmente se utilizan son: Agua destilada, agua residual urbana reciente, Solución fosfatos, Monohidrógenofosfato de sodio: 8,493 g, Dihidrógenofosfato de potasio: 2,785 g, Agua destilada hasta enrase a 1 dm<sup>3</sup>

**Procedimiento:** La técnica utilizada de medición es la siguiente: Se introduce un volumen definido de la muestra líquida en un recipiente opaco que evite que la luz pueda introducirse en su interior (se eliminarán de esta forma las posibles reacciones fotosintéticas generadoras de gases), se introduce un agitador magnético en su interior, y se tapa la boca de la botella con un capuchón de goma en el que se introducen algunas lentejas desosa. Se cierra la botella con un sensor piezoeléctrico, y se introduce en una estufa refrigerada a 20°C.

Para la determinación de oxígeno disuelto (OD) se puede emplear cualquiera de los dos métodos establecidos en la norma mexicana NMX-AA-012-SCFI.

### **Expresión de los resultados**

$$DBO = F (T_0 - T_5) - (F - 1) (D_0 - D_5)$$

Dónde:

D<sub>0</sub> = Contenido de oxígeno (mg/l) del agua de dilución al principio del ensayo.

D<sub>5</sub> = Contenido medio de oxígeno (mg/l) del agua de dilución al cabo de 5 días de incubación.

T<sub>0</sub> = Contenido de oxígeno (mg/l) de una de las diluciones de la muestra al principio del ensayo.

T<sub>5</sub> = Contenido de oxígeno (mg/l) de una de las diluciones de la muestra al cabo de 5 días de incubación.

F = Factor de dilución.

### **2.12.2. POTENCIAL DE HIDRÓGENO**

El pH puede definirse como la medida que expresa el grado de acidez o basicidad de una solución en una escala que varía entre 0 y 14. La acidez o basicidad se eleva cuando el pH disminuye y una solución con pH menor a 7 se considera acida. La solución con pH mayor a 7 se considera básica y la solución de pH 7 se considera neutra González (2011).

#### **➤ Método: INEN 973. 1983**

La medición del pH se lo realiza por medio de un método potenciométrico, este método nos permitirá medir el potencial de hidrógeno por medio de una sonda que consta de varios sensores los cuales nos ayudarán a determinar el pH. Los pasos a seguir son los siguientes:

- 1.- Se empieza limpiando el mesón de trabajo.
- 2.- Se enciende el equipo pH-metro y se calibra.
- 3.- Se vierte la muestra de agua en un vaso de precipitación de 500 cm<sup>3</sup> de capacidad.

4.- Se procede a colocar el sensor sobre el agua residual y se presiona el botón de encendido.

5.- Se deja pasar un pequeño lapso de tiempo hasta que el equipo marque una sola lectura del pH-y se procede a retirar el sensor.

### **2.12.3. OXÍGENO DISUELTO**

En su investigación Carrillo (2013) afirma que el oxígeno disuelto es la cantidad de oxígeno que se encuentra disuelta en el agua y es importante para mantener saludables los diversos cuerpos de agua, Rodríguez (2011) acota diciendo que los niveles de OD, representan un indicador del grado de contaminación del agua y cuanto puede soportar la misma. Para la medición hay que tener en cuenta la temperatura, la cual influye en la concentración de oxígeno disuelto, y se utilizara el método electroquímico.

#### **➤ Método**

El método electroquímico para la medición de OD requiere un cátodo, ánodo, solución electrolito y una membrana permeable al gas. El material de la membrana es especialmente seleccionado para permitir el paso del oxígeno a través de esta. El oxígeno es consumido por el cátodo, el cual creará una presión parcial a través de la membrana. El oxígeno entonces difundirá dentro de la solución electrolito Pineda, 2015.

# CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

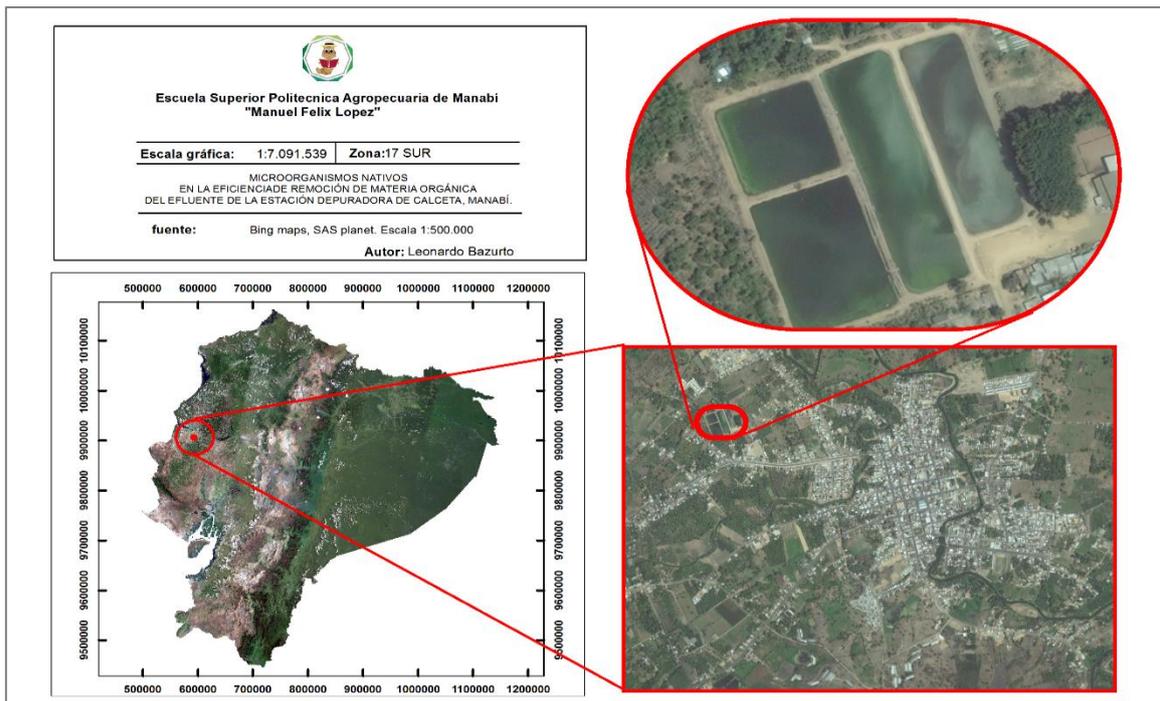
## 3.1. UBICACIÓN

La investigación, evaluación de consorcio de microorganismos nativos (*Bacillus sp* y *Aspergillus oryzae*) en la eficiencia de remoción de materia orgánica se la realizó en la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

Cuadro 3. 1.Referencias geográficas

LUGAR	COORDENADAS GEOGRÁFICAS	
	Latitud Sur	Longitud Oeste
ESPAM MFL	0°49'23"	80°11'01"
Estación depuradora de calceta	0°50'27,9"	80°10'31,0"
Ubicación del experimento	0°49'35,2"	80°11'10,5"

Figura 3. 1. Ubicación de la estación depuradora de aguas residuales.



Fuente: Bing maps, 2016.

## 3.2. DURACIÓN DEL TRABAJO

La presente investigación tuvo una duración de 9 meses a partir de la aprobación del proyecto de tesis.

### 3.3. VARIABLES EN ESTUDIO

#### 3.3.1. VARIABLE INDEPENDIENTE

- Microorganismos nativos

#### 3.3.2. VARIABLE DEPENDIENTE

- Eficiencia de remoción de materia orgánica

### 3.4. CUADRO DE VARIANTES

Cuadro 3. 2. Variables.

VARIABLES	CONCEPTO	INDICADORES	UNIDADES
<b>Variable independiente</b> Microorganismos nativos	Los microorganismos eficientes son procedentes del área de estudio.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Bacillus sp</i></li> <li>• <i>Aspergillus oryzae</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• UFC/cm<sup>3</sup></li> <li>• UPC/cm<sup>3</sup></li> </ul>
<b>Variable independiente</b> Eficiencia de remoción de materia orgánica	La remoción de materia orgánica consiste en la utilización por parte de las bacterias y hongos, la materia orgánica como alimento.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• DBO<sub>5</sub> medida a 20°C</li> <li>• pH</li> <li>• OD</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• mg/dm<sup>3</sup></li> </ul>

### 3.5. MÉTODOS Y TÉCNICAS

#### 3.5.1. MÉTODOS

Cuantitativo, deductivo, experimental.

#### 3.5.2. TÉCNICAS

Mapeo, consulta bibliográfica, muestreo, guía de observación, análisis de laboratorio, comparación de índices.

### 3.6. TIPO DE INVESTIGACIÓN

La investigación fue de carácter hipotético, deductivo - experimental donde se elaboró una hipótesis y se puso a prueba, se examinó a través de datos obtenidos en el proceso de biorremediación de aguas residuales, luego de llevar a cabo el experimento se procedió a analizar los datos, utilizando métodos estadísticos que nos permitió realizar un análisis adecuado de estos.

### 3.7. TRATAMIENTOS

Cuadro 3. 3. Descripción del tratamiento.

Nº Tratamiento	Unidad	Descripción			
		Dosis del consorcio	Concentración de hongos	Concentración de bacterias	Vol. agua residual
1	T1	5 cm <sup>3</sup> / dm <sup>3</sup>	1,1X10 <sup>5</sup> UPC/ cm <sup>3</sup>	1 X10 <sup>9</sup> UFC/ cm <sup>3</sup>	2 dm <sup>3</sup>
2	T2	10 cm <sup>3</sup> / dm <sup>3</sup>	1,1X10 <sup>5</sup> UPC/ cm <sup>3</sup>	1 X10 <sup>9</sup> UFC/ cm <sup>3</sup>	2 dm <sup>3</sup>
3	T3	15 cm <sup>3</sup> / dm <sup>3</sup>	1,1X10 <sup>5</sup> UPC/ cm <sup>3</sup>	1 X10 <sup>9</sup> UFC/ cm <sup>3</sup>	2 dm <sup>3</sup>
4	T4(Testigo)	0	0	0	2 dm <sup>3</sup>

La aplicación de la dosis en las unidades experimentales constó de cuatro tratamientos con tres repeticiones para cada tratamiento desarrolladas en un diseño simple completamente al azar (DCA), teniendo como resultado 12 unidades experimentales. En la evaluación del consorcio microbiano se aplicó tres dosis 5 cm<sup>3</sup>/dm<sup>3</sup>, 10 cm<sup>3</sup>/dm<sup>3</sup> y 15 cm<sup>3</sup>/dm<sup>3</sup> de biopreparado en 2 dm<sup>3</sup> de agua residual doméstica, tomando como referencia lo propuesto por Mónica *et al.*, (2011); la evaluación se realizó por un periodo de 20 días, y el inóculo se conformó de *Bacillus sp.* 1 X10<sup>9</sup> UFC/cm<sup>3</sup>, *Aspergillus oryzae* 1,1X10<sup>5</sup> UPC/cm<sup>3</sup> basándose en lo estipulado por Namsivayam *et al.*, (2001) en su investigación.

### 3.8. ESQUEMA DE ANÁLISIS DE VARIANZA

Cuadro 3. 4. Análisis de varianza

Fuente de variación	Grados de libertad
Tratamiento	3
Error Experimental	8
Total	11

### 3.9. PARÁMETROS A MONITOREAR

Raffo y Ruiz (2014) indican que para la degradación de la materia orgánica en un curso de agua es necesario la presencia de oxígeno. La existencia de material orgánico favorece el crecimiento de microorganismos, donde el oxígeno destinado al sustento de la vida acuática (flora y fauna) es consumido por estos, dando lugar a un cambio en la calidad del agua, y la posible elevación del pH por lo tanto se consideran evaluar solamente los parámetros DBO<sub>5</sub>, OD, pH.

**Cuadro 3. 5.** Parámetros a evaluar

Parámetros	Unidades
DBO <sub>5</sub>	mg/ dm <sup>3</sup>
Oxígeno disuelto	mg/ dm <sup>3</sup>
pH	

### 3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

El análisis estadístico se realizó con el factor de análisis de varianza (ANOVA), este se centra en estudiar las varianzas, este método matemático cumple su función de probar la hipótesis, las medias aritméticas se las realizaron mediante la utilización del Software IBM SPSS Statistics versión 23.

### 3.11. PROCEDIMIENTO

El procedimiento de la investigación se desarrolló en base en los objetivos específicos:

#### 3.11.1. FASE: I DETERMINAR MICROORGANISMOS NATIVOS

**Actividad 1.** Aislamiento de hongos y bacterias.

En el aislamiento de hongos y bacterias se siguieron los procedimientos dados por la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1529-5:2006 para las bacterias y la INEN 1529-10:2013 en el caso de los hongos.

**Preparación de medios:** para preparar los medios de cultivos se procedió a pesar 13,8 g de Agar Nutriente y 39 g de Agar Sabouraud para diluir cada uno

en 600 cm<sup>3</sup> de agua destilada con un pH de 5,6 y 6,8 respectivamente, también se pesó 10 g de agua pectona la cual se diluyó en 1 dm<sup>3</sup> de agua destilada con un pH de 7,2. Una vez preparados, los medios se llevaron a ebullición con 500 RPM a una temperatura de 250°C y luego se introdujeron en la autoclave por 15 minutos con la finalidad de esterilizar los medios, según la normativa 1529:2001 en la cual se estipulan los procedimientos para la preparación de medios.

**Aislamiento de hongos:** para el aislamiento del hongo se procedió a la recolección de muestras de agua en la laguna de oxidación utilizando la técnica propuesta en la NTE INEN 2176:2013 y para el cultivo se utilizó la norma INEN 1529-10:2013 control microbiológico de los alimentos, mohos y levaduras viables- recuento en placa por siembra en profundidad. Las muestras de agua fueron sembradas en placas con el agar previamente agregado a éstas, luego se dejó a temperatura ambiente para la incubación de los hongos por 72 horas.

