

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO

FACULTAD DE MEDICINA DE VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia



**“EVALUACIÓN DE LOS INDICES MICROBIOLÓGICOS Y
FISICOQUÍMICOS EN AGUAS RESIDUALES DE LA CIUDAD DE
PUNO – TRATADAS CON MICROORGANISMOS NATIVOS”**

TESIS

PRESENTADO POR:

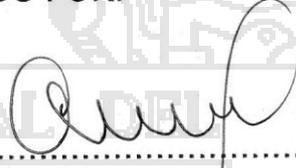
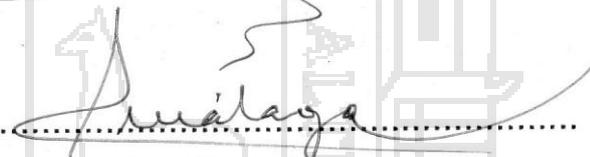
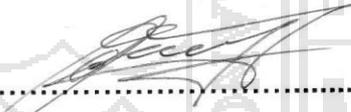
Bach. URIEL LUVI CHECANI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO – PERÚ

2014

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA****“EVALUACIÓN DE LOS ÍNDICES MICROBIOLÓGICOS Y FISICOQUÍMICOS
EN AGUAS RESIDUALES DE LA CIUDAD DE PUNO - TRATADAS CON
MICROORGANISMOS NATIVOS”****TESIS****PRESENTADO POR EL BACHILLER URIEL LUVI CHECANI PARA
OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO Y
ZOOTECNISTA****APROBADO POR:****PRESIDENTE DE JURADO :**
Mg.Sc. Alberto Soto Quispe**PRIMER MIEMBRO :**
Mg.Sc. Julio Málaga Apaza**SEGUNDO MIEMBRO :**
MVZ. Oscar David Orós Butrón**DIRECTOR DE TESIS :**
Dr. Alberto Ccama Sulca**ASESOR DE TESIS :**
MVZ. Sandro Ramírez Arenas

ÁREA : Salud pública

TEMA : Saneamiento ambiental

DEDICATORIA

Este trabajo dedico a mi querido padre Pedro, y a mi querida madre Sabina que en paz descanse, por sus ejemplos de lucha, sus sabios consejos y su comprensión, que siempre supieron apoyarme en todo momento, a ellos con cariño mi eterna gratitud. Por verme profesional. Gracias...

A mis hermanos: Sonia, Hilda, Hugo, Simi, Eulalia, Edwin, Fredy, y Yovana, por el apoyo incondicional y cariño que me brindaron durante mi carrera, que en ningún momento de mi vida dudaron de mí.

A mis amigos (as) Por compartir grandes vivencias que repercutirán constantemente en mi vida.

A la gloriosa Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNA Puno, por la calidad de formación profesional.

.....*Gracias con aprecio*.....

Uriel Iruvi

AGRADECIMIENTO

Es importante llegar al final, he recorrido un largo camino, y para lo cual he contado con el apoyo de muchas personas, que me han enseñado tantas cosas a nivel profesional pero sobre todo a nivel personal, por lo que quisiera agradecerles profundamente a todas aquellas personas y amigos por compartir parte de sus experiencias.

Agradezco a mi alma mater, la Universidad Nacional del Altiplano – Puno y la gloriosa Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por haberme formado un instrumento para el servicio de mi pueblo.

A mi director de tesis el Dr. Alberto Ccama Sullca por brindarme su apoyo, amistad y guía y su gran espíritu docente en cada momento en la realización del presente trabajo de investigación.

A mi asesor de tesis al MVZ. Sandro Ramírez Arenas. Por su apoyo moral, amistad y su incondicional apoyo en la realización del presente trabajo.

Agradecer a todos los docentes de Medicina Veterinaria y Zootecnia que siempre han sido muy amables conmigo durante estos años.

A todos y cada uno de vosotros muchas gracias.

Uriel Iruvi

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 MARCO CONCEPTUAL	3
2.1.1 AGUA RESIDUAL	3
2.1.2 AGUAS RESIDUALES DOMESTICAS (ARD).....	3
2.1.3 CALIDAD DE UN AGUA RESIDUAL DOMÉSTICA	4
2.1.4 TRATAMIENTO DE LAS AGUAS RESIDUALES	4
2.1.5 PARÁMETROS BIOLÓGICOS	5
2.1.6 PARÁMETROS FÍSICOS.	6
a.- Temperatura.....	6
b.- Sólidos Suspendidos Totales	6
c.- Potencial de Hidrogeniones (pH)	7
2.1.7 PARÁMETROS QUÍMICOS.	8
a.- Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)	8
b.- Demanda Química de Oxígeno (DQO).....	8
c.- Aceites y grasas.....	9
2.1.8 MICROORGANISMOS EFICACES (EM) Y SU USO EN AGUAS RESIDUALES	10
2.1.9 MICROORGANISMOS NATIVOS DESCOMPONEDORES DE MATERIA ORGANICA	12
2.1.9.1 <i>Aspergillus spp</i>	12
2.1.9.2 <i>Lactobacillus</i>	13
2.1.9.3 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	15
2.1.9.4 <i>Bacillus subtilis</i>	17
2.2 ANTECEDENTES	17
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO	20
3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL	20
3.3. METODOLOGÍA	211
3.3.1 PRODUCCIÓN DE MICROORGANISMOS.....	21
3.3.2 APLICACIÓN DE MICROORGANISMOS EN AGUAS RESIDUALES	21
3.3.3 TOMA DE MUESTRAS	22
3.3.4 REALIZACIÓN DE LOS ANÁLISIS PARA LOS PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS.....	23
3.3.4.1 DETERMINACIÓN DEL NMP DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES	23
a. ANALISIS PRESUNTIVO	25
b. ANALISIS CONFIRMATIVO.....	25
3.4. MÉTODO ESTADÍSTICO	26
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	28
4.1. SOLIDOS TOTALES EN SUSPENSIÓN (STS)	28
4.2. POTENCIAL DE HIDROGENIONES (pH).....	30
4.3. DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGENO	32

4.4. PARA DEMANDA QUÍMICA DE OXIGENO	35
4.5. ACEITES Y GRASAS	37
4.6. PARA TEMPERATURA.....	41
4.7. COLIFORMES TERMOTOLERANTES	43
V. CONCLUSIONES.....	46
VI. RECOMENDACIONES	47
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	48
VIII. ANEXOS.....	55
REALIZACIÓN DE LOS ANÁLISIS FÍSICO	55
a. DETERMINACIÓN DE pH.....	55
b. DETERMINACIÓN DE LA TEMPERATURA.....	55
c. DETERMINACIÓN DE LOS SÓLIDOS TOTALES EN SUSPENSIÓN	56
REALIZACIÓN DE LOS ANÁLISIS QUÍMICOS.....	57
a. DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXIGENO (DQO).....	57
b. DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (DBO5)	59
c. DETERMINACIÓN DE ACEITES Y GRASAS.....	60



RESUMEN

El presente trabajo se realizó en la planta de oxidación de la ciudad de Puno, laboratorio de Microbiología de Medicina Veterinaria y Zootecnia, y laboratorio de aguas y suelos de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano; con los objetivos de determinar los índices microbiológicos y fisicoquímicos en aguas residuales post tratamiento con *Aspergillus spp*, *Lactobacillus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus subtilis*, y evaluar el efecto de las dosis de 1:1000, 1:5000 y 1:10000 microorganismos a 0, 10, 30 y 45 días en aguas residuales; para los cuales se empleó cubos de vidrio de 60cm x 35cm x 30cm de largo, alto y ancho, respectivamente; cada uno contenían 5L de aguas residuales, sobre las cuales se adicionaron las dosis en diferentes periodos, de las cuales se colectó un total de 22 muestras, y estas fueron analizadas a los 0, 10, 30, y 45 días, para obtener datos de las variables pH, temperatura, sólidos totales en suspensión (STS), aceites y grasas, demanda química de oxígeno (DQO) y demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y coliformes termotolerantes. La información fue procesada mediante Diseño Bloque Completamente al Azar. Los resultados para STS fueron de 97.93, 99.8, 98.10 y 99.70 mg/L, para pH de 7.4, 7.8, 7.9 y 8.0, para DBO de 440.30, 658.75, 417.50 y 533.60 mg/L, para DQO de 475.30, 1585.30, 1200.00 y 1073.30 mg/L, para aceites y grasas de 20.30 16.47, 19.70, y 16.50 mg de aceites y grasas/L, para T° de 15.63, 16.70, 16.00 y 16.30 °C, y para coliformes termotolerantes de 10000, 4216.7, 8011.5 y 3966.5 NMP/100 mL, donde el primer resultado de cada variable corresponde al testigo, el segundo a dosis de 1:1000, el tercero a dosis de 1:5000 y el cuarto a dosis de 1:10000 respectivamente ($P \geq 0.05$). La variables estudiadas no mostraron diferencias significativas en la variabilidad por efecto del tratamiento con diferentes dosis de microorganismos nativos ni por periodo de evaluación en el agua residual de Puno; pero solamente aceites y grasas mostró diferencias significativas por efecto del periodo de evaluación donde a los 30 días y 45 días fue de 19.70 y 16.50 mg/L y a los 10 días 12.30 mg ($P \leq 0.05$).

I. INTRODUCCIÓN

El agua considerado como fuente de vida, según estudios reportan que en el planeta tierra de toda el agua existente, el agua dulce representa solamente el 3%, el resto representa el agua salada, agua que en ese estado no puede ser utilizado por el hombre para sus diferentes actividades cotidianas. Uno de los problemas ambientales más graves en la actualidad es la contaminación del recurso hídrico debido a que el problema tiene múltiples causas y se presenta en formas muy diversas, con asociaciones y sinergismos difíciles de prever. Este está relacionado directamente con cambios demográficos en las últimas décadas, ya que a medida que las poblaciones humanas crecen y utilizan más el agua para llevar a cabo sus actividades cotidianas, originando cambios físicos, químicos y biológicos en el agua resultante.

En la actualidad la tecnología ha reportado una alternativa para el tratamiento de aguas residuales con el producto EM (del inglés efficient microorganisms), basada en la actividad sinérgica de consorcios de microorganismos eficaces, ha sido reportada como una alternativa para el tratamiento de aguas contaminadas. EM ha sido aplicado, ya que incrementa las densidades de microorganismos que pueden utilizar los compuestos presentes en el agua como fuente de carbono y energía para su metabolismo y crecimiento, así reduciendo sus concentraciones. Además, al emplear una mezcla de varios microorganismos, con características metabólicas diferentes y complementarias entre sí, la cantidad y variedad de

los compuestos que pueden ser degradados será mayor y los procesos a su vez, serán más eficaces

Reportado esta información; en este trabajo nos planteamos a tratar las aguas residuales domesticas de la ciudad de Puno a nivel de laboratorio con microorganismos nativos aislados en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano Puno, considerando similar actividad metabólica que los microorganismos eficientes EM.

Por tanto, esta investigación tuvo por objetivo monitorear los índices como solidos totales en suspensión, pH, DBO, DQO, aceites y grasas, T° y coliformes termotolerantes, establecidas por el ministerio del ambiente, decreto supremo Nro 003-2010. Y aplicar tratamientos con microorganismos nativos en diferentes concentraciones sobre aguas residuales domésticas y documentar su efecto sobre la calidad de la misma.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 MARCO CONCEPTUAL

2.1.1 AGUA RESIDUAL

El agua residual (AR), es aquella que ha sufrido una alteración en sus características físicas, químicas o biológicas por la introducción de contaminantes como residuos sólidos, biológicos, químicos, municipales, industriales, agrícolas etc., afectando así los ecosistemas acuáticos y su entorno. Las AR provienen del sistema de abastecimiento de una población, por esta razón son líquidas de composición variada que pueden clasificarse según su origen en aguas residuales domésticas (ARD), industriales, de infiltración y pluviales. Las dos primeras son las más relacionadas con la contaminación del agua (Metcalf y Eddy, 2003; Novotny, 2003; Sánchez, 2003).

2.1.2 AGUAS RESIDUALES DOMESTICAS (ARD)

Las aguas residuales domésticas (ARD) son aquellas provenientes de las actividades domésticas cotidianas como lavado de ropa, baño, preparación de alimentos, limpieza, etc., por lo cual son principalmente una combinación de heces humanas y animales, orina y agua gris. Estas, presentan un alto contenido de materia orgánica, compuestos químicos domésticos como detergentes y compuestos clorados y microorganismos patógenos y no patógenos. En ocasiones, el agua generada por varias industrias puede

entrar también en esta clasificación si no contiene una gran proporción de sustancias de síntesis química (Mara y Cairncross, 1990).

En lo que se refiere a la composición de compuestos químicos, las ARD pueden contener varios tipos de proteínas (albúminas, globulinas y enzimas industriales (detergentes) producto de la actividad microbiana en la propia ARD; carbohidratos como glucosa, sacarosa, almidón y celulosa y grasas animales y aceites, provenientes de los alimentos, junto con los respectivos productos de la degradación de los compuestos mencionados, así como sales inorgánicas y otros compuestos inertes (Metcalf y Eddy, 2003; Blundi, 1988).

2.1.3 CALIDAD DE UN AGUA RESIDUAL DOMÉSTICA

La calidad en general de un agua residual, incluyendo el ARD está determinada por sus características o parámetros físicos, químicos y biológicos a partir de los cuales se determina que tan aceptable es un agua residual para determinado uso (Luv y Lipták, 1999; Novotny, 2003).

