



FACULTAD DE INGENIERÍAS Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

**DISEÑO DE UN PROCESO DE BIOFILTRACIÓN PARA EL TRATAMIENTO  
DE AGUAS RESIDUALES DE UNA INDUSTRIA LECHERA EN LA  
PARROQUIA DE SAN MIGUEL DE NONO**

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

Profesor Guía

Ing. Carlos Luis Banchón Bajaña M.Sc.

Autor

Diego Alejandro Prócel Carrera

Año

2014

### **DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA**

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos para un adecuado desarrollo del tema escogido, y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.”

-----  
Carlos Luis Banchón Bajaña

M.Sc. in Bio-chemical Engineering

C.I.: 091805918-9

### **DECLARACIÓN DE 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”.

-----  
Diego Alejandro Prócel Carrera

C.I: 1719111294

## **AGRADECIMIENTO**

A mis padres por su amor y su apoyo incondicional. A mi hermano Daniel por su guía. A Angie por su apoyo y compañía. A mi profesor guía el Ing. Carlos Banchón Bajaña por su entrega y motivación durante el desarrollo de este proyecto. Un especial agradecimiento a todos los docentes que forman la carrera de Ingeniería Ambiental por cada uno de sus aportes en mi formación académica.

***Diego***

## **DEDICATORIA**

Este trabajo va dedicado a mí madre por ser el ángel que me protege. A mi padre por ser el arquitecto de mis ideas. A mi hermano, mi amigo de siempre acertados consejos. A Angie por ser mi compañera que con su cariño y apoyo hicieron que esta etapa sea única

***Diego***

## RESUMEN

Se implementó en la Universidad De Las Américas, un proceso de biofiltración a escala piloto en un filtro biológico (aerobio-anaerobio) para el tratamiento de aguas residuales de una industria de lácteos de la parroquia de San Miguel de Nono, Quito, Pichincha, Ecuador. El filtro biológico estaba compuesto por tres etapas de tratamiento biológico con microorganismos inmovilizados en una combinación de soportes sólidos de origen sintético y vegetal mediante un método de inmovilización pasiva por contacto. Se definió el proceso de biofiltración mediante un diseño factorial completamente aleatorio para 3 factores en dos niveles (DFCA 2<sup>3</sup>), a escala laboratorio. Resultando como mejor tratamiento a escala laboratorio la combinación de aire, macronutrientes (nitrógeno y fósforo), y temperatura (30°C). Se tomó este resultado como constantes para el proceso de biorremediación del agua residual a escala piloto, donde se evaluó una variable independiente en un diseño factorial aleatoria, reflejando dos escenarios uno con sustrato y otro sin sustrato. Resultando el mejor escenario con sustrato en un tiempo de retención de 10h en el filtro biológico a escala piloto. Se realizó una caracterización físico-química para el mejor tratamiento a escala piloto en función de pH, turbidez, nitrógeno total, fósforo total, DQO, DBO. En la biorremediación del agua residual de una industria láctea en el filtro biológico a escala piloto se obtuvo un pH final de 7.1, se obtuvo una turbidez final en el mejor tratamiento de 38,6 NTU de una muestra inicial de 799 NTU. Se obtuvo una remoción del 95% de nitrógeno total, 89% de fósforo total, 98% de DQO para una muestra con carga orgánica de >10000 mg/l. y una remoción del 99% de DBO para una muestra inicial de >4000 mg/l.

## ABSTRACT

It was implemented at the Universidad De Las Americas, a process of biofiltration pilot scale in a biological filter (aerobic - anaerobic ) for the treatment of wastewater from a dairy industry of the parish of San Miguel de Nono , Quito , Pichincha, Ecuador . The biological filter was composed of three phases of biological treatment with a combination of immobilized on solid supports of synthetic or plant origin by a passive method of immobilizing microorganisms by contact . Biofiltration process was defined by a completely randomized factorial design for three factors at two levels ( DFCA 2<sup>3</sup> ) , at laboratory scale . Resulting as best treatment at laboratory scale combining air , macronutrients (nitrogen and phosphorus) , and temperature ( 30 ° C). This result is taken as constant for the bioremediation process wastewater at pilot scale , where an independent variable in a randomized factorial design was evaluated two scenarios reflecting each other fat and nonfat . Resulting in the best scenario with fat retention time of 10h in the pilot-scale biofilter . One physical-chemical treatment for the best pilot scale depending on pH , turbidity , total nitrogen , total phosphorus , COD, BOD characterization was performed . In the bioremediation of waste water from a dairy in the pilot-scale biofilter a final pH of 7.1 was obtained , a final turbidity was obtained in 38.6 NTU best treatment of an initial sample of 799 NTU. A removal of 95% of total nitrogen , total phosphorus 89 % , 98 % of COD for a sample with organic load of > 10,000 mg / l was obtained . and 99% removal of BOD to an initial sample of > 4000mg/l

## Índice

Introducción .....	1
1. Marco referencial.....	2
1.1 Descripción de la situación actual.....	2
1.2 Justificación.....	3
1.3 Descripción de la situación propuesta .....	4
1.4 Objetivos .....	5
1.4.1 Objetivo general .....	5
1.4.2 Objetivos específicos .....	5
2. Marco teórico .....	6
2.1 Contaminación ambiental producida por una industria de lácteos.....	6
2.1.1 Situación ambiental en la parroquia de San Miguel de Nono.....	6
2.1.2 Aspectos ambientales en las industrias lácteas a nivel nacional.....	7
2.1.3 Consumo de agua y generación de agua residual de la industria de producción de lácteos. ....	8
2.2 Valores de límites máximos permisibles actuales en la legislación del Ecuador a nivel nacional y municipal.....	9
2.3 Tecnologías de tratamiento de aguas residuales de industrias lácteas. ....	11
2.3.1 Tipos de tratamientos de agua residual más comunes utilizados en el sector lácteo en el Ecuador. ....	14

2.4	Aislamiento e inmovilización de microorganismos degradadores usados en procesos de biorremediación.....	16
2.4.1	Tecnologías de inmovilización de microorganismos .....	16
2.4.2	Inmovilización por adsorción .....	16
2.4.3	Concentración de biomasa.....	17
2.4.4	Actividad metabólica .....	17
2.4.5	Resistencia a la toxicidad.....	18
2.4.6	Técnicas de inmovilización de microorganismos .....	18
2.4.6.1	Inmovilización pasiva.....	18
2.4.6.2	Inmovilización activa.....	20
2.5	Biofiltración en tratamientos de aguas residuales.....	23
2.5.1	Biopelícula como unidad de remediación biológica.....	24
2.5.2	Formación de biopelícula .....	24
2.5.3	Reactores aerobios .....	26
3.	Metodología .....	28
3.1	Ubicación de la investigación.....	28
3.2	Muestreo del agua residual de la planta de producción de lácteos.....	30
3.3	Caracterización físico-química del agua residual.....	32
3.3.1	Medición de pH mediante potenciometría .....	33
3.3.2	Medición de turbiedad mediante fotometría .....	34
3.3.3	Medición de demanda biológica de oxígeno (DBO5) mediante presión negativa .....	34
3.3.4	Medición de fósforo mediante fotometría .....	36
3.3.5	Medición de nitrógeno mediante fotometría .....	36

3.3.6	Medición de demanda química de oxígeno DQO mediante fotometría .....	36
3.4	Muestreo y aislamiento de microorganismos degradadores.....	37
3.4.1	Aislamiento en medio sólido.....	41
3.4.2	Aislamiento en medio líquido y reproducción in-vitro .....	44
3.5	Inmovilización de microorganismos en soportes sólidos.....	46
3.5.1	Selección del material de soporte .....	46
3.5.2	Inmovilización pasiva de microorganismos degradadores .....	48
3.5.3	Evaluación del material de soporte mediante adherencia de microorganismos .....	49
3.6	Biorremediación del agua residual a escala laboratorio.....	52
3.6.1	Diseño experimental.....	54
3.7	Diseño del proceso de biofiltración.....	56
3.8	Diseño e implementación del filtro biológico (FB) .....	57
3.8.1	Descripción del funcionamiento y operación del reactor piloto filtro biológico.....	60
3.9	Biorremediación del agua residual a escala piloto (FB) .....	63
3.9.1	Diseño experimental.....	65
4.	Resultados .....	67
4.1	Caracterización físico química del agua residual.....	67
4.1	Aislamiento de microorganismos degradadores en aguas residuales de una planta de lácteos .....	71

4.2	Inmovilización pasiva de microorganismos degradadores en dos tipos de soportes sólidos .....	72
4.3	Resultados del DFCA (23) para la biorremediación a escala laboratorio.....	75
4.4	Selección e implementación del proceso de biofiltración .....	78
4.5	Biorremediación de agua residual proveniente de una industria láctea mediante un diseño factorial aleatorio .....	80
5.	Análisis de resultados .....	85
5.1	Análisis de los factores físico-químicos de respuesta en función del mejor tratamiento de la biorremediación en equipo piloto (FB).....	85
5.1.1	pH de la muestra en función del mejor tratamiento.....	85
5.1.1	Turbidez de la muestra en función del mejor tratamiento.....	87
5.1.2	Nitrógeno total de la muestra en función del mejor tratamiento .....	90
5.1.3	Fósforo total de la muestra en función del mejor tratamiento .....	92
5.1.4	Demanda Química de Oxígeno (DQO) de la muestra en función del mejor tratamiento .....	93
5.1.5	Demanda Biológica de Oxígeno (DBO5) de la muestra en función del mejor tratamiento .....	95
5.2	Análisis de los factores biológicos de respuesta dentro del proceso de biofiltración.....	98
5.2.1	Relación C: N en el proceso de biofiltración.....	98

5.2.2	Crecimiento de microorganismos degradadores provenientes de aguas residuales de la planta de lácteos .....	99
5.2.3	Formación de biopelícula y adherencia de microorganismos en función de las propiedades de dos soportes sólidos .....	102
5.3	Análisis estadístico de la biorremediación a escala laboratorio mediante (DFCA) .....	105
5.3.1	Efectos principales de 3 factores en función del cambio de turbidez .....	106
5.3.2	Efecto principal Nutrientes-Temperatura para 8 tratamientos .....	107
5.3.3	Efecto principal Temperatura-Aire para 8 tratamientos .....	110
5.3.4	Efecto principal Nutrientes-Aire para 8 tratamientos .....	113
5.4	Análisis estadístico de la biorremediación a escala piloto mediante un diseño factorial aleatorio .....	116
5.4.1	Análisis de los factores de respuesta en la biorremediación del agua residual a escala piloto del mejor escenario (con sustrato).....	122
5.5	Análisis tecnológico del filtro biológico.....	127
5.5.1	Respuesta del proceso de biofiltración en función de la eficiencia de remoción de contaminantes .....	127
5.5.2	Operación del equipo piloto para la biofiltración en función de las condiciones óptimas de funcionamiento .....	128
5.6	Análisis de costo/beneficio .....	129
5.6.1	Costo de implementación del equipo piloto filtro biológico .....	129
5.6.2	Beneficio del uso de tratamientos biológicos en industrias lácteas en el Ecuador.....	129

6. Conclusiones y recomendaciones.....	133
6.1 Conclusiones.....	133
6.2 Recomendaciones.....	135
REFERENCIAS.....	136
ANEXOS .....	141

## Índice de tablas

Tabla 1. Uso de agua y generación de agua residual .....	9
Tabla 2. Guía de parámetros mínimos por sector productivo.....	10
Tabla 3. Clasificación de métodos y tecnologías enfocadas en el tratamiento de aguas residuales .....	13
Tabla 4. Tendencia de invención de tecnología por agrupación temática .....	14
Tabla 5. Polímeros utilizados en la inmovilización activa .....	23
Tabla 6. Muestreo y caracterización físico química.....	33
Tabla 7. Dígitos por factor = DBO5 mg/ml.....	35
Tabla 8. Puntos de muestreo para el aislamiento de microorganismos degradadores (PA) .....	37
Tabla 9. Composición agar nutritivo .....	42
Tabla 10. Aislamiento de microorganismos en medio sólido en función del punto de muestreo.....	44
Tabla 11. Composición del caldo de cultivo medio líquido .....	44
Tabla 12. Réplicas de aislamiento en medio líquido .....	46
Tabla 13. Soportes de inmovilización y tipo de material.....	46
Tabla 14. Escenario de inmovilización de microorganismos en soportes sólidos .....	49
Tabla 15. Método de interpretación de resultados de inmovilización. ....	51
Tabla 16. Criterio de valoración de adherencia en soportes sólidos .....	51
Tabla 17. Condiciones iniciales para la biorremediación a escala laboratorio .....	53
Tabla 18. Variables independientes para la biorremediación a escala laboratorio .....	53
Tabla 19. Matriz factorial por niveles para la biorremediación a escala laboratorio .....	54
Tabla 20. Matriz de combinación de factores y niveles para la biorremediación a escala laboratorio.....	55
Tabla 21. Parámetros de diseño del reactor piloto .....	58
Tabla 22. Esquema de selección de materiales .....	59
Tabla 23. Constantes biorremediación reactor piloto .....	64

Tabla 24. Diseño experimental para Biorremediación en reactor piloto (FB) ...	65
Tabla 25. Resultados de reproducción in-vitro .....	72
Tabla 26. Resultados DFCA biorremediación a escala laboratorio .....	76
Tabla 27. Resultados de remediación en planta piloto (FB) primer escenario con sustrato .....	81
Tabla 28. Resultados de biorremediación en planta piloto (FB) segundo escenario sin sustrato.....	82
Tabla 29. Costo de implementación del equipo piloto filtro biológico .....	129

## Índice de figuras

Figura 1. San Miguel de Nono (Pichincha).....	7
Figura 2. Materiales orgánicos usados inmovilización pasiva .....	19
Figura 3. Materiales sintéticos usados en la inmovilización pasiva .....	20
Figura 4. Agente Floculante Quitosano .....	21
Figura 5. Inmovilización de células en matriz .....	22
Figura 6. Formación de biopelícula .....	25
Figura 7. Medio solido de soporte .....	27
Figura 8. Ubicación de la investigación (Nono, Pichincha; Quito, Pichincha.).....	28
Figura 9. Origen del agua residual en la planta de producción de lácteos .....	30
Figura 10. Pre-tratamiento del agua residual .....	31
Figura 11. Recolección del agua residual en la planta de lácteos.....	32
Figura 12. Medición de DBO5 .....	36
Figura 13. Vista aérea de la planta de lácteos .....	38
Figura 14. Primer punto de muestreo para el aislamiento de microorganismos degradadores (PA 1).....	39
Figura 15. Segundo punto de muestreo para el aislamiento de microorganismos degradadores (PA 2).....	39
Figura 16. Tercer punto de muestreo para el aislamiento de microorganismos degradadores (PA 3).....	40
Figura 17. Cuarto punto de muestreo para el aislamiento de microorganismos degradadores (PA 4).....	40
Figura 18. Quinto punto de muestreo para el aislamiento de microorganismos degradadores (PA 5).....	41
Figura 19. Evaluación del porcentaje de .....	43
Figura 20. Resultado del crecimiento de biomasa.....	45
Figura 21. Soporte N° 1.....	47
Figura 22. Soporte N° 2.....	47
Figura 23. Inmovilización en soportes mediante contacto .....	48
Figura 24. Formación de biopelícula en material de soporte.....	50

Figura 25. Diagrama de proceso de la biorremediación del agua residual de una industria láctea a escala de laboratorio .....	52
Figura 26. Diseño para la selección de condiciones óptimas para la biofiltración a escala piloto .....	57
Figura 27. Diagrama del reactor piloto filtro biológico .....	61
Figura 28. Construcción del reactor piloto (FB) .....	62
Figura 29. Esquema de la biorremediación del agua residual a escala piloto, filtro biológico .....	63
Figura 30. Toma de muestra etapa 3 en la biorremediación reactor piloto .....	66
Figura 31. Caracterización físico-química (pH) .....	68
Figura 32. Caracterización físico-química (turbidez) .....	68
Figura 33. Caracterización físico-química (nitrógeno total) .....	69
Figura 34. Caracterización físico-química (fósforo total) .....	69
Figura 35. Caracterización físico-química (DBO5) .....	70
Figura 36. Caracterización físico-química (DQO).....	70
Figura 37. Crecimiento de microorganismos degradadores en medio Agar Nutritivo en 72 h .....	71
Figura 38. Inóculo de microorganismos de la reproducción in-viro .....	73
Figura 39. Indicador de actividad microbiana dentro del proceso de inmovilización pasiva de microorganismos degradadores.....	74
Figura 40. Respuesta de la adherencia de microorganismos en soportes sólidos mediante observación de formación de biopelícula.....	75
Figura 41. Resultados de solidos sedimentables .....	77
Figura 42. Selección del proceso de biofiltracion .....	78
Figura 43. Reactor piloto filtro biológico .....	79
Figura 44. Resultado de DBO Vs Tiempo para 5 días .....	84
Figura 45. Resultados de caracterización físico química (pH).....	86
Figura 46. Comportamiento del pH en función del tiempo .....	87
Figura 47. Agua residual de la planta de lácteos.....	88
Figura 48. Resultados de caracterización físico química (turbidez) .....	89
Figura 49. Comportamiento de la turbidez en función del tiempo .....	90
Figura 50. Resultados de caracterización físico química (nitrógeno total) .....	91

Figura 51. Proceso de nitrificación y desnitrificación.....	92
Figura 52. Resultados de caracterización físico química (fósforo total) .....	93
Figura 53. Resultados de la caracterización físico química (Demanda Química de Oxígeno DQO) .....	94
Figura 54. Resultados de caracterización físico química (Demanda Biológica de Oxígeno DBO5) .....	96
Figura 55. Comportamiento de la Demanda Biológica de Oxígeno (DBO) para 5 días en función del mejor tratamiento .....	98
Figura 56. Crecimiento de microorganismos degradadores en medio sólido .....	100
Figura 57. Comportamiento de la turbidez en función del tiempo para reproducción de microorganismos en medio líquido.....	101
Figura 58. Indicador de actividad microbiana mediante el aumento de turbidez en el caldo en la prueba de inmovilización en soportes sólidos .....	103
Figura 59. Respuesta de adherencia y formación de biopelícula en función de dos medios de soporte .....	104
Figura 60. Biopelícula adherida a soportes sólidos .....	105
Figura 61. Efecto principal de tres factores en el DFCA de la biorremediación del agua residual a escala laboratorio.....	107
Figura 62. Efecto principal nutrientes-temperatura (DFCA) .....	108
Figura 63. Superficie de respuesta temperatura en función del cambio de turbidez.....	109
Figura 64. Efecto principal temperatura-aire (DFCA) .....	111
Figura 65. Superficie de respuesta en el (DFCA) para el efecto temperatura-aire en función del cambio de turbidez.....	112
Figura 66. Efecto principal nutrientes-aire (DFCA).....	114
Figura 67. Superficie de respuesta en el (DFCA) para el efecto nutrientes- aire en función del cambio de turbidez .....	115
Figura 68. Comportamiento comparativo de dos escenarios en función del cambio de turbidez en la biorremediación del agua residual en filtro biológico sin sedimentación secundaria. ....	120

Figura 69. Comportamiento comparativo de dos escenarios en función del cambio de turbidez en la biorremediación del agua residual en filtro biológico con sedimentación secundaria .....	120
Figura 70. Muestra de agua después del mejor tratamiento en el filtro biológico .....	121
Figura 71. Superficie de respuesta pH Vs tiempo de retención en la biorremediación del agua residual mejor escenario. ....	123
Figura 72. Superficie de respuesta pH Vs temperatura en la biorremediación del agua residual mejor escenario. ....	124
Figura 73. Superficie de respuesta tiempo de retención Vs temperatura en la biorremediación del agua residual mejor escenario.....	125
Figura 74. Comportamiento de la temperatura en 18 horas de biofiltración del agua residual en filtro biológico .....	126
Figura 75. Optimo procedimiento de operación del equipo piloto filtro biológico .....	128
Figura 76. Relación de costos entre tecnologías de tratamiento de aguas residuales .....	131

## Índice de ecuaciones

Ecuación 1. Cálculo del porcentaje de cobertura de colonias de microorganismos .....	43
Ecuación 2. Cálculo de la eficiencia de la biorremediación a escala piloto filtro biológico .....	117
Ecuación 3. Calculo de la eficiencia de biorremediación para el primer escenario con sustrato .....	117
Ecuación 4. Calculo de la eficiencia de biorremediación para el segundo escenario sin sustrato .....	118

## Introducción

La actual Parroquia de San Miguel de Nono se encuentra ubicada hacia en noroccidente de la Ciudad de Quito y políticamente pertenece a la municipalidad del Distrito Metropolitano de Quito (Nono, 2010). Y de esta manera se rige a la legislación ambiental vigente, la ordenanza municipal 213 que hace referencia a sus límites máximos permisibles de descarga líquida del Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria (TULAS) y a la Resolución 0002-DMA-2008 de clasificación de actividades productivas y como norma técnica para el control de descargas líquidas.

En lo que respecta a la generación de aguas residuales en la industria láctea se ha identificado los diferentes procesos productivos más involucrados y contaminantes de agua entre los más influyentes son los procesos de lavado y limpieza, la purga de calderos en la generación de calor, rechazos en el circuito de refrigeración en la generación de frío, y las purgas y rechazos en el caso de que se tenga tratamiento de aguas residuales o almacenamiento de la misma (Carmen Canales et al., 2005).

El tratamiento biológico de aguas residuales consiste en la adaptación de bacterias degradadoras en condiciones óptimas en función del tratamiento que puede ser aerobio como anaerobio, el principio reside en la formación de una película o *biofilm*, el cual trabaja como un filtro biológico vivo que retiene los contaminantes y depura el agua residual (Betancourth et al., 2004).

Una de las técnicas más utilizadas en materia de remediación biológica de contaminantes tóxicos es la remediación biológica por inmovilización pasiva (Estela Pagans, 2006). Este método consiste en la fijación de microorganismos a un soporte por interacciones iónicas entre la comunidad microbiana y el material del soporte (Martínez-Trujillo et al., 2012), (Garzón Jiménez y Barragán Huerta, 2008).

## **1. Marco referencial**

### **1.1 Descripción de la situación actual**

Un porcentaje considerable de las industrias que implementan Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR), en sus instalaciones, no obtienen los resultados esperados respecto a la reducción de contaminantes, debido a que las tecnologías que se implementa no siempre son las adecuadas para el tipo de industria y sus residuos generados (Ministerio del Ambiente, 2013). Y esto sucede a razón de falta de investigación sobre cuál puede ser el mejor proceso de tratamiento para esa agua residual de una industria en función de su caracterización de contaminantes (Salazar Cordova, 2013).

Actualmente la industria de lácteos, ubicada en la parroquia de San Miguel de Nono, no cuenta con un proceso adecuado de tratamiento de aguas residuales provenientes de sus procesos industriales (Enriquez, 2013), de acuerdo con la legislación presente y que rige en el Distrito Metropolitano de Quito, todo tipo de actividad industrial debe cumplir con los requerimientos de calidad ambiental, incluyendo el tratamiento de sus aguas residuales previo a la descarga de las mismas (Gobierno de la Republica del Ecuador, 2005). De esta manera es responsabilidad de cada industria cumplir con los límites permisibles de descarga indicados en la tabla 12 del Anexo 1 del libro VI del Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria, (TULAS) en la legislación vigente. Y en relación a la actividad productiva a la que pertenezca en la clasificación por CIU de la Resolución 002-DMA-2008.

En la actualidad, las investigaciones sobre los mejores procesos de tratamiento de aguas residuales están encaminados hacia procesos en reactores de filtros sean estos aerobios como anaerobios, debido a la viabilidad de uso y a la gama de materiales filtrantes que se puede encontrar (Marisol Betancourth, y otros 2004).

## 1.2 Justificación

El presente proyecto de titulación, propone el uso de un filtro biológico aerobio anaerobio de lecho fluidizado (FB), como opción para la remediación biológica del agua residual, proveniente de una industria de producción de lácteos, ubicada en la Parroquia de San Miguel de Nono, la investigación se desarrolla a escala piloto en el laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias, de la Universidad de las Américas.

