

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**

**FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES**



**DEPURACION DE AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS MEDIADAS POR**

**MICROORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE EN**

**BIOREACTORES AIRLIFT**

**Tesis**

Para optar el título de:

**INGENIERO AMBIENTAL**

Presentado por:

**ROY ANTONIO GARAY SARAVIA**

PROMOCION 2012-II

Tingo María - Perú

2015



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**  
Tingo María - Perú



**FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES**

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS


Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 10 de diciembre de 2015, a horas 7:05 p.m. en la Sala de Grados de la Facultad de Recursos Naturales Renovables, para calificar la Tesis titulada:

### **“DEPURACIÓN DE AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS MEDIADAS POR MICROORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE EN BIOREACTORES AIRLIFT”**

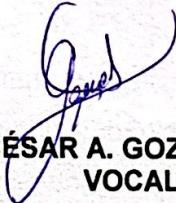
Presentado por el Bachiller, **GARAY SARA VIA, Roy Antonio**, después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara **APROBADA** con el calificativo de **“MUY BUENO”**


En consecuencia, el sustentante queda apto para optar el Título de **INGENIERO AMBIENTAL**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para la otorgación del Título correspondiente.

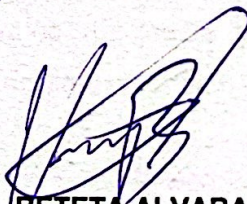
Tingo María, 14 de diciembre del 2015.

  
**Dr. CÉSAR S. LÓPEZ LÓPEZ**  
**PRESIDENTE**



  
**Blgo. CÉSAR A. GOZME SULCA**  
**VOCAL**

  
**Ing. M.Sc. SANDRO J. RUIZ CASTRE**  
**VOCAL**

  
**Ing. VÍCTOR M. BETETA ALVARADO**  
**ASESOR**



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**  
TINGO MARIA

“Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las Heroicas Batallas de Junín y Ayacucho”

**DECLARACIÓN JURADA DE AUTENCIDAD DE TESIS**

NOSOTROS

**ASESOR** Víctor Manuel Beteta Alvarado

**BACHILLER** Roy Antonio Garay Saravia

AUTOR(ES) DEL TRABAJO DE TESIS TITULADO:

**“DEPURACION DE AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS MEDIADAS POR MICROORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE EN BIOREACTORES AIRLIFT”**

DECLARAMOS BAJO JURAMENTO QUE, el trabajo de investigación es original, siendo resultado del esfuerzo y trabajo coordinado entre el bachiller y el asesor.

Nos ratificamos en lo expresado, en señal de la cual firmamos el presente documento en la ciudad de Tingo María a los 11 días del mes de noviembre del 2024.

.....  
Ing. Víctor Manuel Beteta Alvarado  
Asesor de Tesis  
DNI: 44670910

.....  
Bach. Roy Antonio Garay Saravia  
Bachiller  
DNI: 61232714

## DEDICATORIA

A Dios

Mi principal fuerza, refugio e inspiración, por ser guía y camino de mi formación profesional.

A mis queridos padres ARTURO GARAY MENDOZA e ISABEL SARAIVIA TINEO por su amor e incondicional apoyo, en mi formación personal, espiritual y profesional.

A mis hermanos

Daniel, Nancy, Leopoldo, Luis, Jerry, Alejandro, y Analí, por su gran cariño, paciencia y compañía durante mis años de estudio.

## **AGRADECIMIENTO**

- A Dios padre por su protección y la fortaleza física y mental que me brindó en mi vida cotidiana, al guiarme por el buen camino durante mi formación profesional.
- A la UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA, mi Alma Mater, por albergarme en sus aulas durante mi formación profesional.
- A la Facultad de Recursos Naturales Renovables y a los docentes del Departamento de Ciencias Ambientales, por brindarme sus sabios conocimientos, experiencia profesional y todas las facilidades necesarias para la culminación de mi carrera profesional.
- Al Ing. Víctor Beteta Alvarado, asesor del presente trabajo, por sus consejos y asesoramiento en el desarrollo científico y académico del presente trabajo de investigación.
- Al Dr. Msc. Mtblgo. César Samuel López López, Presidente de esta investigación, por la amistad, exigencia, orientación y confianza que me brindó en la realización del presente trabajo, así como en el proceso de mi formación personal y profesional.
- Al Ing. Richard Sías Rodríguez, por su amistad, colaboración y apoyo para poder realizar el presente trabajo.
- A mis colegas y amigos (as) Ivonne Grandez, Jimena Jáuregui, Milagros Esparza, Jhojan Rojas, Wagner Guevara, Anngly Álvarez, Patricia Romero y Oscar Ortega, Joao Rosas, Luis Morales, demás amigos por su apoyo, compañía y amistad.

## INDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Objetivo general.....	3
1.1.1. Objetivos específicos.....	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	4
2.1. Agente mutagénico .....	4
2.1.1. Mutación por agentes mutagénicos.....	4
2.1.1.1. Agentes mutagénicos químicos .....	5
2.1.1.2. Agentes mutagénicos físicos .....	5
2.1.1.3. Agentes mutagénicos biológicos.....	6
2.1.1.4. Microorganismos para la eliminación de contaminantes en el agua.....	7
2.1.2. Modificación genética por recombinación del ADN .....	7
2.2. Agua Residual.....	8
2.2.1. Aguas residuales domésticas.....	9
2.2.2. Aguas residuales industriales.....	9
2.3. Características de las aguas residuales.....	9
2.3.1. Características físicas .....	10
2.3.1.1. Olor .....	10

2.3.1.2.	Temperatura .....	10
2.3.1.3.	Color .....	11
2.3.1.4.	Turbidez.....	12
2.3.1.5.	Solidos totales.....	12
2.3.1.6.	Densidad.....	13
2.3.1.7.	Conductividad .....	13
2.3.2.	Características químicas .....	14
2.3.2.1.	Potencial de Hidrogenión (pH).....	14
2.3.2.2.	Demanda bioquímica de Oxígeno.....	15
2.3.2.3.	Oxígeno disuelto .....	16
2.3.2.4.	Demanda química de Oxígeno .....	17
2.3.2.5.	Nitratos .....	18
2.3.2.6.	Fosfatos .....	19
2.3.2.7.	Sulfatos.....	20
2.3.2.8.	Cloruros .....	20
2.3.2.9.	Amonio.....	21
2.3.2.10.	Constituyentes del agua residual doméstica.....	21
2.3.3.	Características biológicas.....	22
2.3.3.1.	Microorganismos.....	24
2.3.3.2.	Organismos Patógenos .....	24
2.3.3.3.	Organismos Indicadores .....	27
2.4.	Tratamiento de aguas residuales.....	29
2.5.	Sistemas de tratamiento de aguas residuales .....	29
2.6.	Planta de tratamiento de aguas residuales domésticas .....	30

2.6.1.	Tratamiento aeróbico.....	31
2.6.2.	Tratamiento anaeróbico.....	32
2.7.	Etapas en la depuración de aguas residuales .....	33
2.7.1.	Pretratamiento.....	33
2.7.1.1.	Desbaste.....	34
2.7.1.2.	Desarenado .....	34
2.7.1.3.	Desengrasado.....	35
2.7.1.4.	Tamizado .....	35
2.7.1.5.	Aliviadero y Medidor de Caudal .....	35
2.7.2.	Tratamiento Primario .....	36
2.7.2.1.	Decantación .....	36
2.7.2.2.	Flotación con Aire .....	36
2.7.3.	Tratamiento Secundario .....	37
2.7.3.1.	Tratamiento biológico.....	37
2.7.3.2.	Rol de los microorganismos en el tratamiento de agua residual .....	39
2.7.3.3.	Limitaciones del tratamiento biológico .....	40
2.7.3.4.	Tratamiento terciario o avanzado.....	41
2.7.3.5.	Desinfección .....	41
2.7.3.6.	Destilación .....	42
2.7.3.7.	Congelación.....	42
2.7.4.	Vertido del Agua Tratada.....	43
2.8.	Biorreactor Airlift .....	43
III.	MATERIALES Y METODOS .....	45

3.1. Ubicación del lugar de ejecución .....	45
3.2. Materiales .....	45
3.3. Métodos .....	46
3.3.1. Construcción de los Bioreactores .....	46
3.3.2. Toma de muestras para el aislamiento de bacterias .....	46
3.3.3. Aislamiento de microorganismos para el tratamiento de agua .....	47
3.3.4. Recolección de agua residual .....	48
3.3.5. Determinación de los parámetros.....	48
3.3.5.1. Determinación de los coliformes fecales.....	48
3.3.5.2. Determinación del pH .....	50
3.3.5.3. Determinación del oxígeno disuelto .....	50
3.3.5.4. Determinación de los sólidos suspendidos totales.....	50
3.3.5.5. Determinación de la demanda bioquímica de oxígeno .....	51
3.3.5.6. Determinación de la demanda química de oxígeno .....	52
3.3.5.7. Determinación de Nitratos.....	53
3.3.5.8. Determinación de Fosfatos .....	54
3.3.5.9. Determinación de la temperatura.....	54
3.3.6. Identificación preliminar de los microorganismos (a nivel de grupo o género).....	55
3.3.7. Inducción de mutación en microorganismos .....	55
3.3.7.1. Inducción de mutación Física.....	55
3.3.7.2. Inducción de mutación Química.....	56
3.3.8. Obtención de lisado celular y purificación del ADN de la cepa bacteriana aislada .....	56

3.3.8.1.	Electroforesis en gel de agarosa.....	57
3.3.9.	Operación en biorreactores.....	59
3.3.10.	Eficiencia de remoción de los microorganismos en los bioreactores.....	59
3.4.	Análisis estadístico.....	60
3.4.1.	Análisis de varianza (ANOVA).....	60
3.4.2.	Prueba de múltiple rangos de diferencia francamente significativa de Tukey (HSD Tukey) .....	61
IV.	RESULTADOS.....	62
4.1.	Caracterización del agua residual domestica a aplicar el tratamiento	62
4.1.1.	Caracterización del agua para el tratamiento con el agente mutagénico físico.....	62
4.1.2.	Caracterización del agua para el tratamiento con el agente mutagénico químico .....	63
4.2.	Modificación de la cepas aisladas de microorganismos potencialmente degradadoras de aguas residuales domésticas por técnicas no dirigidas (UV y azida de sodio) .....	63
4.3.	Eficiencia en la depuración del agua residual domestica (ARD).....	65
4.3.1.	Depuración del Agua Residual Domestica con tres cepas modificadas por el agente Físico.....	65
4.3.2.	Depuración del Agua Residual Domestica con tres cepas modificadas por el agente Químico .....	80
4.3.3.	Determinación de la eficiencia de la depuración del ARD.....	95

4.4. Agente Mutagénico óptimo para la reducción de los contaminantes del agua residual domestica (ARD).....	97
V. DISCUSIONES.....	99
5.1. Características del agua residual domestica a tratar .....	99
5.2. Identificar la cepa modificada más eficiente para la reducción de los contaminantes de las aguas residuales domésticas.....	102
5.3. Determinación del agente mutagénico más óptimo para la disminución de los contaminantes de las aguas residuales domésticas. ....	106
VI. CONCLUSIONES.....	107
VII. RECOMENDACIONES .....	108
VIII. ABSTRACT .....	109
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICA .....	110
X. ANEXOS.....	116

## INDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Constituyentes del agua residual doméstica.....	22
2. Límites máximos permisibles para los efluentes de PTAR .....	29
3. Puntos seleccionados para la colecta microbiológica .....	46
4. Análisis de Variancia (ANOVA) .....	61
5. Caracterización del agua para el tratamiento físico .....	62
6. Caracterización del agua para el tratamiento químico .....	63
7. Valores de los parámetros obtenidos sin la aplicación de microorganismos	65
8. Valores de los parámetros obtenidos con <i>Pseudomonas</i> modificadas genéticamente .....	65
9. Valores de los parámetros obtenidos con <i>Enterobacter</i> modificadas genéticamente .....	66
10. Valores de los parámetros obtenidos con <i>Bacillus</i> modificadas genéticamente .....	66
11. ANOVA para promedios de coliformes fecales en relación a las cepas modificadas.....	67
12. Pruebas de Múltiple Rangos HSD de Tukey para coliformes fecales según las cepas modificadas genéticamente .....	68

13. ANOVA para promedios de pH en relación a la Cepas Modificadas.....	69
14. Pruebas de Tukey para pH según la Cepas Modificadas Genéticamente. .	69
15. ANOVA para promedios de DBO <sub>5</sub> mg/l en relación a la Cepas Modificadas .....	70
16. Pruebas de Tukey para DBO <sub>5</sub> mg/l según la Cepas Modificadas genéticamente. ....	71
17. ANOVA para promedios de Nitratos en relación a la Cepas Modificadas...	72
18. Pruebas de Tukey para Nitratos mg/l según la Cepas Modificadas genéticamente. ....	72
19. ANOVA para promedios Fosfatos en relación a la Cepas Modificadas .....	73
20. Pruebas de Tukey para los Fosfatos mg/l según la Cepas Modificadas Genéticamente. ....	74
21. ANOVA para promedios de la Temperatura en relación a la Cepas Modificadas .....	75
22. Pruebas de Tukey para la Temperatura según la Cepas Modificadas Genéticamente. ....	75
23. ANOVA para promedios de la DQO mg/l en relación a la Cepas Modificadas .....	76
24. Pruebas de Tukey para la DQO según la Cepas Modificadas Genéticamente. ....	77
25. ANOVA para promedios de los STS mg/l en relación a la Cepas Modificadas .....	78
26. Pruebas de Tukey para los STS mg/l según la Cepas Modificadas Genéticamente. ....	78

27. ANOVA para promedios del OD mg/l en relación a la Cepas Modificadas	79
28. Pruebas de Tukey para los OD mg/l según la Cepas Modificadas Genéticamente. ....	80
29. Valores de los parámetros obtenidos sin la aplicación de microorganismos .....	80
30. Valores de los parámetros obtenidos con <i>Pseudomonas</i> modificadas genéticamente .....	81
31. Valores de los parámetros obtenidos con <i>Enterobacter</i> modificadas genéticamente .....	81
32. Valores de los parámetros obtenidos con <i>Bacillus</i> modificadas genéticamente .....	81
33. ANOVA para promedios de Coliformes Fecales en relación a la Cepas Modificadas.....	82
34. Pruebas de Múltiple Rangos HSD de Tukey para Coliformes Fecales según la Cepas Modificadas Genéticamente. ....	83
35. ANOVA para promedios de pH en relación a la Cepas Modificadas.....	84
36. Pruebas de Tukey para pH según la Cepas Modificadas Genéticamente. .	84
37. ANOVA para promedios de DBO <sub>5</sub> mg/l en relación a la Cepas Modificadas .....	85
38. Pruebas de Tukey para DBO <sub>5</sub> mg/l según la Cepas Modificadas Genéticamente. ....	86
39. ANOVA para promedios de Nitratos en relación a la Cepas Modificadas...	87
40. Pruebas de Tukey para Nitratos mg/l según la Cepas Modificadas Genéticamente. ....	87

41. ANOVA para promedios Fosfatos en relación a la Cepas Modificadas .....	88
42. Pruebas de Tukey para los Fosfatos mg/l según la Cepas Modificadas Genéticamente. ....	89
43. ANOVA para promedios de la Temperatura en relación a la Cepas Modificadas.....	90
44. Pruebas de Tukey para la Temperatura según la Cepas Modificadas Genéticamente. ....	90
45. ANOVA para promedios de la DQO mg/l en relación a la Cepas Modificadas .....	91
46. Pruebas de Tukey para la DQO según la Cepas Modificadas Genéticamente. ....	92
47. ANOVA para promedios de los STS mg/l en relación a la Cepas Modificadas .....	93
48. Pruebas de Tukey para los STS mg/l según la Cepas Modificadas Genéticamente. ....	93
49. ANOVA para promedios del OD mg/l en relación a la Cepas Modificadas	94
50. Pruebas de Tukey para los OD mg/l según la Cepas Modificadas Genéticamente. ....	95
51. Eficiencia de remoción del ARD con el agente mutagénico Físico .....	95
52. Eficiencia de remoción del ARD con el agente mutagénico Químico.....	96
53. Eficiencia de remoción del ARD con el agente mutagénico Físico y Químico .....	98
54. Parámetros (Coliforme fecales, pH y DBO <sub>5</sub> ) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD .....	117

55. Parámetros (Nitratos, Fosfatos y Temperatura) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD .....	117
56. Parámetros (DQO, solidos totales suspendido y oxígeno disuelto) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD.....	117
57. Parámetros (Coliforme fecales, pH y DBO <sub>5</sub> ) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD .....	118
58. Parámetros (Nitratos, Fosfatos y Temperatura) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD .....	118
59. Parámetros (DQO, solidos totales suspendido y oxígeno disuelto) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD.....	118
60. Parámetros (Coliforme fecales, pH y DBO <sub>5</sub> ) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD .....	119
61. Parámetros (Nitratos, Fosfatos y Temperatura) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD .....	119
62. Parámetros (DQO, solidos totales suspendido y oxígeno disuelto) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD.....	119
63. Parámetros (Coliforme fecales, pH y DBO <sub>5</sub> ) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD .....	120
64. Parámetros (Nitratos, Fosfatos y Temperatura) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD .....	120
65. Parámetros (DQO, solidos totales suspendido y oxígeno disuelto) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD.....	120
66. Parámetros (Coliforme fecales, pH y DBO <sub>5</sub> ) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD .....	121

67. Parámetros (Nitratos, Fosfatos y Temperatura) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD .....	121
68. Parámetros (DQO, sólidos totales suspendido y oxígeno disuelto) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD.....	121
69. Parámetros (Coliforme fecales, pH y DBO <sub>5</sub> ) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD .....	122
70. Parámetros (Nitratos, Fosfatos y Temperatura) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD .....	122
71. Parámetros (DQO, sólidos totales suspendido y oxígeno disuelto) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD.....	122
72. Formulación para 1L de medio mínimo de sales.....	123
73. Formulación para 100 mL de solución traza de elementos .....	123

## INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Balance de Oxígeno .....	16
2. Modificación genética de las tres cepas.....	64
3. Comparación de la reducción de coliformes fecales de las tres cepas .....	67
4. Comparación de la estabilización del pH de las tres cepas .....	68
5. Comparación de la reducción de la Demanda Bioquímica de Oxígeno de las tres cepas .....	70
6. Comparación de la reducción de Nitratos de las tres cepas .....	71
7. Comparación de la reducción de Fosfato de las tres cepas.....	73
8. Comparación de la reducción de Temperatura de las tres cepas .....	74
9. Comparación de la reducción de Demanda química de oxígeno de las tres cepas .....	76
10. Comparación de la reducción de los Sólidos totales suspendido de las tres cepas .....	77
11. Comparación de la reducción de oxígeno disuelto de las tres cepas.....	79
12. Comparación de la reducción de coliformes fecales de las tres cepas .....	82
13. Comparación de la estabilización del pH de las tres cepas .....	83

14. Comparación de la reducción de la Demanda Bioquímica de Oxígeno de las tres cepas .....	85
15. Comparación de la reducción de Nitratos de las tres cepas .....	86
16. Comparación de la reducción de Fosfato de las tres cepas.....	88
17. Comparación de la reducción de Temperatura de las tres cepas .....	89
18. Comparación de la reducción de Demanda química de oxígeno de las tres cepas .....	91
19. Comparación de la reducción de los Sólidos totales suspendido de las tres cepas .....	92
20. Comparación de la reducción de oxígeno disuelto de las tres cepas.....	94
21. Eficiencia de remoción del ARD con el agente mutagénico físico.....	96
22. Eficiencia de remoción del ARD con el agente mutagénico químico .....	97
23. Porcentaje de remoción de los contaminantes del ARD por los agentes mutagénicos .....	98
24. Mapa de ubicación de los puntos de colecta de muestras .....	124
25. Toma de muestra para el aislamiento de microorganismos .....	125
26. Aislamiento de las Bacterias .....	125
27. Cepas Aisladas .....	126
28. Modificación por el agente Físico .....	126
29. Cepas modificadas.....	127
30. Preparación del Medio Mínimo de Sales.....	127
31. Toma de muestra del agua a tratar .....	128
32. Acondicionamiento de los bioreactores.....	128
33. Bioreactores acondicionados .....	129

34. Puesta en marcha de los Bioreactores .....	129
35. Control del flujo de aire .....	130
36. Tomas de muestras para sus respectivos análisis.....	130
37. Tomas de muestras para sus respectivos análisis.....	131
38. Determinación de Oxígeno disuelto .....	131
39. Determinación de la DBO.....	132
40 Determinación de Nitratos y Fosfatos .....	132
41. Prueba para la determinación de coliformes .....	133
42. Determinación de Coliformes fecales.....	133
43. Pruebas para la determinación de DBO.....	134
44. Determinación de solidos totales suspendidos .....	134

## RESUMEN

Se evaluó la capacidad de depuración del Agua Residual Domestica (ARD) mediante microorganismos modificados genéticamente en bioreactores Airlift, utilizando microorganismos extraídos de lugares altamente contaminados (Botadero la Muyuna), induciéndolos a la mutación con Agente físico (radiación UV) y químico (Azida de Sodio), se trabajó con tres cepas (*Pseudomonas*, *Enterobacter* y *Bacillus*) dos repeticiones, evaluándose la eficiencia de depuración de nueve indicadores: Coliformes fecales, pH, Oxígeno Disuelto, Sólidos Suspendidos Totales, Demanda Bioquímica de Oxígeno, Nitratos, Fosfatos, Temperatura y Demanda Química de Oxígeno.

*Pseudomonas* modificadas fue la cepa más eficiente para la depuración ARD, tanto con la aplicación del agente mutagénico físico y químico, obteniendo eficiencias en la Demanda Bioquímica de Oxígeno de un 95.33% con el agente Físico, y un 85.14% con el agente Químico respectivamente. Determinándose que el agente mutagénico óptimo para la depuración de las aguas residuales domésticas es la radiación Ultravioleta (UV), obteniéndose eficiencias de un 97.44% en Coliformes Fecales, y un 75% Nitratos.

La corrida en el gel de electroforesis especificó la variación en el ácido nucleico nuclear en las cepas inducidas por agentes mutagénicos.

## **I. INTRODUCCIÓN**

La pérdida constante de recursos naturales es uno de los mayores problemas que enfrenta el planeta en la actualidad, entre los más importantes para mantener la vida se encuentra el agua. Sin embargo con el crecimiento poblacional, los procesos de urbanización, desarrollo industrial y la demanda diaria de este recurso, contaminación ha incrementado de forma acelerada y la calidad ha disminuido a tal límite, que cada vez para más personas se vuelve difícil el acceso a este recurso en grandes cantidades y en buenas condiciones para el consumo humano.

Entre las alternativas que hoy se aplican en todas los países para solucionar este problema, se encuentra el tratamiento de aguas residuales, a grandes y pequeños niveles. En comunidades o pueblos de los países en desarrollo, especialmente en Latinoamérica, la contaminación de las fuentes de agua natural es causada por el vertido de aguas residuales domésticas. el tratamiento de estas aguas se constituyen en un reto, debido a que alrededor del 80% de las aguas residuales son dispuestas sin tratamiento en el ambiente o usadas para fines agrícolas, constituyéndose en un problema sanitario de gran envergadura en muchas localidades.

Asimismo en la actualidad ya no se centra la atención en una ciencia para la solución, sino que a medida que pasaron los años se fueron creando ramas como la Bioingeniería de las Aguas Residuales (OROZCO, 2005), el cual integrando conocimientos de biología, ingeniería, biotecnología, física entre otros, se utiliza organismos capaces de consumir todas las sustancias presentes en las aguas residuales, aprovechando la versatilidad de estos, la capacidad de alimentarse de una gran variedad de productos que son utilizados en la cocina, limpieza, baños, lavados, etc. que van desde restos de comidas, aceites, detergentes hasta metales pesados (RAMALHO, 1990).

Esta tendencia de utilización de microorganismos se ve tentada ante un relativamente nuevo método, el cual consisten en modificar genéticamente a los microorganismos, permitiendo repotencializar ciertas características degradadoras, aumentando su capacidad de degradación, sus tasas de crecimiento, su eficiencia depuradora de aguas residuales. Algunos métodos de modificación genética orientados hacia la obtención de cepas específicas, incluyen la recombinación de ADN y la mutación con agentes mutágenos convencionales. Entre estos la mutación con agentes convencionales consiste en la exposición de las células a agentes mutantes que pueden ser físicos o químicos y luego la exposición de las células mutadas a las condiciones ambientales deseadas (CORTADA, 2003). Con la finalidad de poder experimentar este método se plantea la interrogante ¿se incrementará la eficiencia de la depuración de las aguas residuales domésticas provenientes de la Ciudad de Tingo María por acción de microorganismos modificados genéticamente en bioreactores Airlift?, teniendo como hipótesis que, los

microorganismos modificados genéticamente incrementaran la eficiencia en la depuración de las aguas residuales domésticos en comparación con los microorganismos no modificados genéticamente, superando un 70% en la reducción de los contaminantes.

### **1.1. Objetivo general**

- Depurar el agua residual domestica mediadas de microorganismos modificados genéticamente en bioreactores Airlift.

#### **1.1.1. Objetivos específicos**

- Caracterizar el agua residual domestica a tratar.
- Modificar de las cepas aisladas de microorganismos potencialmente degradadoras de aguas residuales domésticas por técnicas no dirigidas (UV y azida de sodio).
- Identificar la cepa modificada más eficiente para la depuración de las aguas residuales domésticas.
- Determinar el agente mutagénico más óptimo para la disminución de los contaminantes de las aguas residuales domésticas.

## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1. Agente mutagénico**

Según BENJAMÍN A. (2005), Hay que destacar que, gracias a las mutaciones, actualmente existe gran biodiversidad. Si no fuera por las variaciones que producen las alteraciones en el ADN, no habría variabilidad fenotípica, ni adaptación a los cambios ambientales. Por lo tanto, las mutaciones tienen su parte positiva, ya que todo proceso biológico tiene sus ventajas e inconvenientes. Aunque también hay que decir que el cáncer es considerado como el producto final de uno o más fenómenos de mutación.

#### **2.1.1. Mutación por agentes mutagénicos**

Esta consiste en la exposición de las células a agentes mutantes que pueden ser físicos o químicos y luego la exposición de las células mutadas a las condiciones ambientales deseadas. Al utilizar un agente mutagénico debe probarse previamente la sensibilidad de la cepa al mismo y la dosis óptima necesaria para los fines que se persiguen. Los mutágenos químicos pueden dividirse en varios grupos de acuerdo a su modo de acción: los análogos de bases, los agentes deaminantes, alquilantes y los derivados de la acridina (CORTADA, 2003).

### **2.1.1.1. Agentes mutagénicos químicos**

Los agentes alquilantes (entre estos se tiene el Etil metano sulfonato (EMS), Etil etano sulfonato (EES), Dietil sulfato (DES), Nitrosoguanidina) y los agentes deaminantes (Ácido Nitroso) son los más utilizados como mutágenos de rutina en microorganismos. Las Bases análogas y las Acridinas: Son menos usados como mutágenos de rutina, particularmente en organismos pequeños, que el resto de los mutágenos mencionados anteriormente, debido a que las condiciones efectivas de tratamiento son más complejas de establecer para estos casos (HARDMAN, 1987).

Según HARDMAN, (1987), Los mutágenos químicos ocasionan inestabilidad general que produce cambios químicos en el ADN; cambian químicamente las bases, con lo que causan errores de apareamiento.

### **2.1.1.2. Agentes mutagénicos físicos**

Pueden introducirse además en el ADN mutaciones por varias formas de energía radiante. Las ondas largas, específicamente radiaciones ultravioletas, de pequeño poder de penetración y que no producen ionización y ondas cortas, especialmente los rayos X y rayos gamma que tienen un alto contenido de energía, gran poder de penetración y producen ionización (HARDMAN, 1987).

- Radiaciones ultravioletas: La mutagénesis con luz UV ha sido empleada en gran cantidad de microorganismos por ser este un

agente muy eficiente en la inducción de mutantes de rutina. La irradiación con luz UV debe efectuarse en medio salino ya que en medios nutritivos podría originar compuestos tóxicos como peróxidos orgánicos que aumentarían los daños celulares por producir un efecto mutagénico adicional al del agente utilizado. Debe garantizarse también, que la suspensión de las células o esporas no exceda de  $10^8$  células/mL, ya que concentraciones mayores podrían originar un fenómeno de ocultamiento por el cual la probabilidad de una célula de recibir una dosis determinada puede afectarse, además de tener en cuenta el estado fisiológico de las células y las características genéticas de las cepas.

- La combinación de las radiaciones UV con otros mutágenos químicos como la etileneimina y el DES proporcionan rendimientos elevados de mutantes y pueden ser usados para cualquier propósito en general.

#### **2.1.1.3. Agentes mutagénicos biológicos**

Según HARDMAN, (1987), Son aquellos organismos “vivos” que pueden alterar las secuencias del material genético de su hospedador; como por ejemplo; virus, bacterias y hongos. Son ejemplo los transposones (fragmentos autónomos de ADN).

#### **2.1.1.4. Microorganismos para la eliminación de contaminantes en el agua**

Para la eliminación de contaminantes presentes en el agua, se puede utilizar microorganismos los cuales son aislados de muestras ambientales y seleccionadas por técnicas de enriquecimiento convencionales. Los microorganismos son cultivados en medio nutriente que contiene un compuesto químico específico como única fuente de carbono y energía, o como única fuente de nitrógeno y son seleccionados aquellos capaces de manipular concentraciones relativamente altas del compuesto probado. Muchas de las cepas pueden ser además, modificadas genéticamente mediante técnicas de mutación, utilizando agentes mutagénicos convencionales o mediante técnicas de recombinación de ADN (CORTADA, 2003).

#### **2.1.2. Modificación genética por recombinación del ADN**

RITTMANN (1984) citado por CORTADA (2003), menciona que la aplicación de esta tecnología en sistemas de tratamiento de aguas residuales incluye dos pasos fundamentales: encontrar un microorganismo que posea la función deseada y transferir esta función a un hospedero adecuado, preferiblemente una cepa que se desarrolle muy bien en condiciones ambientales determinadas.

SHILO (1979) citado por CORTADA (2003), menciona que el tratamiento de residuales industriales mediante procesos biológicos convencionales necesita, a menudo algunos ajustes del efluente para un

tratamiento exitoso (en cuanto a temperatura, pH, salinidad, potencial redox, etcétera). Sin embargo, el uso de microorganismos modificados genéticamente obtenidos, a partir de condiciones ambientales extremas (aguas hipersalinas, lagos alcalinos, aguas ácidas, etcétera), permite la degradación de estos más fácilmente.

La tecnología de recombinación de ADN, sin embargo, presenta algunas limitaciones que atentan contra su aplicación (HARDMAN, 1987):

- La existencia de vías degradativas con múltiples pasos para la transformación de xenobióticos conlleva la posibilidad de que los microorganismos modificados genéticamente no sean capaces de mineralizar completamente el compuesto deseado.
- Los conocimientos acerca de las vías degradativas de interés, muy útiles para la identificación de los genes responsables de una actividad específica que serán luego clonados, a menudo son escasos o nulos.
- La liberación accidental o deliberada de estos microorganismos al medio ambiente.

## **2.2. Agua residual**

Se entiende por aguas residuales aquellas que han sido utilizadas con un fin consuntivo, incorporando a ellas sustancias que deterioran su calidad original (contaminación), disminuyendo su potencialidad de uso (METCALF y EDDY, 1991).

### **2.2.1. Aguas residuales domésticas (ARD)**

Son las aguas de origen principalmente residencial (desechos humanos, baños, cocina) y otros usos similares que en general son recolectadas por sistemas de alcantarillado en conjunto con otras actividades (comercial, servicios, industria). Esta agua tiene un contenido de sólidos inferior al 1%. Si bien su caudal y composición es variable, pueden tipificarse ciertos rangos para los parámetros más característicos (MUJERIEGO, 1990).

### **2.2.2. Aguas residuales industriales**

Según RAMALHO (1996), Son aguas provenientes de los procesos industriales y la cantidad y composición de ellas es bastante variable, dependiente de la actividad productiva y de muchos otros factores (tecnología empleada, calidad de la materia prima, etc.). Así estas aguas pueden variar desde aquellas con alto contenido de materia orgánica biodegradable (mataderos, industria de alimentos), otras con materia orgánica y compuestos químicos (curtiembre, industria de celulosa) y finalmente industrias cuyas aguas residuales contienen sustancias inorgánicas u orgánicas no degradables (metalúrgicas, textiles, químicas, mineras).

## **2.3. Características de las aguas residuales**

Según COLLAZOS, C. (2008), Estas características de las aguas residuales son parámetros importantes para el tipo de tratamiento, así como para la gestión técnica de la calidad ambiental.

### **2.3.1. Características físicas**

Según METCALF y EDDY (1996), la característica física más importante del agua residual es el contenido total de sólidos, término que engloba la materia en suspensión, la materia sedimentable, la materia coloidal y la materia disuelta. Otras características físicas importantes son el olor, la temperatura, la densidad, el color y la turbiedad.

#### **2.3.1.1. Olor**

Según OROZCO A. 2005, Normalmente, los olores son debidos a los gases liberados durante el proceso de descomposición de la materia orgánica. El agua residual reciente tiene un olor algo desagradable, que resulta más tolerable que el del agua residual séptica. El olor más característico del agua residual séptica se debe a la presencia del sulfuro de hidrógeno (huevo podrido) que se produce al reducirse los sulfatos a sulfitos por acción de microorganismos anaerobios. La problemática de los olores está considerada como la principal causa de rechazo a la implantación de instalaciones de tratamiento de aguas residuales.

#### **2.3.1.2. Temperatura**

La temperatura del agua residual suele ser siempre más elevada que la del agua de suministro, hecho principalmente debido a la

incorporación de agua caliente procedente de las casas y los diferentes usos industriales (OROZCO A. 2005).

Según LÓPEZ, M. (2010), La temperatura del agua es un parámetro muy importante dada su influencia, tanto sobre el desarrollo de la vida acuática como sobre las reacciones químicas y velocidades de reacción, así como sobre la aptitud del agua para ciertos usos útiles. Asimismo la temperatura es un indicador de la calidad del agua, que influye en el comportamiento de otros indicadores de la calidad del recurso hídrico, como el pH, el déficit de oxígeno, la conductividad eléctrica y otras variables fisicoquímicas.

#### **2.3.1.3. Color**

Según ARBOLEDA J. (2000), El agua residual suele tener un color grisáceo. Sin embargo, al aumentar el tiempo de transporte en las redes de alcantarillado y al desarrollarse condiciones más próximas a las anaerobias, el color del agua residual cambia gradualmente de gris a gris oscuro, para finalmente adquirir color negro. Cuando llega a este punto, suele clasificarse el agua residual como séptica. Algunas aguas residuales industriales pueden añadir color a las aguas residuales domésticas. Su color gris, gris oscuro o negro del agua residual es debido a la formación de sulfuros metálicos por reacción del sulfuro liberado en condiciones anaerobias con los metales presentes en el agua residual.

#### **2.3.1.4. Turbidez**

La turbidez, como medida de las propiedades de transmisión de la luz de un agua, es otro parámetro que se emplea para indicar la calidad de las aguas vertidas o de las aguas naturales en relación con la materia coloidal y residual en suspensión. Su medición se lleva a cabo mediante la comparación entre la intensidad de la luz dispersada en la muestra y la intensidad registrada en una suspensión de referencia en las mismas condiciones. La materia coloidal dispersa o absorbe la luz, impidiendo su transmisión. Aun así, no es posible afirmar que exista una relación entre la turbiedad y la concentración de sólidos en suspensión de un agua no tratada. No obstante, sí están razonablemente ligados la turbiedad y los sólidos en suspensión en el caso de efluentes procedentes de la decantación secundaria en el proceso de fangos activados. (OROZCO A. 2005).

#### **2.3.1.5. Sólidos totales**

Analíticamente, se define como la materia que se obtiene como residuo después de someter al agua a un proceso de evaporación de entre 103° y 105°C. No se define como sólida aquella materia que se pierde durante la evaporación debido a su alta presión de vapor. Los sólidos sedimentables se definen como aquellos que se sedimentan en el fondo de un recipiente de forma cónica (cono de Imhoff) en el transcurso de un periodo de 60 minutos. Los sólidos sedimentables se expresan en ml/l y constituyen una medida aproximada de la cantidad de

fango que se obtendrá en la decantación primaria del agua residual. Los sólidos totales pueden clasificarse en filtrables o no filtrables (sólidos en suspensión) haciendo pasar un volumen conocido de líquido por un filtro (COLLAZOS, C. 2008).

#### **2.3.1.6. Densidad**

Según COLLAZOS, C. (2008), Se define la densidad de un agua residual como su masa por unidad de volumen, expresada en kg/m<sup>3</sup>. Es una característica física importante del agua residual dado que de ella depende la potencial formación de corrientes de densidad en fangos de sedimentación y otras instalaciones de tratamiento. La densidad de las aguas residuales domésticas que no contengan grandes cantidades de residuos industriales es prácticamente la misma que la del agua a la misma temperatura. En ocasiones, se emplea como alternativa a la densidad el peso específico del agua residual, obtenido como cociente entre la densidad del agua residual y la densidad del agua. Ambos parámetros, la densidad y el peso específico, dependen de la temperatura y varían en función de la concentración total de sólidos en el agua residual.

#### **2.3.1.7. Conductividad**

La conductividad eléctrica es la medida de la capacidad del agua para conducir la electricidad, por lo tanto es indicativa de la materia ionizable total presente en el agua, proviene de un ácido, una base o una sal disociada en iones. La temperatura modifica mucho la

conductividad de una solución La conductividad y la dureza de las aguas también son dos parámetros cuyos valores están, en general, bastante relacionados, ya que las sales de calcio y magnesio son las más abundantes en la naturaleza y, en ausencia de aportes ajenos al sustrato por el que discurren, la conductividad de las aguas se debe a la concentración de las sales de estos cationes en las mismas. La conductividad y la dureza reflejan, a su vez, el grado de mineralización de las aguas y su productividad potencial (ARBOLEDA J. 2000).

### **2.3.2. Características químicas**

Las características químicas de las aguas residuales son principalmente el contenido de materia orgánica e inorgánica, y los gases presentes en el agua residual (METCALF y EDDY 1996).

Según RODIER (1986), son aquellas características que solo se pueden determinar a través de análisis de laboratorio, su importancia radica en los efectos que producen todos estos sobre los organismos acuáticos ya sean estos, vegetales o animales. Además de las alteraciones que pueden causar en fuentes de agua natural si no se controlan en los sistemas de tratamiento de aguas residuales.

#### **2.3.2.1. Potencial de Hidrogenión (pH)**

Según MORENO, J. (1997), el pH en un efluente doméstico alcanza un valor aproximado de 7 u 8. Cuando es más bajo indica la existencia de volcamientos ácidos y si es alto, estos son alcalinos y ambos provienen de comercios o industrias. En cualquier caso son

perjudiciales para las cañerías, equipos de bombeo e impactan en los sitios de disposición final.

### **2.3.2.2. Demanda bioquímica de Oxígeno**

Según RAMALHO (1996), es el oxígeno consumido por microorganismos y/o contaminantes que se oxiden en un intervalo de tiempo (lo común es 5 días) a temperatura controlada (la más habitual es 20°). Esta técnica consiste esencialmente en la medición del oxígeno consumido por microorganismos (generalmente bacterias) durante la utilización de la materia orgánica presente en la muestra, realizada en condiciones lo más parecidas a las que ocurren en la naturaleza. La técnica de DBO es ampliamente utilizada en el análisis de efluentes domésticos e industriales, para determinar la cantidad de materia orgánica biodegradable que contiene la muestra en estudio. Dado que esta técnica solo evalúa materia orgánica biodegradable mientras que la DQO evalúa materia orgánica total, se espera que para una misma muestra los valores de DQO sean mayores (o en casos extremos muy semejantes) a los de DBO.

La demanda bioquímica de oxígeno (DBO) es un indicador de la cantidad de sustancias orgánicas de origen biológico (proteínas, carbohidratos, grasas y aceites) y de productos químicos orgánicos sintéticos y biodegradables en las aguas residuales (OROZCO A. 2005).

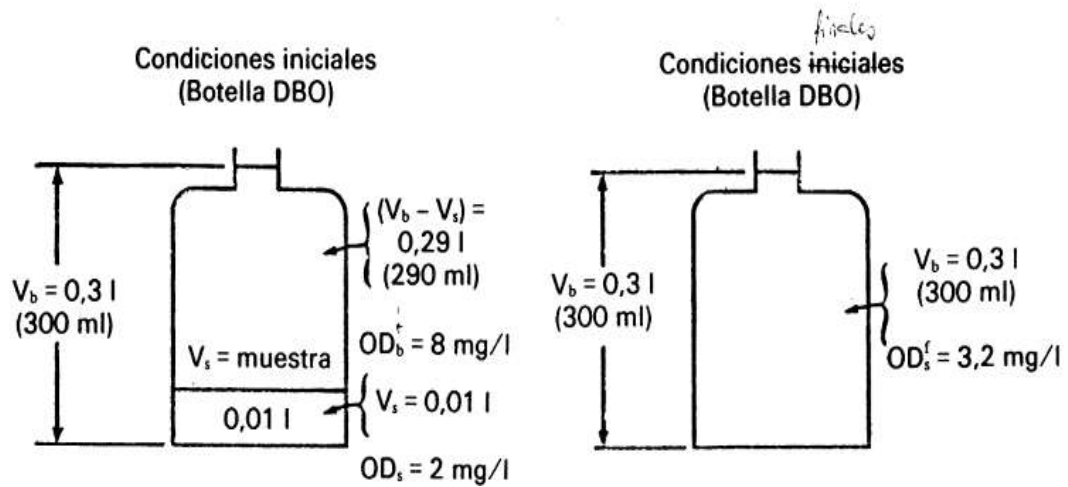


Figura 1. Balance de Oxígeno

### 2.3.2.3. Oxígeno disuelto

Según RAMALHO (1996), La presencia oxígeno disuelto en el agua es indispensable para la vida de peces y otros seres acuáticos, el problema es la baja solubilidad de este gas en el agua, además la cantidad de oxígeno en el agua depende de las condiciones ambientales, ya que su cantidad aumenta al disminuir la temperatura o aumentar la presión.

Los desperdicios orgánicos que se encuentran en el agua son descompuestos por microorganismos que usan el oxígeno para su respiración, esto quiere decir que cuanto mayor es la cantidad de materia orgánica, mayor es el número de microorganismos y por tanto mayor consumo de oxígeno. En muchas ocasiones esta falta de oxígeno es la causa de la muerte de peces y otros animales acuáticos más que la existencia de los compuestos tóxicos (RAMALHO, 1996).

#### **2.3.2.4. Demanda química de oxígeno**

Según OROZCO A. (2005). La Demanda Química de Oxígeno, DQO, es la cantidad de oxígeno en mg/l consumido en la oxidación de las sustancias reductoras que están en un agua. Se emplean oxidantes químicos, como el dicromato potásico. Tal y como hemos dicho, el ensayo de la DQO se emplea para medir el contenido de materia orgánica tanto de las aguas naturales como de las residuales. En el ensayo, se emplea un agente químico fuertemente oxidante en medio ácido para la determinación del equivalente de oxígeno de la materia orgánica que puede oxidarse.

Según RAMALHO (1996), Aunque se podría esperar que el valor de la DBO fuera similar al de la DQO, éste sería un caso fortuito. Algunas razones para explicar tal diferencia se enumeran a continuación:

1. Muchas sustancias orgánicas las cuales son difíciles de oxidar biológicamente, tales como la lignina, pueden ser oxidadas químicamente.
2. Las sustancias inorgánicas que se oxidan con dicromato aumentan evidentemente el contenido orgánico de la muestra.
3. Algunas sustancias orgánicas pueden ser tóxicas para los microorganismos usados en la prueba de la DBO.

4. Valores altos de DQO se pueden obtener por la presencia de sustancias inorgánicas con las cuales el dicromato puede reaccionar.

Según RAMALHO (1996), La proporción entre la DBO (demanda bioquímica de oxígeno en una prueba de 5 días) y la DQO es un indicador del tratamiento biológico. Generalmente, los procesos de descomposición biológica comienzan y ocurren de manera rápida con proporciones de DBO5: DQO de 0,5 o mayor. Las proporciones entre 0,2 y 0,5 son susceptibles al tratamiento biológico; sin embargo, la descomposición puede ocurrir de manera más lenta debido a que los microorganismos degradantes necesitan aclimatarse a las aguas residuales.

Los valores de la relación DBO/DQO en aguas residuales municipales no tratados oscilan entre 0,3 y 0,8. Si la relación DBO5/DQO para aguas residuales no tratadas es mayor que 0,5 los residuos se consideran fácilmente tratables mediante procesos biológicos. Si esta relación es menor de 0,3, el residuo puede contener constituyentes tóxicos o se pueden requerir microorganismos aclimatados para su estabilización (RAMALHO 1996).

#### **2.3.2.5. Nitratos**

Según COLLADO, R. (1993), es la forma más oxidada del nitrógeno que se puede encontrar en las aguas residuales. Cuando un efluente secundario deba ser recuperado para la recarga de agua

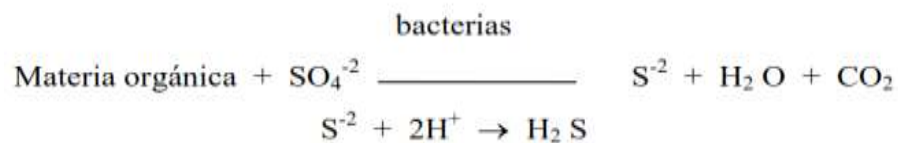
subterránea, la concentración del nitrato es importante. Ello es debido a las limitaciones que impone la EPA relativas a las aguas potables, en las que el contenido en nitratos no puede superar 45 mg/l como NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, dadas sus graves y, ocasionalmente, fatales consecuencias sobre los niños. La concentración de nitratos en efluentes de aguas residuales puede variar entre 0 y 20 mg/l en forma de nitrógeno (N), con valores típicos entre 15 y 20 mg/l. La concentración de nitratos también suele determinarse vía métodos colorimétricos.

#### **2.3.2.6. Fosfatos**

Según BARAJAS, M. (2002), es importante en el crecimiento de las algas y otros organismos biológicos. Debido al nocivo crecimiento incontrolado de algas en aguas superficiales, se han realizado grandes esfuerzos para controlar la cantidad de compuestos del fósforo provenientes de descargas de aguas residuales domésticas y de escorrentía natural. Las aguas residuales municipales por ejemplo, pueden contener entre 4 y 12 mg/l de fósforo expresado como compuestos fosforados. Las formas más frecuentes en que se puede encontrar fósforo en soluciones acuosas incluyen ortofosfatos, polifosfatos y fósforo inorgánico. Los ortofosfatos (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> y complejos HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) están disponibles para el metabolismo biológico sin que sea necesaria una ruptura posterior (COLLADO, R. 1993).

### 2.3.2.7. Sulfatos

Según BARAJAS, M. (2002), El Azufre se encuentra en forma natural como ión sulfato en aguas de abastecimiento como en aguas residuales. El azufre es un elemento indispensable para la síntesis de proteínas y por eso se libera cuando ocurre la degradación de las mismas. Los sulfatos se reducen biológicamente a sulfuros bajo condiciones anaerobias y pueden formar sulfuro de hidrógeno (HS) al combinarse con el hidrógeno. A continuación se muestran las reacciones generales que rigen estos procesos:



Los sulfatos se reducen a sulfuros en los digestores de lodos y pueden alterar el desarrollo normal de los procesos biológicos si la concentración excede los 200 mg/l, afortunadamente estas concentraciones no son comunes. El sulfuro presenta riesgo de formación de gas sulfhídrico, el que en baja concentración genera olor desagradable y en alta concentración puede ser muy tóxico (Según BARAJAS, M. 2002).

### 2.3.2.8. Cloruros

Según BARAJAS, M. (2002), se los considera aniones inorgánicos principales en el agua natural y residual. En el agua potable el sabor salado producido por el cloruro es variable y depende de la

composición química del agua. Ese sabor es más detectable si el catión predominante en el medio es el sodio, y se nota menos si el catión es calcio o magnesio. La concentración de cloruros es mayor en las aguas residuales ya que el NaCl es muy común en la dieta y pasa inalterado a través del sistema digestivo. Un contenido elevado de cloruro puede dañar las conducciones, estructuras metálicas y perjudicar el crecimiento vegetal.

#### **2.3.2.9. Amonio**

Según COLLADO, R. (1993), tienen una escasa acción tóxica por sí mismo, pero su existencia aún en bajas concentraciones, puede significar un alto contenido de bacterias fecales, patógenas, etc. La formación de amonio se debe su descomposición bacteriana de urea y proteínas, siendo la primera etapa del proceso de naturaleza inorgánica. Su concentración máxima en las aguas potables de consumo público es de 0,5 mg/l.

#### **2.3.2.10. Constituyentes del agua residual doméstica**

La composición de las aguas residuales se refiere a las cantidades de constituyentes físicos, químicos y biológicos presentes. En la siguiente tabla se señala la composición típica de un agua residual doméstica (COLLADO, R. 1993).

Cuadro 1. Constituyentes del agua residual doméstica

Contaminantes	Unidades	Concentración		
		Débil	Media	Fuerte
Sólidos totales (ST)	mg/l	350	720	1200
Disueltos totales (SDT)	mg/l	250	500	850
Sólidos en suspensión (SS)	mg/l	100	220	350
Sólidos sedimentables	mg/l	5	10	20
DBO <sub>5</sub> , 20°C	mg/l	110	220	400
COT	mg/l	80	160	290
DQO	mg/l	250	500	1000
Nitrógeno	mg/l	20	40	85
Orgánico	mg/l	8	15	35
Amoniaco libre	mg/l	12	25	50
Nitritos	mg/l	0	0	0
Nitratos	mg/l	0	0	0
Fósforo	mg/l	4	8	15
Orgánico	mg/l	1	3	5
Inorgánico	mg/l	3	5	10
Cloruros	mg/l	30	50	100
Sulfato	mg/l	20	30	50
Alcalinidad (CaCO <sub>3</sub> )	mg/l	50	100	200
Grasa	mg/l	50	100	150
Coliformes totales	nº/100 ml	10 <sup>6</sup> -10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup> -10 <sup>8</sup>	10 <sup>7</sup> -10 <sup>9</sup>
COVs	µg/l	<100	100-400	>400

Fuente: (COLLADO, R. 1993)

En función de las concentraciones de estos constituyentes, podemos clasificar el agua residual como concentrada, media o débil. Tanto los constituyentes como sus concentraciones presentan variaciones en función de la hora del día, el día de la semana, el mes del año y otras condiciones locales. Por esta razón, los datos de la tabla anterior pretenden solamente servir de guía, y no como base de proyecto (COLLADO, R. 1993).