2.1.4 TRATAMIENTO DE LAS AGUAS RESIDUALES

El tratamiento de las AR se divide en preliminar, primario, secundario y terciario, indicando así el nivel de remoción de contaminantes que se alcanza a medida que se pasa de un tratamiento a otro La selección de un tratamiento para un AR depende de diversos factores como las características iniciales del agua, el requerimiento de la calidad del

efluente y los costos y la disponibilidad de un terreno destinado para tal fin (Orozco y Salazar, 1989; Ramalho, 1983).

2.1.5 PARÁMETROS BIOLÓGICOS

Estas características se relacionan con los organismos y microorganismos, en particular, bacterias y virus, entre otros, causantes de enfermedades. Para poder clasificar las AR de acuerdo a sus características biológicas, se cuenta con valores establecidos que dependerán de la utilización que se prevé y los requisitos sanitarios. La gran mayoría de los países determina los valores permitidos con base en lo estipulado por la Organización Mundial de La Salud (OMS) adaptándolo a sus circunstancias (Cardona y García, 2008).

Para evaluar la calidad biológica de un agua se ha planteado, el uso de microorganismos indicadores de contaminación fecal, debido a que presentan un comportamiento similar a los patógenos en cuanto a concentración, sensibilidad a factores ambientales y barreras artificiales, además resultan más fáciles, económicos y rápidos de cuantificar. Dentro de los microorganismos indicadores el más conocido es *E. coli*, para el grupo de los coliformes fecales. Los coliformes son el grupo que cuenta con mayores especificaciones en cuanto a concentraciones en la normatividad nacional (Decreto supremo D.S.Nro 003-2010 MINAM), aunque en la actualidad, el uso de bacteriófagos para el mismo fin es igualmente frecuente.

2.1.6 PARÁMETROS FÍSICOS.

a.- Temperatura

La temperatura de las aguas residuales es mayor a la de las aguas no contaminadas debido a la energía liberada durante las reacciones bioquímicas que se presentan en la degradación de la materia orgánica (Jaramillo y Arias, 2001).

Es importante conocer la temperatura del cuerpo de agua, ya que este parámetro puede ayudar a predecir o confirmar otras condiciones del agua; ya que éste parámetro tiene influencia directa en otros factores de la calidad, tales como el oxígeno disuelto (OD), la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y la supervivencia de algunas especies acuáticas.

El índice metabólico de las aguas residuales aumenta con la temperatura, puesto que el metabolismo requiere oxígeno, algunas especies podrían no sobrevivir si no hay suficiente oxígeno en el agua para satisfacer sus necesidades. Las bacterias y otros organismos que causan enfermedades, crecen con mayor rapidez en agua de mayor temperatura ($>20^{\circ}\text{C}$) (Palao et al., 2010).

b.- Sólidos Suspendidos Totales

Es la fracción de sólidos presentes en agua como material no disuelto. En el laboratorio se distinguen de los disueltos por medio de la filtración. Los sólidos suspendidos comprenden a los sedimentables, flotantes y no sedimentables (coloidales). Pueden contener sustancias orgánicas (sólidos

suspendidos volátiles) o inertes (no volátiles o fijos). La turbidez en el agua es causada por una gran variedad de sólidos suspendidos, los cuales, según su tamaño, pueden ser partículas coloidales o dispersiones gruesas, dependiendo de la turbulencia y de las características ópticas del material suspendido. Los sólidos suspendidos son de especial significado desde el punto de vista estético. Las aguas naturales contienen cantidades muy variables de sólidos suspendidos. Estos materiales pueden ser arcilla, limo, sílice, materiales orgánicos, microorganismos y lodos. Una cantidad excesiva de sólidos suspendidos puede ser peligrosa para las formas de vida acuática por obstrucción de los órganos respiratorios, recubrimiento de microorganismos en el fondo del acuífero, reducción de la intensidad de la radiación luminosa y modificación de las cadenas alimentarias. Para fines de control de la contaminación de efluentes, todos los sólidos suspendidos se consideran sedimentables debido a que eventualmente (por descomposición bacteriana o floculación) esos sólidos serán depositados (Metcalf y Eddy, 2003).

c.- Potencial de Hidrogeniones (pH)

El término pH representa la concentración de iones de hidrógeno en una solución. En el agua, este factor es de excepcional importancia, principalmente en los procesos de tratamiento. En la rutina de los laboratorios de las estaciones de tratamiento él es medido y ajustado siempre que necesario para mejorar el proceso de coagulación/floculación del agua también el control de la desinfección. El valor del pH varía de 0 a

14. Bajo 7 el agua es considerada ácida y sobre 7, alcalina. Agua con pH 7 es neutra (Fundación Nacional de Salud, 2013).

El pH es la actividad de ion hidrónico H^+ expresada en moles por litro. La concentración de ión hidrógeno inadecuado en un agua residual indica que es muy difícil su tratamiento por procesos biológicos. El pH se puede determinar por medio de un pH-metro o potenciómetros, aunque también puede emplearse papel indicador (Metcalf y Eddy, 2003).

2.1.7 PARÁMETROS QUÍMICOS.

a.- Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)

La DBO_5 es la cantidad medida de oxígeno que requieren microorganismos aclimatados para degradar biológicamente la materia orgánica del agua. La DBO_5 es el parámetro más importante en el control de la contaminación, como una base para estimar, este dato se utiliza como una medida de la contaminación orgánica, como una base para estimar el oxígeno necesario para los procesos biológicos y como un indicador del rendimiento de los procesos. Existen diversas variantes de la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno y la más frecuente es la determinación de DBO a los cinco días (DBO) (Glynn y Heinke, 1999).

b.- Demanda Química de Oxígeno (DQO)

Se define como la cantidad de oxígeno consumido en la oxidación mediante oxidantes químicos, de los constituyentes orgánicos del agua. El grado de

oxidación dependerá, del tipo de sustancias presentes, pH, temperatura, tiempo de reacción, presencia de catalizador, etc. (Ramos et al., 2003).

La medida de la DQO es una estimación de las materias oxidables presentes en el agua, cualquiera que sea su origen orgánico o mineral (hierro ferroso, nitritos, amoníaco, sulfuros y cloruros). Es un test particularmente útil para apreciar el funcionamiento de las estaciones depuradoras, y muchos venidos industriales. La DQO es función de las características de los compuestos presentes, de sus proporciones respectivas, de las posibilidades de oxidación (Seoanez, 1999).

c.- Aceites y grasas

Son todas aquellas sustancias de naturaleza lipídica, que al ser inmiscibles con el agua, van a permanecer en la superficie dando lugar a la aparición de natas y espumas. Estas natas y espumas entorpecen cualquier tipo de tratamiento físico o químico, por lo que deben eliminarse en los primeros pasos del tratamiento de un agua residual. Su efecto en los sistemas de tratamiento de aguas residuales o en las aguas naturales se debe a que interfieren con el intercambio de gases entre el agua y la atmósfera. No permiten el libre paso del oxígeno hacia el agua, ni la salida del CO₂ del agua hacia la atmósfera; en casos extremos pueden llegar a producir la acidificación del agua junto con bajos niveles del oxígeno disuelto, además de interferir con la penetración de la luz solar (Toapanta, 2006).

Las principales fuentes aportadoras de grasas y aceites son los usos domésticos, talleres automotrices y de motores e industria del petróleo, rastros, procesadoras de carnes y embutidos e industria cosmética. La determinación analítica de grasas y aceites no mide una sustancia específica sino un grupo de sustancias susceptibles de disolverse en hexano, incluyendo ácidos grasos, jabones, grasas, ceras, hidrocarburos, aceites y cualquier otra sustancia extractable con hexano (Toapanta, 2006).

Cuadro 1: límites máximos permisibles para plantas de tratamientos de aguas residuales domesticas o municipales.

PARAMETRO	UNIDAD	LMP DE EFLUYENTES PARA VERTIDOS A CUERPOS DE AGUAS
Aceites y grasas	mg/L	20
Coliformes Termotolerantes	NMP/100mL	10,000
Demanda Bioquímica de Oxígeno	mg/L	100
Demanda química de oxígeno	mg/L	200
Ph	Unidad	6.5 - 8.5
Solidos totales en suspensión	mg/L	150
Temperatura	°C	< 35

Fuente: D.S.Nro 003-2010 MINAM

2.1.8 MICROORGANISMOS EFICACES (EM) Y SU USO EN AGUAS

RESIDUALES

Se usa el término “microorganismos eficaces” o en inglés efficient microorganisms (EM) para denotar cultivos mixtos específicos de microorganismos benéficos conocidos que son empleados efectivamente

como inoculantes microbianos EM es una tecnología desarrollada por el Doctor Teruo Higa en la década de los ochenta en Okinagua, Japón y ha sido empleada en diferentes campos como la agricultura, industria animal, remediación ambiental, entre otros y se encuentra en la actualidad ampliamente distribuida (Sangkkara, 2002; Higa y Parr, 1994).

EM es un cultivo mixto de microorganismos no modificados genéticamente, con diversos tipos de metabolismo, que al encontrarse juntos presentan relaciones sinérgicas, de cooperación y cometabolismo. Estudios de las interacciones entre los diferentes integrantes de las comunidades microbianas han demostrado en varias ocasiones una mayor eficiencia de estos consorcios en los procesos de degradación, frente a estudios que involucran sólo a un gremio. El Dr. Higa encontró que se creaba un efecto potencializador al mezclar microorganismos con diversas características metabólicas (Atlas y Bartha, 1998; Higa y Parr, 1994).

Los microorganismos del EM poseen varias características útiles en procesos de biorremediación, entre las cuales se encuentran la fermentación de materia orgánica sin la liberación de malos olores y su capacidad de convertir los desechos tóxicos en sustancias no tóxicas (García, 2006), propiedades desionizantes que favorecen la detoxificación de sustancias peligrosas, quelación de metales pesados, producción de enzimas como la lignina peroxidasa, entre otras (Wididana y Higa, 1997).

Aunque EM ha sido usado exitosamente en muchos aspectos de manejo ambiental, no existen muchos reportes científicos de su uso en aguas

residuales, razón por la cual EM ha sido empleado para el tratamiento de aguas residuales es que los microorganismos que contiene secretan ácidos orgánicos, enzimas, antioxidantes y quelantes metálicos creando un ambiente antioxidante que ayude al proceso de separación sólido/líquido, el cual es el fundamento de la limpieza del agua (Higa y Chinen 1998; Okuda e Higa, 2005).

2.1.9 MICROORGANISMOS NATIVOS DESCOMPONEDORES DE MATERIA ORGANICA

Se mencionan diferentes microorganismos descomponedores de materia orgánica, entre los que podemos citar: *Pseudomona fluorescens*, *aspergillus spp*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus*, *Sacharomyces spp*, familia *Rhodospirillaceae*, *Trichoderma spp.* y entre otros, de los cuales describimos, los que se han hallado y se utilizaron en el presente trabajo de investigación.

2.1.9.1 *Aspergillus spp*

Una de las especies de hongos filamentosos más comunes es el género *Aspergillus*. Es un hongo filamentoso del grupo Deuteromycetes u hongos Imperfectos, se caracteriza por unas estructuras esporíferas o reproductoras llamadas conidias. El *Aspergillus* es un hongo ampliamente difundido en la naturaleza ya que se llega a desarrollar en vegetales en descomposición, granos de cereal, tejidos de algodón y, lana y plumas; su medio es un ambiente oscuro, húmedo y cerrado. Es posible encontrar esporas de *Aspergillus* en los depósitos de cereal, en los edificios en obras, en los

aparatos de aire acondicionado y en los alimentos enmohecidos. Las esporas de este hongo pueden sobrevivir en condiciones adecuadas, durante miles de años; se han encontrado esporas de *A. niger* y *A. flavus* en la comida, ropas, flores y otros objetos de las tumbas de los faraones del antiguo Egipto. También había una notable presencia de ambas especies en los restos del rey Casimiro de Polonia y en la momia y el sarcófago de Ramses II. Se conocen unas 900 especies del género *Aspergillus*. Rapper y Fennell los clasifican en 18 grupos; basándose en su aspecto macroscópico y en las características morfológicas de los conidióforos, siendo de éste las especies más importantes: *Aspergillus fumigatus* (85%), *A. flavus* (5-10%) y *A. niger* (2-3%).

Al comienzo de su crecimiento *Aspergillus niger* forma colonias miceliales lanosas blancas o amarillentas; a medida que éste se desarrolla la superficie micelar se va cubriendo de diámetro, éstas se encuentran cargadas de esporas negras. Este hongo es un importante agente productor de ácidos orgánicos, principalmente glucónico, cítrico y oxálico; también es utilizado para la obtención de enzimas como la glucoamilasa y del 1- α -galactosidasa, por lo que es ampliamente cultivado para la producción industrial de estos compuestos químicos (Palao et al., 2010).

2.1.9.2 *Lactobacillus*

Dentro de los microorganismos que conforman el multicultivo EM los más abundantes son las bacterias ácido lácticas. Estos microorganismos producen ácido láctico a partir de azúcares y otros carbohidratos

generados por bacterias fotosintéticas y levaduras, como parte de su metabolismo. El ácido láctico es un componente con propiedades bactericidas que puede suprimir a los microorganismos patógenos, mientras ayuda a la descomposición de la materia orgánica, incluso en el caso de compuestos recalcitrantes como la lignina o la celulosa, ayudando a evitar los efectos negativos de la materia orgánica que no puede ser descompuesta (Sustainable Community Development, 2001).