La motivación para estudiar reactores biológicos, lecho fluidizado, o filtros percoladores o filtros biológicos (*trickling filters*) se enmarca en la tendencia a utilizar nuevamente el agua residual de los procesos, en sistemas de riego para pastos y cultivos, motivo por el cual existen requerimientos de calidad que deben ser tomados en cuenta para su uso en este tipo de actividades. El desarrollo y formación de biopelículas ha sido beneficioso debido a la eficiencia de remoción de contaminantes su estabilidad y economía (Sánchez Ortiz et al., 2010, págs. 68-77). Los filtros percoladores o filtros biológicos (FB), funcionan en un reactor de lecho con microorganismos inmovilizados a través del cual se percola el agua residual, (AR), la operación unitaria en la que consiste este proceso es la de filtración, los microorganismos que están inmovilizados en el lecho fijo forma una biopelícula la que actúa como un material activado que adsorbe los contaminantes orgánicos del AR. En cuanto a la remoción de contaminantes los (FB) tienen una eficiencia entre 50 y 95 % para demanda biológica de oxígeno, (DBO), demanda química de oxígeno, (DQO), sólidos suspendidos (SS) y sólidos totales (ST), en general y dependiendo del tipo de industria (Ramos Alvariño et al., 2010).

Los filtros biológicos deben presentar un soporte de un material altamente poroso este puede ser natural como piedra de río o piedra pómez o plástico. En la industria láctea uno de los problemas ambientales más considerados es la generación de aguas residuales, debido a su volumen y la carga de contaminante utilizada, especialmente por la carga orgánica presente, la mayor parte del agua consumida en el proceso se convierte en AR, el AR comúnmente proviene de procesos de limpieza y purga de líneas de

producción y etapas de los procesos de pasteurización (Carmen Canales et al.,2005). Generalmente los parámetros de control a los que se rige la industria láctea es; materia orgánica como DQO, sólidos no disueltos, aceites y grasa, nitrógeno, fósforo, conductividad eléctrica y pH. La presente investigación enfoca los resultados en función del análisis y seguimiento de la reducción de parámetros de DQO, DBO5, Nitrógeno, Fósforo, Turbidez y pH, como medios de control.

### **1.3 Descripción de la situación propuesta**

Diseñar un proceso de biofiltración para el tratamiento del agua residual proveniente de la industria de producción de lácteos en función del análisis físico-químico y microbiológico de los contaminantes del agua residual; construir un equipo a escala piloto que estará ubicado en las instalaciones de la facultad de ingeniería y ciencias agropecuarias (FICA) de la Universidad De Las Américas, en la sede José Queri. El equipo funcionara como un reactor piloto (FB) para interpretar los resultados de la presente investigación.

El análisis de resultados y su discusión estarán planteados en función de las condiciones de operación del equipo piloto, su uso y eficiencia para reducción de los contaminantes encontrados.

La definición de los procesos que enmarca la biorremediación, en esta investigación, estarán esclarecidos por prácticas de prueba y error en el desarrollo experimental de la metodología. Dentro de la propuesta del desarrollo experimental se plantea como hipótesis que el resultado final del proceso de tratamiento del agua residual proveniente de la industria de producción de lácteos esté acorde con los parámetros y máximos permisibles en cuanto a contaminantes definidos de DQO, DBO, nitrógeno y fósforo, para la descarga de agua residual de una industria a un cuerpo de agua dulce, como se establece en la normativa ambiental vigente del Texto Unificado de Legislación Ambiental, y en función de los contaminantes que se establezcan para la actividad productiva de la clasificación CIU, suscrita en la Resolución 002-DMA-2008, que rige en el Distrito metropolitano de Quito.

## **1.4 Objetivos**

### **1.4.1 Objetivo general**

Implementar un proceso de biofiltración para el tratamiento de aguas residuales provenientes de una industria de producción de lácteos de la Parroquia de San Miguel de Nono.

### **1.4.2 Objetivos específicos**

- Determinar las características físico-químicas y biológicas del agua residual de una industria de lácteos de la Parroquia de San Miguel de Nono.
- Implementar un biofiltro (FB) para el tratamiento de aguas residuales provenientes de una industria láctea a escala piloto.
- Determinar las condiciones óptimas de operación del reactor a escala piloto, para la eficiente degradación biológica de contaminantes de un agua residual proveniente de una industria láctea.

## **2. Marco teórico**

### **2.1 Contaminación ambiental producida por una industria de lácteos**

En el transcurso de los últimos años, la industria de producción de lácteos ha crecido en referencia a plantas de capacidad semi industrial, plantas, artesanales y semiartesanales (Censos, 2010). es necesario mencionar que dentro del Ecuador la producción de leche y sus derivados, se encuentra en mayor porcentaje en la sierra ecuatoriana con un 73 %, un 19% en la costa y solo un 8% en el oriente y región insular (Salazar y Villamar, 2009, págs. 15-18). Las plantas semi-artesanales el 90% presentan pobres sistemas de tratamiento de agua residual se encuentra en su mayoría en la sierra ecuatoriana (Salazar Cordova, 2013), donde las condiciones ambientales para un tratamiento biológico de aguas residuales son diferentes a las condiciones en zonas costeras con un clima más cálido.

#### **2.1.1 Situación ambiental en la parroquia de San Miguel de Nono.**

La parroquia de San Miguel de Nono se encuentra en un corredor ecológico, el camino del Quinde. Esta parroquia vecina de Mindo y Tandayapa, representa un hito en el ámbito ecológico y conservacionista de la sierra ecuatoriana, (Parroquia de Nono, 2013). La parroquia de San Miguel de Nono presenta diferentes cuerpos de agua a sus alrededores como lugares turísticos entre cascadas y caminos, por otro lado la principal actividad económica de la parroquia es la producción de leche, ya que cuenta con varias cabezas de ganado para esta industria (Parroquia de Nono, 2013); dentro de la parroquia de Nono, se encuentra la planta de producción de lácteos Montano S.A, según declaraciones en entrevistas realizadas al Lcdo. Santiago Enríquez, actual presidente de la junta parroquial de Nono, nos comenta que la mencionada planta, es uno de los principales problemas en cuanto se refiere a la contaminación ambiental, debido al agua residual (Enriquez, 2013) declara que, la mayoría de las plantas semiartesanales, de lácteos, no presentan adecuados tratamientos para las aguas residuales que generan, y proceden con la descarga. Sin embargo, menciona que no es el hecho de que la descarga que realizan no esté bajo máximos permisibles, es el hecho de la falta de



residual son eficientes, datos del MAE, demuestran que un alto porcentaje de sistemas de tratamiento de aguas residuales de diversos tipos de industrias, no cumplen con las expectativas del tratamiento, esto a razón de falta de investigación sobre los adecuados tratamientos, o debido a materiales y equipos que están mal utilizados (Ministerio del Ambiente, 2013).

Los principales recursos consumidos en el sector lácteo, son el agua los combustibles, y la electricidad, y en menor cantidad son envases plásticos de químicos utilizados para limpieza y sobrantes de plásticos de envasado y empaque (Ministero de Medio Ambiente (España), 2005).

El agua utilizada para todos los procesos que se realizan dentro de una industria del sector lácteo, debe ser agua para el consumo humano, el agua que se utiliza es mayormente para limpieza de pisos de la planta, y lavado de equipos de procesamientos internos de la planta (Nazate, 2013)

El agua residual que sale de una planta de producción de lácteos, es generalmente agua con una carga orgánica muy alta debido al uso que se da dentro de la planta. El agua contiene material orgánico como grasa y suero de leche, generalmente el agua residual mantiene un pH ácido entre 3,5 y 4,5. El agua es de color blanco turbio con olor a leche (Nazate, 2013).

### **2.1.3 Consumo de agua y generación de agua residual de la industria de producción de lácteos.**

El uso de agua en el sector lácteo varía en función del tipo de producto que se realiza y el volumen de entrada de leche diario. el uso del agua depende de la dimensión de la planta es decir el volumen de uso de agua va a variar en una planta de producción constante con procesos continuos 24h/día a relación de una planta de procesos por lotes con obtención de producto final 2 o 3 veces por día, en este caso el uso del agua va a depender de la producción diaria.

De un estudio realizado por el Ministerio del Ambiente en España, para obtener las mejores técnicas disponibles en el sector lácteo, se presenta a continuación en la tabla 1 un indicativo de los principales procesos que utilizan agua y generan agua residual en el sector lácteo.

Tabla 1. Uso de agua y generación de agua residual

Proceso productivo	Aspecto ambiental agua	Operación	Observación
operaciones auxiliares	consumo de agua	limpieza de equipos e instalaciones	
		generación de calor	
		generación de frío	
	generación de aguas residuales	limpieza de equipos e instalaciones	
		generación de calor	purgas de calderos
		generación de frío	circuito de refrigeración
	tratamiento de aguas	purgas y rechazos	
yogur / yogur pasteurizado	generación de aguas residuales	limpieza de equipos e instalaciones	generación de lacto suero (Materia orgánica)
Queso fresco y curado	generación de aguas residuales	limpieza de equipos e instalaciones	generación de lacto suero (Materia orgánica)
Mantequilla	generación de aguas residuales	batido/ amasado	generación de aguas residuales con mazada

Tomado de: Mejores técnicas Disponibles Sector Lácteos España 2005, (Ministero de Medio Ambiente (España), 2005)

## 2.2 Valores de límites máximos permisibles actuales en la legislación del Ecuador a nivel nacional y municipal

Actualmente el marco legislativo que rige a nivel nacional en cuanto a regulaciones para la contaminación ambiental, es el Texto Unificado de Legislación Ambiental (TULAS), en mencionado texto se encuentran diversos libros, el Libro VI de la Calidad Ambiental, Anexo 1 referente a la Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes: Recurso Agua, es el indicativo respecto a límites máximos permisibles de descarga de agua sea hacia un cuerpo receptor o hacia un sistema de alcantarillado. En el mencionado cuerpo legal se puede encontrar los diferentes criterios respecto a la descarga de efluentes (Precidencia de la Republica del Ecuador, 2003).

Del apartado 4.2.2 de las normas de descarga de efluentes al sistema de alcantarillado público, del anexo 1 del Libro VI de la calidad ambiental del

TULAS se obtiene los valores máximos permisibles de descarga de efluentes hacia el sistema de alcantarillado.

De mismo apartado 4.2.2 de las normas de descarga de efluentes hacia un cuerpo dulce, del anexo 1 del Libro VI de la calidad ambiental del TULAS se obtiene los valores máximos permisibles de descarga de efluentes hacia un cuerpo dulce.

Del mismo modo el Distrito Metropolitano de Quito como Gobierno Autónomo Descentralizado, cuenta con una legislación propia respecto al medio ambiente y las regulaciones, el presente texto hace referencia a dos marcos legales a nivel municipal; a la Ordenanza Municipal 213, y a la Resolución 002-DMA-2008, esta última hace referencia al valor máximo permisible de descarga, tomando en cuenta los parámetros de contaminación en función de una clasificación por industrias (CIU). De esta manera se puede visualizar de mejor forma, los parámetros a ser tomados en cuenta para cada tipo de industria en relación a los contaminantes que genera en la descarga de agua residual.

A continuación en la tabla 2. Se presenta los valores máximos permisibles y los parámetros que se toma en cuenta para la actividad relacionada con la industria láctea, como industrias en la elaboración de derivados de la leche, yogur, queso, mantequilla.

Tabla 2. Guía de parámetros mínimos por sector productivo

(CIU) DL520 elaboración de productos lácteos							
Parámetros	Q (m <sup>3</sup> /día)	pH	T (C°)	A&G (mg/l)	DBO5 (mg/l)	DQO (mg/l)	Ssed (ml/l)
límite máximo permisible	NA	NA	NA	0,3	100	250	1

Tomado de: Tabla D1 del Anexo D de la norma técnica para el control de descargas líquidas, de la Resolución 0002-DMA-2008

De esta manera conociendo los parámetros de contaminación de relevancia en el sector lácteo, se puede observar que el hito de contaminación ambiental, es la carga orgánica que se concentra en el agua residual.

En cuanto a los parámetros de importancia biológica que deben estar contenidos en el agua residual de una industria, para que sean tomados como potenciales para un adecuado tratamiento biológico están principalmente los macronutrientes como Nitrógeno (N) y Fosforo (P), ya que estos dos componentes son la fuente de alimento más importante para el metabolismo de agentes biológicos utilizados en el tratamiento sea aerobio o anaerobio de una determinada agua residual (Gallego et al., 2006).

### **2.3 Tecnologías de tratamiento de aguas residuales de industrias lácteas**

Como se puede ver y en función de lo mencionado con anterioridad el agua residual es el aspecto principal en cuanto a las emisiones y contaminación en el sector lácteo, esto va a diferir, puesto al tipo y la capacidad de industria láctea que este en estudio. Para identificar los diferentes tipos de tratamientos de agua que son utilizados en este tipo de industria debemos entender los parámetros significativos que están enmarcados en la legislación vigente a nivel nacional, y si es el caso como la parroquia de San Miguel de Nono, interpretar la legislación a nivel municipal. Al saber los parámetros de contaminación que son tomados en consideración, se puede referir a diversos tipos de tecnologías de tratamiento que se emplea en la actualidad en este sector.

En el Ecuador, es preocupante el actual estado de los tratamientos de aguas residuales, debido a que las industrias no poseen la tecnología, ni el conocimiento para desarrollar tecnología adecuada para un correcto tratamiento del agua residual que generan. Llevando esta situación a un problema ambiental de mayores dimensiones, exceptuando contados municipios, la mayoría de ellos no cuenta con sistemas de tratamiento de aguas residuales para aguas domésticas generando una preocupante contaminación de esteros y ríos, ya que la desembocadura es generalmente en ríos de la cercanía a centros poblados, del mismo modo no todas las industrias cuentan con tratamientos de aguas residuales para sus procesos y muchas de

las que tienen tratamientos de aguas residuales no son lo suficientemente eficientes para eliminar un pasivo ambiental acumulable (Salazar Cordova, 2013).

Tomando en cuenta esa problemática que no es solo a nivel del Ecuador sino también a nivel Latino América, el desarrollo de nuevas tecnologías e investigaciones sobre diferentes formas de tratamientos de aguas residuales y procesos de biorremediación, ha tomado importancia muy grande en los últimos años por su vinculación al cuidado del medio ambiente (Ramos y Garcia., 2005).

Un estudio profundo realizado en Cuba en el año 2005 deja ver de una manera más clara como se encuentra el estado del arte de la tendencia de desarrollo de nuevas tecnologías, el estudio se ve enfocado en el hecho de hacia dónde van las investigaciones sobre tratamientos de aguas residuales y remediación en general, el estudio mencionado utiliza como base de datos para sus resultados y conclusiones las diferentes publicaciones, datos técnicos, y patentes de las tecnologías desarrolladas en el transcurso de 5 años. Dentro de los resultados obtenidos de la investigación se determinó, que en el periodo de 1999 al 2005, se encontraron alrededor de 384 invenciones, sustentadas en la Oficina de Patentes y Marcas de Estados Unidos (Ramos y Garcia., 2005, págs. 3-4).

Respecto a las diferentes clasificaciones en función de tecnologías y métodos para el tratamiento de aguas residuales fueron las siguientes, que se presentan a continuación en la tabla 3.

Tabla 3. Clasificación de métodos y tecnologías enfocadas en el tratamiento de aguas residuales

Clasificación.
Tratamiento de agua, aguas residuos, lodo o alcantarillado a partir de procesos químicos o físicos
Tratamiento biológico de agua, aguas residuos o lodo.
Tratamiento biológico de agua, aguas residuos o lodo a partir de procesos de lodo activado
Tratamiento biológico de agua, aguas residuos o lodo a partir de procesos de digestión anaerobia
Tratamiento biológico de agua, aguas residuos o lodo a partir de procesos aeróbicos y anaeróbicos
Tratamiento de agua, aguas residuos o lodo por aireación.
Tratamiento de agua, aguas residuos o lodo por multietapas.

Tomado de: tendencias de desarrollo de nuevas tecnologías para el tratamiento de aguas, residuos y lodos (Ramos & Garcia, 2005)

En los resultados de la investigación sobre el estado del arte de tecnologías relacionadas a tratamientos de aguas y de lodos, indican que el 69,3 % de invenciones son sobre tratamientos de agua residual y lodos, con un total de 266 invenciones en este ámbito, por otro lado del análisis realizado obtuvieron que un 7% responde a invenciones sobre contenidos de residuos sólidos y un 3% enfocado a depósitos de desechos sólidos, (Ramos y Garcia, 2005).

De esta manera se puede interpretar que el hecho de que la mayor cantidad de invenciones correspondan al grupo de tratamientos de aguas residuales y lodos es, un indicador, que la contaminación por aguas residuales es uno de los problemas al que se le presta mayor atención tecnológica (Ramos y Garcia, 2005).

Dentro de los resultados del estudio sobre las tendencias en tecnología, se muestra de manera clara, específicamente hacia qué tipo de tratamiento de aguas residuales están dirigidas las invenciones (Ramos & Garcia, 2005, pág.

6) a continuación se presenta en la tabla 4. La distribución de las invenciones de tecnologías para el tratamiento de aguas residuales y lodos en referencia a la tendencia por agrupación temática.

Tabla 4. Tendencia de invención de tecnología por agrupación temática

tecnología	1999	2003
Tratamiento bioquímico	12	38
tratamiento biofísico	12	58
tratamiento biológico	43	179
tratamiento físico	11	43
tratamiento químico	7	20
tratamiento físico – químico - biológico	3	12
tratamiento fisicoquímico	5	25

Tomado de: Tendencias en el desarrollo de nuevas tecnologías en el tratamiento de aguas, residuos, y lodos (Ramos & Garcia, 2005)

De los resultados se obtiene que el estado del arte está dirigido hacia, la tecnología referente a tratamientos biológicos, con enfoque de remediación usando sistemas anaerobios y aerobios, de formación de biomasa y de células adaptadas para la degradación de contaminantes, como se pudo observar en la tabla 4. El crecimiento de tecnología en procesos biológicos presenta un comportamiento exponencial en función del tiempo, esto es debido a la diversidad de materiales para las investigaciones, a la eficiencia de los tratamientos, y a los bajos costos de operación en comparación con otras tecnologías (Ramos y. Garcia, 2005, págs. 7-8).

### **2.3.1 Tipos de tratamientos de agua residual más comunes utilizados en el sector lácteo en el Ecuador.**

Dado que en el Ecuador no se ha avanzado mucho sobre el tema de crear tecnologías adecuadas a la realidad climatológica del país, se tiende a tomar tecnologías desarrolladas en otros países con otras realidades en aspectos sociales, culturales y ambientales, hecho que genera que no siempre la

tecnología que se utiliza para el tratamiento de las aguas residuales de una industria sea el adecuado (Salazar Cordova, 2013).

Dentro del sector de producción de lácteos, el uso de diferentes tipos de tratamientos de agua residual va a variar dependiendo, de las condiciones de la planta; la mayoría de plantas grandes con líneas de producción continuas y grandes volúmenes de leche y de agua utilizados, generalmente utilizan procesos de tratamiento de tipo físico-químico con el uso de floculantes y coagulantes de origen de aluminio (Salazar y Villamar, 2009).

En las industrias que manejan grandes volúmenes de agua y de leche, con líneas de producción continua, para complementar el tratamiento fisicoquímico, se utiliza pre tratamiento o sistemas de homogenización, con procesos de flotación por aire disuelto como tratamiento netamente físico. Y en otros casos se complementa cerrando el sistema de tratamiento, con tratamientos de tipo terciario, como tratamientos biológicos y de cloración (Salazar y Villamar, 2009).

En plantas de menor envergadura, los tratamientos son más artesanales y menos eficientes, donde por tratamiento solo utilizan trampas de grasa, y lotes de sedimentación del agua residual (Nazate, 2013).

Entre otros tipos de tratamientos de agua que se utilizan en el sector lácteo están:

- Electrocoagulación.
- Flotación por aire disuelto
- Tratamiento biológico de contacto
- Aireación
- Lodos activados
- Tratamientos biológico anaerobio

## **2.4 Aislamiento e inmovilización de microorganismos degradadores usados en procesos de biorremediación.**

El uso de células en el área ambiental ha sido poco explotado, a pesar de que se conoce su potencial en la biodegradación de contaminantes en especial orgánicos, debido al aumento, en la estabilidad de las células, y la tolerancia ante ciertos compuestos tóxicos (Martínez y Rivero, 2012).

Entre las técnicas de inmovilización que se conocen, están dos más características; la adsorción y el atrapamiento en la matriz de un soporte polimérico (Martínez y Rivero, 2012).

(Garzón y Huerta, 2008), hacen referencia sobre pre requisitos a tomar en cuenta en cuanto a inmovilización de microorganismos se refiere, indican que para lograr un proceso de inmovilización eficaz, se debe tomar en cuenta ciertos criterios como son; la presencia de una superficie de adherencia amplia, que sea fácil de operación y regeneración; con una buena porosidad, con el fin de permitir un intercambio fácil de sustratos, productos, gases, etc.; debe presentar una buena estabilidad química, biológica, mecánica y térmica, del mismo modo resistente a cambios de presión,

### **2.4.1 Tecnologías de inmovilización de microorganismos**

#### **2.4.2 Inmovilización por adsorción**

Una de las técnicas más utilizadas en materia de remediación biológica de contaminantes tóxicos (Estela Pagans, 2006). Este método consiste en la fijación de microorganismos a un soporte por interacciones iónicas entre la comunidad microbiana y el material del soporte, que de preferente deben ser materiales grandes superficies y material poroso, como puede ser carbón activado o piedra pómez entre otros materiales (Martínez-Trujillo & García-Rivero, 2012), (Garzón Jiménez & Barragán Huerta, 2008). Esta es la técnica que se utilizara en el presente proyecto. Entre las ventajas generales que se pueden describir de la inmovilización de microorganismos, están; el hecho de que la inmovilización puede hacer uso de diversos materiales y productos, que van desde, soportes biodegradables, como residuos orgánicos o agroindustriales, hasta los materiales más difíciles de degradar como son

plásticos o fibras de vidrio (Garzón Jiménez & Barragán Huerta, 2008). En si todos estos materiales presentan algunas ventajas específicas como son:

- Concentración de biomasa
- Actividad metabólica
- Resistencia a la toxicidad

#### **2.4.3 Concentración de biomasa**

Varios estudios han demostrado a lo largo del tiempo que en diferentes ecosistemas acuáticos la concentración de biomasa es mejor, y de mayor estabilidad cuando se encuentra inmovilizada en un medio de soporte, en comparación de cuando está libre en el ecosistema (Udo Weismann & Dombrowski, 2007).

Sin embargo (Garzón Jiménez & Barragán Huerta, 2008), en su publicación, refieren al hecho de que no todos los organismos presentan tal comportamiento, hacen hincapié en el comportamiento de hongos inmovilizados, los cuales no presentan ni un crecimiento en la concentración de biomasa, ni por lo contrario una disminución de tal, esto debido a que las células se encuentran atrapadas impidiendo su crecimiento y reproducción.

#### **2.4.4 Actividad metabólica**

Estudios han demostrado que el metabolismo de células inmovilizadas, es mucho mayor al metabolismo de células libres (Evans y Furlong, 2003). Esto al efecto que causa el mantener una célula inmóvil y en constante alimentación, y gracias al efecto de la formación de grandes cantidades de concentración de biomasa (Garzón y Huerta, 2008).

De igual forma la actividad metabólica se ve favorecida, debido a la biopelícula que algunos de estos microorganismos forman, la cual actúa atrapando gran parte de los nutrientes que están en el medio, dejándolos a disposición de los microorganismos de una mejor manera (Vallero, 2010), (Gallego et al., 2006).