**Aislamiento de bacterias:** para el aislamiento de la bacteria se procedió a la recolección de muestras de agua de la laguna de oxidación utilizando técnicas establecidas por la normativa INEN 2169:2013; el cultivo se lo realizó siguiendo las especificaciones dadas por la norma 2661:2013, consistió en inocular cajas petri previamente preparadas con agar nutritivo mediante estrías simples, una vez realizado el proceso de siembra las cajas inoculadas fueron enviadas al proceso de incubación durante 48 horas.

**Actividad 2.** Identificación de hongos y bacterias.

**Identificación de bacterias:** para la identificación de bacterias se utilizó el método identificación fenotípica que consiste en observar las características notorias de las bacterias, como su morfología y desarrollo etc. Por su parte Nacato *et al.*, (2016) indica que los procedimientos esenciales a usar en esta etapa, son la tinción en azul de metileno, caracterización macroscópica y microscópica, explicada a continuación:

En la tinción azul de metileno se procedió a extender la muestra de las colonias sobre el portaobjeto con una gota de agua destilada y con la ayuda de un mechero se fijó la muestra calentando el portaobjeto, luego de esto se colocaron

los reactivos sobre la muestra. Primero se colocó una gota de azul violeta sobre la muestra fijada y se mantuvo durante un minuto para posteriormente ser lavada cuidadosamente con agua destilada, el segundo reactivo fue la disolución de lugol, seguido del alcohol acetona y la safranina realizando el mismo proceso del primer reactivo, y como último paso se observó la morfología macroscópica y microscópica de la muestra en el microscópico. Olmos *et al.*, (2010) indica que en la tinción con azul de metileno para la diferenciación bacteriana, se debe tomar en cuenta la bacteria GRAM positiva, bacteria GRAM negativas. Según las indicaciones Cuervo, 2010 las bacterias del genero *Bacillus* deben ser bacterias GRAM positivas. En su investigación Realpe *et al.*, (2002) establece que para la identificación macroscópica del *Bacillus* se debe tomar en cuenta características de las colonias, las cuales deben ser de 2 a 4 mm de diámetro beta hemolíticas con hemólisis completa, de aspecto liso, mucoso o rugoso, con los bordes ondulados o extendidos en el medio que comúnmente dan la apariencia de cultivos mixtos; mientras que en la identificación microscópica de deben tomar en cuenta las siguientes características: las bacterias deben ser GRAM positiva de aproximadamente 0,8  $\mu\text{m}$  de diámetro por 2 a 3  $\mu\text{m}$  de largo con bordes redondeados, que presentan esporas esféricas y centrales que no deforman el bacilo.

**Identificación de hongos, cultivos monospóricos:** el procedimiento que se utilizó para obtener cultivos desarrollados de una espora simple, fue el descrito por Garzón (2013); para esto se tomaron dos tubos con 5  $\text{cm}^3$  de agua destilada estéril con Tween 80 al 0,5%; luego con la ayuda de una aguja de desinfección se seleccionó una pequeña proporción del crecimiento y se lo agrego a uno de los tubos de ensayo, se tomó con una asa en argolla una alícuota que se mezcla en el tubo una porción de esta esta suspensión; luego se tomarón 10  $\mu\text{l}$  del segundo tubo y se sembró por agotamiento con un asa de argolla sobre una caja petri con agar sabouraud.

La identificación de dichas colonias se la realizó mediante la metodología de caracterización macroscópicas descritas por Garzón (2013); el cual indica que las cepas deben presentar coloración blanca, tornándose a un amarillo-marrón, con un diámetro de 2,5 cm y micelio de color blanco de textura algodonada.

Mientras que la caracterización microscópica se la realizó mediante la metodología de (Arias y Piñeros, 2008) donde los conidióforos deben ser de pared rugosa, vesículas subglobosas de 40-80  $\mu\text{m}$  de diámetro, filiales de 10-15 x 3-5.0  $\mu\text{m}$ ., conidios globosos a subglobosas de 3.5-4.0  $\mu\text{m}$ .

### **Actividad 3.** Cultivo de bacterias.

La preparación del medio de cultivo para *Bacillus sp.* Previamente identificados y aislados se la realizó siguiendo la metodología descrita por la norma INEN 2661:2013 Microbiología, determinación de Bacillus, recuento de colonias – métodos en superficie.

### **Actividad 4.** Cultivo de hongos.

Se preparó un medio de cultivo para *Aspergillus oryzae*, el método utilizado fue el descrito por la norma NTE INEN 1529-10:13 Control microbiológico de los alimentos, mohos y levaduras viables recuento en placas por siembra en profundidad. Este se basa en el cultivo entre 22°C y 25°C de las unidades propagadoras de mohos y levaduras, utilizando la técnica de recuento en placa por siembra en profundidad y un medio que contenga extracto de levadura, glucosa y sales minerales.

### **Actividad 5.** Preparación del consorcio microbiano.

Para la preparación del consorcio se elaboró un medio líquido optimizado en base a la metodología descrita por Guzmán (2010) citado por Vera y Conforme (2015). Para esto se mezcló 2,9  $\text{cm}^3$  de melaza y 16,32  $\text{cm}^3$  levaduras autolizada en un matraz que contenía 1  $\text{dm}^3$  de agua destilada, el pH se lo ajustó de acuerdo al microorganismo a cultivar en el medio; 7 para bacterias y 6,5 para hongos.

Luego se procedió a la inoculación del medio, ésta consistió en inundar la placa compuesta por los microorganismos con 5  $\text{cm}^3$  de medio líquido optimizado para luego ser enviado a incubación.

### 3.11.2. FASE II PONDERAR LA EFICIENCIA DE REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA EN AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS

#### **Actividad 6.** Georreferenciación de la zona de muestreo.

El agua residual usada en el tratamiento fue procedente de la estación depuradora de calceta ubicada en el sitio el Morro, las muestras fueron tomadas del efluente, la cual se georreferenció mediante un GPS marca Garmin Etrex 10.

#### **Actividad 7.** Recolección de muestras.

En el proceso de recolección de muestras se utilizó el procedimiento establecido por la norma ecuatoriana INEN 2226:2013, este fue de tipo puntual, las muestras fueron obtenidas del efluente, una vez recolectadas fueron trasladadas al laboratorio de química ambiental para su caracterización y utilización en las unidades experimentales, el traslado se lo realizó siguiendo las indicaciones establecidos por la norma INEN 2169:2013 para el manejo y conservación de muestras.

#### **Actividad 8.** Caracterización de muestra a tratar.

La caracterización de las muestras del agua residual doméstica se la realizó antes de aplicar el consorcio microbiano, esta consistió en la evaluación de parámetros químicos iniciales: DBO<sub>5</sub> medida a 20°C, Oxígeno disuelto, pH, siguiendo las técnicas y precauciones generales de la normativa NTE INEN 2169:2013.

#### **Actividad 9.** Preparar unidades experimentales.

En esta etapa se utilizó un diseño experimental simple completamente al azar (DCA), como unidades experimentales se usaron recipientes de vidrio con una capacidad de 3 dm<sup>3</sup>, las cuales se les agrego 2 dm<sup>3</sup> de agua residual doméstica donde se realizarán tres repeticiones para cada tratamiento, obteniendo como resultado de las combinaciones doce unidades experimentales.

### Actividad 10. Aplicación el consorcio microbiano.

Una vez que se preparó en consorcio microbiano (*Bacillus sp*, *Aspergillus oryzae*) se aplicaron las tres dosis que consistieron en 5 cm<sup>3</sup>/dm<sup>3</sup>, 10 cm<sup>3</sup>/dm<sup>3</sup> y 15 cm<sup>3</sup>/dm<sup>3</sup> del biopreparado tomando como referencia la metodología descrita por Monica *et al.*, (2011), quien recomienda que para la utilización de microorganismos en aguas residuales se debe usar entre 1 a 10 cm<sup>3</sup> de consorcio microbiano por cada dm<sup>3</sup> de agua residual.

### Actividad 11. Caracterización de agua residual tratada.

La caracterización del agua residual en tratamiento se la realizó en tres etapas del tratamiento (inicio, medio y final) del tratamiento, donde se tomaron muestras para evaluar parámetros como DBO<sub>5</sub> a 20°C, pH, Oxígeno disuelto, los métodos que se utilizaron para esta actividad se muestran a continuación:

Cuadro 3. 6. Metodologías a usar para la caracterización.

PARÁMETRO	SÍMBOLO	UNIDAD	MÉTODO
Demanda bioquímica de oxígeno	DBO <sub>5</sub>	mg/dm <sup>3</sup>	APHA/AWWA/STANDART METHOD N° 5210-B
Potencial de hidrogeno	pH		APHA/AWWA/STANDART METHOD N° 4500- H*B
Oxígeno disuelto	OD	mg/dm <sup>3</sup>	Potenciómetro, 4500- O G (Syard Methods, 1999)

Fuente: Cárdenas, 2012.

### Actividad 13. Evaluación estadística de los resultados.

Una vez obtenido los datos de la caracterización del agua residual se evaluaron estadísticamente los resultados utilizando el análisis de varianza de un factor (ANOVA), prueba de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) este método es muy flexible ya que permite construir modelos estadísticos para el análisis de los datos experimentales cuyo valor ha sido constatado en muy diversas circunstancias.

### Actividad 12. Evaluación de la eficiencia.

Se entiende por remoción como la capacidad de algún sistema en eliminar una fracción de la concentración de los contaminantes presentes en el agua residual (Romero *et al.*, 2009). En la presente investigación para calcular el porcentaje de remoción se hizo uso de la siguiente ecuación.

$$\% \text{ Remoción} = \frac{C_i - C_f}{C_i} \times 100 \text{ [3.1]}$$

**Dónde:**

- % Remoción
- $C_i$  = Concentración inicial
- $C_f$  = Concentración final

## CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. DETERMINAR MICROORGANISMOS NATIVOS EFICIENTES.

#### 4.1.1. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS Y BACTERIAS

##### 4.1.1.1. AISLAMIENTOS DE LAS CEPAS

Las muestras de agua residual extraídas de la estación depuradora de la ciudad de Calceta fueron analizadas mediante dos procesos:

a) Para el cultivo de hongos se utilizó el procedimiento NTE INEN 1529-10:2013 que da las especificaciones para el control microbiológico de los alimentos, mohos, levaduras por recuento en placa y siembra en profundidad.

b) Para las bacterias se utilizó el procedimiento NTE INEN 2661:2013, que da las especificaciones para la determinación de Bacillus, recuento de colonias – métodos en superficie–. Con la aplicación de estas metodologías se pudo determinar la existencia de ocho cepas (cultivos mixtos) de diferentes géneros, a través de su descripción en el medio de cultivo. Seguidamente se aislaron cada una de las cepas en cultivos individuales con el propósito de conocer sus características macroscópicas y microscópicas (Cuadro 4.1).

Cuadro 4. 1. Microorganismos presentes en el agua residual de la estación depuradora de Calceta.

Microorganismos	Características		Descripción
	Macroscópicas	Microscópicas	
<b><i>Staphylococcus</i></b>	Presenta colonias un diámetro de 1 a 3 mm, morfológicamente lisas, levemente elevadas, de bordes enteros, levemente convexas y generalmente de color crema o amarillo.	Son cocos Gram (+) que poseen tendencia a agruparse en racimos. Tienen una forma esférica y un diámetro de alrededor de una micra.	Considerados como patógeno humano, puede ser perjudicial en la comunidad como a nivel hospitalario. Las infecciones por <i>Staphylococcus</i> son a menudo agudas, piogénicas y superficiales, aunque también puede provocar infecciones más agresivas como osteomielitis, neumonía y endocarditis aguda (Seija, 2006).
<b><i>Streptococos</i></b>	Las colonias son de 0,5 a 2 mm de diámetro, rodeadas por una zona alfa-hemolítica, debido a la autólisis, a menudo se parecen a un cráter.	Son cocos Gram (+) que se agrupan en cadenas. Con longitud de dos a 30 células esto varía de acuerdo a la especie.	Componen la flora humana, principalmente en el tracto respiratorio superior y el intestinal. De las especies existentes existen, algunas son patógenas para el ser humano (Rodríguez, 2006).