No se tiene gran información precisa acerca de la forma en la cual actúan las bacterias ácido lácticas en el tratamiento de las aguas contaminadas, pero teniendo en cuenta sus características, se plantea que al disminuir el pH se genera una inhibición de patógenos. Sin embargo, no sólo el ácido láctico es responsable de los efectos antimicrobianos generados por los lactobacilos. En el estudio realizado por Kelly et al. (1998), se determinó que parte del comportamiento antagónico frente a patógenos del ácido láctico se debía a la producción de péptidos antimicrobianos y compuestos de bajo peso molecular, como la bacteriosina clase I, y la nisina, péptido de 34 carbonos que es activo frente a la mayoría de las bacterias Gram positivas (Early, 1998).

En lo que se refiere a los requerimientos de crecimiento para el grupo de las bacterias ácido lácticas, se encuentran como generalidades que estas son bacterias microaerófilas, razón por la que debe procurarse que la incubación se realice en una atmósfera con 5% de CO₂. Por lo general, para su crecimiento se emplean un incubación de 3 días, a 37°C

o hasta 5 días a 30°C, puesto que son microorganismos de crecimiento relativamente lento y sus rendimientos metabólicos dependen de la temperatura directamente (Merck, 2003).

2.1.9.3 *Saccharomyces cerevisiae*

S. cerevisiae pertenece al grupo de las levaduras; estos son organismos eucarióticos unicelulares y por lo tanto sus estructuras se encuentran formadas por pared celular, núcleo diferenciado y organelos como ribosomas y mitocondrias. La formación de una cápsula de polisacáridos, la ausencia o presencia de vacuolas y el desarrollo de las mitocondrias dependen de las condiciones fisicoquímicas y de la edad del cultivo (Tuite y Oliver, 1991).

Taxonómicamente, tienen las siguientes características:

Reino : Fungi

División : Amastogomycota

Clase : Ascomycetes

Subclase : Hemiascomycetidae

Orden : Endomycetales

Familia : Saccharomycetaceae

Subfamilia : Saccharomycetidae

Género : *Saccharomyces*

Especie : *S. cerevisiae*

Fuente: (Carballo, 2000).

Como un microorganismo perteneciente al grupo de las levaduras, comparte con ellas las siguientes características:

Dimensiones (micras) 4- 8

Tiempo de duplicación (horas) 1– 3

pH (rango óptimo) 4,5-5,5

Nitrógeno (%) 7,5– 8,5

Proteína (%) 35– 45

Ácidos Nucleicos (%) 6– 12

Carbohidratos (%) 30– 45

Fuente: (Ospina y Palacios, 1994).

Reproducción: *S. cerevisiae* se divide por gemación y puede tener una reproducción asexual cuando se encuentra en su forma haploide y de manera sexual cuando, a partir de un cigoto, se forma un asca que contiene cuatro ascosporas haploides (característica de especie). El apareamiento sexual de las levaduras sólo puede ocurrir entre células haploides de distinto sexo. Se definen por tanto dos tipos sexuales: a y α (alfa). La determinación sexual se debe a la diferencia en un único locus, conocido como MAT que gobierna el comportamiento sexual entre células haploides y diploides. En la división por gemación las células hijas son de tamaño inferior al de las células madre. Metabolismo: *S. cerevisiae* realiza fermentación alcohólica, en la cual el etanol es formado a partir de la D-glucosa; éste azúcares convertido en piruvato por la vía de Embden Meyerhof Parnas (glucólisis). El piruvato producido durante la glucólisis es descarboxilado a acetaldehído por

la piruvato descarboxilasa, después el acetaldehído es reducido a etanol por alcohol deshidrogenada (Fajardo y Sarmiento, 2007).

2.1.9.4 *Bacillus subtilis*

El *Bacillus subtilis* es una bacterias Gram positiva, aerobio facultativo, comúnmente encontrada en el suelo. Miembro del género *Bacillus*, el *B. subtilis* tiene la habilidad para formar una resistente endospora protectora, permitiendo al organismo tolerar condiciones ambientalmente extremas, otro de los elementos que caracteriza a los *Bacillus sp.* es la producción de enzimas hidrolíticas que ayudan a mejorar la utilización de los alimentos. Dentro de estas se encuentran las proteasas, amilasas y las glicosidasas que descomponen las complejas moléculas de los alimentos y las transforman en nutrientes más simples. Estos compuestos son absorbidos más rápidamente por el animal o pueden ser empleados por otras bacterias beneficiosas para el establecimiento de una microbiota intestinal balanceada. El empleo de las bacterias del género *Bacillus* y sus endosporas también viene dado por su capacidad de producción de enzimas, estas además de mejorar la digestión en el hospedero, son capaces de inhibir el crecimiento microbiano de bacterias dañinas (Lastras 2009; Milian 2005)

2.2 ANTECEDENTES

Trabajos realizados en la Universidad EARTH en la estabilización de lodos sépticos producidos en la misma entidad. Para cumplir con su objetivo, utilizaron Microorganismos Eficaces (EM). Para determinar su eficacia en la

estabilización de los lodos sépticos realizaron dos tratamientos, 0 % de EM y 10 % (v/v) EM, de los cuales se hicieron dos repeticiones en tanques anaeróbicos con 1 m³ de lodos sépticos cada uno. Los resultados revelaron una diferencia, desde la segunda semana, entre el tratamiento de 0 % EM y 10% EM. Los principales indicadores que favorecen al tratamiento 10 % EM son: reducción casi total de coliformes totales y fecales, cambio de un olor muy fuerte y putrefacto a un olor fuerte de fermentación, reducción de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5), reducción del contenido de nitratos y reducción del pH. Estos resultados reflejan la eficacia del 10% EM en la estabilización de los lodos sépticos para su uso agrícola (Fioravanti et al., 2005).

(Cardona y García, (2008) realizaron trabajos de evaluación del efecto de los microorganismos eficaces (EM®) sobre la calidad de un agua residual doméstica en la cual tuvo como objetivo monitorear algunos de los cambios fisicoquímicos y microbiológicos que se presentaron en un ARD tras aplicar 3 diferentes concentraciones de EM®. Para este fin se evaluaron tres dosis de EM® (1/10000, 1/5000 y 1/3000 v/v), y a dos profundidades establecidas de (20 y 40 cm), las muestras se tomaron a los 0, 10, 30 y 45 días analizando parámetros físicoquímicos (OD, pH, T, DQO, DBO5, ST, NO₃⁻, NO₂⁻, NH₄⁺, PO₄⁻³, SO₄⁻² y S₂⁻) y microbiológicos (coliformes totales y fecales, heterótrofos totales, levaduras, lactobacilos y bacterias fototróficas). Bajo las condiciones del estudio, los resultados no mostraron diferencias significativas entre las profundidades evaluadas, de igual forma no se observaron diferencias significativas entre el control y los tratamientos para

la mayoría de los parámetros, a excepción de la disminución significativa de S2- (30 y 45 d) y coliformes fecales (10 d), así como recuentos significativamente mayores en levaduras y mayor DBO5 (30 y 45 d) en los tratamientos.



III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO

El presente trabajo de investigación fue realizado en la Universidad Nacional del Altiplano Puno, las muestras se procesaron en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, y en el Laboratorio de Aguas y Suelos de la Facultad de Ciencias Agrarias, ambos situados en la Ciudad Universitaria, PUNO, que se encuentra a una altitud de 3827msnm a 15° 01' 18" de longitud oeste (SENAMHI, 2009).

3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL

Para este trabajo de investigación se ha utilizado aguas residuales de la ciudad de Puno, colectados de los ductos antes del ingreso a la laguna de oxidación sin previo tratamiento alguno, la cual se han distribuido en 7 cubos de vidrio, en las cuales se han depositado 5L de agua residual en cada una de ellas, se agrupó en tres tratamientos, cada uno tuvo dos unidades de estudio y cada tratamiento con 3 repeticiones (dosis de microorganismos), y uno quedó como testigo(sin adición de microorganismos).

G



esquema de distribución de las unidades de estudio

3.3. METODOLOGÍA

3.3.1 PRODUCCIÓN DE MICROORGANISMOS

Como sustrato para los microorganismos se utilizó la melaza, esta se preparó al 5%, luego se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos a una presión de 21 libras, en el preparado se realizó el sembrado de los microorganismos a partir de cultivos ya aislados en el laboratorio, y ésta se incubó en estufa por 7 días a una temperatura constante de 37°C, pasado los 7 días en la estufa se evaluó el estado viable y la multiplicación de los microorganismos, para ello se hizo la coloración de Gram, en la cual se observó la gran cantidad de estos, de esta manera pudiendo confirmar la presencia de microorganismos y el estado viable de los mismos.

Del preparado anterior se realizó la siembra en volúmenes más grandes en solución de melaza al 5%, por el mismo tiempo y temperatura de incubación en la estufa.

3.3.2 APLICACIÓN DE MICROORGANISMOS EN AGUAS RESIDUALES

Al inicio del estudio (día 0) se realizó la adición de microorganismos con una proporción de 1:1000 v/v (dosis de choque), a todos los tratamientos y se homogenizó manualmente con una espátula, la dosis de choque se adicionó con la finalidad de poblar o incrementar la gran cantidad de microorganismos sobre las aguas residuales, las cuales puedan mantener la población de microorganismos hasta la próxima adición. Las aplicaciones de los microorganismos posteriores, correspondientes a los días 10 y 30 a partir del

inicio del estudio se realizaron de igual manera pero empleando la concentración de microorganismos específico para cada tratamiento, volúmenes de 1:1000, 1:5000, 1:10000 para cada tratamiento, el cual se detalla en el siguiente cuadro.

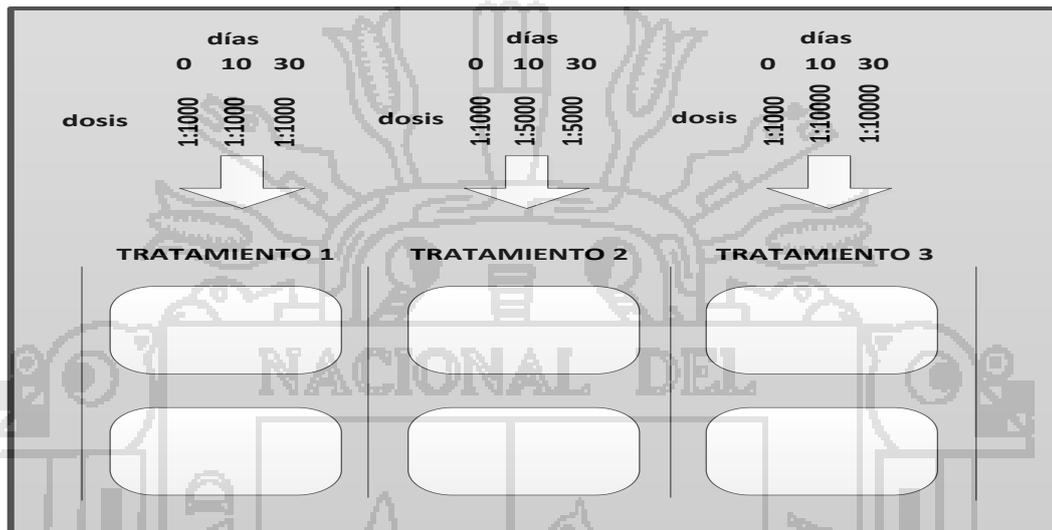


Gráfico 02: esquema de dosificación y repeticiones en las unidades de estudio

3.3.3 TOMA DE MUESTRAS

Los muestreos se efectuaron a los 0, 10, 30 y 45 días, colectando un total de 22 muestras. En cada uno de ellos se tomó 0.5 L de agua en recipientes de botellas de plástico, previo enjuague con el agua en estudio, durante el estudio se tomó las muestras previo homogenizado. Los muestreos correspondientes al día 0, 10 y 30 coincidían con los eventos de aplicación de las dosis de microorganismos, las muestras se tomaron antes de agregar las respectivas dosis, los cuales se detallan en el siguiente cuadro.

	Día 0	Día 10	Día 30	Día 45
Testigo	X	X	x	x
Dosis 1:1000		X	x	x
		X	x	x
Dosis 1:5000		X	x	x
		X	x	x
Dosis 1: 10000		X	x	x
		X	x	x

Para el análisis estadístico se analizaron los promedios de los 2 cubos de cada tratamiento y cada dosis, a excepción del testigo donde se consideró solo los datos de obtenidos en los diferentes periodos, de esta forma obteniéndose un total de 12 datos a procesar, de las cuales n , según dosis fue de 3 tanto para testigo, dosis de 1:1000, 1:5000 y 1:10000, y n según periodo de evaluación fue de 4 para los días 10, 30 y 45.

3.3.4 REALIZACIÓN DE LOS ANÁLISIS PARA LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS

3.3.4.1. DETERMINACIÓN DEL NMP DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES

Para determinar los coliformes termotolerantes en las muestras se realizó mediante la técnica de fermentación en tubos múltiples (Método de tubos múltiples de 3 tubos.) en la cual los resultados del estudio de los tubos y diluciones se comunican en términos de número más probable (NMP/100mL) de microorganismos existentes (número equivalente a la densidad media de coliformes en la muestra). En la cual la densidad

bacteriana se calcula por medio de los códigos generados en los resultados del análisis presuntivo y por medio de la tabla de número más probable de coliformes por 100mL, y según las diluciones realizadas en el estudio.

