



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

CARACTERIZACIÓN INICIAL DE LA BIOPELÍCULA FORMADA EN EL FILTRO PERCOLADOR DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES (PTAR) DE LA UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS.

Autor

Marlon Vinicio Llumiquinga Nacimba

Año
2020



FACULTAD DE INGENERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

CARACTERIZACIÓN INICIAL DE LA BIOPELÍCULA FORMADA EN EL
FILTRO PERCOLADOR DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS
RESIDUALES (PTAR) DE LA UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS.

Trabajo de titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos
para optar el título de Ingeniero Ambiental en Prevención y Remediación

Profesor Guía

MSc. Santiago Daniel Piedra Burgos

Autor

Marlon Vinicio Llumiquinga Nacimba

Año

2020

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido el trabajo, Caracterización Inicial de la Biopelícula Formada en el Filtro Percolador de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) de la Universidad de las Américas, a través de reuniones periódicas con el estudiante Marlon Vinicio Llumiquinga Nacimba, en el semestre 202010, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.



Santiago Daniel Piedra Burgos
Master en Hidrociencias e Ingeniería
C.I: 1715384150

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, Caracterización Inicial de la Biopelícula Formada en el Filtro Percolador de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) de la Universidad de las Américas, del estudiante Marlon Vinicio Llumiquinga Nacimba, en el semestre 202010, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.



Daniel Hernán Hidalgo Villalba
Magister en Ciencias Especialización Ingeniería Ambiental
C.I: 1801914449

DECLARACIÓN DE LA AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”.



Marlon Vinicio Llumiquire Nacimba
C.I: 1722664768

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer primero a Dios y la Virgen María por permitirme culminar con éxito una etapa más de mi vida; quiero agradecer a mis padres Marco, Margarita y a mis hermanos Andrés y Dennis, por darme todo su apoyo y amor incondicional, ya que sin ellos nada de esto hubiese sido posible; a mi novia Sara, por ser quien me apoyo y motivo durante toda mi carrera; a mis profesores Santiago, Indira y Miguel, por todo su apoyo en la realización la presente investigación. Mi más sincera gratitud a todos ustedes.

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a Dios y a mis padres, Marco y Margarita, quienes, con su ejemplo, me enseñaron los significados del trabajo, esfuerzo y determinación; a mi hermano Dennis, para que la presente le sirva como inspiración, para perseguir sus sueños y alcanzar todas sus metas.

RESUMEN

El objetivo general de la presente investigación fue realizar la caracterización inicial de la biopelícula formada en el reactor biológico de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad de las Américas, con el fin de comprender el comportamiento de la biopelícula ya existente en el reactor, y cuál era la influencia del caudal de entrada sobre este biofilm, al mismo tiempo estimar cuales era los microorganismos pioneros en la formación de la biopelícula.

Para cumplir con dichos objetivos, se llevó acabo la implementación de ventanas de 40 cm² a tres alturas distintas en el tanque, las mismas a las que se denominaron como estrato superior, medio e inferior. Las muestras obtenidas, se obtuvieron de los biopaks pre existentes, los cuales fueron analizados en laboratorio bajo los parámetros de peso seco, peso húmedo y densidad óptica; Se realizó una ponderación por cada estrato para la obtención de los resultados. Para el análisis de los microorganismos colonizadores, se incorporó láminas de polipropileno dentro de cada uno de los estratos y se evaluó la formación de microorganismos en intervalos de tiempo de 10 días, durante un periodo de 30 días. Mediante el uso de microscopio óptico, se realizó la caracterización de microorganismos bioindicadores que posteriormente fueron analizados mediante bibliografía.

De acuerdo con los resultados obtenidos, el filtro percolador se encuentra conformado por un total de 19305 kg de biopelícula en peso húmedo, 1051.88 kg de biopelícula en peso seco y con una densidad óptica en biopelícula de 3.045 A. Por lo cual, se evidencio que el filtro percolador retiene 18.25 ton de agua lo que corresponde al 18.25 % del volumen total del reactor; atribuyéndose esto al exceso de fangos en los biopaks. Por otra parte, los microorganismos colonizadores encontrados muestran características de fangos antiguos y de mala oxigenación dentro del reactor biológico.

ABSTRACT

The overall objective of this research was to conduct the initial characterization of the biofilm formed in the biological reactor of the wastewater treatment plant of the University of the Americas, in order to understand the behavior of the biofilm already existing in the reactor, and what was the influence of the input flow on this biofilm, at the same time estimate what was the pioneer ingesting microorganisms in the formation of the biofilm.

To meet these objectives, the implementation of windows of 40 cm² at three different heights in the tank was carried out, the same as those referred to as the upper, middle and lower stratum. The samples obtained were obtained from the pre-existing biopaks, which were laboratory analyzed under the parameters of dry weight, wet weight and optical density; A weight was performed for each stratum to obtain the results. For the analysis of colonizing microorganisms, polypropylene sheets were incorporated into each of the strata and the formation of microorganisms was evaluated at 10-day time intervals, over a period of 30 days. Using an optical microscope, the characterization of bio indicator microorganisms was performed and were subsequently analyzed by bibliography.

According to the results obtained, the percolator filter consists of a total of 19305 kg of biofilm in wet weight, 1051.88 kg of biofilm in dry weight and with an optical density in biofilm of 3.045 A. Therefore, it is evident that the percolator filter retains 18.25 ton of water corresponding to 18.25 % of the total reactor volume; attribute this to excess sludge in biopaks. Moreover, the colonizing microorganisms found show characteristics of ancient sludge and poor oxygenation within the biological reactor.

ÍNDICE

1. CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Antecedentes:	1
1.2 Marco Referencial	5
1.3 Objetivos.....	7
1.3.1 Objetivo General:.....	7
1.3.2 Objetivos Específicos.....	7
1.4 Alcance	7
1.5 Justificación	8
2. CAPITULO II. MARCO TEÓRICO	9
2.1 Agua Residual.....	9
2.2 Clasificación de las Aguas Residuales en Función A Su Origen	10
2.3 Características Importantes en las Aguas Residuales (Ar).....	11
2.4 Tratamiento De Aguas Residuales	14
2.4.1 Etapas Del Tratamiento De Aguas Residuales.....	15
2.4.1.1 Tratamiento Primario	15
2.5 Tipos De Operaciones Unitarias Para El Tratamiento De Aguas Residuales.	18
2.6 Clasificación de los Microorganismos	22
2.6.1 Morfología bacteriana.	23
2.6.2 Crecimiento celular	23
2.7 Microbiología del Proceso	24
2.8 Biopelícula.....	26
2.8.1 Características de la Biopelícula.....	26
2.8.2 Composición Elemental de la Biopelícula	27
2.8.3 Espesor de la Biopelícula	27
2.8.4 Fases de Crecimiento de la Biopelícula.....	27

2.8.5 Estructura Bacteriana	30
2.8.6 Estructura de la pared celular de las bacterias Gram positivas.	31
2.8.7 Estructura de la pared celular de las bacterias Gram negativas.	31
2.9 Métodos De Caracterización De La Biomasa.....	31
2.9.1 Tinción de Gram	31
2.9.2 Método De Recuento Por Placa	32
2.9.3 Cuantificación de biomasa.....	32
3. CAPITULO III. METODOLOGÍA	33
3.1 Diseño de Investigación.....	33
3.2 Desarrollo Experimental	35
3.3 Población.....	37
3.4 Muestra y Muestreo	37
4. CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	42
4.1 Datos Preliminares.....	42
4.2 Resultados Obtenidos de la Caracterización de la Biopelícula Antigua.	43
4.4 Resultados de la Cinética Microbiana	47
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	65
5.1 Conclusiones.....	65
5.2 Recomendaciones	66
REFERENCIAS	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tipos De Transportadores Y Su Área Superficial Efectiva.	17
Figura 2. Relleno biológico "Biopak".	17
Figura 3. Morfología Bacteriana.	23
Figura 4 Crecimiento de Biomasa.	24
Figura 5 Fases de crecimiento de la biopelícula.	30
Figura 6 Estructura de las Bacterias Gram Positivas y Gram Negativas.....	30
Figura 7. Ubicación Planta De Tratamiento De Aguas Residuales UDLAPARK.	34
Figura 8 Diseño en AutoCAD -Distribución de la PTAR UDLAPARK.....	34
Figura 9. Diagrama estructural de la PTAR UDLAPARK	35
Figura 10. Recolección de muestras de los diferentes estratos.	36
Figura 11. Malla de muestreo con lminas de polipropileno de alta densidad para cada estrato.	36
Figura 12. Ingreso De Malla De Muestreo En El Estrato Inferior.....	37
Figura 13. Ingreso de las muestras a la estufa tras la obtención del peso húmedo.	39
Figura 14. Representación gráfica de la metodología de muestreo para Cinética microbiana.....	40
Figura 15. Valores Totales de Peso Seco - Peso Húmedo – Absorbancia.	44
Figura 16. Biopaks recolectados del estrato medio e inferior.....	46
Figura 17. Relación Peso Húmedo vs Peso seco Total.	46
Figura 18.Unidades formadoras de colonias por estratos.	47
Figura 19. Microorganismos totales en el filtro percolador.	50
Figura 20. Número de individuos por especies en el periodo de 10 días en todo el filtro percolador.....	51
Figura 21.Número de individuos por especies en el periodo de 20 días en todo el filtro percolador.	53
Figura 22.Número de individuos por especies en el periodo de 30 días en todo el filtro percolador.	54
Figura 23. Acineria Uncinata	55

Figura 24. Arcella	55
Figura 25. Blepharisma	56
Figura 26. Cianobacteria	56
Figura 27. Chlamydomonas	57
Figura 28. Epistylis	57
Figura 29. Euglena	58
Figura 30. Euglypha	58
Figura 31. Litonotus Crystallinus	59
Figura 32. Nematodos	59
Figura 33. Aelosoma variegatum.....	60
Figura 34. Opercularia.....	60
Figura 35. Rotífero.	61
Figura 36. Spirostomum.	61
Figura 37. Acineta	62
Figura 38. Trachelophyllum.	62
Figura 39. Vorticella	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Rangos Aproximados De DBO.....	13
Tabla 2 Plantas De Tratamiento- Principales Procesos Físicos.....	19
Tabla 3 Plantas De Tratamiento- Principales Procesos Químicos.....	20
Tabla 4 Tipos de bacterias y sus funciones.....	25
Tabla 5 Caracterización Físico-Química Del Agua Residual Del Filtro Percolador.....	42
Tabla 6 Tabla de resultados obtenidos en la Tinción de Gram.....	48
Tabla 7 Ponderación de microorganismos Gram Positivos - Gram Negativos.....	49
Tabla 8 Especies Totales En El Tanque En El Periodo De 10 Días.....	51
Tabla 9 Especies Totales En El Tanque En El Periodo De 20 Días.....	52
Tabla 10 Especies totales en el tanque en el periodo de 30 días.....	53

1. CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes:

El saneamiento ambiental, se puede definir como el conjunto de acciones y técnicas socioeconómicas que intervienen en la salud pública y que tiene como objetivo gestionar el agua potable, residuos sólidos, excretas y aguas residuales, con el fin de mejorar las condiciones de vida (OPS, 2003), por lo cual las actividades más conocidas son: proveer de agua de consumo, alcantarillado, tratamiento de aguas residuales, gestión de residuos sólidos, entre otros.

Los primeros registros datan de los años 300 A.C cuando se aseguraba que los griegos ya utilizaban sistemas de letrinas públicas con sistema de alcantarillado conectado hacia algunas viviendas. Estas tuvieron como objetivo transportar las aguas residuales y pluviales hacia las afueras de la ciudad, para luego ser aprovechadas en los campos agrícolas como fertilizantes. Como resultado de su funcionalidad, dicho sistema también fue adoptado en otras partes del mundo. Uno de los más conocidos fue la denominada "*Cloaca Máxima*" en la antigua Roma en los años 1750 D.C (Wolfe, 1999). Sin embargo, con el paso de los días los campos agrícolas que recibían estos desechos empezaron a saturarse, y consiguieron la proliferación de enfermedades, todo aquello como resultado del crecimiento poblacional y la demanda de recursos.

En el año 1900 el Capitán Liernur propuso un plan de recolección diferenciado de aguas pluviales y grises, que tuvo como objetivo, direccionar las aguas que contenían altas concentraciones de materia orgánica hacia las fuentes hídricas más cercanas, mientras que las de menor concentración fueron aprovechadas para el riego y la limpieza de la ciudad (Van Bemmelen, 1886). En búsqueda de atender a la problemática de aquel entonces y a otras complicaciones, que conllevaba la mala calidad de los efluentes resultantes de procesos cotidianos, surgió la idea del tratamiento de aguas residuales (Balcorta.C, 2010).

En el año de 1920 en Estados Unidos y Reino Unido surgieron las primeras ideas de tratamiento de Aguas Residuales (AR) con biopelícula (Arden y Lockett, 1914), esta idea surgió luego de que varios investigadores, observaran que las rocas que se encontraban en los lechos de los ríos, tenían una coloración verdosa luego de haber estado en contacto con el agua residual. Luego de haber transcurrido un periodo de 5 días, los científicos analizaron el efluente resultante de dicho contacto y llegaron a la conclusión de que existió una disminución en la concentración de materia orgánica en comparación con la que fue medida previamente aguas arriba , aquella investigación tuvo tanto impacto en la ciencia del tratamiento de aguas residuales, que hasta el día de hoy se utiliza el aquel entonces denominado termino DBO_5 , ya que cinco días era el tiempo máximo requerido en los ríos de Reino Unido para que los microorganismos que formaban la biopelícula depuren dichas aguas residuales (Phelps, 1944).

En la actualidad se puede definir a una biopelícula como el conjunto de agregados de microorganismos que se encuentran adheridos por sustancias poliméricas extracelulares (SPE) a una superficie sin importar su porosidad (Rittman, 2004). La formación de la biopelícula o biofilm surge cuando la bacteria reacciona a ciertos parámetros ambientales como la disponibilidad de nutrientes, cambios de pH, oxígeno, temperatura (Donlan, 2002). Este tipo de asociación permite a los microorganismos ciertas ventajas en su crecimiento y desarrollo, ya que, al formar agregados bacterianos, estos pueden intercambiar nutrientes, metabolitos y material genético, gracias a la proximidad entre microorganismos. Las propiedades específicas de estos biofilm los han convertido en los candidatos idóneos para los tratamientos biológicos, sin embargo, tampoco se puede asegurar que no posean ciertas limitaciones (Bryers, 2000).

Los tratamientos mediante biofilm son unos de los más utilizados en la medida de lo posible, ya que tienen bajos costos de operación y mantenimiento pero a su vez cuentan con ciertas restricciones (Scott & Ollis, 1995), dichas

limitaciones viene arraigadas al tipo de afluente a ser tratado, ya que ,si este se encuentra compuesto por una gran cantidad de moléculas xenobióticas, toxinas o sustancias que impiden el crecimiento bacteriano (inhibidores), será imposible la formación de un cultivo biológico dentro de un tanque de tratamiento.

Los procesos biológicos de tratamiento de aguas residuales, normalmente están situados en la segunda etapa del proceso, ya que esta etapa está dirigida a tratar los compuestos orgánicos mediante oxidación biológica, en el cual intervienen microorganismos de distinto tipo entre los cuales destacan las bacterias, algas, hongos, protozoos, rotíferos, crustáceos y nematodos, los mismos que por reacciones bioquímicas de oxidación consiguen disminuir la DBO (Demanda Bioquímica de Oxígeno) (Celenza, 2000).

Se dice que los procesos de tratamiento biológico tienen dos condiciones en común; la primera condición hace referencia a que los microorganismos activos deben estar concentrados dentro del sistema; mientras que la segunda, señala que los microorganismos deben ser eliminados del efluente tratado antes de que el agua sea retirada del sistema (Klein et al.,1999). En los reactores de biopelícula, los microorganismos se encuentran inmovilizados formando una capa espesa, la cual crece adherida a una superficie sólida sin importar su rugosidad (López et al., 2017), mientras que algunas bacterias en suspensión pueden ser eliminadas en el flujo de agua; sin embargo, las bacterias que se encuentran formando la biopelícula no son afectadas por el afluente que atraviesa el sistema. por lo cual pueden desarrollarse de manera óptima únicamente al entrar en contacto con el fluido y éstas crecen en zonas en donde la fuente de alimento se encuentra de manera abundante (Idelovitch, 1997).