### 2.3.3. Características biológicas

En el tratamiento biológico se deben de tomar en cuenta las siguientes características del agua residual: principales grupos de microorganismos presentes, tanto en aguas superficiales como en

residuales, así como aquellos que intervienen en los tratamientos biológicos; organismos patógenos presentes en las aguas residuales; organismos utilizados como indicadores de contaminación y su importancia; métodos empleados para determinar los organismos indicadores, y métodos empleados para determinar la toxicidad de las aguas tratadas (CORTADA, A. 2003).

Según METCALF y EDDY (1996), En los depósitos de agua que proceden de las descargas de animales, existen microorganismos patógenos. La *Escherichia Coli* en general coliformes, *estreptococos fecales* (*Streptococcus fecales*) y *Clostridium perfringens* son habitantes regulares del intestino grueso.

En las aguas negras hay millones de bacterias como coliformes, esporulados anaerobios (*Proteus sp.*) y también algunos protozoos patógenos y virus. El predominio de algunos tipos fisiológicos varía durante la digestión de las aguas. En un digestor en anaerobiosis, inicialmente predominan anaerobios facultativos (*Enterobacter sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Escherichia sp.*, *Pseudomona sp.*, etc.) a los cuales siguen productores metano anaerobios estrictos, como *Metanobacterium*, *Metanosarcina* y *Metanococcus*. Los productos finales son metano y dióxido de carbono (OPAZO, 1991).

### **2.3.3.1. Microorganismos**

Según METCALF y EDDY (1996), los principales grupos de organismos presentes tanto en aguas residuales como superficiales se clasifican en organismos eucariotas, bacterias y arqueobacterias.

### **2.3.3.2. Organismos Patógenos**

Según CORTADA, A. (2003), los organismos patógenos que se encuentran en las aguas residuales pueden proceder de desechos humanos que estén infectados o que sean portadores de una determinada enfermedad. Las principales clases de organismos patógenos presentes en las aguas residuales son: bacterias, virus y protozoarios. Los organismos bacterianos patógenos que pueden ser excretados por el hombre causan enfermedades del aparato intestinal como la fiebre tifoidea y paratifoidea, la disentería, diarreas y cólera. Debido a la alta infecciosidad de estos organismos, cada año son responsables de gran número de muertes en países con escasos recursos sanitarios, especialmente en zonas tropicales.

#### **- Bacterias**

Según (LEHNINGER, 1995), Las bacterias existen en diferentes formas, en su mayoría son heterótrofas. Las bacterias son numerosas y se encuentran en cualquier ambiente, en la tierra, en el aire, en el agua, en las cosas que se tocan o en los alimentos, así como en el cuerpo de casi cualquier ser viviente, ellas pertenecen a la división "Schizomycetes". Schizo (significa división) se refiere al proceso de

división sencilla mediante el cual se multiplican enormemente. Por lo general el ser humano solo piensa en las bacterias como “gérmenes” que producen enfermedades. Esta creencia no es totalmente correcta. De las más de 1500 especies de bacterias, solo unas 250 causan enfermedades. Las actividades de las bacterias en su mayoría resultan útiles y necesarias, la gente ha usado muchas especies de bacterias en la producción de alimentos y medicinas; tal es el caso de las llamadas “cocos” que tienen la forma de esfera y cuando están en pareja se les llama *diplococcus*, una de las causantes de la pulmonía bacteriana. Otra clasificación son los bacilos que son bacterias en forma de cilindros alargados como la “*Escherichia coli*” que habita en los intestinos de los humanos y animales, es uno de los organismos más estudiados y se ha usado en miles de experimentos de genética y bioquímica.

**a) *Pseudomonas sp***

Según BARTRAM J. (2003), es un bacilo gramnegativo aerobio con un flagelo polar. Cuando se cultiva en medios adecuados produce piocianina, un pigmento azulado no fluorescente. Muchas cepas producen también el pigmento verde fluorescente pioverdina. *Pseudomonas aeruginosa*, al igual que otras *Pseudomonas fluorescentes*, produce catalasa y oxidasa, así como amoniaco a partir de la arginina, y puede utilizar citrato como única fuente de carbono.

*Pseudomonas aeruginosa* es un microorganismo común en el medio ambiente y puede encontrarse en las heces, el suelo, el agua y

las aguas residuales. Puede proliferar en ambientes acuáticos, así como en la superficie de materias orgánicas propicias en contacto con el agua. *Pseudomonas aeruginosa* es una fuente conocida de infecciones intrahospitalarias y puede producir complicaciones graves. Se han aislado en gran variedad de ambientes húmedos, como fregaderos, baños de agua, sistemas de distribución de agua caliente, duchas y bañeras de hidromasaje (GALVÁN M. 2001).

**b) *Bacillus sp***

Según BARTRAM J. (2003), los microorganismos del género *Bacillus* son bacilos de gran tamaño (4-10  $\mu\text{m}$ ), grampositivos, aerobios estrictos o anaerobios facultativos encapsulados. Una característica importante es que forman esporas extraordinariamente resistentes a condiciones desfavorables. Las especies del género *Bacillus* se clasifican en los subgrupos *B. polymyxa*, *B. subtilis* (que incluye a *B. cereus* y *B. licheniformis*), *B. brevis* y *B. anthracis*.

La presencia de *Bacillus sp*, es frecuente en una gran variedad de ambientes naturales, como el agua y el suelo. Forman parte de las bacterias detectadas mediante RHP, fácilmente detectables en la mayoría de las aguas de consumo (BARTRAM J. 2003).

Según BARTRAM J. (2003), *Bacillus sp*, se detectan con frecuencia en aguas de consumo, incluso en las que han sido tratadas y desinfectadas mediante procedimientos aceptables. Esto se debe, sobre todo, a la resistencia de las esporas a los procesos de desinfección. Al

no haber indicios de que las especies de *Bacillus* transmitidas por el agua tengan repercusiones clínicas, no se requieren estrategias de gestión específicas.

### **c) *Enterobacter***

Según GALVÁN M. (2001), la familia *enterobacteriaceae* constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias gramnegativas. Reciben su nombre por la localización habitual como saprofitos en el tubo digestivo, aunque se trata de gérmenes ubicuos, encontrándose de forma universal en el suelo, el agua y la vegetación, así como formando parte de la flora intestinal normal de muchos animales además del hombre.

Hasta la década de 1960 estos gérmenes estaban agrupados en la clasificación de *Klebsiella-Aerobacter*. A diferencia de *Klebsiella*, los *Enterobacter* son móviles y su cápsula tiende a ser menos notable. Las cepas de *Enterobacter* suelen colonizar a los pacientes hospitalizados, en particular a los tratados con antibióticos, y han sido asociados con infecciones de quemaduras, de heridas, de las vías respiratorias y del tracto urinario (BARTRAM J. 2003).

#### **2.3.3.3. Organismos Indicadores**

Los organismos patógenos se presentan en las aguas residuales contaminadas en cantidades muy pequeñas y, además, resultan difíciles de aislar y de identificar. Por ello se emplea el organismo coliforme como organismo indicador, puesto que su presencia

es más numerosa y fácil de comprobar. El tracto intestinal humano contiene innumerables bacterias conocidas como organismos coliformes, cada humano evacua de 100,000 a 400,000 millones organismos coliformes cada día. Por ello, se puede considerar que la presencia de coliformes puede ser un indicador de la posible presencia de organismos patógenos, y que la ausencia de aquellos es un indicador de que las aguas están libres de organismos que puedan causar enfermedades (METCALF y EDDY 1996).

#### **2.3.4. Límites Máximos Permisibles para los Efluentes de PTAR**

Según MINAM (2010), Los LMP aprobados mediante el presente Decreto Supremo, no serán de aplicación a las PTAR con tratamiento preliminar avanzado o tratamiento primario que cuenten con disposición final mediante emisario submarino.

Los titulares de las PTAR están obligados a realizar el monitoreo de sus efluentes, de conformidad con el Programa de Monitoreo aprobado por el Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento. El programa de Monitoreo especificará la ubicación de los puntos de control, métodos y técnicas adecuadas; así como los parámetros y frecuencia de muestreo para cada uno de ellos.

Cuadro 2. Límites máximos permisibles para los efluentes de PTAR

PARÁMETRO	UNIDAD	LMP DE EFLUENTES PARA VERTIDOS A CUERPOS DE AGUAS
Aceltes y grasas	mg/L	20
Coliformes Termotolerantes	NMP/100 mL	10,000
Demanda Bioquímica de Oxígeno	mg/L	100
Demanda Química de Oxígeno	mg/L	200
pH	unidad	6.5-8.5
Sólidos Totales en Suspensión	mL/L	150
Temperatura	°C	<35

#### 2.4. Tratamiento de aguas residuales

Según OROSCO A. (2005), El tratamiento de aguas requiere una serie de operaciones que incluyen procedimientos mecánicos, químicos, biológicos y desde hace algunos años con asiduidad los fisicoquímicos.

Asimismo el tratamiento de las aguas residuales, o aguas de desecho, implica una serie de pasos o de operaciones unitarias que son similares a los que se efectúan en el tratamiento o depuración de las aguas naturales que se procesan para su potabilización y consumo como agua salobre (OROSCO A. 2005).

#### 2.5. Sistemas de tratamiento de aguas residuales

Los sistemas de tratamiento de aguas residuales consisten generalmente en una secuencia de procesos que dependen de las características del agua residual a tratar y del grado de purificación requerido

según los niveles de contaminación permitidos por la legislación, lo que depende fuertemente del lugar de descarga y cuerpo receptor. La secuencia de procesos consiste básicamente en una serie de tratamientos denominados tratamiento previo, primario, secundario y, eventualmente, terciario y cuaternario (OROSCO A. 2005).

## **2.6. Planta de tratamiento de aguas residuales domésticas**

Las plantas de tratamiento de Aguas Residuales Domésticas, tanto aeróbicas como anaeróbicas, son un conjunto de estructuras o sistemas compuestos por varias operaciones y procesos unitarios, diseñadas y equipadas convenientemente para lograr que las aguas servidas provenientes de: casas, edificios, locales comerciales, centros recreacionales, parques y centros hospitalarios, que entran al sistema a través de la red cloacal, sean depuradas hasta alcanzar un grado de limpieza que permita su evacuación o reutilización sin riesgos para la salud humana y el medio ambiente, cumpliendo así con la Normativa legal vigente (METCALF y EDDY, 1996).

Según METCALF y EDDY (1996), Los métodos de tratamiento en los que predomina la aplicación de fuerzas físicas son conocidos como operaciones unitarias. Aquellos en los que la eliminación de contaminantes se consigue mediante reacciones químicas o biológicas se conocen como procesos unitarios.

La depuración de las aguas residuales se lleva a cabo a través de varios métodos, entre de los cuales está el tratamiento aerobio, el anaerobio o una combinación de ambos, y estos a su vez se ejecutan mediante la

aplicación de las operaciones y procesos unitarios, los cuales se agrupan para formar lo que se conoce como: tratamiento preliminar, tratamiento primario, tratamiento secundario y tratamiento terciario o avanzado. Cabe destacar que la clasificación de una planta de tratamiento tipo aeróbica o una planta de tratamiento tipo anaeróbica, va a quedar determinada básicamente por el proceso o método de tratamiento biológico que se emplee para depurar las aguas residuales en estas (METCALF y EDDY, 1996).

### **2.6.1. Tratamiento aeróbico**

Según RIVAS, G. (1978), La descomposición aeróbica es aplicada en las plantas de tratamientos para la estabilización de la materia orgánica mayormente disuelta y coloidal contenida en los líquidos residuales.

Ésta descomposición requiere la presencia en el agua de oxígeno molecular, la actividad respiratoria de los organismos que viven en las aguas van utilizando el oxígeno disponible o suministrado y por ello es necesario recurrir a su incorporación artificial para asegurar la aerobicidad de este proceso. Por supuesto que los organismos responsables de estas transformaciones, a su vez, requieren un sustrato que le permitan cumplir su ciclo biológico normal. La materia orgánica biodegradable contenida en esos líquidos suministra generalmente, tal requerimiento. Más adelante, en este capítulo, se detallaran los procesos de: lodos activados, filtros percoladores y reactores de lecho

compacto que son los tratamientos aerobios más usados para depurar las aguas residuales (RIVAS, G. 1978).

### **2.6.2. Tratamiento anaeróbico**

El tratamiento anaeróbico se desarrolla en ausencia del oxígeno molecular, ya que el requerido para la respiración de los organismos anaeróbicos es extraído por ellos del oxígeno contenidos en los compuestos orgánicos y otros compuestos, Como los sulfatos y nitratos (RIVAS, G. 1978).

Según RIVAS, G. (1978), El proceso anaeróbico, según lo expuesto, debe ser aislado del medio ambiente natural para garantizar la exclusión del oxígeno molecular que, a través de la difusión molecular y otros fenómenos, se difunden en él. Por otra parte, los gases de la descomposición anaerobia son ofensivos al ambiente y deben ser, por ello, controlados mediante su recolección y posterior utilización como fuente de energía térmica.

Según RIVAS, G. (1978), Los malos olores se asocian frecuentemente con los procesos anaeróbicos debido a la producción además de dióxido de carbono y metano, de gases de hidrógeno de sulfuro, vapores de ácidos orgánicos y otros olores volátiles desagradables, lo cual puede ser una seria limitación, particularmente en áreas urbanas.

Los procesos anaerobios más empleados para el tratamiento de aguas residuales municipales son: reactores de lecho

compacto, reactores anaerobios de flujo ascendente (UASB), digestión anaerobia y lecho expandido (RIVAS, G. 1978).

## **2.7. Etapas en la depuración de aguas residuales**

Según RAMALHO R. (1990), la eliminación de los contaminantes se realiza de forma ordenada y secuencial a través de diferentes etapas, que aplicadas de forma sucesiva proporcionan un grado de tratamiento creciente de las aguas. En una planta típica de tratamiento el agua residual pasa por una serie de procesos físicos, químicos y biológicos cada uno con una tasa de eliminación específica.

– Pre-Tratamiento	Físicos y/o Químicos
– Tratamiento primario	Físicos
– Tratamiento Secundario	Biológicos
– Tratamiento Terciario	Físicos y/o Químicos y/o Biológicos

### **2.7.1. Pretratamiento**

Según GONZÁLEZ Y. *et. al* (2003) Antes de su tratamiento, propiamente dicho, las aguas brutas se someten, generalmente, a un pretratamiento que comprende un cierto número de operaciones, físicas o mecánicas. Tiene por objeto separar del agua la mayor cantidad posible de las materias que, por su naturaleza o tamaño puedan obstruir las bombas y canalizaciones, o bien interferir en el desarrollo de los procesos posteriores.

Se debe tener en cuenta que una planta de tratamiento puede incluir una o varias operaciones de pretratamiento, esto va a depender de la importancia y la calidad del agua residual. Las operaciones de pretratamiento son las siguientes (GONZÁLEZ Y. *et.*, *al* 2003):

#### **2.7.1.1. Desbaste**

El desbaste se lleva a cabo mediante rejas formadas por barras verticales o inclinadas, que interceptan el flujo de la corriente de agua residual en un canal de entrada a la estación depuradora. Su misión es retener y separar los sólidos más voluminosos, a fin de evitar las obstrucciones en los equipos mecánicos de la planta y facilitar la eficacia de los tratamientos posteriores. Estas rejas pueden ser de dos tipos: entre 50 y 150 mm de separación de los barrotes (desbaste grueso) y entre 10 y 20 mm (desbaste fino). Estas rejas disponen de un sistema de limpieza que separa las materias retenidas (LÓPEZ, J. 2007).

#### **2.7.1.2. Desarenado**

Las instalaciones de desarenado se sitúan en las plantas de tratamiento después del desbaste y tienen como objetivo el extraer del agua bruta la grava, arena y partículas minerales de tamaño superior de 200 micras, con el fin de evitar que se produzcan sedimentos en los canales y conducciones para proteger las bombas y otros aparatos contra la abrasión y para evitar sobrecargas en las fases de tratamiento siguientes (GONZÁLEZ Y. *et.*, *al* 2003).

### **2.7.1.3. Desengrasado**

La fase de desengrasado tiene por objeto eliminar las grasas, aceites y en general los flotantes, antes de pasar el agua a las fases posteriores del tratamiento. El procedimiento utilizado para esta operación es el de inyectar aire a fin de provocar la desemulsión de las grasas y su ascenso a la superficie, de donde se extraen por algún dispositivo de recogida superficial, normalmente rasquetas, para acabar en contenedores (GONZÁLEZ Y. *et. al* 2003)

### **2.7.1.4. Tamizado**

Según LÓPEZ, J. (2007), El tamizado es una filtración sobre soporte delgado, que se utiliza en numerosos campos del tratamiento del agua. Según las dimensiones de los orificios de paso del soporte se distinguen dos variantes:

- El macrotamizado
- El microtamizado

### **2.7.1.5. Aliviadero y Medidor de Caudal**

El primero permite que la planta funcione siempre según el caudal del proyecto y, conjuntamente con el medidor del caudal, permite controlar la cantidad de agua que entra en la planta (LÓPEZ, J. 2007).

## **2.7.2. Tratamiento Primario**

Según LÓPEZ, J. (2007), Se entiende por tratamiento primario a aquel proceso o conjunto de procesos que tienen como misión la separación por medios físicos de las partículas en suspensión no retenidas en el pretratamiento. El tratamiento primario permite eliminar en las aguas residuales urbana aproximadamente el 90% de las materias decantables y el 65% de las materias en suspensión. Se consigue también una disminución de la DBO de alrededor del 35%.

### **2.7.2.1. Decantación**

El proceso principal del tratamiento primario es la decantación, fenómeno provocado por la fuerza de gravedad que hace que las partículas suspendidas más pesadas que el agua se separen sedimentándose. Normalmente, en decantadores denominados dinámicos, los fangos son arrastrados periódicamente hasta unas purgas mediante unos puentes móviles con unas rasquetas que recorren el fondo. En los denominados decantadores circulares, el agua entra por el centro y sale por la periferia, mientras que los fangos son arrastrados hacia un pozo de bombeo de donde son eliminados por purgas periódicas (LÓPEZ, J. 2007).

### **2.7.2.2. Flotación con Aire**

Según OPAZO, (1991) Son mecanismos en donde se eliminan sólidos en suspensión con una densidad próxima a la del agua,

así como aceites y grasas, produciendo unas burbujas de aire muy finas que arrastran las partículas a la superficie para su posterior eliminación.

### **2.7.3. Tratamiento Secundario**

Según METCALF y EDDY (1996), El tratamiento secundario o biológico de las aguas residuales esta principalmente encaminado a la eliminación de los sólidos en suspensión y de los compuestos orgánicos biodegradables, aunque a menudo se incluye la desinfección como parte del tratamiento secundario. Su finalidad es la reducción de la materia orgánica presente en las aguas residuales, una vez superadas las fases de pretratamiento y tratamiento primario.

El tratamiento secundario empleado para las aguas residuales urbanas puede realizarse mediante procesos biológicos aerobios, anaerobios o mediante sistemas de lagunaje, dentro de los que se encuentran, las lagunas aerobias, facultativas y anaerobias, lagunas de oxidación (oxigenación fotosintética y aireada) y de acabado (METCALF y EDDY 1996).

#### **2.7.3.1. Tratamiento biológico**

Los tratamientos biológicos se basan en la utilización de microorganismos capaces de asimilar las sustancias en suspensión o disueltas presentes en el agua residual, a fin de incorporarlas al metabolismo celular y obtener energía para sus funciones vitales. Con un control adecuado de las condiciones ambientales (presencia o ausencia de oxígeno, pH óptimo, temperatura y mezcla) es posible

conseguir el desarrollo de una biomasa capaz de depurar el agua residual hasta alcanzar el grado de tratamiento deseado (METCALF y EDDY 1996).

Según METCALF y EDDY (1996), la depuración biológica de las aguas residuales usando alguna de las formas de los procesos de barros activados ha demostrado ser uno de los métodos más efectivos para el tratamiento tanto de efluentes municipales como de desechos orgánicos industriales.

Si bien se han desarrollado diferentes tipos de procesos biológicos, los más empleados en el tratamiento de aguas residuales urbanas son el proceso de barros activados y la tecnología de biopelícula (METCALF y EDDY 1996).

Los procesos biológicos que ocurren en las aguas residuales se pueden llevar a cabo en cultivo en suspensión y en cultivo fijo. En los primeros, las bacterias forman flóculos que se encuentran dispersos en todo el medio de reacción. En los segundos, las bacterias están fijadas a un material soporte. NICOLELLA *et al.* (2000) diferencian el tratamiento biológico según el grado de asociación de los agregados microbianos en tres tipos: los de biofilm estático (ej. filtros percoladores), de biofilm particulado (ej. reactores de biofilm de lecho fluidizado, reactores anaeróbicos de manto de lodo de flujo ascendente o biofilm de lecho suspendido) y en flóculos (proceso de barros activados).

### 2.7.3.2. Rol de los microorganismos en el tratamiento de agua residual

Según NICOLELLA *et al.*, (2000), La remoción de la demanda bioquímica de oxígeno disuelta y partículas carbonosas y la estabilización de materia orgánica encontrada en el agua de desecho son llevadas a cabo biológicamente usando una variedad de microorganismos, principalmente bacterias. Los microorganismos son usados para oxidar la materia orgánica disuelta y partículas carbonosas orgánicas en productos más simples y biomasa adicional, como se representa en la siguiente ecuación para la oxidación biológica aerobia de la materia orgánica:



En la ecuación anterior, el oxígeno (O<sub>2</sub>), amoníaco (NH<sub>3</sub>) y fosfato (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) son usados para representar nutrientes requeridos para la conversión de materia orgánica a productos finales simples. El término mostrado sobre la flecha direccional es usado para denotar el hecho de que los microorganismos son necesarios para llevar a cabo el proceso de oxidación. El término nuevas células es usado para representar la biomasa producida como resultado de la oxidación de la materia orgánica. Los microorganismos también son usados para remover nitrógeno y fósforo en los procesos de tratamiento de aguas residuales. Bacterias específicas son capaces de oxidar amoníaco (nitrificación) a

nitrito y nitrato, mientras otras bacterias pueden reducir el nitrógeno oxidado a nitrógeno gaseoso (NICOLELLA *et al.* 2000).

### **2.7.3.3. Limitaciones del tratamiento biológico**

Según CASTILLO G. (2001), Como los tratamientos primario y secundario de aguas residuales no eliminan a los nitratos ni a los fosfatos, éstos contribuyen a acelerar el proceso de eutrofización de los lagos, de las corrientes fluviales de movimiento lento y de las aguas costeras. Los tratamientos primario y secundario de las aguas residuales tampoco eliminan productos químicos persistentes como plaguicidas, ni los radioisótopos de vida media grande.

Entre el tratamiento primario y secundario de las aguas residuales eliminan cerca del 90% de los sólidos en suspensión y cerca del 90 % de la materia orgánica (90% de la demanda bioquímica de oxígeno). Una parte de los sólidos eliminados en este tratamiento se utiliza para la elaboración de fertilizantes pero la mayor parte de ellos se usa en relleno de terrenos o bien se elimina desechándolo directamente al mar (CASTILLO G. 2001).

Según CASTILLO G. (2001), El tratamiento primario y secundario combinados deja todavía en el agua tratada entre un 3 y un 5% en peso de los desechos que requieren oxígeno, 3% de los sólidos en suspensión, 50% del nitrógeno (principalmente en forma de nitrato), 70% del fósforo (principalmente en forma de fosfatos) y 30% de la

mayoría de los compuestos de metales tóxicos y de productos químicos orgánicos.

#### **2.7.3.4. Tratamiento terciario o avanzado**

Según MIRANDA, J. (2007), Se utiliza cuando se quiere eliminar algún componente del agua residual que no se ha podido eliminar con el tratamiento secundario. Son procesos específicos que permiten obtener un agua residual sin nitrógeno, fósforo, materia en suspensión no decantada, materia orgánica no biodegradable, metales pesados o materia disuelta. Normalmente se realiza después de un tratamiento secundario de alta carga pero también puede ser que se combine con un tratamiento primario o secundario o que se utilice en lugar de un tratamiento secundario, elimina la materia coloidal y en suspensión que inhibe la desinfección efectiva de los virus.

El tratamiento terciario o avanzado es de gran interés hoy en día por la necesidad de obtener mejor calidad en las aguas, por estos motivos se presentaran algunos procesos utilizados con éxito en la actualidad o que parecen más prometedores o innovadores (MIRANDA, J. 2007).

#### **2.7.3.5. Desinfección**

Según MIRANDA, J. (2007), Tiene como propósito en el tratamiento de las aguas residuales reducir principalmente el número de organismos vivos en el agua que se descargará nuevamente dentro del

ambiente. La efectividad de la desinfección depende de la calidad del agua que es tratada, del tipo de desinfección que es utilizada, de la dosis de desinfectante (concentración y tiempo), y de otras variables ambientales.

Consiste normalmente en la inyección de una disolución de cloro al inicio del canal de cloración. La dosis de cloro depende entre otros factores del contenido microbiano y suele oscilar entre 5-10 mg/ l. El máximo tiempo de contacto del agua con el cloro suele ser de 15 minutos, generalmente tiempos de contacto cortos, dosis bajas y altos flujos influyen en contra de una desinfección eficaz. Los métodos comunes de desinfección incluyen el ozono y la luz ultravioleta (UV) (MIRANDA, J. 2007).

#### **2.7.3.6. Destilación**

Según METCALF y EDDY (1996), La destilación es una operación unitaria en la que los componentes de la solución líquida son separados mediante vaporización y condensación del líquido.