MATERIALES

MEDIOS DE CULTIVO

- Medio de cultivo caldo lactosado
- Medio de cultivo EMB
- Medio de cultivo agar Mac Conkey

INSTRUMENTAL

- Estufa
- Autoclave
- Microscopio
- Balanza analítica

OTROS

- Erlenmeyer de 250 mL
- Tubos de ensayo
- Campanas de Durhan
- Mechero bunsen
- Muestra de aguas
- Pipetas
- Placas petri

a. ANALISIS PRESUNTIVO

PROCEDIMIENTO

Para realizar el análisis presuntivo se utilizó como medio de cultivo el caldo lactosado la cual se preparó según la dosis del medio 13g por litro, tres tubos de doble concentración y seis tubos de simple concentración para una muestra, las cuales se llevaron al autoclave por quince minutos a una presión 15 libras y 121°C de temperatura.

Para realizar el sembrado se colectó 5mL de muestra las cuales se diluyeron en agua estéril de 45mL, para las primeras muestras se realizaron 4 diluciones las posteriores 2,1 y sin dilución las ultimas muestras, (las cuales se detallan en anexo, cuadro Nro 08) de las diluciones realizadas se sembraron 10mL en los tres tubos de doble concentración, 1mL en los tres tubos de simple concentración y 0.1mL en los tres tubos sobrantes de simple concentración, todos ellos se llevó a estufa de 44.5°C por 24 a 48 horas. Los resultados se calcularon según la tabla de NMP de coliformes termotolerantes o coliformes fecales (anexo cuadro Nro 09) y numero de diluciones realizadas según para cada muestra (Pelczar y Reid, 1978).

b. ANALISIS CONFIRMATIVO

PROCEDIMIENTO

En esta fase se confirmó la presencia o ausencia de coliformes termotolerantes o coliformes fecales, mediante el Agar Levine ó EMB (Eosina azul de metileno) la cual se preparó según las instrucciones de

medio 39g por 1 litro de agua destilada. En este medio se hizo la siembra de todos aquellos tubos que produjeron gas en el análisis presuntivo, una vez sembrado se llevó a estufa a una temperatura de 37°C por 24 horas. Método adoptado de (Pelczar y Reid, 1978).

Los resultados obtenidos en la tabla del MNP se multiplicaron por las diluciones, para obtener las cantidades de coliformes termotolerantes o totales por 100mL.

DETERMINACIÓN DE LOS ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS

La determinación de los análisis físicos químicos fue solicitado y realizado en el laboratorio de aguas y suelos de la facultad de ciencias agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano Puno, el procedimiento para los diferentes índices fisicoquímicos se detalla en anexos.

3.4. MÉTODO ESTADÍSTICO

Las informaciones (datos) obtenidas sobre las variables estudiadas han sido analizados mediante Diseño Bloque Completamente al Azar, donde los tratamientos fueron tres dosis de microorganismos como: *Aspergillus spp*, *Lactobacillus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus subtilis* y un testigo, y el bloque fue número de periodos por tratamiento; cuyo modelo aditivo lineal es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + D_i + B_j + E_{ijk}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable de respuesta (SST, PH, DBO, DQO, aceites y grasas,
Temperatura y Coliformes termotolerantes)

μ = Media poblacional.

D_i = Efecto de la i -ésima dosis de microorganismos (1, 2, 3 y 4).

B_j = Efecto de la j -ésima periodo (1, 2 y 3)

E_{ij} = Efecto del error no controlable.

Los resultados de cada uno de los cuadros fueron interpretados a través de estadísticos de medidas de tendencia central y medidas de dispersión como valores extremos.

El contraste de promedios estadísticos de las variables en estudio fue analizado empleando la Prueba Múltiple de Significación de Duncan con un nivel de significación al 0.05.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. SÓLIDOS TOTALES EN SUSPENSIÓN (STS)

Los resultados de la determinación de sólidos totales en suspensión de aguas residuales de la ciudad de Puno, se muestran en la tabla 1, del anexo, donde observamos que no existen diferencias significativas en la variación de sólidos totales en suspensión (STS) de aguas residuales de la ciudad de Puno, por el efecto de diferentes dosis de microorganismos nativos, ni por efecto de periodo de evaluación ($P \geq 0.05$), lo cual se detalla en el siguiente cuadro:

CUADRO 2: ESTADÍSTICOS PARA SÓLIDOS TOTALES EN SUSPENSIÓN (STS) EN AGUAS RESIDUALES TRATADAS CON MICROORGANISMOS NATIVOS

Estadísticos Dosis de microorganismos	n	Promedios (mg/L de agua)	Valores extremos
Testigo	3	97.93	95.8 – 99.7
1:1000	3	99.80	99.8 – 99.9
1:5000	3	98.10	94.75 – 99.85
1:10000	3	99.70	99.6 – 99.8

GRAFICO 3: REPRESENTACION GRÁFICA DE RESULTADOS PARA SÓLIDOS TOTALES EN SUSPENSIÓN (STS)



En el cuadro 2 y el gráfico 3 observamos estadísticos para la variable sólidos totales en suspensión (STS) por efecto de tratamiento con diferentes dosis de microorganismos nativos como: *Aspergillus spp*, *Lactobacillus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus subtilis*; en donde mostraron 97.93, 99.8, 98.10 y 99.70 mg de sólidos totales en suspensión (STS)/L en agua residual, para las diferentes dosis; (testigo sin adición de microorganismos), 1:1000, 1:5000 y 1:10000, respectivamente, ($P \geq 0.05$). Esta similitud entre el testigo y los tratamientos se le atribuye porque en el estudio, al parecer influyó la temporada de lluvias por que las muestras tomadas para el estudio fueron diluidas por el ingreso de gran cantidad de aguas pluviales a los ductos colectores de aguas residuales en gran parte procedentes de las arterias de la ciudad de Puno. Otro factor que pudo influir en el estudio fue la adición de aguas residuales con previo tratamiento de dosis de choque, a los cubos con aguas residuales en estudio, debido al evaporamiento del agua residual que era muy rápido, a los cuales se adicionó las aguas. Como consecuencia pudiendo estas mantener la concentración de sólidos totales en suspensión, tanto en el testigo y los tratamientos.

Estos valores comparados con los límites máximos permisibles del Decreto supremo Nro 003-2010 MINAM del ministerio del ambiente, son inferiores, dado que el límite máximo es de 150mg/L de solidos totales en suspensión, pero en el estudio realizado se obtuvo valores de 97.93, 99.8, 98.10 y 99.70 mg/L, para (testigo sin adición de microorganismos), 1:1000, 1:5000 y 1:10000, respectivamente.

4.2. POTENCIAL DE HIDROGENIONES (pH).

Los resultados de la determinación del potencial de hidrogeniones en aguas residuales de la ciudad de Puno, se muestran en la tabla 2 del anexo; en el cual no se evidenció diferencias significativas en la variación del PH en aguas residuales de la ciudad de Puno, por el efecto del tratamiento con diferentes dosis de microorganismos nativos, ni por periodo de evaluación ($P \geq 0.05$); lo cual se detalla en el siguiente cuadro:

CUADRO 3: ESTADISTICOS PARA pH EN AGUAS RESIDUALES TRATADAS CON MICROORGANISMOS NATIVOS

Estadísticos		Promedios	
Dosis de microorganismos	N		Valores extremos
Testigo	3	7.4	7.20 – 7.60
1:1000	3	7.8	7.10 – 8.10
1:5000	3	7.9	7.15 – 8.55
1:10000	3	8.0	7.20 – 8.55

GRAFICO 4: REPRESENTACION GRÁFICA DE RESULTADOS PARA SOLIDOS TOTALES EN SUSPENSION (STS) SEGÚN DOSIS DE MICROORGANISMOS.



En el cuadro y gráfico precedente se presenta estadísticos para la variable pH por efecto de diferentes dosis de microorganismos nativos como: *Aspergillus spp*, *Lactobacillus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus subtilis*; en donde mostraron 7.4, 7.8, 7.9 y 8.0 de pH en agua residual tratadas con diferentes dosis; (testigo sin adición de microorganismos), 1:1000, 1:5000 y 1:10000, respectivamente ($P \geq 0.05$). Se puede observar que el testigo tiene un pH casi neutro mientras que los tratamientos tienden a subir hacia lo alcalino, llegando hasta un pH de 8.0 el tratamiento de 1:10000. Pero sin embargo tras las dosificaciones en los diferentes periodos no ha mostrado diferencia significativa alguno entre los tratamientos y el testigo, sin embargo como se observa tanto el testigo y los tratamientos tienden a subir, aunque no es significativo estadísticamente, esto se debería a la presencia de sales minerales disueltas, incluyendo sulfatos, carbonatos y bicarbonatos que

gracias a la presencia de estos compuestos el pH tiende a subir (Sawyer et al., 2000).

Estos valores comparados con los límites máximos permisibles del Decreto supremo Nro 003-2010 MINAM del ministerio del ambiente, se encuentran dentro del rango establecido que es de 6.5 a 8.5; La tendencia hacia lo alcalino del pH obtenido en este estudio, no coincidió con lo reportado a diferencia de los establecido por (Fioravanti et al., 2005), quien evaluó EM® como estabilizador de AR y lodos sépticos y en cuyo trabajo se presentó una disminución en el pH de 6.3 a 4.5, eliminando el 99% de los coliformes fecales y totales, mientras que en nuestro trabajo la eliminación de coliformes termotolerantes se atribuye al efecto antimicrobiano producido por los micrororganismos adicionados, en tanto que (Cardona y García, 2008) registraron un promedio de 7.6 ± 0.11 a 6.9 ± 0.17 en aguas residuales tratadas con EM, donde tampoco hubo significancia en este parámetro con respecto al testigo; por tanto nuestros resultados obtenidos en nuestro estudio indica que no hubo significancia o efecto alguno sobre las aguas residuales tras la adición de diferentes dosis de microorganismos nativos, y tampoco en los diferentes periodos.

4.3. DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO

Los resultados de la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno se muestran en la tabla 3 del anexo; en donde no mostró diferencias significativas en aguas residuales de la ciudad de Puno, por el efecto del tratamiento con diferentes dosis de microorganismos nativos y asimismo por

efecto del periodo de evaluación ($P \geq 0.05$); lo cual detallamos en el siguiente cuadro:

CUADRO 4: ESTADISTICOS PARA DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO (DBO) EN AGUAS RESIDUALES TRATADAS CON MICROORGANISMOS NATIVOS.

Estadísticos Dosis de microorganismos	N	Promedios (mg/L de agua)	Valores extremos
Testigo	3	440.30	366.80 – 523.40
1:1000	3	658.75	373.90 – 836.85
1:5000	3	417.50	267.05 – 623.22
1:10000	3	533.60	160.83 – 870.85

GRAFICO 5: REPRESENTACION GRÁFICA DE RESULTADOS PARA DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO (DBO) SEGÚN DOSIS DE MICROORGANISMOS.



En el cuadro 4 y el grafico 5, se muestra estadísticos para la variable demanda bioquímica de oxígeno (DBO) por efecto de diferentes dosis de microorganismos nativos como: *Aspergillus spp*, *Lactobacillus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus subtilis*; en donde mostraron 440.30, 658.75, 417.50 y 533.60 mg/L de agua para la dosis; (testigo sin adición de microorganismos), 1:1000, 1:5000 y 1:10000, respectivamente ($P \geq 0.05$); cómo podemos observar la DBO tiende a incrementar a medida que se aumenta las dosis de microorganismos en los diferentes tratamientos con respecto al testigo, esto se atribuye a que por consecuencia del evaporamiento

se incrementaba agua con previo tratamiento con dosis de choque, la cual incrementó la DBO sabiendo que esta es una medida indirecta de la concentración de materia orgánica biodegradable .

Estos valores contrastados con el decreto supremo Nro 003 – 2010 MINAM del ministerio del ambiente, que establece como límite máximo permisible para efluentes de aguas residuales municipales posterior a su tratamiento de 100mg de DBO/L, en nuestro trabajo realizado los datos registrados son superiores a lo establecido por la MINAM, los cuales se detallan en el grafico anterior, (Cardona y García, 2008) también realizaron trabajos de tratamiento con EM en aguas residuales a una dosis de 1:3000, 1:5000 y 1:10000, en las cuales los resultados tampoco fueron diferentes, las unidades de estudio con respecto al control, llegándose de esta forma a concretar algunas diferencias no significativas, en nuestro estudio el

incremento de la DBO se le atribuye al incremento de aguas residuales con dosis de choque para contrarrestar la evaporación. Resultados similares a los obtenidos, han sido reportados por (Shelton,1991), en donde se observó un incremento de la DBO5, debido a la adición de EM®, por la gran cantidad de carbohidratos que contiene el medio de mantenimiento de EM®.