La formación de biopelícula dentro de un determinado reactor biológico, dependerá del arrastre de la biomasa en suspensión (o del tiempo de retención de sólidos) (López, Buitrón y García, 2017). Ya que, si la tasa de arrastre de las

bacterias que se encuentran contenidas en los sólidos en suspensión, es mayor a la tasa de crecimiento de un grupo determinado de microorganismos, entonces se dice que estos no crecerán dentro del sistema y saldrán del mismo, en conjunto con el flujo del agua; mientras que, con tasas de arrastre pequeñas, los microorganismos crecerán de manera preferencial formando una biopelícula en la superficie que se encuentre en contacto continuo con el agua residual y el aporte de nutrientes (Sutherland, 2001). Por lo cual las bacterias que conforman el biofilm ya formado no se verá afectadas por las tasas de arrastre que ingresan al sistema y pueden desarrollarse de manera óptima en zonas donde la fuente de alimento es abundante (Salvetti, 2006). La biopelícula está compuesta por microorganismos que en algunos casos son similares a los que se encuentran en los reactores de lodos activos, estos en su mayoría pueden ser heterótrofos ,hongos y protozoos (López, Buitrón y García, 2017); por otra parte si estos cuentan con una buena recepción de luz se dará origen el crecimiento de algas , pero estas últimas en mayor cantidad sobre la superficie, también se pueden encontrar organismos de mayor tamaño como los gusanos de lodo, larvas de insectos, rotíferos, entre una gran variedad más (Murray & Patrick, 2009). Los microorganismos son atrapados en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares (SPE), las cuales contienen polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos de cadena libre y agua (Sutherland, 2001). Las SPE son consideradas básicamente como el pegamento que mantiene fija a la biopelícula con los medios inertes.

En un reactor de biofilm las aguas residuales entran al sistema y se ponen en contacto con la biopelícula y los microorganismos que la conforman. Las partículas orgánicas que pasan por la superficie del biofilm, interactúan con las bacterias, las mismas que degradan las sustancias en gases y productos más sencillos para luego ser absorbidas cumpliendo con los principios de la transferencia de masa específicamente en los gradientes de concentración (Rittman, 2004).

1.2 Marco Referencial

Durante la década del siglo XX varias ciudades e industrias a nivel mundial determinaron que los vertidos de residuos de las actividades cotidianas en los ríos dieron origen a los problemas sanitarios. Por lo cual, en búsqueda de mitigar dichos problemas, surgen las primeras instalaciones de depuración de aguas, siendo la fosa séptica uno de los primeros mecanismos de tratamiento de aguas residuales de origen rural y subdural, seguidas por los filtros percoladores suponiendo una mejora significativa (OPS, 2003).

En la actualidad a nivel mundial, el 70 % de las aguas residuales es liberado al ambiente sin ningún tratamiento previo, por lo cual los cuerpos hídricos contaminados impiden el desarrollo sostenible de la vida acuática. En América Latina y el Caribe la cobertura del saneamiento ambiental cumple con un 79,2 %, eso significa que alrededor de 103 millones de personas no cuenta con servicio sanitario para gestionar adecuadamente las aguas contaminadas (UNESCO, 2017).

La mala gestión del agua residual conlleva a problemas de salud pública como diarrea, paludismo, esquistosomiasis, hepatitis A, entre otras. Que pueden llevar a la muerte y en algunos casos las extinciones de varias poblaciones (UNESCO, 2000).

El Ecuador es uno de los países más ricos en recursos hídricos de Sudamérica, disponiendo 43.500 m³/ hab /año, pero también uno de los países con mayor retraso en la región andina en cuanto a saneamiento ambiental, en donde 7 de cada 10 ecuatorianos cuenta con agua potable y solo 5 de cada 10 cuenta con alcantarillado (García, 2008); Según la UNESCO en su informe nacional sobre *la Gestión Del Agua en el Ecuador* (febrero, 2000) señala que el territorio ecuatoriano se encuentra conformado por 79 cuencas hidrográficas de las cuales el 91.13% de éstas descargan al océano pacífico, mientras que la distribución de agua es realizada mediante 12 presas, que buscan cumplir con diferentes propósitos (hidroeléctricas, agua de consumo, riego y turismo).

Solamente el 61 % de la población tiene agua de consumo. Los ríos constituyen el mayor aporte de agua dulce, aunque esta es abundante, la contaminación a la que se encuentra arraigada representa una problemática para la comunidad que la utiliza. La contaminación biológica y química de las fuentes hídricas se vuelve evidente en las cercanías de las áreas más pobladas gracias al crecimiento demográfico, la agricultura comercial e industrial, actividades mineras y operaciones petroleras, siendo estas las mayores fuentes de contaminación (OPS, 2003).

Se estima que en el Ecuador el setenta por ciento de las cuencas hidrográficas que se encuentra bajo la cota 2.800 msnm no es apta para el consumo humano directo, mientras que solo el ocho por ciento de las aguas negras reciben algún tipo de tratamiento, esto debido al acelerado y desordenado crecimiento urbano. El nivel de compromiso con el medio ambiente en tarea sanitaria en Ecuador, es un tema que corresponde a cada uno de los gobiernos descentralizados; entre las principales ciudades del país. Se sabe que la PTAR Urubamba, que se encuentra ubicada en la ciudad de Cuenca, cuenta con una capacidad de tratamiento de las aguas residuales urbanas (ARU) de hasta un 95 % de cobertura, mientras que en Quito y Guayaquil aún se espera llegar al 80% en el año 2030 (Jurado, 2015).

El municipio de Quito a través de la Empresa Pública Metropolitana de Agua Potable y Saneamiento (EPMAPS), en el año 2014 inicia la construcción de la planta de tratamiento de aguas residuales Quitumbe; en el año 2019 este proyecto se encuentra beneficiando a 100 mil personas de los barrios aledaños a la zona sur de Quito y ayuda a la disminución de la carga contaminante de la quebrada Ortega, que tiene como desembocadura el río Machángara, uno de los ríos que atraviesan toda la ciudad y que se encuentra afectado gracias a la contaminación que se ha realizado durante décadas (EMAPS, 2019).

En búsqueda de mitigar el impacto ambiental generado por sus actividades y aportar de manera positiva a la situación actual de la ciudad, la Universidad de las Américas en su campus UdlaPark cuenta con su Propia Planta de

Tratamiento De Aguas Residuales (PTAR), la mismas que trata hasta 240 m³ / día, la estructura cuenta con un cribado, 2 homogeneizadores, reactor biológico, 2 sedimentadores secundarios, tratamiento ultra violeta y un taque de espesamiento de lodos. El efluente tratado es descargado al rio San Pedro mientras que los lodos resultantes de los procesos biológicos sirven como abono para los jardines y bosques aledaños a las instalaciones.

El presente trabajo fue desarrollado en base a distintas visitas realizadas a la PTAR UDLA, enfocado específicamente en la caracterización preliminar del filtro percolador. Las mediciones se realizaron durante el segundo periodo de clases 2019-2020, y se obtuvieron datos de microorganismos que componen el biofilm del filtro percolador y las características (densidad óptica, pesos seco y húmedo) de la biopelícula.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General:

Realizar la caracterización inicial de la biopelícula formada en el reactor biológico de la planta de tratamiento de la UDLA.

1.3.2 Objetivos Específicos

Conocer la sucesión biológica que ocurre dentro del filtro percolador de la UDLA.

Establecer la relación de los microorganismos presentes en la biopelícula con las características del afluente al biorreactor.

1.4 Alcance

El presente estudio pretendió realizar una caracterización inicial de la biopelícula formada en el reactor biológico de la planta de tratamiento de aguas

residuales (PTAR) de la Universidad de las Américas, mediante la cuantificación de la biomasa, el análisis de la influencia del caudal de entrada sobre la biopelícula y el reconocimiento de la sucesión biológica dentro del biorreactor, los mismos que correspondían al periodo de clases. Se realizó una caracterización fisicoquímica inicial del afluente que entra al reactor biológico, también se realizó un análisis de componentes biológicos que forman parte de la biopelícula utilizando fracciones de esta, he identificándolas en el microscopio, estos fueron medidos a diferentes alturas del tanque para analizar sus diferencias.

1.5 Justificación

En general, las aguas residuales son aquellas que contienen cierta cantidad de xenobióticos y microorganismos patógenos en su composición. Estas aguas al ser reincorporadas al medio ambiente sin tratamiento previo, representan un problema de interés para la comunidad cercana a un cuerpo hídrico. Como promedio, solamente el 15% de las aguas de alcantarillado recolectadas en Latinoamérica son sujetas a cualquier tipo de tratamiento, mientras que solo el 60% de las plantas de tratamiento que existen, están siendo operadas de manera satisfactoria. Las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR), buscan reparar un fluido contaminado mediante procesos físicos, químicos y biológicos con el fin de mitigar la carga contaminante de dicho fluido y posteriormente reincorporarlo al medio ambiente, asegurando la disminución de la concentración de contaminantes en las fuentes hídricas receptoras y a su vez evitar los procesos de bio acumulación en la fauna acuática (PAHO, 2001).

En busca de cumplir con su propósito, la PTAR UDLA debe encontrarse trabajando de manera óptima y sobre los parámetros previamente establecidos en su diseño. Para obtener un efluente que cumpla con los parámetros ambientales establecidos en La Norma de Calidad Ambiental y De Descargas de Efluentes: Recurso agua, del Libro VI, Anexo I, de la República del Ecuador.

Ya que en el Artículo 14 de la Constitución del 2008, Título II, Capítulo segundo en la sección segunda, donde “Se reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, declarando de interés público la preservación del ambiente, la recuperación de espacios naturales degradados, y la conservación de los ecosistemas y la biodiversidad”.

Tomado en consideración lo anteriormente argumentado, se demuestra la importancia de realizar un análisis al proyecto ambiental llevado a cabo por la UDLA en su planta de tratamiento, con el fin de garantizar un efluente de calidad, que cumpla con los límites permisibles establecidos en la ley vigente.

El presente estudio pretende realizar la caracterización inicial de la biopelícula formada en el filtro percolador de la Planta de tratamiento de la Universidad de las Américas mediante el análisis de la cinética microbiana y biomasa existentes en los biopacks del reactor biológico; en búsqueda de comprender el comportamiento del mismo. Los datos obtenidos serán reportados de manera cualitativa en búsqueda de que sirvan como guía base para posteriores investigaciones y propuestas de mejoras.

2. CAPITULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 Agua Residual

Se sabe que el agua es un compuesto de características únicas por lo cual tiene un gran significado para la vida, este recurso es denominado el más abundante en la naturaleza, por lo cual juega un rol determinante en los procesos físicos, químicos y biológicos que gobiernan el medio natural (Yépez, 2010). Al igual que el fuego, la tierra y el aire. El agua fue para los griegos uno de los cuatro elementos que formaron el mundo; en la actualidad se sabe que el 71% de la superficie de la tierra está recubierta de agua en los diferentes estados (Sierra et al., 2002); resulta de la combinación de un átomo de oxígeno y dos de hidrogeno, esta asociación no fue hecha de cualquier manera ya que los átomos de hidrogeno interaccionan a los lados del átomo de oxígeno,

permitiéndole así su extrema estabilidad y su simetría molecular (García y Félix, 2002).

Se denomina como agua residual aquella que luego de ser usada por el ser humano es desechada y contiene una gran cantidad de xenobióticos, sustancias y/o microorganismos que alteran su composición natural, es por esta razón que dichos fluidos actúan como medios de cultivos y canales de propagación de enfermedades, aumentando así el riesgo para la salud pública y del medio ambiente (Scott & Ollis, 1995).

2.2 Clasificación de las Aguas Residuales en Función de su Origen

Según Yépez (2010), las aguas residuales en función a su origen se pueden dividir en:

a) Agua Residual Doméstica:

Aguas procedentes de viviendas, residencias, comercio e instituciones, además, estas se subdividen en:

- Aguas Negras

Aguas que se caracterizan por transportar heces y orina, que provienen del inodoro.

- Agua Blancas

Aguas que se caracterizan por ser procedentes de la atmósfera como: lluvia, nieve o hielo, y que son resultantes de la limpieza de calles, parques entre otros lugares públicos.

- Aguas Grises

Aguas con jabón, que pueden tener grasas de la ducha, lavamanos, lavadora, etc.

b) Agua Residual Municipal o Urbana

Aguas que contienen conglomerados urbanos, que pueden ser domésticas e industriales pero que son transportadas por una red de alcantarillado.

c) Agua Residual Industrial

Aguas que provienen de sectores industriales, e incluso pueden ser de origen agrícola o pecuario.

2.3 Características Importantes en las Aguas Residuales (Ar)

Todo cuerpo hídrico tiene la capacidad de auto depurarse, asimilar y convertir cierta cantidad de contaminantes de origen orgánico. Sin embargo, aunque se sabe que los ríos son los receptores y depuradores naturales de las aguas residuales, estas al estar cargadas de una excesiva cantidad de contaminantes, se impiden esta propiedad, dando origen a efluentes de mala calidad. Por esta razón es indispensable establecer las diferencias entre las cargas orgánicas y los sólidos que son transportados, para poder realizar la selección de procesos y operaciones que resulten eficientes en su tratamiento (Yépez, 2010).

a. Características Físicas del Agua Residual

Según Espigares y Pérez (1985), entre las características físicas principales de un Agua residual se encuentran:

- Temperatura: Es una magnitud física que expresa el nivel de calor de los cuerpos o del ambiente y permite determinar la energía térmica del contaminante.

- Olor: El agua residual posee un olor desagradable el cual es producido por el ácido sulfúrico (H_2S), que es causado por la descomposición anaerobia.
- Color: Se atribuye la coloración a la presencia de solidos suspendidos, disueltos y coloidales, estas pueden cambiar de color con el paso del tiempo, gracias a la presencia de sulfuros metálicos.
- Turbiedad: Esta se mide indirectamente gracias a la transmisión de luz, ya que nos indica la concentración de material coloidal y en suspensión.
- Sólidos: Son aquellas partículas que se encuentran suspendidas, disueltas y de forma coloidal en la estructura del fluido.

b. Características Químicas Del Agua Residual

La medición del contenido de materia orgánica es necesario para el diseño de las instalaciones de los tratamientos. Los compuestos orgánicos se encuentran formados por habitualmente por combinaciones de C, H y O, y en algunos casos N, S, P, Fe. Estos compuestos forman diversos grupos de sustancias principales como las proteínas, hidratos de carbono, grasas y aceites (Sierra et al., 2002). Entre las características químicas de las aguas residuales se encuentran:

- Demanda Bioquímica De Oxígeno (DBO): La DBO “es la cantidad de oxígeno que los microorganismos como bacterias (aerobias y anaerobias facultativas), hongos y plancton, consumen para la degradación de sustancias orgánicas contenidas dentro de una muestra”. La DBO se utiliza para medir el grado de contaminación de una muestra de agua y se expresa en mg de O_2 sobre litro; para evitar la variación de los parámetros de descomposición el método estandarizado define realizar este análisis durante un periodo de 5 días a $20^\circ C$. Según (Sierra, Jaime

y Mora, 2002), los rangos aproximados de material orgánica biodegradable en diferentes aguas residuales (DBO) son:

Tabla 1
Rangos Aproximados De DBO.

Tipo De Fluido	Rango Aprox. DBO (mg/lit)
AGUA PURA	0-20
AGUA LEVEMENTE CONTAMINADA	20-100
AGUA MEDIANTEMENTE CONTAMINADA	100-500
AGUA MUY CONTAMINADA	500-3000
AGUA EXTREMANDAMENTE CONTAMINADA	3000-15000

Adaptado de (Sierra, Jaime y Mora, 2002)

- Demanda Química De Oxígeno (DQO): “es la cantidad de oxígeno necesaria para oxidar la materia orgánica por medios químicos y convertirla en dióxido de carbono y agua” (Yépez, 2010).