#### **2.4.5 Resistencia a la toxicidad**

Estudios realizados en la década de 1980, en los cuales realizaron pruebas utilizando diferentes concentraciones de antisépticos, encontraron que aquellos microorganismos que habían sido viables para formar algún tipo de película de recubrimiento, tenían mayor resistencia a las concentraciones de antiséptico, en comparación de aquellos microorganismos que no la formaban (Garzón et al., 2008).

Este efecto se da gracias a la formación de una matriz de exopolisacáridos, que actúa como una película que adhiere nutrientes, formando una carga neutra o polianiónica, que reduce la difusión de sustancias tóxicas hacia el interior de la biopelícula (Vallero, 2010), (Evans y Furlong, 2003).

#### **2.4.6 Técnicas de inmovilización de microorganismos**

Dependiendo de la forma que se induce la inmovilización, esta se clasifica en: inmovilización pasiva, e inmovilización activa (Garzón y Huerta., 2008, págs. 3-4)

##### **2.4.6.1 Inmovilización pasiva**

Algunos microorganismos de forma natural presentan características de adherencia a superficies, esta interacción puede ser resultado de la presencia de estructuras celulares tales como, la capsula y las fimbrias en el caso de las bacterias, y las propias hifas en el caso de hongos (Martínez y Rivero, 2012).

Durante la inmovilización pasiva puede darse un proceso de formación de biopelícula, en el cual tan solo un 15% a 25% corresponde a células vivas, el resto comprendido por sustancias poliméricas extracelulares, que forman complejas estructuras con canales de agua y aireación, los cuales permiten el transporte de nutrientes, desechos, oxígeno, y agua; gracias a estos canales se permite que se formen microambientes o micronichos de población de microorganismos (Garzón y Huerta, 2008)

Este tipo de inmovilización es utilizada en muchos tipos diferentes de ensayos en diferentes tipos de matrices tanto naturales como sintéticas (Martínez y Rivero, 2012).

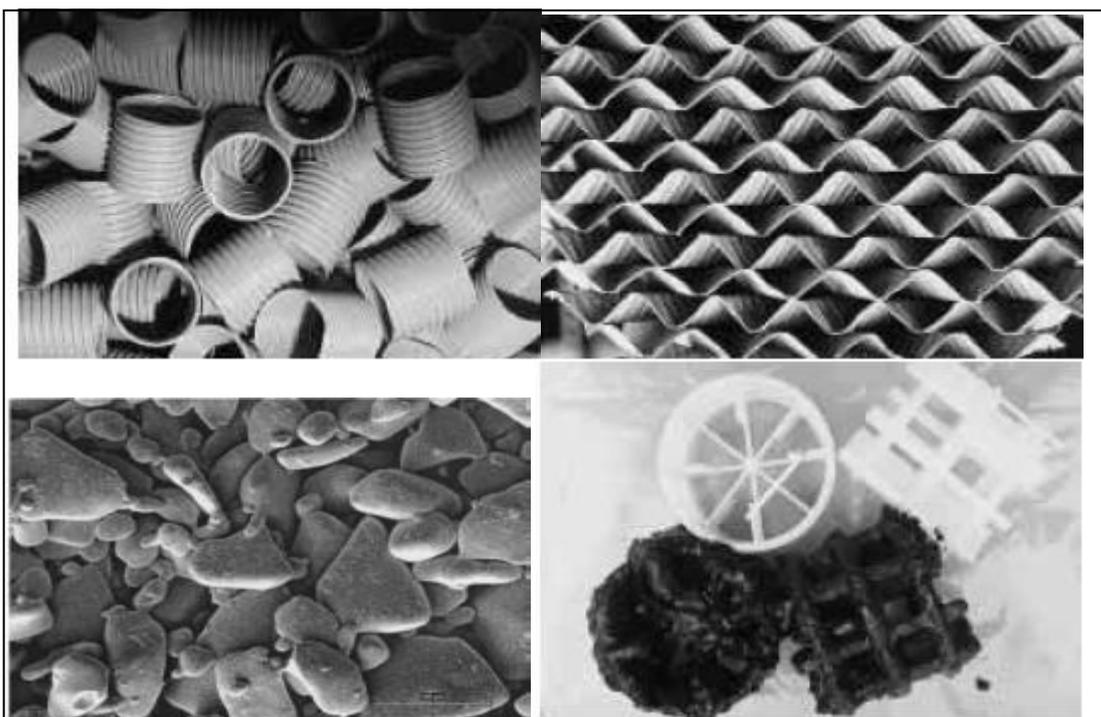
(Garzón y Huerta, 2008), refieren a diferentes colaboradores que han participado de investigaciones con diversos tipos de materiales en este tipo de inmovilización, han demostrado que los matrices orgánicos tienen mayor adsorción que los matrices sintéticos esto debido a que los materiales orgánicos, tienen mayor cantidad de grupos radicales, como amonio, carboxil, lo cual permite una adherencia y crecimiento más eficaz.

Entre los diferentes materiales que mencionan están; el estropajo vegetal para la inmovilización de microorganismos como; *Chlorella sorokiniana*, *Porphyridium cruentum*, *Penicillium cyclopium*, *Funalia trogii*, para la remoción de sustancias como metales, colorantes, sustancias cloradas, fungicidas, entre otros (Garzón Jiménez & Barragán Huerta, 2008).



Referente a materiales sintéticos, (Garzón Jiménez & Barragán Huerta, 2008), afirman que varias investigaciones, han demostrado el uso efectivo de diversos materiales, (*Figura 3.*) como vidrio o cerámicas porosas, polipropileno, poliuretano, entre otros.

La colonización del soporte se dará de partes más internas, como grietas y poros hacia la superficie, este proceso se da gracias a que la irregularidades que presenta el soporte, proporcionando protección a los microorganismos, facilitando la adhesión de estos al soporte (Vallero, 2010).



*Figura 3. Materiales sintéticos usados en la inmovilización pasiva*  
Tomado de: INMOVILIZACIÓN MICROBIANA: TÉCNICAS Y USOS EN EL TRATAMIENTO DE RESIDUOS TOXICOS. (Garzón Jiménez & Barragán Huerta, 2008)

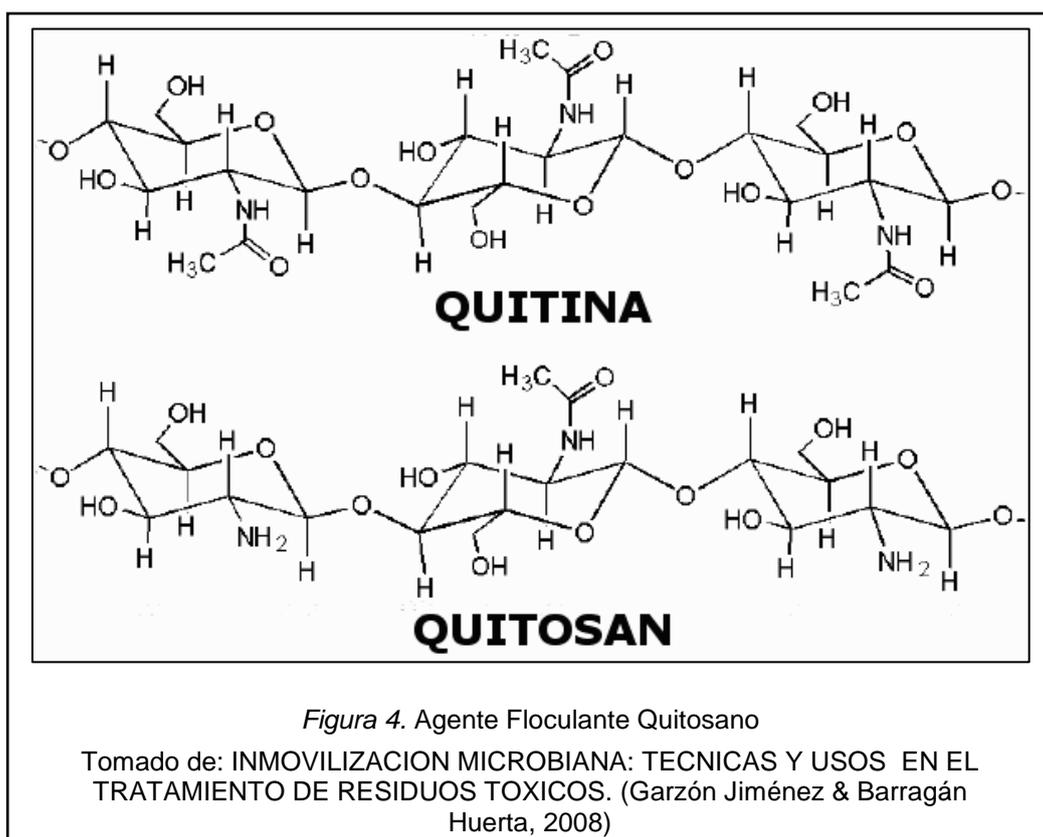
#### **2.4.6.2 Inmovilización activa**

La inmovilización activa considerada también como inmovilización artificial (Garzón Jiménez & Barragán Huerta, 2008). El concepto consiste en el atrapamiento en geles de polímero natural o sintético más es uso de floculantes, o ataque químico (Perez Garcia, Romero Garcia, & Saes Marquez, 1997). El uso de agentes floculantes dentro del tratamiento de aguas residuales, ha sido usado con el objetivo, de sedimentar partículas suspendidas, de esta manera se podían reemplazar técnicas como la

centrifugación entro de los procesos de tratamiento de aguas residuales (Martínez-Trujillo & García-Rivero, 2012).

En las últimas décadas los agentes floculantes, se usan con el fin de unir y aglomerar células, que por su naturaleza no presentan dicha tendencia, de esta manera las aglomeraciones formadas, permiten el atrapamiento de otras sustancias suspendidas en el medio (Garzón Jiménez & Barragán Huerta, 2008).

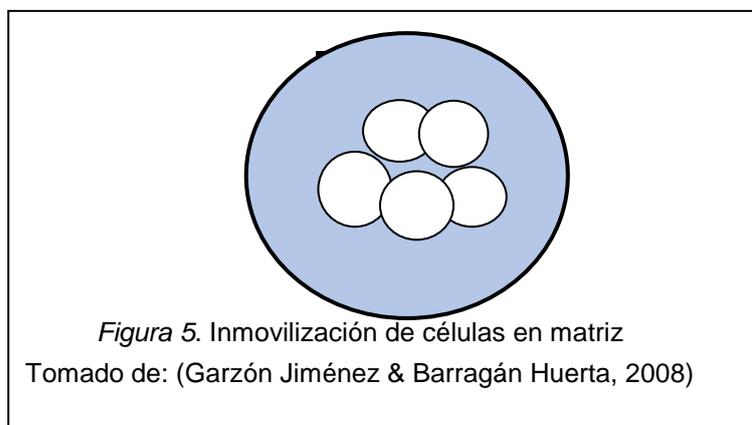
En cuanto a agentes floculantes, (Garzón Jiménez & Barragán Huerta, 2008), hacen referencia al quitosano (Figura 4.), el cual ha sido el más usado por excelencia; el quitosano, un polisacárido lineal, compuesto por cadenas de D-glucosamina, y N-acetil-D-glucosamina, el cual es extraído de la quitina, posee una carga positiva y es soluble en medios ácidos.



Esta técnica consiste en la inmovilización de células dentro de una matriz, la cual a diferencia de la inmovilización pasiva, impide la difusión de las células en

el medio, pero permite el paso de metabolitos, y nutrientes (Garzón y Huerta, 2008).

De manera general, el procedimiento, para el atrapamiento de las células, en gotas de polímeros, consiste en suspender el microorganismo de interés, en una solución líquida, que contiene los monómeros, de la macromolécula; seguido por una gelificación (Evans y Furlong, 2003).



Entre las principales ventajas que ofrece esta técnica de inmovilización, están una alta concentración de biomasa, alta resistencia a sustancias tóxicas, debido a la especificidad de los microorganismos inmovilizados, otra ventaja es el hecho de poder inmovilizar diferentes microorganismos de manera físicamente separada, una de las desventajas que puede presentar, es que la biomasa inmovilizada no se mantenga, firme adherida al soporte permitiendo la liberación de la misma (Garzón y Huerta., 2008), (Martínez y Rivero., 2012).

A continuación en la (Tabla 5.), se presenta un esquema de los polímeros naturales y sintéticos utilizados en la inmovilización activa en procesos de biorremediación en función de las características en la biorremediación de aguas residuales de origen doméstico.

Tabla 5. Polímeros utilizados en la inmovilización activa

características	polímeros naturales		polímeros sintéticos		
	carragenano	ca-alginato	PVA	PCS	PEG
solubilidad	alto	alto	bajo/nulo	bajo/nulo	bajo/nulo
biodegradabilidad	posible	posible	bajo	bajo	bajo
estabilidad	bajo	bajo	alto	alto	medio
difusibilidad	muy bueno	muy bueno	bueno	moderado	_____
crecimiento	bueno	bueno	moderado	moderado	bueno
proceso de inmovilización	simple	simple	laborioso	laborioso	laborioso

Tomado de: (Garzón y Huerta., 2008)

El uso de inmovilización de células en matrices, se ha convertido en una solución a problemas de toxicidad, de sustancias en los procesos de biorremediación, debido a que brindan una constante protección a los microorganismos degradadores, por medio de geles, que permiten el intercambio molecular sumado una protección, lo que logra una degradación más rápida, un mejor metabolismo, disminuyendo la pérdida de biomasa (Martínez y Rivero., 2012).

## 2.5 Biofiltración en tratamientos de aguas residuales

En las últimas dos décadas, se ha demostrado que la tendencia de las investigaciones, e invenciones, están inclinadas hacia los procesos biológicos, en el ámbito de biorremediación de aguas residuales, de diferentes industrias, esta tendencia, se ve influenciada por la gran variedad de métodos y materiales que se pueden utilizar en este tipo de tecnología, abaratando los costos (Gallego y Korol., 2006).

En procesos de remediación biológica de un medio contaminado en estudio, con uso de microorganismos inmovilizados, es una de las formas más aplicadas, consiste de manera general, en la disposición de estos microorganismos en materiales filtrantes como medios de soporte, formando así un filtro biológico de comunidades microbianas inmovilizadas (Gallego y.,

2006). Gracias a la formación de biopelícula, disponiendo el medio líquido a tratar a una operación unitaria fundamentada en la filtración, donde el intercambio de sustratos, productos y nutrientes entre el medio y la organización microbiana, se distribuye de manera secuencial (Ramos et al., 2010, págs. 12-13).

### **2.5.1 Biopelícula como unidad de remediación biológica**

La sola formación de biopelícula se puede interpretar como filtro biológico (Ramos et al., 2010). En síntesis las biopelículas, o biofilm, son organizaciones microbianas, compuestas por microorganismos que se adhieren, a superficies por medio de la secreción, de un exopolímero, estas formaciones microbianas presentan características como; alta capacidad de adherencia, heterogeneidad de población microbiológica, diferentes microambientes; en función de, pH, tensión de oxígeno, concentración de iones carbono y nitrógeno, entre otras características como resistencia a sustancias tóxicas, antimicrobianos y detergentes (Betancourth et al., 2004).

### **2.5.2 Formación de biopelícula**

Según (Garzón y Huerta., 2008), exponen que la formación de la biopelícula se da en 4 pasos, descritos a continuación, (*Figura 6*).



Un filtro biológico, consiste en un reactor con biomasa celular, compuesta por microorganismos, adheridos a un medio de soporte; por el circula un volumen de agua con características propias como carga orgánica, interpretada como DQO, nitrógeno etc. y carga inorgánica como metales, colorantes etc. (Ramos et al., 2010). El uso de filtros biológicos puede derivar en diferentes inventivas, sin embargo la característica principal que define el tipo de método es la presencia o ausencia, de aire. Entre los diferentes usos de filtros biológicos en función de técnicas aerobias y anaerobias encontramos:

- Filtros anaerobios (AF)
- Reactores de lecho fijo (DSFF)
- Reactor de lecho fluidizado (BF)
- Reactor de lecho de lodo (UASB)
- Filtro percolador (TF)
- Filtro anaerobio de etapas (staged AF)

(Arrojo et al.,2003)

### **2.5.3 Reactores aerobios**

Los procesos biológicos aerobios son muy efectivos en cuanto a la reducción de materia orgánica biodegradable, especialmente nitrógeno amoniacal y metales pesados a diferentes escalas (Ramos et al., 2010). Los tratamientos aerobios pueden alcanzar la nitrificación del amonio (Estela Pagans, 2006).

Dentro de los diferentes tipos de reactores aerobios, uno de los más influyentes por su comodidad de uso, costo de materiales y eficiencia en el tratamiento de aguas residuales con alto contenido orgánico, es el reactor de lecho fluidizado (Sánchez Ortiz, y otros, 2010). Generalmente en este proceso se utiliza una circulación interna, con biomasa activa adherida a un medio de soporte identificada como biopelícula (Gallego y Korol, 2006).

Las ventajas principales de este método aerobio, son el reducido espacio físico que necesita el proceso de tratamiento, la remoción de materia orgánica, carbonacea y nitrogenada en el mismo reactor, circulación interna o externa del agua (Sánchez Ortiz, y otros, 2010).

El principio radica en la inyección de aire, y seguido la circulación de agua residual, la cual se pone en contacto con la población microbiana, que ha formado una película adherida a la superficie de un medio sólido como soporte (*Figura 7*), generando así un paso del agua por un material filtrante con propiedades de degradación de contaminantes y compuestos tóxicos (Gallego, Gemini, & Korol, 2006)

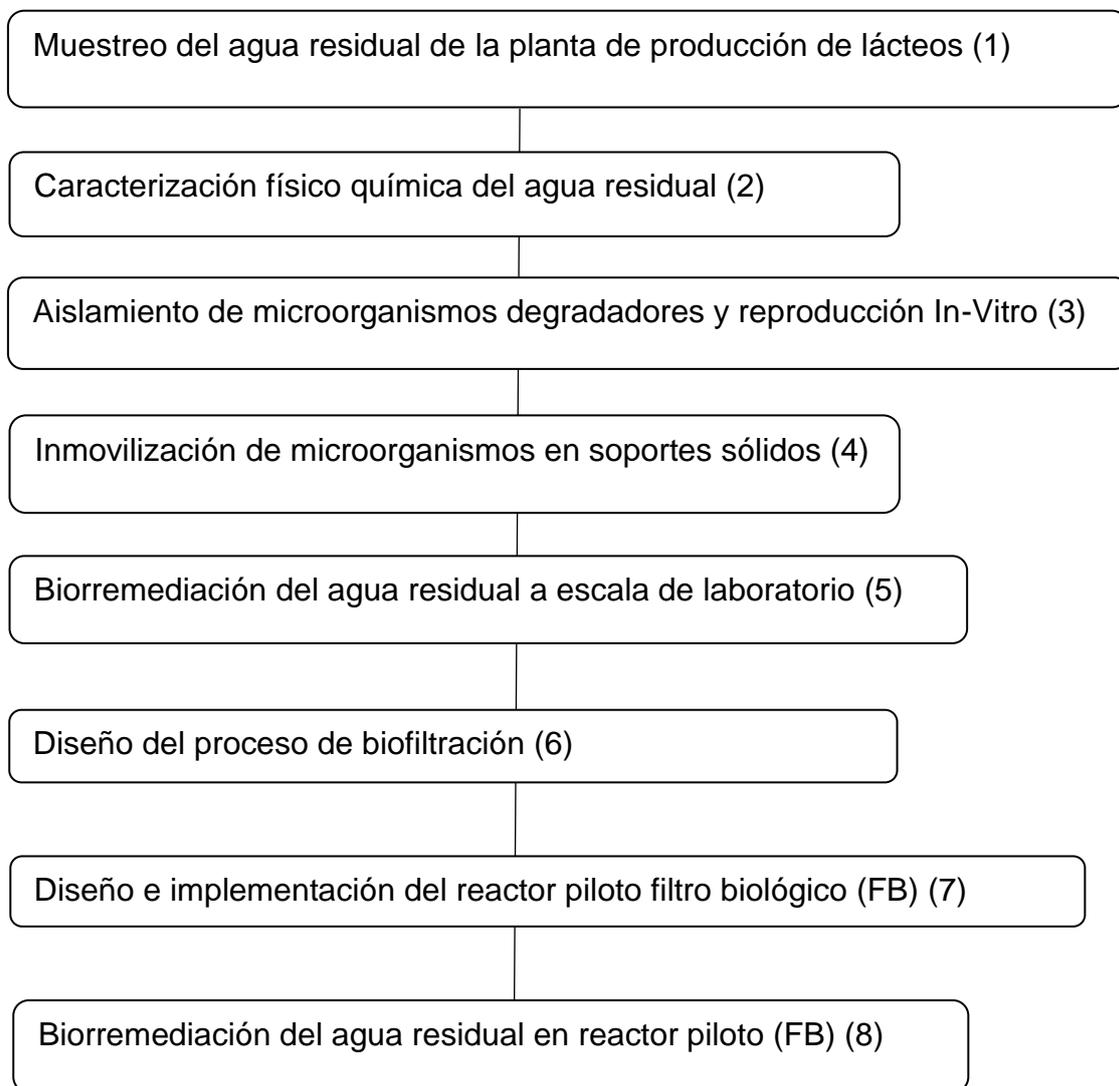


*Figura 7.* Medio solido de soporte

Tomado de: Sistemas aerobios de película biológica fija para la biodegradación de aguas residuales



A continuación se presenta, el diagrama de flujo sobre la metodología experimental.



### 3.2 Muestreo del agua residual de la planta de producción de lácteos

Para el muestreo y recolección del agua residual, se procedió a identificar el recorrido del agua residual (AR), previo a la descarga y los sitios de almacenamiento del agua residual en la planta de lácteos (*Figura 9*). Se procedió a la plena identificación de los canales por los que recorre el agua residual previa a su descarga final; se observó que la mayoría de AR es producida durante las prácticas de lavado de la planta y del área de recepción de la leche.



En la descarga final del AR, ésta pasa por un sistema de tres tanques conectados, como pre-tratamiento (*Figura 10*). El primer tanque, sirve para la

separación de materiales grandes como fundas, tapas de envasado, piedras y otros materiales de un tamaño considerable. El segundo tanque tiene la funcionalidad de separar los materiales de menor tamaño que pudieron ingresar al sistema de recolección de AR, como por ejemplo hierbas, insectos; este segundo tanque también tiene como objetivo el separar la grasa que contiene el AR proveniente de la planta, por precipitación de la misma. El tercer tanque actúa como receptor del AR que viene de los dos tanques previos, y su funcionalidad es la de estabilizar el caudal para la próxima descarga al río.

La recolección del agua residual para el presente trabajo, fue en el tercer tanque. El cual se identificó como etapa final previa a la descarga al río del agua residual en la planta de lácteos



Figura 10. Pre-tratamiento del agua residual

A: segundo tanque recolector del agua residual

B: sistema de pre-tratamiento del agua residual: (1) recolector de materiales grandes.  
(2) recolector de materiales pequeños  
(3) fin de pre-tratamiento

Para la recolección, se utilizó recipientes plásticos de seis litros (*Figura 11*), y cada muestreo fue de un total de 60 l por muestreo.



*Figura 11. Recolección del agua residual en la planta de lácteos*

A: recolección del agua residual en envases de 6 l, perspectiva 1  
B: recolección del agua residual en envases de 6 l, perspectiva 2

### **3.3 Caracterización físico-química del agua residual**

Se tomaron muestras en botellas de vidrio oscuro de 500 ml. Las muestras fueron transportadas bajo condiciones específicas de temperatura a  $4^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ . Las muestras fueron trasladadas en menos de 24h desde el momento del muestreo al laboratorio para su análisis.