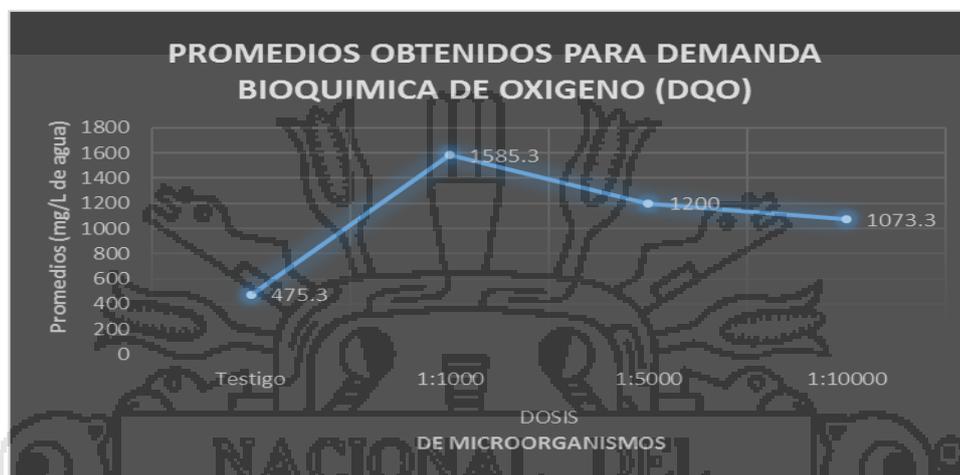
4.4. PARA DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO

Los resultados de la determinación de la demanda química de oxígeno, se muestran en la 4 del anexo, en el cual observamos que no se encontró diferencias significativas en la variación de la demanda química de oxígeno (DQO) en aguas residuales de la ciudad de puno, por el efecto del tratamiento con diferentes dosis de microorganismos nativos, ni por efecto del periodo de evaluación ($P \geq 0.05$); lo cual indica que, no influyó en la variación de los tratamientos con respecto al testigo, lo cual se detalla en el cuadro siguiente:

CUADRO 5: ESTADISTICOS PARA DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO (DQO) EN AGUAS RESIDUALES TRATADAS CON MICROORGANISMOS NATIVOS.

Estadísticos Dosis de microorganismos	n	Promedios (mg/L de agua)	Valores extremos
Testigo	3	475.30	340 – 556
1:1000	3	1585.30	656 – 2220
1:5000	3	1200.00	600 – 1400
1:10000	3	1073.30	360 – 1580

GRAFICO 6: REPRESENTACION GRÁFICA DE RESULTADOS PARA DEMANDA QUÍMICA DE OXIGENO (DQO) SEGÚN DOSIS DE MICROORGANISMOS.



En el cuadro 5 y grafico 6, observamos que la variable demanda química de oxígeno (DQO) por efecto de diferentes dosis de microorganismos nativos como: *Aspergillus spp*, *Lactobacillus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus subtilis*; en el cual encontramos 475.30, 1585.30, 1200.00 y 1073.30 mg de DQO/L de agua residual para la dosis; (testigo sin adición de microorganismos), 1:1000, 1:5000 y 1:10000, respectivamente ($P \geq 0.05$); lo cual se puede observar que la DQO tiende a incrementar en los tratamientos con respecto al testigo, esto se atribuye a que por consecuencia del evaporamiento se incrementaba agua previo tratamiento con dosis de choque, la cual al parecer incrementó la DQO sabiendo que esta es una medida indirecta de la cantidad de oxígeno que se utiliza para oxidar la materia orgánica y parte de la materia inorgánica.

Estos valores encontrados resultaron ser superiores a lo establecido por el ministerio de ambiente por el decreto supremo Nro 003 – 2010 del MINAM la cual establece un límite de 200mg/L para la DQO, (Cardona y García, 2008) también reportaron resultados no numerales donde el control y los tratamientos disminuyeron hasta el día 10 y pasado los días 30 y 45 la variación fue muy mínima, a pesar de ello estadísticamente desde el inicio del estudio hasta el final no hubo significancia, atribuyendo a la materia inorgánica existente y por la presencia de compuestos, cuya estructura química es compleja, no permite su fácil degradación (Ngurah, 2005), las cuales una vez oxidada la materia orgánica de fácil degradación sigue la demanda de oxígeno para oxidar la materia inorgánica existente en el medio, la cual eleva los resultados encontrados en nuestro estudio. El incremento de la DQO y DBO en nuestro experimento no se le atribuye a la acción de los microorganismos utilizados, considerando que los microorganismos utilizados son anaerobios.

4.5. ACEITES Y GRASAS

Los resultados de la determinación de aceites y grasas, se muestran en la tabla 5 del anexo; donde observamos que no se evidenció diferencias significativas en la variación de aceites y grasa en aguas residuales de la ciudad de puno, por el efecto del tratamiento con diferentes dosis de microorganismos nativos ($P \geq 0.05$); no obstante que, sí encontramos diferencias significativas en la variación de aceites y grasas en aguas residuales por efecto de periodo de evaluación ($P \leq 0.05$). Esto indica que, los aceites y grasas varían por efecto de periodo de evaluación tras la adición

de diferentes dosis de microorganismos, lo cual se evidencia en los siguientes cuadros:

CUADRO 6: ESTADÍSTICOS PARA ACEITES Y GRASAS EN AGUAS RESIDUALES TRATADAS CON MICROORGANISMOS NATIVOS SEGÚN DOSIS.

Estadísticos Dosis de microorganismos	n	Promedios (mg/L de agua)	Valores extremos
1:1000	3	16.47	14.60–19.20
1:5000	3	19.70	12.24 – 25.05
1:10000	3	16.50	8.752 – 20.36
Testigo	3	20.30	13.75 – 24.85

GRAFICO 7: REPRESENTACION GRÁFICA DE RESULTADOS PARA ACEITES Y GRASAS SEGÚN DOSIS DE MICROORGANISMOS.



En el cuadro 6 y el grafico 7, se evidencia el esquema para la variable aceites y grasas por el efecto de diferentes dosis de microorganismos

nativos como: *Aspergillus spp*, *Lactobacillus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus subtilis*; en el cual observamos 16.47, 19.70, 16.50 y 20.30 mg de aceites y grasas/L de agua residual para la dosis 1:1000, 1:5000, 1:10000, y (testigo sin adición de microorganismos) respectivamente ($P \geq 0.05$), como se observa las unidades de estudio tienden a disminuir con respecto al tratamiento, pero esa diferencia no es significativa, estos valores se atribuyen a las aguas incrementadas, estas pudiendo mantener las concentraciones de grasas y aceites.

Nuestros valores encontrados en el estudio oscilan por debajo del límite máximo permisible establecido por el ministerio del ambiente decreto supremo Nro 003- 2010 del MINAM, donde establece un máximo de 20mg/L de aceites y grasas para aguas residuales municipales tratadas, se asume que los resultados encontrados próximos a 20mg/L es a consecuencia de la temporada de lluvias en la ciudad de puno, en la cual las aguas de lluvia diluyen las grasas de aguas residuales propiamente dichas así que, de esta manera reducen su concentración; sin embargo estas diferencias mínimas de los resultados obtenidos y con lo establecido por la MINAM no se atribuye al efecto del tratamiento por los microorganismos nativos, esta variación radica en una de las propiedades de la grasa que es hidrofóbico, entonces se asume que en el momento de la distribución de las unidades de estudio a pesar de la homogenización del agua no se pudo homogenizar por completo, de esta manera distribuyéndose a diferentes concentraciones en las unidades.

CUADRO 7: ESTADISTICOS PARA ACEITES Y GRASAS EN AGUAS RESIDUALES TRATADAS CON MICROORGANISMOS NATIVOS SEGÚN PERIODO

Estadísticos Periodo de tratamiento	n	Promedios (mg/L de agua)	Valores extremos
10 días	4	12.30 ^b	8.75 – 13.75
30 días	4	19.70 ^a	15.60 – 22.20
45 días	4	16.50 ^a	19.20 – 24.85

GRAFICO 8: REPRESENTACION GRÁFICA DE RESULTADOS PARA ACEITES Y GRASAS SEGÚN PERIODO DE AVALUACION.



En el cuadro 7 y el gráfico 8, se presenta promedios de aceites y grasas en aguas residuales tratadas con microorganismos nativos, donde a los 30 días y 45 días se ha encontrado valores de 19.70 y 16.50 mg de aceites y grasas/L de agua residual, estos fueron superiores a los 10 días de evaluación que mostró 12.30 mg de aceites y grasas/L de agua residual y fue inferior al de los anteriores ($P \leq 0.05$). Esta diferencia probablemente se

deba a que a medida que transcurría el tiempo las aguas se evaporaban y en nuestro estudio se incrementaba las aguas residuales con previo dosis de choque y tras el previo incremento de agua con dosis de choque se incrementó los aceites y grasas.

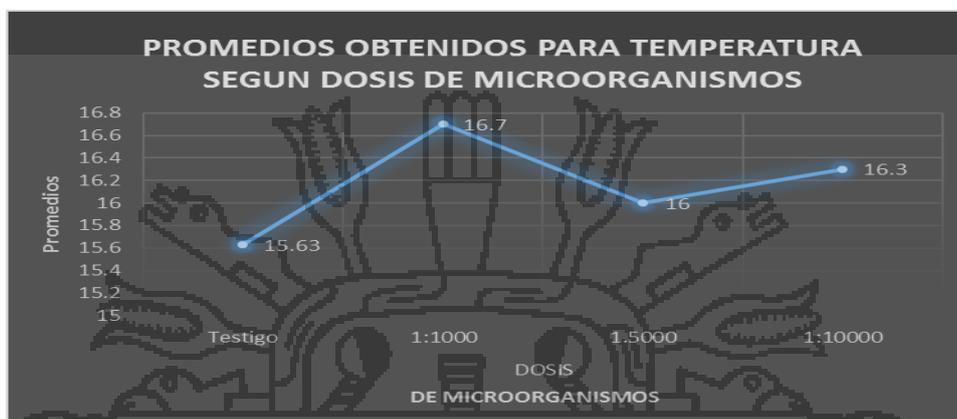
4.6. PARA TEMPERATURA

Los resultados de la determinación de la temperatura se muestran en la tabla 6 del anexo; en el cual encontramos que no existen diferencias altamente significativas en la variación de la temperatura en agua residuales de la ciudad de puno, por el efecto del tratamiento con diferentes dosis de microorganismos nativos ($P \geq 0.05$); lo cual indica que, no influye en la variación posterior a la adición de estos microorganismos, el mismo que se detalla en el cuadro 8.

CUADRO 8: ESTADÍSTICOS PARA TEMPERATURA (°C) EN AGUAS RESIDUALES TRATADAS CON MICROORGANISMOS NATIVOS.

Estadísticos Dosis de microorganismos	N	Promedios (°C)	Valores extremos
Testigo	3	15.63	14.50 – 17.40
1:1000	3	16.70	16.45 – 17.00
1:5000	3	16.00	15.65 – 16.75
1:10000	3	16.30	14.60 – 17.30

GRAFICO 9: REPRESENTACION GRÁFICA DE RESULTADOS PARA TEMPERATURA T° C SEGÚN DOSIS DE MICROORGANISMOS.



En el cuadro 8 el gráfico 9, observamos estadísticos para la variable temperatura por el efecto de diferentes dosis de microorganismos nativos como: *Aspergillus spp*, *Lactobacillus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus subtilis*; en donde mostraron 15.63, 16.70, 16.00 y 16.30 °C de temperatura para testigo, 1:1000, 1:5000 y 1:10000, (dosis de microorganismos/aguas residuales) respectivamente ($P \geq 0.05$); estas similitudes se atribuyen a que las unidades de estudio fueron acondicionados en ambiente templado y sombrío donde todos los cubos estuvieron en las mismas condiciones, de esta manera se asume que no hubo significancia en esta esta variable de estudio.

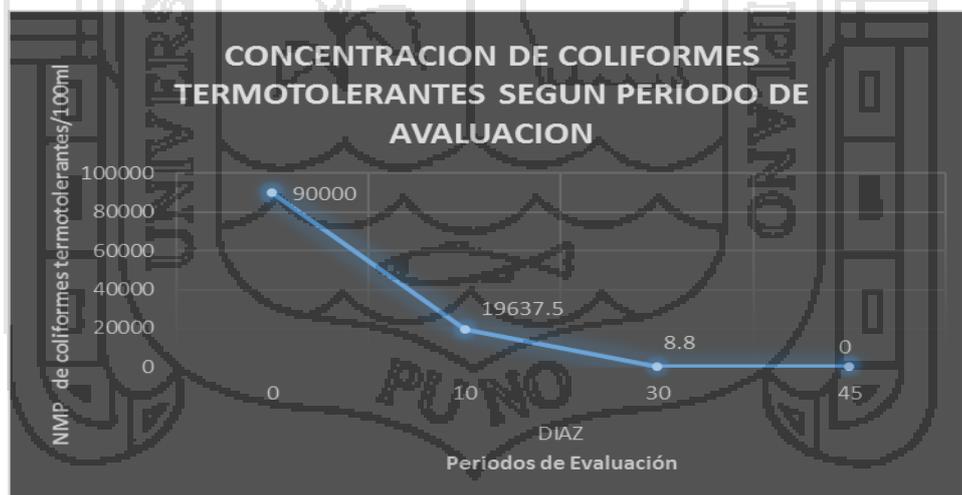
Estos valores encontrados se encuentran dentro de lo establecido por el ministerio de ambiente decreto supremo Nro 003-2010 MINAM donde establece que las aguas residuales municipales tratadas deben tener

temperaturas inferiores a 35°C, a pesar de registrar valores inferiores a lo establecido, no se atribuye a los tratamientos por que los volúmenes de agua no fueron muy grandes en consecuencia eran muy sensibles a la variación. De esta manera pudiéndose considerar muy cercanas a las temperaturas del lago Titicaca que es de 10°C a 16°C (Jica, 2000) entre enero y septiembre y a la temperatura de ambiente de Puno.