-

La DQO indica la cantidad de compuestos oxidable que se encuentran presentes en el agua. La mayor parte de la materia orgánica es oxidada por la solución de dicromato de potasio en ácido sulfúrico al 50% a temperatura de reflujo. La cantidad de materia orgánica oxidable es proporcional al dicromato consumido. Se puede determinar de manera rápida lo cual es de suma importancia para los estudios de corrientes fluviales y estudios de impacto ambiental, ya que entre mayor es la DQO más contaminada es la muestra (Sierra, Jaime y Mora, 2002).

Los valores de la DQO siempre serán superiores a los de la DBO debido a que varias de las sustancias orgánicas pueden oxidarse de forma química pero no de forma biológica.

c. Características Biológicas Del Agua Residual

Las aguas residuales contienen una variedad de microorganismos vivos cuya función es la de transformar, descomponer y realizar procesos de fermentación de materia orgánica de forma aerobia o anaerobia, esto quiere decir con presencia o ausencia de oxígeno disuelto según corresponda. Las variedades de microorganismos pueden ser de origen vegetal, animal, vertebrados, invertebrados y protistas, estos pueden actuar como indicadores de la calidad del agua, por esa razón es muy común analizar a los microorganismos patógenos como los coliformes, ya que son sensibles a cualquier variación en su hábitat (García & Félix, 2002).

- Coliformes Fecales

Los microorganismos patógenos contenidos en las aguas residuales son usados como indicadores como es el caso de los coliformes fecales, ya que estos al no ser promotores de grandes enfermedades, si son los más abundantes, diariamente el ser humano arroja 10^9 y 4×10^{11} coliformes contenidos en sus excrementos. El Exceso de estos en las aguas de consumo provocan que estas sean inseguras para dicho fin aun para fines recreacionales (Fernández-Alba et al., 2006).

2.4 Tratamiento de Aguas Residuales

Los tratamientos a los cuales es sometido un afluente contaminado, buscan garantizar la eliminación o recuperación del compuesto orgánico hasta el grado permitido por la legislación vigente para su consumo o reincorporación al medio ambiente. El uso de cualquier tipo de tratamiento es definido por el tipo de afluente a ser tratado y su composición (Fernández-Alba et al., 2002). Según la RAE (2016) define al afluente o tributario, como el fluido en forma de caudal que se integra a un sistema hídrico o ingresa a recibir un tratamiento dentro de una PTAR; mientras que el efluente o emisario, se define como el fluido en forma de caudal que se desprende de un sistema hídrico o abandona el sistema luego de recibir un tratamiento en una PTAR.

2.4.1 Etapas del Tratamiento de Aguas Residuales.

Las etapas del tratamiento son definidas por el tipo del fluido a ser tratado, el proceso suele tener 3 etapas, o más:

2.4.1.1 Tratamiento Primario

Se realiza el tratamiento primario con el objetivo de reducir los aceites, grasas, arenas y sólidos gruesos mediante el uso de maquinaria por lo cual también se lo conoce como tratamiento mecánico. Los mecanismos mayormente usados son (el cribado, desbaste, filtración con arena y grava, sedimentación).

2.4.1.2 Tratamiento Secundario

Se realiza un tratamiento secundario con el objetivo de realizar la degradación de sustancias que se encuentran contenidas en el agua residual, proveniente de los desechos orgánicos, excretas, residuos alimenticios, jabones y detergentes. Mediante el uso de microorganismos vivos, en un ambiente aerobio o anaerobio.

Los mecanismos mayormente usados son: fangos o lodos activos, camas filtrantes o de oxidación, placas rotativas, reactor biológico de cama móvil, filtros aireados biológicos, filtros percoladores (Fernández-Alba et al., 2002).

a. Filtro Percolador

La estructura de un filtro percolador está dada por un medio sumamente permeable y que permite la adherencia de microorganismos, estructura a través de la cual percola el agua residual, fenómeno por el cual recibe el nombre. La misma cuenta con un sistema de drenaje en el inferior del tanque por el cual circula el aire libremente, permitiéndose así, transportar el efluente al siguiente tratamiento y ayudar a la oxigenación del fluido (Rusten, 2006).

La materia orgánica presente en el agua residual es degradada por los microorganismos mediante el contacto con la biopelícula formada en la superficie del lecho filtrante. Por lo cual el agua residual actúa como sustrato para el desarrollo de otros microorganismos (Salvetti, 2006).

b. Portadores de Biopelícula.

Los portadores de biopelícula o biopaks son estructuras diseñadas para optimizar el rendimiento de los tratamientos biológicos de aguas residuales, estos portadores en los cuales los microorganismos de la biopelícula se adhieren, presentan una superficie específica la cual busca mantener y salvaguardar de manera óptima el contacto de la biopelícula con los contaminantes, ya sea en los procesos de MBBR y/o CFIC. Los primeros medios de soporte de biopelícula fueron desarrollados por Anox_ Kaldnes, en la cual su estructura estaba compuesta de crestas, aletas y secciones circulares formadas en material de polietileno, estas tenían una densidad de 0.95 g/cm^3 (Salvetti, 2006).

En la actualidad existen muchos tipos de portadores, estos buscan aumentar su eficiencia en los procesos de tratamiento, por lo cual, se han desarrollado varias modificaciones a los biopaks en busca de aumentar su área de superficie específica, evitar los procesos de arrastre y lavado (Rusten, 2006).

c. Tipos de Portadores.

Existen diversos medios de portadores, estos medios aleatorios son implementados en reactores de cama en movimiento o reactores de lecho móvil sumergido, en la cual se busca proporcionar grandes superficies específicas para el crecimiento de biopelículas y asegurar su estabilidad mecánica.

El crecimiento del biofilm es fundamental para la eficiencia del sistema por lo cual, elegir el tipo de portador es crucial para un tratamiento biológico con

biopelícula; los transportadores varían en su área específica, material y espacios libres. Esta característica busca evitar problemas de saturación y obstrucción de los portadores, en operaciones donde se esperan biopelículas gruesas. Una comparación de las áreas superficiales (m^2/m^3) de algunos de los más utilizados se presentan en la Figura 1.

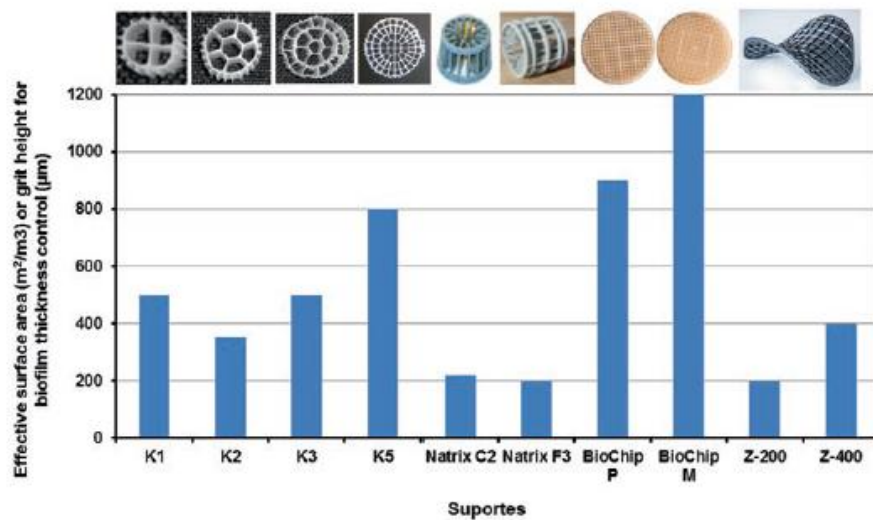


Figura 1. Tipos de Transportadores Y Su Área Superficial Efectiva.

Tomado de Rusten, 2006.

En el filtro percolador de la Planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad de las Américas, se utilizan los rellenos biológicos "Biopaks", los mismos que poseen una altura de 50 mm y 182 mm de diámetro de cuerpo, con un peso seco de 90 g, fabricados en polipropileno de alta densidad (AQUAGROUP, 2014).

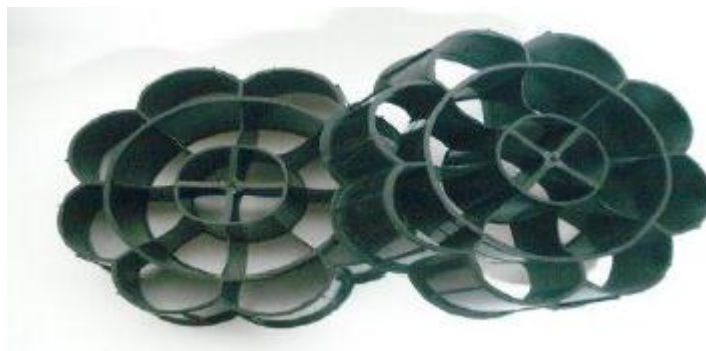


Figura 2. Relleno biológico "Biopak".

Tomado de AQUAGROUP, 2014.

2.4.3.3 Tratamiento Terciario

Se realiza un tratamiento terciario en la etapa final del tratamiento, este tiene como objetivo aumentar la calidad del efluente y que el mismo cumpla con los límites permisivos antes de ser descargado al ambiente receptor. Si el proceso lo requiere se puede incorporar más de un tratamiento terciario con el fin de “pulir” el efluente.

Los mecanismos mayormente usados son: filtración con carbón activado, humedales artificiales, remoción de nutrientes, desinfección uv, ozono o cloro (Fernández-Alba, & García et al, 2006).

2.5 Tipos de Operaciones Unitarias para el Tratamiento de Aguas Residuales.

a. Operaciones Unitarias de Tipo Físico.

Son todas aquellas en donde predomina la acción de la fuerza física y las propiedades del fluido, ayudan a la remoción de material en suspensión y generalmente se encuentra formada por partículas de diversos tamaños. La remoción del material obtenido se suele hacer mediante operaciones mecánicas, por dicha razón esta operación es implementada al principio del tratamiento, buscando remover el material en suspensión más grande con el fin de no obstaculizar el resto de procesos (García et al., 2006)

Procesos Físicos Unitarios

Tabla 2

Plantas de Tratamiento- Principales Procesos Físicos.

OPERACIÓN	APLICACIÓN
Desbaste	El objetivo es eliminarlo sólidos de gran tamaño y evitar que dañen equipos posteriores del resto de tratamientos. Suele ser un tratamiento previo a cualquier otro.
Sedimentación / Decantación	Aprovecha la fuerza de la gravedad de las partículas más densas del agua haciendo que tengan una trayectoria descendente y depositándolas en el fondo del sedimentador.
Filtración	Se hace pasar el agua a través de un medio poroso con el objetivo de retener la mayor cantidad posible de materia en suspensión. Es un proceso muy utilizado en el tratamiento de aguas potables y en el tratamiento de aguas para reutilización.
Flotación	Genera pequeñas burbujas de gas (aire), que se asocian a las partículas presentes en el agua y que se elevan hasta la superficie, de donde son arrastradas y sacadas del sistema.
Coagulación - Floculación	Favorece a la floculación de las partículas que tienen una velocidad de sedimentación extremadamente lenta por medio de la adición de reactivos químicos. Esta operación se utiliza a menudo en el tratamiento de aguas residuales urbanas, potables e industriales.

Tomado de García et al., 2006.

b. Operaciones Unitarias de Tipo Químico.

Son aquellas operaciones que permiten la remoción de material disuelto y coloidal en el agua mediante la adición de sustancias químicas que al entrar en contacto con el agua residual reaccionan con los compuestos que se encuentran contenidos en la misma previamente, por lo cual pueden en conjunto con las operaciones físicas y biológicas, ser eliminadas del sistema mediante diversas técnicas. En su mayoría las aguas contaminadas vienen cargadas de grandes concentraciones de sales inorgánicas, orgánicas y metales pesados provenientes de diferentes actividades industriales y agropecuarias de gran, mediana y pequeña escala (García et al., 2006).

Procesos Químicos Unitarios.

Tabla 3

Plantas de Tratamiento- Principales Procesos Químicos.

OPERACIÓN	APLICACIÓN
Precipitación	Consiste en la eliminación de una sustancia disuelta indeseable por adición de un reactivo que forme un compuesto insoluble con el mismo, facilitando así su eliminación.
Procesos Electroquímicos	Utiliza técnicas electroquímicas haciendo pasar una corriente eléctrica a través del agua y provocando reacciones de oxidación-reducción. Tiene una importante aplicación en el tratamiento de aguas residuales industriales.
Intercambio iónico	Utiliza resinas de intercambio iónico que es capaz de retener selectivamente los iones disueltos en el agua manteniéndolos temporalmente unidos a su superficie y cediéndolos a una disolución con un fuerte regenerante.
Adsorción	Consiste en la captación de sustancias solubles en la superficie de un sólido siendo un parámetro fundamental la superficie específica del mismo, dado que el compuesto soluble a eliminar se ha de concentrar en su superficie. Es un tratamiento de refino más usual, siendo utilizado especialmente con posterioridad a un tratamiento biológico.
Desinfección	Pretende la destrucción o inactivación de los microorganismos que puedan causarnos enfermedades. Se hace imprescindible para la protección de la salud pública si el agua a tratar tiene como finalidad el consumo humano.

Tomado de García et al., 2006.

c. Operaciones Unitarias de Tipo Biológico.

Esta operación es llevada a cabo mediante una serie de procesos en los cuales intervienen los microorganismos, con el fin de eliminar los componentes solubles y coloidales en el agua. Este proceso busca aprovechar la actividad metabólica de los microorganismos los mismos que asimilan la materia orgánica y los nutrientes para su crecimiento y desarrollo.

EL metabolismo celular cumple un rol fundamental en el proceso de tratamiento ya que actúa como un aceptor final de electrones, que tiene como fin oxidar la materia orgánica, por lo cual se distinguen tres casos (Fernández-Alba, et al, 2006)

- Sistemas Aerobios

El oxígeno actúa como receptor final de electrones y es el preferido por cualquier célula, por lo cual cumple con altos rendimientos energéticos y también con una importante generación de fangos debido al alto crecimiento

bacteriano, que luego formara suficiente masa crítica para decantar en un tiempo razonable y salir del sistema (García et al., 2006).

- Sistemas Anaerobio

Los procesos anaerobios ocurren cuando no existe la presencia de oxígeno molecular, en donde las bacterias hidrolizan y realizan la fermentación de compuestos complejos y los transforman en otros más simples, a este proceso se lo conoce como fermentación ácida, posteriormente es aprovechado por otro grupo de bacterias para convertir estos compuestos en gas metano y anhídrido carbónico (García & Félix, 2002).

- Oxígeno Disuelto y su Relación con la Biopelícula

El oxígeno disuelto en el agua residual es uno de los parámetros fundamentales para el desarrollo de la biopelícula al igual que la carga de nutrientes en el afluente, estos son absorbidos en la estructura de la biopelícula por las bacterias aerobias, y es aprovechado por las mismas para realizar sus procesos; al mismo tiempo estos generan productos, desechos y gases, que en la secuencia del tratamiento saldrán fuera del reactor con el efluente. Con el paso del tiempo, la biopelícula aumenta en área de cobertura y también en grosor, este puede llegar a medir 0.1 y > 3 mm de espesor en soportes permeables y aguas de contenido de sólidos volátiles mayores a 90 % y con cargas orgánicas entre 130 y 16 g DQO/ m². d (López, 1991). La parte externa, que es la más cercana de la biopelícula, se mantiene en forma aerobia, mientras que las capas internas se vuelven anaerobias debido a que el oxígeno no puede pasar a estas por limitaciones en la difusión (ley de Fick), en la cual se relaciona la concentración de sustrato en la biopelícula, la distancia desde la superficie de la biopelícula y el coeficiente de difusión de la misma, este último relaciona el flujo de sustrato en una determinada zona en el interior de la biopelícula, la misma que es proporcional al gradiente de concentración de esta zona, es propio de la composición de cada uno de los microorganismos que componen el biofilm y determinarán su comportamiento (López et al., 2017).