#### **2.7.3.7. Congelación**

Según MIRANDA, J. (2007), La congelación es una operación de separación similar a la destilación. El agua es rociada en una cámara que funciona al vacío. Parte del agua residual se evapora y el efecto refrigerante produce cristales de hielo sin contaminantes en el líquido que queda. Seguidamente se extrae el hielo y se funde por calor

de la condensación de los vapores de la fase de evaporización. En este procedimiento se ha utilizado butano y otros refrigerantes.

#### **2.7.4. Vertido del Agua Tratada**

Según METCALF y EDDY (1996), El vertido final del agua tratada se realiza de varias formas. La más habitual es el vertido directo a un río o lago receptor. En aquellas partes del mundo que se enfrentan a una creciente escasez de agua, tanto de uso doméstico como industrial, las autoridades empiezan a recurrir a la reutilización de las aguas tratadas para rellenar los acuíferos, regar cultivos no comestibles, procesos industriales, actividades recreacionales y otros usos.

### **2.8. Biorreactor Airlift**

Según CHISTI Y. (1989), es un equipo agitado neumáticamente y se caracteriza porque el suministro de energía para mantener homogeneidad en su interior tiene lugar mediante la expansión isotérmica del gas introducido.

El Airlift es un reactor de al menos dos fases, con una gran diferencia de densidad entre ellas como gas-líquido o gas-suspensión, cuya agitación es neumática. Este tipo de reactor posee un deflector que lo divide en dos zonas conectadas hidráulicamente en el fondo y en la parte superior. Sólo en una de estas zonas se suministra gas, denominándose a ésta zona de ascenso. Al volumen de gas capturado en un volumen particular dentro del reactor se le denomina Hold-up gaseoso. El mayor Hold-up gaseoso de la zona con suministro de gas (ascendente) respecto de aquella sin suministro (descendente) provoca una diferencia de la densidad media del fluido entre

ambas zonas, induciéndose de esta manera una circulación del líquido con un patrón cíclico definido, con dirección hacia arriba en la zona de ascenso (menor densidad media: mayor Hold-up) y hacia abajo en la zona de descenso (CHISTI Y. 1989).

### **III. MATERIALES Y METODOS**

#### **3.1. Ubicación del lugar de ejecución**

El trabajo de investigación se desarrolló en el área de Biotecnología Ambiental del laboratorio de Microbiología General de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, políticamente ubicada en la ciudad de Tingo María, distrito de Rupa, provincia de Leoncio Prado, Región Huánuco.

#### **3.2. Materiales**

##### **Equipos:**

- Biorreactores Airlift.
- Equipo de corrida electroforética.
- Balanza analítica, sensibilidad 0.0001 g.
- Oxímetro HACH HANNA.
- pH-metro EXTHECH.
- Cámara Luz Ultra Violeta de 32 watts con longitud de onda de 280 nm.

### 3.3. Métodos

#### 3.3.1. Construcción de los Bioreactores

Los biorreactores se construyeron, utilizando materiales domésticos como frascos de vidrio de 1000 ml de capacidad, varillas de vidrio duro de 200 mm de largo, tubo hueco de 150 mm de largo por 75 mm de ancho, material microporoso de 20 mm de espesor por 250 mm de diámetro, tubos huecos de 10 mm de diámetro por 100 mm de largo, La fuente de aireación lo constituirá un bomba de aire de pecera (AIR PUMP JUNIOR) la que proporcionará aproximadamente unos 0,4 l/min.

#### 3.3.2. Toma de muestras para el aislamiento de bacterias

Las muestras fueron tomadas de las coordenadas UTM correspondientes a la zona 18 con DATUM WGS 1984, como se señala en el cuadro 3.

Cuadro 3. Puntos seleccionados para la colecta microbiológica

<b>Punto de colecta</b>	<b>Tipo de muestra</b>	<b>E (m.)</b>	<b>N (m.)</b>	<b>Z (m.s.n.m)</b>
Botadero la Muyuna	Agua	390307	8973910	647

### 3.3.3. Aislamiento de microorganismos para el tratamiento de agua

Para aislar bacterias capaces de degradar la carga orgánica de las aguas residuales domesticas se obtuvieron muestras de agua de lugares con alta contaminación como el botadero la Muyuna y se realizó los siguientes:

- Estas muestras fueron diluidas en el medio BHI 10 ml de muestra en 90 ml de BHI, luego fueron incubadas por 24 horas a una temperatura de 37°C, al término de la incubación se procedió a realizar las diluciones centesimales ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ ), en tubos de ensayo que contienen caldo peptona.
- Posteriormente utilizando la última dilución se repicó con un asa de siembra sobre placas petri que contenían medios de cultivo como: M77, Agar Cetrimide, Agar Cleed y se incubaron por un periodo de 24 a 48 horas.
- Luego de esta etapa se procedió a distinguir las colonias desarrolladas en cada medio de cultivo, posteriormente estas fueron repicadas en tubos de ensayo que contienen Mueller Hinton en plano inclinado, con la finalidad de separarlas por cepas.

- Estas cepas fueron incubados por 24 horas a una temperatura de 37°C. Estas fueron las cepas para la fase de elección (adaptabilidad).

#### **3.3.4. Recolección de agua residual**

Se recolectó 20 litros de agua residual proveniente de los efluentes líquidos de la ciudad de Tingo María, el cual pasó por una etapa previa de acondicionamiento para ser utilizada en los reactores. Este tratamiento previo consistió en separar todos los elementos mayores de 5 cm, luego esta agua estuvo puesta en reposo por 2 horas, terminado este tiempo se le eliminó todo el material flotante (aceites, residuos sólidos pequeños), posteriormente esta agua es agitada con la finalidad de que todo el material orgánico e inorgánico se disuelva completamente en el agua, para finalmente ser utilizados en los biorreactores.

#### **3.3.5. Determinación de los parámetros**

Se determinaron los 9 parámetros que son: Coliformes fecales (*Escherichia Coli*), pH, Oxígeno Disuelto (OD), Sólidos Suspendidos Totales (SST), Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>), Nitratos, Fosfatos, Temperatura y Demanda Química de Oxígeno (DQO).

##### **3.3.5.1. Determinación de los coliformes fecales**

Según el método del NMP/ 100 ml, Se utilizó 9 ml de caldo *E. Coli*, con tubos de Durham invertidos, para cada muestra, por lo que

en total utilizaron 27 tubos para cada tratamiento (*Pseudomona*, *Enterobacter* y *Bacillus*).

Luego se utilizó 1 ml de muestra, para ser diluida consecutivamente cada una  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ . Se llevó a incubación a 44.5 °C de temperatura por un periodo de 24 a 48 horas.

Se identificaron los tubos de gas positivo, según lo indicado en la tabla patrón, determinando el índice del número más probable. De los tubos positivos de *E. Coli* se repicaron por estrías sobre placas conteniendo el medio Eosina Azul de Metileno (EMB), para determinar desarrollo de colonias.

Se realizó la prueba de IMVIC, de los tubos positivos se sembró por el método de enjuague en caldo peptona, caldo rojo de metilo, caldo voges poskaver, y por estrías en citrato de Simons llevados a 37°C de incubación por un periodo de 24 a 48 horas para cada punto de muestreo.

Luego se adicionaron de 2- 3 gotas de KOVAC en el caldo peptona, de 2 a 3 gotas de reactivo rojo de metilo en el caldo rojo de metilo, de 2 a 3 gotas hidrogeno de potasio al 4% y reactivo alfa-naftol en el caldo voges poskaver, y se identificó la presencia de *E. Coli* a través de la tabla.

### **3.3.5.2. Determinación del pH**

Se sacó del agua residual una muestra de 20 ml en un vaso de precipitado, a partir de esto se determinó usando el potenciómetro pH-metro marca ESTECH modelo 407227 adecuadamente calibrado, seguidamente se obtuvo la lectura, para cada punto de muestreo.

### **3.3.5.3. Determinación del oxígeno disuelto (OD)**

Se utilizó un equipo medidor de Oxígeno Disuelto (Oxímetro) Portátil HI 9146 HANNA, el procedimiento fue el siguiente APHA (1992):

- Se calibró adecuadamente el equipo y se retiró la capa protectora, Se sumergió la punta de la sonda en la muestra a analizar.
- Para que la medición sea exacta, se dejó el tiempo necesario para que tenga lugar el equilibrio térmico entre la sonda y la muestra, seguidamente se hizo la lectura.

### **3.3.5.4. Determinación de los sólidos suspendidos totales (STS)**

La determinación de los sólidos totales suspendido de las muestras serán realizadas por el método N° 2540 APHA (1992), por medio de la técnica de diferencia de pesos sobre papel de filtro.

Se tomó 0.1 litro de muestra del agua residual, seguidamente se llevó al laboratorio y en papel filtro debidamente

pesado se filtró en un matraz de 0.5 litro, para luego ser llevado a la estufa a 37°C por un periodo de 24 horas, se pesó el papel, y se hizo el cálculo a través de esta fórmula:

$$[STS (mg/l)] = \frac{A - B}{Volumen (l)} * 1000$$

Dónde:

A = peso final del papel filtro (g)

B = peso inicial del papel filtro (g)

### **3.3.5.5. Determinación de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO)**

Se utilizó un equipo medidor de oxígeno disuelto (oxímetro) portátil HI 9146 HANNA, debidamente calibrado y se realizó la lectura del oxígeno disuelto presente en el agua residual (O.D Inicial); luego se procedió a medir la el oxígeno disuelto del agua de dilución.

Seguidamente se guardó la muestra en un recipiente oscuro por 5 días para ser leída la segunda lectura (O.D final).

Para la determinación del DBO<sub>5</sub>, se realizó según el siguiente diagrama (RAMALHO, 1990):

$$\left[ \begin{array}{c} DBO \\ (mg/l) \end{array} \right] = [(Vs * Ois) + (Vd * Ofd)] - [Vb * Ofb]$$

Dónde:

- DBO= Demanda bioquímica de oxígeno (mg/L)

- $V_s$ = volumen de la muestra de agua residual en L.
- $O_{is}$ = concentración de oxígeno disuelto en el agua residual en mg/L.
- $V_d$ = volumen del agua de dilución en L.
- $O_{fd}$ = concentración de oxígeno disuelto en el agua de dilución mg/L.
- $V_b$ = volumen total en L.
- $O_{fb}$ = oxígeno disuelto final de la mezcla en mg/L.

#### **3.3.5.6. Determinación de la demanda química de oxígeno (DQO)**

- En dos matraces se añadieron agua destilada con un volumen de 100 ml, el primero para añadir la muestra y el segundo para el blanco (sólo agua destilada).
- En el primer matraz se añadió la muestra 1 ml, en caso de que el agua residual este muy cargado diluir la muestra.
- A cada matraz, se añadió 5 ml de  $H_2SO_4$  diluido 1:3 y 20 de  $KMnO_4$  0.01 N.
- Ambos matraces fueron llevados a ebullición por 10 minutos y se colocó una bolita de vidrio para facilitar la ebullición.
- Transcurrido los 10 minutos se añadió 20 ml de ácido oxálico 0.01 N, produciéndose una decoloración completa.

- Valorar el ácido oxálico en exceso con  $\text{KMnO}_4$  0.01 N hasta viraje a rosado débil.

$$\left[ \frac{DQO}{(mg\ O_2/l)} \right] = (A - B) * 0.8$$

Dónde:

- DQO = Demanda Química de Oxígeno (mg/L)
- A = volumen de  $\text{KMnO}_4$  gastado en la valoración de la muestra.
- B = volumen de  $\text{KMnO}_4$  gastado en la valoración del Blanco.

### 3.3.5.7. Determinación de nitratos

Se determinó con el método colorimétrico a partir del Test Kit de Nitrato HI3874, cuyo procedimiento fue:

- Se llenó la cubeta de cristal con 10 mL de la muestra, hasta la marca que indica.
- Se añadió 1 paquete de reactivo HI 3874-0.
- Se volvió a colocar la tapa y se agito vigorosamente durante 1 minuto.
- Se esperó 4 minutos a que el color se desarrolle.

- Se retiró la tapa y se llenó el cubo comparador de color con 5 mL de la muestra tratada (hasta la marca). Se determinó qué color se asemeja con la solución en el cubo y se registró el resultado.

#### **3.3.5.8. Determinación de fosfatos**

Se determinó con el método colorimétrico a partir del Test Kit de fosfato HI3833, cuyo procedimiento fue:

- Se retiró la tapa del vaso de plástico, se enjuago el vaso de plástico con la muestra de agua hasta la marca de 10 mL.
- Se añadió 1 paquete de reactivo HI 3833-0.
- Se colocó la tapa y se mezcló la solución hasta que los sólidos se disuelvan.
- Se quitó la tapa y se transfirió la solución al cubo comparador de color.
- Se dejó reposar durante 1 minuto, y se comparó el color para su determinación.

#### **3.3.5.9. Determinación de la temperatura**

Se utilizó un equipo medidor de oxígeno disuelto (Oxímetro) Portátil HI 9146 HANNA, que también tiene para medir la Temperatura.

- Se calibró adecuadamente el equipo y se retiró la capa protectora, Se sumergió la punta de la sonda en la muestra a analizar asegurándose que el sensor de temperatura también esté sumergido.
- Luego se dejó el tiempo necesario para que tenga lugar el equilibrio térmico entre la sonda y la muestra, seguidamente se hizo la lectura.

### **3.3.6. Identificación preliminar de los microorganismos (a nivel de grupo o género).**

Las bacterias que demostraron capacidad depuradora del 70 % del contaminante en los biorreactores se las identificaron por siembra en medios bioquímicos diferenciales y en cultivo del sistema API, comparando con tablas patrones.

### **3.3.7. Inducción de mutación en microorganismos**

#### **3.3.7.1. Inducción de mutación Física**

Se colocaron las cepas de bacterias aisladas (elegidas) bajo la influencia de la luz ultravioleta utilizando una lámpara de UV de 32 watts por espacio de 24 horas, y estos fueron probados en el electroforesis para verificar la mutación, posteriormente fueron utilizados en los biorreactores.

### **3.3.7.2. Inducción de mutación Química**

Asimismo para la mutación química se utilizó azida de sodio a una concentración de 2 mg/100ml de BHI, luego se añadió las bacterias elegidas y se procedió a incubar por un espacio de 18 horas y estos fueron probados en el electroforesis para verificar la mutación, posteriormente fueron utilizados en los biorreactores.

### **3.3.8. Obtención de lisado celular y purificación del ADN de la cepa bacteriana aislada**

- Tener un cultivo de microorganismos de toda la noche en caldo Luria o BHI, preferible en un sistema rotatorio a 37 °C
- Llevar 0.5 ml del cultivo a un tubo de micro centrífuga de 1.5 ml de capacidad.
- Centrifugar por 2 minutos
- Aspirar sobrenadante y resuspender el sedimento en 100 uL de solución I, mantener a 0 °C por 20 minutos
- Añadir 200 uL de solución II, agitar suavemente, podría aclarar después de 5 minutos a 0° C
- Añadir 150 uL solución III, invertir suavemente, ADN cromosómico podría agruparse o precipitar.
- Mantener a 0°C por 60 minutos mínimo.

- Centrifugar 5 minutos
- Transferir sobrenadante (aproximado 400 uL) a un tubo limpio.
- Añadir etanol helado (-20 °C), mezclar bien, mantener a -70° C por 30 minutos o 2 horas a – 20 °C
- Centrifugar por 5 minutos.
- Aspirar sobrenadante y resuspender sedimento en 100 uL de NaAc 0.1 M, tris HCl 0.05 M, pH 8. (puede ser fenol)
- Añadir 200 uL de etanol helado (-20 °C), mezclar bien. Mantener a -70 °C por 30 minutos o a -20 °C, por toda la noche.
- Centrifugar 2 minutos.
- Aspirar sobrenadante, secar al aire-.
- Disolver el ADN en 25 uL de TE buffer, añadir 6 uL de mezcla de termino (stop mix).

#### **3.3.8.1. Electroforesis en gel de agarosa**

En un matraz mezclar una cantidad adecuada de agarosa (1 g) con tampón TBE (100 mL). Calentar la mezcla (agarosa mas TBE) con la ayuda de un termorregulador de agua (baño maría) hasta disolver completamente la agarosa. Añadir 5 µL de una solución de bromuro de etidio (10 mg/mL).

Dejar enfriar ligeramente la mezcla (gel) hasta que alcance una temperatura de entre 50 °C a 60 °C y verterla, seguidamente, sobre una cama electroforética, previamente preparada, colocando el peine (combinado) adecuado para formar los pocillos sobre la placa de agarosa preparada.

Dejar enfriar sin mover a temperatura ambiente hasta que gelifique completamente.

En un tubo eppendorf limpio añadir 10 µL del ADN aislado anteriormente más 10 µL de agua de la disolución.

Depositar la muestra en uno de los pocillos del gel de agarosa al 1% previamente fabricado (éste se ha colocado con anterioridad sumergido en tampón TBE en una cubeta de electroforesis)

Cerrar o tapar la cubeta de electroforesis, colocar los electrodos de tal forma que el polo negativo quede al lado de los pocillos y el polo positivo en el extremo opuesto del gel, hacia donde va a migrar el ADN, y aplicar una corriente eléctrica continua de 120 voltios a 70 mA.

Detener la electroforesis tras unos 60 minutos o cuando el colorante haya recorrido las tres cuartas partes del gel. Visualizar el ADN con ayuda de un transiluminador de luz ultravioleta de onda corta. Fotografiar con filtro rojo.

### **3.3.9. Operación en biorreactores.**

Se utilizó el medio MSM o de sales minerales (GONZALES y GUTIERREZ, 2005), asimismo se preparó volúmenes necesarios para las etapas de inducción de biopelícula así como para las pruebas de biotransformación.

Las bacterias modificadas genéticamente previamente reactivadas en Caldo MSM y en volúmenes de 100 mL constituyeron los inóculos para los biorreactores que tendrán un volumen de 800 ml. Se añadieron 40 % de agua residual doméstica, en concentraciones especificadas, al medio y posteriormente se inició el sistema con la puesta en marcha del biorreactor.

Se utilizaron una bomba de aire para los biorreactores Airlift con la capacidad de ofrecer 0.4 L/min de oxígeno; El tiempo total de operación se calculó sea de 7 días por cada concentración de agua residual doméstica.

Por último se realizaron las mediciones de los parámetros establecidos anteriormente durante y al finalizar la operación (3 y 7 días respectivamente)

### **3.3.10. Eficiencia de remoción de los microorganismos en los bioreactores.**

Se calculó mediante una correlación porcentual entre la concentración inicial y final de los contaminantes en el agua presente en

cada biorreactor, según el tratamiento del mismo, mediante la siguiente fórmula:

$$E_{bd} = \left( \frac{C_i - C_f}{C_i} \right) * 100$$

Dónde:

$E_{bd}$  = eficiencia (%)

$C_i$  = Concentración inicial de contaminante (mg/L)

$C_f$  = Concentración final de contaminante (mg/L).

Esta fórmula se aplicó a los parámetros que determinan la cantidad de materia orgánica presente: Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5), Demanda Química de Oxígeno (DQO), Sólidos Totales (ST) (BEUN *et al.*, 1999)

### **3.4. Análisis estadístico**

#### **3.4.1. Análisis de varianza (ANOVA)**

Se distribuyeron las variables estadísticas y tratamientos de acuerdo al diseño experimental se utilizó el modelo estadístico completamente al azar (DCA) con arreglo 3 x 3 x 2 con dos repeticiones, utilizando el programa Statgraphics centurión XV.II en español, para un nivel de significación del 5%.

Cuadro 4. Análisis de Variancia (ANOVA)

<b>Fuente de variación</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>Fc</b>	<b>Signif</b>
Tratamientos	t – 1	ST- e	SCtrat/GLtrat	CMtrat/CMe	Fc > Ft
Error	t(r-1)	SCT-SCtrat	SCerror/GLe		
<b>TOTAL</b>	<b>t.r-1</b>				

Elaboración propia

### **3.4.2. Prueba de múltiple rangos de diferencia francamente significativa de Tukey (HSD Tukey)**

Se empleó la Diferencia Francamente Significativa de Tukey (HSD - Tukey) a fin de determinar entre que tratamientos había diferencias significativas, para un nivel de significación del 5%, utilizando el programa Statgraphics centurión XV.II en español.

## IV. RESULTADOS

### 4.1. Caracterización del agua residual domestica a aplicar el tratamiento

#### 4.1.1. Caracterización del agua residual domestica para el tratamiento con el agente mutagénico físico

Cuadro 5. Caracterización del agua para el tratamiento físico

PARAMETROS	UNIDADES	CANTIDAD (ml)
Coliformes Fecales	NMP/100 ml	780.00
pH	Adimensional	6.25
DBO <sub>5</sub>	mg/L	302.10
Nitratos	mg/L	40.00
Fosfatos	mg/L	5.00
Temperatura	° C	29.70
DQO	mg/L	552.00
Solidos Totales Suspendido	mg/L	935.00
Oxígeno Disuelto	mg/L	0.77

Elaboración Propia

En el cuadro anterior observamos que los valores obtenidos en la caracterización del agua residual doméstica, sobrepasan los límites máximos permisibles para los efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas o municipales.

#### 4.1.2. Caracterización del agua residual domestica para el tratamiento con el agente mutagénico químico

Cuadro 6. Caracterización del agua para el tratamiento químico

PARAMETROS	UNIDADES	CANTIDAD (ml)
Coliformes Fecales	NMP/100 ml	1100.0
pH	Adimensional	6.4
DBO <sub>5</sub>	mg/L	318.2
Nitratos	mg/L	50.0
Fosfatos	mg/L	5.0
Temperatura	° C	28.8
DQO	mg/L	589.0
Solidos Totales Suspendido	mg/L	1165.0
Oxígeno Disuelto	mg/L	1.05

Elaboración Propia

En el cuadro anterior observamos que los valores obtenidos en la caracterización del agua residual doméstica, sobrepasan los límites máximos permisibles para los efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas o municipales.

#### 4.2. Modificación de las cepas aisladas por técnicas no dirigidas (UV y azida de sodio)

En la figura se observa la variación de las bandas electroforéticas correspondientes a los ácido desoxirribonucleicos (ARN) y ribonucleicos (ARN), como el ADN extracomosomal correspondientes a los plásmidos que obtengan la variabilidad genética de incrementar la capacidad depuradoras de las cepas de los contaminantes de las aguas residuales domésticas.

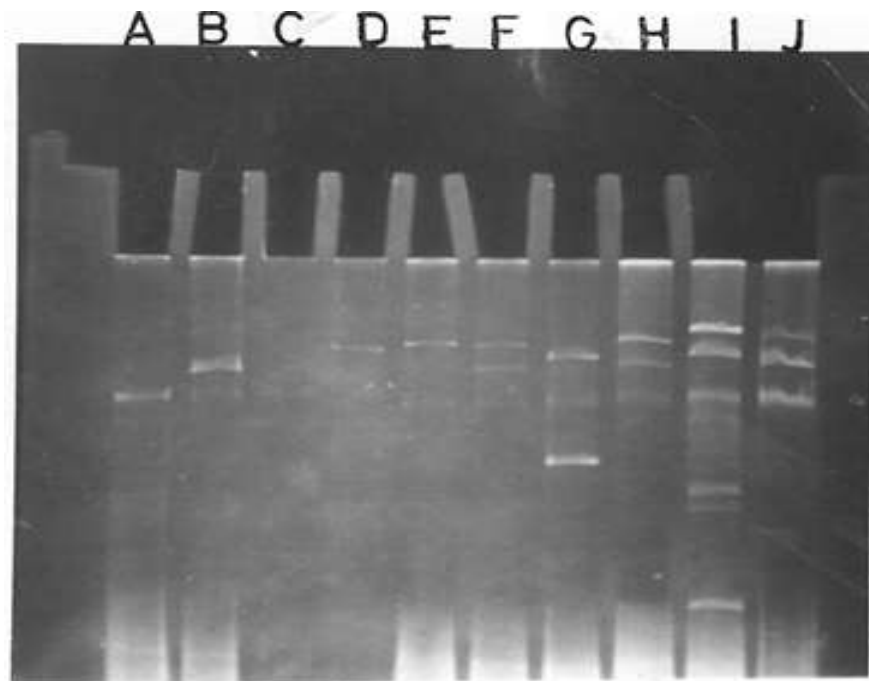


Figura 2. Modificación genética de las tres cepas.

En la imagen observamos que las letras H, I y J son las cepas sin modificar (*Enterobacter*, *Pseudomonas* y *Bacillus*) respectivamente.

Mientras que las letras A y B son las cepas modificadas de los *Enterobacter*, comparando con el testigo observamos que no existe mucha variación genética correspondientes a los ADN y ARN, mientras que las letras D y E corresponden a las Cepas modificadas de los *Bacillus* donde observamos una simple variación en su ADN y ARN con respecto al testigo. Sin embargo si observamos las letras F y G, notamos que existe una mayor variación en su ADN y ARN, por tal motivo las *Pseudomonas* es la especie que tuvo mayor eficiencia en la depuración de las aguas residuales domésticas.

### 4.3. Eficiencia en la depuración del agua residual domestica (ARD)

#### 4.3.1. Depuración del Agua Residual Domestica con tres cepas modificadas por el agente Físico

Se compararon 9 parámetros tomados en cuenta para la determinación de la eficiencia de las cepas modificadas genéticamente con el agente mutagénico físico, asimismo se tuvo un testigo donde no se aplicó ningún tratamiento.