A continuación, en la Tabla 6 se presenta la clasificación y características de las muestras para la caracterización físico química del agua residual

Tabla 6. Muestreo y caracterización físico química

Muestra	Condición	Parámetros a ser analizados	Laboratorio
Muestra N° 1	Muestra sin tratamiento tomada in-situ	DQO	Centro de Servicios Ambientales y Químicos de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (CESAQ) *
		Nitrógeno	
		Fósforo	
		pH	Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias de la Universidad de las Américas ( FICA-UDLA)
		Turbidez	
DBO5			
Muestra N° 2	Muestra con el mejor tratamiento tomada de la etapa final del reactor piloto (FB)	DQO	Centro de Servicios Ambientales y Químicos de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (CESAQ) *
		Nitrógeno	
		Fosforo	
		pH	Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias de la Universidad de las Américas ( FICA-UDLA)
		Turbidez	
DBO5			

(\*) Para los análisis de DQO, Nitrógeno y Fósforo, se utilizaron métodos analíticos estándar; CP- PEE-A020, CP-PEE-A007, y CP-PEE-A008 respectivamente.

### 3.3.1 Medición de pH mediante potenciometría

Para la medición de pH, se utilizó el equipo *Conductímetro Hanna*, para análisis en laboratorio. El medidor de pH utiliza un método de sonda potenciométrica de cuatro anillos (S.N, 2013). Para cada medición de pH se utilizó el método estándar “ASTM D 1293-84 reprobado en 1990” (American Society for testing and Materials, 2014). Se realizaron al menos tres mediciones por muestra.

### **3.3.2 Medición de turbiedad mediante fotometría**

Para la turbidez se utilizó el equipo *Turbidímetro HI 88713-ISO-TURBIDIMETER Hanna*, configurado en unidades NTU hasta un rango de 1 a 4000 NTU, el cual usa un método de luz ultravioleta a través de cristales (S.N, 2013). Para cada medición de turbidez se utilizó el método estándar “ASTM d1889-88a” (American Society for testing and Materials, 2014). Se realizaron al menos tres mediciones por muestra sin dilución.

### **3.3.3 Medición de demanda biológica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>) mediante presión negativa**

Para la medición y evaluación de la DBO, se utilizó el equipo *Oxitop IS 6 WTW* (*Figura 12.*), el cual, presenta un método que consiste, en la medición en un sistema cerrado, de presión, los microorganismos presentes en la muestra consumen el oxígeno, y generan CO<sub>2</sub>, el cual es absorbido por el NaOH, lo cual genera una presión negativa que puede leerse, en mg/l DBO (Bedienungsanleitung Instrution Manual, 2013).

A continuación en la (Tabla 7.) se muestra el rango de dilución en función del volumen de la muestra.

Tabla 7. Dígitos por factor = DBO5 mg/ml

volumen de la muestra en ml	rango de medida en mg/l	factor
432	0-40	1
365	0-80	2
250	0-200	5
164	0-400	10
97	0-800	20
43.5	0-2000	50
22.7	0-4000	100

Tomado de: (WTW GmbH, 2013)

De esta manera la medición de DBO<sub>5</sub>, consistió en tomar el volumen de la muestra correspondiente en un matraz aforado, luego se dispuso de la muestra en las botellas de vidrio ámbar del equipo *Oxitop IS 6*. En el receptor de NaOH, se colocaron, dos tabletas de NaOH. Se colocó las cabezas medidoras en cada una de las botellas (*Figura 12*). Se reseteó desde cero las cabezas presionando los dos botones en la parte superior. Una vez que estaban desde cero, se colocaron en la incubadora a 20° C ± 2° grados centígrados, y se procedió a la medición 3 veces al día durante 5 días.



Figura 12. Medición de DBO5

### 3.3.4 Medición de fósforo mediante fotometría

El análisis de este parámetro fue elaborado en el laboratorio del Centro de Servicios Ambientales y Químicos de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, (CESAQ-PUCE). Para el análisis de este parámetro se utilizó el método analítico estándar CP-PEE-A007, en espectrofotómetro (fuente: informe entregado por laboratorio CESAQ-PUCE ver Anexo 1).

### 3.3.5 Medición de nitrógeno mediante fotometría

El análisis de este parámetro fue elaborado en el laboratorio del Centro de Servicios Ambientales y Químicos de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, (CESAQ-PUCE). Para el análisis de este parámetro se utilizó el método analítico estándar CP-PEE-A008 en espectrofotómetro (fuente: informe entregado por laboratorio CESAQ-PUCE ver Anexo 1).

### 3.3.6 Medición de demanda química de oxígeno DQO mediante fotometría

El análisis de este parámetro fue elaborado en el laboratorio del Centro de Servicios Ambientales y Químicos de la Pontificia Universidad Católica del

Ecuador, (CESAQ-PUCE). Para el análisis de este parámetro se utilizó el método analítico estándar CP-PEE-A020 (fuente: informe entregado por laboratorio CESAQ-PUCE ver Anexo 1)

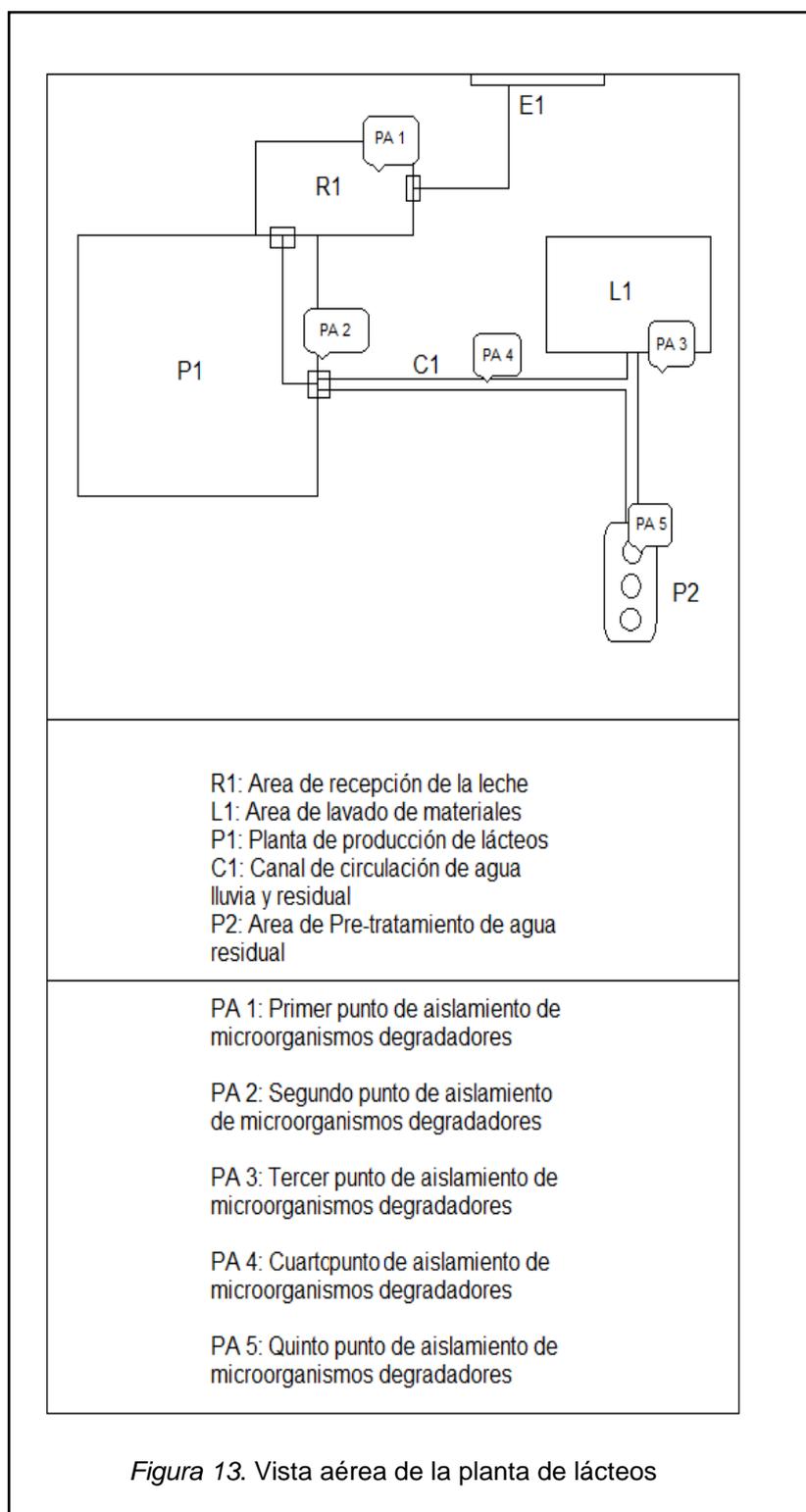
### 3.4 Muestreo y aislamiento de microorganismos degradadores

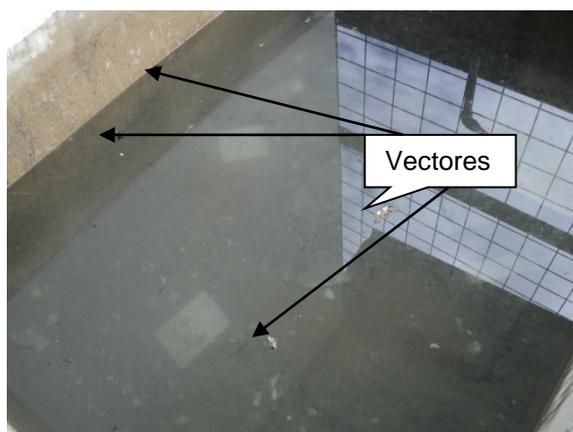
Se realizó el muestreo en 5 puntos para el aislamiento (PA) en la planta de producción de lácteos de la Parroquia de San Miguel de Nono (Tabla 8): los (PA) presentaron características de actividad microbiológica, como formación de moho en hendiduras de paredes y pisos que estaban colmados de agua con contenido orgánico, específicamente leche lavada proveniente de la planta, y del área de descarga y recepción del producto primario.

Tabla 8. Puntos de muestreo para el aislamiento de microorganismos degradadores (PA)

Punto de muestreo para aislamiento	Origen	Características
PA 1	Recolector de agua de lavado en el área de recepción de la leche	Agua en condición turbia con presencia de vectores como mosquitos, y escarabajos.
PA 2	Grieta en la puerta del área de lavado de la planta principal	Agua con aspecto verde, y posible presencia de moho.
PA 3	Grieta del piso exterior circundante a la planta principal	Acumulación de agua de lavado de la planta principal.
PA 4	Canal de circulación de agua lluvia y residual	presencia de agua estancada de origen de lavado y de lluvia
PA 5	Tanque de recolección de agua residual	Presencia de posible sobrenadante de materia orgánica, insectos y otros materiales.

A continuación en la *Figura 13* se presenta el esquema con vista aérea de la planta de lácteos. Donde se identifican los puntos de muestreo para aislamiento de microorganismos degradadores (PA).





*Figura 14.* Primer punto de muestreo para el aislamiento de microorganismos degradadores (PA 1)



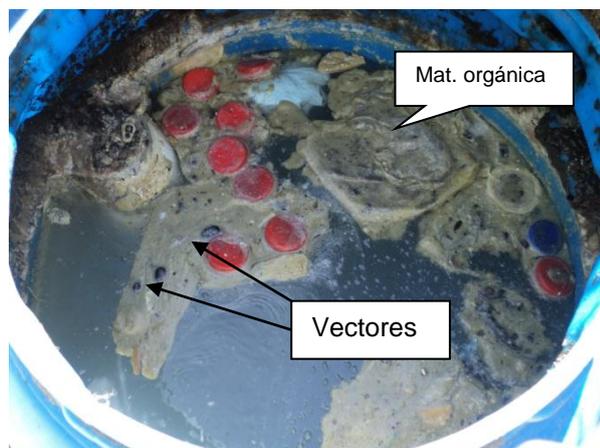
*Figura 15.* Segundo punto de muestreo para el aislamiento de microorganismos degradadores (PA 2)



*Figura 16.* Tercer punto de muestreo para el aislamiento de microorganismos degradadores (PA 3)



*Figura 17.* Cuarto punto de muestreo para el aislamiento de microorganismos degradadores (PA 4)



*Figura 18.* Quinto punto de muestreo para el aislamiento de microorganismos degradadores (PA 5)

Las 5 muestras (PA 1 - PA 5) fueron llevadas al laboratorio de Ingeniería Ambiental FICA-UDLA, para el procedimiento de aislamiento de microorganismos degradadores.

Para el proceso de aislamiento se tomaron las muestras de los 5 puntos descritos anteriormente, y se definió un método para aislar microorganismo en medio sólido (sección 3.4.1), y una reproducción in-vitro del mejor resultado para medio líquido (sección 3.4.2).

Se definieron 3 réplicas por cada una de las muestras en medio sólido, y 3 réplicas para el mejor resultado de medio sólido hacia medio líquido.

### **3.4.1 Aislamiento en medio sólido**

Como medio de cultivo, para el aislamiento de los microorganismos, se tomó el medio Agar Nutritivo, para realizar las pruebas de crecimiento y actividad microbiológica, de los puntos de muestreo definidos con anterioridad (Tabla 8).

El aislamiento de microorganismos en medio sólido consistió en la preparación del medio Agar Nutritivo (Tabla 9), en un volumen de 500 ml. Se mezcló en bloque calefactor hasta que el Agar Nutritivo se disuelva por completo. Se procedió a autoclavar por 3 horas. Luego de que la solución se ha enfriado se

puso alrededor de 15 ml de la solución en 15 cajas Petri: 3 réplicas por 5 muestras. Con un micro pipeta se procedió a inocular 3 ml de las 5 muestras en el medio Agar Nutritivo utilizando un método de estrías escocesas. Se dispuso de las cajas Petri en la incubadora a 37°C.

Tabla 9. Composición agar nutritivo

Peptona	0,5%
Extracto de carne	0,3%
Agar	1,5%
Cloruro de sodio	0,5%

Se definió como mecanismo de verificación de crecimiento, un método de observación y comparación del porcentaje de área de una caja Petri que cubría la comunidad microbiológica heterogénea en estudio; para un tiempo de 24 horas, 48 horas, y 72 horas explicado a continuación en la (Tabla 10). Se empleó un método que consistió en fraccionar el área de una caja Petri, para determinar el porcentaje de cobertura (*Figura 19*). El método de conteo por fraccionamiento consiste en identificar las colonias de microorganismos en función de la cobertura del área del medio (Valera Rodriguez, 2006). Para el conteo se fracciona la caja Petri en diferentes partes, y se identifica la cantidad de partes que están cubiertas por colonias. Mediante la Ecuación 1, se obtiene el porcentaje de cobertura de las colonias

$$x = \frac{(\sum(fc)) - (Tf)}{(Tf)}$$

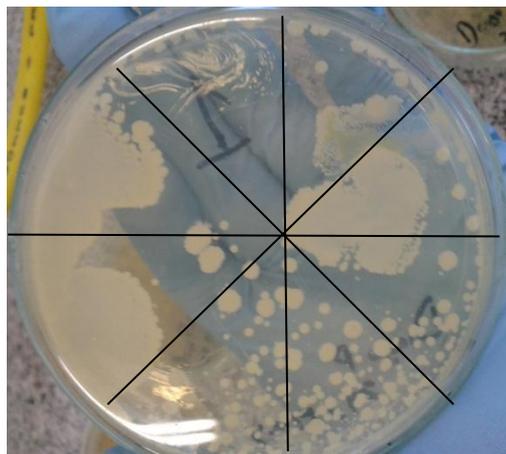
Dónde:  $(fc)$  son las fracciones cubiertas,

$(Tf)$  Es el total de fracciones trazadas,

$x$  Es el porcentaje de cobertura.

Modificado de: (Valera Rodriguez, 2006)

Ecuación 1. Cálculo del porcentaje de cobertura de colonias de microorganismos



*Figura 19.* Evaluación del porcentaje de Cobertura mediante fraccionamiento

Tabla 10. Aislamiento de microorganismos en medio sólido en función del punto de muestreo

Muestras	Medio de cultivo	Número de replicas	Tiempo de verificación			Método de evaluación	Respuesta
			24 h	48 h	72 h		
PA 1	Agar nutritivo	3	24 h	48 h	72 h	Observación	Porcentaje de cobertura caja Petri
PA 2	Agar nutritivo	3	24 h	48 h	72 h	Observación	Porcentaje de cobertura caja Petri
PA 3	Agar nutritivo	3	24 h	48 h	72 h	Observación	Porcentaje de cobertura caja Petri
PA 4	Agar nutritivo	3	24 h	48 h	72 h	Observación	Porcentaje de cobertura caja Petri
PA 5	Agar nutritivo	3	24 h	48 h	72 h	Observación	Porcentaje de cobertura caja Petri

Las muestras fueron conservadas en incubadora a 37°C durante el tiempo de verificación.

### 3.4.2 Aislamiento en medio líquido y reproducción in-vitro

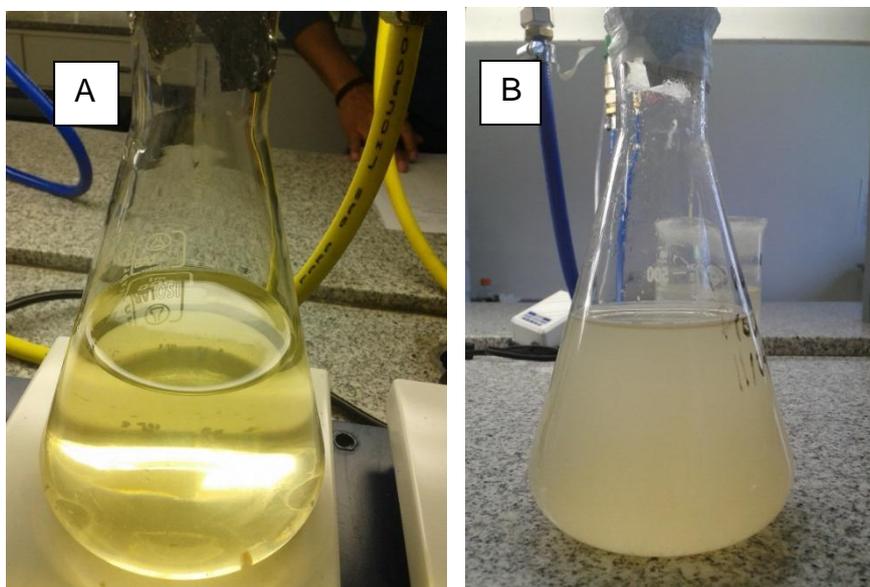
Se realizó una reproducción in-vitro en medio líquido. Se utilizó Caldo Agar Nutritivo, en un volumen de 500 ml, para inocular cultivos microbianos producto del mejor tratamiento de aislamiento según el método 3.4.1 (Tabla 12).

Tabla 11. Composición del caldo de cultivo medio líquido

extracto de carne	3 gramos
peptona	5 gramos
agua destilada	500 mililitros

Para lograr la reproducción in-vitro, se procedió a trasladar 3 o 4 veces las colonias de microorganismos con mejor crecimiento en el caldo de cultivo elaborado anteriormente. Para el proceso de reproducción In-Vitro: se evaluó el crecimiento, mediante un método de observación del cambio de color y turbidez de las muestras en un caldo de cultivo, y verificando la formación de biomasa.

Resultando como crecimiento positivo el cambio de color a más turbio (*Figura 20*), y la formación de biomasa en el fondo del matraz Erlenmeyer.



*Figura 20.* Resultado del crecimiento de biomasa

A: caldo de cultivo  
B: reproducción in-vitro

Las muestras fueron conservadas en matraz Erlenmeyer, sobre un bloque calefactor en constante movimiento a 37°C, en un tiempo de evaluación de 24 horas, 48 horas y 72 horas.

A continuación en la Tabla 12, se presenta el método de evaluación para el aislamiento en medio líquido y reproducción in-vitro.

Tabla 12. Réplicas de aislamiento en medio líquido

Muestra	Medio	Número de replicas	Tiempo de verificación			Método de evaluación	Respuesta
			24 horas	48 horas	72 horas		
PA 1	Caldo de cultivo	Tres	24 horas	48 horas	72 horas	Observación	Aumento de turbidez
PA2	Caldo de cultivo	Tres	24 horas	48 horas	72 horas	Observación	Aumento de turbidez

### 3.5 Inmovilización de microorganismos en soportes sólidos

#### 3.5.1 Selección del material de soporte

Para el proceso de inmovilización de microorganismos en soportes, se definieron 2 tipos de soportes; el primer soporte (*Figura 21.*), consistió en un material plástico con hendiduras, y el segundo tipo de soporte *Figura 22*, un filtro de malla biodegradable. A continuación, en la Tabla 13 se presentan los materiales y sus características.

Tabla 13. Soportes de inmovilización y tipo de material

N°	Tipo	Composición	Característica	Observación
1	Plástico	P.V.C (poli cloruro de vinilo)	Tubo corrugado de 1/2 pulgada	Hendiduras pronunciadas y porosas
2	Membrana	Fibra biodegradable	Estropajo para lavar	Fibras enredadas



*Figura 21. Soporte N° 1*



*Figura 22. Soporte N° 2*

### 3.5.2 Inmovilización pasiva de microorganismos degradadores

Se utilizó un método de inmovilización pasiva de microorganismos degradadores, el cual consistió en poner en contacto la población de microorganismos previamente aislados en un medio líquido con el medio de soporte sólido en condiciones de reproducción de microorganismos (Figura 23.), (Garzon et al., 2008).

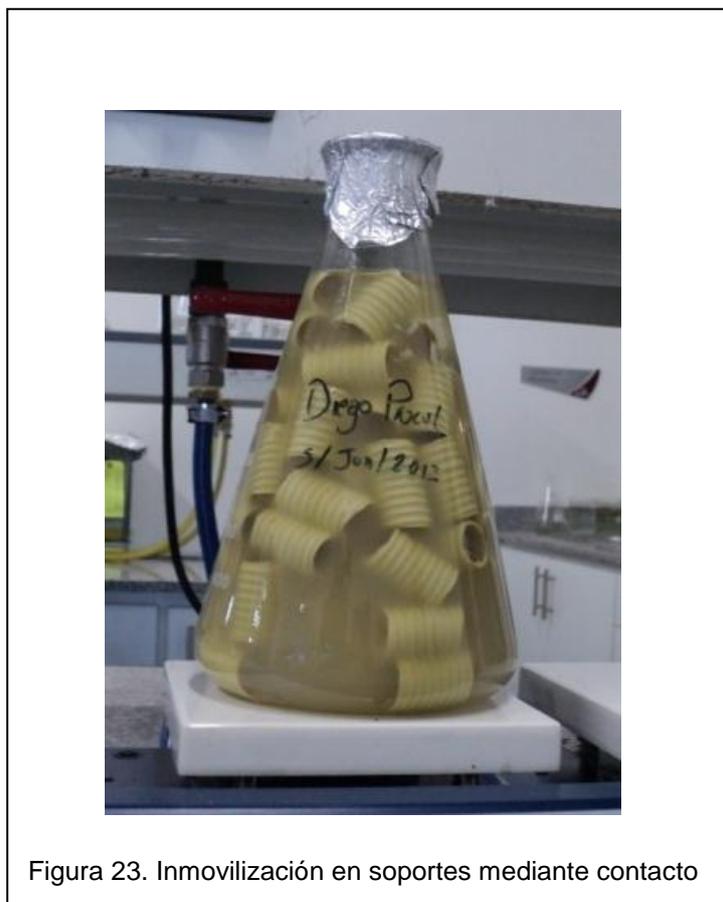


Figura 23. Inmovilización en soportes mediante contacto

Para el proceso de inmovilización de microorganismos en soportes, se preparó un caldo de cultivo, con composición similar a la de la reproducción In-Vitro, con los dos tipos soportes sumergidos en un matraz Erlenmeyer respectivamente de 500 ml y 20 g de soportes. Se procedió a mantener en constante agitación a 37C° durante 72 horas.

A continuación en la Tabla 14, se presentan las condiciones del procedimiento de inmovilización.