2.6 Clasificación de los Microorganismos

Existen dos tipos de organismos, procariotas y eucariotas; Los procariotas en su mayoría son organismos unicelulares entre los cuales se encuentran las bacterias y cianobacterias, entre ellas algas verdes y azules, también se pueden encontrar arqueas, pero en condiciones más extremas (López, 1991). Por otra parte, entre las eucariotas se encuentran protozoos, algas, hongos en forma unicelular; mientras que también existe la presencia de distintos tipos de hongos, plantas y animales en forma pluricelular.

Los microorganismos más comunes en las aguas residuales y plantas de tratamiento son los virus, bacterias y protozoos, mientras que en algunos casos también se pueden encontrar ciertos organismos superiores como: algas, plantas y animales (Klein et al., 1999).

a. Virus

Los virus son microorganismos estrictamente celulares y con potencial patógeno, con una fase infecciosa, que posee un solo tipo de ácido nucleico lo que lo hace incapaz de reproducirse por fisión binaria, sino por el contrario necesita de células vivas para transmitir su genoma viral a otras células (Lwoff, 1957).

b. Protozoo

Los protozoarios son microorganismos unicelulares que miden aproximadamente de 10 a 50 μm y pueden ser protistas, heterótrofos, fagótrofos y depredadores. Viven en ambientes acuáticos y/o húmedos, y estos pueden ser parasitarios de ciertas especies. Estos se clasifican en Rizópodos, Ciliados, Flagelados, Esporozoos dependiendo su estructura (Álvarez, 2006).

c. Bacterias

Las bacterias son microorganismos procariotas que miden aproximadamente entre 0.5 a 5 μm , son los organismos más abundantes en el planeta y se encuentran en todos los hábitats del mismo, aun en los considerados más extremos para el ser humano. Las células procariotas a diferencia de las eucariotas, no cuentan con un núcleo definido ni presentan orgánulos membranosos internos. Muchas bacterias cuentan con flagelos u otros sistemas que permiten su desplazamiento (Murray & Patrick, 2009)

2.6.1 Morfología Bacteriana.

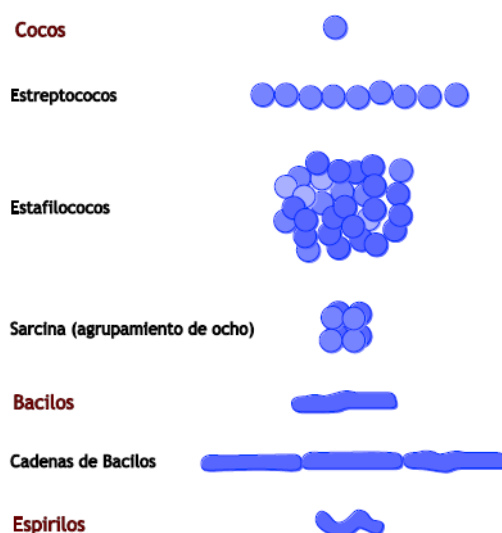


Figura 3. Morfología Bacteriana.

Tomado de López et al., 2017.

2.6.2 Crecimiento Celular

Según Klein et al. (1999), el crecimiento celular se lleva a cabo en cuatro fases:

a) Fase de retardo

Es aquella que en la existe un incremento de biomasa poco significativo y poco consumo de sustrato, ya que las células se encuentran adaptándose al medio.

b) Fase de crecimiento exponencial

Es aquella en la que la biomasa crece a su tasa máxima y tiene un alto consumo del sustrato disponible

c) Fase estacionaria

Es aquella en donde la biomasa y el consumo se mantienen relativamente constante, esto quiere decir que si existe poco consumo de sustrato.

d) Fase de decaimiento

Es aquella que es asociada con la descomposición de la biomasa ya que los microorganismos empiezan a consumir su carbono interno y agotar sus reservas de energía debido a la depredación y la lisis.

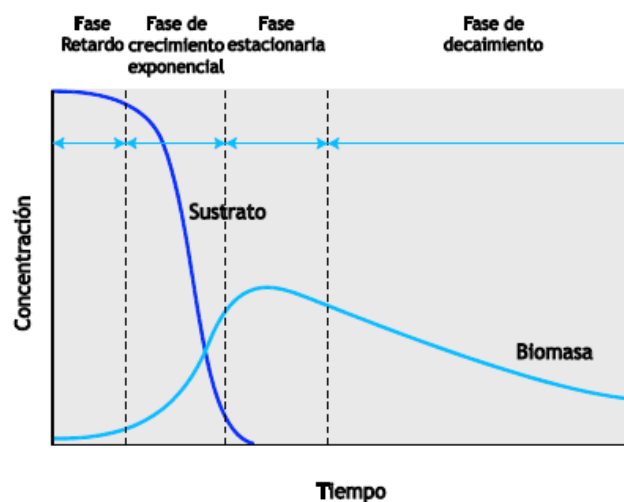


Figura 4 Crecimiento de Biomasa.

Tomado de López et al., 2017.

2.7 Microbiología del Proceso

Los microorganismos se definen como un ser o seres vivos de tamaño diminuto que pueden ser observados mediante microscopio, se encuentran dotados de

forma individual (unicelulares) que a diferencia de las plantas y animales presentan una organización biológica elemental (López, Buitrón y García, 2017).

En el proceso de los tratamientos biológicos y mediante los sistemas de filtros aerobios, podemos encontrar varios organismos biológicos que están compuestos especialmente por bacterias facultativas, algas, protozoos y hongos. También, podemos observar animales como: caracoles, gusanos, larvas.

Están basados en aspectos fisiológicos y se pueden dividir en dos tipos:

- Bacterias Activas: son responsables de eliminar el sustrato y su característica es su tasa de crecimiento específico.
- Bacterias Inactivas o Inertes: estas bacterias se caracterizan por que no metabolizan el sustrato por causa a varios fenómenos: la presencia dentro de la biopelícula y el efecto de confinamiento que altera el transporte de difusión del sustrato y de los productos que se encuentran alrededor (García et al., 2017).

Tabla 4
Tipos de Bacterias y sus Funciones.

Bacteria	Función
Achromobacter, Pseudomonas, Flavobacterium, y Alcaligenes	Están encargadas de degradar la MO del agua residual
Nitrosomas y Nitrobacter	Están encargadas de la nitrificación
Fusarium, Penicillium, Mucor, Sporichium y Geotrichum	Están encargadas de la estabilización de los residuos a pH bajos, pero si no existe un control de crecimiento en estas bacterias podrían obstaculizar el paso de agua
Chlorella, Ullothrix, Phormidium	Están presentes donde da la luz del sol directamente y aportan más oxígeno en el sistema, mientras haya luz solar.
	Al ser depredadores estas ayudan a controlar

Opercularia, Vorticella y Epistylis	el crecimiento microbiano
Insectos, gusanos y lombrices	Depredador poblacional bacteriano, en grandes cantidades estas representan complicaciones en el funcionamiento.

Adaptado de García et al., 2017.

2.8 Biopelícula

Biopelícula o Biofilm, es una asociación sésil dinámica de microorganismo, que se caracteriza por células que se encuentran unidas a un sustrato e interfaz, dentro de una matriz extracelular que está formada de sustancias polimerizadas que son producidas por ellas mismas (Romeo, 2008).

2.8.1 Características de la Biopelícula

Las características físicas y químicas de la biopelícula, son las sustancias plomerías extracelulares (SPE) las mismas que son secretadas por los microorganismos que componen esta estructura visco elástica que en su mayoría es de carácter anicónica, la masa de la biopelícula en el tipo de reactor que se emplea da como resultado la función, la densidad y el espesor de la misma (Romeo, 2008).

La eliminación del sustrato es una característica de la biopelícula ya que, en un medio heterogéneo, esta es resultante de la interacción entre: la tasa intrínseca de la reacción y la tasa de transporte.

Característica eco fisiológica, son aquellas en las que se relaciona la composición de microorganismos que se encuentran presentes en el biofilm e interactúan entre sí, dando lugar a micro hábitats, en los cuales existe procesos de intercambio genético y otras intensas interacciones por otra parte no todos los microorganismos que conforman esta comunidad son capaces de aprovechar todo tipo de sustrato (Murray & Patrick, 2009).

2.8.2 Composición Elemental de la Biopelícula

La biopelícula presenta una cantidad significativa de componentes orgánicos e inorgánicos, esto puede determinarse por el secado a 130°C por 1 hora, los sólidos volátiles y fijos representan las fracciones inorgánicas y orgánicas de la biopelícula. La fracción volátil puede representar la población microbiana en suspensión de los sólidos volátiles (López, Buitrón y García, 2017).

La relación carbono/ nitrógeno en las biopelículas, es más alto en las células microbianas. La relación puede reflejar una gran proporción de EPS o de las sales carbonatadas.

Las biopelículas que se encuentran formadas en ambientes con cloro, han presentado niveles altos de hierro y manganeso que probablemente proceden de bombas o tuberías (García et al., 2006).

2.8.3 Espesor de la Biopelícula

El espesor, es una de las características importante en el proceso de análisis de la biopelícula, al conocer esta característica se logra calcular la longitud de difusiones, resistencia por fracción, y transmisión del calor.

El espesor de la biopelícula puede variar en función de la edad de la biopelícula, y por la influencia de la diversificación de los microorganismos presentes (Romeo, 2008).

2.8.4 Fases de Crecimiento de la Biopelícula

Una superficie y el contacto de un fluido con alto contenido de sustancias nutritivas, y las condiciones adecuadas, permiten el desarrollo de la biopelícula. El crecimiento de la biopelícula, se desarrolla en seis fases:

a. Fase Latente (Inducción o Retardo)

Esta fase corresponde al inicio del fenómeno y depende de varios factores. La adherencia inicial, que puede dividirse en dos etapas: la primera una fase pasiva, en la que los compuestos orgánicos son adsorbidos, y la segunda la fase activa que corresponde a la adherencia de las bacterias. Otro factor es la excreción de ex polímeros donde las estructuras superficiales de los microorganismos se conectan con los aspectos biológicos (Romeo, 2008).

El tiempo de duración de esta fase, depende de los factores ligados a la naturaleza del soporte, esto quiere decir la naturaleza del sustrato, relación espacio-tiempo, concentración del medio y la carga orgánica superficial empleada (García et al., 2006).

Esta fase presenta un difícil control, pero con un microscopio electrónico, se puede observar las implantaciones de micro colonias después de un trascurrido tiempo.

b. Fase dinámica (crecimiento acelerado)

Esta fase es de crecimiento acelerado por la gran velocidad y las características del reactor aerobio, ya que presenta una variación decreciente en las concentraciones tanto de carbono y oxígeno disuelto, con la presencia de acumulación de biomasa adherida del resultado de crecimiento de las colonias en número y masa.

En esta fase al final, la superficie de soporte se presenta totalmente recubierta por una fina y relativamente uniforme película que presenta un espesor de 50 a 100 μm .

La concentración del sustrato por lo general tiende a un valor límite, el cual depende de la concentración del afluente. En esta fase los potenciales

biológicos que se encuentran adheridos tienden a un máximo, aunque el espesor de la película aumente, es parte del funcionamiento en un régimen estacionario en la fase líquida y en el régimen transitorio con respecto a la biopelícula (Prescott et al., 1999).

c. Fase de Crecimiento (Lineal)

En esta fase la tasa de acumulación es constante, donde la concentración es mínima, un sustrato constante y la demanda de oxígeno es máxima. Esto quiere decir que dichas cosas mencionadas representan el estado estacionario que funcionan en el estado líquido, con una cantidad de biomasa activa adherida. Por lo tanto, las masas se igualan (masa activa = masa máxima), y no existe una acumulación adicional de las masas activas en el medio.

d. Fase de aceleración (Tasa decreciente).

En esta fase hay una transición entre la acumulación de la película a una tasa constante, con lo cual hay una estabilización entre el valor máximo de espesor y masa. Esta fase presenta una disminución de biopelícula en el medio, por los esfuerzos hidrodinámicos que ejerce el líquido en la biopelícula.

e. Fase de Estabilización (meseta).

En esta fase se alcanzan los valores máximos tanto de la masa y del espesor de la biopelícula, el régimen es estacionario y depende de varios factores como: la concentración de sustrato y los esfuerzos hidrodinámicos (Prescott et al., 1999).

f. Fase de Separación del Soporte (Desprendimiento de la Biopelícula)

En esta fase se establecen dos estados estacionarios donde: el primer estado está relacionado con el líquido y su alcance final en la fase de crecimiento

dinámico. Con una biopelícula delgada, el otro estado con respecto a la biopelícula con un espesor mayor al anterior (Romeo, 2008)

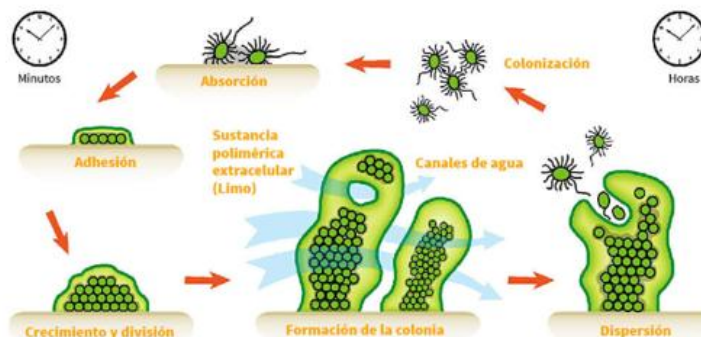


Figura 5 Fases de Crecimiento de la Biopelícula.

Tomado de Álvarez, 2006.

2.8.5 Estructura Bacteriana

Las Estructuras constantes en una célula es la pared celular, membrana celular, ribosomas, y material genético. Mientras que las estructuras variables son aquellas que existen en algunas bacterias, pero no necesariamente en todas, el mismo grupo bacteriano o misma cepa puede presentar o carecer de ellas esto depende del ambiente en donde se desarrollen y no son necesarias para vida y supervivencia de la misma, estas pueden ser flagelos, fimbrias o pilis, capsula y esporos (García et al., 2006).

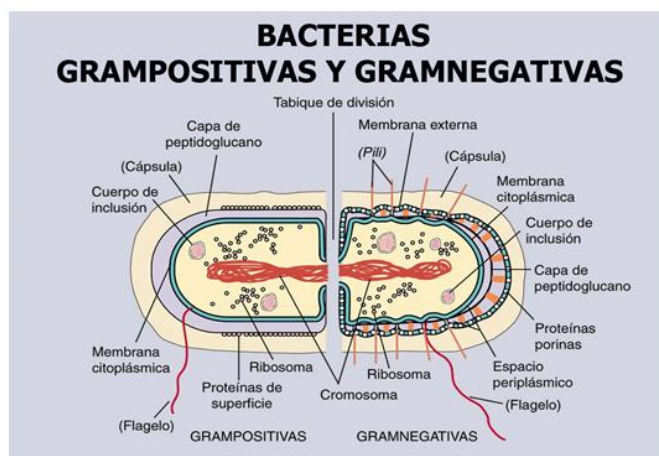


Figura 6 Estructura de las Bacterias Gram Positivas y Gram Negativas.

Tomado de Álvarez, 2006.

2.8.6 Estructura de la Pared Celular de las Bacterias Gram Positivas.

La gruesa capa de peptidoglicano de la cual se encuentra constituida las bacterias Gram positivas es la determinante para que retengan el cristal violeta de la técnica de coloración de Gram. La superficie externa de la pared de las bacterias esta generalmente recubierta de proteínas lo cual permite clasificarlas con mayor facilidad (Tortora et al., 2007).

2.8.7 Estructura de la Pared Celular de las Bacterias Gram Negativas.

La estructura de la su pared se encuentra constituida por tres zonas; la membrana plasmática, espacio periplasmático constituido de peptidoglicano, y una membrana externa. La membrana externa es exclusiva para bacterias Gram negativas, se encuentra formada por una bicapa de lípidos y sirve como una envoltura semipermeable que permite la entra de sustancias monosacáridos, también previene la perdida de constituyentes como enzimas periplasmático. (Tortora et al., 2007).