Cuadro 7. Valores de los parámetros obtenidos sin la aplicación de microorganismos

TIEMPO (Días)	Coliformes Fecales	pH	DBO <sub>5</sub>	Nitrato	Fosfato	Temperatura	DQO	STS	Oxígeno Disuelto
0	780.00	6.25	302.10	40.00	5.00	29.70	552.00	935.00	0.77
3	750.00	6.30	295.20	40.00	5.00	29.50	528.00	930.00	0.89
7	730.00	6.32	285.00	40.00	5.00	28.90	520.00	918.00	1.00

Elaboración Propia

Cuadro 8. Valores de los parámetros obtenidos con *Pseudomonas* modificadas genéticamente

TIEMPO (Días)	Coliformes Fecales	pH	DBO <sub>5</sub>	Nitrato	Fosfato	Temperatura	DQO	STS	Oxígeno Disuelto
0	780.00	6.25	302.10	40.00	5.00	29.70	552.00	935.00	0.77
3	135.00	7.39	85.01	20.00	3.00	28.95	141.68	250.00	4.16
7	20.00	8.23	14.12	10.00	1.00	28.55	23.53	75.00	5.29

Elaboración Propia

Cuadro 9. Valores de los parámetros obtenidos con *Enterobacter* modificadas genéticamente

TIEMPO (Días)	Coliformes Fecales	pH	DBO <sub>5</sub>	Nitrato	Fosfato	Temperatura	DQO	STS	Oxígeno Disuelto
0	780.00	6.25	302.10	40.00	5.00	29.70	552.00	935.00	0.77
3	185.00	7.27	103.64	30.00	3.50	29.25	172.73	330.00	3.91
7	48.50	8.09	50.11	15.00	1.50	28.65	83.52	170.00	4.06

Elaboración Propia

Cuadro 10. Valores de los parámetros obtenidos con *Bacillus* modificadas genéticamente

TIEMPO (Días)	Coliformes Fecales	pH	DBO <sub>5</sub>	Nitrato	Fosfato	Temperatura	DQO	STS	Oxígeno Disuelto
0	780.00	6.25	302.10	40.00	5.00	29.70	552.00	935.00	0.77
3	210.00	7.22	123.94	35.00	4.00	29.25	206.56	560.00	3.24
7	69.50	8.03	33.69	20.00	2.50	28.85	56.15	300.00	4.32

Elaboración Propia

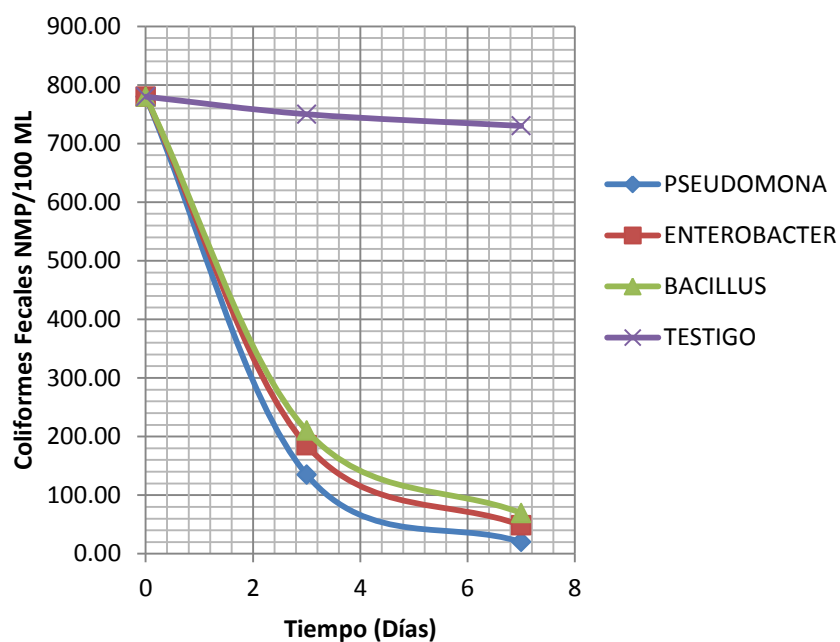


Figura 3. Comparación de la reducción de coliformes fecales de las tres cepas

El análisis de varianza para los promedios de coliformes fecales encontrada al finalizar la operación de biorreactores Airlift, muestra que existe significancia estadística entre la cepa modificada y el tratamiento sobre los valores del coliformes fecales, con valores-P menores que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 11. ANOVA para promedios de coliformes fecales en relación a las cepas modificadas

<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
A:CEPA	9466.75	2	4733.38	16.02	0.0002
B:Tratamiento	181202.	1	181202.	613.09	0.0000
RESIDUOS	4137.75	14	295.554		
TOTAL (CORREGIDO)	194807.	17			

Elaboración Propia

Mediante la prueba de Tukey se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de los Coliformes Fecales influenciados por el tipo de cepa utilizada como se muestra en el cuadro 12.

Cuadro 12. Pruebas de Múltiple Rangos HSD de Tukey para coliformes fecales según las cepas modificadas genéticamente

CEPA	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
<i>PSEUDOMONAS</i>	6	115.0	7.01847	X
<i>BACILLUS</i>	6	154.75	7.01847	X
<i>ENTEROBACTER</i>	6	169.25	7.01847	X

Elaboración Propia

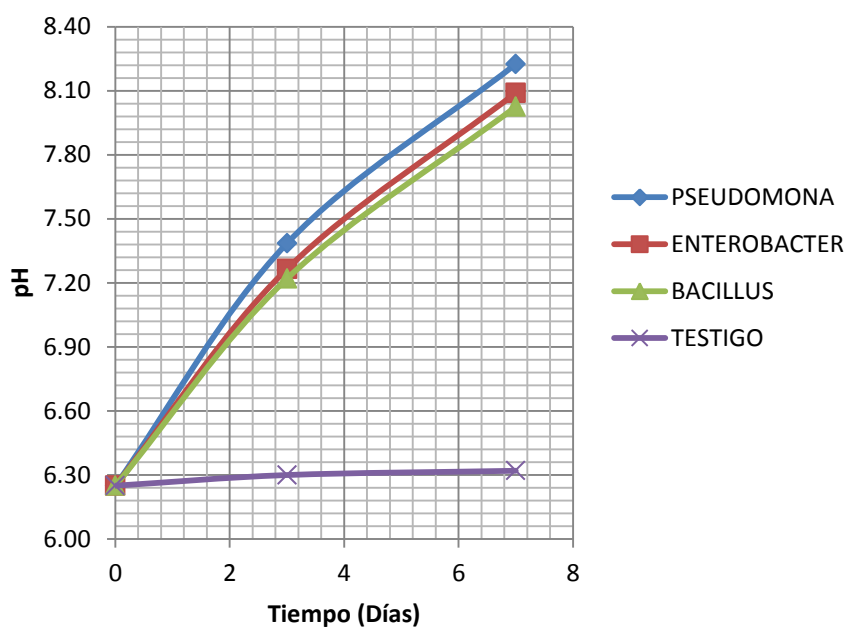


Figura 4. Comparación de la estabilización del pH de las tres cepas

El análisis de varianza para los promedios de pH encontrada al finalizar la operación de biorreactores Airlift, muestra que existe significancia estadística entre la cepa modificada y el tratamiento sobre los valores del pH, con valores-P menores que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 13. ANOVA para promedios de pH en relación a la Cepas Modificadas

<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
A:CEPA	0.0823111	2	0.0411556	42.23	0.0000
B:Tratamiento RESIDUOS	7.55309	1	7.55309	7749.91	0.0000
TOTAL (CORREGIDO)	0.0136444	14	0.000974603		
	7.64904	17			

Elaboración Propia

Mediante la prueba de Tukey se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de pH influenciados por el tipo de cepa utilizada como se muestra en el cuadro 14.

Cuadro 14. Pruebas de Tukey para pH según la Cepas Modificadas Genéticamente.

<b>CEPA</b>	<b>Casos</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>BACILLUS</i>	6	7.41333	0.012745	X
<i>ENTEROBACTER</i>	6	7.42	0.012745	X
<i>PSEUDOMONAS</i>	6	7.56	0.012745	X

Elaboración Propia

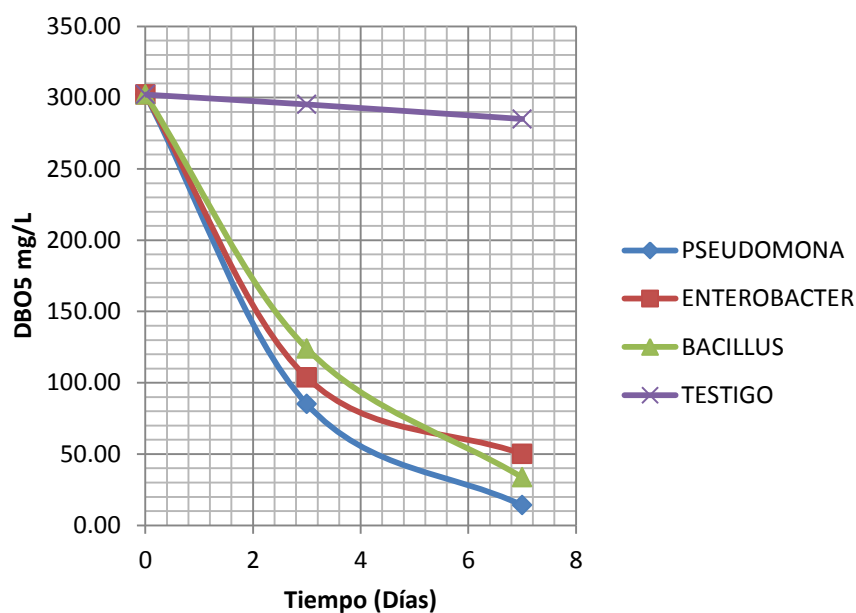


Figura 5. Comparación de la reducción de la Demanda Bioquímica de Oxígeno de las tres cepas

El análisis de varianza para los promedios de la  $DBO_5$  mg/l encontrada al finalizar la operación de biorreactores Airlift, muestra que existe significancia estadística entre la cepa modificada y el tratamiento sobre los valores de la  $DBO_5$ , con valores-P menores que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 15. ANOVA para promedios de  $DBO_5$  mg/l en relación a la Cepas Modificadas

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:CEPA	1957.51	2	978.753	29.91	0.0000
B:Tratamiento	50217.0	1	50217.0	1534.54	0.0000
RESIDUOS	458.144	14	32.7246		
TOTAL (CORREGIDO)	52632.7	17			

Elaboración Propia

Mediante la prueba de Tukey se determinó que existe diferencias estadísticamente significativas entre los valores de la DBO mg/l influenciados por el tipo de cepa utilizada como se muestra en el cuadro 16.

Cuadro 16. Pruebas de Tukey para DBO<sub>5</sub> mg/l según la Cepas Modificadas genéticamente.

CEPA	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
<i>PSEUDOMONAS</i>	6	71.2083	2.3354	X
<i>BACILLUS</i>	6	89.29	2.3354	X
<i>ENTEROBACTER</i>	6	95.875	2.3354	X

Elaboración Propia

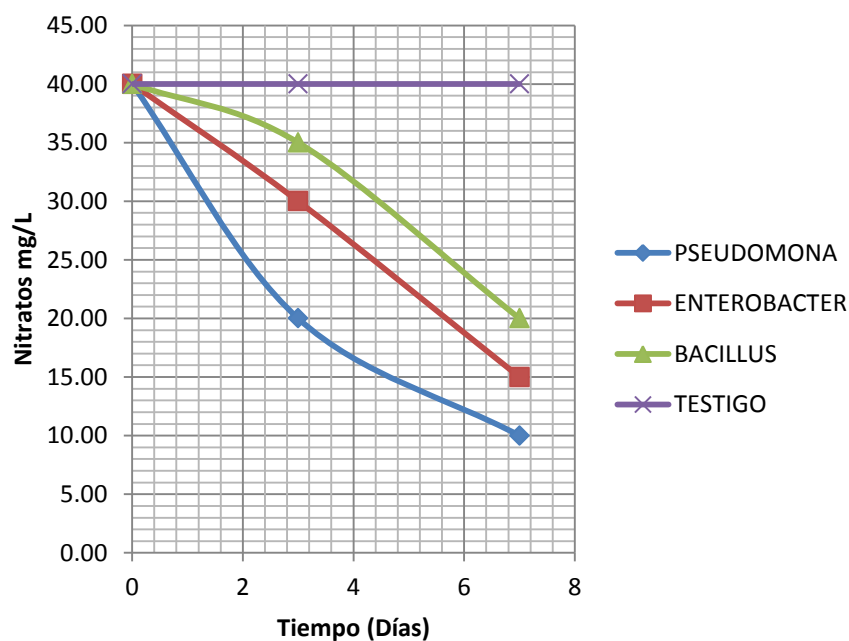


Figura 6. Comparación de la reducción de Nitratos de las tres cepas

El análisis de varianza para los promedios de los Nitratos mg/l encontrada al finalizar la operación de biorreactores Airlift, muestra que existe significancia estadística entre la cepa modificada y el tratamiento sobre los valores de los Nitratos, con valores-P menores que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 17. ANOVA para promedios de Nitratos en relación a la Cepas Modificadas

<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
A:CEPA	75.0	2	37.5	4.20	0.0373
B:Tratamiento	1012.5	1	1012.5	113.40	0.0000
RESIDUOS	125.0	14	8.92857		
TOTAL (CORREGIDO)	1212.5	17			

Elaboración Propia

Mediante la prueba de Tukey se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de los Nitratos mg/l influenciados por el tipo de cepa utilizada como se muestra en el cuadro 18.

Cuadro 18. Pruebas de Tukey para Nitratos mg/l según la Cepas Modificadas genéticamente.

<b>CEPA</b>	<b>Casos</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>PSEUDOMONAS</i>	6	20.0	1.21988	X
<i>ENTEROBACTER</i>	6	22.5	1.21988	X X
<i>BACILLUS</i>	6	25.0	1.21988	X

Elaboración Propia

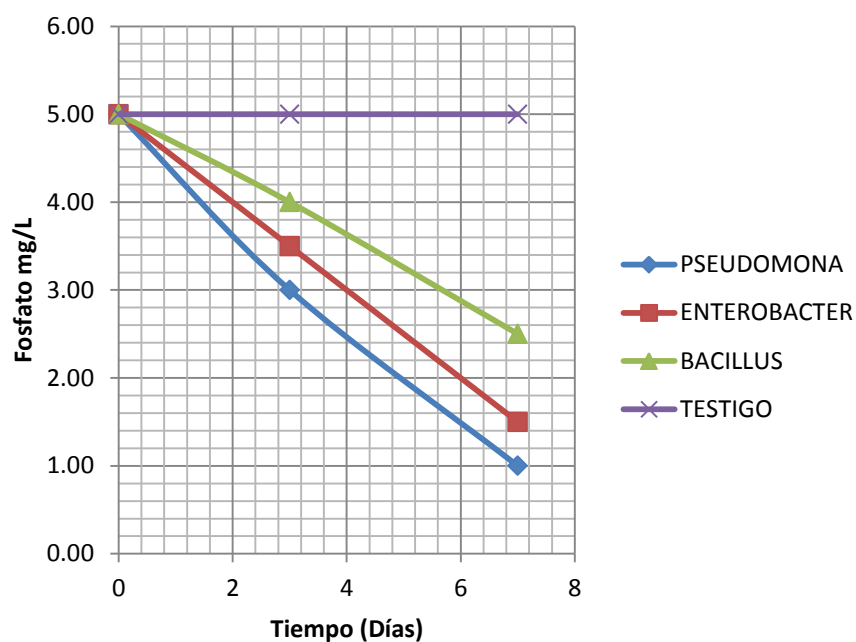


Figura 7. Comparación de la reducción de Fosfato de las tres cepas

El análisis de varianza para los promedios de los Fosfatos mg/l encontrada al finalizar la operación de biorreactores Airlift, muestra que existe significancia estadística entre la cepa modificada y el tratamiento sobre los valores de los Fosfatos, con valores-P menores que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 19. ANOVA para promedios Fosfatos en relación a la Cepas Modificadas

<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
A:CEPA	1.75	2	0.875	4.45	0.0318
B:Tratamiento	24.5	1	24.5	124.73	0.0000
RESIDUOS	2.75	14	0.196429		
<b>TOTAL (CORREGIDO)</b>	<b>29.0</b>	<b>17</b>			

Elaboración Propia

Mediante la prueba de Tukey se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de los Fosfatos mg/l influenciados por el tipo de cepa utilizada como se muestra en el cuadro 20.

Cuadro 20. Pruebas de Tukey para los Fosfatos mg/l según la Cepas Modificadas Genéticamente.

<b>CEPA</b>	<b>Casos</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>PSEUDOMONAS</i>	6	2.5	0.180937	X
<i>ENTEROBACTER</i>	6	2.75	0.180937	X X
<i>BACILLUS</i>	6	3.25	0.180937	X

Elaboración Propia

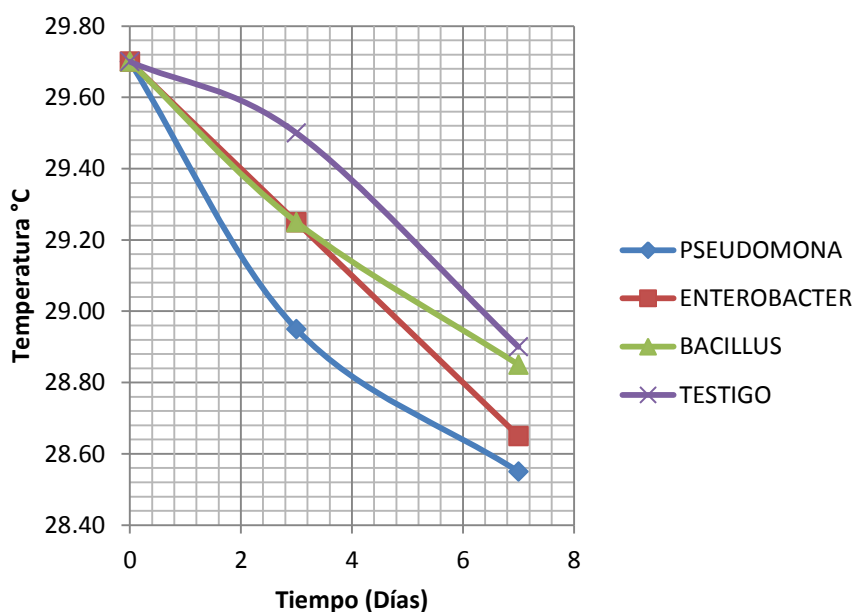


Figura 8. Comparación de la reducción de Temperatura de las tres cepas

El análisis de varianza para los promedios de la Temperatura °C encontrada al finalizar la operación de los biorreactores Airlift, muestra que no existe significancia estadística entre la cepa y el tratamiento, con valores-P menores que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 21. ANOVA para promedios de la Temperatura en relación a la Cepas Modificadas

<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
A:CEPA	0.13	2	0.065	8.67	0.0036
B:Tratamiento	0.10125	1	0.10125	13.50	0.0025
RESIDUOS	0.105	14	0.0075		
TOTAL (CORREGIDO)	0.33625	17			

Elaboración Propia

Mediante la prueba de Tukey se determinó que existe diferencias estadísticamente significativas entre los valores de la Temperatura °C influenciados por el tipo de cepa utilizada como se muestra en el cuadro 22.

Cuadro 22. Pruebas de Tukey para la Temperatura según la Cepas Modificadas Genéticamente.

<b>CEPA</b>	<b>Casos</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>ENTEROBACTER</i>	6	28.675	0.0353553	X
<i>PSEUDOMONAS</i>	6	28.725	0.0353553	X
<i>BACILLUS</i>	6	28.875	0.0353553	X

Elaboración Propia

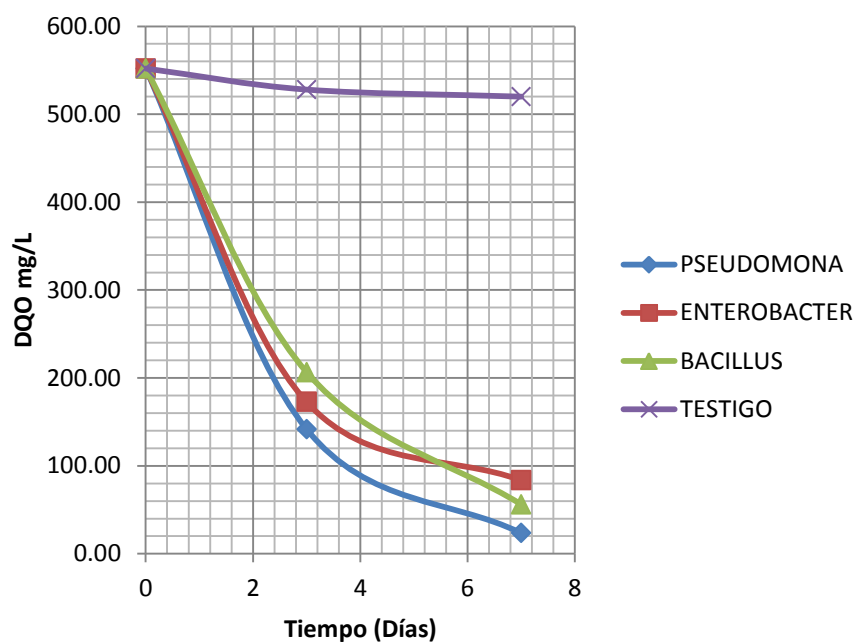


Figura 9. Comparación de la reducción de Demanda química de oxígeno de las tres cepas

El análisis de varianza para los promedios de la DQO mg/l encontrada al finalizar la operación de biorreactores Airlift, muestra que existe significancia estadística entre la cepa modificada y el tratamiento sobre los valores de la DQO, con valores-P menores que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 23. ANOVA para promedios de la DQO mg/l en relación a la Cepas Modificadas

<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
A:CEPA	5438.37	2	2719.19	29.92	0.0000
B:Tratamiento	139491.	1	139491.	1535.05	0.0000
RESIDUOS	1272.19	14	90.8705		
TOTAL (CORREGIDO)	146201.	17			

Elaboración Propia

Mediante la prueba de Tukey se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de la DQO mg/l influenciados por el tipo de cepa utilizada como se muestra en el cuadro 24.

Cuadro 24. Pruebas de Tukey para la DQO según la Cepas Modificadas Genéticamente.

<b>CEPA</b>	<b>Casos</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>PSEUDOMONAS</i>	6	118.678	3.89167	X
<i>BACILLUS</i>	6	148.815	3.89167	X
<i>ENTEROBACTER</i>	6	159.793	3.89167	X

Elaboración Propia

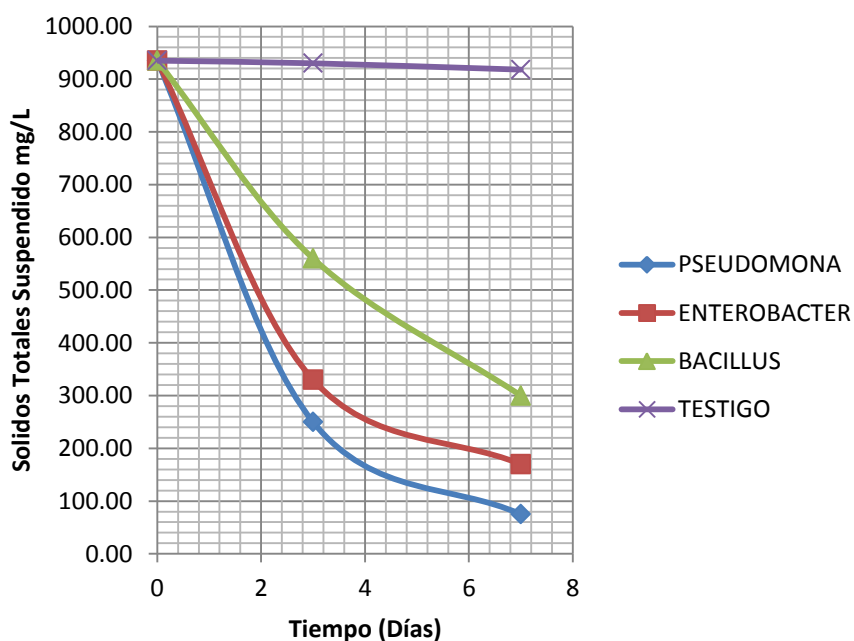


Figura 10. Comparación de la reducción de los Sólidos totales suspendido de las tres cepas

El análisis de varianza para los promedios de los STS mg/l encontrada al finalizar la operación de biorreactores Airlift, muestra que existe significancia estadística entre la cepa modificada y el tratamiento sobre los valores de los STS, con valores-P menores que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 25. ANOVA para promedios de los STS mg/l en relación a la Cepas Modificadas

<b>EFECTOS PRINCIPALES</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
A:CEPA	74575.0	2	37287.5	19.17	0.0001
B:Tratamiento	1.87211E6	1	1.87211E6	962.70	0.0000
RESIDUOS	27225.0	14	1944.64		
TOTAL (CORREGIDO)	1.97391E6	17			

Elaboración Propia

Mediante la prueba de Tukey se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de los STS mg/l influenciados por el tipo de cepa utilizada como se muestra en el cuadro 26.

Cuadro 26. Pruebas de Tukey para los STS mg/l según la Cepas Modificadas Genéticamente.