		Son catalasa-negativos y no forman esporas.	
<b>Bacillus sp.</b>	Colonias, de 2 a 4 mm de diámetro, beta hemolíticas con hemólisis completa, que pueden ser de aspecto liso, mucoso o rugoso; los bordes pueden ser ondulados o extendidos.	Bacilos Gram positivos de 0,8 $\mu\text{m}$ de diámetro por 2 a 3 $\mu\text{m}$ de largo con bordes redondeados. Presentan esporas esféricas y centrales que no deforman el bacilo.	Producen antibióticos como la bacitracina, polimixina, gramicidina y fermentan la caseína y el almidón, se tornan metabólicamente activos en su medio cuando tienen disponibles sustratos para su crecimiento (Cuervo, 2010).
<b>Escherichia Coli</b>	Con colonias de 2 a 4 mm de diámetro, un centro grande de color oscuro e incluso negro, y tienen brillo verde metálico cuando se observan con luz refleja.	Bacilos gran positivos no esporulados y con flagelos peritricos, los cultivos son anaerobios facultativos Móviles. Con longitud de 0.5 $\mu$ de ancho por 3 $\mu$ de largo, son catalasa positivos y oxidasa negativos.	Bacteria ubicada de manera habitual en el intestino del ser humano y de otros animales de sangre caliente. Aunque la mayoría de las cepas son inofensivas, algunas pueden causar una grave enfermedad de transmisión alimentaria (Koneman, 2001).
<b>Salmonella sp.</b>	En agar entérico se presentan colonias verdes claras, y con precipitado negro por la producción de sulfuro de hidrógeno y en agar sangre se presentan colonias grandes, grisáceas y lisas (Tama, 2016).	Bacilos gram (-), anaerobios facultativos, con flagelos peritricos, no desarrollan cápsula ni esporas (Rincón <i>et al.</i> , 2011)	Este género tiene gran impacto en salud pública, según datos epidemiológicos indican que es la causante de la gastroenteritis y la fiebre tifoidea que pueden afectar a la población mundial en países desarrollados y subdesarrollados (Melara y Salazar, 2012).
<b>Aspergillus oryzae.</b>	Poseen distintos tonos de verde, pardo, amarillo, blanco, gris y negro (Abarca, 2016).	Las cabezas conidiales Presentan cuatro formas básicas: globosa, radiada, columnar o claviforme.	Hongos de fermentación el cual actúa descomponiendo rápidamente la materia orgánica para producir alcohol, esteroides y sustancias antimicrobianas (Cortes, <i>et al.</i> , 2014).
<b>Clostridium sp.</b>	Se caracteriza por producir colonias grades, elevadas, con bordes enteros, aunque otros producen colonias un poco más pequeñas cuyos bordes se extienden en forma de red de filamentos finos (Novoa, 2011).	Bacilo gram (+) de 1 $\mu\text{m}$ de ancho por 4 $\mu\text{m}$ de largo, en promedio, de bordes rectos y extremos romos.	Se encuentra distribuido en la naturaleza, comúnmente en el suelo y en el tracto intestinal de los animales, incluido el hombre; tiende a causar infecciones de origen exógeno y endógeno (Pérez <i>et al.</i> , 2013).
<b>Penicillium sp.</b>	Las colonias de Penicillium son de crecimiento rápido, filamentosas y vellosas, lanosas o de textura algodonosa. Son inicialmente blancas y luego se convierten en verde azuladas, gris verdosas, gris oliva, amarillentas (García, 2016).	Hifas septadas hialinas (1.5-5 $\mu$ de diámetro), con conidióforos simples o ramificadas, métulas, Fiálides y conidias. Las métulas son ramificaciones secundarias que se forman sobre los conidióforos.	Son hongos filamentosos. Las especies de Penicillium están ampliamente distribuidas en la naturaleza y se hallan en el suelo, la vegetación caída, el aire y el suelo (Allende <i>et al.</i> , 2013)

Con la identificación de los microorganismos del agua residual, se pudo recuperar 2 cepas (*Aspergillus oryzae* y *Bacillus sp*), las cuales fueron necesarias para el desarrollo de la investigación. El hongo del género *aspergillus*, es uno de los principales productores de micotoxinas los cuales son metabolitos secundarios producidos y secretados por el hongo durante el proceso de degradación de la materia orgánica, como mecanismo de defensa frente a microorganismos patógenos (Serrano y Cardona, 2015). La bacteria del género *Bacillus* es un tipo de bacteria que tiene la capacidad de degradar una enorme variedad de derivados de los tejidos animales y vegetales (celulosa, almidón, pectina, proteínas) y además intervienen en los procesos de nitrificación, desnitrificación, fijación de nitrógeno, jugando un rol significativo en los ciclos del carbono y nitrógeno (González, 2012).

Las cepas aisladas excedentes (*Staphylococcus, salmonella, Escherichia Coli, estreptococos, Clostridium, fusarium, Penicillum*) -ver en cuadro 4.1- fueron descartadas debido a que no presentaban las características adecuadas para su uso en la investigación. Posteriormente, se realizó una segunda purificación de las cepas seleccionadas, las cuales presentaron un crecimiento poblacional acelerado en comparación a la primera purificación. Ramos *et al.*, (2012) indica que esto, es debido a que las cepas se encuentran en cultivos controlados individuales y no tienen competencia de nutrientes.

Para optimizar el proceso de caracterización se realizó una tercera purificación obteniendo de esta manera una cepa pura, que dio como resultado un favorable crecimiento de ambas cepas. A continuación, se muestran los resultados obtenidos de la caracterización:

#### **4.1.1.2. CARACTERIZACIÓN DEL HONGO**

La cepa pura del hongo, presentó características morfológicas macroscópicas tales como: coloración blanca, tornándose a un amarillo-marrón, con un diámetro de 2,5 cm y micelio de color blanco de textura algodonada. Dicha morfología coincidió con las descritas por Garzón (2013) para la especie *A. Oryzae*.

Mientras que las características microscópicas que presento la cepa fue: conidióforos vesiculares, conidias abundantes y relativamente grandes. Conidióforo de pared rugosa, vesículas globosas con masa de esporas en forma de columna, las cabezas Filiades nacían directamente de la superficie de la vesícula y las conidias elípticas de 4-8  $\mu\text{m}$  de diámetro de superficie. Ver anexo 6. Coincidiendo con las características descritas por Arias y Piñeros, 2008 para las especie *Aspergillus oryzae*. (Cuadro 4.2)

**Cuadro 4. 2.** Características morfológicas macroscópicas y microscópicas del hongo.

	<p><b>Características macroscópicas de las cepas en estudio</b></p> <p><b>Coloración:</b> blanca, tornándose a amarillo marrón</p> <p><b>Diámetros de las colonias:</b> 2,5 cm en 4 días de incubación</p> <p><b>Micelio:</b> color blanco</p> <p><b>Textura:</b> algodonada</p>
<i>Aspergillus oryzae</i>	<p><b>Características microscópicas de las cepas en estudio</b></p> <p><b>Hifas:</b> hialinas</p> <p><b>Conidióforos:</b> erectos casualmente septados, vesiculares, hialinos, cabezas conidiales globosas a radiadas.</p> <p><b>Vesículas:</b> globosas de 67,8 <math>\mu\text{m}</math> aproximadamente.</p> <p><b>Filiades:</b> cilíndricas en forma de botella de 8.6 <math>\mu\text{m}</math> x 2.7 <math>\mu\text{m}</math>.</p> <p><b>Conidios:</b> Globosos a subglobosas 3.5 a 4.0 7 <math>\mu\text{m}</math></p>

#### 4.1.1.3. CARACTERIZACIÓN DE LA BACTERIA

La identificación de la colonia pura cultivada en agar nutriente en la caracterización microscópica presentó las siguientes características:

Colonias de color blanco de 2 a 4 mm de diámetro de aspecto liso y bordes ondulados, mientras que las características microscópicas de las cepas caracterizadas indicaron que son bacilos Gram positivos de 0,8  $\mu\text{m}$  de diámetro por 2 a 3  $\mu\text{m}$  de largo con borde redondeados, las cuales presentaron endosporas centrales de forma elíptica que no deformaban el bacilo, ver anexo

7., dichas características encontradas son similares a las descritas por Realpe *et al.*, (2002). (Cuadro 4.3)

**Cuadro 4. 3.** Características morfológicas macroscópicas y microscópicas de la bacteria

<b>Bacillus sp.</b>	<b>Características macroscópicas de las cepas en estudio</b>
	Coloración: blanca
	Diámetro: 2 a 4 mm
	<b>Morfología de la colonia:</b> aspecto liso, bordes ondulados
	<b>Características microscópicas de las cepas en estudio</b>
	Bacillos Gram positivos con presencia de endoesporas de forma elipsoide
	Tamaño: 0,8 $\mu\text{m}$ diámetro, 2 a 3 $\mu\text{m}$ largo.

## 4.2. PONDERAR LA EFICIENCIA DE REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA EN AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS

### 4.2.1. GEORREFERENCIACIÓN DE LOS PUNTOS DE MUESTREO

En esta etapa se georreferenció la zona de muestreo, donde se consideró el efluente como la zona idónea, debido a que dicha caracterización brindó información necesaria en la investigación (cuadro 4.4).

**Cuadro 4. 4.** Coordenadas obtenidas del sitio de muestreo

Lugar	Coordenadas	
	Este	Norte
Efluente de la estación depuradora de calceta	591686.80 m E	9907069.03 m S

### 4.2.2. VALORACIÓN INICIAL DE LA CALIDAD DEL AGUA DEL EFLUENTE DE LA ESTACIÓN DEPURADORA DE CALCETA

Los valores obtenidos de caracterización inicial del agua residual son presentados en el cuadro 4.5. También se muestran los diferentes criterios de límites máximos permisibles para descargas a cuerpos de agua dulce establecidos por la normativa ecuatoriana TULSMA (2013). Ver anexo 12.

**Cuadro 4. 5.** Características fisicoquímicas del agua residual

Parámetro	Unidad	Valor obtenido	Límites máximos permisible
DBO <sub>5</sub>	mg/dm <sup>3</sup>	480	100
Oxígeno disuelto	mg/dm <sup>3</sup>	4,3	-----
pH		7,9	6-9

Comparando los datos obtenidos de la caracterización inicial de las muestras del agua residual tomadas del efluente de la laguna de oxidación con los límites máximos permisibles establecidos en el anexo I del libro VI del TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACIÓN SECUNDARIA DEL MINISTERIO DEL AMBIENTE, el cual establece los límites permisibles de los parámetros, fisicoquímicos y biológicos etc. para descargas a cuerpos de agua dulce, Ver anexo 12. Se determinó que los niveles de DBO son muy altos, debido a que la normativa establece que sus niveles no deben superar los 100 mg/dm<sup>3</sup>, por lo que es evidente la presencia de contaminación.

#### **4.2.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO CON DIFERENTES DOSIS DE CONSORCIO MICROBIANO EN AGUA RESIDUAL DOMESTICA.**

A continuación se muestran los resultados de la evolución de la demanda bioquímica de oxígeno, potencial de hidrógeno y Oxígeno disuelto durante el período del experimento. También se presentan los datos del análisis de varianza por medio del software IBM SPSS Statistics (versión 23), donde se realizaron dos tipos de análisis estadísticos:

- Análisis de la Varianza de un factor (ANOVA) y Prueba de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Se realizó análisis estadístico en Microsoft Excel 2010:

- Gráficos Estadísticos

El cuadro 4.6. Muestra los resultados de los análisis realizados al agua residual doméstica y los tratamientos con cada una de las dosis de consorcio microbiano y sus réplicas.

Cuadro 4. 6.Resultado de análisis al agua residual doméstica.

RESULTADOS DE LA MUESTRA DE AGUA RESIDUAL				
DOSIS	TRATAMIENTOS	PARÁMETROS		
		DBO mg/dm <sup>3</sup>	pH	OD mg/dm <sup>3</sup>
5 cm <sup>3</sup> /dm <sup>3</sup>	T1R1	40	7,42	7,7
	T1R2	30	7,41	7,6
	T1R3	40	7,42	7,7
10 cm <sup>3</sup> /dm <sup>3</sup>	T2R1	60	7,5	6,6
	T2R2	50	7,53	6,6
	T2R3	60	7,53	6,7
15 cm <sup>3</sup> /dm <sup>3</sup>	T3R1	60	7,69	6,8
	T3R2	70	7,68	6,8
	T3R3	70	7,68	6,9
0	T4R1	320	7,86	5,4
	T4R2	320	7,84	5,5
	T4R3	310	7,84	5,5

#### 4.2.3.1. DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGENO

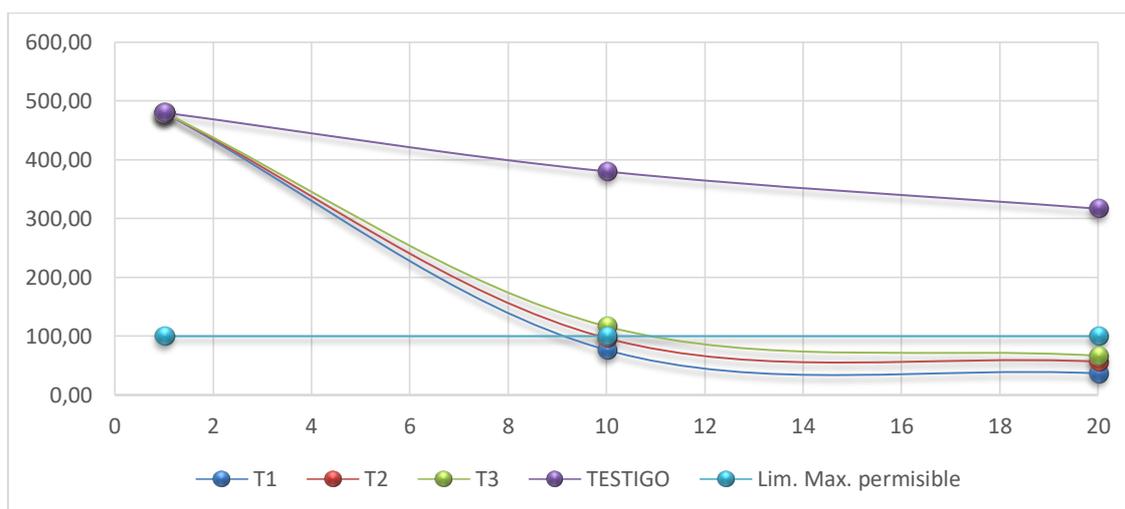


Gráfico 4. 1. Variación de la DBO en los tratamientos.