2.9 Métodos de Caracterización de la Biomasa

2.9.1 Tinción de Gram

La coloración de Gram es uno de los métodos más usados en la bacteriología, esta coloración diferenciada, sirve para clasificar a las bacterias según su respuesta, en Gram positivas (color azul violeta) y Gram negativas (rosado o rojo), debido a las diferencias en sus envolturas celulares.

- Fundamento De La Coloración De Gram

Se entiende que la diferencia entre bacterias gramnegativas y grampositivas se debe a su naturaleza física en las paredes celulares. El péptido glicano no se tiñe por sí mismo, sino que actúa como una barrera protectora para evitar la

salida de cristal violeta. Durante el proceso en un principio se tiñen las bacterias con cristal violeta y luego se tratan con yoduro, para favorecer la retención de colorante. En la decoloración con etanol, el alcohol contra los poros de la pared más gruesa péptido glicano reteniendo el colorante yoduro, dando como resultado el color violeta. Por el contrario, en las bacterias gramnegativas al poseer una capa más fina con menos enlaces y poros de mayor tamaño, esto permite que el alcohol elimine con facilidad al complejo cristal violeta yoduro (Tortora et al., 2007).

2.9.2 Método de Recuento en Placa

El recuento de colonias en placa es uno de los más utilizados en los estudios de cuantificación de bacterias, permitiendo determinar el tamaño de la población bacteriana de una muestra mediante el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC).

- Fundamento del recuento de colonias en placa.

El recuento de microorganismos se basa en que cada uno de los organismos que componen la muestra sembrada, se desarrollaran en una colonia visible. Pero debido a que la muestra no es totalmente homogénea o totalmente pura en su composición microbiológica esta puede presentar errores en el conteo, ya que es posible que muchas bacterias presentes en la muestra no se desarrollen o expresen en la placa, debido a parámetros tales como la temperatura, PH, Tiempo, medio de cultivo, entre otros. A pesar de ser uno de los métodos más utilizados, no está exento de cometer errores (Tortora et al., 2007).

2.9.3 Cuantificación de Biomasa

La cuantificación de la biomasa cuantifica los constituyentes de la célula bacteriana y es utilizada como base para la medida de una actividad

metabólica, constituyente metabólico o químico, los métodos más utilizados más confiables son:

- a. **Peso húmedo:** Se obtiene a partir del peso de una muestra en suspensión que ha sido sometida a un proceso de filtración o centrifugación, por lo cual permite la separación de sus células.
- b. **Peso seco:** Se obtiene luego someter cierta cantidad de biomasa presente en una muestra a un proceso de deshidratación o secado, estas pueden ser sólidos en suspensión o sólidos volátiles y se expresa en términos de peso seco por unidad de volumen.
- c. **Turbidimetría:** Es aquella que cuantifica la disminución en la transmisión de luz debido a las partículas que se encuentran en suspensión y obstaculizan el paso libre de la misma, a su vez las muestras diluidas de varios tipos de bacterias, independientemente de su tamaño celular, tienen la misma absorbancia (densidad óptica) por unidad de concentración en peso seco (Prescott et al., 1999). Esto quiere decir que, en soluciones diluidas la absorbancia es directamente proporcional al peso seco, independientemente de su composición microbiológica o el tamaño de sus células (Tortora et al., 2007).

3. CAPITULO III. METODOLOGÍA

3.1 Diseño de Investigación

Dado que el objetivo de estudio fue realizar la caracterización inicial de la biopelícula formada en el filtro percolador de la planta de tratamiento de la Universidad de las Américas, se recurrió a un diseño no experimental – transversal. Se realizó una investigación de tipo exploratoria y posteriormente de tipo descriptivo, para conocer la comunidad biológica que se encontraba en el filtro percolador y su influencia sobre el funcionamiento de la planta.

Descripción de la PTAR UDLA: La presente investigación tuvo lugar en la PTAR UDLAPARK, ubicada en la vía Nayon, Quito 170124. En las coordenadas (latitud 0°9'43.323631"S; longitud 78°27'26.994245"W; altitud 2830 msnm) (véase Figura 7); La planta de tratamiento de la Universidad de las Américas tiene un caudal de diseño de 240 m³/ día, pero en la actualidad se encuentra trabajando sobre los 70 m³/ día, la estructura cuenta con 1 cribado, 2 homogeneizadores, 1 reactor biológico, 2 sedimentadores secundarios, un proceso de desinfección ultra violeta y una piscina de espesamiento de lodos (véase figura 8 y 9). El efluente tratado es descargado al río San Pedro, mientras que los lodos resultantes de los procesos biológicos sirven como abono para las actividades de jardinería realizadas por la institución.



Figura 7. Ubicación Planta de Tratamiento de Aguas Residuales UDLAPARK.
Adaptado de Google Earth, S.f.,2019

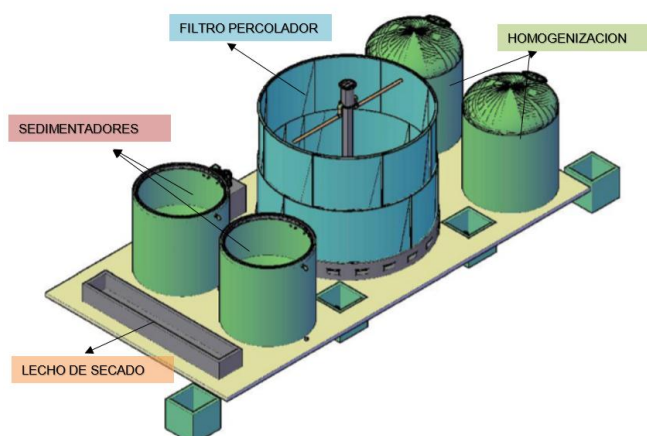


Figura 8 Diseño en AutoCAD -Distribución de la PTAR UDLAPARK
Tomado de AQUAGROUP, 2014.

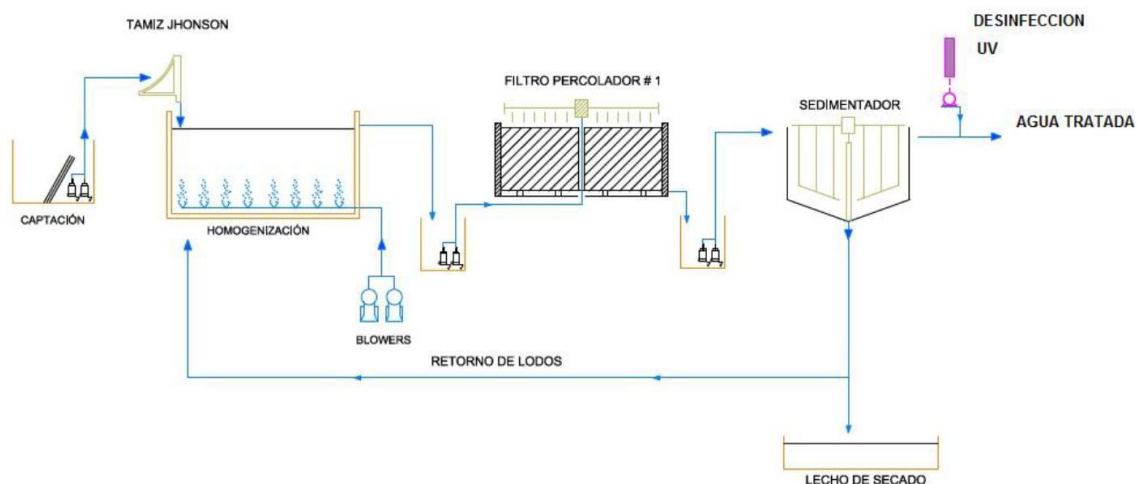


Figura 9. Diagrama Estructural de la PTAR UDLAPARK
Tomado de AQUAGROUP, 2014.

3.2 Desarrollo Experimental

El desarrollo experimental se llevó a cabo en el filtro percolador aerobio de tipo Biotorre, con un volumen total de 100m^3 , 4 m de altura y 5,5 m de diámetro. En el cual se realizaron cortes a diferentes alturas de la misma (superior, medio e inferior), para la toma de muestras; la recolección de las muestras se dividió en 2 etapas:

a. Primera Etapa

Se realizó la caracterización de la Biopelícula Antigua (BA) preexistente en los biopacks del filtro percolador, mediante la recolección de datos de peso seco / peso húmedo y la densidad óptica (diseño transversal); se recolectaron 3 biopacks de la parte superior, media e inferior (respectivamente), para la obtención de la muestra y posterior ponderación.

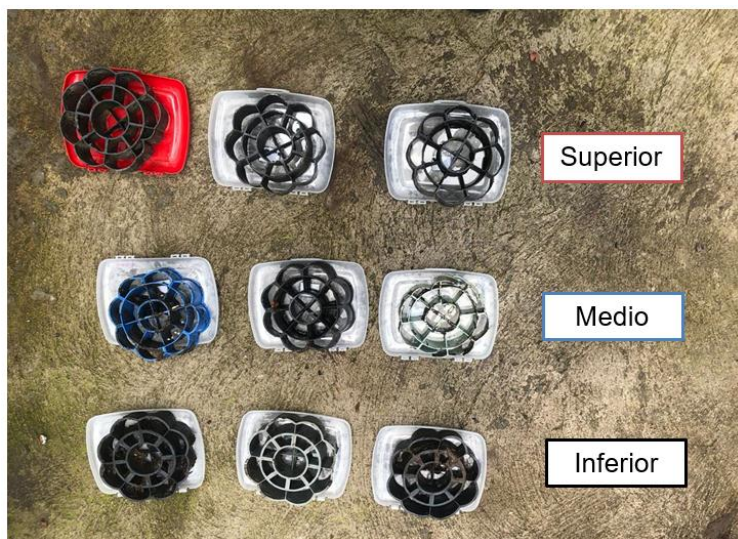


Figura 10. Recolección de muestras de los diferentes estratos.

b. Segunda Etapa

Se realizó la caracterización microbiológica de la biopelícula formada en las láminas de polipropileno que fueron introducidas previamente en el filtro percolador; mediante la extracción de las muestras en los periodos establecidos de 10, 20 y 30 días respectivamente, mediante un diseño transversal.



Figura 11. Malla de muestreo con láminas de polipropileno de alta densidad para cada estrato.



Figura 12. Ingreso de Malla de Muestreo en el Estrato Inferior.

3.3 Población

- a. Población De La Caracterización De La Biopelícula Antigua (Ba) Y Densidad Óptica.

La población estudiada estuvo conformada por 50.000 rosetas que se encontraban dentro del filtro percolador de la UDLA en el periodo agosto - febrero (2019- 2020)

- b. Población de la Caracterización de la Cinética Microbiana

La población estudiada estuvo conformada por 12 láminas polipropileno (mismo material de las rosetas pre-existentes), estas fueron colocadas dentro del filtro percolador de la UDLA y distribuidas en los 3 estratos (superior, medio e inferior), en un tiempo de 30 días durante el periodo de clases agosto - febrero 2019-2020.

3.4 MUESTRA Y MUESTREO

Se utilizó un muestreo no probabilístico, donde se escogieron 3 biopacks de cada altura para la determinación de peso seco, peso húmedo y densidad óptica.

a. Metodología De Muestreo para Biopelícula Antigua (BA).

- Peso Húmedo

Se utilizó un biopack, sobre el cual se delimitó un área de 4 cm² y se realizó un raspado de la biopelícula de dicha área con ayuda de una espátula quirúrgica, se enjuagó con 10 ml de agua destilada dentro de un vaso de precipitación de 100 ml. Previamente se pesó un papel filtro (tarar), el mismo que fue utilizado en el equipo de filtración al vacío y por el cual se filtró la muestra contenida en el vaso de precipitación (agua + biopelícula). Se llevó a la balanza el papel filtro resultante de la filtración al vacío (biopelícula húmeda + papel filtro), se pesó y se procedió a realizar los cálculos. Se repitió este procedimiento para cada uno de los biopacks restantes, obtenidos de las diferentes alturas (superior, medio e inferior), véase Figura 10.

- Peso Seco

Tras haber realizado la filtración al vacío para la determinación del peso húmedo, el papel filtro resultante fue llevado a la estufa por 6 horas a una temperatura de 105 °C (Figura 13), posteriormente se llevó al desecador por 10 min, para luego con ayuda de la balanza analítica, se obtuvo el peso de la biopelícula seca. Se repitió este procedimiento para cada uno de los papeles filtro restantes, obtenidos de las diferentes alturas (superior, medio e inferior).



Figura 13. Ingreso de las muestras a la estufa tras la obtención del peso húmedo.

- Densidad Óptica

Para la obtención de la densidad óptica se utilizó un biopack en el cual se delimitó un área de 4 cm^2 y se realizó un raspado de la biopelícula de dicha área con ayuda de una espátula quirúrgica, se enjuagó con 10 ml de agua destilada en un vaso de precipitación de 50 ml, luego esta muestra fue vertida en un tubo de ensayo y llevada al espectrofotómetro UV/VIS NANCOLOR, marca Macherey-Nagel y medida a 550nm en el método de nefelometría. Se repitió este procedimiento para cada uno de los biopacks restantes, correspondientes a cada una de las alturas (superior, medio e inferior).

b. Muestreo Para Cinética Microbiana

Se utilizó un muestreo probabilístico, donde se removió con ayuda de un bisturí quirúrgico, 3 de las 4 láminas colocadas para cada periodo de tiempo (4 láminas – 10 días; 4 láminas - 20 días; 4 láminas - 30 días) respectivamente, que se encontraban colocadas en conjunto sobre una malla metálica a diferentes alturas (superior, medio e inferior), se introdujo cada una de las láminas en vasos de 50 ml cada una; posteriormente con ayuda de una

espátula y pinzas quirúrgicas se realizó una limpieza de la biopelícula formada en cada una de las láminas.

Tras obtener la muestra de cada una de estas, se procedió a realizar **2 técnicas diferentes para la caracterización (conteo de UFC; tinción de Gram) y conteo e identificación de microorganismos mediante cámara de Neubauer** (Véase Figura 14). Se repitió este procedimiento para cada una de las muestras.

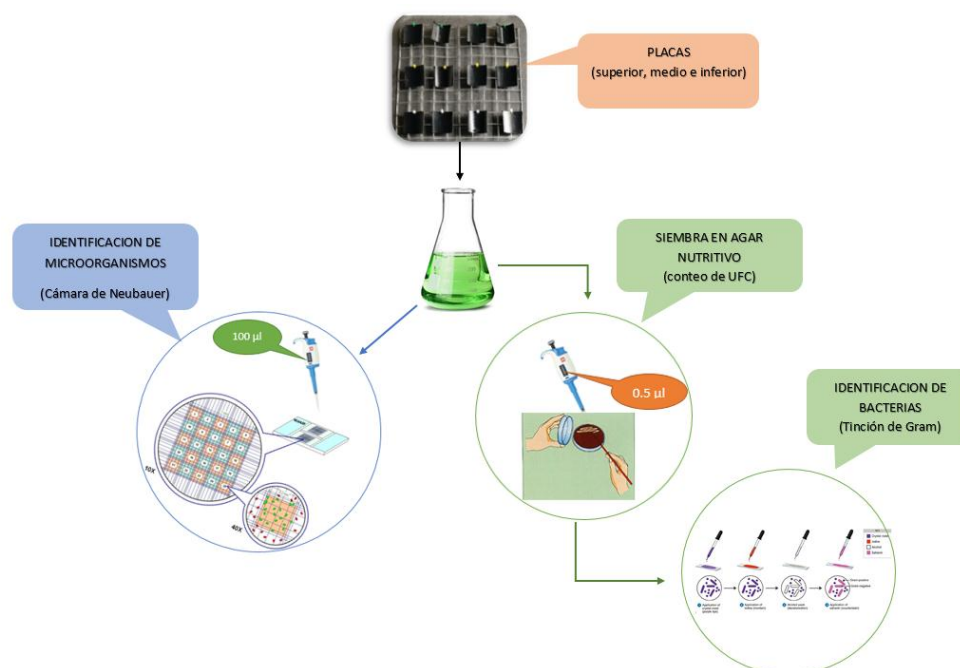


Figura 14. Representación gráfica de la metodología de muestreo para Cinética microbiana.