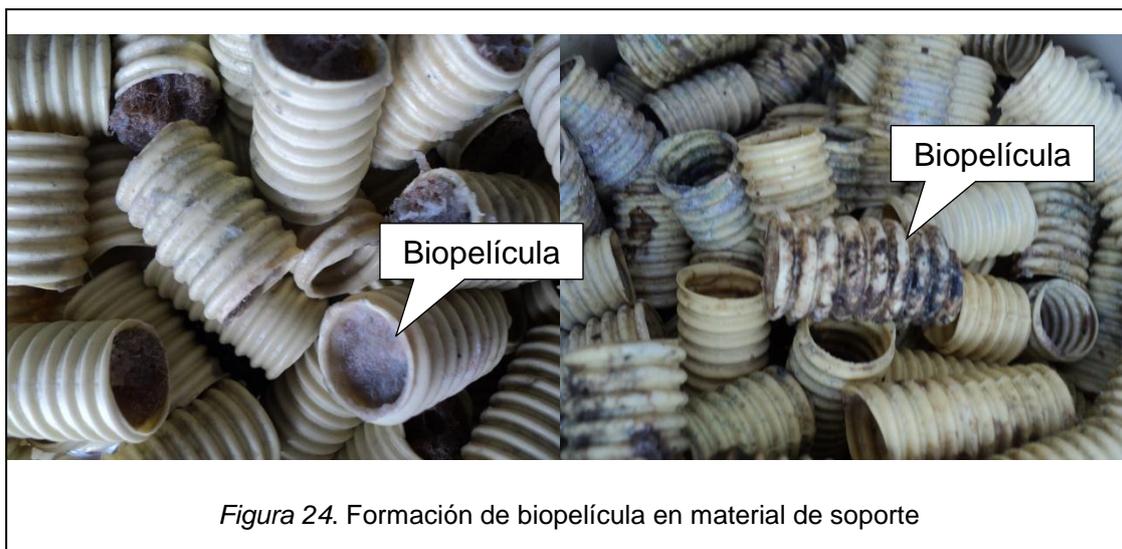
Tabla 14. Escenario de inmovilización de microorganismos en soportes sólidos

Soporte N°	Volumen del caldo	Composición del inóculo	Condiciones de inmovilización		Tiempo de retención	Respuesta
Soporte N° 1	500 ml	Extracto de carne	Agitación 200 RPM	Bloque calefactor 37 C°	72 h	Cambio de turbidez (NTU) de menor a mayor y formación de biopelícula
		Peptona				
		Agua destilada				
		Microorganismos aislados				
Soporte N° 2	500 ml	Extracto de carne	Agitación 200 RPM	Bloque calefactor 37 C°	72h	Cambio de turbidez (NTU) de menor a mayor y formación de biopelícula
		Peptona				
		Agua destilada				
		Microorganismos aislados				

### 3.5.3 Evaluación del material de soporte mediante adherencia de microorganismos

Se realizaron pruebas a escala de laboratorio para comprobar qué tipo de soporte sólido presenta mejores resultados en la inmovilización de microorganismos. Las respuestas a esta evaluación fueron:

- la formación de una biopelícula firme mediante la observación de adherencia al soporte sólido de tal manera que presentara resistencia al flujo del agua (*Figura 24*).
- El cambio de turbidez (NTU) de menor a mayor del caldo de cultivo como indicador de actividad microbiana dentro de la prueba de inmovilización.



Las condiciones de la prueba para la selección del material de soporte, se establecieron en función de las características necesarias, para que una unidad heterogénea de microorganismos en estudio, presente crecimiento de población adherida a un material de soporte sólido. Los parámetros de evaluación se definieron en función de:

- tiempo de retención,
- cambio de turbidez del caldo de cultivo,
- Adherencia de microorganismos.

Se estableció un método de observación de la producción de biomasa adherida al respectivo soporte, considerada como biopelícula. El producto de la mejor prueba fue conservado, y reproducido a una escala mayor para la remediación en los siguientes procesos.

A continuación, en la Tabla 15 se presenta el método para interpretar los resultados:

Tabla 15. Método de interpretación de resultados de inmovilización.

Soporte N°	Volumen de la muestra	Método	Producto	Cambio de turbidez		Presencia de biomasa adherida
				Turbidez inicial	Turbidez final	
1	500 ml	Observación	Biofilm	#	#	Muy buena
						Buena
						Aceptable
2	500 ml	Observación	Biofilm	#	#	Muy buena
						Buena
						Aceptable

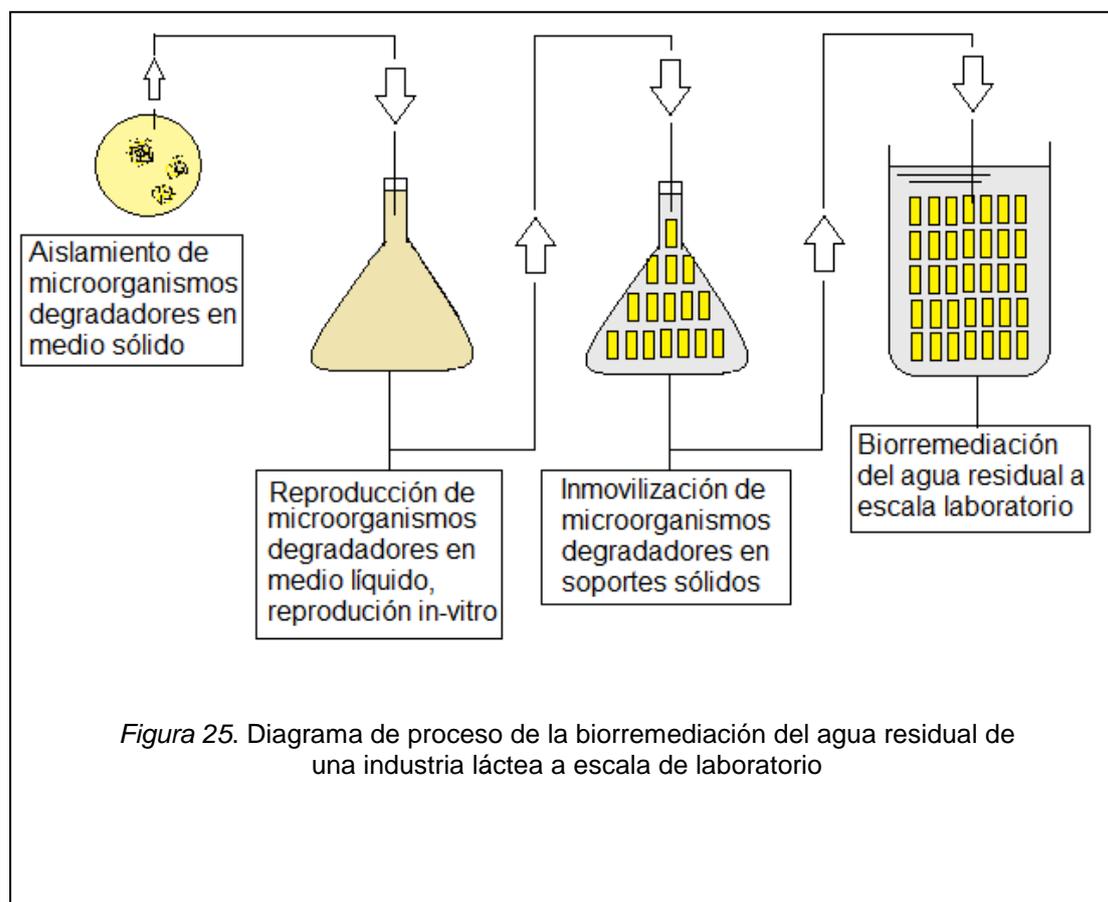
Para valorar el criterio de la presencia de biomasa adherida se asignaron los siguientes valores cuantitativos a cada valor cualitativo (Tabla 16).

Tabla 16. Criterio de valoración de adherencia en soportes solidos

Presencia de biomasa adherida	
Valor cualitativo	Valor cuantitativo
Muy Buena	3
Buena	2
Aceptable	1

### 3.6 Biorremediación del agua residual a escala laboratorio

Para el proceso de biorremediación del agua residual proveniente de una industria de lácteos a escala laboratorio, Se tomó el mejor resultado de la inmovilización de microorganismos en medio sólido y reproducción in-vitro, y el mejor resultado de la inmovilización en soportes. Se utilizó un tiempo de retención de 24 horas. Se utilizaron 12 litros de agua residual, en botellas plásticas con soportes con microorganismos inmovilizados. A continuación, en la *Figura 25* se presenta un esquema de la biorremediación del agua residual a escala laboratorio.



Se definió las condiciones iniciales como constantes para la biorremediación del agua residual a escala laboratorio presentado a continuación en la Tabla 17.

Tabla 17. Condiciones iniciales para la biorremediación a escala laboratorio

Constante	Condición
Tipo de soporte	Combinado soporte N° 1 y soporte N° 2
Volumen de soporte	8 l
Volumen del agua residual a tratar	12 l
Tiempo de retención	24 h
Parámetros de control	Cambio de turbidez
	Adherencia

Las variables independientes se presentan a continuación en la Tabla 18. Estas variables fueron distribuidas en combinaciones completamente aleatorias, para definir el mejor tratamiento de una muestra de agua residual proveniente de una industria de producción de lácteos.

Tabla 18. Variables independientes para la biorremediación a escala laboratorio

Variables
Aire
Temperatura
Nutrientes

Para la inyección de aire se utilizó una bomba de aire. Para la temperatura se utilizó un motor eléctrico sumergible, y para los nutrientes se utilizó fertilizante en polvo soluble con concentraciones de nitrógeno y fósforo disueltos al 10% en una solución de agua destilada.

### 3.6.1 Diseño experimental

Para la biorremediación del agua residual a escala laboratorio, se utilizó un diseño factorial completamente aleatorio ( $2^3$ ) (DFCA( $2^3$ )).

A continuación en la Tabla 19, se presenta la distribución de las variables en función de tres factores por dos niveles.

Tabla 19. Matriz factorial por niveles para la biorremediación a escala laboratorio

factores	Niveles	
	(+)	(-)
Aire	1 Inyección de aire	0 Sin aire
Temperatura	30°C	16°C
Nutrientes (fósforo y nitrógeno)	10%	0%

En este diseño se plantearon 8 tratamientos en función del DFCA ( $2^3$ ) para la biorremediación del agua residual a escala laboratorio. Se definió un número de tres replicas por tratamiento. A continuación en la Tabla 20 se presenta la matriz del (DFCA ( $2^3$ )).

Tabla 20. Matriz de combinación de factores y niveles para la biorremediación a escala laboratorio

Tiempo de retención en horas	Replica	Tratamiento	Factores		
			Aire	Temperatura	Nutrientes
24	R1	1	(-)	(-)	(-)
	R2	1	(-)	(-)	(-)
	R3	1	(-)	(-)	(-)
24	R1	2	(+)	(+)	(-)
	R2	2	(+)	(+)	(-)
	R3	2	(+)	(+)	(-)
24	R1	3	(+)	(-)	(+)
	R2	3	(+)	(-)	(+)
	R3	3	(+)	(-)	(+)
24	R1	4	(+)	(+)	(+)
	R2	4	(+)	(+)	(+)
	R3	4	(+)	(+)	(+)
24	R1	5	(+)	(-)	(-)
	R2	5	(+)	(-)	(-)
	R3	5	(+)	(-)	(-)
24	R1	6	(-)	(+)	(+)
	R2	6	(-)	(+)	(+)
	R3	6	(-)	(+)	(+)
24	R1	7	(-)	(-)	(+)
	R2	7	(-)	(-)	(+)
	R3	7	(-)	(-)	(+)
24	R1	8	(-)	(+)	(-)
	R2	8	(-)	(+)	(-)
	R3	8	(-)	(+)	(-)

Para definir el mejor tratamiento en la biorremediación del agua residual a escala laboratorio, se utilizaron tres respuestas:

- R1: se tomó en cuenta el cambio en la turbidez (NTU) de una muestra de agua residual. tomando como resultado positivo el cambio de la medición de turbidez (NTU) de mayor a menor mediante un método de medición en Turbidímetro.
- R2: se tomó en consideración la producción de biomasa (mg/mg) en los soportes, tomando como resultado positivo el incremento de biomasa inmovilizada en un soporte, mediante un método de observación en función del tiempo.
- R3: se hizo referencia a la producción de material sedimentable (ml/ml) en una muestra de 500 ml, de cada combinación en tratamiento, tomando como resultado positivo la observación de material sedimentable, mediante un método de observación en función del tiempo.

El mejor tratamiento sirvió como base para la experimentación a escala piloto. De los resultados de la experimentación y de las pruebas de biorremediación a escala laboratorio se definió; el proceso de biofiltración para el tratamiento de agua residual de una industria de producción de lácteos de la Parroquia de San Miguel de Nono, para replicar a escala piloto.

### **3.7 Diseño del proceso de biofiltración**

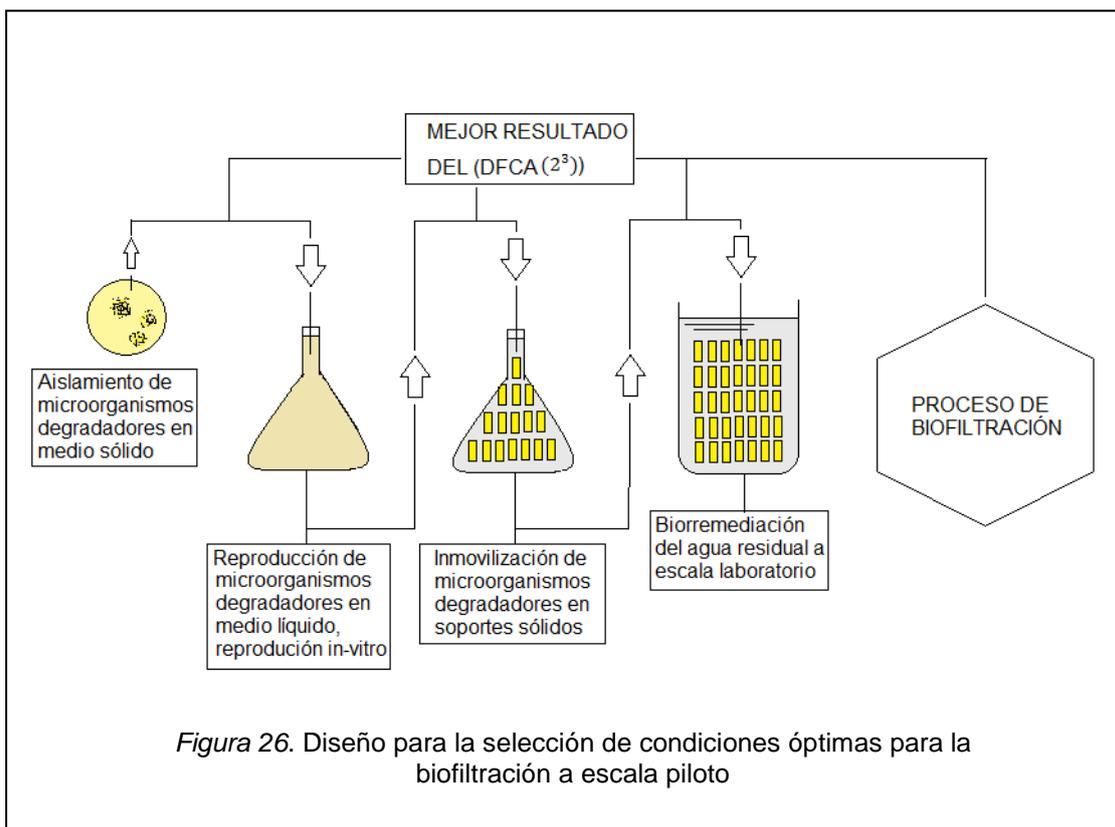
Para definir el proceso de biofiltración, se tomaron los mejores resultados, de los métodos de:

- Aislamiento de microorganismos degradadores sección 3.4,
- Inmovilización de microorganismos en soportes sección 3.5,
- Biorremediación del agua residual a escala laboratorio sección 3.6.

De esta manera, tomando los mejores resultados de las pruebas antes mencionadas, se recalcó la respuesta positiva de las pruebas independientes de cada método. Se definió el procedimiento a ser replicado de cada resultado

positivo, y se concretó un proceso de biofiltración, el cual fue puesto en marcha a escala de reactor piloto (FB).

A continuación, en la *Figura 26*, se presenta el criterio de selección a partir del DFCA ( $2^3$ ).



### 3.8 Diseño e implementación del filtro biológico (FB)

Para el diseño del equipo piloto, primero se identificó de manera general los elementos que intervendrían en el diseño tales como:

- Volumen del agua residual por carga,
- Método de alimentación,
- Cantidad de soportes inmovilizados,
- Disposición de los soportes inmovilizados,
- Aireación del sistema,
- Temperatura del sistema,
- Circulación del sistema,

- Sedimentación secundaria,

Se concretó parámetros y constantes específicas para cada elemento mencionado en la lista anterior, a continuación en la Tabla 21, se muestran las especificaciones de cada elemento:

Tabla 21. Parámetros de diseño del reactor piloto

Elementos generales	Criterio específico	Observaciones
Volumen del agua residual por carga	55-60 l por carga	Representa el 10%-12% del volumen de agua en una descarga real de la planta de lácteos de San Miguel de Nono
Método de alimentación	Alimentación por lotes (batch), con recirculación de agua	La alimentación es por lotes debido a que el agua residual que sale de la planta se da solo 2 a 3 veces al día en los procesos de lavado de la planta
Cantidad de soportes inmovilizados	140 metros de manguera corrugada como soporte plástico, en pedazos de 15 mm, porosidad de 98 %	La cantidad necesaria para cubrir 60 litros de agua, si a escala laboratorio se usaron 5 metros por 12 litros
Disposición de soportes inmovilizados	Cilindro de 3,5 m por un radio de 160mm	El cilindro fue dividido en 3 etapas por fines prácticos
Aireación del sistema	Bomba sumergible de aire de 2500 sp	La bomba sumergida en el área donde se disponga el agua residual
Temperatura del sistema	Bomba sumergible de aire, material y color del sistema	Transferencia de energía calorífica de la bomba al agua, absorción de calor de energía solar
Circulación del sistema	Bomba de circulación periférica de 0.5 hp de potencia	Uso solo del 10 % de la potencia de la bomba
Sedimentación secundaria	Zeolita activada	Mufla 250° C durante 3 horas

Para la sedimentación secundaria, se utilizó un filtro de zeolita activada en el laboratorio con 100 ml de zeolita activada por cada 500ml de muestra de agua residual. La zeolita activada fue utilizada debido a la capacidad de atracción de iones acelerando la capacidad de sedimentación de los sólidos presentes en el agua residual. En función de estos elementos y especificaciones se identificaron los módulos para el reactor piloto, los cuales se presentan a continuación;

- Tanque homogeneizador: tanque donde se dispuso el volumen de agua residual
- Etapa 1: primer cilindro con soportes inmovilizados
- Etapa 2: segundo cilindro con soportes inmovilizados
- Etapa 3: tercer cilindro con soportes inmovilizados
- Sistema de circulación y recirculación
- Sedimentación secundaria con zeolita activada en laboratorio

Para la construcción del reactor piloto, primero se identificaron los materiales en función de los componentes y elementos definidos en el diseño, esquema que se presenta a continuación en la Tabla 22.

Tabla 22. Esquema de selección de materiales

Componente	Característica	material
Tanque homogeneizador	Volumen 55-60 l	Bidón de plástico azul con capacidad para 65 l
Etapa 1	Contiene soportes con microorganismos inmovilizados	4 m de tubo de pvc, de 160 mm de diámetro en color blanco.
Etapa 2		
Etapa 3		
Sistema de circulación	Circulación y recirculación del agua residual a través del sistema	6 m de tubería para agua caliente. Accesorios ( uniones, codos, uniones universales, llaves de toma de muestra, válvulas y válvulas check)
	Entrada del agua al tanque homogeneizador proveniente del sistema de recirculación	Cabeza para ducha

### 3.8.1 Descripción del funcionamiento y operación del reactor piloto filtro biológico

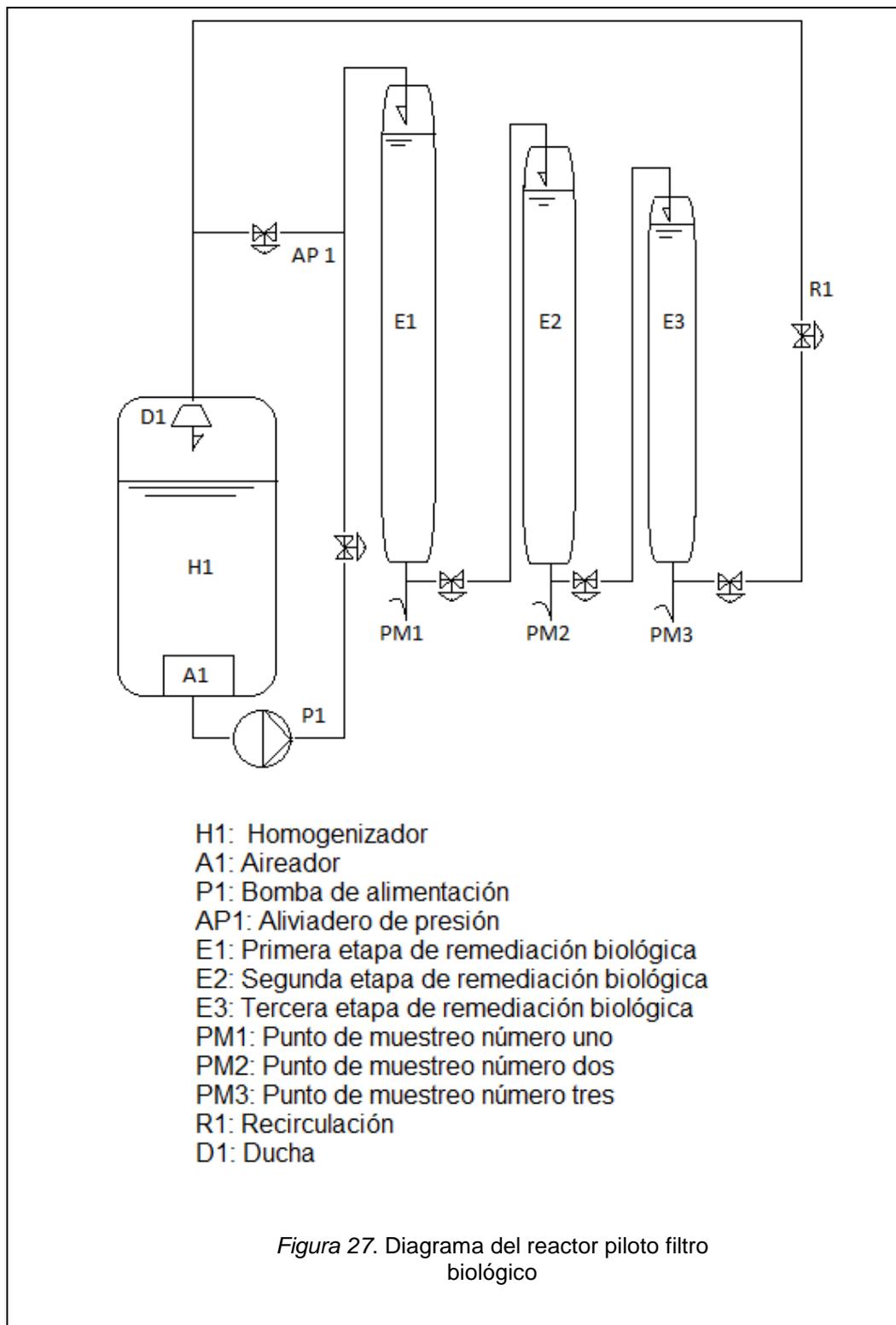
La carga del agua residual se realizó en el tanque homogenizador (H1), entre 55 l y 60 l por carga. Se encendió el sistema de aireación (A1) ubicado dentro del homogenizador. Se procedió a cerrar todas las válvulas y llaves de los puntos de muestreo (PM1, PM2, PM3), y se abrió completamente la válvula del sistema de recirculación (R1). Se dejó abierta la válvula de aliviadero de presión hasta el 15% de su capacidad. Se abrió la válvula de inundado de la bomba de circulación (P1). Una vez realizados todos estos procedimientos, se encendió la bomba de circulación (P1) para el funcionamiento completo del sistema.