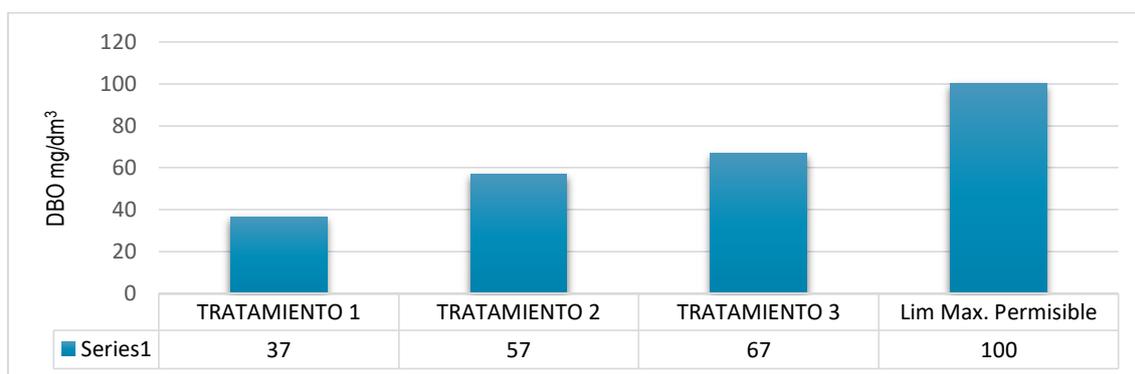
El gráfico 4.1 muestra los resultados de la remoción de la DBO del efluente de la estación depuradora de calceta, obtenida por la aplicación de los diferentes tratamientos. El valor de la demanda bioquímica de oxígeno al inicio del tratamiento fue de 480 mg/dm<sup>3</sup> en cada uno de las unidades experimentales; Bermúdez (2016) señala que este valor está relacionado al mal funcionamiento de la planta debido al bajo nivel de eficiencia y a problemas de operación y control.

A los diez días de haber aplicado el consorcio de microorganismos, se realizó una segunda caracterización al agua residual de las unidades experimentales. El valor de la DBO en el T1 fue de 77 mg/dm<sup>3</sup>, en el T2 de 97 mg/dm<sup>3</sup>, en el T3 117 mg/dm<sup>3</sup> y en el T4 la muestra control o TESTIGO fue de 380 mg/dm<sup>3</sup> por lo que se pudo observar que con la adición del consorcio microbiano, la DBO sufrió una gran variación. Esto concuerda con lo mencionado por García y Cardona (2008) donde la variación de la DBO está relacionada directamente con la adición de los microorganismos nativos.

A los 20 días de haber aplicado el consorcio de microorganismos se realizó la tercera y última caracterización. La remoción de DBO en el ensayo fue menor, ya que de acuerdo a lo que indican Mendoza y Ramírez (2016), el crecimiento de los microorganismos desciende ocasionado por la disminución de la materia orgánica, una consecuencia natural de la remoción de DBO en reactores biotecnológicos discontinuos.

En el mismo periodo el T1 mostró una DBO de 37 mg/dm<sup>3</sup>, el T2 - 57 mg/dm<sup>3</sup>, el T3 - 67 mg/dm<sup>3</sup> y en el T4 (muestra control o TESTIGO) fue de 317 mg/dm<sup>3</sup> Ver anexo 11.1. Con esto se puede evidenciar la eficiencia de remoción de materia orgánica con la aplicación del consorcio microbiano, ya que los valores obtenidos se encuentran dentro del límite permisible establecido por el TULSMA, 2013.

#### 4.2.3.1.1. EFICIENCIA DE REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA (DBO).



**Gráfico 4. 2.** Promedio de remoción de materia orgánica (mg/dm<sup>3</sup>).

En el gráfico 4.2 se puede apreciar que el tratamiento con mayor eficiencia es el T1, el cual presentó una remoción de DBO alta, de 37 mg/dm<sup>3</sup>; esto, equivale al

92,29% de eficiencia, resultados que coinciden con los fundamentados por Namsivayam *et al.*, (2001) en su investigación, donde se obtuvo un porcentaje de remoción similar para una dosis de  $5 \text{ cm}^3/\text{dm}^3$  de consorcio microbiano, cabe recalcar que dicho valor se encuentra bajo los límites permisibles establecidos por el TULSMA, 2013.

#### 4.2.3.1.2. ANÁLISIS DE VARIANZA Y PRUEBA DE TUKEY (DBO)

En el cuadro 4.7 se puede observar los datos del análisis estadístico (ANOVA, de un factor). Para el parámetro demanda bioquímica de oxígeno, con significancia de 5% e intervalo de confianza de 95% y un valor [F: 1574,250; P < F (0.000 \*\*)] un coeficiente de variación de 4,84%, se llega a la conclusión de que los datos son confiables y existe diferencias entre cada uno de los tratamientos.

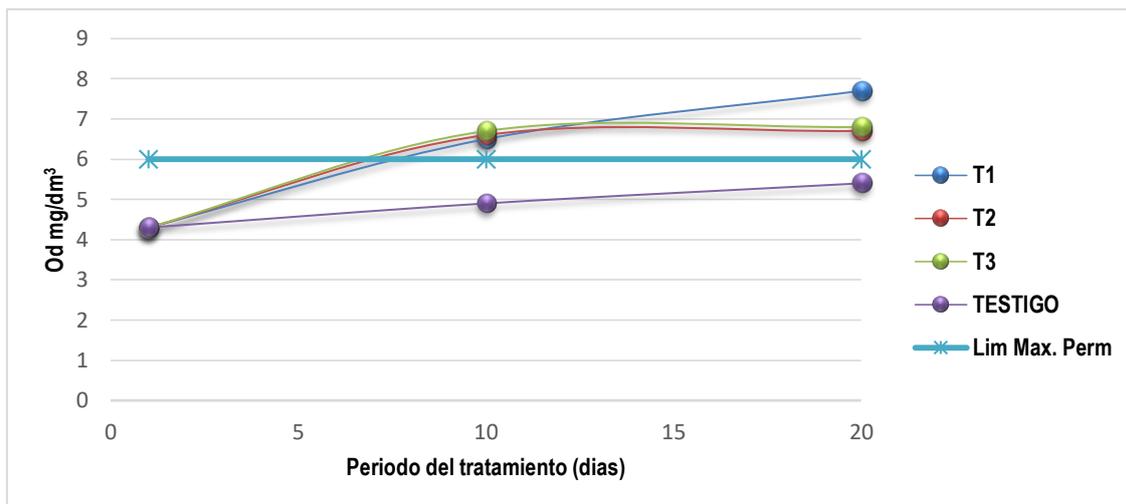
**Cuadro 4. 7.** Análisis de varianza (ANOVA, DBO)

Análisis de varianza					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	157425,000	3	52475,000	1574,250	,000
Dentro de grupos	266,667	8	33,333		
Total	157691,667	11			

Los resultados de la prueba post hoc (HSD Tukey) para DBO, no mostró diferencias en nivel de remoción de DBO entre T2 y el T3 el cual obtuvo un promedio más alto (66,6667), seguido del T2 que obtuvo (56,6667) dando al lugar que el tratamiento con la media de menor valor fue el T3 (36,6667), sin embargo las comparaciones posteriores solo hubo diferencia entre T1, el T2 y el T3, ver anexo 13.

#### 4.2.3.2. VARIACIÓN DEL OXÍGENO DISUELTO

En el gráfico 4.3. Se puede observar la variación del oxígeno disuelto, evaluado al inicio en medio y final en los respectivos tratamientos.



**Gráfico 4. 3.** Variación del oxígeno disuelto en los tratamientos.

En el gráfico 4.3 se muestran los valores de cada uno de los tratamientos en relación a la concentración de oxígeno disuelto. Este fue en aumento al aplicar el consorcio microbiano, a los 10 días de haber empezado el tratamiento y teniendo como referencia la concentración de oxígeno disuelto inicial de 4,3 mg/dm<sup>3</sup>. T1 mostró un OD de 6,5 mg/dm<sup>3</sup>; el T2 - 6,6 mg/dm<sup>3</sup>; el T3 - 6,7 mg/dm<sup>3</sup>; y en el T4 la muestra control o TESTIGO fue de 4,9 mg/dm<sup>3</sup>, lo que evidencia un notorio cambio de la concentración del oxígeno disuelto en el agua residual, Mendieta y Garance (2014) alegan que esto sucede debido a la adición de los microorganismos, y la temperatura que es un factor importante para la solubilidad del oxígeno en agua, asimismo el oxígeno disuelto tiende a aumentar en aguas más frías y viceversa.

A los 20 días después de haber aplicado el tratamiento la concentración de oxígeno disuelto siguió en aumento el T1 mostró un OD de 7,7 mg/dm<sup>3</sup>; el T2 - 6,7 mg/dm<sup>3</sup>; el T3 - 6,8 mg/dm<sup>3</sup>; y el T4 la muestra control o TESTIGO fue de 5,4. Siendo el T1 el más eficiente. Ver anexo 16. Por su parte Mendoza y Ramírez (2016) indican en su investigación que el aumento del oxígeno disuelto se debe a que las bacterias descomponen la materia orgánica de forma acelerada en presencia de oxígeno. Una vez que la materia orgánica se consume, la demanda bioquímica de oxígeno disminuye y el oxígeno disuelto aumenta.

#### 4.2.3.2.1. ANÁLISIS DE VARIANZA Y PRUEBA DE TUKEY (OD)

En el cuadro 4.8 se puede observar los datos del análisis estadístico (ANOVA, de un factor). Para el parámetro Oxígeno disuelto, con significancia del 5% e intervalo de confianza de 95% y un valor  $P < F$  (0.000) y un coeficiente de variación de 2,60 %. Se llega a la conclusión, de que los datos son confiables y existe diferencias entre cada uno de los tratamientos.

Cuadro 4. 8. Análisis de varianza (ANOVA, OD)

Análisis de varianza					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	7,403	3	2,468	740,333	,000
Dentro de grupos	,027	8	,003		
Total	7,430	11			

Fuente: IBM SPSS Statistics versión 23.

EL resultado de la prueba post hoc (HSD Tukey) para el Oxígeno disuelto, mostró diferencias en nivel de oxígeno disuelto entre cada uno de los tratamientos; el T1 obtuvo un promedio más alto (7,6667), seguido del T3 que obtuvo (6,8333) dando lugar que el tratamiento con la media de menor valor fue el T2 (6,6333). Ver anexo 14.

#### 4.2.3.3. VARIACIÓN DEL POTENCIAL DE HIDRÓGENO

En el gráfico 4.4 se puede observar la variación del pH, evaluado al inicio en medio y final en los respectivos tratamientos.

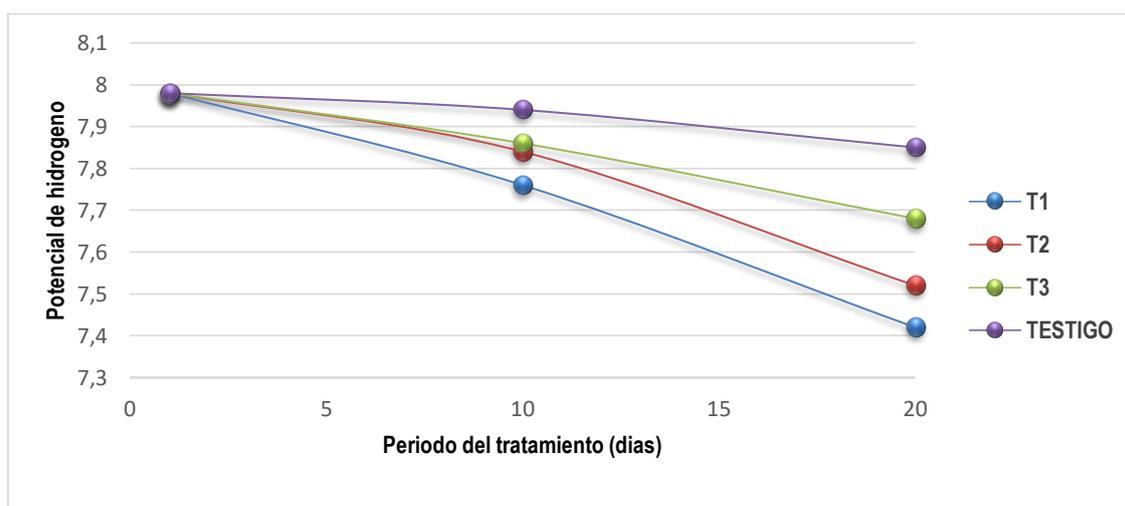


Gráfico 4. 4. Variación del pH en los tratamientos.

De acuerdo al gráfico 4.4 el resultado del pH en las unidades experimentales al inicio del tratamiento fue de 7,98; éste disminuyó ligeramente a los diez días de haber aplicado el consorcio en cada uno de los tratamientos, dando los siguientes valores: el T1 - 7,76; el T2 de 7,84; T3 - 7,86; y el tratamiento 4 la muestra control o TESTIGO fue de 7,94.

A los 20 días, se realizó la tercera y última caracterización al final del experimento, los valores de pH en cada una de las unidades experimentales disminuyó ligeramente en comparación al segundo muestreo, el T1 mostró un pH de 7,42; el T2 - 7,52; el T3 - 7,68 y en el T4 la muestra control o TESTIGO fue de 7,85 Ver anexo 16. Esto lo corroboran Canales y Sevilla (2016) en su investigación, donde, alegan que los cambios del pH presenta tres etapas: en la etapa mesófila inicial, el pH descendió debido al efecto de los microorganismos sobre la materia orgánica; esto da como resultado la liberación de ácidos orgánicos. La segunda etapa, registró una paulatina alcalinización del agua residual en las unidades experimentales, esto fue provocado por la pérdida de ácidos orgánicos y la generación de amoníaco resultante de la descomposición de las proteínas y en la tercera etapa el pH suele llegar a ser neutro debido a la formación de compuestos húmicos que tienen propiedades tampón.