4.7. COLIFORMES TERMOTOLERANTES

Los resultados de la determinación de coliformes termotolerantes de aguas residuales de la ciudad de Puno, se muestran en el gráfico siguiente:

GRAFICO 10: ESTADISTICOS PARA NMP DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES EN AGUAS RESIDUALES TRATADAS CON MICROORGANISMOS NATIVOS EN LOS DIFERENTES PERIODOS DE EVALUACION.



En el gráfico anterior se presenta estadísticas para la variable NMP de coliformes termotolerantes por el efecto del periodo de evaluación tras la adición de diferentes dosis de microorganismos nativos como: *Aspergillus*

spp, *Lactobacillus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus subtilis*; en donde mostraron 90000, 19637.5, 8.8 y 0 de NMP de coliformes termotolerantes/100mL de agua para la dosis; Testigo, 1:1000, 1:5000 y 1:10000, respectivamente; los datos establecidos en el cuadro anterior muestran diferencias significativas, sin embargo tras los resultados de los demás variables, donde no hubo diferencia alguno, mientras la desaparición de coliformes termotolerantes en los días 30 y 45, se atribuye a que el pH óptimo para el desarrollo de la *E. coli* es de entre 6 y 7 y un mínimo de 4.4 (Atlas y Bartha, 2002), mientras en nuestro estudio el pH fue valores muy próximos a 8 y valores sobre 8, siendo esta uno de los factores que habría influido, Además Las cepas de lactobacilos producen sustancias antimicrobianas conocidas como; Lactobacillin, Lactolin, Lactobrevin, que son activas contra diversas bacterias presentes en la microflora normal del intestino, como *E. coli*, *Streptococcus*, *Clostridium difficile*, *Bacteroides fragilis* y *Salmonella* (Gorbach, 1996). Otro de los compuestos antimicrobianos producidos por el *bacillus subtilis* es la subtilina con propiedades antifúngicas y otros antibióticos de la familia de las Iturinas, atribuyendose de esta a lo mencionado como agentes que favorecieron la desaparición de los coliformes termotolerantes.

Estos valores comparados con lo establecido por el D.S. Nro 003- 2010 del MINAM, establece que las aguas residuales municipales posterior a su tratamiento deberán tener una cantidad de 10000 Coliformes termotolerantes /100mL como límite máximo permisible, sin embargo en nuestro estudio transcurrido los 10 días a la dosis de 1:1000 y 1:10000 el Nro de coliformes

lograron disminuir en comparación al testigo y a dosis de 1:5000, a los 30 y 45 días en las dosis de 1:1000, 1:5000, 1:10000 y en el testigo desaparecieron por completo, esto tal vez se deba a que en el estudio influyeron variables no controlables, y en estudios realizados por (Cardona y García, 2008) no mostró disminución alguna de los coliformes termotolerantes respecto al primer análisis esto probablemente al pH registrado que fue de 6.3.



V. CONCLUSIONES

Las variables físico químicas estudiadas como STS, pH, aceites y grasas y Temperatura no mostraron variabilidad por efecto del tratamiento con diferentes dosis de microorganismos nativos en el aguas residuales de la ciudad de Puno, tampoco superaron el LMP establecidos por el ministerio de ambiente D.S. Nro 003-2010 MINAM.

Las variables DBO, DQO no mostraron variabilidad por el efecto del tratamiento, pero fueron superiores a los LMP del ministerio del ambiente D.S. Nro 003-2010 MINAM; Mientras hubo variación para Coliformes termotolerantes por efecto de dosis de microorganismos y por periodo de evaluación, las cuales en los días 30 y 45 estuvieron por debajo de los límite máximo permisible (LMP).

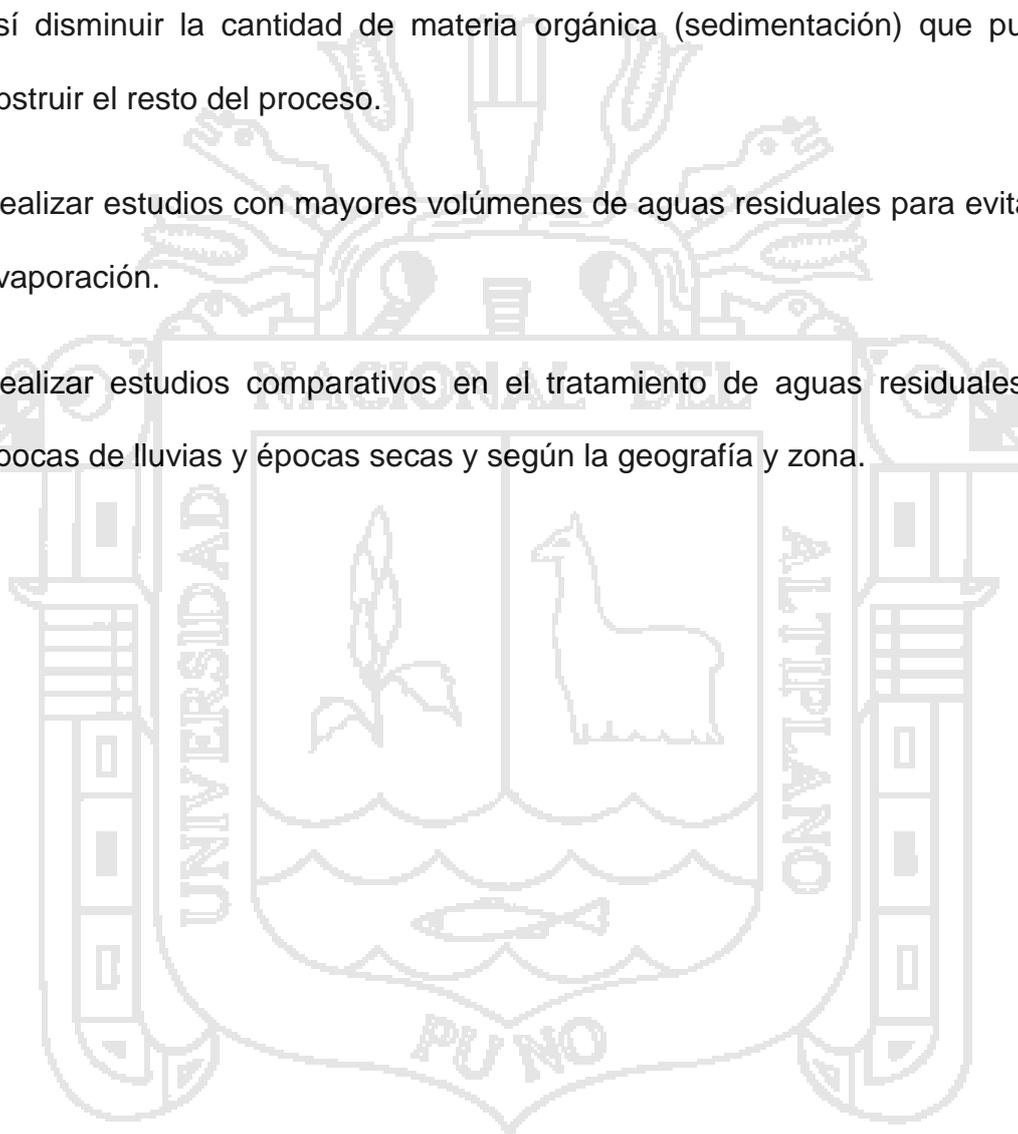
La variable aceites y grasas mostro diferencias significativas por efecto del periodo de evaluación; mientras para las otras variables no se encontraron variabilidad por efecto periodo de evaluación.

VI. RECOMENDACIONES

Para implementar como una alternativa los microorganismos para tratamiento de aguas residuales de la ciudad de Puno, es aconsejable que esta sea, sometida previamente a un tratamiento preliminar y/o primario para así disminuir la cantidad de materia orgánica (sedimentación) que pueda obstruir el resto del proceso.

Realizar estudios con mayores volúmenes de aguas residuales para evitar la evaporación.

Realizar estudios comparativos en el tratamiento de aguas residuales en épocas de lluvias y épocas secas y según la geografía y zona.



VII. BIBLIOGRAFÍA

- American Public Health Association (APHA), American Water Works Association y Water Pollution Control Federation. 1989. Standard Methods for the examination of Water and Wastewater. 17th ed. APHA, Washington, D.C.USA. Part 9000.
- Atlas, R., y R. Bartha. 1998. Ecología microbiana y microbiología ambiental. Tercera Edición. Editorial Addison Wesley. Madrid. España. 677pp.
- Atlas, R.; y Bartha, R. 2002. Ecología microbiana y microbiología ambiental. Cuarta edición. Pearson Educación S.A, Madrid, ES. 696 p.
- Blundi, E. 1988. Aplicação de métodos alternativos para a determinação de matéria orgânica em águas residuárias. Dissertação Doutorado em Hidráulica e Saneamento. Universidad de São Carlos. Brasil. 329pp.
- Calzada, J. 1983. Métodos estadísticos para la investigación. Editorial milagro S.A., Lima, Perú.
- Carballo, F. 2000. Microbiología industrial: microorganismos de interés industrial. Editorial Acribia. España. 20-31p.
- Cardona J., y L. Garcia. 2008. “Evaluación del efecto de los microorganismos eficaces sobre la calidad de un agua residual doméstica” tesis universitaria, Bogotá Colombia.

Decreto supremo D.S.Nro 003-2010 MINAM. "Aprueba límites máximos permisibles para los efluentes e plantas de tratamiento de aguas residuales doméstica o municipales" diario oficial el peruano.

Early, R. 1998. Tecnología de productos lácteos, Editorial Acribia Zaragoza España.

Fajardo E. y S. Sarmiento. 2007. "Evaluación de la melaza como sustrato para la producción de *Saccharomyces cerevisiae*" Pontificia Universidad Javeriana Bogotá Colombia.

Fernandez J., y M. Dolores. 2005. Métodos Analíticos para aguas residuales, revista.

Fioravanti M., N. Vega, C. Hernández, S. Okumoto, J. Yeomans (2005) eficiencia de los microorganismos eficaces (EM) en la estabilización de lodos sépticos para su uso agrícola. Universidad EARTH Las Mercedes de Guácimo, Limón, Costa Rica, revista tierra tropical.

Fundación nacional de salud. 2013. Manual práctico de análisis de agua, cuarta edición ministerio de salud Brasilia: Funasa, Página web: <http://www.funasa.gov.br>

García, J. 2006. Comparación de la fertilización orgánica y convencional a partir del uso de microorganismos eficaces y químicos tradicionales sobre la producción de biomasa durante un ciclo de cosecha en un cultivo de rábano gordo (*Rhapanus sativus* L.). Revista Latinoamericana de Microbiología. 42:73-82.

- Gorbach S. 1996. The discovery of Lactobacillus GG. Nutrition Today; 31 (suppl 1):2S-4S.
- Glynn H. y W. Heinke. 1999. Ingeniería Ambiental, Segunda Edición Universidad Autónoma de Mexico.
- Higa, T., y J. Parr. 1994. Beneficial y Effective Microorganisms for a Sustainable Agriculture Y environment. International Nature Farming Venter. Atami. Japan. 17pp.
- Higa, T., y N. Chinen. 1998. EM Treatments of Odor, Waste Water, y Environmental Problems. College of Agriculture, University of Ryukyus, Okinawa, Japan.
- Jaramillo, A., y A. Arias, 2001. Tratamiento biológico de las aguas residuales. Universidad de Antioquia. Medellín. Colombia.
- JICA, (2000). Estudio para el Control de la Contaminación del Agua de la Bahía Interior de Puno en el Lago Titicaca en la República del Perú. Puno-Perú.
- Kelly, W.J., Davey, G.P., Ward, L.J.H. 1998. Characterization of Lactococci isolated from minimally processed fresh fruit y vegetables. International Journal of Food Microbiology.
- Lastras, P. 2009. Probioticos, lactobacillus acidophilus y bifobacteriumbifidum, suplemento nutricionales, salud BIO, 12p.

- Luv, D., y B. Lipták. 1999. Wastewater treatment. First Edition. Editorial Lewis. USA. 1269pp.
- Mara, D., y S. Cairncross. 1990. Directrices para el uso sin riesgos de aguas residuales y excretas en agricultura y acuicultura: medidas de protección de la salud pública. Organización Mundial de la Salud. Ginebra. 212pp.
- Merck, J. 2003. Manual de medios de cultivo. Agar para *Lactobacillus*. Según de mann, rogosa y sharpe. Barcelona, España. 126pp.
- Metcalf, F., y T. Eddy. 2003. Wastewater engineering. Treatment y reuse. Fourth Edition. Editorial Mc Graw Hill. Boston, Massashuttes. 1819 pp.
- Milian, G. 2005. empleo de probióticos a base de *bacillus sp* y sus endosporas en La producción avícola. Instituto de ciencia animal. Aparato postal 24. San Jose de las lajas, la Habana, 16P.
- Ngurah, G. 2005. Preliminary experiment of EM. Technology on wastewater treatment. Indonesian Kyusei Nature Farming Society., Saraburi, Thaily. 1-6.
- Novotny, V. 2003. quality: Diffuse pollution y Watershed management. Second Edition. Editorial John Wiley y sons, Inc. Boston. USA. 862pp.
- Okuda, A., y T. Higa. 2005. Purification of wastewater with effective microorganisms y its utilization on agriculture. APNAN, Thaily. 246 – 253.