El agua residual circuló por el sistema entrando en la primera etapa del filtro biológico (E1), por la segunda etapa (E2), y por la tercera etapa (E3). Cada una de las etapas estaba rellena con microorganismos previamente inmovilizados en soportes sólidos combinados de material plástico soporte N°1 y de fibra vegetal soporte N°2. Cada etapa en la parte superior presenta un orificio de  $\frac{3}{4}$  de pulgada, que funcionan como respiraderos del sistema por los cuales sale CO<sub>2</sub> del proceso de metabolismo de los microorganismos. Al llenarse la tercera etapa (E3), el 100% del agua residual empieza a recircular entrando de nuevo al tanque homogenizador por una ducha (D1) ubicada en la parte superior del tanque homogenizador.

Procedimientos de operación:

- Cargar (H1) con 55 l a 60 l de agua residual,
- Encender (A1),
- Cerrar válvulas y llaves de (PM1, PM2, PM3),
- Abrir válvula (R1),
- Ubicar (AP1) al 15 %,
- Abrir válvula de inundado de (P1),
- Encender (P1).

A continuación en la *Figura 27*, se presenta el diagrama de flujo del reactor piloto filtro biológico.



Seguido a la selección de materiales y en base al diseño se procedió a la construcción y prueba del reactor piloto (FB) (Figura 28).

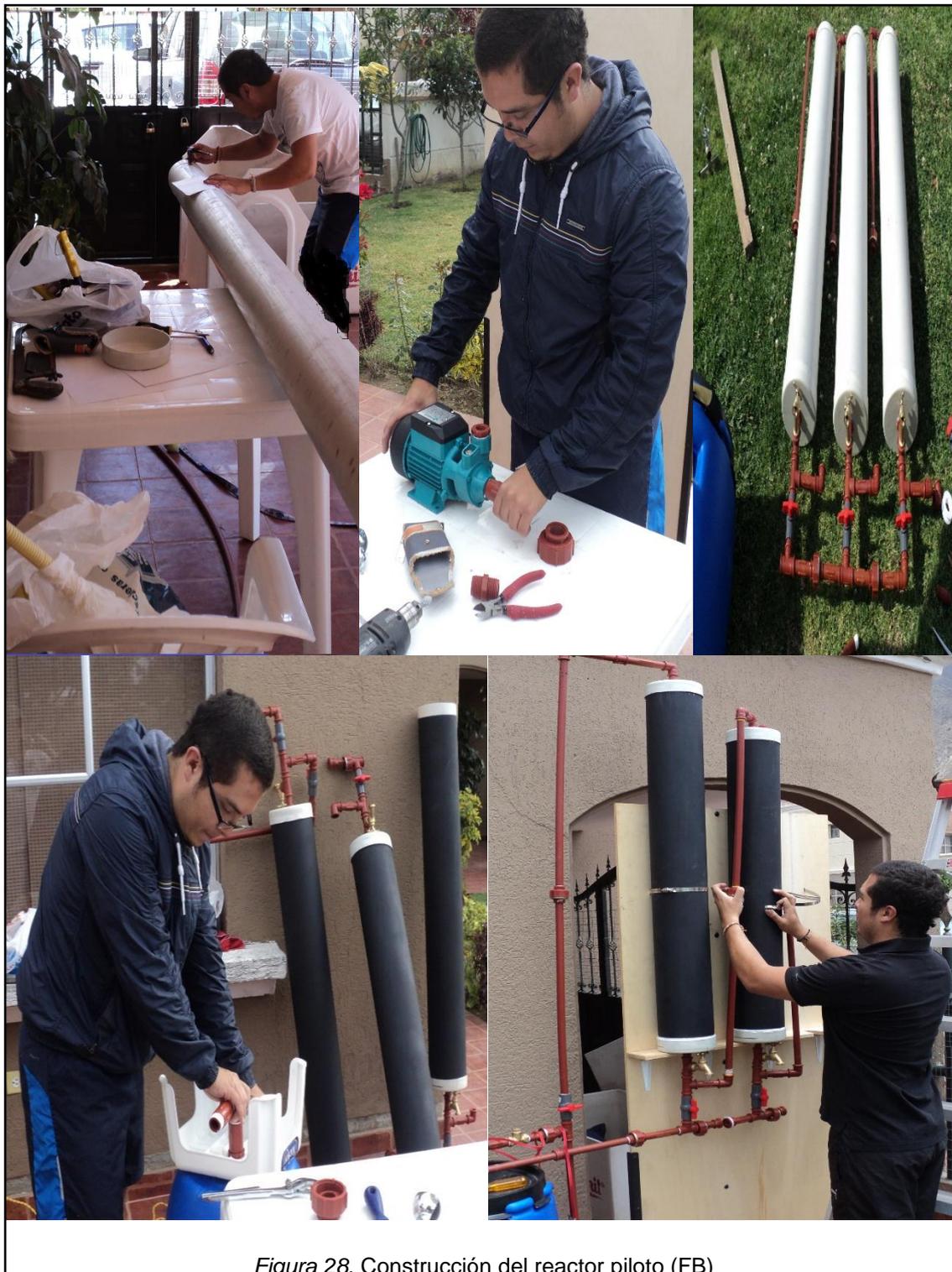
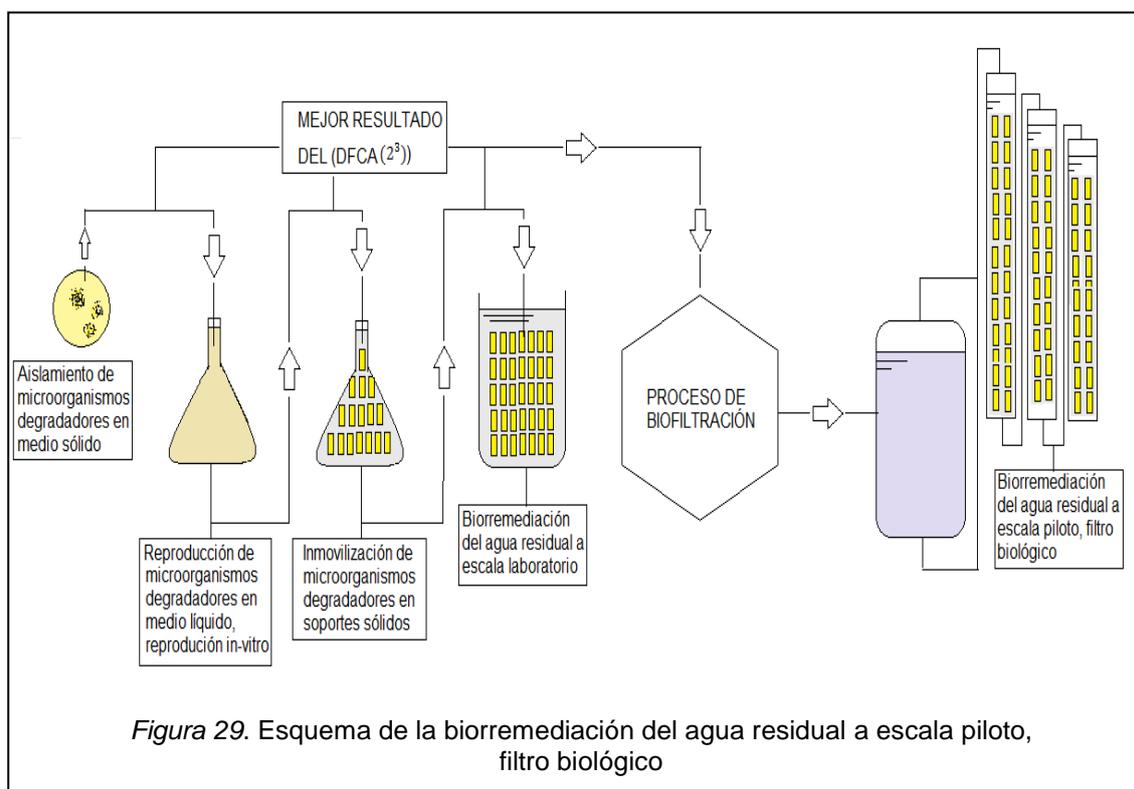


Figura 28. Construcción del reactor piloto (FB)

### 3.9 Biorremediación del agua residual a escala piloto (FB)

Una vez diseñado e implementado el equipo, para la biorremediación a escala de reactor piloto, se tomó el mejor resultado de la prueba a escala laboratorio, y se replicó a escala de reactor piloto filtro biológico (FB).

Para determinar el caudal de entrada al sistema, se realizó una prueba con 3 caudales. La prueba consistió en hacer pasar cada caudal por (E1) *Figura 27*, con soportes con biopelícula y revisar si hubo pérdida de biopelícula por efecto de lavado. El caudal que tuviese menos efecto mecánico sobre la biopelícula fue el seleccionado. Para determinar el mejor caudal se trabajó disminuyendo la presión de la bomba de alimentación con una válvula reductora; siendo 3,5 l/m el caudal con menos efecto mecánico sobre la biopelícula, correspondiente al 15% del uso de la bomba de alimentación. A continuación en la *Figura 29*, se presenta un diagrama de proceso de la biorremediación a escala laboratorio.



El caudal de salida en la recirculación y el volumen de agua residual, se describen a continuación en la Tabla 23, donde se presentan las condiciones iniciales de operación como constantes.

Tabla 23. Constantes biorremediación reactor piloto

constantes
volumen de la carga 55 l
caudal de entrada 3,5 l/m
caudal de salida 1,5 l/m
recirculación
tiempo de retención 18 h
sedimentación secundaria zeolita activada
nutrientes nitrógeno y fósforo solución al 10%
temperatura 30°C
Aire inyección continua

Para la aireación, se utilizó una bomba de aire sumergible ubicada en el homogenizador. La temperatura fue generada por transferencia de energía de la bomba sumergible, y se utilizó la energía del sol al ser absorbida por los cilindros pintados de negro de cada etapa.

Como variable independiente se tomó la presencia de sólido suspendido como sobrenadante que provenía del pre-tratamiento in-situ en la planta de lácteos a este sobrenadante se lo identifico como **SUSTRATO, este sustrato está conformado por restos de proteína, lípidos carbohidratos entre otros.** De esta manera se formularon dos escenarios. Un primer escenario con la presencia de sustrato para una carga de 55 l. Un segundo escenario sin la presencia de sustrato para una carga de 55 l, para retirar el sustrato se realizó un pre-tratamiento el cual consistió en dejar reposar el agua residual en (H1) durante 12 horas, y retirar el sustrato que por efecto de decantación se dispuso en la parte superior de (H1).

### 3.9.1 Diseño experimental

Para la biorremediación del agua residual a escala piloto (FB), se utilizó un diseño aleatorio en función de un intervalo de tiempo comprendido entre 0h-18h. Resultando así en dos escenarios evaluados descritos a continuación en la Tabla 24.

Tabla 24. Diseño experimental para Biorremediación en reactor piloto (FB)

Escenario	Tratamientos	Tiempo de retención (h)	Variable independiente	Respuesta	Observación
N°1	0	0	Con sustrato	Cambio de turbidez y pH	Con la presencia de sustrato proveniente de la planta de lácteos
	1	2			
	2	4			
	3	6			
	4	8			
	5	10			
	6	12			
	7	14			
	8	16			
	9	18			
N°2	0	0	Sin sustrato	Cambio de turbidez y pH	Con pre-tratamiento sin la presencia de sustrato proveniente de la planta de lácteos
	1	2			
	2	4			
	3	6			
	4	8			
	5	10			
	6	12			
	7	14			
	8	16			
	9	18			

Se realizaron tres réplicas para cada uno de los escenarios. Cada tratamiento es considerado después de dos horas razón por la cual se evaluaron un total de 9 tratamientos (tratamiento 0-tratamiento9) para cada escenario. Se utilizó como respuestas para verificar el proceso de tratamiento, la turbidez y el pH en función del tiempo, parámetros que se midieron al menos tres veces por muestra cada dos horas durante 18 horas, la turbidez y el pH se midieron al momento de la toma de muestra en (PM3) (Figura 30) y, y después de la sedimentación secundaria.



La temperatura fue monitoreada durante cada muestreo, en el tanque homogenizador, y en cada una de las etapas durante las 18 horas de experimentación para cada escenario.

## 4. Resultados

En el presente capítulo, se muestran los resultados en forma de tablas y figuras, de acuerdo con las metodologías del trabajo experimental.

De la biorremediación del agua residual a escala laboratorio mediante un diseño factorial completamente aleatorio ( $2^3$ ) (DFCA( $2^3$ )), se obtuvo que el mejor resultado fue el tratamiento N° 4 con valores (+) en la combinación de las 3 variables analizadas.

De la biorremediación del agua residual a escala piloto mediante el diseño aleatorio en función del tiempo (0h-18h), se obtuvo el mejor tratamiento el cual fue el tratamiento N° 5 con la presencia de sustrato (proteína, lípidos, carbohidratos entre otros), el cual correspondió a 10 horas de retención en el biofiltro y con sedimentación secundaria mediante zeolita activada. A continuación en las siguientes secciones se referirá a este resultado como el mejor tratamiento.

### 4.1 Caracterización físico química del agua residual

A continuación, se presentan los resultados de la caracterización físico-química, respecto a dos muestras: una primera (Muestra N°1) sin tratamiento, y una segunda (Muestra N°2) con el mejor tratamiento de la biorremediación a escala piloto (FB). La caracterización físico química está en función de los parámetros pH, turbidez (NTU), nitrógeno total (mg/L), fósforo total (mg/L), DQO (mg/L), y DBO<sub>5</sub> (mg/L) (Anexo 1).

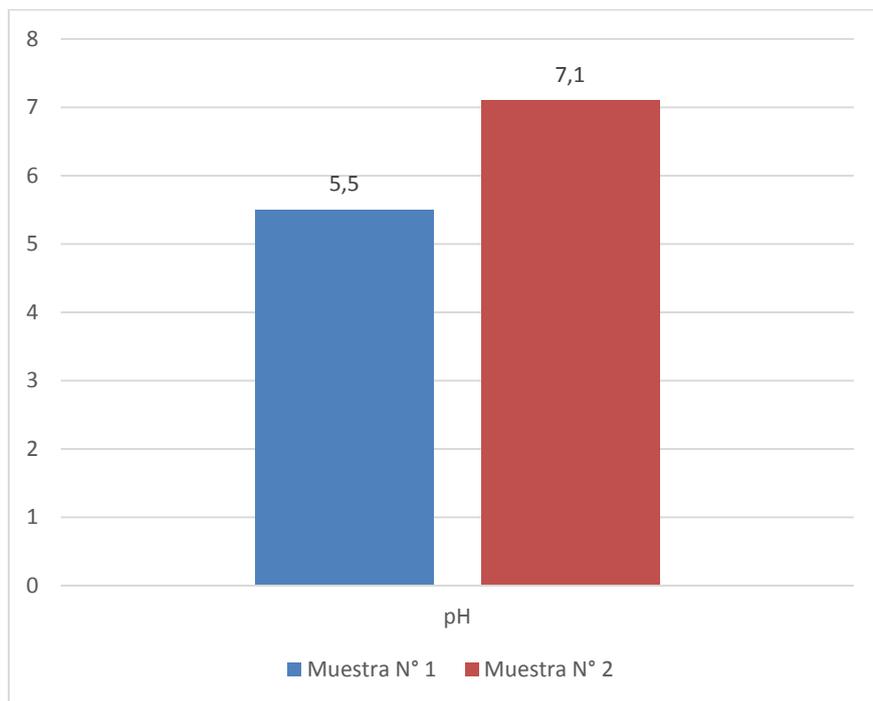


Figura 31. Caracterización físico-química (pH)

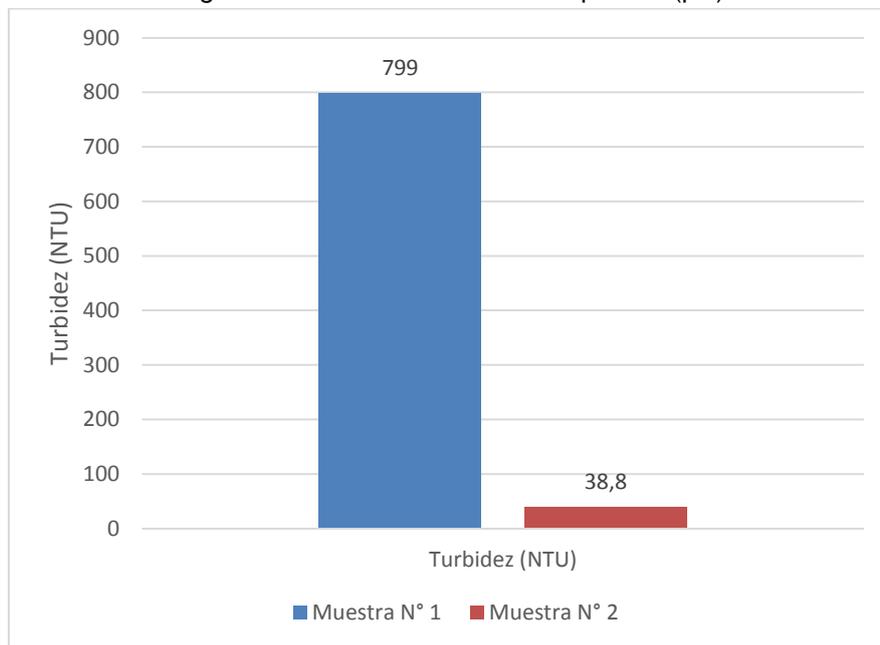


Figura 32. Caracterización físico-química (turbidez)

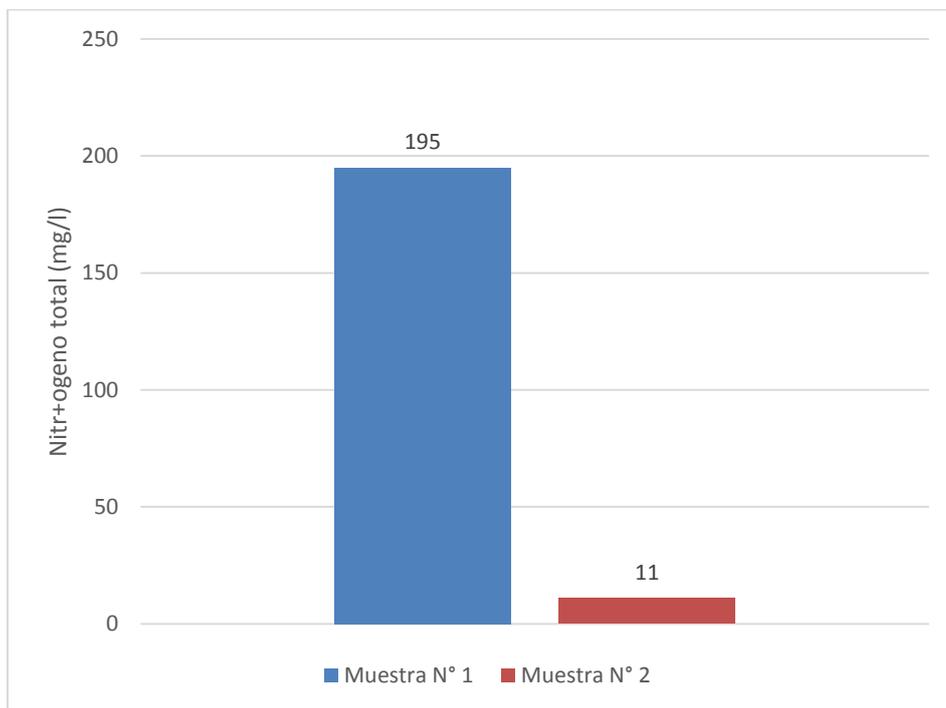


Figura 33. Caracterización físico-química (nitrógeno total)

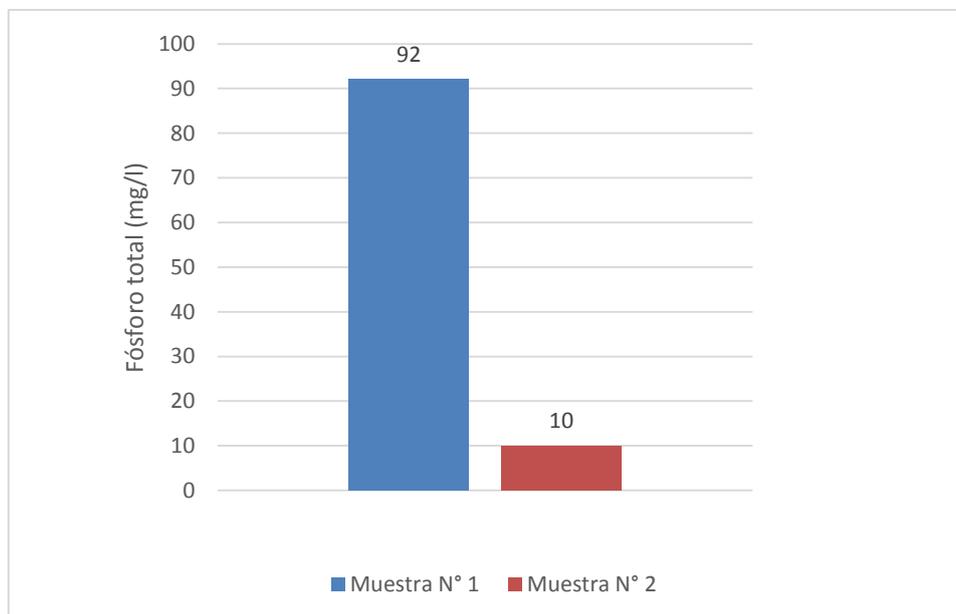


Figura 34. Caracterización físico-química (fósforo total)

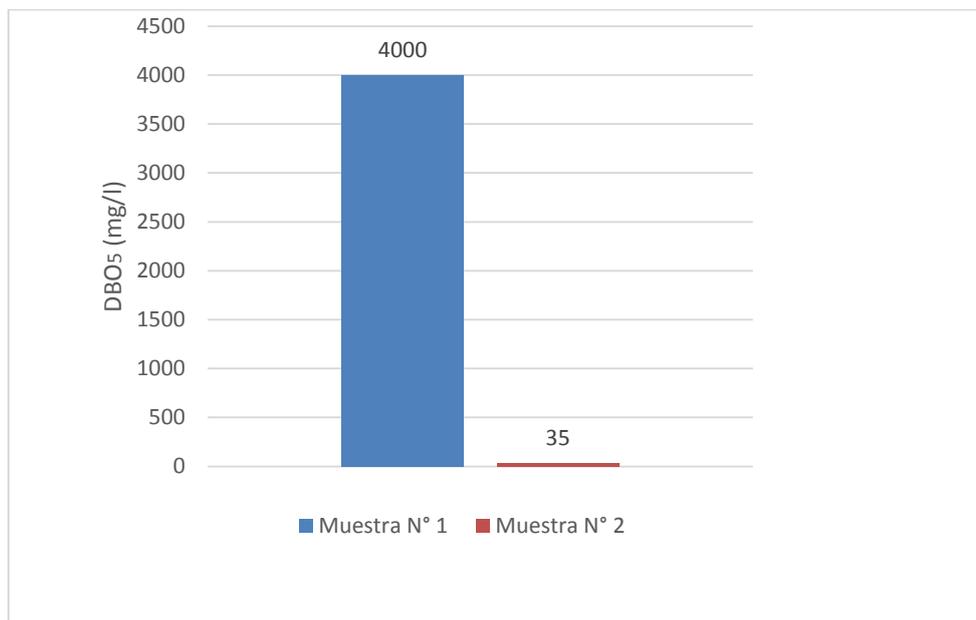


Figura 35. Caracterización físico-química (DBO5)