<b>CEPA</b>	<b>Casos</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>PSEUDOMONAS</i>	6	427.5	18.003	X
<i>ENTEROBACTER</i>	6	500.0	18.003	X
<i>BACILLUS</i>	6	585.0	18.003	X

Elaboración Propia

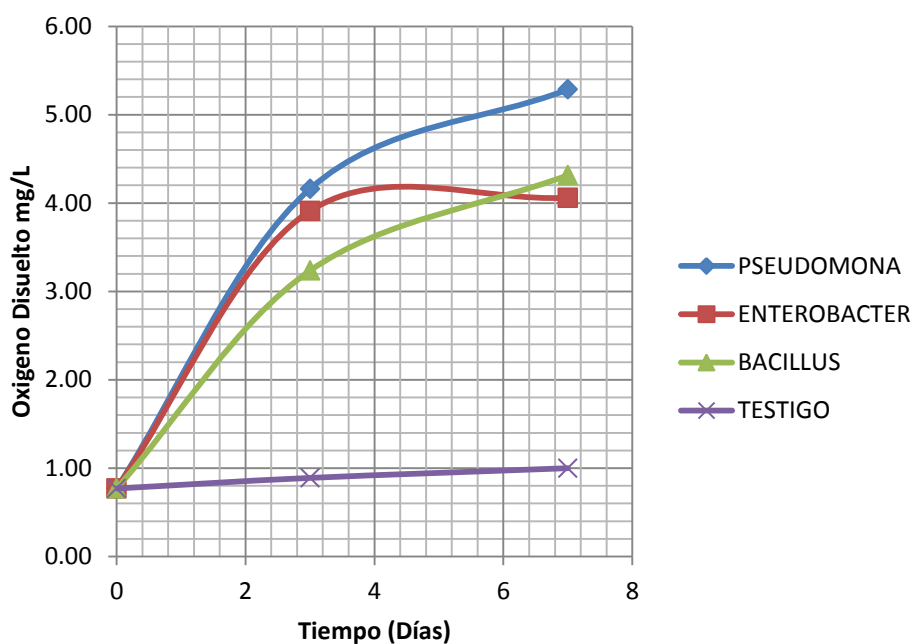


Figura 11. Comparación de la reducción de oxígeno disuelto de las tres cepas

El análisis de varianza para los promedios del OD mg/l encontrada al finalizar la operación de biorreactores Airlift, muestra que existe significancia estadística entre la cepa modificada y el tratamiento sobre los valores del OD, con valores-P menores que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 27. ANOVA para promedios del OD mg/l en relación a la Cepas Modificadas

<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
A:CEPA	2.71721	2	1.35861	38.63	0.0000
B:Tratamiento	2.88801	1	2.88801	82.11	0.0000
RESIDUOS	0.492411	14	0.0351722		
TOTAL (CORREGIDO)	6.09763	17			

Elaboración Propia

Mediante la prueba de Tukey se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores del OD mg/l influenciados por el tipo de cepa utilizada como se muestra en el cuadro 28.

Cuadro 28. Pruebas de Tukey para los OD mg/l según la Cepas Modificadas Genéticamente.

<b>CEPA</b>	<b>Casos</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>ENTEROBACTER</i>	6	3.875	0.0765639	X
<i>BACILLUS</i>	6	3.88333	0.0765639	X
<i>PSEUDOMONAS</i>	6	4.70333	0.0765639	X

Elaboración Propia

#### **4.3.2. Depuración del Agua Residual Domestica con tres cepas modificadas por el agente Químico**

Se compararon 9 parámetros tomados en cuenta para la determinación de la eficiencia de las cepas modificadas genéticamente con el agente mutagénico químico, asimismo se tuvo un testigo general donde no se aplicó ningún tratamiento.

Cuadro 29. Valores de los parámetros obtenidos sin la aplicación de microorganismos

<b>TIEMPO (Días)</b>	<b>Coliformes Fecales</b>	<b>pH</b>	<b>DBO<sub>5</sub></b>	<b>Nitrato</b>	<b>Fosfato</b>	<b>Temperatura</b>	<b>DQO</b>	<b>STS</b>	<b>Oxígeno Disuelto</b>
<b>0</b>	1100.00	6.40	318.20	50.00	5.00	28.80	589.00	1165.00	1.05
<b>3</b>	1050.00	6.50	310.40	50.00	5.00	28.90	575.00	1152.00	1.10
<b>7</b>	1030.00	6.65	302.12	50.00	5.00	30.00	566.00	1145.00	1.15

Elaboración Propia

Cuadro 30. Valores de los parámetros obtenidos con *Pseudomonas* modificadas genéticamente

TIEMPO (Días)	Coliformes Fecales	pH	DBO <sub>5</sub>	Nitrato	Fosfato	Temperatura	DQO	STS	Oxígeno Disuelto
0	1100.00	6.40	318.20	50.00	5.00	28.80	589.00	1165.00	1.05
3	150.00	7.29	120.80	20.00	2.50	29.28	201.33	350.00	3.92
7	64.00	8.19	47.30	10.00	1.00	31.75	78.83	190.00	5.00

Elaboración Propia

Cuadro 31. Valores de los parámetros obtenidos con *Enterobacter* modificadas genéticamente

TIEMPO (Días)	Coliformes Fecales	pH	DBO <sub>5</sub>	Nitrato	Fosfato	Temperatura	DQO	STS	Oxígeno Disuelto
0	1100.00	6.40	318.20	50.00	5.00	28.80	589.00	1165.00	1.05
3	160.00	7.10	165.06	25.00	3.50	30.22	275.10	390.00	3.58
7	75.00	8.09	64.90	12.50	1.50	33.00	108.17	275.00	4.35

Elaboración Propia

Cuadro 32. Valores de los parámetros obtenidos con *Bacillus* modificadas genéticamente

TIEMPO (Días)	Coliformes Fecales	pH	DBO <sub>5</sub>	Nitrato	Fosfato	Temperatura	DQO	STS	Oxígeno Disuelto
0	1100.00	6.40	318.20	50.00	5.00	28.80	589.00	1165.00	1.05
3	160.00	7.16	152.09	30.00	4.00	31.03	253.48	460.00	3.29
7	85.00	7.96	61.85	17.50	3.00	33.50	103.08	395.00	4.15

Elaboración Propia

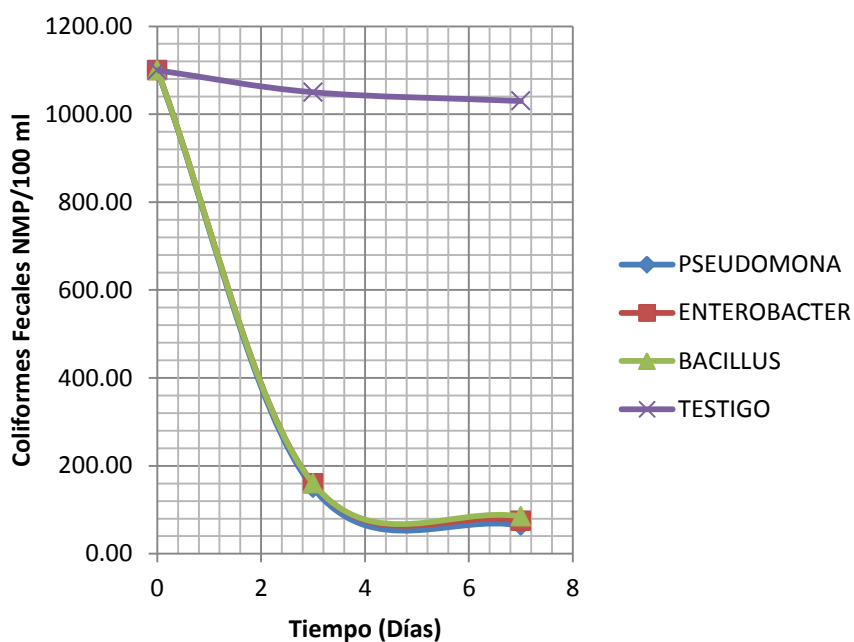


Figura 12. Comparación de la reducción de coliformes fecales de las tres cepas

El análisis de varianza para los promedios de Coliformes Fecales encontrada al finalizar la operación de biorreactores Airlift, muestra que existe significancia estadística entre la cepa modificada y el tratamiento sobre los valores del Coliformes Fecales, con valores-P menores que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 33. ANOVA para promedios de Coliformes Fecales en relación a la Cepas Modificadas

<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
A:CEPA	2781.0	2	1390.5	6.32	0.0111
B:Tratamiento	177608.	1	177608.	807.05	0.0000
RESIDUOS	3081.0	14	220.071		
TOTAL (CORREGIDO)	183470.	17			

Elaboración Propia

Mediante la prueba de Tukey se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de los Coliformes Fecales influenciados por el tipo de cepa utilizada como se observa en el cuadro 34.

Cuadro 34. Pruebas de Múltiple Rangos HSD de Tukey para Coliformes Fecales según la Cepas Modificadas Genéticamente.

<b>CEPA</b>	<b>Casos</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>ENTEROBACTER</i>	6	157.5	6.05628	X
<i>PSEUDOMONAS</i>	6	177.0	6.05628	XX
<i>BACILLUS</i>	6	187.5	6.05628	X

Elaboración Propia

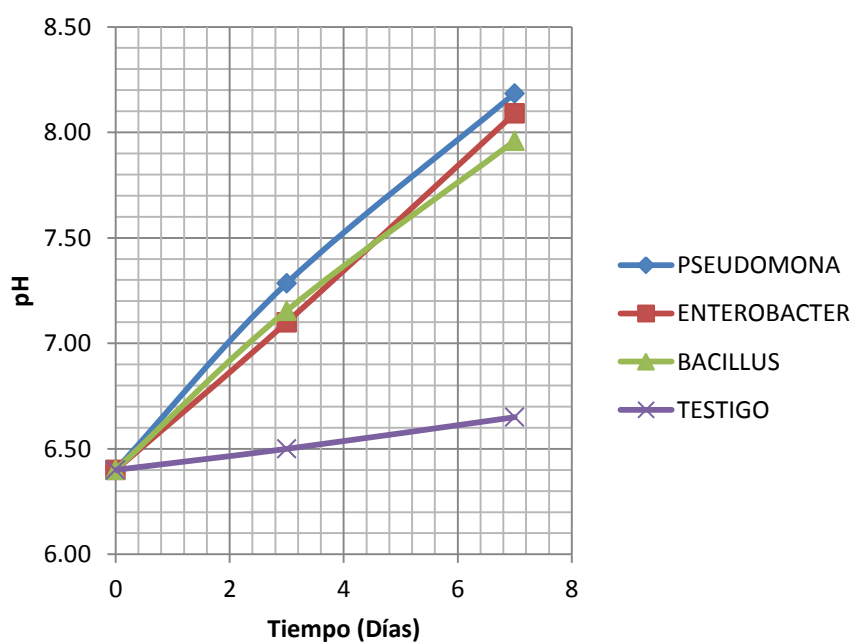


Figura 13. Comparación de la estabilización del pH de las tres cepas

El análisis de varianza para los promedios de pH encontrada al finalizar la operación de biorreactores Airlift, muestra que existe significancia estadística entre la cepa modificada y el tratamiento sobre los valores del pH, con valores-P menores que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 35. ANOVA para promedios de pH en relación a la Cepas Modificadas

<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
A:CEPA	0.324411	2	0.162206	49.28	0.0000
B:Tratamiento	0.866806	1	0.866806	263.37	0.0000
RESIDUOS	0.0460778	14	0.00329127		
TOTAL (CORREGIDO)	1.23729	17			

Elaboración Propia

Mediante la prueba de Tukey se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de pH influenciados por el tipo de cepa utilizada como se observa en el cuadro 36.

Cuadro 36. Pruebas de Tukey para pH según la Cepas Modificadas Genéticamente.

<b>CEPA</b>	<b>Casos</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>BACILLUS</i>	6	7.69	0.023421	X
<i>ENTEROBACTER</i>	6	7.87	0.023421	X
<i>PSEUDOMONAS</i>	6	8.01833	0.023421	X

Elaboración Propia

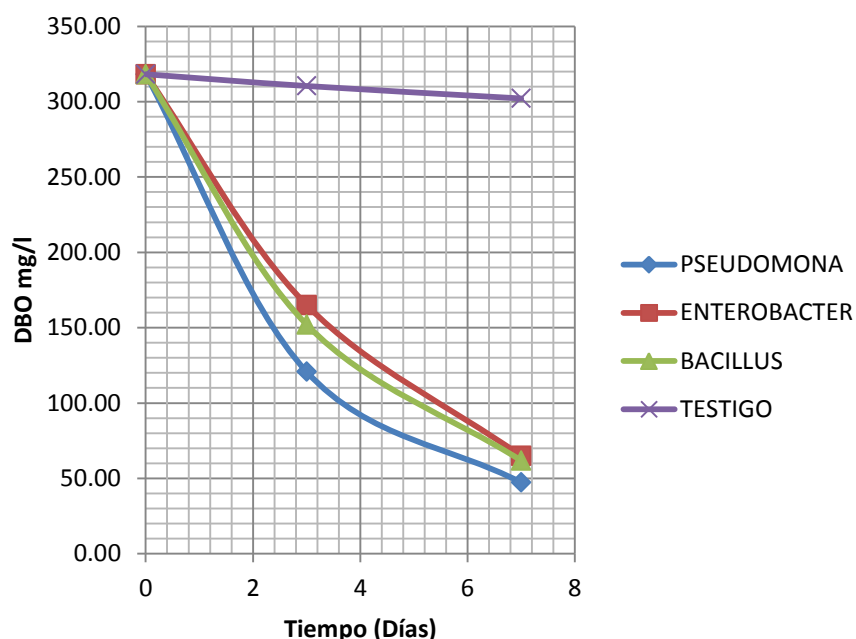


Figura 14. Comparación de la reducción de la Demanda Bioquímica de Oxígeno de las tres cepas

El análisis de varianza para los promedios de la DBO<sub>5</sub> mg/l encontrada al finalizar la operación de biorreactores Airlift, muestra que existe significancia estadística entre la cepa modificada y el tratamiento sobre los valores de la DBO<sub>5</sub>, con valores-P menores que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 37. ANOVA para promedios de DBO<sub>5</sub> mg/l en relación a la Cepas Modificadas

<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
A:CEPA	1223.02	2	611.508	82.87	0.0000
B:Tratamiento	27963.8	1	27963.8	3789.45	0.0000
RESIDUOS	103.311	14	7.37936		
TOTAL (CORREGIDO)	29290.1	17			

Elaboración Propia

Mediante la prueba de Tukey se determinó que existe diferencias estadísticamente significativas entre los valores de la  $DBO_5$  mg/l influenciados por el tipo de cepa utilizada como se observa en el cuadro 38.

Cuadro 38. Pruebas de Tukey para  $DBO_5$  mg/l según la Cepas Modificadas Genéticamente.

<b>CEPA</b>	<b>Casos</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>PSEUDOMONAS</i>	6	85.85	1.10901	X
<i>ENTEROBACTER</i>	6	102.075	1.10901	X
<i>BACILLUS</i>	6	104.37	1.10901	X

Elaboración Propia

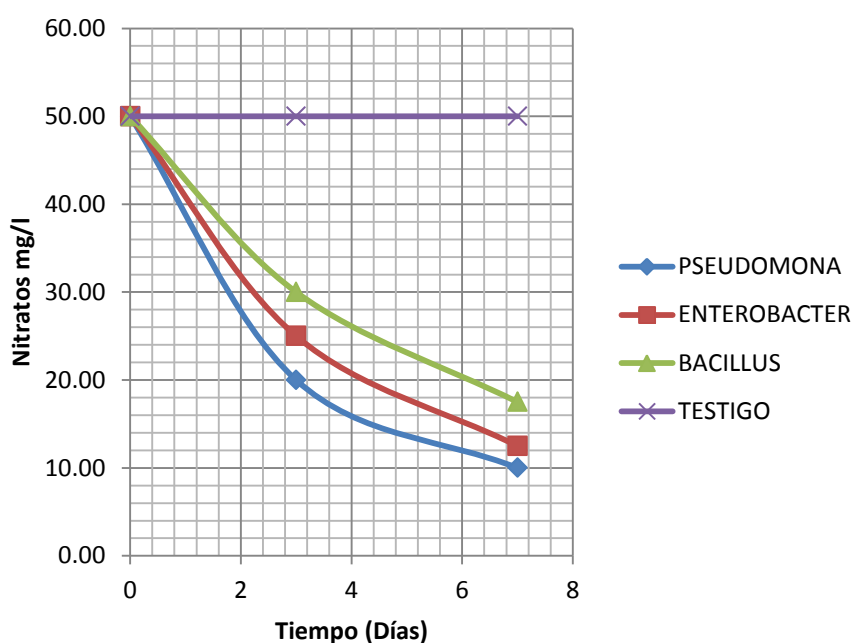


Figura 15. Comparación de la reducción de Nitratos de las tres cepas

El análisis de varianza para los promedios de los Nitratos mg/l encontrada al finalizar la operación de biorreactores Airlift, muestra que existe significancia estadística entre la cepa modificada y el tratamiento sobre los valores de los Nitratos, con valores-P menores que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 39. ANOVA para promedios de Nitratos en relación a la Cepas Modificadas

<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
A:CEPA	243.75	2	121.875	24.82	0.0000
B:Tratamiento	800.0	1	800.0	162.91	0.0000
RESIDUOS	68.75	14	4.91071		
TOTAL (CORREGIDO)	1112.5	17			

Elaboración Propia

Mediante la prueba de Tukey se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de los Nitratos mg/l influenciados por el tipo de cepa utilizada como se muestra en el cuadro 40.

Cuadro 40. Pruebas de Tukey para Nitratos mg/l según la Cepas Modificadas Genéticamente.

<b>CEPA</b>	<b>Casos</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>PSEUDOMONAS</i>	6	15.0	0.904684	X
<i>ENTEROBACTER</i>	6	21.25	0.904684	X
<i>BACILLUS</i>	6	23.75	0.904684	X

Elaboración Propia

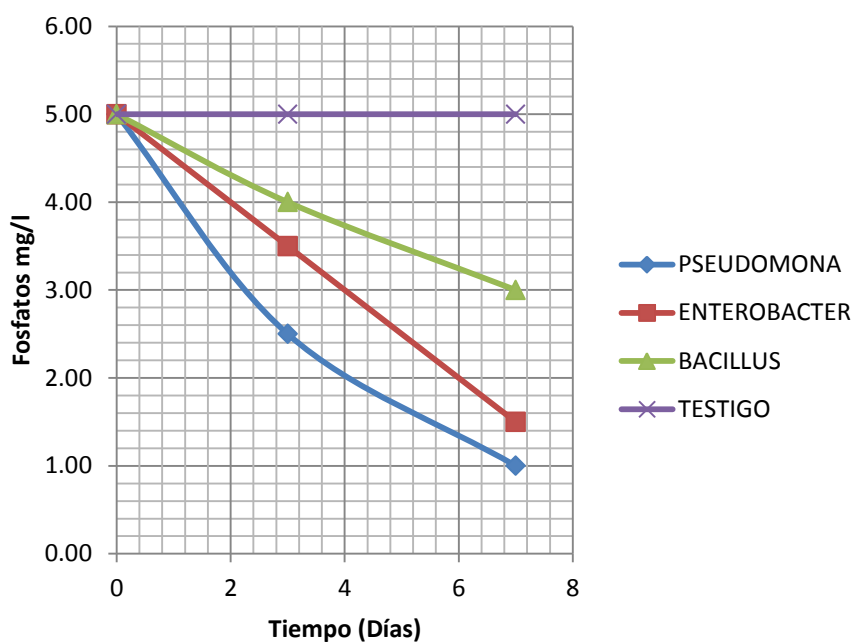


Figura 16. Comparación de la reducción de Fosfato de las tres cepas

El análisis de varianza para los promedios de los Fosfatos mg/l encontrada al finalizar la operación de biorreactores Airlift, muestra que existe significancia estadística entre la cepa modificada y el tratamiento sobre los valores de los Fosfatos, con valores-P menores que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 41. ANOVA para promedios Fosfatos en relación a la Cepas Modificadas

<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
A:CEPA	5.25	2	2.625	9.80	0.0022
B:Tratamiento	15.125	1	15.125	56.47	0.0000
RESIDUOS	3.75	14	0.267857		
TOTAL (CORREGIDO)	24.125	17			

Elaboración Propia

Mediante la prueba de Tukey se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de los Fosfatos mg/l influenciados por el tipo de cepa utilizada como se muestra en el cuadro 42.

Cuadro 42. Pruebas de Tukey para los Fosfatos mg/l según la Cepas Modificadas Genéticamente.

<b>CEPA</b>	<b>Casos</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>ENTEROBACTER</i>	6	2.25	0.211289	X
<i>PSEUDOMONAS</i>	6	2.5	0.211289	X
<i>BACILLUS</i>	6	3.5	0.211289	X

Elaboración Propia

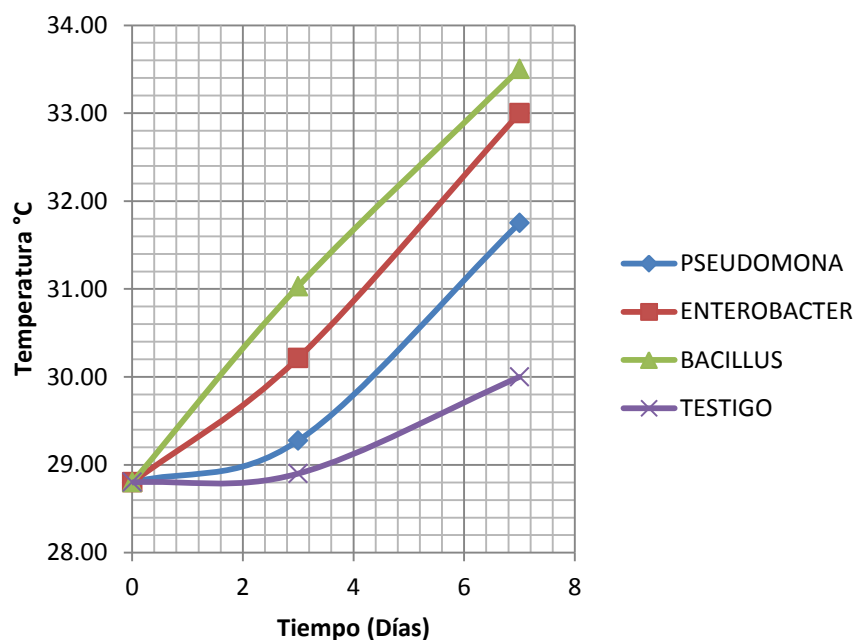


Figura 17. Comparación de la reducción de Temperatura de las tres cepas

El análisis de varianza para los promedios de la Temperatura °C encontrada al finalizar la operación de biorreactores Airlift, muestra que existe significancia estadística entre la cepa modificada y el tratamiento sobre los valores de la Temperatura, con valores-P menores que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 43. ANOVA para promedios de la Temperatura en relación a la Cepas Modificadas

<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
A:CEPA	6.7525	2	3.37625	49.89	0.0000
B:Tratamiento	1.05125	1	1.05125	15.53	0.0015
RESIDUOS	0.9475	14	0.0676786		
TOTAL (CORREGIDO)	8.75125	17			

Elaboración Propia

Mediante la prueba de Tukey se determinó que existe diferencias estadísticamente significativas entre los valores de la Temperatura °C influenciados por el tipo de cepa utilizada como se muestra en el cuadro 44.

Cuadro 44. Pruebas de Tukey para la Temperatura según la Cepas Modificadas Genéticamente.

<b>CEPA</b>	<b>Casos</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>PSEUDOMONAS</i>	6	32.175	0.106206	X
<i>ENTEROBACTER</i>	6	33.15	0.106206	X
<i>BACILLUS</i>	6	33.65	0.106206	X

Elaboración Propia

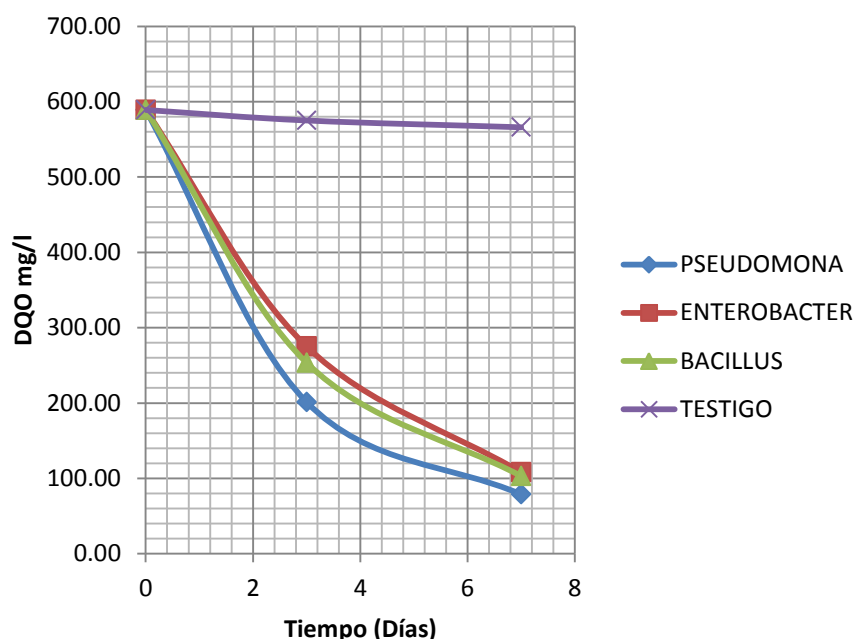


Figura 18. Comparación de la reducción de Demanda química de oxígeno de las tres cepas

El análisis de varianza para los promedios de la DQO mg/l encontrada al finalizar la operación de biorreactores Airlift, muestra que existe significancia estadística entre la cepa modificada y el tratamiento sobre los valores de la DQO, con valores-P menores que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 45. ANOVA para promedios de la DQO mg/l en relación a la Cepas Modificadas

<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
A:CEPA	3397.5	2	1698.75	82.77	0.0000
B:Tratamiento	77677.1	1	77677.1	3784.97	0.0000
RESIDUOS	287.315	14	20.5225		
TOTAL (CORREGIDO)	81361.9	17			

Elaboración Propia

Mediante la prueba de Tukey se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de la DQO mg/l influenciados por el tipo de cepa utilizada como se muestra en el cuadro 46.