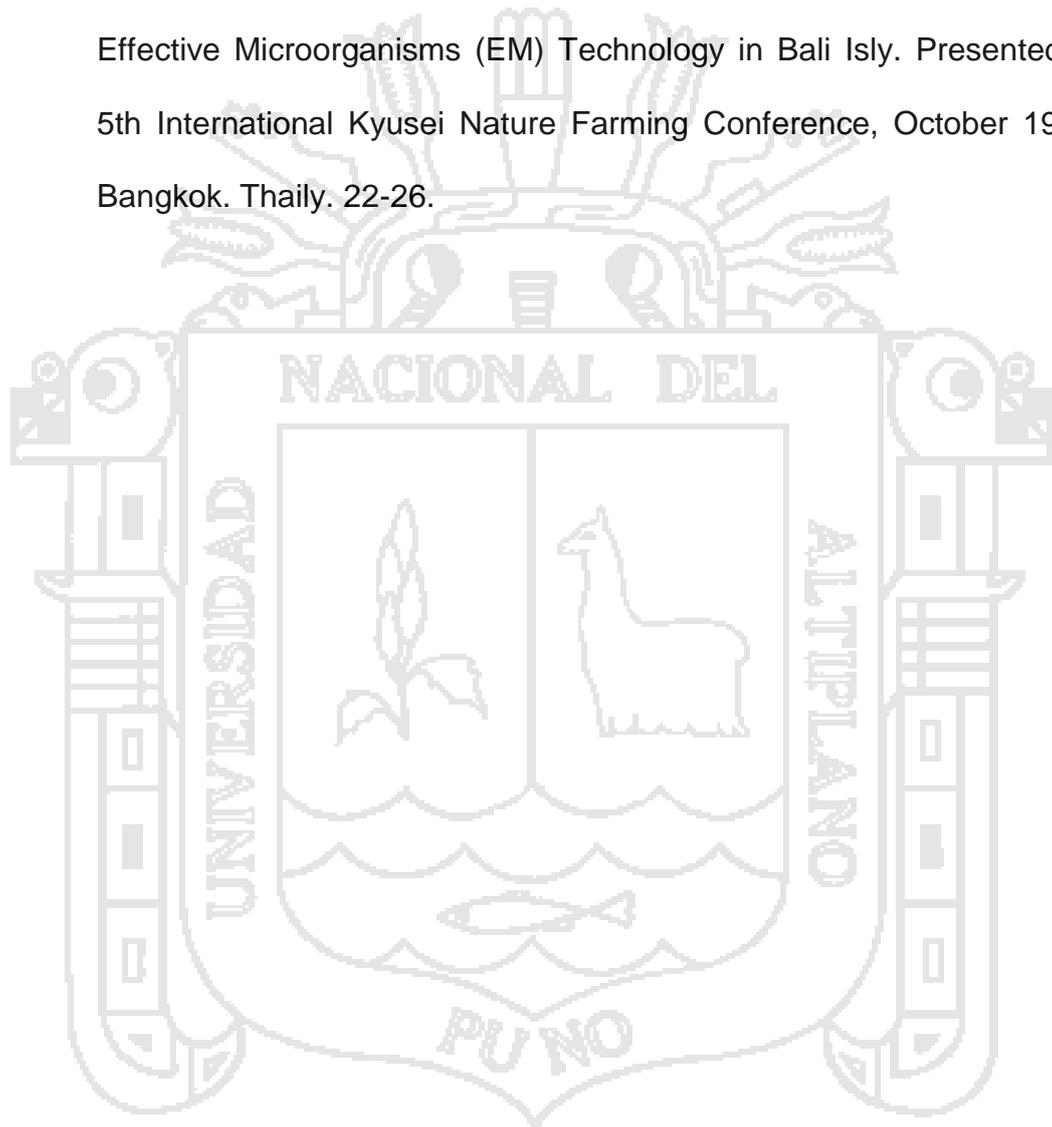
- Orozco, A., y A. Salazar. 1989. Tratamiento biológico de las aguas residuales. Universidad de Antioquia. Facultad de Ingeniería. Medellín. Colombia. 467pp.
- Ospina, A., y M. Palacios. 1994. Efecto del cultivo de levaduras sobre la carga orgánica de los efluentes de SUCROMILES S.A. Tesis pregrado Microbiología. Facultad de Ingeniería. Universidad del Valle. Cali, Colombia. 23-29p.
- Palao, A., A. Ccama., V. Ibañez., E. Catacora., T. Romero., M. Choque., F. Otriz 2010. Descontaminación de la bahía interior de Puno con biotecnología de microorganismos eficaces (EM), responsabilidad social y acción comunitaria.
- Pelczar, M., y Ried, R., 1978. Microbiología bacterias control biológico de plagas microorganismos enfermedades y medio ambiente. Editorial new Dehi: McGraw-Hill.
- Peña, G., J. Silva., P. Torres., C. Madera. 2005. Reuso de aguas residuales domésticas en agricultura. Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle, Cali Colombia.
- Ramalho, R. 1983. Introduction to wastewater treatment processes. Second Edition. Editorial. Academic Press. USA.1519pp.
- Ramos, O., R. Sepúlveda., y M. Villalobos. 2003. Agua en el Medio Ambiente. Muestreo y Análisis. Universidad Autónoma de Baja California. Plaza y Valdes, México. 181 p.

- Sánchez, J. 2003. Evaluación y monitoreo microbiológico y fisicoquímico de una planta de tratamiento de agua residual por rizofiltración, en una empresa productora de discos compactos. Bogotá D.C. Trabajo de grado. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Carrera de Microbiología industrial. Bogotá D.C. Colombia.
- Sangkkara, U. 2002. The technology of effective Microorganisms. Case Studies of Application. Royal Agricultural College. Cirencester UK. Research Activities. [en línea]: <<http://www.royagcol.ac.uk/research/conferences/Sangkkara.htm>>.
- Sawyer, C., P. McCarty., y G. Parkin. 2000. Química para ingeniería ambiental. Cuarta edición, McGraw-Hill. Bogotá, CO. 713 p.
- Senahami, 2009. Servicio nacional de meteorología.
- Seoanez, M. 1999. Aguas residuales urbanas, tratamientos naturales, de bajo costo y aprovechamiento, bajo costo de instalación, producción agraria y rentabilidad de uso. Mundi-Prensa, Madrid. España. 251pp.
- Shelton, T 1991. Interpreting drinking wáter quality analysis - what do the numbers mean. Ed. Rutgers Cooperative extension. New Brunswick Engly. 11pp.
- Sustainable Community Development. 2001. (: Kansas city). Efficient Microbes (EM): Product information y Usage. [en línea] :<<http://www.em4life.com/user/emhybook.pdf>> consultado el 04/12/2013.

Toapanta M. 2006. calidad de agua, revista.

Tuite, M. y S. Oliver. 1991. Saccharomyces. Editorial Plenum Press. New York, Estados Unidos. 272p.

Wididana, G., y T. Higa. 1997. Model of Integrated Farming System with Effective Microorganisms (EM) Technology in Bali Isly. Presented at 5th International Kyusei Nature Farming Conference, October 1997. Bangkok. Thaily. 22-26.



VIII. ANEXOS

REALIZACIÓN DE LOS ANÁLISIS FÍSICO

a. DETERMINACIÓN DE pH

MATERIALES

INSTRUMENTAL

- pH metro

REACTIVOS

- solución tampón
- agua destilada
- vasos descartables
- muestras

PROCEDIMIENTO

Para determinar el pH primeramente se calibró el electrodo con una solución de pH conocido, tampón de pH 7 (dihidrogenofosfato/di-sodio hidrogenofosfato) Se lavó el electrodo con agua destilada y secado con papel absorbente, posteriormente se introdujo el electrodo en la solución problema y se leyó el pH de la muestra (Fernández y Dolores, 2005).

b. DETERMINACIÓN DE LA TEMPERATURA

MATERIALES

INSTRUMENTAL

- Termómetro de mercurio graduado con escala de 0.1°C entre 100°C
- vasos descartables

PROCEDIMIENTO

Para determinar esta variable se utilizó el termómetro, la cual se introdujo en el agua y se hizo la lectura con el bulbo del termómetro dentro del agua.

c. DETERMINACIÓN DE LOS SÓLIDOS TOTALES EN SUSPENSIÓN

MATERIALES

INSTRUMENTAL

- Balanza analítica
- Estufa
- Vasos descartables
- Pipetas

PROCEDIMIENTO

Para la determinación de los sólidos totales en suspensión, primeramente se pesó los vasos vacíos y se tomó una cantidad de 10 mL de muestra para cada una de las unidades de estudio, la cual se llevó a vasos descartables, posteriormente los vasos contenidos de agua se llevó a estufa de 105°C, en la cual se evaporó todo el agua contenido en ella, el vaso seco se llevó a la balanza y se pesó del cual se hizo la diferencia, el peso del vaso y el peso de los sólidos totales en suspensión como se detalla en la siguiente fórmula.

$$STS \text{ (mg/L)} = (P1-P) \cdot 1000/V$$

Donde:

P1= peso del vaso con el residuo, des pues del evaporado en mg.

P= peso del vaso vacio, en mg a peso constante.

V= volumen de muestra en mL.

(Fernández y Dolores, 2005).

REALIZACIÓN DE LOS ANÁLISIS QUÍMICOS

a. DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXIGENO (DQO)

MATERIALES

INSTRUMENTAL

- Horno
- Pipetas
- Tubos de ensayo
- Erlenmeyer
- Equipo de titulación

REACTIVOS:

- Reactivo de digestión: Solución de dicromato potásico ($K_2Cr_2O_7$) 0,25 N: Disolver 12,2588g, 167mL de ácido sulfúrico y 33.3g de sulfato de mercurio en 500mL de agua destilada y luego se diluyó en un litro.
- Solución de sulfato de plata en ácido sulfúrico: Disolver 22 g de Ag_2SO_4 en 2.5 litros de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado.
- Solución de sulfato de hierro y amonio 0,25 N $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \times 6H_2O$. Disolver 98,04 g de $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \times 6H_2O$ en agua destilada. Añadir 20 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado, enfriar y enrasar a 1 litro con agua destilada.
- Indicador de DQO o solución de ferroína: Disolver 1,485 g de 1,10 fenantrolina ($C_{12}H_8N_2 \times H_2O$) y 0,695 g de sulfato de hierro heptahidrato ($FeSO_4$) en agua destilada, y llevar a volumen de 100 mL.

PROCEDIMIENTO

1. La técnica es tomar una muestra de 2.5mL de agua, pero para nuestro caso se diluyó las muestras en agua destilada.
2. Se tomó 10mL de aguas residuales y se completó hasta 100mL con agua destilada,
3. Se tomó una cantidad de 2.5 mL de muestra y uno blanco de agua destilada de la misma cantidad.
4. Posteriormente se adicionó 1.5 mL de solución de digestión.
5. Se agregó 2.5mL de ácido sulfúrico que contiene sulfato de plata.
6. Esta se homogenizó lentamente y se llevó al horno para la digestión por 2 horas a una temperatura de 150°C.
7. Pasado el tiempo se retiró y se adicionó 4 gotas de solución de ferroina indicador de DQO.
8. Se tituló con solución de sulfato de hierro y amonio.
9. Calculo de la DQO (Fernández y dolores, 2005).

$$\text{DQO (mg de oxígeno/litro)} = \frac{[(A-B) \times N \times 8000]}{\text{Volumen (mL) de muestra.} \times [100/10]}$$

A= Volumen (mL) de sulfato de amonio gastado en el blanco.

B= Volumen (mL) de sulfato de amonio gastado en la muestra.

N= Normalidad de la solución de hierro y amonio.

b. DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (DBO5)

MATERIALES

INSTRUMENTAL

- Cámara incubadora
- Biometro: botella de vidrio ambar, capsula de goma y tapon-registrador
- Bases de agitación magnética
- Varillas agitadoras (imanes)
- Pipeta

REACTIVOS:

- Agua destilada
- Hidróxido de sodio en perlas(NaOH)
- Disolución de alliltiurea- inhibidor de la nitrificación(5g/L)

PROCEDIMIENTO

1. Se introdujo la varilla agitadora (imán) en el interior del biómetro.
2. Se añadió el inhibidor de la nitrificación, 5 gotas de alliltiurea a cada biómetro.
3. Se pusieron tres perlititas de NaOH en la cápsula diseñada a tal efecto.
4. Se añadió 250mL de muestra en el biómetro.
5. Se procedió al cierre del biómetro con el correspondiente tapón-registrador, y se puso la lectura a cero.
6. Se introdujo el biómetro en la cámara incubadora a 25°C y se encendió la base de agitación magnética.

7. Se realizó la lectura a los cinco días (Fernández y Dolores, 2005).

c. DETERMINACIÓN DE ACEITES Y GRASAS

MATERIALES

INSTRUMENTAL

- Balanza analítica
- Equipo de extracción Soxhlet.