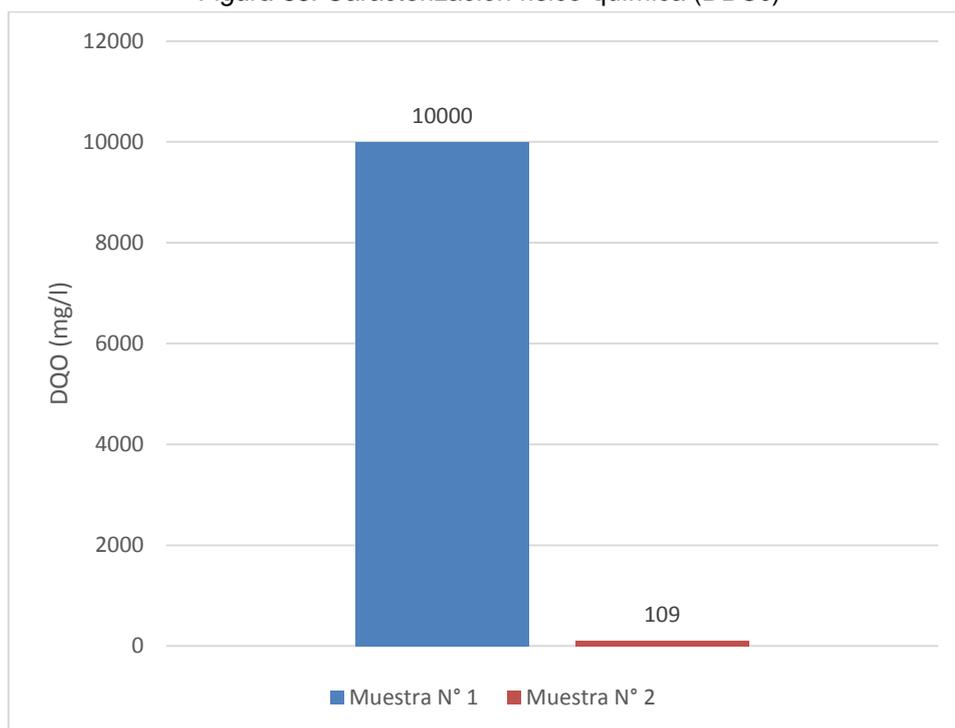
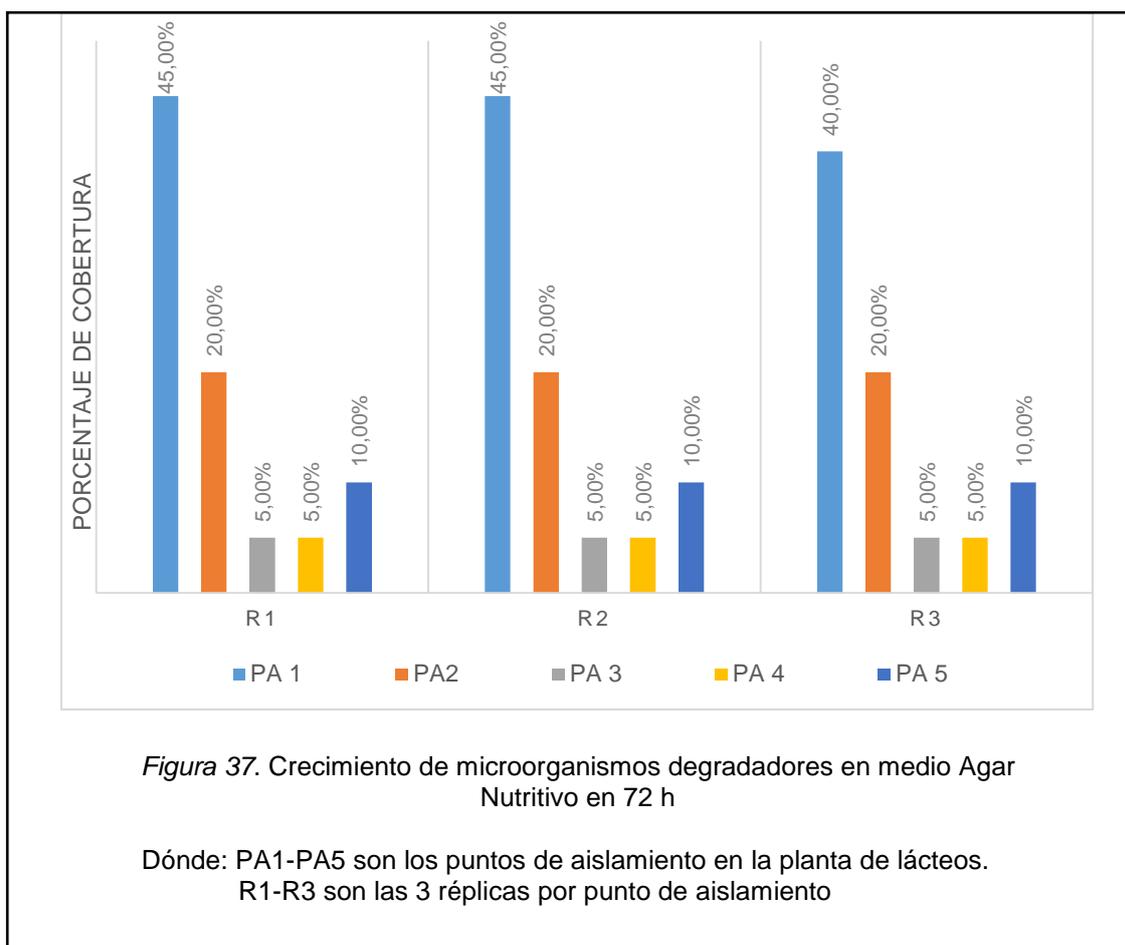


Figura 36. Caracterización físico-química (DQO)

#### 4.1 Aislamiento de microorganismos degradadores en aguas residuales de una planta de lácteos

Sobre el aislamiento y reproducción de microorganismos degradadores, se presentan los resultados de: aislamiento en medio sólido, y reproducción In-vitro. A continuación en la *Figura 37*, se presentan los resultados referentes a aislamiento y crecimiento en medio sólido para 72 h, la tabla de los valores numéricos, se encuentra en la sección de anexos Anexo 2.



A continuación en la

Tabla 25, se presentan los resultados de la reproducción i-vitro.

Tabla 25. Resultados de reproducción in-vitro

punto de muestreo	medio	replica	cambio de turbidez en el caldo de cultivo (NTU)				presencia de biomasa en 72 h
			valor inicial	valor 24 horas	valor 48 horas	valor 72 horas	
PA 1	caldo de cultivo	R1	36	36	86	113	si
		R2	35	36	88	116	si
		R3	36	36	89	112	si
PA 2	caldo de cultivo	R1	36	35	76	98	si
		R2	36	36	75	101	si
		R3	35	37	72	97	si

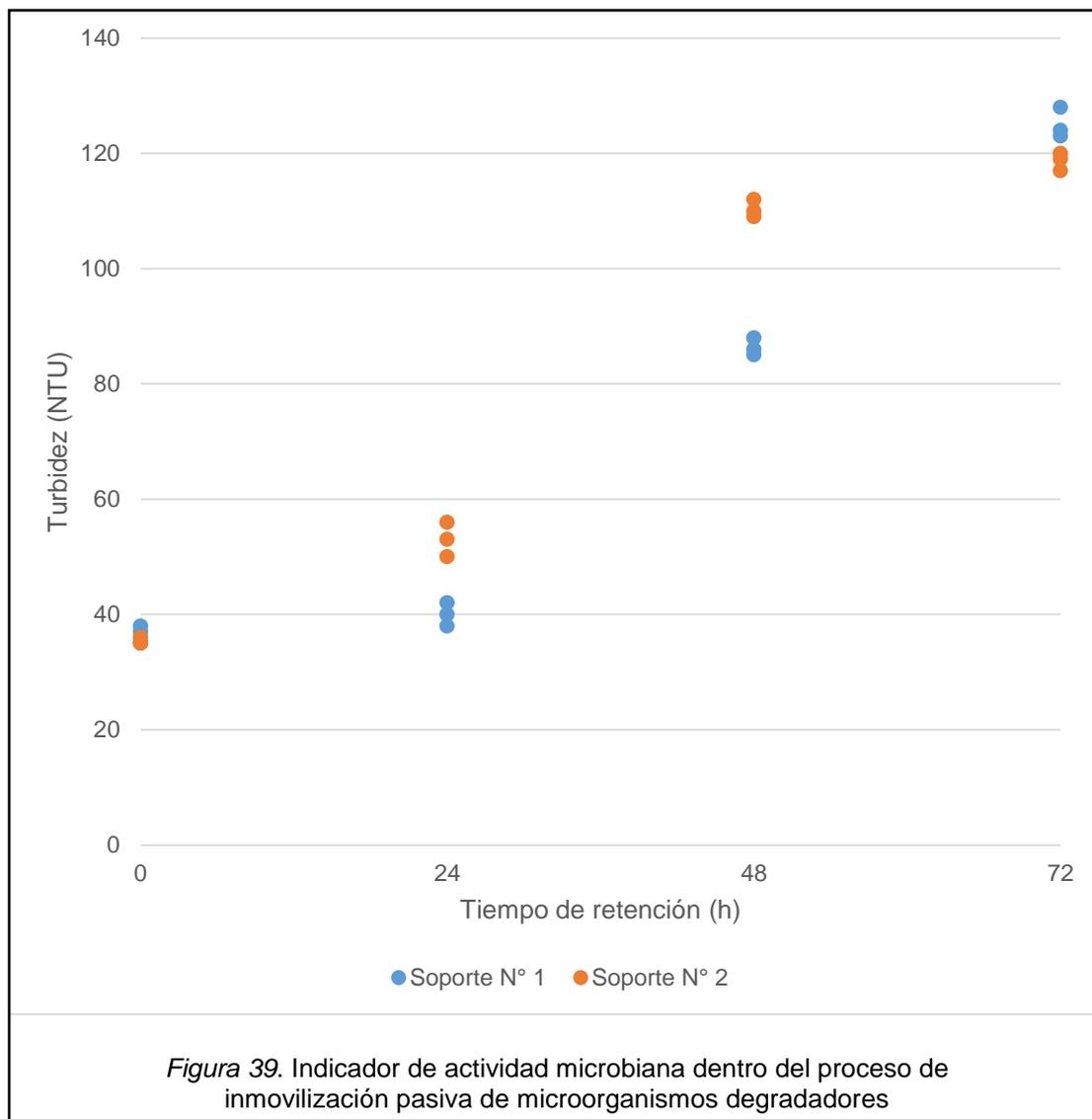
#### 4.2 Inmovilización pasiva de microorganismos degradadores en dos tipos de soportes sólidos

Tomando los resultados de la reproducción in-vitro *Figura 38*, se realizó un proceso de inmovilización pasiva por método de contacto con dos materiales de soporte sólidos sumergidos, descritos en el capítulo de metodología sección 3.5.2.

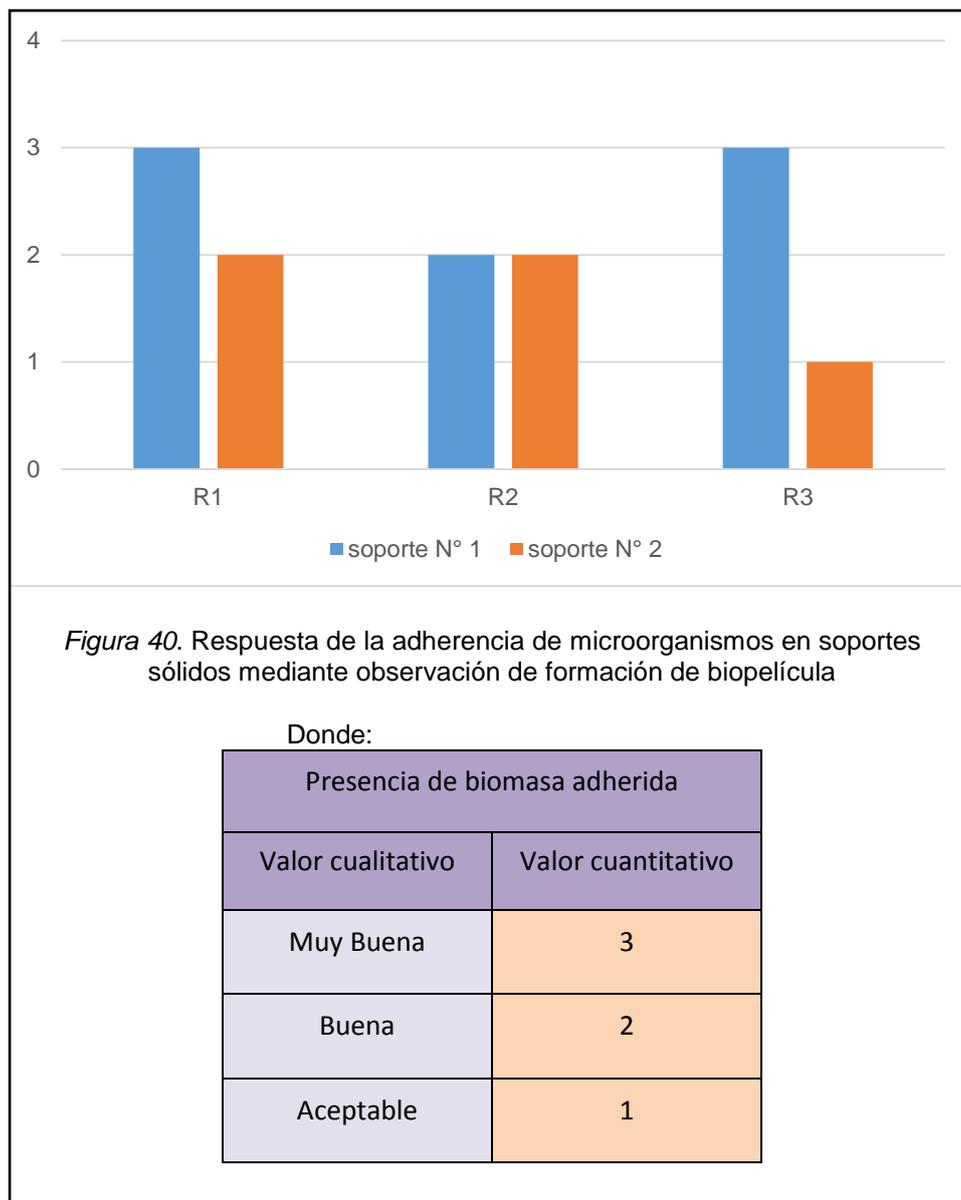


*Figura 38.* Inóculo de microorganismos de la reproducción in-viro

A continuación en la *Figura 39*, se presentan los resultados de actividad microbiana mediante el cambio de turbidez de menor a mayor en el caldo de cultivo del método de inmovilización pasiva.



En la *Figura 40*, se presentan los resultados de la formación de biopelícula mediante observación de adherencia de microorganismos en dos tipos de soportes sólidos evaluados en la inmovilización pasiva por método de contacto.



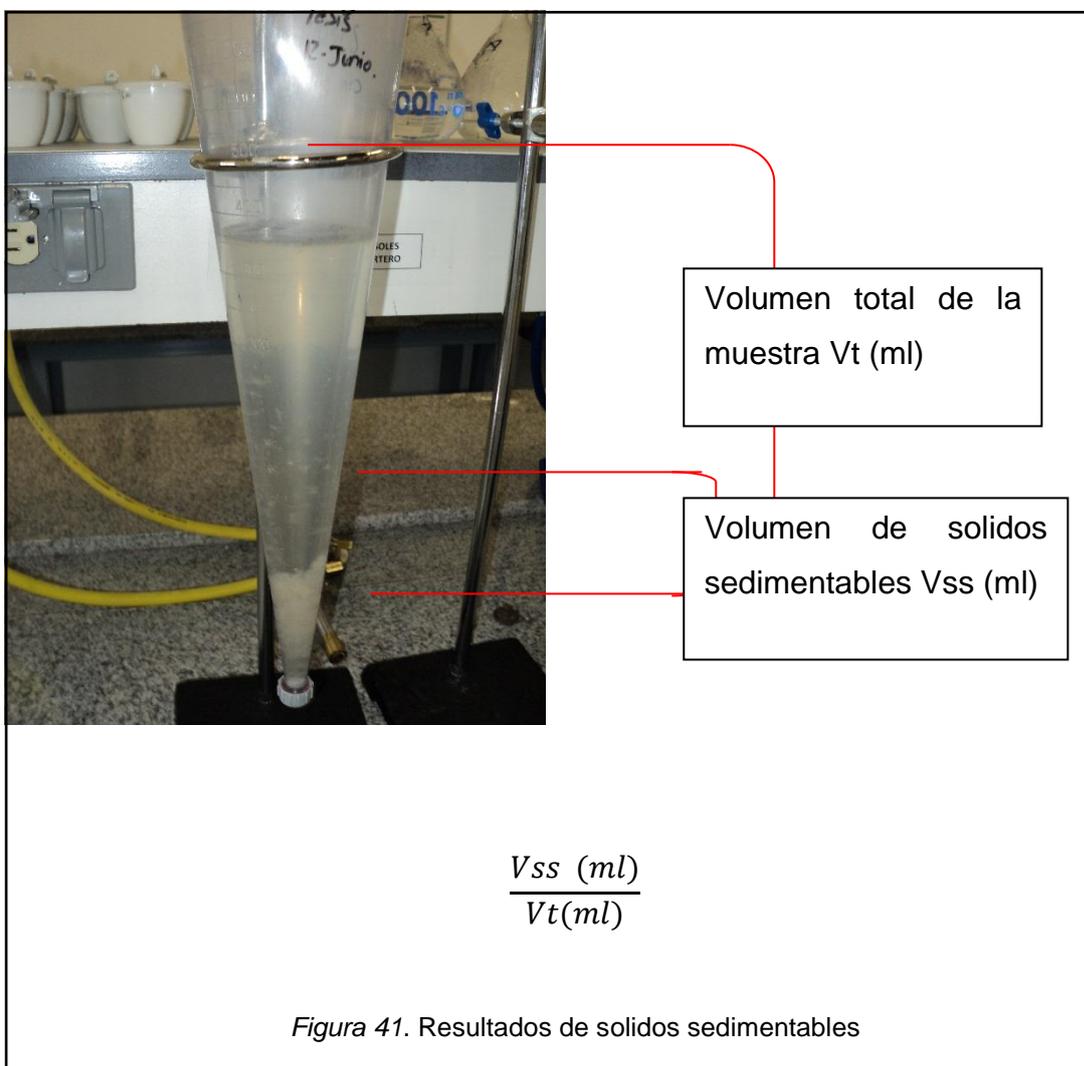
### 4.3 Resultados del DFCA ( $2^3$ ) para la biorremediación a escala laboratorio

Como resultado del diseño factorial completamente aleatorio ( $2^3$ ), se evaluaron 8 tratamientos resultantes de la combinación de 3 factores en 2 niveles. A continuación en la Tabla 26, se presentan los resultados del diseño factorial completamente aleatoria ( $2^3$ ) de biorremediación a escala laboratorio.

Tabla 26. Resultados DFCA (2<sup>3</sup>) biorremediación a escala laboratorio

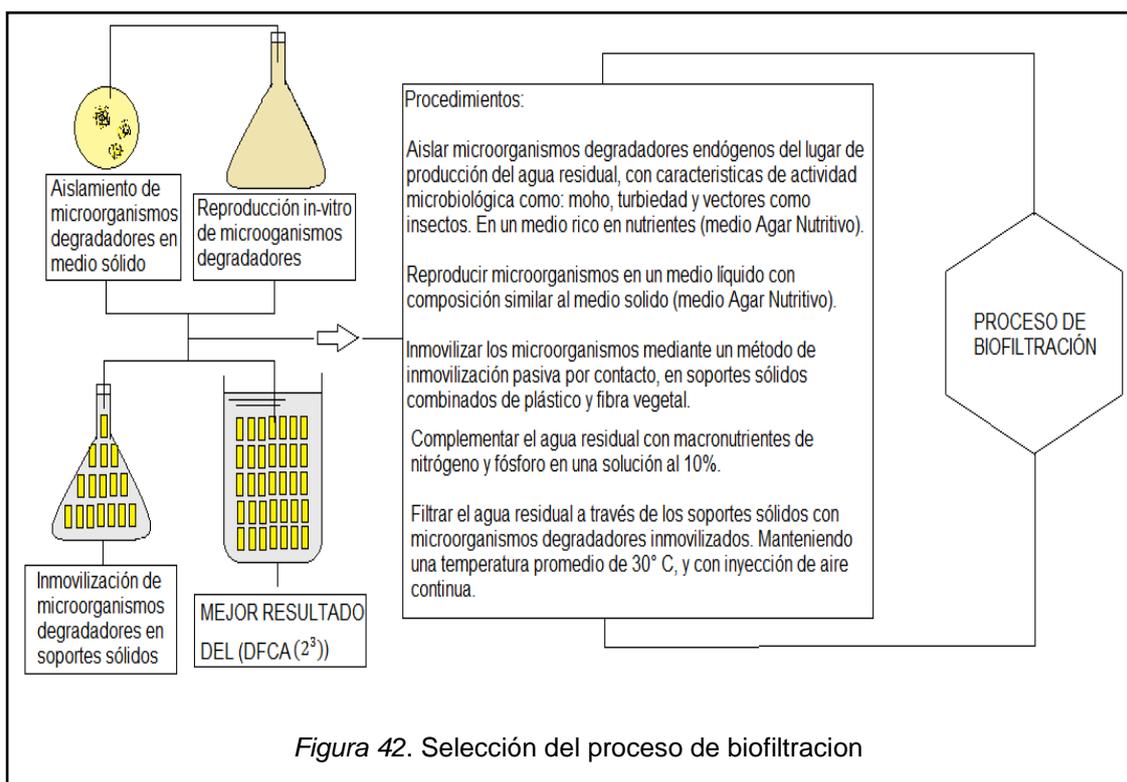
Tiempo de retención en horas	Replica	Tratamiento	factores			Cambio turbidez (NTU)	Turbidez inicial (NTU)	Turbidez final (NTU)	Aumento de biofilm	Sólidos sedimentables (ml/ml)
			Aire	Temperatura	Nutrientes					
24	R1	1	0	16	0	2	768	766	no	No
	R2	1	0	16	0	1	769	768		
	R3	1	0	16	0	2	769	767		
24	R1	2	1	30	0	300	768	468	si	0,8
	R2	2	1	30	0	300	769	469		
	R3	2	1	30	0	302	769	467		
24	R1	3	1	16	10	241	768	527	no	no
	R2	3	1	16	10	238	769	531		
	R3	3	1	16	10	240	769	529		
24	R1	4	1	30	10	523	768	245	si	1,4
	R2	4	1	30	10	522	769	247		
	R3	4	1	30	10	526	769	243		
24	R1	5	1	16	0	12	768	756	no	no
	R2	5	1	16	0	11	769	758		
	R3	5	1	16	0	6	769	763		
24	R1	6	0	30	10	4	768	764	no	no
	R2	6	0	30	10	3	769	766		
	R3	6	0	30	10	6	769	763		
24	R1	7	0	16	10	-4	768	772	no	no
	R2	7	0	16	10	0	769	769		
	R3	7	0	16	10	-4	769	773		
24	R1	8	0	30	0	-1	768	769	no	no
	R2	8	0	30	0	2	769	767		
	R3	8	0	30	0	1	769	768		

Se tomó como respuesta el cambio de turbidez en (NTU) de mayor a menor mediante medición en Turbídmetro, la formación de película biológica adherida a los soportes mediante observación, y presencia de sólidos sedimentables en (ml/ml) mediante relación volumétrica para una muestra de 500 ml en cono Imhoff. La lectura de la cantidad de sólidos sedimentables se realizó mediante observación directa del cono Imhoff (*Figura 41*). Se tomó como mejor resultado de la biorremediación a escala laboratorio el tratamiento N°4 con valores (+) en las tres variables utilizadas.