### **4.3. DISCUSIÓN**

El agua residual domestica de la estación depuradora de calceta presentó una DBO de 480 mg/dm<sup>3</sup>, una vez aplicado el consorcio microbiano compuesto de *Bacillus sp* y *Aspergillus oryzae* con tres diferentes dosis para cada tratamiento; T1 5 cm<sup>3</sup>/dm<sup>3</sup>; T2 10 cm<sup>3</sup>/dm<sup>3</sup>; T3 15 cm<sup>3</sup>/dm<sup>3</sup>, T1 fue el más eficiente, donde la concentración de la DBO pasó de 480 mg/dm<sup>3</sup> a 37 mg/dm<sup>3</sup> equivalente al 92 % de eficiencia, a diferencia del T2 donde la DBO fue de 57 mg/dm<sup>3</sup> con una eficiencia del 88 % y el T3 con una DBO de 67mg/dm<sup>3</sup> y 86% de eficiencia mientras que el testigo la DBO final fue de 317mg/dm<sup>3</sup>. En las unidades experimentales que contenían el T2 y T3 se registró mayor cantidad de la DBO, debido a que existió un mayor crecimiento de algas ya que al ser un ensayo de laboratorio la temperatura del lugar, influyó en su crecimiento, Salvucci (2010) alega que la temperatura al considerarse un factor ambiental afecta las

reacciones bioquímicas y por lo tanto el crecimiento de los microorganismos. Andrade *et al.*, (2009) indica que las microalgas al llegar a su fase de declive se convierten en biomasa, compuesta principalmente de materia orgánica lo que aumenta la concentración de DBO.

#### **4.4. VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS**

Con un nivel de significancia de 0,05 e intervalo de confianza de 95% y un valor  $P < F$  (0.000 \*\*) y coeficiente de variación de 4,84%, se demuestra y concluye el rechazo de la hipótesis nula ( $H_0$ ), es decir que la aplicación del consorcio microbiano nativo (*Bacillus sp.* y *Aspergillus oryzae*) sí es eficiente en la remoción de materia orgánica del efluente de la estación depuradora de Calceta.

## CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. CONCLUSIONES

- Los microorganismos nativos *Bacillus sp* y el *Aspergillus oryzae* procedentes de la estación depuradora de calceta se lograron aislar e identificar mediante la normativa NTE INEN 1529-10 Y 1529-5 2013.
- El agua procedente de la estación depuradora de Calceta presentó un alto grado de concentración de materia orgánica (480 mg/dm<sup>3</sup>) que está por encima de los límites permisibles establecidos en el anexo I del libro VI del TULSMA. El tratamiento con eficiencia de remoción de materia orgánica fue el tratamiento uno [5 cm<sup>3</sup>/dm<sup>3</sup> (1,1X10<sup>5</sup> UPC/cm<sup>3</sup>; 1 X10<sup>9</sup> UFC/cm<sup>3</sup>)], en el que la DBO pasó de 480 mg/dm<sup>3</sup> a 37 mg/dm<sup>3</sup>; equivalente al 92% de eficiencia a diferencia del tratamiento dos el cual la DBO final fue de 57 mg/dm<sup>3</sup> equivalente al 88% y el tratamiento tres con una DBO final de 67 mg/dm<sup>3</sup> y una eficiencia de remoción de 86%, cifras que denotan significancia en la disminución de la concentración de materia orgánica del efluente de la estación depuradora de Calceta.

### 5.2. RECOMENDACIONES

- Continuar con investigaciones sobre *Bacillus sp* y *Aspergillus oryzae* considerando; resistencia, manipulación y eficiencia. Igualmente, utilizar un medio líquido que sea acorde a las características nutricionales del microorganismo a usar; para experimentar en diferentes sustratos y dar más alternativas de uso a estos microorganismos.
- Dado que el tratamiento con eficiencia de remoción de materia orgánica fue el tratamiento uno [5 cm<sup>3</sup>/dm<sup>3</sup> (1,1X10<sup>5</sup> UPC/cm<sup>3</sup>; 1X10<sup>9</sup> UFC/cm<sup>3</sup>)], se recomienda continuar con otras investigaciones considerando esta dosis y el tratamiento de cada laguna.
- Realizar investigaciones con el uso de otros microorganismos nativos para la disminución de la carga orgánica presente en la estación depuradora de Calceta.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abarca, M; Accensi, F; Cano, J y Cabanes, F. 2004. Taxonomy and significance of black Aspergilli. *Antonie Van Leeuwenhoek*. Vol. 86. p 33-49. (En línea). Consultado el 18 de julio. 2016. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- Aguilar, R. 2012. Efecto de los Microorganismos Eficientes (ME) en las Aguas Residuales de la Granja Porcina de Zamorano, Honduras. (En línea). Consultado el 2 de jun. 2016. *Rev. Mex. Zamorano*.
- Allende, R; Picos, P; Márquez, I; Carrillo, J; García, R y León, J. 2013. Identificación Morfológica y Molecular de *Penicillium oxalicum* Causante de Pudrición de Tallos y Frutos de Tomate. *Rev. Mex. Fitopatol*. Vol.31. Núm. 1. p 13-19.
- Alonso, J. 2011. Como hacer Compost: Guía para amantes de la jardinería y el medio ambiente. Madrid, ES. Ediciones Mundi-Prensa. p 149.
- Arcos, M; Ávila, S; Estupiñán, S y Gómez, A. 2005. Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. CO. *Rev.UNICOLMAYOR*. Vol. 3 Núm. 4. p 69- 79.
- Arias, C. 2007. Estudio de dos grupos de microorganismos como agentes aceleradores de descripción de los desechos sólidos organismos originados en los comedores de ESPO. Tesis. Ing. Agropecuario. Guayaquil, EC. p. 37.
- Arias, E y Piñeros, P 2008. Aislamiento identificación de hongo filamentosos de muestras de suelo de los páramos de Guasca y Cruz Verde. CO. Tesis. Microbiologías Industriales. Pontificia Universidad Javeriana. p 152- 151.
- Arnaiz, c. 2000. Tratamiento biológico de aguas residuales (En línea). Consultado el 25 de mayo. 2016. Formato PDF. Disponible en <http://cidta.usal.es/> revista TECNOLÓGICA DEL AGUA
- Barbecho, V y Bosques, C. 2008. Estudio de factibilidad del tratamiento de aguas residuales del colector norte, en la ciudad del Puyo. TESIS. Ing. Ambiental. Escuela Politécnica Nacional. Quito, EC. p 70-150.
- Bermúdez, C. 2016. Eficiencia de consorcios bacteriano – microalgal para la disminución de la concentración de materia orgánica en aguas residuales

de la ESPAM MFL. Tesis. Ing. Ambiental. Calceta, EC. (En línea). Consultado el 28 de may. 2016. Formato PDF. Disponible en <http://repositorio.espam.edu.ec>

BID (Banco Internacional de Desarrollo). 2009. Proyecto de reducción de pobreza y mejora de las condiciones higiénicas de los hogares de la población rural de menores recursos: Manual de uso práctico de E.M. JAP. p. 7. (En línea). Consultado el 7 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en [www.emuruguay.org](http://www.emuruguay.org)

Camacho, A; Giles, M; Ortegón, A; Palao, P y Velázquez, O. 2009. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Ed. 2. MX. (En línea). Consultado el 19 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en [www.depa.fquim.unam.mx](http://www.depa.fquim.unam.mx)

Campos, A, Rosa; Acosta, L; Morales, s, Prado, f. 2014. Evaluación de microorganismos de montaña (mm) en la producción de acelga en la meseta de Popayán. . (En línea). Consultado el 7 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en <http://www.scielo.org.co>

Canales y Sevilla, 2016. Evaluación del uso de microorganismos eficaces en el tratamiento de efluentes domésticos residuales del distrito de Pátapo. Tesis. Ing. Químico. ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA. Lambayeque, Pe. (En línea). Consultado el 27 de jul. 2017. Formato PDF. Disponible en [repositorio.unprg.edu.pe](http://repositorio.unprg.edu.pe).

Cañedo, V y Ames. T. 2004. Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Revista CIP. Lima, PE. p 62. (En línea). Consultado el 12 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en <http://cipotato.org>

Cárdenas, J. 2012. Modelación dinámica de las lagunas de oxidación de la ciudad de Portoviejo. Tesis. Maestría en Ingeniería Ambiental. EC. (En línea). Consultado el 3 de jun. 2016. Formato PDF. Disponible en <http://dspace.unl.edu.ec>

Carrillo, P. 2013. Comportamiento del oxígeno disuelto en la columna de agua de las estaciones fijas ecuatorianas 1988-2013. Revista Instituto Oceanográfico de la Armada. Vol. 18 Núm. 1. Manta. EC. Consultado el 29 de jun. 2016. Formato PDF. Disponible en <http://academic.uprm.edu>

CEINCI-ESPE, (Centro de Investigaciones Científicas). 2011. Selección de hongos eficientes en la biodegradación de materias orgánicas y colorantes reactivas, tolerantes a metales, para su uso en biorremediación

de aguas residuales de la industria textil. EC. (En línea). Consultado el 7 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en [www.ceinci.espe.edu.ec](http://www.ceinci.espe.edu.ec)

Cortes, A; Guadarrama, L; Ramírez, M. 2014. Producción de biomasa a partir de *Aspergillus oryzae* en cultivo sumergido. Biotecnia. Revista de ciencia biológicas y de la salud. (En línea). Consultado el 5 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en <http://www.biotecnia.uson.mx> REVISTA BIOTECNIA revista de ciencias biológicas y de la salud

Cortés, A; Guadarrama, L; Ramírez, M. 2014. Producción de biomasa a partir de *Aspergillus oryzae* en cultivo sumergido. Revista Biotecnia. Vol. XVI. Núm. 3. p 11-16.

Cuervo, J. 2010. Aislamiento y caracterización de *Bacillus* spp como fijadores biológicos de nitrógeno y solubilizadores de fosfatos en dos muestras de biofertilizantes comerciales. Tesis. Ing. Microbiología Agrícola y Veterinario. Universidad Nacional de Colombia. p 7- 9. CO. (En línea). Consultado el 15 de oct. 2016. Formato PDF. Disponible en <http://www.javeriana.edu.co>

Delgadillo, O; Camacho, A; Pérez, L y Andrade, M. 2010. Depuración de aguas residuales por medio de humedales artificiales. Cochabamba, BO, Editorial Universidad Mayor de San Simón. Ed. Nelson Antequera Durán. 99 p.

Díaz, E; Alvarado, A y Camacho, K. 2012. El tratamiento de agua residual doméstica para el desarrollo local sostenible: el caso de la técnica del sistema unitario de tratamiento de aguas, nutrientes y energía (SUTRANE) en San Miguel Almaya, México. Revista Redalyc. Vol. 14. Núm. 1. p 78-97.

Fajardo, E; Sarmiento, S. 2007. Evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de *Saccharomyces cerevisiae*. Tesis. Ing. Microbiología Industrial Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. CO. p. 29-32. (En línea). Consultado el 27 de Sep. 2017. Formato PDF. Disponible en <https://repository.javeriana.edu.co>

GAD Bolívar (Gobierno autónomo descentralizado del cantón bolívar), 2016. Monitoreo de las aguas del río carrizal en diferentes puntos. Calceta-Bolivar.EC

García, G. 2016. Presencia De Hongos Del Género *Penicillium* En Los Ambientes Ambulatorios De Dos Centros De Salud De La Región Loreto,

2015. (En línea). Consultado el 25 de jun. 2017. Formato PDF. Disponible en <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/> TESIS

García, I; Betancort, J; Salas, J; Peñate, B; Pidre, J y Sardón, N. 2006. Guía sobre tratamientos de aguas residuales urbanas para pequeños núcleos de población. Mejora de la calidad de los efluentes. (En línea). Consultado el 12 de jun. 2016. Formato PDF. Disponible en [www.cienciacanaria.esa](http://www.cienciacanaria.esa)

García y Cardona. 2008. Evaluación del efecto de los microorganismos eficaces (EM) sobre la calidad de un agua residual doméstica. Tesis. Ing. Microbiología industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. CO. p. 43-46. (En línea). Consultado el 27 de Jul. 2016. Formato PDF. Disponible en <https://repository.javeriana.edu.co>

Garzón, N. 2013. Caracterización e identificación molecular de hongos de suelo aislados de los páramos de Guasca y Cruz Verde, Cundinamarca–Colombia. Tesis. Microbiología industrial. Pontificia Universidad Javeriana. (En línea). Consultado el 12 de jun. 2016. Formato PDF. Disponible en <https://repository.javeriana.edu.co>

Gonzales, C. 2012. Medios de cultivo en un laboratorio de microbiología. (En línea). Consultado el 29 de jun. 2016. Formato PDF. Disponible en [www.libroslaboratorios.wordpress.com](http://www.libroslaboratorios.wordpress.com)

González, C. 2011. Monitoreo de la calidad del agua: pH. (En línea). Consultado el 29 de jun. 2016. Formato PDF. Disponible en <http://academic.uprm.edu>

INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 2013. Norma técnica ecuatoriana NTE INEN 2176:2013 Agua. Calidad del agua. Muestreo. Técnicas de muestreo. EC. (En línea). Consultado el 10 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en [www.normalizacion.gob.ec](http://www.normalizacion.gob.ec)

INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 2013. Norma ecuatoriana NTE INEN 1529-10:2013. Control microbiológico de los alimentos, mohos y levaduras viables recuento en placas por siembra en profundidad. EC. (En línea). Consultado el 10 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en [www.normalizacion.gob.ec](http://www.normalizacion.gob.ec)

INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 2013. NTE INEN 2266: 2013. Calidad del agua. Muestreo. Diseño de los programas de muestreo. (En línea). Consultado el 10 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en <https://archive.org/details>

- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 2013. NTE INEN 1202 (1985). Demanda bioquímica de oxígeno DBO5. (En línea). Consultado el 27 de jun. 2016. Disponible en <https://law.resource.org>
- Kestler, P. 2004. Uso, reuso, y reciclaje del agua residual en la vivienda. Tesis, Ing. Civil Administrativa. GT. p 25-40. (En línea). Consultado el 10 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en [www.bvsde.paho.org](http://www.bvsde.paho.org)
- Koneman, E. 2001. Diagnostico microbiano: texto y atlas color. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires Argentina; Bogotá. Pag.1432.
- Layton, C; Maldonado, E; Monroy, L; Corrales, L y Sánchez, L. 2011. Bacillus spp.; perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. Revista NOVA. Vol. 9, Núm. 16. Bogotá. COL. (En línea). Consultado el 5 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en <http://www.unicolmayor.edu.co>
- López, I. y Borzacconi, L. 2009. Introducción al diseño de reactores. (En línea). Consultado el 19 de jun. 2016. Formato PDF. Disponible en <http://www.fing.edu.uy>
- López, T; Domínguez, L; García, J. (2007). Arreglo estructural de un consorcio microbiano de interés alimentario en la producción del vinagre. Trabajo presentado en el octavo Congreso Nacional de Microscopía, Octubre, MX. (En línea). Consultado el 6 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en [www.readbag.com](http://www.readbag.com)
- Lutenberg, O. 2010. Tratamiento sanitario de aguas residuales, eliminación de microorganismos y agentes contaminantes características de efluentes y criterios de seguridad. PE. (En línea). Consultado el 26 de jun. 2016. Formato PDF. Disponible en [www.ana.gob.pe](http://www.ana.gob.pe)
- Marín, R. 2010. Características físicas, químicas y biológicas de las aguas. Córdoba, ES. p 4. (En línea). Consultado el 10 de Julio. 2016. Formato PDF. Disponible en <http://api.eoi.es>
- Mass, k y Medrano, Y.2015. Tratamiento de aguas residuales a partir de digestión anaerobia. COL. (En línea). Consultado el 20 de jun. 2016. Formato PDF. Disponible en <http://bibliotecadigital.usbcali.edu.co>
- Melara, S Y Salazar, B. 2012. Determinación De La Multirresistencia A Los Antimicrobianos De Salmonella Spp Aislada A Partir De Muestras De Chorizos Comercializados En Mercados De Santa Tecla. (En línea).