- Conteo de UFC

Primera caracterización para conteo de UFC, con ayuda de una micro pipeta se tomaron 0.5 µl de la muestra de cada una de las láminas y se realizó una siembra en cajas Petri previamente preparadas con agar nutritivo marca Difco, para cada una. Se llevó a la incubadora una temperatura de 21°C por 48 h, luego de haber transcurrido este tiempo, mediante la metodología estandarizada se procedió a realizar el conteo de UFC con ayuda del contador de colonias.

- Tinción de Gram

Se llevó a cabo la coloración de Gram de método estándar (Tortora et al., 2007), con el fin de identificar el tipo de bacterias presentes en la muestra, se tomó una muestra con ayuda del asa microbiológica, y se colocó sobre una porta objetos esparciendo la muestra con ayuda de una gota de agua destilada, luego se fijó con calor y se procedió a realizar la coloración en 4 pasos.

Primero: Se colocó cristal violeta o violeta de genciana durante 60 segundos, luego se enjuago con agua destilada.

Segundo: Posteriormente se colocó yodo durante 15 segundos y luego se enjuago con etanol y cetona en relación 1:1.

Tercero: Luego se colocó safranina y se dejó actuar durante 45 segundos y se enjuago con agua destilada.

Cuarto: Se realizó un secado mediante el flameo de la muestra y luego se llevó al microscopio para la identificación.

Se realizó este procedimiento para cada una de las muestras.

- Identificación Microbiológica

La identificación de microorganismos se realizó con ayuda de las cámaras de Neubauer de marca BOECO Germany (profundidad 1/10mm) y Marienfeld (profundidad 0.100mm y 0.0025 mm²), se caracterizó y se llevó a cabo el recuento de microorganismos presentes en una muestra de 100 µl, se repitió este procedimiento para cada una de las muestras.

4. CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1 Datos Preliminares.

Los datos preliminares fueron recolectados en la entrada y salida del filtro percolador, estos fueron analizados en el laboratorio mediante una caracterización físico química del agua residual mediante metodología estándar (APHA ,1998), los datos iniciales del agua muestreada se aprecian en la Tabla 3.

Tabla 5

Caracterización Físico-Química del Agua Residual del Filtro Percolador.

Parámetro	Entrada	Salida.
pH	8,5	7,9
Conductividad (uS)	2143	1551
DQO 600 (mg/l)	500	147
Nitrógeno total 220 (mg/l)	216	139
nitrito 2 (mg/l)	140	0,06
NO ₂ -N	1,07	0,06
nitrato 50 (mg/l)	2,88	118
NO ₃ -N	1,17	32,8
Amonio 50 (mg/l)	107	150
Tenso activos Aniónicos 4 (mg/l)	7,23	1,39
Tenso activos Catiónicos 4 (mg/l)	0,58	0,7
COT 60 (mg/l)	45,9	38,8
Turbidez (NTU)	169,2	33,6

Según Metcalf y Eddy (2003) la concentración de Carbono Orgánico Total que ingresa al filtro se encuentra en el rango de concentración débil como se muestra en la figura 15.

Constituyente	Concentración, mg/l *		
	Fuerte	Media	Débil
Sólidos, totales:	1200	720	350
Disueltos totales	850	500	250
Fijos	525	300	145
Volátiles	325	200	105
Suspendidos totales	350	220	100
Fijos	75	55	20
Volátiles	275	165	80
Sólidos sedimentables, m/l	20	10	5
Demanda bioquímica de oxígeno, 5 días a 20° C (DBO ₅)	400	220	110
Carbono orgánico total (COT)	290	160	80
Demanda química de oxígeno (DQO)	1000	500	250
Nitrógeno (total como N):	85	40	20
Orgánico	35	15	8
Amoniacal	50	25	12
Nitritos	0	0	0
Nitratos	0	0	0
Fósforo (total como P)	15	8	4
Orgánico	5	3	1
Inorgánico	10	5	3
Cloruros	100	50	30
Alcalinidad (como CaCO ₃)	200	100	50
Grasas	150	100	50

* A menos que se especifique otra.

Figura 15. Análisis típico de aguas residuales municipales.

Tomado de Metcalf y Eddy, 2003.

4.2 Resultados Obtenidos de la Caracterización de la Biopelícula Antigua.

a. Peso Húmedo

En la figura 16 se muestran los datos resultantes del Peso Húmedo promedio de las muestras tomadas en los diferentes estratos (Superior, Medio e Inferior),

las cuales se encuentran expresadas en Kg de Peso húmedo; mientras que, la estimación de la biopelícula húmeda Total en el filtro percolador se encuentran en la Figura 17.

b. Peso Seco

En la figura 16 se observa los datos resultantes del Peso Seco promedio de las muestras tomadas en los diferentes estratos (Superior, Medio e Inferior), las cuales se encuentran expresadas en Kg de Peso Seco; mientras que, la estimación de la biopelícula Seca Total en el filtro percolador se encuentran en la Figura 17.

c. Densidad Óptica

En la Figura 16 se expresan los valores promedio obtenidos luego de realizar el análisis de Absorbancia de las 3 muestras en los diferentes estratos (superior, medio e inferior), en dicha figura se puede observar un análisis multi-parámetro, en el cual los rangos de absorbancia se encuentran en la parte derecha, los estratos definidos en la parte inferior y el peso en kg en la parte izquierda.

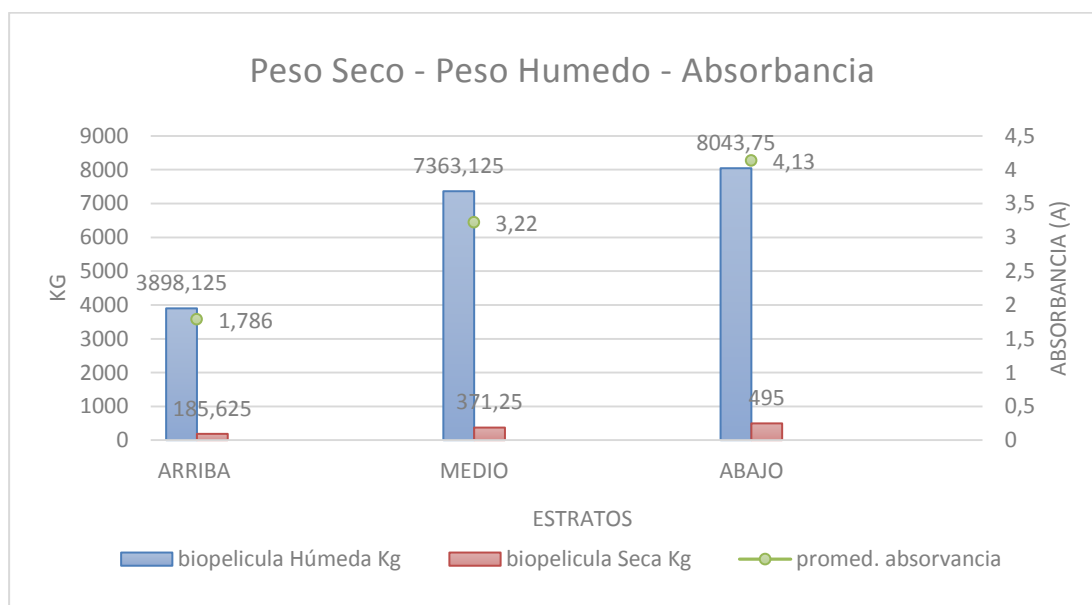


Figura 16. Valores Totales de Peso Seco - Peso Húmedo – Absorbancia.

4.3 Análisis de Resultados de la Biopelícula Antigua.

a. *Análisis Peso Húmedo*

Se pudo observar que la variación de pesos de biopelícula entre niveles (superior, medio e inferior) era de 3465 kg entre la parte **superior vs la parte media**; 680.63 kg entre la parte **media vs la parte inferior**; 4145.63 kg entre la parte **superior vs la parte inferior**. La biopelícula húmeda total dentro de la Biotorre es de 19305 kg.

b. *Análisis Peso Seco*

Se pudo observar que la variación de pesos de biopelícula entre niveles (superior, medio e inferior) era de 185.63 kg entre la parte **superior vs la parte media**; 123.75 kg entre la parte **media vs la parte inferior**; 309.38 kg entre la parte **superior vs la parte inferior**. La biopelícula total dentro de la Biotorre es de 1051.88 kg.

c. Análisis de La Biopelícula Global del Filtro Percolador.

Se pudo observar que la retención de agua del estrato medio, supera con aproximadamente el doble al estrato de la parte superior, esto debido a la mayor cantidad de biopelícula y lodo presente en la parte media del filtro percolador; este estrato retiene 3279,38 kg de agua más en su estructura, en comparación de la parte superior, mientras que en el estrato **inferior**, únicamente supera con 556,87 kg de agua más que la parte media, esto debido a que la biopelícula joven se encuentra recubriendo de forma uniforme a los biopacks y posee mejor aireación, lo cual le permite el desarrollo adecuado de la biopelícula; mientras que la parte media e inferior estas se encuentran obstruidas por una mayor cantidad de biopelícula antigua y lodo, además el fango se encuentra obstruyendo las áreas específicas e impidiendo la formación de biopelícula nueva , también se puede observar que en varios

biopacks existe la presencia de arácnidos y raíces, esto se observa con claridad en la Figura 17 .



Figura 17. Biopaks recolectados del Estrato Medio e Inferior.

En la Figura 17 se representa la cantidad de agua retenida en la estructura del filtro percolador tomando en cuenta la diferencia de peso húmedo y el peso seco; al mismo tiempo, se evidencia cual es la retención de agua total en el biorreactor.

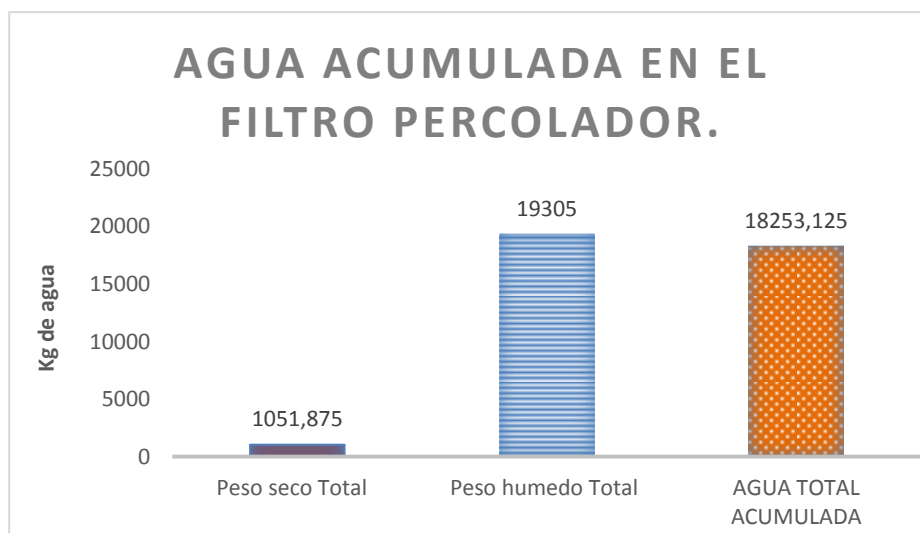


Figura 15. Relación Peso Húmedo vs Peso seco Total.

4.4 Resultados de la Cinética Microbiana

a. Conteo UFC

La obtención del número de unidades formadoras de colonias (UFC), se obtuvo mediante la metodología descrita anteriormente en el apartado (**Conteo De UFC**), para la cual se dividió a la caja Petri en 4 secciones para facilitar el conteo de las UFC (Arana et al., 2012). El dato obtenido se evidencia en la Figura 18, en la cual se puede observar, la relación entre el tiempo expresado en días (parte inferior) y el número de UFC contenidas en 0.0005 ml; a 21°C durante un periodo de incubación de 48h, estos datos fueron expresados por estratos, según corresponde: azul (Arriba), rojo (medio), verde (inferior), respectivamente.

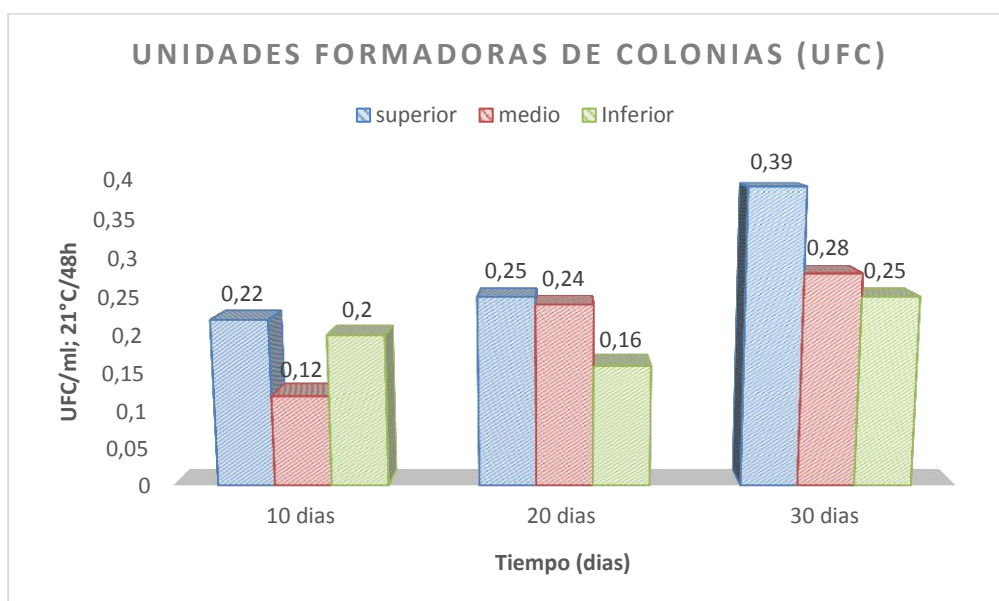


Figura 16. Unidades formadoras de colonias por estratos.

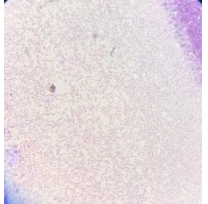
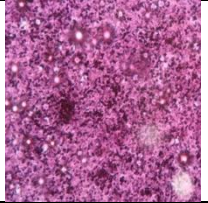
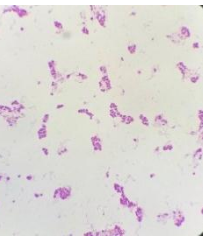
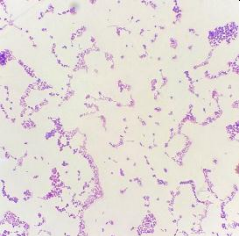
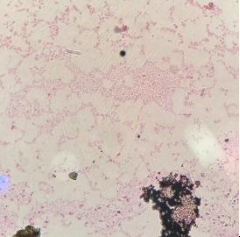
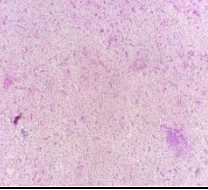
b. Tinción de Gram

En la tabla 6 se observan los resultados obtenidos de la tinción diferencial, luego de haber realizado la siembra en agar nutritivo y el conteo de colonias de los microorganismos pioneros en las láminas de polipropileno, de los periodos de 10, 20 y 30 días en los diferentes estratos (superior, medio e inferior)

respectivamente, mediante la metodología previamente establecida.

Tabla 6

Tabla de resultados obtenidos en la Tinción de Gram.