OTROS

- Embudo Buchner.
- Papel Filtro Watman 40.
- Matraz de fondo redondo.
- Luna de reloj

REACTIVOS

- Éter de petróleo.

PROCEDIMIENTO

Para determinar este parámetro se utilizó el método de extracción Soxhlet, para lo cual se siguió de la siguiente manera.

1. Se tomó 5mL de muestra de agua residual el cual se llevó sobre el papel, la cual estaba sobre la luna de reloj.
2. Esta se llevó a la estufa para el evaporado del agua, una vez seco el papel se pesó en balanza y se llevó al equipo de soxhlet.
3. En el cual se lavó la muestra con éter de petróleo aproximadamente por 2 horas donde se hizo 10 xifonadas para cada muestra.

4. Una vez terminado el lavado el papel se llevó nuevamente a estufa en luna de reloj donde también se hizo el secado, pasado el tiempo se pesó en la balanza analítica y la diferencia fue el resultado, como se detalla a continuación (Fernández y dolores, 2005).

$$\text{Acetites y grasas (mg/L)} = (PG - P) * 1000/V$$

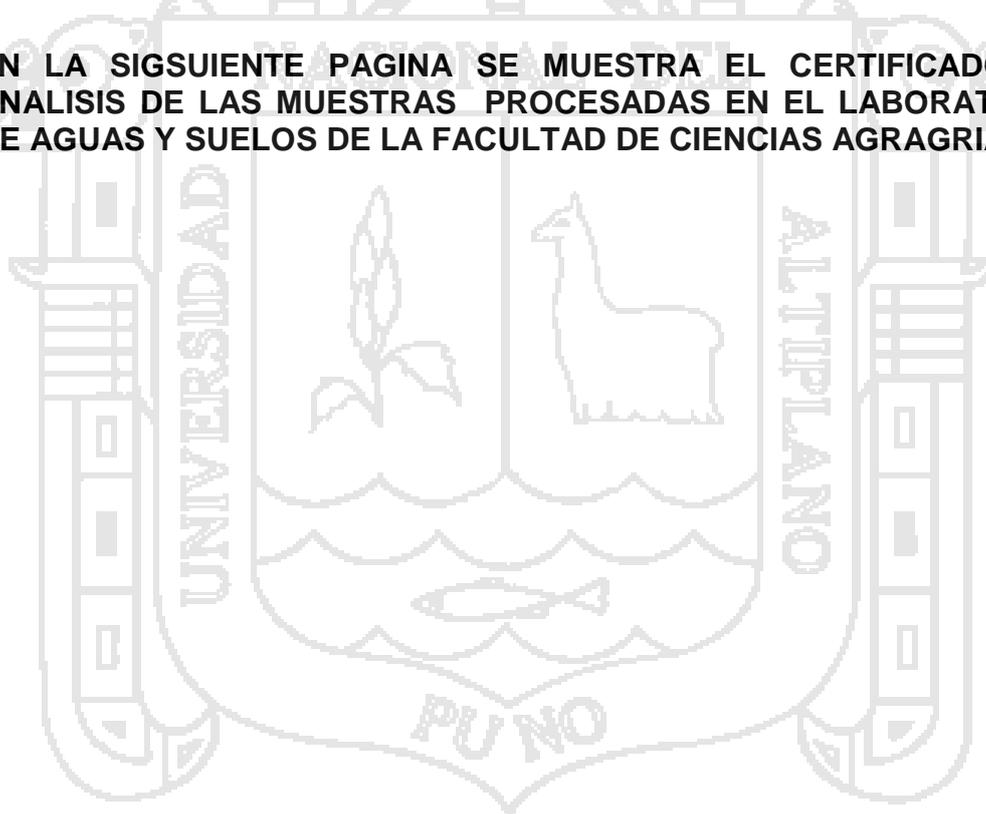
Donde:

PG= Peso de papel seco más peso de la muestra seca, constante (mg).

P = peso de papel seco, más peso de la muestra, posterior al lavado con éter de petróleo (mg).

V = volumen de la muestra, en mL.

EN LA SIGSUIENTE PAGINA SE MUESTRA EL CERTIFICADO DE ANALISIS DE LAS MUESTRAS PROCESADAS EN EL LABORATORIO DE AGUAS Y SUELOS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRAGRIAS

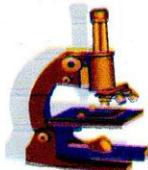


UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

LABORATORIO DE AGUAS Y SUELOS



RESULTADO DE ANÁLISIS

ASUNTO: ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE AGUAS RESIDUALES

PROCEDENCIA : AGUAS RESIDUALES DE LA CIUDAD DE PUNO
 INTERESADO : Bach. LUVI CHECANI, Uriel
 MOTIVO : ANALISIS DE AGUAS RESIDUALES
 FECHA RECEPCION : 02/01/2014, 15/01/2014, 03/02/2014 y 17/02/2014
 FECHA DE ENTREGA DE RESULTADO: 24/03/2014
 LABORATORIO : Agua y Suelo FCA – UNA
 TOTAL DE MUESTRAS : 22 MUESTRAS

CARACTERÍSTICAS ORGANOLEPTICA DE LAS MUESTRAS

Aspecto : Líquido
 Color : ligeramente amarillentoverdoso
 Olor : Fétido

CARACTERÍSTICAS FÍSICO – QUÍMICAS:

PARÁMETRO ANALIZADO	UND	TESTIGO			
		DIA 0	DIA 10	DIA 30	DIA 45
STS	mg/l	95.7	95.8	99.7	98.3
pH	unidad	7.1	7.6	7.4	7.3
DQO	mg/l	788	556	240	530
DBO	mg/l	299	366.8	430.8	523.4
ACET Y GRASA	mg/l	12.8	14.6	15.6	19.2
T°	°C	16.2	17.4	14.5	15

PARÁMETRO ANALIZADO	UND	TRATAMIENTO 1						TRATAMIENTO 2						TRATAMIENTO 3					
		R1			R2			R1			R2			R1			R2		
		DIA 10	DIA 30	DIA 45	DIA 10	DIA 30	DIA 45	DIA 10	DIA 30	DIA 45	DIA 10	DIA 30	DIA 45	DIA 10	DIA 30	DIA 45	DIA 10	DIA 30	DIA 45
SST	mg/l	99.8	99.7	99.8	99.8	99.5	99.8	99.9	99.8	89.8	99.8	99.6	99.7	99.7	99.7	99.6	99.9	99.7	99.6
pH	unidad	6.9	7.9	7.8	7.3	8.6	8.4	7.1	8.1	7.8	7.2	8.7	8.5	7.3	8.9	8.4	7.1	8.2	7.9
DQO	mg/l	800	1840	2640	530	1920	1800	160	3040	1600	1040	160	1200	160	1040	1760	560	1520	1400
DBO	mg/l	356.1	819	1175	391.7	854.7	356.1	71.2	353.3	712.25	462.9	371.22	534.2	71.2	462.96	783	249.2	676.6	958.7
ACET Y GRASA	mg/l	11.67	26.82	38.4	12.8	16.9	11.7	2.3	24.3	23.32	15.2	16.3	17.4	19.3	22.2	25.6	8.2	22.2	24.1
T°	°C	16.2	17	16.9	16.7	17	16.5	14.2	17.3	16.5	17.1	14.1	17	14.3	17	17	14.9	16.8	17.6

Benigno Penhaz Callocaza

 ANALISTA DE AGUAS Y SUELOS DE CALIDAD DE AGUAS Y SUELOS

TABLAS DE ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LAS VARIABLES EN ESTUDIO.

Tabla 01. Análisis de varianza para sólidos totales en suspensión según dosis de Microorganismos y periodo

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fc	Ft 0.05	Ft 0.01	Sig.
Entre bloque	3	15.21	5.07	2.68	5.41	12.06	n.s.
Entre dosis	3	9.256	3.08	1.63	5.41	12.06	n.s.
Error exp.	5	9.468	1.89				
Total	11	33.934					

CV = 1.38% Promedio General = 98.89

Tabla 02. Análisis de varianza para PH según dosis de microorganismos y periodo.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fc	Ft 0.05	Ft 0.01	Sig.
Entre bloque	3	0.1225	0.0410	0.12	5.41	12.06	n.s.
Entre dosis	3	0.4850	0.1617	0.48	5.41	12.06	n.s.
Error exp.	8	2.6875	0.3359				
Total	11	3.2950					

CV = 7.83% Promedio General = 7.4

Tabla 03. Análisis de varianza para demanda bioquímica de oxígeno según dosis de microorganismos y periodo.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fc	Ft 0.05	Ft 0.01	Sig.
Entre bloque	3	334405.862	111468.62	4.47	5.41	12.06	n.s.
Entre dosis	3	108196.486	36065.49	1.44	5.41	12.06	n.s.
Error exp.	5	124730.489	24946.09				
Total	11	567332.837					

CV = 30.81% Promedio Genera = 512.55

Tabla 04. Análisis de varianza para demanda química de oxígeno según dosis de microorganismos y periodo.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fc	Ft 0.05	Ft 0.01	Sig.
Entre bloque	3	1802454	600818	3.17	5.41	12.06	n.s.
Entre dosis	3	1906137	635379	1.85	5.41	12.06	n.s.
Error exp.	5	946914	189382.8				
Total	11	4655505					

CV = 40.16% Promedio General=1083.5

Tabla 05. Análisis de varianza para aceites y grasas según dosis de microorganismos y periodo.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fc	Ft 0.05	Ft 0.01	Sig.
Entre bloque	3	220.732	73.58	9.63	5.41	12.06	*
Entre dosis	3	36.404	12.13	0.375	5.41	12.06	n.s.
Error exp.	5	38.226	7.64				
Total	11	295.362					

CV = 15.13% Promedio General=18.23

Tabla 06. Análisis de varianza para temperatura según dosis de microorganismos y periodo

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fc	Ft 0.05	Ft 0.01	Sig.
Entre bloque	3	0.4850	0.1620	0.00001	5.41	12.06	n.s.
Entre dosis	3	1.8439	0.6146	0.00005	5.41	12.06	n.s.
Error exp.	5	9.4917	1.8983				
Total	11	11.8206					

CV = 8.54% Promedio General=16.16

DILUSIONES REALIZADAS EN EL ANALISIS MICROBIOLÓGICO Y TABLA DEL NMP DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES.

TABLA 07: diluciones realizadas para el testigo y tratamientos

TESTIGO		TRATAMIENTOS	
DIA 0	4 DILUSIONES	DIA 0	4 DILUSIONES
DIA 10	4 DILUSIONES	DIA 10	2 DILUSIONES
DIA 30	1 DILUSIONES	DIA 30	1 DILUSION
DIA 45	1 DILUSIONES	DIA 45	0 DILUSIONES

TABLA 08: NMP de coliformes termotolerantes, donde Inóculo: Series A= 10 mL, B= 1 mL y C=0,1 mL de la muestra

Combinación de tubos positivos A- B- C	Indice NMP/ 100 ml	Combinación de tubos positivos A- B- C	Indice NMP/ 100 ml	Combinación de tubos positivos A- B- C	Indice NMP/ 100 ml
0- 0- 1	3	1- 1- 2	15	2- 2- 3	42
0- 0- 2	6	1- 1- 3	19	2- 3- 0	29
0- 0- 3	9	1- 2- 0	11	2- 3- 1	36
0- 1- 0	3	1- 2- 1	15	2- 3- 2	44
0- 1- 1	6	1- 2- 2	20	2- 3- 3	53
0- 1- 2	9	1- 2- 3	24	3- 0- 0	23
0- 1- 3	12	1- 3- 0	16	3- 0- 1	39
0- 2- 0	6	1- 3- 1	20	3- 0- 2	64
0- 2- 1	9	1- 3- 2	24	3- 0- 3	95
0- 2- 2	12	1- 3- 3	29	3- 1- 0	43
0- 2- 3	16	2- 0- 0	9	3- 1- 1	75
0- 3- 0	9	2- 0- 1	14	3- 1- 2	120
0- 3- 1	13	2- 0- 2	20	3- 1- 3	160
0- 3- 2	16	2- 0- 3	28	3- 2- 0	93
0- 3- 3	19	2- 1- 0	15	3- 2- 1	150
1- 0- 0	4	2- 1- 1	20	3- 2- 2	210
1- 0- 1	7	2- 1- 2	27	3- 2- 3	290
1- 0- 2	11	2- 1- 3	34	3- 3- 0	240
1- 0- 3	15	2- 2- 0	21	3- 3- 1	460
1- 1- 0	7	2- 2- 1	28	3- 3- 2	1100
1- 1- 1	11	2- 2- 2	35	3- 3- 3	>1100

Fuente: APHA, 1989

CUADRO Nro 10) resultados obtenidos a la lectura de producción de gas en los diferentes tubos.

	TRATAMIENTI 1			TRATAMIENTO 2			TRATAMIENTO 2		
	DIA 10	DIA 30	DIA 45	DIA 10	DIA 30	DIA 45	DIA 10	DIA 30	DIA 45
R1	3-1-0	0-0-0	0-0-0	3-3-0	1-1-0	0-0-0	2-2-1	0-0-0	0-0-0
R2	3-2-2	0-0-0	0-0-0	3-3-0	0-0-0	0-0-0	3-2-2	0-0-0	0-0-0

TESTIGO			
DIA 0	DIA 10	DIA 30	DIA 45
2-0-0	0-1-0	0-0-0	0-0-0