Cuadro 46. Pruebas de Tukey para la DQO según la Cepas Modificadas Genéticamente.

<b>CEPA</b>	<b>Casos</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>PSEUDOMONAS</i>	6	143.082	1.84944	X
<i>ENTEROBACTER</i>	6	170.123	1.84944	X
<i>BACILLUS</i>	6	173.95	1.84944	X

Elaboración Propia

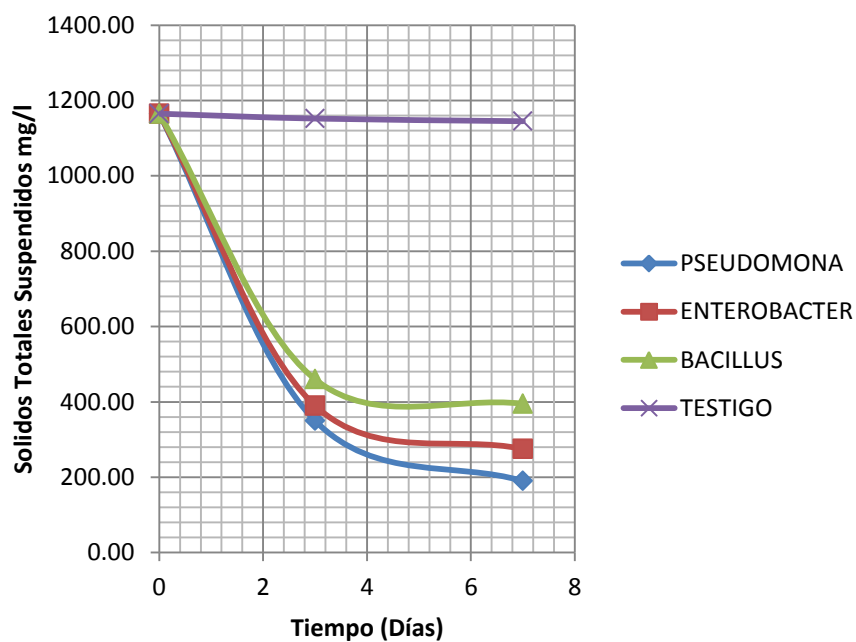


Figura 19. Comparación de la reducción de los Sólidos totales suspendido de las tres cepas

El análisis de varianza para los promedios de los STS mg/l encontrada al finalizar la operación de biorreactores Airlift, muestra que existe significancia estadística entre la cepa modificada y el tratamiento sobre los valores de los STS, con valores-P menores que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 47. ANOVA para promedios de los STS mg/l en relación a la Cepas Modificadas

<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
A:CEPA	60925.0	2	30462.5	17.32	0.0002
B:Tratamiento	2.4642E6	1	2.4642E6	1400.97	0.0000
RESIDUOS	24625.0	14	1758.93		
TOTAL (CORREGIDO)	2.54975E6	17			

Elaboración Propia

Mediante la prueba de Tukey se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de los STS mg/l influenciados por el tipo de cepa utilizada como se muestra en el cuadro 48.

Cuadro 48. Pruebas de Tukey para los STS mg/l según la Cepas Modificadas Genéticamente.

<b>CEPA</b>	<b>Casos</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>PSEUDOMONAS</i>	6	585.0	17.1218	X
<i>ENTEROBACTER</i>	6	657.5	17.1218	X
<i>BACILLUS</i>	6	727.5	17.1218	X

Elaboración Propia

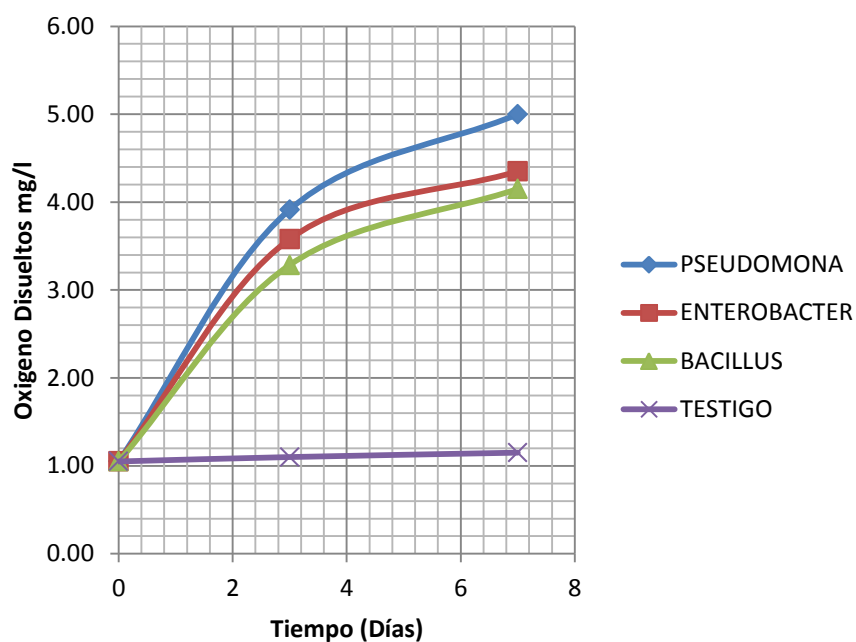


Figura 20. Comparación de la reducción de oxígeno disuelto de las tres cepas

El análisis de varianza para los promedios del OD mg/l encontrada al finalizar la operación de biorreactores Airlift, muestra que existe significancia estadística entre la cepa modificada y el tratamiento sobre los valores del OD, con valores-P menores que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza.

Cuadro 49. ANOVA para promedios del OD mg/l en relación a la Cepas Modificadas

<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>GL</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
A:CEPA	1.6131	2	0.80655	17.67	0.0001
B:Tratamiento	24.4301	1	24.4301	535.16	0.0000
RESIDUOS	0.6391	14	0.04565		
TOTAL (CORREGIDO)	26.6822	17			

Elaboración Propia

Mediante la prueba de Tukey se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores del OD mg/l influenciados por el tipo de cepa utilizada como se muestra en el cuadro 50.

Cuadro 50. Pruebas de Tukey para los OD mg/l según la Cepas Modificadas Genéticamente.

<b>CEPA</b>	<b>Casos</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<i>BACILLUS</i>	6	3.055	0.0872258	X
<i>ENTEROBACTER</i>	6	3.2	0.0872258	X
<i>PSEUDOMONAS</i>	6	3.75	0.0872258	X

Elaboración Propia

#### 4.3.3. Determinación de la eficiencia de la depuración del ARD

Para la determinación de la eficiencia se tuvo en cuenta 6 parámetros que determinan la cantidad de materia orgánica presente, y se muestra en el siguiente cuadro.

Cuadro 51. Eficiencia de remoción del ARD con el agente mutagénico Físico

<b>CEPAS</b>	<b>Coliformes Fecales</b>	<b>DBO<sub>5</sub></b>	<b>Nitratos</b>	<b>Fosfatos</b>	<b>DQO</b>	<b>STS</b>
<i>PSEUDOMONAS</i>	97.44%	95.33%	75.00%	80.00%	95.74%	91.98%
<i>ENTEROBACTER</i>	93.78%	83.41%	62.50%	70.00%	84.87%	81.82%
<i>BACILLUS</i>	91.09%	88.85%	50.00%	50.00%	89.83%	67.91%

Elaboración Propia

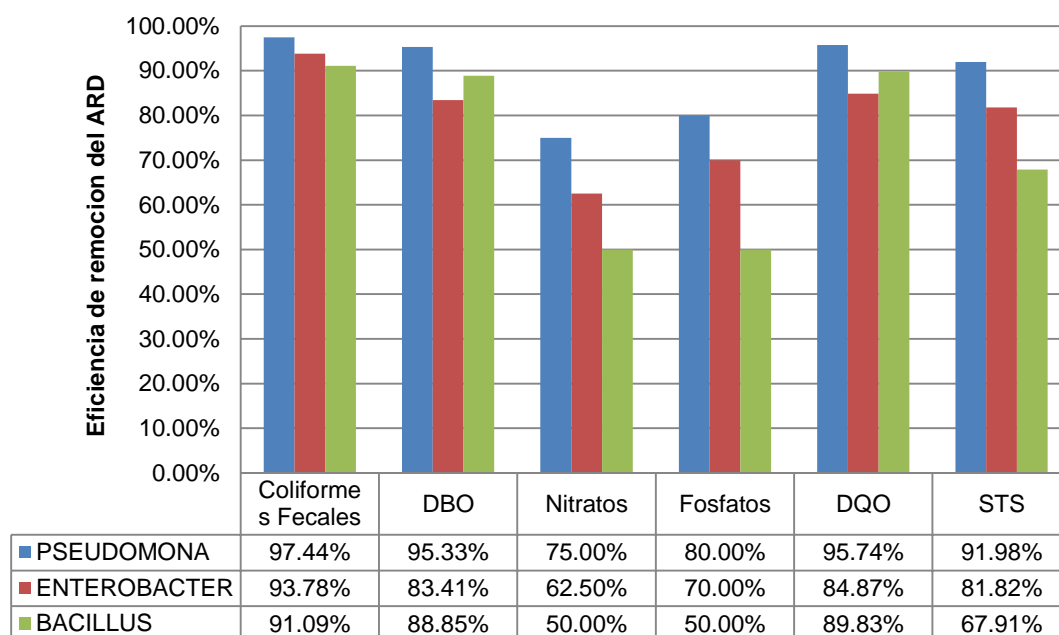


Figura 21. Eficiencia de remoción del ARD con el agente mutagénico físico

En la figura 21 mostramos los resultados obtenidos con la aplicación del agente mutagénico físico (radiación U.V.) donde podemos observar que cepa modificada que obtuvo mayor eficiencia en la remoción del agua residual doméstica es la Pseudomonas logrando porcentajes de remoción en Coliformes Fecales un 97.44%, DBO 95.33%, Nitratos 75.00%, Fosfatos 80.00% DQO 95.74%, y Sólidos Totales Suspendidos 91.98%.

Cuadro 52. Eficiencia de remoción del ARD con el agente mutagénico Químico

CEPAS	Coliformes Fecales	DBO <sub>5</sub>	Nitratos	Fosfatos	DQO	STS
<i>PSEUDOMONAS</i>	94.18%	85.14%	80.00%	80.00%	86.62%	83.69%
<i>ENTEROBACTER</i>	93.18%	79.60%	75.00%	70.00%	81.64%	76.39%
<i>BACILLUS</i>	92.27%	80.56%	65.00%	40.00%	82.50%	66.09%

Elaboración Propia

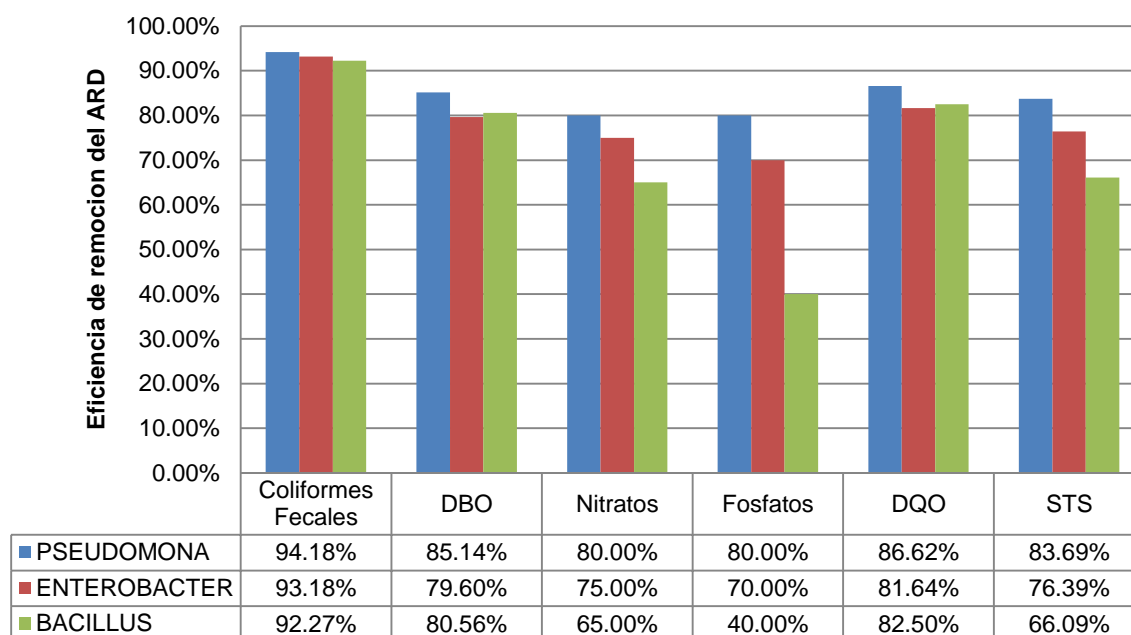


Figura 22. Eficiencia de remoción del ARD con el agente mutagénico químico

En la figura 22 mostramos los resultados obtenidos con la aplicación del agente mutagénico químico (Azida de Sodio), donde podemos observar que cepa modificada que obtuvo mayor eficiencia en la remoción del agua residual doméstica es la Pseudomona logrando porcentajes de remoción en Coliformes Fecales un 94.18%, DBO 85.14%, Nitratos 80.00%, Fosfatos 80.00%, DQO 86.62% y Solidos Totales Suspendidos 83.69%.

#### 4.4. Agente Mutagénico óptimo para la reducción de los contaminantes del agua residual domestica (ARD)

Para la determinación del agente mutagénico óptimo para la remoción del agua residual doméstica se tomó en cuenta sólo la cepa modificada con mayor eficiencia en la remoción y se muestra en el siguiente cuadro.

Cuadro 53. Eficiencia de remoción del ARD con el agente mutagénico Físico y Químico

AGENTE MUTAGENICO	Coliformes Fecales	DBO <sub>5</sub>	Nitratos	Fosfatos	DQO	STS
<b>FISICO</b>	97.44%	95.33%	75.00%	80.00%	95.74%	91.98%
<b>QUIMICO</b>	94.18%	85.14%	80.00%	80.00%	86.62%	83.69%

Elaboración Propia

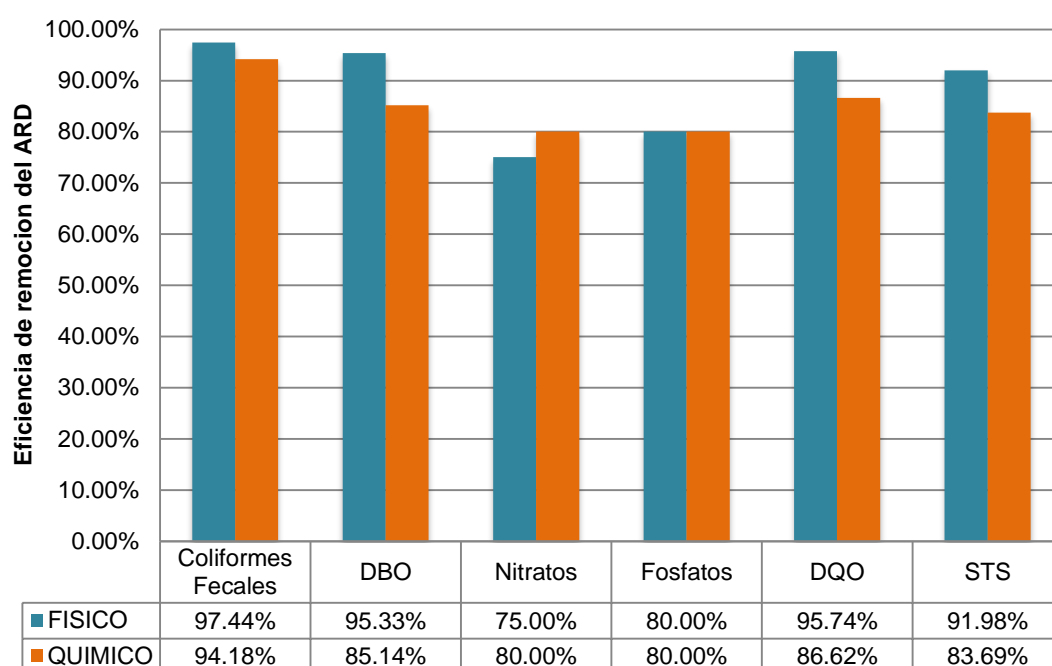


Figura 23. Porcentaje de remoción de los contaminantes del ARD por los agentes mutagénicos

Con los resultados obtenidos podemos decir que el Agente Mutagénico óptimo para la remoción de los contaminantes del agua residual domestica (ARD) es el Agente Físico ya que se obtuvo porcentajes de reducción de contaminantes hasta un 97.44% en coliformes Fecales, un 95.33% en DBO, Nitratos 75.00%, Fosfatos 80.00% DQO 95.74%, y Solidos Totales Suspendidos 91.98%.

## V. DISCUSIÓN

### 5.1. Características del agua residual domestica a tratar

NOVOTNY, (2003), menciona que el agua residual 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, esto concuerda con la caracterización del agua residual doméstica se determinó los tres parámetros Físico, Químico y Biológico.

Con respecto a los coliformes fecales los valores obtenidos tanto para el tratamiento con el agente mutagénico físico como químico 780 NMP/100 ml y 1100 NMP/100 ml respectivamente, estos valores están por encima del rango establecido que es de 0 NMP/100 (METCALF Y EDDY, 2004).

Con respecto al pH del agua residual mostrado tanto para el tratamiento con el agente mutagénico físico como químico tuvo un valor de 6.25 y 6.4 respectivamente lo que indica un pH prácticamente neutro, estos pH son ligeramente similares a los rangos de 6.4 a 7.1 (MADERA *et al*, 2011); asimismo estos valores no representan dificultades al tratamiento ya que

cumplen con lo especificado para tratamiento biológico, rango que es de 6 a 9 (METCALF Y EDDY, 2004).

Con respecto al  $DBO_5$  tanto para el tratamiento con el agente mutagénico físico como químico se encontró valores de 302.10 mg/L y 318.2 mg/L respectivamente. Este resultado sobrepasan los valores establecidos por los límites máximos permisibles para los efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas que es de 100 mg/L (MINAM, 2010). Asimismo estos mismos resultados del afluente son mayores a la concentración media de 190 mg/L (METCALF Y EDDY, 2004).

Asimismo con respecto a la DQO tanto para el tratamiento con el agente mutagénico físico como químico se obtuvo un valores de 552 mg/L y 589 mg/L respectivamente, estos resultados muestran que son superiores a 500 mg/L (ROMERO, 1999). Asimismo este resultado sobrepasan los valores establecidos por los límites máximos permisibles para los efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas que es de 200 mg/L (MINAM, 2010).

Cabe señalar que claramente existe una relación entre el comportamiento de la  $DBO_5$  y la DQO, ya que la relación  $DBO_5/DQO$  de los resultados de los muestreos se observaron entre 0.55 y 0.54, valores que en su mayoría se encuentran dentro del rango descrito por metcalf que son de 0.3 a 0.8, correspondiente al agua residual tratable por métodos biológicos, esto nos indica que material contaminante es de tipo orgánico (METCALF Y EDDY, 2004).

Los valores obtenidos para los nitratos tanto para el tratamiento con el agente mutagénico físico como químico fueron de 50 mg/l y 50 mg/l respectivamente, estos valores están por encima por lo establecido por el (EPA, 2004) donde menciona que el contenido en nitratos no puede superar 45 mg/l como  $\text{NO}^3$ , dadas sus graves y, ocasionalmente, fatales consecuencias sobre los niños. Asimismo la concentración de nitratos en efluentes de aguas residuales puede variar entre 0 mg/l y 20 mg/l en forma de nitrógeno (N), con valores típicos entre 15 y 20 mg/l.

Con respecto a los fosfatos los valores obtenidos tanto para el tratamiento con el agente mutagénico físico como químico fueron de 5 mg/l y 5 mg/l respectivamente, estos valores concuerdan con lo establecidos por (METCALF Y EDDY 2003) ya que menciona que el ARD con alta concentración de fósforo orgánico es aquella con más de 5 mg/L.

Asimismo los valores obtenidos para la temperatura tanto para el tratamiento con el agente mutagénico físico como químico fueron de 29.7 °C y 28.8 °C respectivamente, la temperatura del agua tiene gran importancia por el hecho de que los organismos requieren determinadas condiciones para sobrevivir. Este parámetro influye en el comportamiento de otros indicadores de la calidad del recurso hídrico, como el pH, el déficit de oxígeno, la conductividad eléctrica y otras variables fisicoquímicas.

En la determinación de los sólidos totales suspendido los valores obtenidos tanto para el tratamiento con el agente mutagénico físico como químico fueron 935 mg/L y los 1160 mg/L respectivamente, estos valores similares

fueron superiores a 210 mg/L (METCALF Y EDDY, 2004). Estos valores son superiores a lo establecidos por los límites máximos permisibles para los efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas que es de 150 mg/L (MINAM, 2010).

Con respecto al oxígeno disuelto valores obtenidos tanto para el tratamiento con el agente mutagénico físico como químico 0.77 mg/l y 1.05 mg/l respectivamente, estos valores de OD encuentran por debajo de los valores aceptables para que se desarrollen los organismos acuáticos, ya que niveles de OD por debajo de 4 mg/l dañan a la mayor parte de los organismos y especies sensibles (BREITBURG, 2002).

## **5.2. Identificación de la cepa modificada más eficiente para la reducción de los contaminantes de las aguas residuales domésticas**

METCALF Y EDDY (2004), menciona que la variación genética de un microorganismos puede incrementar su capacidad degradadora de las aguas residuales domesticas por lo tanto en los resultados obtenidos con respecto a la eficiencia podemos decir que la *Pseudomonas* fue la cepa modificada genéticamente que obtuvo mayor eficiencia en la remoción del ARD, obteniéndose un máximo de 97.44% en coliformes fecales y un mínimo de 75% en los nitratos.

Asimismo a este nivel de remoción del agua residual doméstica se logra cumplir con la hipótesis planteada puesto que el resultado obtenido en las pruebas excede en más de 70% el porcentaje de reducción planteado.

TAKEUCHI *et al.*, (2007), Menciona que las *Pseudomonas* pueden alcanzar altos porcentajes de remoción de los contaminantes de aguas residuales domésticas, por lo tanto con los resultados se demostraron que la remoción de los coliformes fecales con las *Pseudomonas* modificados genéticamente tanto por el agente físico como químico es significativamente alta con valores-P menores que 0.05, con un 95.0% de nivel de confianza, alcanzándose porcentajes de remoción de un 97.44% y 94.18% respectivamente.

ROMERO, J. (2002), menciona que el pH es un factor muy importante en los procesos de transformación química y biológica, por lo tanto, es muy importante su seguimiento, lo cual se puede observar en la figura 6 y 15 tanto para cepas modificadas con el agente físico y químico donde se muestra su comportamiento con respecto al tiempo, en esta se aprecia que los valores de pH se van estabilizando, obteniendo mayor estabilización del pH con la *Pseudomonas* en ambos tratamientos, por lo tanto se puede decir que estos microorganismos tienen un comportamiento amortiguador de pH.

MATSUMOTO, T. (2011), menciona que la DBO<sub>5</sub> es un factor muy importante que se debe de tener en cuenta en el tratamiento del agua residual doméstica, por lo tanto en la figura 7 y 16 observamos que las *Pseudomonas* modificadas tuvo mayor eficiencia en la remoción de esta parámetro alcanzando porcentajes de 95.33% con la aplicación de agente físico y 85.14% con la aplicación de agente químico, estos resultados son inferiores a 78.33% (METCALF Y EDDY, 1994).

EPA, (2004) exige para el reúso del ARD valores menores a 30mg/l, con la aplicación de los tratamientos en especial de la *Pseudomonas* alcanzamos valores inferiores a lo establecida q fueron de 14.12 mg/l con la aplicación del agente físico y de 47.3 mg/l, aquí también observamos que la *Pseudomonas* mutados por el agente físico fue más eficiente con respecto a las mutadas con el agente químico.

EPA, (2004) no exige un valor específico de los parámetros nitratos en caso de que el ARD fuese a emplearse en riego, teniendo en cuenta nuestros resultados, se observó que aunque los nitratos disminuyeron significativamente tanto con la aplicación del agente físico como químico durante el estudio, los valores que se presentaron para este parámetro fueron siempre mayores a 0.3 mg/L, valor considerado como el mínimo que puede causar eutrofización en el agua, a pesar de esto de lograron una remoción de nitratos con las *Pseudomonas* modificadas de un 75% con el agente físico y 80% con el agente químico.

PASTOR, (2006) menciona que las cantidades de fosfatos presentes en las ARD son una de las principales causas de eutrofización que afecta negativamente los cuerpo de agua. Por lo tanto, es necesario que los tratamientos de ARD eliminen este contaminante antes de que estas sean vertidas a cuerpos de agua, con respecto a nuestros resultado observamos comportamiento de los fosfatos fue disminuyendo en el tiempo y presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de los fosfatos mg/l

influenciados por el tipo de cepa utilizada como se muestra en el cuadro 29 y 41 para el agente físico y químico respectivamente.

METCALF Y EDDY (2003), considera un ARD con alta concentración de fosfato, aquella con más de 5 mg/l, razón por la cual la concentración de fosfatos alcanzada al final del presente trabajo, que oscila alrededor de 1 mg/L, se considera baja, lográndose una eficiencia en la remoción de 80% con las *Pseudomonas* modificada por el agente físico, Sin embargo, las normas establecidas por la EPA en el 2004, no especifican estándares para este compuesto, en caso de que el agua llegase a ser empleada para riego.