ALTURA	DIAS	Vista En Microscopio Lente 100X .	Identificación
ARRIBA	10		Cocobacilos Gram Positivo
	20		Bacilo Cocos Gram Negativo
	30		Estafilococos -Gram Positivo Diplobacilos -Gram Negativo.
MEDIO	10		Estafilococos - Gram Positivo
	20		Estafilococos - Gram Negativo
	30		Cocos- Gram Negativo Bacilos -Gram Positivos

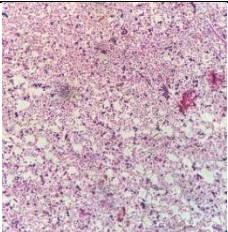
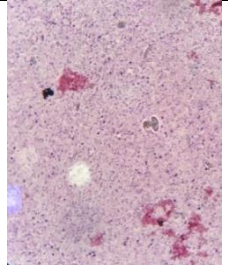
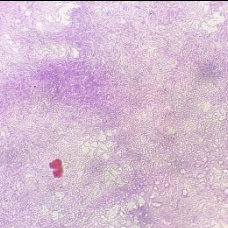
ABAJO	10		Estafilococos – Gram Negativo Cocobacilos – Gram Positive
	20		Cocos – Gram Negativo Bacilos – Gram Positive
	30		Estreptobacilo – Gram Positive ❖

Tabla 7

Ponderación de microorganismos Gram Positivos - Gram Negativos.

		Tinción de Gram	
		Gram Positiva	Gram Negativo
superior	1	✓	❖
	2	❖	✓
	3	✓	✓
Medio	4	✓	❖
	5	❖	✓
	6	✓	✓
Inferior	7	✓	✓
	8	✓	✓
	9	✓	❖
		7\9	6\9

En la tabla 5. Se puede observar que las bacterias Gram positivas son las que se encuentran en mayor proporción en el filtro percolador.

c. Identificación Microbiológica

Se analizó una muestra de 100 μl con ayuda de la cámara de Neubauer, utilizando la metodología de colonias descrita en el apartado (**Identificación microbiológica**). Se repitió el proceso para cada uno de las muestras, tomando en cuenta únicamente los campos ópticos de 1mm^2 (4 campos) de la caja de Neubauer. Los datos obtenidos se pueden apreciar en la figura 19.

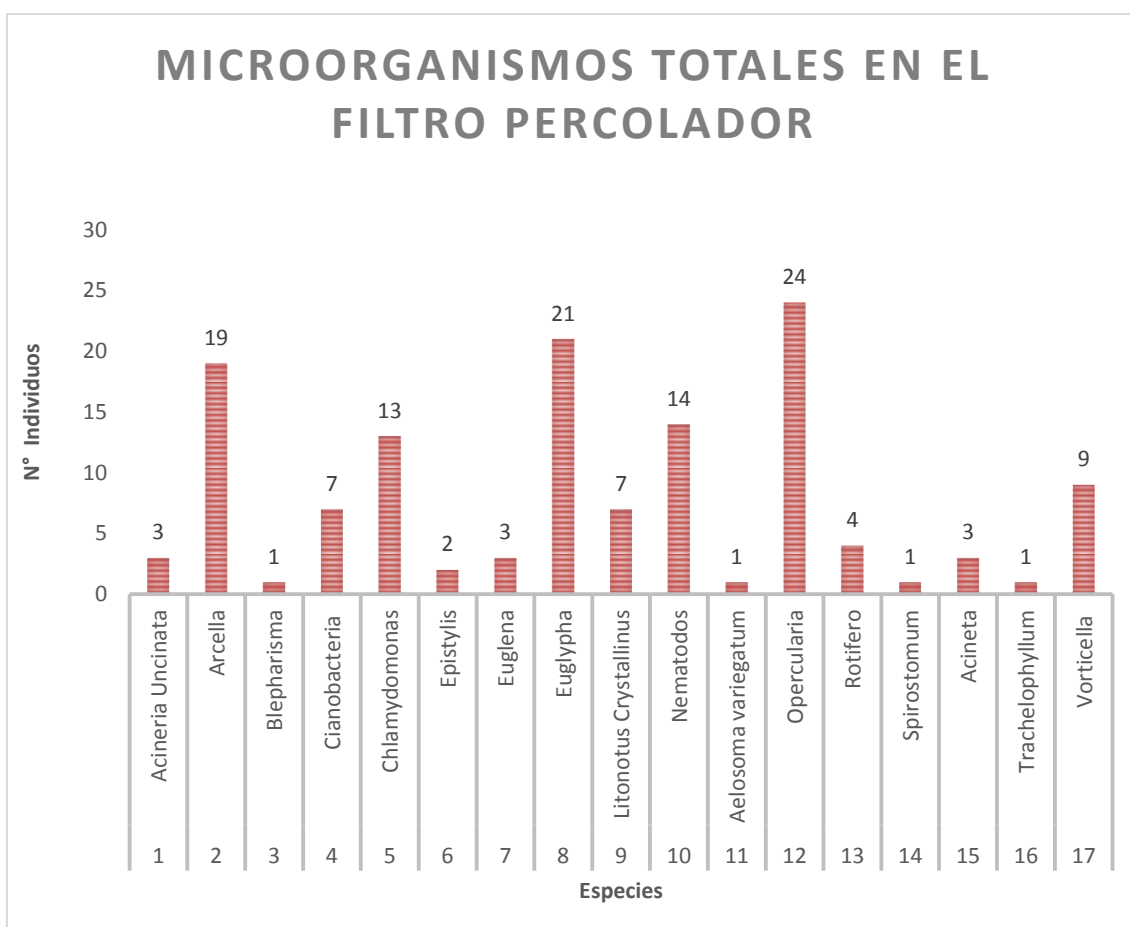


Figura 17. Microorganismos Totales en el Filtro Percolador.

La Tabla 8 muestra el crecimiento de microorganismos en los tres estratos (superior, medio e inferior), en el periodo de 10 días. Se observa que la especie más abundantes es la que corresponde a la especie 2 con mayor número de individuos totales en el tanque.

Tabla 8

Especies Totales en el Tanque en el Periodo de 10 Días

Especies totales en el tanque a los 10 días						
N° Especies	Especies	N° Individuos	N° Individuos conteo en placa	N° Individuos/ml	N° de Individuos / Biopak (Indiv/m ²)	N° de Indiv/ TOTAL
1	Arcella	6	216	64800	2025000	1.00E+11
2	Opercularia	14	504	151200	4725000	2.34E+11
3	Chlamydomonas	5	180	54000	1687500	8.35E+10
4	Euglypha	4	144	43200	1350000	6.68E+10
6	Nematodos	7	252	75600	2362500	1.17E+11



Figura 18. Número de Individuos por Especies en el Periodo de 10 días en todo el Filtro Percolador.

La Tabla 9 muestra el crecimiento de microorganismos en los tres estratos (superior, medio e inferior), en el periodo de 20 días. Se observa que la especie más abundante es la especie 4 con mayor número de individuos totales en el tanque.

Tabla 9

Especies Totales en el Tanque en el Periodo De 20 Días.

Especies totales en el tanque a los 20 días						
N° Especies	Especies	N° Individuos	N° Individuos conteo en placa	N° Individuos /ml	N° de Individuos/ Biopak (Indiv/m ²)	N° de Indiv/ TOTAL
1	Cianobacteria	6	216	64800	2025000	1.00E+11
2	Opercularia	9	324	97200	3037500	1.50E+11
3	Chlamydomonas	8	288	86400	2700000	1.34E+11
4	Euglypha	14	504	151200	4725000	2.34E+11
5	Nematodos	7	252	75600	2362500	1.17E+11
6	Arcella	6	216	64800	2025000	1.00E+11
7	Euglena	1	36	10800	337500	1.67E+10
8	Epistylis	1	36	10800	337500	1.67E+10
9	Blepharisma	1	36	10800	337500	1.67E+10
10	Aelosoma Variegatum	1	36	10800	337500	1.67E+10
11	Vorticella	5	180	54000	1687500	8.35E+10

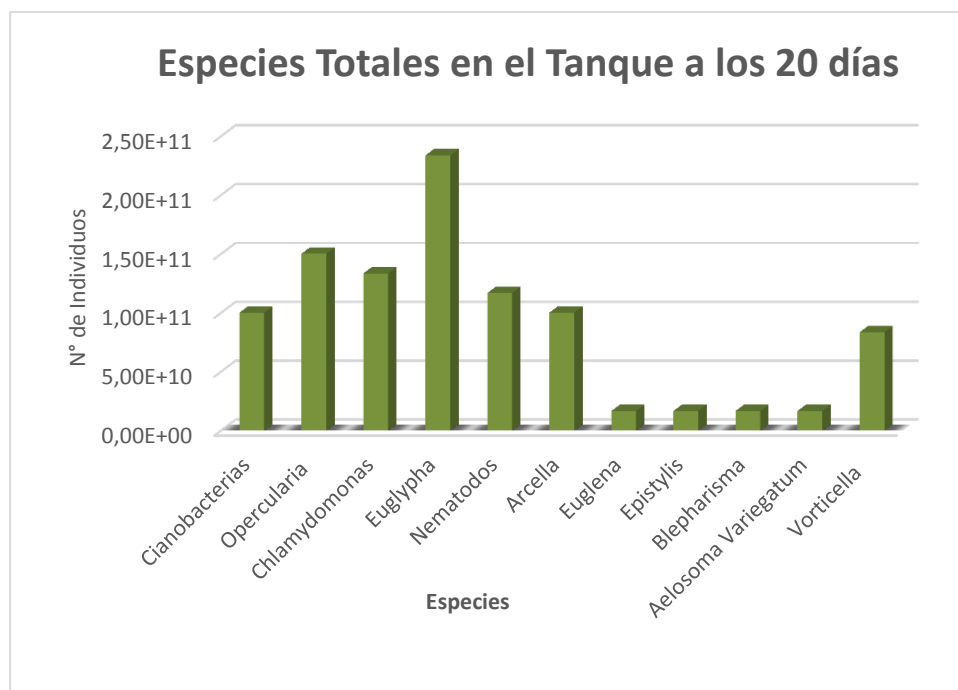


Figura 19. Número de individuos por especies en el periodo de 20 días en todo el filtro percolador.

La Tabla 10 muestra el crecimiento de microorganismos en los tres estratos (superior, medio e inferior), en el periodo de 30 días. Se observa que las especies predominantes son la 10 y 11 que cuentan con mayor número de individuos totales en el tanque.

Tabla 10

Especies Totales en el Tanque en el Periodo de 30 días.

Especies totales en el tanque a los 30 días						
Nº Especies	Especies	Nº Individuos	Nº Individuos conteo en placa	Nº Individuos /ml	Nº de Individuos / Biopak (Indiv/m ²)	Nº de Indiv/ TOTAL
1	Euglena	2	72	21600	675000	3.34E+10
2	Euglypha	3	108	32400	1012500	5.01E+10
3	Epistylis	1	36	10800	337500	1.67E+10
4	Trachelophyllum	1	36	10800	337500	1.67E+10
5	Cianobacteria	1	36	10800	337500	1.67E+10

6	Opercularia	1	36	10800	337500	1.67E+10
7	Spirustomum	1	36	10800	337500	1.67E+10
8	Acineta Uncinata	3	108	32400	1012500	5.01E+10
9	Rotifero	4	144	43200	1350000	6.68E+10
10	Litonotus Crystallinus	7	252	75600	2362500	1.17E+11
11	Arcella	7	252	75600	2362500	1.17E+11
12	Vorticella	4	144	43200	1350000	6.68E+10



Figura 20. Número de individuos por especies en el periodo de 30 días en todo el filtro percolador.

- **Análisis de Microorganismos.**

- a) Microorganismo 1 - Acineta Uncinata: Pertenece al grupo protista de los Alveolados, es de forma elongada y con una pequeña torsión del extremo anterior hacia el lado izquierdo, es reptante y se moviliza mediante cilios periorales, se alimenta de pequeños flagelados y otras bacterias. Actúan como bioindicadores de abundancia bacteriana libre y de baja calidad de depuración dentro de reactores biológicos (Vilaseca, 2001).



Figura 21. Acineria Uncinata

Tomado de Vilaseca, 2001.

- b) Microorganismo 2 – Arcella: Pertenece al grupo de Amebas Testáceas. Su forma es redondeada y de perfil circular, esta se moviliza mediante pseudópodos, su alimentación es en base a otros protozoos. Estas se comportan como bioindicadores de buenos rendimientos de depuración, buena calidad de oxigenación y de nitrificación (Vilaseca, 2001).

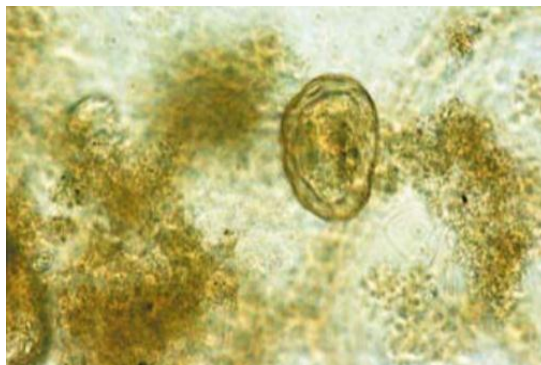


Figura 22. Arcella

Tomado de Vilaseca, 2001

- c) Microorganismo 3 - Blepharisma: Pertenece al grupo de los protistas Alveolados; su forma es ovalada y aplanada lateralmente; se desplaza mediante deslizamientos; se alimenta de pequeños flagelados y algas como también de bacterias; actúan como bioindicador de malas condiciones de oxigenación. Su presencia aporta a la coloración rojiza en la biopelícula (Vilaseca, 2001).

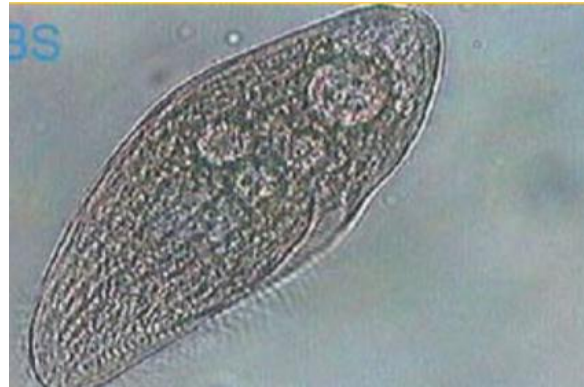


Figura 23. Blepharisma

Tomado de Vilaseca, 2001

- d) Microorganismo 4 – Cianobacteria: Pertenecen al dominio de las bacterias ya que son capaces de realizar fotosíntesis oxígeno; se las puede conocer también como algas azules, son heterótrofas o de metabolismo mixto. Son bioindicadores de buena presencia de oxígeno dentro de los reactores (Vilaseca, 2001).



Figura 24. Cianobacteria

- e) Microorganismo 5– Chlamydomonas: Pertenece al género de las algas unicelulares ya que poseen clorofila, estas poseen flagelos anteriores para su movilidad, poseen capacidades de crecimiento en bajas cantidades de agua, actúan como bioindicadores de buena calidad de oxígeno y luz (Vilaseca, 2001).



Figura 25. *Chlamydomonas*

Tomado de Vilaseca, 2001

- f) Microorganismo 6 – Epistylis: Pertenecen al grupo de los protistas alveolados, su estructura corporal se asemeja a un pedúnculo ramificado y no posee movimiento, por lo cual se lo califica como un organismo sésil; su tamaño oscila entre 125- 190 μm y se alimenta de bacterias libres. Actúa como bioindicador de la buena calidad de depuración (Vilaseca, 2001).



Figura 26. *Epistylis*

Tomado de Vilaseca, 2001

- g) Microorganismo 7 – Euglena: Pertenecen al grupo de los fitoflagelados, estas células flexibles y redondeadas, se movilizan mediante un flagelo largo dependiendo su especie, su tamaño oscila aproximadamente entre

25 – 200 μm . Su alimentación puede ser autótrofa o heterótrofa dependiendo la presencia o ausencia de luz. Actúan como bioindicadores de aguas residuales muy diluidas (Vilaseca, 2001).



Figura 27. *Euglena*

Tomado de Vilaseca, 2001

- h) Microorganismo 8 – Euglypha: Pertenece al grupo de las Amebas testáceas, poseen una estructura de caparazón transparente; realizan movimiento mediante pseudópodos de tipo filópodo; su tamaño oscila entre 10 – 20 μm , es un depredador de bacterias por lo cual su alimentación es heterótrofa. Actúa como bioindicador de la baja calidad de depuración en fangos antiguos (Vilaseca, 2001).