Consultado el 22 de jun. 2017. Formato PDF. Disponible en <http://ri.ues.edu.sv>

Mendieta y Garance, 2010. Tratamiento de aguas residuales Por biorremediación. CO. (En línea). Consultado el 22 de jun. 2017. Formato PDF. Disponible en. <http://www.liceopalmira.edu.uy>.

Mendoza y Ramírez. 2016. Efecto de la concentración de un consorcio microbiano nativo en la degradación de materia orgánica de las aguas residuales del canal de regadío “santa rosa”-distrito de santa rosa, provincia de chepen. PE. (En línea). Consultado el 18 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en <http://dspace.unitru.edu.pe>

Monica, S; Karthik,L; Mythili, S; Sathiavelu, A. 2011. Formulation of Effective Microbial Consortia and its Application for Sewage Treatment. IND. Revista Microbial & Biochemical Technology. Vol. 3. Núm. 3. p 1-5.

Muñoz, A 2008. Caracterización y tratamiento de aguas residuales. Tesis. Ing. Industrial. UAEH. MX. p 305. (En línea). Consultado el 10 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en [www.dgsa.uaeh.edu.mx](http://www.dgsa.uaeh.edu.mx)

Nacato *et al.*, 2016 Aislamiento identificación y pruebas in vitro de cepas autóctonas de bacillu subtilis como agente de biocontrol de alternaría spp en bassica oleracea varitalica [dspace.ups.edu.ec](http://dspace.ups.edu.ec))

Namsivayam, B. Narendrakumar, J y Kumar, J. 2011. Evaluation of effective microorganism (EM) for treatment of domestic sewage. (En línea). Consultado el 12 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en <https://www.researchgate.net>

Navarro, m; Espinosa, L; Gutiérrez M. 2005. Validación de La Determinación de Oxí-geno Disuelto y Demanda Bioquímica de Oxígeno en Aguas y Aguas Residuales. Revista CENIC. Ciencias Químicas, vol. 36. <http://www.redalyc.org>

Nodal, E. 2010. Ingeniería hidráulica y ambiental procesos biológicos aplicados al tratamiento de agua residual. Habana, CU (En línea). Consultado el 12 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en <http://www.bvsde.paho.org/>

Novoa, C. 2011. Efectos Inhibitorios Y Hemolíticos De Las Toxinas Clostridiales Sobre Diferentes Especies De Clostridium Spp Aisladas E Identificadas En Corpoica – Ceisa Bogotá. Tesis. Médico Veterinario. LASALLE. (En

línea). Consultado el 28 de jun. 2017. Formato PDF. Disponible en <http://repository.lasalle.edu.co>

NTE INEN 2266: 2013. Calidad del agua. Muestreo. Diseño de los programas de muestreo. (En línea). Consultado el 10 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en <https://archive.org/details>

NTE INEN 1202 (1985). Demanda bioquímica de oxígeno DBO5. (En línea). Consultado el 27 de jun. 2016. Disponible en <https://law.resource.org>

OEFA (Organismo de evaluación y fiscalización ambiental), 2014. Fiscalización ambiental en aguas residuales. PE. (En línea). Consultado el 15 de jun. 2016. Formato PDF. Disponible en <https://www.oefa.gob.pe>

Olmos, A; García, C; Saéz, J; Valdezate, S 2010. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. ES. (En línea). Consultado el 15 de jun. 2016. Formato PDF. Disponible en <https://www.seimc.org>

ONU, 2015. Gestión de aguas residuales, PNUMA. (Programa de las naciones unidas para el medio ambiente). (En línea). Consultado el 2 de jun. 2016. Formato PDF. Disponible en [www.un.org](http://www.un.org)

Orellana, 2005. Características de los líquidos residuales. (En línea). Consultado el 18 de Jul. 2016. Formato PDF. Disponible en <http://www.frro.utn.edu.ar/>

Ortiz, D 2001 Manual de Tratamientos Biológicos de Aguas Residuales para poblaciones medianas de la Región Sur del Ecuador. (En línea). Consultado el 10 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en [dspace.utpl.edu.ec/](http://dspace.utpl.edu.ec/)

Pérez, L; Quintana, H; Barletta, J; 2013. Mionecrosis por clostridio. Presentación de un caso. Revista Medisur. Vol. 11. Ed. 2.

Raffo y Ruiz, 2014. Caracterización de las aguas residuales y la demanda bioquímica de oxígeno. Pe. Revista Redalyc. Vol. 17. Núm. 1. pp. 71-80

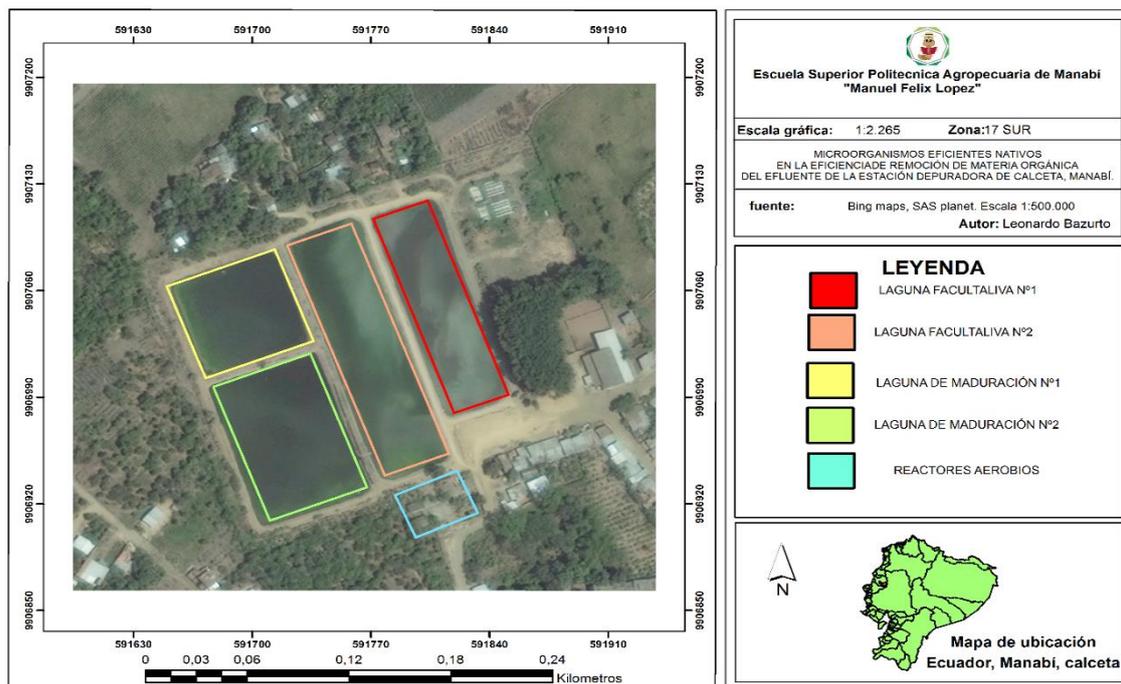
Ramos, A; Volque, T; Prado, L; Shirai, K; Ramirez, F; Salazar, M. 2012. Manual de prácticas de laboratorio de microbiología general. MX. Consultado el 27 de jun. 2016. Formato PDF. Disponible en [www.uamenlinea.uam.mx](http://www.uamenlinea.uam.mx)

- Realpe M; Hernández, C y Agudelo, C; 2002 Especies del género Bacillus: morfología macroscópica y microscópica. Revista Biomédica. Vol. 22. Ed. 2. p 106-106.
- Rincón, D; Ramírez R; Vargas J. 2011. Transmisión de Salmonella entérica a través de huevos de gallina y su importancia en salud pública. Salud UIS. Vol. 43. Núm. 2. p 167-177. (En línea). Consultado el 24 de jun. 2017. Formato PDF. Disponible en <http://www.redalyc.org>
- Rodríguez, A; Letón, P; Rosal, R; Dorado, M; Villar, S. Sanz, J. 2006. Tratamientos avanzados de aguas residuales industriales. Madrid, ES. p.38. (En línea). Consultado el 14 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en [www.revistavirtualpro.com](http://www.revistavirtualpro.com)
- Rodríguez, J. 2010. Tratamiento anaerobio de aguas residuales. Cali, CO. p. 1. (En línea). Consultado el 14 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en <http://www.ingenieroambiental.com>
- Rodríguez, P. 2011. Determinación de Oxígeno Disuelto (OD) en muestras de agua. p 1-7. (En línea). Consultado el 20 de jun. 2016. Formato PDF. Disponible en <https://puraquimica.files.wordpress.com>
- Rojas, R. 2002. (Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente, División de Salud y Ambiente, Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud) curso internacional "Gestión integral de tratamiento de aguas residuales" Sistemas de Tratamiento de Aguas Residuales. (En línea). Consultado el 9 de jun. 2016. Formato PDF. Disponible en [www.datateca.edu.co](http://www.datateca.edu.co)
- Romero, M; Colín, A; Sánchez, E; Ortiz, M. 2009. Tratamiento de aguas residuales por un sistema piloto de humedales artificiales: evaluación de la remoción de la carga orgánica. MX (en línea) Consultado el 12 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en [scielo.org.mx](http://scielo.org.mx)
- Seija. 2006. Temas de bacteriología y virología médica. Género Staphylococcus. 2 ed. pais. Montevideo. P 257-258.
- Serrano, H; Cardona, N. 2015 Micotoxicosis y micotoxinas: generalidades y aspectos básicos. Rev CES Med. Ed 29. P 143-152
- Scraag, A. 2002. Biotecnología para ingenieros: sistemas biológicos en procesos tecnológicos. Ed. Limusa. (En línea). Consultado el 22 de jun. 2016. Formato HTML. Disponible en <http://biotecnologiaequipo5.blogspot.com>

- Stewart, M. 2005. Lagunas de estabilización en Honduras. Manual de diseño, construcción, operación y mantenimiento, monitoreo y sostenibilidad. p 19-27. (En línea). Consultado el 6 de jun. 2016. Formato PDF. Disponible en <http://www.desastres.hn>
- Tama, D. 2016. Determinación De Salmonella Spp En La Cadena De Comercialización De Carnes De Cerdos Faenados En El Cantón Balao. (En línea). Consultado el 15 de jun. 2017. Formato PDF. Disponible en <http://repositorio.utmachala.edu.ec/> TESIS
- Teuro, H. 2009. EM-1 Microorganismos Eficaces (En línea). Consultado el 7 de jul. 2016. Formato HTML. <http://www.ecotecnologias.com>
- TULSMA (Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente). 2013. Anexo I del libro VI: Norma de calidad ambiental y de Descarga de efluentes: recurso. Agua. EC. Consultado, 28 dic. 2016. Formato HTTP. Disponible en [suia.ambiente.gob.ec](http://suia.ambiente.gob.ec)
- Valencia, A. 2013. Diseño de un sistema de tratamiento para aguas residuales de la cervecera parroquial de San Luis. Tesis. Ing. Biotecnología Ambiental. ESPOCH. Riobamba. EC. p. 10. (En línea). Consultado el 27 de jun. 2016. Formato PDF. Disponible en <http://dspace.espoch.edu.ec>
- Vera y Conforme, 2015. Evaluación de un inoculante microbiano nativo, en el proceso de compostaje de residuos agropecuarios fibrosos. Tesis. Ing. Medio Ambiente. ESPAM MFL. Calceta, EC. (En línea). Consultado el 15 de jul. 2016. Formato PDF. Disponible en <http://repositorio.espam.edu.ec>
- Yee, C. 2013. Banco mundial (70% las aguas residuales en Latinoamérica vuelven a los ríos sin ser tratadas). (En línea). Consultado el 4 de jun. 2016. Formato HTTP. Disponible en <http://www.desastres.hn>