APHA, (2005), menciona que los valores de OD típicamente pueden variar de 0 - 8 mg/L, siendo requerido un mínimo aproximado de 5 - 6 mg /L O<sub>2</sub> para soportar una diversidad de vida acuática, por lo tanto con los tratamientos aplicados los valores obtenidos están por debajo a lo establecido por el APHA, esto se debe a que los microorganismos requieren de este oxígeno para degradar la materia inorgánica y orgánica presente en el agua residual doméstica (METCALF Y EDDY, 2003)

### **5.3. Determinación del agente mutagénico más óptimo para la disminución de los contaminantes de las aguas residuales domésticas.**

JIMÉNEZ, A. (1998), menciona que las radiaciones ultravioleta es el mutágeno físico más empleado en el laboratorio para obtener mutaciones en las bacterias y en general las radiaciones provocan roturas y alteraciones en la molécula de ADN, con los resultados obtenidos podemos decir que la radiación ultravioleta fue el agente Mutagénico óptimo para la variación del ADN de las cepas (*Pseudomonas*, *Enterobacter* y *Bacillus*), por lo tanto se obtuvieron eficiencia de remoción de hasta un 97.44% en coliformes fecales y un 75% en nitratos.

## VI. CONCLUSIONES

Se caracterizó el agua residual domestica a Depurar, obteniendo como resultado para el tratamiento con el agente mutagénico físico coliformes fecales 780 NMP/100 ML, mientras que para el tratamiento con el agente mutagénico químico se obtuvo resultados de coliformes fecales 1100 NMP/100 ml.

En la corrida electroforética se logró realizar las modificaciones genéticas a las cepas de microorganismos aisladas potencialmente degradadoras de aguas residuales domésticas (ARD).

*Pseudomona* fue la cepa modificada más eficiente para la depuración de las aguas residuales domésticas, tanto con la aplicación del agente mutagénico físico y químico, obteniendo eficiencias de un 95.33% en la demanda bioquímica de oxígeno con el físico, y un 85.14% demanda bioquímica de oxígeno con el químico respectivamente.

El agente mutagénico óptimo para la depuración de las aguas residuales domésticas la radiación ultravioleta (UV) ya que se obtuvo eficiencias de un 97.44% coliformes fecales, 95.33% demanda bioquímica de oxígeno, 75% nitratos, 80% fosfatos, 95.74% demanda química de oxígeno, y un 91.98% solidos totales suspendidos.

## **VII. RECOMENDACIONES**

1. La investigación desarrollada puede ser profundizada teniendo en cuenta otros parámetros y consideraciones de ingeniería que permitan proyectar un sistema de tratamiento a mayor escala del agua residual Domestica.
2. Probar con otros tipos de Cepas, para verificar la eficiencia en la depuración de las Aguas Residuales Domesticas.
3. Trabajar con aguas residuales industriales, ya que estos contienen metales pesados.
4. Trabajar con aguas residuales provenientes de relaves Mineros.
5. Trabajar con aguas de usos recreacionales.

## VIII. ABSTRACT

The present study evaluated the ability of wastewater purification Residual domestic (ARD) using genetically modified microorganisms in Airlift bioreactors, using microorganisms taken from places characteristic for the development of the same (dump the Muyuna) inducing them to the mutation with agents (UV radiation) physical and chemical (sodium azide), in the which worked three strains (*Pseudomonas*, *Enterobacter* And *Bacillus*) with two repetitions, we evaluated the efficiency of purification of nine parameters (fecal coliform, pH, dissolved oxygen, solid Suspended totals study, biochemical demand of oxygen, nitrates, phosphates, Temperature and chemical demand of oxygen).

*Pseudomonas* strain more efficient customized debugging ARD, both with the application of the Agent mutagenic physical and chemical, achieving efficiencies in demand Biochemistry of oxygen a 95.33% with the physicist, and a 85.14% with the chemical respectively. Determining. Thus optimal mutagenic agent for the domestic wastewater treatment is radiation ultraviolet (UV) since was obtained efficiencies of a 97.44% fecal coliforms, and 75% Nitrates.

Run on gel electrophoresis specified variation in nuclear nucleic acid in the strains induced by mutagenic agents.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICA

- APHA, 2005, Standard Methods for the examination of water y wastewater. 20th Edition. Water Pollution Control Federation. American Public Health Association, Inc. New York. 1500 pp.
- ARBOLEDA, J. 2000, Teoría y práctica de la purificación del agua. Bogotá D.C: McGraw Hill.
- BALL, R. CHURCH, R. 1980, Water Quality Indexing And Scoring. Journal Of The Environmental Engineering Division, American Society Of Civil Engineers, 106, EE4, 757-771.
- BARAJAS, M. 2002, Tesis Doctoral: Eliminación Biológica de nutrientes en un reactor biológico secuencial. Caracterización y estimulación de las fuentes de carbono del agua residual urbana. Universidad Politécnica de Cataluña. Barcelona. 345 pp.
- BARTRAM J. 2003, Heterotrophic plate counts and drinking-water safety: the significance of HPCs for water quality and human health. Serie de la OMS Emerging Issues in Water and Infectious Disease. Londres (Reino Unido), IWA Publishing.
- BENJAMÍN A. 2005, "Genética: un enfoque conceptual". Ed: Panamericana. Argentina 832 pp.

- BEUN, A. ARROJO, B. MOSQUERA, C. GARRIDO, J. 1999 .Anaerobic gratulation in a sequencing batch reactor. Vol 38. Water research 33(19): 2283-2290.
- BREITBURG, D. 2002. Effects of hypoxia, and the balance between hypoxia and enrichment, on coastal fishers and fisheries. Estuaries. 25:767-781.
- BROWN, R. 1970 McClelland N., Deininger R., Tozer R. 1970. "A Water Quality Index- Do We Dare?" Water And Sewage Works. October. P. 339-343.
- CASTILLO, G. 2001, Calidad microbiológica del agua. Tesis de diplomado en medio Ambiente. Universidad de Chile, Facultad de ciencias Físicas y matemáticas. Santiago de Chile.
- CHISTI Y. 2002., Oxygen transfer and mixing in mechanically agitated airlift bioreactors, Biochemical Engineering Journal, 10: 143-153.
- COLLADO, R. 1993. Depuración de Aguas Residuales en Pequeñas Comunidades. Colección Señor No 12. Colegio de Ingenieros de Caminos, Canales y Puertos. Madrid.
- COLLAZOS, C. 2008. Tratamiento de Aguas Residuales - Generalidades. recuperado el 1 de Julio de 2012, de Universidad Nacional de Colombia: ([http://www.ing.unal.edu.co/catedra/drs\\_diaz\\_collazos](http://www.ing.unal.edu.co/catedra/drs_diaz_collazos))
- CORTADA, A. 2003. Aplicación de microorganismos de acción dirigida al tratamiento de aguas residuales industriales. La Habana, Cuba.
- EPA 2004. Biological Evaluation for the Issuance of Ambient Water Quality Criteria for Dissolved Oxygen, Water Clarity y Chlorophyll a for the

- Chesapeake Bay y its Tidal Tributaries—U.S. Environmental Protection Agency, Region III April 2004. Chesapeake Bay Program Office, Annapolis, Maryland.
- GALVÁN M, 2001: *Pseudomonas aeruginosa* as an indicator of health risk in water for human consumption. *Water Science and Technology*, 43:49–52.
- GONZÁLEZ, M. I., GUTIÉRREZ, J. 2005. Método Gráfico Para La Evaluación De La Calidad Microbiológica De Las Aguas Recreativas, Centro Habana, CIP 10300, Cuba.
- GONZÁLEZ, Y. SÁNCHEZ, G., 2003 “Evaluación técnica del proceso de tratamiento anaerobio de la planta de aguas residuales de Guanta”, Tesis de Grado, UDO, Anzoátegui.
- HARDMAN, D. 1987 Microbial control of environmental pollution: The use of genetic techniques to engineer organisms with novel catabolic capabilities, in: Forster, C. F. and Wase, D. A. J. Eds. *Environmental Biotechnology*. Chichester. Ellis Horwood, pp. 295-317.
- JMÉNEZ, A., 1998. "Genética microbiana". Ed. Síntesis. Madrid. 38 pp.
- LEHNINGER, 1995, Comportamiento de los fagos somáticos en mezclas de biosólido y áridos utilizados para la restauración ecológica de la cantera Soratama, Localidad de Usaquén, Bogotá. *Universitas scientiarum*. Edición especial II.
- LEÓN, L. 1991. Índice De Calidad Del Agua, Ica, Inf. # Sh-9101/01, Instituto Mexicano De Tecnología Del Agua, México, 36 pp.

- LÓPEZ, M. 2009. Contaminación y Tratamiento de Aguas. Módulo 1. Universidad de Huelva: IV Máster oficial en Tecnología Ambiental.
- LÓPEZ, J. 2007 "Depuración de aguas residuales", [disponible]: <http://www2.cbm.uam.es/jalopez/personal/SeminariosVarios/ERARtexto.htm> (abril 2007)
- MADERA, C., SILVA, J., Y PEÑA, M. 2011. Sistemas combinados para el tratamiento de aguas residuales basados en tanque séptico - filtro anaerobio y humedales subsuperficiales. Revista Ingeniería Y Competitividad.
- MATSUMOTO, T. 2011. Desempeño de una laguna anaerobia con baffle divisor seguida de una laguna facultativa, posible afectación a la salud pública. Rev. Univ. Salud. Vol. 13, no. 1.
- METCALF y EDDY, 1996. Ingeniería de Aguas Residuales: Tratamiento, Vertido y Reutilización. 3era Ed. Mac Graw Hill /Interamericana.
- METCALF Y EDDY 1994, Ingeniería Sanitaria: tratamiento, evacuación y reutilización de aguas residuales. 3ª ed. Labor, Barcelona, Es., 969 pp.
- METCALF y EDDY 2003. Wastewater engineering. Treatment y reuse. Fourth Edition. Editorial Mc Graw Hill. Boston, Massashuttes.1819pp
- METCALF Y EDDY 2004, Wastewater engineering treatment and reuse. 4ª ed. Mc Graw- Hill, Signapur, 1820 pp.
- MINAM, 2010. Aprueba Límites Máximos Permisibles para los efluentes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas o

- Municipales [En línea]:  
(<http://www.minam.gob.pe/calidadambiental/wp-003-2010-minam-LMP.pdf>. 10 Noviembre del 2015)
- MIRANDA, J. 2007 “Tratamiento Analítico de las aguas Servidas”, Chile,  
[disponible]: (<http://cabierta.uchile.cl/revista/6/aguas.htm>, 15 de  
Noviembre del 2015)
- MORENO, J. 1997. Tratamiento de aguas residuales y su reutilización en el  
riego de los cultivos agrícolas de Ciudad de la Habana.  
I Seminario Aguas Residuales.
- MUJERIEGO 1990. Diseño de Plantas de Potabilización de Agua. Material  
de clase. Bogotá D. C.
- NICOLELLA, *et al.* 2000, “Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas”,  
[disponible]: (<http://www.puc.cl/quimica/agua/tratamiento.htm>. 28 de  
Noviembre del 2015)
- NOVOTNY, V. 2003. Water quality: Diffuse pollution y Watershed management.  
Second Edition. Editorial John Wiley y sons, Inc. Boston. USA.  
862pp
- OPAZO, 1991. Diseño de plantas comunes de tratamiento de efluentes para  
aguas residuales industriales no peligrosas con microorganismo.
- OROZCO, A. 2005. Bioingeniería de aguas residuales; teoría y diseño. Acodal.  
3ra ed. Bogotá, Colombia. 412 pg.
- PASTOR, L. 2006. Investigations of the recovery of phosphorus from  
wastewater by crystallization. Boca Raton. Florida. ISBN: 1-58112-  
333-7.

- RAMALHO, R. 1996. Tratamiento de aguas residuales. 2da ed. Barcelona. Editorial reverté, S.A. 707 p.
- RITTMANN, B. 1984. Needs and strategies for genetic control: municipal wastes, in Omenn, G. S. and Hollanender, A. Eds. Genetic Control of Environmental Pollutans. New York, Plenum, pp. 215-228.
- RIVAS, G. 1978 "Tratamiento de aguas residuales", 2da. Ed. Ediciones Vega, Caracas 156 pp.
- ROMERO, J. 1999. Tratamiento de aguas residuales. Teoría y principios de diseño. Escuela Colombiana de Ingeniería. Ed. Alfaomega. Bogotá, Colombia, 1232 pp.
- ROMERO, J. 2002 Calidad del agua. Bogotá. Editorial Escuela Colombiana de ingeniería. Primera Edición. 410 p.
- RODIER 1986, Evaluación del efecto de los microorganismos eficaces EM® - EMRO en el tratamiento de agua residual doméstica. Unidad de saneamiento y biotecnología ambiental (USBA). Departamento de Biología. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 27pp.
- SHILO, M. 1979. Strategies of Microbial Life in Extreme Environments. New York. 89 pp.
- TAKEUCHI, M. 2007. Arsenic resistance and removal by marine and non-marine bacteria. Journal of Biotechnology, Bacteriol. 127, 434-442 pp.

## **X. ANEXOS**

## ANEXO A. Depuración del ARD con las *Pseudomonas* modificada por agente físico

Cuadro 54. Parámetros (Coliforme fecales, pH y DBO<sub>5</sub>) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD

TIEMPO (Días)	Coliformes fecales			pH			DBO <sub>5</sub>		
	R1	R2	T	R1	R2	T	R1	R2	T
0	780.00	780.00	780.00	6.25	6.25	6.25	302.10	302.10	302.10
3	150.00	120.00	460.00	7.42	7.35	6.50	80.85	89.17	183.63
7	20.00	20.00	210.00	8.21	8.24	6.90	13.05	15.18	128.30

Elaboración Propia

Cuadro 55. Parámetros (Nitratos, Fosfatos y Temperatura) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD

TIEMPO (Días)	Nitratos			Fosfatos			Temperatura		
	R1	R2	T	R1	R2	T	R1	R2	T
0	40.00	40.00	40.00	5.00	5.00	5.00	29.70	29.70	29.70
3	20.00	20.00	40.00	3.00	3.00	4.00	29.00	28.90	29.10
7	10.00	10.00	30.00	1.00	1.00	4.00	28.50	28.60	28.90

Elaboración Propia

Cuadro 56. Parámetros (DQO, solidos totales suspendido y oxígeno disuelto) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD

TIEMPO (Días)	DQO			Solidos Totales Suspendido			Oxígeno Disuelto		
	R1	R2	T	R1	R2	T	R1	R2	T
0	552.00	552.00	552.00	935.00	935.00	935.00	0.77	0.77	0.77
3	134.75	148.62	306.05	230.00	270.00	820.00	4.05	4.27	2.03
7	21.75	25.30	213.83	70.00	80.00	780.00	5.25	5.32	4.12

Elaboración Propia

## ANEXO B. Depuración del ARD con los *Enterobacter* modificada por agente físico

Cuadro 57. Parámetros (Coliforme fecales, pH y DBO<sub>5</sub>) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD

IEMPO (Días)	Coliformes Fecales			pH			DBO <sub>5</sub>		
	R1	R2	T	R1	R2	T	R1	R2	T
0	780.00	780.00	780.00	6.25	6.25	6.25	302.10	302.10	302.10
3	160.00	210.00	460.00	7.25	7.28	6.45	106.09	101.18	193.08
7	44.00	53.00	290.00	8.11	8.07	6.75	49.73	50.49	141.64

Elaboración Propia

Cuadro 58. Parámetros (Nitratos, Fosfatos y Temperatura) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD

TIEMPO (Días)	Nitratos			Fosfatos			Temperatura		
	R1	R2	T	R1	R2	T	R1	R2	T
0	40.00	40.00	40.00	5.00	5.00	5.00	29.70	29.70	29.70
3	30.00	30.00	40.00	3.00	4.00	5.00	29.30	29.20	29.30
7	20.00	10.00	30.00	2.00	1.00	4.00	28.60	28.70	28.70

Elaboración Propia

Cuadro 59. Parámetros (DQO, solidos totales suspendido y oxígeno disuelto) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD

TIEMPO (Días)	DQO			Solidos Totales Suspendido			Oxígeno Disuelto		
	R1	R2	T	R1	R2	T	R1	R2	T
0	552.00	552.00	552.00	935.00	935.00	935.00	0.77	0.77	0.77
3	176.82	168.63	321.80	340.00	320.00	860.00	3.84	3.98	1.48
7	82.88	84.15	236.07	180.00	160.00	830.00	4.03	4.09	3.69

Elaboración Propia

**ANEXO C. Depuración del ARD con los *Bacillus* modificada por agente físico**

Cuadro 60. Parámetros (Coliforme fecales, pH y DBO<sub>5</sub>) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD

TIEMPO (Días)	Coliformes Fecales			pH			DBO <sub>5</sub>		
	R1	R2	T	R1	R2	T	R1	R2	T
0	780.00	780.00	780.00	6.25	6.25	6.25	302.10	302.10	302.10
3	210.00	210.00	460.00	7.24	7.20	6.35	118.82	129.05	213.61
7	64.00	75.00	240.00	8.00	8.05	6.80	32.95	34.43	144.89

Elaboración Propia

Cuadro 61. Parámetros (Nitratos, Fosfatos y Temperatura) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD

TIEMPO (Días)	Nitratos			Fosfatos			Temperatura		
	R1	R2	T	R1	R2	T	R1	R2	T
0	40.00	40.00	40.00	5.00	5.00	5.00	29.70	29.70	29.70
3	40.00	30.00	40.00	4.00	4.00	5.00	29.20	29.30	29.40
7	20.00	20.00	30.00	3.00	2.00	4.00	28.80	28.90	28.90

Elaboración Propia

Cuadro 62. Parámetros (DQO, solidos totales suspendido y oxígeno disuelto) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD

TIEMPO (Días)	DQO			Solidos Totales Suspendido			Oxígeno Disuelto		
	R1	R2	T	R1	R2	T	R1	R2	T
0	552.00	552.00	552.00	935.00	935.00	935.00	0.77	0.77	0.77
3	198.03	215.08	356.02	530.00	590.00	900.00	3.22	3.25	1.41
7	54.92	57.38	241.48	220.00	380.00	870.00	4.35	4.28	3.45

Elaboración Propia

**ANEXO D. Depuración del ARD con las *Pseudomonas* modificada por agente químico**

Cuadro 63. Parámetros (Coliforme fecales, pH y DBO<sub>5</sub>) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD

TIEMPO (Días)	Coliformes Fecales			pH			DBO <sub>5</sub>		
	R1	R2	T	R1	R2	T	R1	R2	T
0	1100.00	1100.00	1100.00	6.40	6.40	6.40	318.20	318.20	318.20
3	150.00	150.00	460.00	7.32	7.25	6.85	117.83	123.76	199.88
7	64.00	64.00	290.00	8.13	8.24	7.85	46.20	48.40	124.40

Elaboración Propia

Cuadro 64. Parámetros (Nitratos, Fosfatos y Temperatura) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD

TIEMPO (Días)	Nitratos			Fosfatos			Temperatura		
	R1	R2	T	R1	R2	T	R1	R2	T
0	50.00	50.00	50.00	5.00	5.00	5.00	28.80	28.80	28.80
3	20.00	20.00	40.00	2.00	3.00	4.00	29.30	29.25	30.35
7	10.00	10.00	20.00	1.00	1.00	4.00	31.20	32.30	32.60

Elaboración Propia

Cuadro 65. Parámetros (DQO, solidos totales suspendido y oxígeno disuelto) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD

TIEMPO (Días)	DQO			STS			Oxígeno Disuelto		
	R1	R2	T	R1	R2	T	R1	R2	T
0	589.00	589.00	589.00	1165.00	1165.00	1165.00	1.05	1.05	1.05
3	196.38	206.27	333.13	340.00	360.00	1060.00	3.95	3.88	2.00
7	77.00	80.67	207.33	180.00	200.00	980.00	5.50	4.50	2.50

Elaboración Propia

### ANEXO E. Depuración del ARD con los *Enterobacter* modificada por agente químico

Cuadro 66. Parámetros (Coliforme fecales, pH y DBO<sub>5</sub>) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD

TIEMPO (Días)	Coliformes Fecales			pH			DBO <sub>5</sub>		
	R1	R2	T	R1	R2	T	R1	R2	T
0	1100.00	1100.00	1100.00	6.40	6.40	6.40	318.20	318.20	318.20
3	160.00	160.00	460.00	7.05	7.15	6.72	168.10	162.02	234.98
7	75.00	75.00	240.00	8.06	8.12	7.65	63.35	66.45	139.25

Elaboración Propia

Cuadro 67. Parámetros (Nitratos, Fosfatos y Temperatura) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD

TIEMPO (Días)	Nitratos			Fosfatos			Temperatura		
	R1	R2	T	R1	R2	T	R1	R2	T
0	50.00	50.00	50.00	5.00	5.00	5.00	28.80	28.80	28.80
3	30.00	20.00	40.00	4.00	3.00	5.00	30.15	30.28	31.18
7	15.00	10.00	30.00	1.00	2.00	3.00	32.90	33.10	33.30

Elaboración Propia

Cuadro 68. Parámetros (DQO, solidos totales suspendido y oxígeno disuelto) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD

TIEMPO (Días)	DQO			STS			Oxígeno Disuelto		
	R1	R2	T	R1	R2	T	R1	R2	T
0	589.00	589.00	589.00	1165.00	1165.00	1165.00	1.05	1.05	1.05
3	280.17	270.03	391.63	360.00	420.00	1100.00	3.62	3.54	1.50
7	105.58	110.75	232.08	200.00	350.00	1040.00	4.45	4.25	2.05

Elaboración Propia

**ANEXO F. Depuración del ARD con los *Bacillus* modificada por agente químico**

Cuadro 69. Parámetros (Coliforme fecales, pH y DBO<sub>5</sub>) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD

TIEMPO (Días)	Coliformes Fecales			pH			DBO <sub>5</sub>		
	R1	R2	T	R1	R2	T	R1	R2	T
0	1100.00	1100.00	1100.00	6.40	6.40	6.40	318.20	318.20	318.20
3	160.00	160.00	460.00	7.13	7.18	6.91	149.12	155.05	234.41
7	75.00	95.00	290.00	7.90	8.02	7.42	63.20	60.50	146.89

Elaboración Propia

Cuadro 70. Parámetros (Nitratos, Fosfatos y Temperatura) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD

TIEMPO (Días)	Nitratos			Fosfatos			Temperatura		
	R1	R2	T	R1	R2	T	R1	R2	T
0	50.00	50.00	50.00	5.00	5.00	5.00	28.80	28.80	28.80
3	30.00	30.00	40.00	4.00	4.00	5.00	30.94	31.12	31.86
7	15.00	20.00	30.00	3.00	3.00	4.00	33.40	33.60	33.80

Elaboración Propia

Cuadro 71. Parámetros (DQO, solidos totales suspendido y oxígeno disuelto) tomados en cuenta para el tratamiento del ARD

TIEMPO (Días)	DQO			STS			Oxígeno Disuelto		
	R1	R2	T	R1	R2	T	R1	R2	T
0	589.00	589.00	589.00	1165.00	1165.00	1165.00	1.05	1.05	1.05
3	248.53	258.42	390.68	480.00	440.00	1110.00	3.32	3.25	1.61
7	105.33	100.83	244.82	400.00	390.00	1060.00	4.00	4.30	1.96

Elaboración Propia

### ANEXO G. Fórmula del Medio Mínimo de Sales (según Davis)

Cuadro 72. Formulación para 1L de medio mínimo de sales

<b>Compuestos</b>	<b>Cantidad</b>
fosfato de potasio dibasico	5.23 g/L
fosfato de potasio monobásico	1.91 g/L
sulfato de magnesio	0.09 g/L
sulfato de amonio	1 g/L
solución traza de elementos	1 ml/L

Cuadro 73. Formulación para 100 mL de solución traza de elementos

<b>Compuestos</b>	<b>Cantidad</b>
cloruro de cobalto	20 mg/L
ácido bórico	30 mg/L
sulfato de zinc	10 mg/L
sulfato de cobre	1 mg/L
molibdato de sodio	3 mg/L
sulfato de hierro	10 mg/L
sulfato de magnesio	2.6 mg/L
agua destilada	1000 ml

ANEXO H. Ubicación de la muestra



Figura 24. Mapa de ubicación de los puntos de colecta de muestras

**ANEXO I. Panel fotográfico**

Figura 25. Toma de muestra para el aislamiento de microorganismos



Figura 26. Aislamiento de las Bacterias



Figura 27. Cepas Aisladas



Figura 28. Modificación por el agente Físico



Figura 29. Cepas modificadas



Figura 30. Preparación del Medio Mínimo de Sales



Figura 31. Toma de muestra del agua a tratar



Figura 32. Acondicionamiento de los bioreactores



Figura 33. Bioreactores acondicionados



Figura 34. Puesta en marcha de los Bioreactores



Figura 35. Control del flujo de aire



Figura 36. Tomas de muestras para sus respectivos análisis



Figura 37. Tomas de muestras para sus respectivos análisis



Figura 38. Determinación de Oxígeno disuelto



Figura 39. Determinación de la DBO



Figura 40 Determinación de Nitratos y Fosfatos



Figura 41. Prueba para la determinación de coliformes



Figura 42. Determinación de Coliformes fecales



Figura 43. Pruebas para la determinación de DBO



Figura 44. Determinación de solidos totales suspendidos