Figura 28. *Euglypha*

Tomado de Vilaseca, 2001

- i) Microorganismo 9 – Litonotus Crystallinus: Pertenece al grupo de protistas alveolados, posee una estructura de cuerpo aplanado y

ligeramente curvado, realiza movimiento alrededor de sí mismo, su tamaño oscila entre los 80 – 170 μm ; su alimentación en base a ciliados y flagelados. Actúa como bioindicador de fangos en mal estado como floculos dispersos (Vilaseca, 2001).



Figura 29. Litonotus Crystallinus

Tomado de Vilaseca, 2001

- j) Microorganismo 10 – Nematodos: Su forma corporal es la de un gusano plano, se desplaza mediante retorcionjes, su tamaño oscila entre 0.5 – 2 mm, estos pueden representar una problemática ya que actúan como predadores de protozoos. Actúan como bioindicadores de elevadas edades de fangos (Vilaseca, 2001).



Figura 30. Nematodos

- k) Microorganismo 11 – Aelosoma Variegatum: Pertenece al grupo de los anélidos su forma es vermiforme estos se transportan mediante retorcionjes a través de los floculos, su tamaño oscila entre 1.5 – 4 mm,

se alimenta de algas y algunas bacterias. Actúan como bioindicadores de fangos antiguos (Vilaseca, 2001).



Figura 31. Aelosoma variegatum.

Tomado de Vilaseca, 2001.

- l) Microorganismo 12 – Opercularia: Pertenece al grupo de protistas alveolados poseen un cuerpo alargado y presentan un estrechamiento en la parte superior, no poseen pilis de movimiento por lo cual los convierte en organismos sésiles; su tamaño oscila entre 40 – 120 μm , se alimentan de bacterias libres. Actúan como bioindicadores de oxigenación insuficiente en los reactores biológicos, si su presencia es excesiva se los asocia a que el tanque sufre condiciones cambiantes (Vilaseca, 2001).

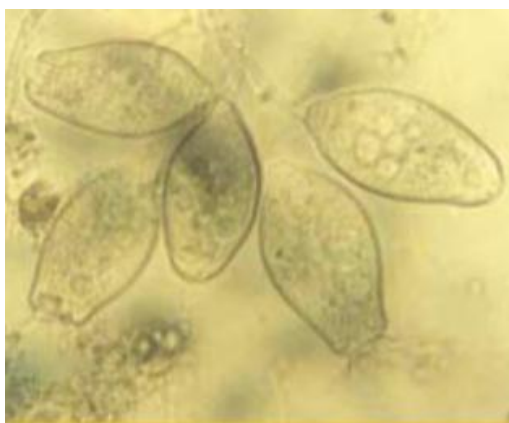


Figura 32. Opercularia

Tomado de Vilaseca, 2001.

- m) Microorganismo 13 – Rotífero: Pertenece al Phylum Rotífera, presenta una forma alargada de color pardo, su tamaño oscila entre los 250-1000

μm , su alimentación es en base detritus. Actúan como bioindicador de elevadas edades de fagos y buena calidad de agua tratada (Vilaseca, 2001).

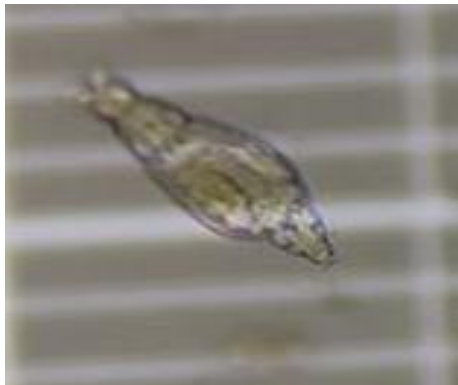


Figura 33. Rotífero.

- n) Microorganismo 14 –Spirostomum: Pertenece al grupo de los protistas alveolados, es ciliado, su estructura es de forma cilíndrica y muy aplanada, se transporta mediante movimiento uniformes, su tamaño oscila entre los 200-2000 μm ; se encuentra muy comúnmente en aguas con poca oxigenación y cargadas de materia orgánica. Actúa como bioindicador para aguas muy eutrofizadas y tolera muy poco el amonio (Vilaseca, 2001).

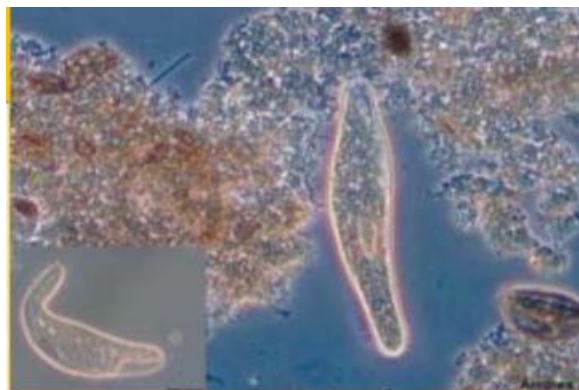


Figura 34. Spirostomum.

Tomado de Vilaseca, 2001

- o) Microorganismo 15 – Acineta: Pertenece al grupo de los protistas alveolados, presenta una forma ovalada o triangular; su tamaño oscila

entre 25 – 300 μm y su alimentación es de forma carnívora. Son indicadores de la presencia de fangos de alta edad (Vilaseca, 2001).



Figura 35. Acineta

Tomado de Vilaseca, 2001

- p) Microorganismo 16 – Trachelophyllum: Pertenece al grupo de los depredadores protozoos, presenta cilios para movilizarse, su forma es alargada de cuerpo plano y posee una pequeña trompa, su alimentación está basada en bacterias, algas u otros protozoos, tiene un tamaño de hasta 2 mm; Actúan como bioindicador de una buena calidad de agua y buena oxigenación dentro del reactor (Vilaseca, 2001).



Figura 36. Trachelophyllum.

Tomado de Vilaseca, 2001

- q) Microorganismo 17 – Vorticella: Pertenece al grupo protista alveolado, su estructura es en forma de pedúnculo fino anclado a un sustrato, es un organismo sésil que se alimenta de bacterias libres; su tamaño oscila

entre los 22- 50 μm de ancho y 35-85 μm de largo; se alimenta de bacterias libres. Actúa como bioindicador de efluentes de baja calidad con valores bajos de oxígeno disuelto (Vilaseca, 2001).



Figura 37. Vorticella

- **Análisis de Resultados de Resultados Cinética Microbiana.**

Se pudo analizar que los microorganismos colonizadores más abundantes en el filtro percolador pertenecen a la Arcella y Chlamydomonas en los primeros 10 días, estos se encuentran asociados a la buena calidad de oxigenación y nitrificación como también a las bajas cantidades de aguas, mientras que a partir de los 20 días proliferan los nematodos y Opercularia, según Vilaseca (2001), la excesiva presencia de Opercularias se encuentra asociada a que los reactores están expuestas a condiciones cambiantes.

La elevada cantidad de Euglypha, Nematodos y Opercularia actúan como bioindicadores de la situación actual de la Biotorre, ya que poseen características en común, entre ellas: su alta presencia en los sistemas de elevada edad celular (Fangos antiguos), Oxigenación insuficiente, Condiciones de carga cambiantes y depredadores de bacterias (Vilaseca, 2001). Se debe considerar también que el contenido de materia orgánica que ingresa al filtro se encuentra en el rango de concentración débil según Metcalf y Eddy (2003) por esta razón el filtro no posee concentraciones de reserva de sustrato, por lo cual existe variación en la abundancia de los microorganismos Opercularia y Vorticella como lo señala Vilaseca (2001).

Las Opercularia al ser los microorganismos más abundantes en la Biotorre, cumpliendo con su función de bioindicador, muestran con claridad que el biorreactor no cuenta con oxigenación suficiente y muestra condiciones cambiantes, esto se atribuye al periodo de estiaje al cual está sujeta la planta de tratamiento en el periodo de vacaciones, al mismo tiempo se asocia a la presencia de Chlamydomonas, mismas actúan como bioindicadores de bajas cantidades de aguas, por otra parte la abundante presencia de Euglypha se encuentra asociada a la presencia de fangos antiguos, lo cual es evidente en el estrato medio e inferior.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

El filtro percolador de la Universidad de las Américas retiene 18.25 ton de agua lo que corresponde al 18.25% del volumen total del tanque.

Los lodos se encuentran ocupando en algunos casos hasta el 45% de las áreas específicas de las rosetas, que están distribuidas en la parte media y en mayor proporción en la parte inferior, mientras que, en la parte superior, la biopelícula se encuentra distribuida de manera uniforme en el área específica de los biopacks.

La distribución de lodos en los diferentes estratos impide realizar los procesos de colonización, desarrollo y propagación de la biopelícula y consigo los respectivos procesos de depuración, por lo cual el sistema se encuentra cumpliendo parcialmente su objetivo,

El afluente se encuentra tomando caminos preferenciales dentro del reactor, impidiendo la formación de nueva biopelícula de forma uniforme, por lo cual no cumple con la eficiencia previamente establecida en su parámetro de diseño.

La débil concentración de materia orgánica que ingresa al filtro y las condiciones cambiantes al cual se encuentra sometido, influyen en la abundancia de los microorganismos Opercularia y Vorticella.

Los microorganismos colonizadores en los periodos de 10 días fue Opercularia, mientras que para los 20 días fue Euglypha, y por último en el periodo de 30 días fueron Litonotus crytallinus y Arcella, quienes fueron los más abundantes.

En base a la presencia de los microorganismos Euglypha, Nematodos y Opercularia se puede concluir que existe deficiencias en la oxigenación,

presencia de fangos viejos en el reactor y baja calidad en los procesos de depuración, y al ser depredadores representa un riesgo para la formación de la biopelícula nueva.

Más de la mitad de los microorganismos encontrados se encuentran asociados a condiciones transitorias en el filtro, ya que existe variación de concentraciones en el afluente, esto se atribuye al periodo de estiaje al cual se encuentra sometida la planta de tratamiento en el periodo de vacaciones.

5.2 Recomendaciones

Se recomienda realizar una caracterización más profunda a nivel taxonómico de la micro fauna existen dentro del filtro percolador, ya que esto permitirá aislar los microorganismos y determinar con mayor precisión aquellos que son responsables del comportamiento de la biopelícula, como también poder analizar determinar el tipo de microorganismo responsable de llevar a cabo cada proceso como: la degradación de materia orgánica, conversión de nitrógeno, entre otros.

Se recomienda también, realizar una centrifugación prolongada para la separación del agua y la biopelícula con el objetivo de separar las células vivas de las inertes, ya que el método de filtración puede presentar ciertas variaciones en los valores obtenidos de peso seco, peso húmedo y densidad óptica.

REFERENCIAS

- Álvarez, A. R. (2006). Los protozoos. Características generales y su rol como agentes patógenos. *Ciencias Veterinarias*, 8(1), 62-71.
- APHA. (1998). Standar Methods for the Examination of water and Wastewater. Edition 20. APHA/AWWA/WPCF, 2-56
- AQUAGROUP. (2014). Memoria Técnica: Planta De Tratamiento De Aguas Residuales Domesticas Grises Y Negras Por Medio De Filtro Percolador UDLAPARK -Planta Compacta en PRFV. Quito, Ecuador, 1-17.
- Arana, I., Orruño, M., & Barcina, I. (2012). Como resolver aspectos prácticos de microbiología. Recuperado el 24 de diciembre del 2019 de https://ocw.ehu.eus/pluginfile.php/1655/mod_resource/content/1/Tema_2._Metodos_basicos_de_enumeracion_de_microorganismos.pdf.
- Arden E. and Lockett W.T. (1914). Experiments on the oxidation of sewage without the aid of filters. *Jsoc Chem Ind.*, 33-523.
- Bryers, J. (2000). Biofilm: an introduction. En J. Bryers, & Wiley- Liss (ed), *Biofilm II: process analysis and application*.
- Burbano .H (1996). El medio ambiente: Tema prioritario en la sociedad actual. *agricultura tropical, Colombia*, 59-67.
- Celenza G.J. (2000). *Industrial waste treatment process engineering guide: biological processes*, Vol II, Technomic publishing. 207.
- Desarrollo de los Recursos Hídricos 2017". *Aguas residuales: El recurso desaprovechado*. París, UNESCO
- Donlan R.M. (2002). Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis*, 9, 881-90
- Espigares, M. & Pérez López, JA. (1985). Aspectos sanitarios de las aguas. Universidad de Granada. Servicio de publicaciones. Granada. Recuperado el 12 de diciembre del 2019 de http://cidta.usal.es/cursos/EDAR/modulos/Edar/unidades/LIBROS/logo/pdf/Aguas_Residuales_composicion.pdf
- Espinales G.M, Pérez. L.JA, (1985). Aspectos sanitarios del estudio de las

- aguas. Universidad de Granada. Servicio de Publicaciones. Granada.
- Fernández-Alba. R, García. P, Valiño .M, Fernández. S, García. J (2006) Tratamientos Avanzados De Aguas Residuales Industriales, Vol. II, Informe de Vigilancia Tecnológica VT MIOD. Madrid, España. Recuperado el 10 de enero de 2020 de: https://www.madrimasd.org/uploads/informacionidi/biblioteca/publicacion/doc/VT/VT2_Tratamientos_avanzados_de_aguas_residuales_industriales.pdf
- García, M. & Félix, D. (2002). EL AGUA. En el medio Ambiente en Colombia (pp.115-116): Universidad Autónoma Del Estado De Morelos. Recuperado el 20 de diciembre del 2019 de <https://www.studocu.com/en/document/universidad-autonoma-del-estado-de-morelos/quimica-ambiental/apuntes/cap4-apuntes-1/3415610/view>
- Jurado J. (2015). Secretaria Nacional de Agua. Quito, Ecuador
- López, E. (1991). Desarrollo de la biopelícula en Medio Soporte Permeable (Tesis doctoral). Universidad de Cantabria, Santander. Recuperado el 17 de enero del 2020 de <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/10600/0de2.EELtomol-1.pdf?sequence=1>
- López, M., Buitrón, G., & García, A. (2017). Tratamiento biológico de aguas residuales. Londres, Uk; IWA published.
- Phelps E. B, (1944) Stream Sanitation. John Wiley and Sons Inc., New York.
- Prescott. M, Harley. P& Klein. A., (1999). Microbiología. Mc Graw-Hill interamericana de España. 5° ed. Recuperado el 18 de diciembre del 2019 de <https://es.slideshare.net/boscanandrade/libro-lansing-prescott>
- Programa Mundial de Evaluación de los Recursos Hídricos de las Naciones Unidas (WWAP) (2017). "Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el
- Real Academia Española (RAE). (1726-2016). Definición de Afluente y Efluente. Enciclopedia de la Real academia de la lengua española [versión electrónica]. Madrid, España recuperado el 12 de diciembre del

2019 de https://dle.rae.es/afluente?m=30_2

- Revilla, A. (2000). Tecnología de la leche. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, tercera edición. Honduras, Centroamérica, 396 págs.
- Romeo. T, (2008). Biofilms Bacterianos, Springer- Verlag. Vol. 322. Berlin, Atlanta, 301.
- Scott, J.P & Ollis, D.F (1995). Integration of chemical and biological oxidation processes for water treatment: review and recommendation. Environ. Prog., (14), 89 -100
- Sierra, J., Jaime, A., y Mora, A. (2002). Monitoreo de parámetros fisicoquímicos en la cuenca del río Bogotá, 26.
- Tortora, G., Funke, B., & Case, C. (2007). Introducción a la microbiología, 9a ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Argentina.
- Vilaseca, M., (2001). Observación microscópica de fangos activados. Instituto de Investigación Textil y Cooperación Industrial. Cataluña, España. Recuperado el 5 de noviembre del 2019 de <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099/1726/TREBALL8.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Wanner, J. (1997). Microbial population dynamics in biological wastewater treatment plants. Microbial Community Analysis: the key to the design of biological wastewater treatment systems. T.E. Cloete y N.Y.O. Muyima Eds. University Press. Cambridge.
- Yépez, A. (2010). Características de las aguas residuales, 62. Recuperado el 15 de diciembre del 2019 de <http://cidta.usal.es/cursos/ETAP/modulos/libros/Caracteristicas.PDF>