# **ANEXOS**

### ANEXO 1: mapa de la estación depuradora de calceta.



### ANEXO 2. Muestreo del agua residual doméstica



Fuente: Autores

**ANEXO 3: preparación de medios**

Fuente: Autores

**ANEXO 4. Inoculación de medios**

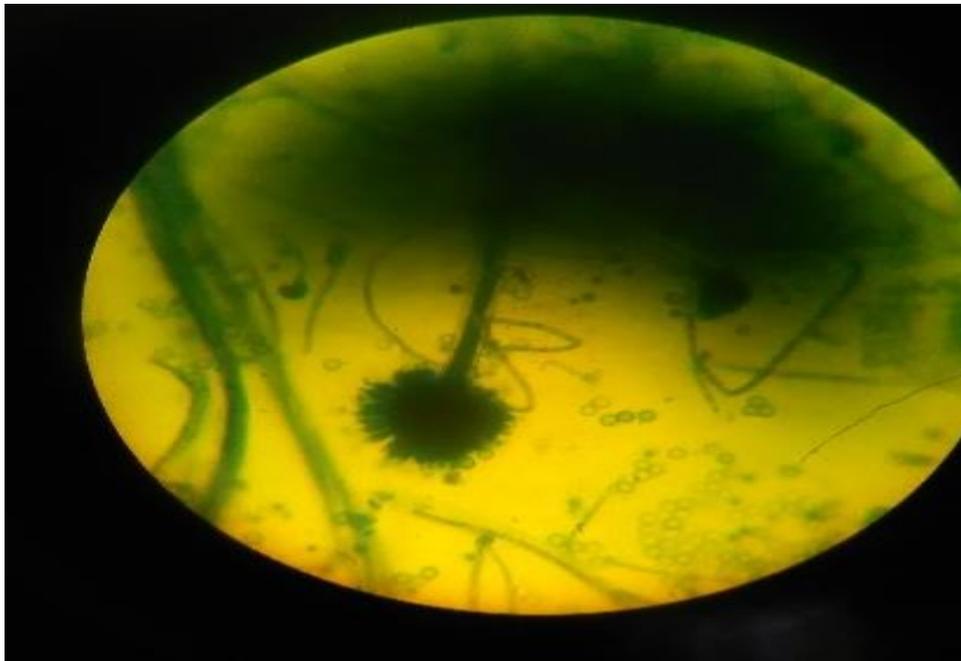
Fuente: Autores

**ANEXO 5:** hongo en etapa de crecimiento

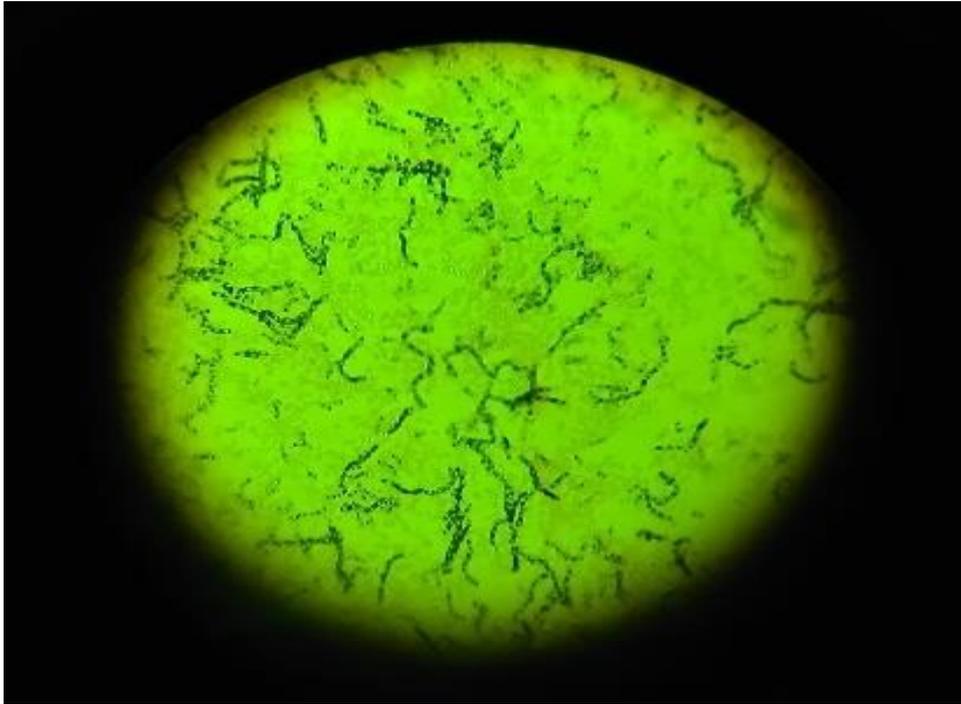


**Fuente:** Autores

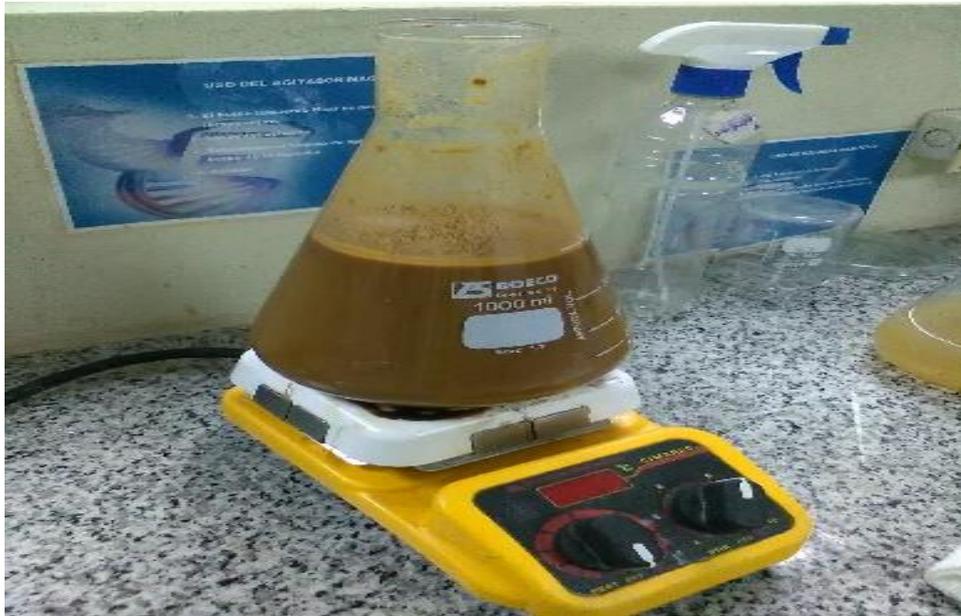
**ANEXO 6:** Hongo observado a través del microscopio x100



**Fuente:** Autores

**ANEXO 7: bacteria observada a través del microscopio X100**

Fuente: Autores

**ANEXO 8: preparación de consorcio microbiano**

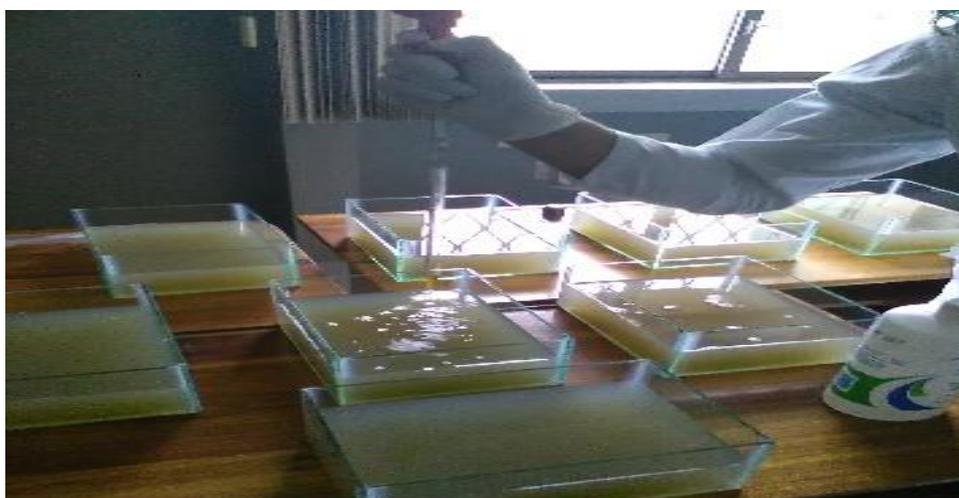
Fuente: Autores

### ANEXO 9: montaje del experimento



Fuente: Autores

### ANEXO 10: aplicación del consorcio microbiano



Fuente: Autores

### ANEXO 11. RESULTADOS DE ANÁLISIS

#### 11.1. Demanda biológica de oxígeno.

PARÁMETRO	TRATAMIENTO	DÍA 1	DÍA 10	DÍA 20
DBO	T1R1	480 mg/dm <sup>3</sup>	80 mg/dm <sup>3</sup>	40 mg/dm <sup>3</sup>
	T1R2	480 mg/dm <sup>3</sup>	70 mg/dm <sup>3</sup>	30 mg/dm <sup>3</sup>
	T1R3	480 mg/dm <sup>3</sup>	80 mg/dm <sup>3</sup>	40 mg/dm <sup>3</sup>

T2R1	480 mg/dm <sup>3</sup>	100 mg/dm <sup>3</sup>	70 mg/dm <sup>3</sup>
T2R2	480 mg/dm <sup>3</sup>	100 mg/dm <sup>3</sup>	70 mg/dm <sup>3</sup>
T2R3	480 mg/dm <sup>3</sup>	90 mg/dm <sup>3</sup>	60 mg/dm <sup>3</sup>
T3R1	480 mg/dm <sup>3</sup>	120 mg/dm <sup>3</sup>	90 mg/dm <sup>3</sup>
T3R2	480 mg/dm <sup>3</sup>	110 mg/dm <sup>3</sup>	80 mg/dm <sup>3</sup>
T3R3	480 mg/dm <sup>3</sup>	120 mg/dm <sup>3</sup>	90 mg/dm <sup>3</sup>
T1 TESTIGO	480 mg/dm <sup>3</sup>	380 mg/dm <sup>3</sup>	320 mg/dm <sup>3</sup>
T2 TESTIGO	480 mg/dm <sup>3</sup>	380 mg/dm <sup>3</sup>	320 mg/dm <sup>3</sup>
T3 TESTIGO	480 mg/dm <sup>3</sup>	380 mg/dm <sup>3</sup>	310 mg/dm <sup>3</sup>

## ANEXO 11.2 pH.

PARÁMETRO	TRATAMIENTO	DÍA 1	DÍA 10	DÍA 20
pH	T1R1	7,98	7,77	7,42
	T1R2	7,98	7,76	7,41
	T1R3	7,98	7,76	7,42
	T2R1	7,98	7,83	7,50
	T2R2	7,98	7,83	7,53
	T2R3	7,98	7,85	7,53
	T3R1	7,98	7,87	7,69
	T3R2	7,98	7,86	7,68
	T3R3	7,98	7,86	7,68
	T1 TESTIGO	7,98	7,94	7,86
	T2 TESTIGO	7,98	7,94	7,84
	T3 TESTIGO	7,98	7,94	7,84

## 11.3. Oxígeno disuelto

PARÁMETRO	TRATAMIENTO	DÍA 1	DÍA 10	DÍA 20
OD	T1R1	4,3 mg/dm <sup>3</sup>	6,5 mg/dm <sup>3</sup>	7,7 mg/dm <sup>3</sup>
	T1R2	4,3 mg/dm <sup>3</sup>	6,4 mg/dm <sup>3</sup>	7,6 mg/dm <sup>3</sup>
	T1R3	4,3 mg/dm <sup>3</sup>	6,5 mg/dm <sup>3</sup>	7,7 mg/dm <sup>3</sup>
	T2R1	4,3 mg/dm <sup>3</sup>	6,6 mg/dm <sup>3</sup>	6,6 mg/dm <sup>3</sup>
	T2R2	4,3 mg/dm <sup>3</sup>	6,7 mg/dm <sup>3</sup>	6,6 mg/dm <sup>3</sup>
	T2R3	4,3 mg/dm <sup>3</sup>	6,6 mg/dm <sup>3</sup>	6,7 mg/dm <sup>3</sup>
	T3R1	4,3 mg/dm <sup>3</sup>	6,7 mg/dm <sup>3</sup>	6,8 mg/dm <sup>3</sup>
	T3R2	4,3 mg/dm <sup>3</sup>	6,8 mg/dm <sup>3</sup>	6,8 mg/dm <sup>3</sup>
	T3R3	4,3 mg/dm <sup>3</sup>	6,7 mg/dm <sup>3</sup>	6,9 mg/dm <sup>3</sup>
	T1 TESTIGO	4,3 mg/dm <sup>3</sup>	4,9 mg/dm <sup>3</sup>	5,4 mg/dm <sup>3</sup>
	T2 TESTIGO	4,3 mg/dm <sup>3</sup>	4,8 mg/dm <sup>3</sup>	5,5 mg/dm <sup>3</sup>
	T3 TESTIGO	4,3 mg/dm <sup>3</sup>	4,9 mg/dm <sup>3</sup>	5,4 mg/dm <sup>3</sup>

## ANEXO 12. NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL Y DE DESCARGA DE EFLUENTES: RECURSO AGUA LÍMITES DE DESCARGA A UN CUERPO DE AGUA DULCE

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	D.B.O <sub>5</sub> .	Mg/dm <sup>3</sup>	100

FUENTE: Tulsma, 2013

**ANEXO 13.** Análisis de datos por medio de la prueba estadística de comparaciones múltiples HSD Tukey para el parámetro de demanda bioquímica de oxígeno.

Comparaciones múltiples						
HSD Tukey						
(I) tratamientos	(J) tratamientos	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite Superior
Tratamiento 1	Tratamiento 2	-20,00000	4,71405	,012	-35,0960	-4,9040
	Tratamiento 3	-30,00000	4,71405	,001	-45,0960	-14,9040
	Testigo	-280,00000	4,71405	,000	-295,0960	-264,9040
Tratamiento 2	Tratamiento 1	20,00000	4,71405	,012	4,9040	35,0960
	Tratamiento 3	-10,00000	4,71405	,225	-25,0960	5,0960
	Testigo	-260,00000	4,71405	,000	-275,0960	-244,9040
Tratamiento 3	Tratamiento 1	30,00000	4,71405	,001	14,9040	45,0960
	Tratamiento 2	10,00000	4,71405	,225	-5,0960	25,0960
	Testigo	-250,00000	4,71405	,000	-265,0960	-234,9040
Testigo	Tratamiento 1	280,00000	4,71405	,000	264,9040	295,0960
	Tratamiento 2	260,00000	4,71405	,000	244,9040	275,0960
	Tratamiento 3	250,00000	4,71405	,000	234,9040	265,0960

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

Fuente: IBM SPSS Statistics versión 23.

**ANEXO 14.** Análisis de datos por medio de la prueba estadística de comparaciones múltiples HSD Tukey para el parámetro del Oxígeno disuelto.

Comparaciones múltiples						
HSD Tukey						
(I) Tratamientos	(J) tratamientos	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite Superior
Tratamiento 1	Tratamiento 2	1,03333*	,04714	,000	,8824	1,1843
	Tratamiento 3	,83333*	,04714	,000	,6824	,9843
	Testigo	2,20000*	,04714	,000	2,0490	2,3510
Tratamiento 2	Tratamiento 1	-1,03333*	,04714	,000	-1,1843	-,8824
	Tratamiento 3	-,20000*	,04714	,012	-,3510	-,0490
	Testigo	1,16667*	,04714	,000	1,0157	1,3176
Tratamiento 3	Tratamiento 1	-,83333*	,04714	,000	-,9843	-,6824
	Tratamiento 2	,20000*	,04714	,012	,0490	,3510
	Testigo	1,36667*	,04714	,000	1,2157	1,5176
Testigo	Tratamiento 1	-2,20000*	,04714	,000	-2,3510	-2,0490
	Tratamiento 2	-1,16667*	,04714	,000	-1,3176	-1,0157
	Tratamiento 3	-1,36667*	,04714	,000	-1,5176	-1,2157

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Fuente: IBM SPSS Statistics versión 23.

## ANEXO 15: Reporte de los resultados del laboratorio de microbiología

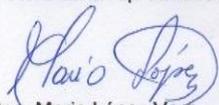
  <b>ESPAMMFL</b> ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LOPEZ Ley 2006 – 49 Suplemento R.O. 298 – 23 – 06 – 2006 CALCETA – ECUADOR			
<b>REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO</b>		Página 1 de 1	
CLIENTE:	BAZURTO MEZA LEONARDO SEBASTIÁN MURILLO RAMÍREZ WALTER VINICIO	Nº de análisis:	4
DIRECCIÓN:	CAMPUS POLITÉCNICO "EL LIMÓN"		
TELEFONO:	0969971206	Fecha de recibido:	01/03/2017
NOMBRE DE LA MUESTRA:	"AGUA DE LA LAGUNA DE OXIDACIÓN DE CALCETA"	Fecha de análisis:	01/03/2017
CANTIDAD RECIBIDA:	2	Fecha de reporte:	06/03/2017
TIPO DE ENVASE:	Recipiente de vidrio de 250 ml de capacidad	Fecha de muestreo:	01/03/2017
OBSERVACIONES:	El laboratorio no se responsabiliza por la recolección y el traslado de la muestra.	Método de muestreo:	NTE INEN 1529-2
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	Responsable del muestreo:	Investigador

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	PRUEBAS SOLICITADAS	UNIDAD	RESULTADOS	MÉTODO DE ENSAYO
AFLUENTE	Mohos y Levaduras	UPC/ml	1,5 x10 <sup>5</sup>	NTE INEN 1529-10
	Aerobios mesófilos	UFC/ml	2,1 x10 <sup>5</sup>	NTE INEN 1529-5
EFLUENTE	Mohos y Levaduras	UPC/ml	1,0 x10 <sup>5</sup>	NTE INEN 1529-10
	Aerobios mesófilos	UFC/ml	3,7 x10 <sup>5</sup>	NTE INEN 1529-5

**Nota:**  
Resultados validos únicamente para las muestras analizadas y, no para otros productos de la misma procedencia.

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.

  
 Ing. Mario López Vera.  
**COORDINADOR (E) LAB. DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL ÁREA AGROINDUSTRIAL**

  
[www.espanheda.ec](http://www.espanheda.ec)  
[rectoria@espm.edu.ec](mailto:rectoria@espm.edu.ec)

**OFICINAS CENTRALES:**  
 10 de agosto No. 82 y Granda Centeno  
 Telef: 593 05 685156 Telefax: 593 05 685134

**CAMPUS POLITÉCNICO CALCETA**  
 Sitio El Limón  
 Telef: 593 05 686103

REPÚBLICA DEL ECUADOR



**ESPAMMFL**  
 ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA  
 AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ  
 Ley 2006 – 49 Suplemento R.O. 298 – 23 – 06 - 2006  
 CALCETA – ECUADOR



REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO		Página 1 de 1	
CLIENTE:	BAZURTO MEZA LEONARDO SEBASTIÁN MURILLO RAMÍREZ WALTER VINICIO	N° de análisis:	4
DIRECCIÓN:	CAMPUS POLITÉCNICO "EL LIMÓN"		
TELÉFONO:	0969971206	Fecha de recibido:	24/04/2017
NOMBRE DE LA MUESTRA:	"AGUA DE LA LAGUNA DE OXIDACIÓN DE CALCETA"	Fecha de análisis:	24/04/2017
CANTIDAD RECIBIDA:	2	Fecha de reporte:	27/04/2017
TIPO DE ENVASE:	Recipiente de vidrio de 250 ml de capacidad	Fecha de muestreo:	24/04/2017
OBSERVACIONES:	El laboratorio no se responsabiliza por la recolección y el traslado de la muestra.	Método de muestreo:	NTE INEN 1529-2
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	Responsable del muestreo:	Investigador

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	PRUEBAS SOLICITADAS	UNIDAD	RESULTADOS	MÉTODO DE ENSAYO
AFLUENTE	Mohos y Levaduras	UPC/ml	4,0x10 <sup>4</sup>	NTE INEN 1529-10
	Aerobios mesófilos	UFC/ml	3,0 x10 <sup>6</sup>	NTE INEN 1529-5
EFLUENTE	Mohos y Levaduras	UPC/ml	4,0 x10 <sup>4</sup>	NTE INEN 1529-10
	Aerobios mesófilos	UFC/ml	2,0 x10 <sup>6</sup>	NTE INEN 1529-5

**Nota:**

Resultados validos únicamente para las muestras analizadas y, no para otros productos de la misma procedencia.

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.

Ing. Mario López Vera.

COORDINADOR (E) LAB. DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL ÁREA AGROINDUSTRIAL



OFICINAS CENTRALES:  
 10 de agosto No. 82 y Granda Centeno  
 Telef: 593 05 685156 Telefax: 593 05 685134

[www.espam.edu.ec](http://www.espam.edu.ec)  
[rectorado@espam.edu.ec](mailto:rectorado@espam.edu.ec)

CAMPUS POLITÉCNICO CALCETA  
 Sitio El Limón  
 Telef: 593 05 686103

## ANEXO 16: Reporte de resultados del laboratorio de química ambiental

	<b>ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ "MFL"</b>	No.
		<b>CODIGO: F-G-SGC-007</b>
	<b>INFORME DE RESULTADOS</b>	REVISION: 0
		FECHA: 06/04/2005
CLAUSULA: 4.6		
		PAGINA 1 DE 1
NOMBRE DEL CLIENTE:		WALTER MURILLO RAMIREZ – LEONARDO BAZURTO MEZA
SOLICITADO POR:		WALTER MURILLO RAMIREZ – LEONARDO BAZURTO MEZA
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:		JUNÍN
IDENTIFICACION DE LA MUESTRA:		AGUA RESIDUAL DE LAGUNAS DE ESTABILIZACIÓN
TIPO DE MUESTREO:		EGRESADOS
ENSAYOS REQUERIDOS:		pH DBO5,
FECHA Y HORA DE RECEPCION DE LA MUESTRAS:		10 DE JULIO DEL 2017
FECHA DE REALIZACIÓN DE LOS ENSAYOS:		10 DE JULIO DEL 2017
LABORATORIO RESPONSABLE:		QUIMICA AMBIENTAL
TECNICO QUE REALIZÓ EL ANALISIS:		ING. FABIÁN PEÑARRIETA M.

ITEM	PARAMETROS	METODO	UNIDAD	RESULTADOS											
				AGUA DEL RIO MUERTO											
				T1R1	T1R2	T1R3	T2R1	T2R2	T2R3	T3R1	T3R2	T3R3	T4R1	T4R2	T4R3
1	pH	POTENCIOMETRICO	-	7.77	7.76	7.76	7.83	7.83	7.85	7.87	7.86	7.86	7.94	7.94	7.94
2	DBO5	REPIROMETRICO	mg/l	80	70	80	100	100	90	120	110	120	380	380	380

**OBSERVACIONES:**

Los análisis solicitados son parte vinculante del proyecto I+D+i. Biopreparado a base de microorganismo autóctonos para lagunas de estabilización de estación depuradora de aguas residuales Bolívar, Manabí, Ecuador con CUP 91860000,0000,376012.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ  
 "MANUEL FÉLIX LÓPEZ"  
 ESPAM "MFL"  
 CALCETA ECUADOR  
  
 LABORATORIO DE QUIMICA AMBIENTAL  
 FIRMA DEL TECNICO LABORATORIO  
 Fecha: 27/09/2017

NOTA: Los resultados reportados corresponden únicamente a la(s) muestra(s) recibida(s) por Laboratorios ESPAM. Este informe de resultados no debe ser reproducido parcial o totalmente sin autorización expresa del laboratorio.

Manabí – Bolívar - Calceta: Campus Politécnico, Km. 2.7 Via El Morro  
 Teléfono (593) 05 686103 Telefax (593) 05 685156 - 685134 Email: [espam@mnbsatnet.net](mailto:espam@mnbsatnet.net)  
 Visite nuestra página web [www.espam.edu.ec](http://www.espam.edu.ec)

	<b>ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA AGROPECUARIA DE MANABI "MFL"</b>	<b>No.</b> <b>CODIGO: F-G-SGC-007</b> <b>REVISION: 0</b> <b>FECHA: 06/04/2005</b> <b>CLAUSULA: 4.6</b> <b>PAGINA 1 DE 1</b>
	<b>INFORME DE RESULTADOS</b>	
<b>NOMBRE DEL CLIENTE:</b>	WALTER MURILLO RAMIREZ – LEONARDO BAZURTO MEZA	
<b>SOLICITADO POR:</b>	WALTER MURILLO RAMIREZ – LEONARDO BAZURTO MEZA	
<b>DIRECCIÓN DEL CLIENTE:</b>	JUNÍN	
<b>IDENTIFICACION DE LA MUESTRA:</b>	AGUA RESIDUAL DE LAGUNAS DE ESTABILIZACIÓN	
<b>TIPO DE MUESTREO:</b>	EGRESADOS	
<b>ENSAYOS REQUERIDOS:</b>	pH DBO5,	
<b>FECHA Y HORA DE RECEPCION DE LA MUESTRAS:</b>	20 DE JULIO DEL 2017	
<b>FECHA DE REALIZACION DE LOS ENSAYOS:</b>	20 DE JULIO DEL 2017	
<b>LABORATORIO RESPONSABLE:</b>	QUIMICA AMBIENTAL	
<b>TECNICO QUE REALIZÓ EL ANALISIS:</b>	ING. FABIÁN PENARRIETA M.	

ITEM	PARAMETROS	METODO	UNIDAD	RESULTADOS											
				AGUA DEL RIO MUERTO											
				T1R1	T1R2	T1R3	T2R1	T2R2	T2R3	T3R1	T3R2	T3R3	T4R1	T4R2	T4R3
1	pH	POTENCIOMETRICO	-	7,42	7,41	7,42	7,50	7,53	7,53	7,69	7,68	7,68	7,66	7,84	7,84
2	DBO5	REPIROMETRICO	mg/l	40	30	40	70	70	60	90	80	90	320	320	310

**OBSERVACIONES:**

Los análisis solicitados son parte vinculante del proyecto I+D+i: Biopreparado a base de microorganismo autóctonos para lagunas de estabilización de estación de tratamiento de aguas residuales Bolívar, Manabí, Ecuador con CUP 91880000,0000,376012.

ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA AGROPECUARIA DE MANABI  
 "MANUEL FELIX LOPEZ"  
 ESPAM "MFL"  
 CALCETA ECUADOR  
  
 LABORATORIO DE QUIMICA AMBIENTAL  
 FIRMA DEL TÉCNICO LABORATORIO  
 Fecha: 27/09/2017

NOTA: Los resultados reportados corresponden únicamente a la(s) muestra(s) recibida(s) por Laboratorios ESPAM. Este informe de resultados no debe ser reproducido parcial o totalmente sin autorización expresa del laboratorio.

Manabí – Bolívar – Calceta: Campus Politécnico, Km. 2.7 Vía El Morro  
 Teléfono (593) 05 686103 Telefax (593) 05 685156 - 685134 Email: [espam@mnb.satnet.net](mailto:espam@mnb.satnet.net)  
 Visite nuestra página web [www.espam.edu.ec](http://www.espam.edu.ec)

**ANEXO 16:** Esquema de las unidades experimentales