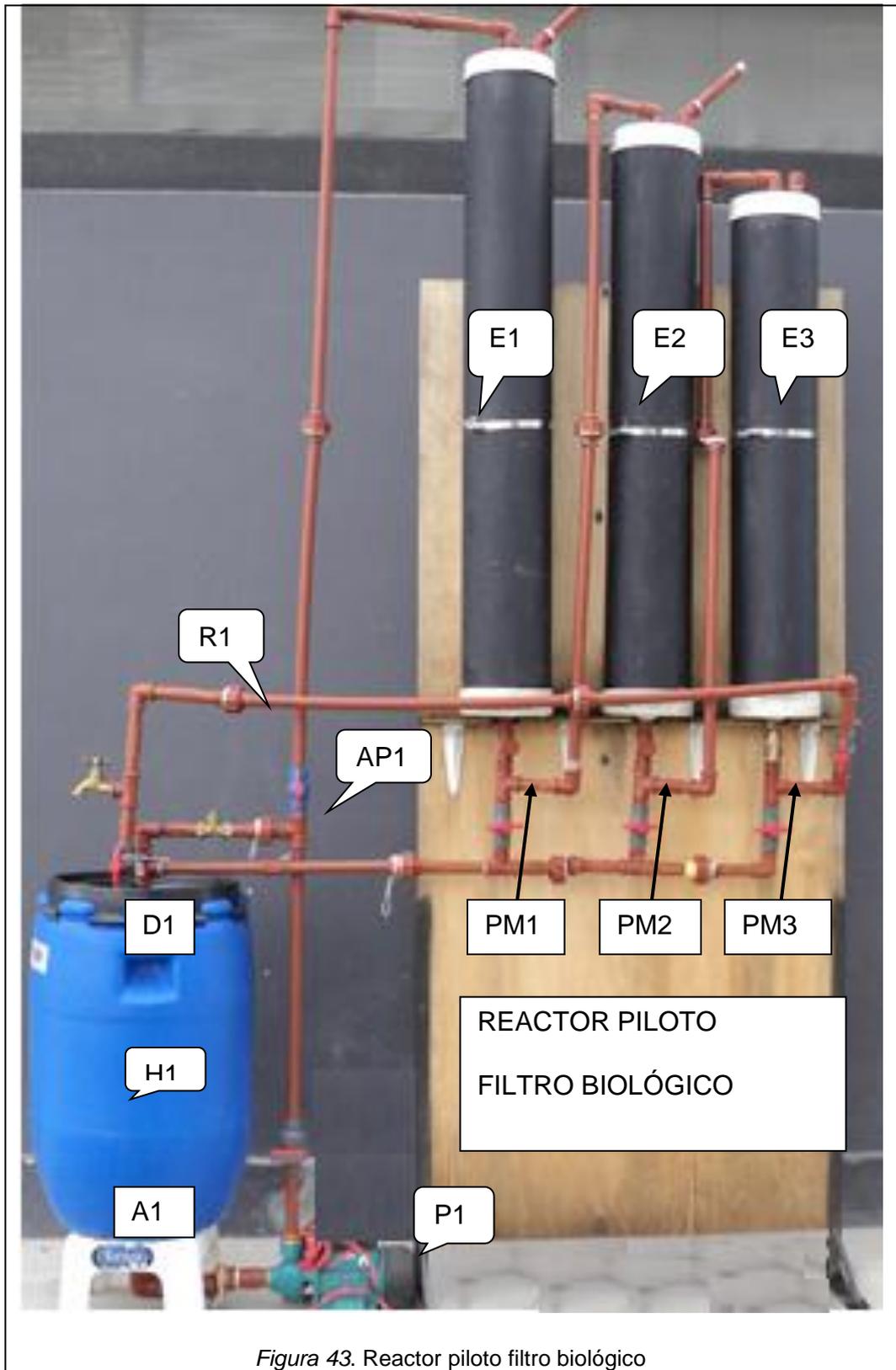


#### 4.4 Selección e implementación del proceso de biofiltración

Tomando todos los mejores resultados de las pruebas de: aislamiento de microorganismos degradadores, reproducción in-vitro, inmovilización de microorganismos degradadores, y (DFCA (2<sup>3</sup>)) de la biorremediación del agua residual a escala laboratorio, se concretó los procedimientos del proceso de biofiltración, descrito a continuación *Figura 42*.



A continuación en la *Figura 43*, se presenta el equipo piloto filtro biológico ya implementado en la FICA-UDLA.



#### **4.5 Biorremediación de agua residual proveniente de una industria láctea mediante un diseño factorial aleatorio**

En función de la variable independiente, se evaluaron dos escenarios, un primer escenario con la presencia de sustrato (contenido de lípidos, proteínas, carbohidratos etc.), y un segundo escenario con pre-tratamiento por decantación sin la presencia de sustrato. Cada escenario fue evaluado como se describió en el capítulo (metodología sección 3.9.1). A continuación se presentan los resultados de biorremediación del agua residual a escala piloto (FB) para cada escenario respectivamente.

En la Tabla 27, se presentan los resultados de la biorremediación del agua residual en reactor piloto (FB) para el primer escenario con sustrato y luego de la sedimentación con zeolita activada. Los resultados de monitoreo de la temperatura durante la biorremediación del agua residual primer escenario con sustrato, se presentan en Anexo 3.

A continuación en la Tabla 28, se presentan los resultados de la biorremediación del agua residual en reactor piloto (FB), para el segundo escenario (sin sustrato) y luego de la sedimentación con zeolita activada.

Tabla 27. Resultados de remediación en planta piloto (FB) primer escenario con sustrato

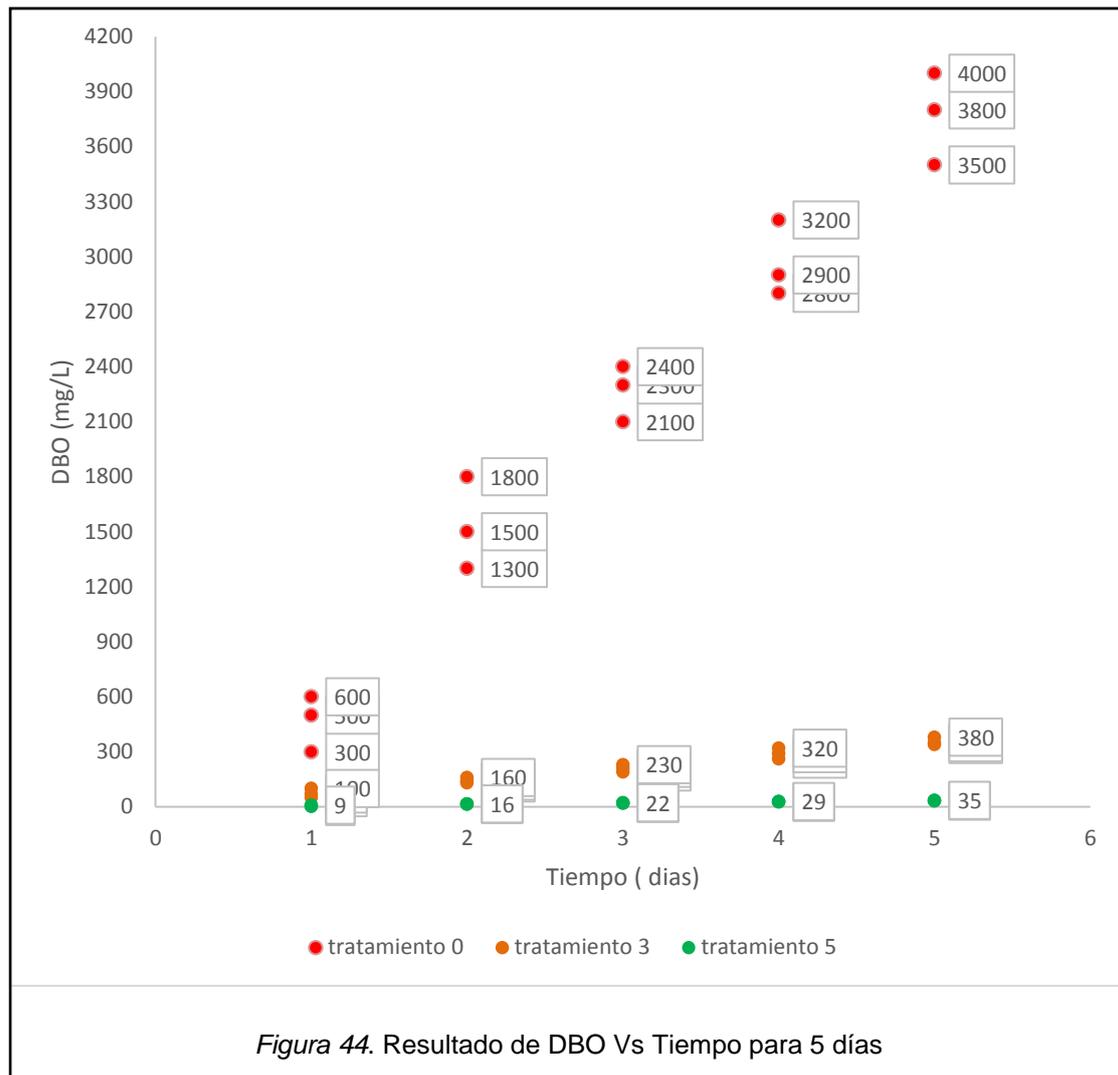
Medición de turbidez del agua a salida de recirculación (Etapa 3)					Medición de turbidez después de la sedimentación secundaria		
Tratamiento	Replica	Tiempo de Retención (h)	Turbidez (NTU)	pH	Producto Sedimentable	Turbidez (NTU)	pH
Tratamiento 0	R1	0	802	5.5	NO	684	5.7
	R2	0	801	5.4		682	5.7
	R3	0	796	5.5		682	5.4
Tratamiento 1	R1	2	878	4.5	SI	820	4.6
	R2	2	876	4.5		816	4.6
	R3	2	877	4.3		814	4.7
Tratamiento 2	R1	4	774	4.5	SI	742	5.9
	R2	4	777	4.5		736	5.9
	R3	4	776	4.4		739	5.8
Tratamiento 3	R1	6	778	4.3	SI	146	6.4
	R2	6	774	4.2		142	6.5
	R3	6	775	4.3		140	6.4
Tratamiento 4	R1	8	715	4.6	SI	45.2	7.2
	R2	8	716	4.6		43.4	7
	R3	8	713	4.6		42.2	7.1
Tratamiento 5	R1	10	600	4.8	SI	40.2	7
	R2	10	601	4.7		39.1	7
	R3	10	595	4.7		38.6	7.2
Tratamiento 6	R1	12	585	5.1	SI	50.4	6.8
	R2	12	583	5.1		49.3	6.7
	R3	12	583	5.3		47.2	6.9
Tratamiento 7	R1	14	585	5.3	SI	47.7	7
	R2	14	582	5.3		48.4	7.1
	R3	14	582	5.2		46.2	7.2
Tratamiento 8	R1	16	592	5.5	SI	49.2	7
	R2	16	596	5.6		49.4	6.9
	R3	16	599	5.4		49.5	7
Tratamiento 9	R1	18	602	5.3	SI	48.3	6.4
	R2	18	594	5.2		50	6.6
	R3	18	593	5.2		46.2	6.4

Tabla 28. Resultados de biorremediación en planta piloto (FB) segundo escenario sin sustrato

Medición de turbidez del agua a salida de recirculación (Etapa 3)					Medición de turbidez después de la sedimentación secundaria		
Tratamiento	Réplica	Tiempo de Retención (h)	turbidez (NTU)	(pH)	Producto Sedimentable	Turbidez (NTU)	pH
Tratamiento 0	R1	0	810	4	NO	645	4.6
	R2	0	812	4		644	4.6
	R3	0	810	3.9		646	4.7
Pre-tratamiento	R1	0	714	4.1	NO	566	4.5
	R2	0	716	4.3		566	4.5
	R3	0	713	4.1		562	4.3
Tratamiento 1	R1	2	562	4.4	SI	263	5.6
	R2	2	564	4.4		266	5.4
	R3	2	564	4.5		265	5.2
Tratamiento 2	R1	4	526	4	SI	180	5.5
	R2	4	531	4.2		182	5.4
	R3	4	522	4.5		181	5.3
Tratamiento 3	R1	6	292	4.3	SI	166	5.5
	R2	6	296	4.4		166	5.5
	R3	6	294	4.4		165	5.7
Tratamiento 4	R1	8	244	4.7	SI	151	5.3
	R2	8	242	4.6		153	5.3
	R3	8	244	4.8		156	5.3
Tratamiento 5	R1	10	202	5.1	SI	104	5.6
	R2	10	202	5		104	5.7
	R3	10	199	5.2		105	5.8
Tratamiento 6	R1	12	248	5	SI	102	5.8
	R2	12	246	5		98.2	5.9
	R3	12	243	5.2		98.3	5.8

Tratamiento 7	R1	14	241	4.9	SI	104	5.5
	R2	14	239	5.1		102	5.5
	R3	14	241	4.7		103	5.4
Tratamiento 8	R1	16	239	5.1	SI	103	5.6
	R2	16	238	5.1		101	5.5
	R3	16	239	5.4		100	5.7
Tratamiento 9	R1	18	244	5.1	SI	99.2	5.1
	R2	18	242	5.1		102	5.2
	R3	18	242	5.2		102	5.2

Los resultados de monitoreo de la temperatura durante la biorremediación del agua residual segundo escenario sin sustrato, se presentan en Anexo 4. Dado que la eficiencia del primer escenario es mayor a la eficiencia del segundo escenario. Se replicó el mejor tratamiento del primer escenario para el análisis físico-químico. A continuación en la *Figura 44*, se presentan los resultados de la evaluación de  $DBO_5$ , del primer escenario con sustrato para 6h y 10h de retención. La tabla de valores numéricos se encuentra en Anexo 5.



## **5. Análisis de resultados**

### **5.1 Análisis de los factores físico-químicos de respuesta en función del mejor tratamiento de la biorremediación en equipo piloto (FB)**

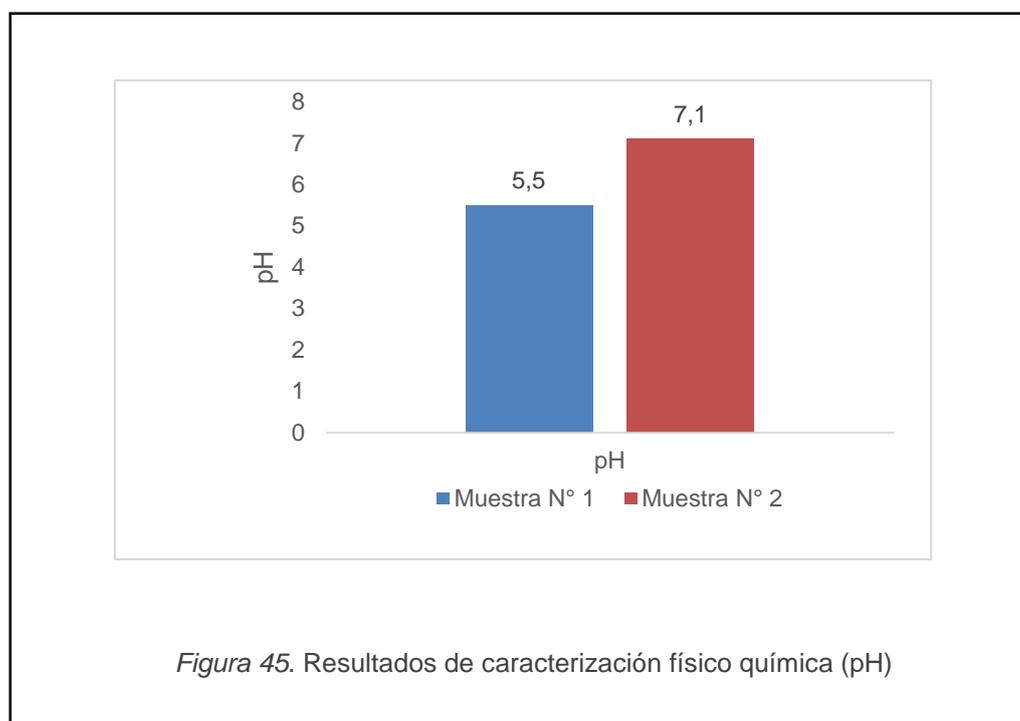
En esta sección se presentan el análisis de la caracterización físico-química. Los parámetros a ser analizados para esta caracterización se seleccionaron en base a la guía de parámetros mínimos por sector productivo, de la norma técnica para el control de descargas líquidas de la resolución 0002-DMA-2008, en el sector lácteo (Dirección Metropolitana de Ambiente, 2008). Los parámetros fueron: potencial hidrógeno (pH), turbidez en (NTU), nitrógeno total en (mg/l), fósforo total en (mg/l), Demanda Química de Oxígeno (DQO (mg/l)), y Demanda Biológica de Oxígeno para cinco días (DBO<sub>5</sub> (mg/l)). Estos parámetros cumplen con las características necesarias para interpretar la remoción de la carga orgánica presente en el agua residual proveniente de una industria láctea. Siendo una planta de lácteos semi-industrial el agua residual generada, está dentro de los límites en función de aceites y grasas y sólidos sedimentables, debido al pre-tratamiento existente en la planta (Nazate, 2013).

A continuación se presenta el análisis individual para cada parámetro en función del mejor tratamiento obtenido a escala piloto en el filtro biológico. Para cada parámetro se muestran los resultados de las muestras sin tratamiento (Muestra N°1) y con el mejor tratamiento en filtro biológico (Muestra N° 2).

#### **5.1.1 pH de la muestra en función del mejor tratamiento**

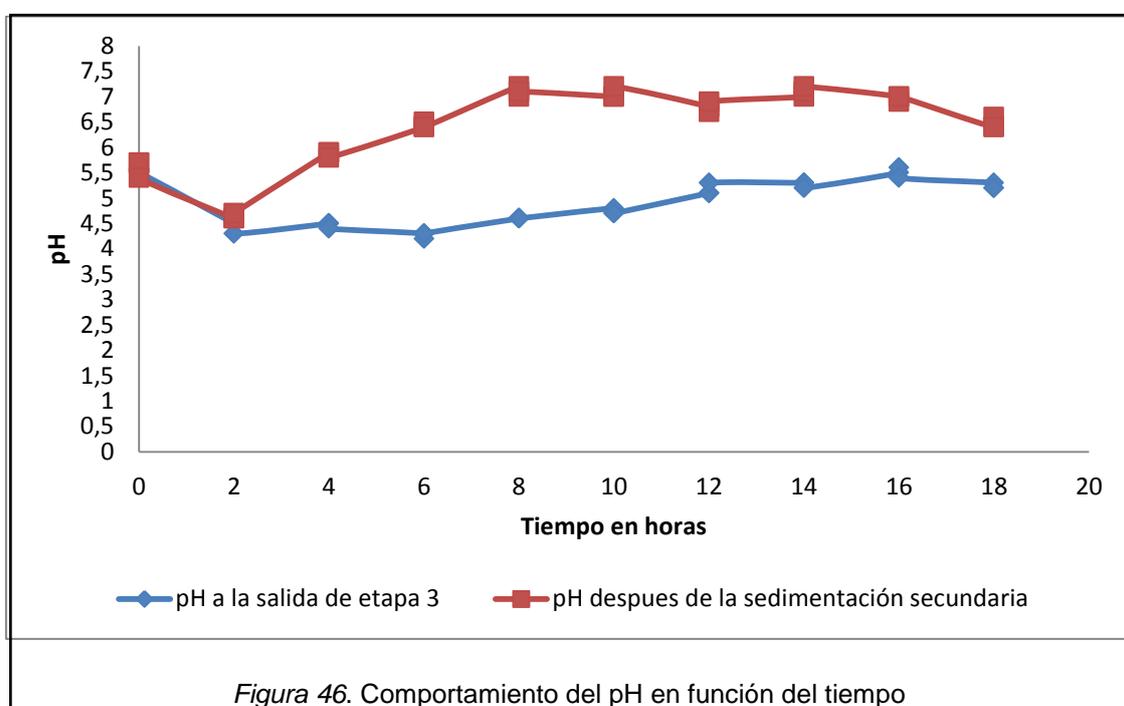
En la Figura 45, se puede observar que el pH inicial del agua residual sin tratamiento (Muestra N°1) es de 5.5, este valor nos indica un pH con tendencia ácida. La estimación de un pH ácido en una muestra de agua indica el alto contenido de carga orgánica. El presentar acidez en una muestra de agua residual, quiere decir que se están dando procesos de nitrificación, con la formación de nitritos, que se generan durante los proceso de oxidación de amonio (Carrillo y Gomez, 2000). Al inicio del proceso el pH es ácido presumiblemente debido a que el consumo de oxígeno presente en el agua residual genera un descenso en el pH. La cantidad de microorganismos presentes en el agua residual generan un descenso de pH a niveles ácidos,

especialmente cuando estos microorganismos no metabolizan adecuadamente los contaminantes presentes en el agua. La falta de macronutrientes y de oxígeno en el agua genera que los procesos de oxidación no se completen y el pH descienda a valores ácidos entre 4.5 y 6 (Messer Ibérica de Gases S.A., 2014). Al final del proceso en la (Muestra N° 2) de la Figura 45 se puede observar que el pH de la muestra con el mejor tratamiento, es de 7,1. Esto nos indica una estabilidad en la concentración de materia orgánica y del oxígeno en la muestra. Cuando el indicador de pH en agua residual tiende a niveles alcalinos, quiere decir que se han realizado los procesos de oxidación de nitritos a nitratos (moléculas más simples) (Carrillo et al., 2000).



En la *Figura 46*, se puede ver el comportamiento del pH en función del tiempo de retención en la biorremediación del agua residual del mejor escenario. Se puede ver claramente que en las primeras horas de tratamiento en el filtro biológico el pH tiene una caída a niveles ácidos, esto es debido al crecimiento de microorganismos en fase exponencial dentro de la carga de agua residual. Al recircular el agua residual por los soportes sólidos ubicados en cada una de las etapas del filtro biológico, los microorganismos quedan adheridos a estos

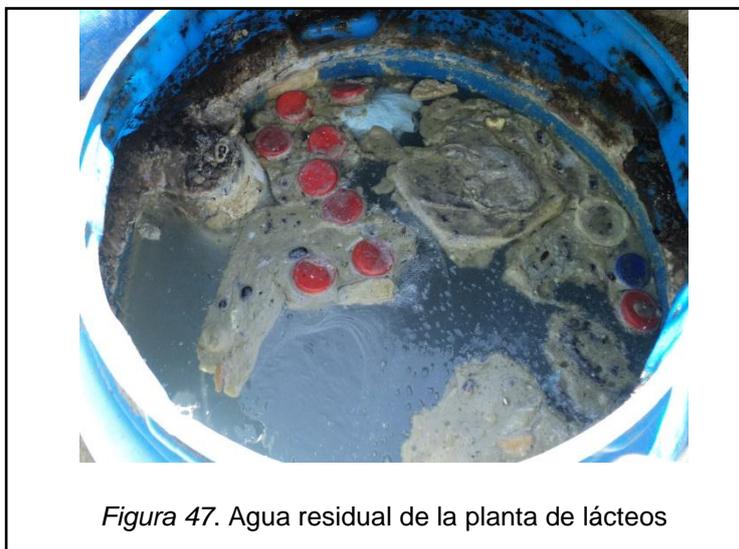
mediante la producción de exopolímero. Se tiende a estabilizar el pH a partir de las 2 horas de tratamiento. Se puede observar una notable diferencia entre el comportamiento del pH de la muestra tomada inmediatamente a la salida de la etapa 3 en relación a la muestra después de la sedimentación secundaria. Esto es debido a que la muestra que fue tomada inmediatamente a la salida de la etapa 3, aun contenía microorganismos presentes en el agua. A diferencia de la muestra tomada después de la sedimentación con zeolita activa donde las células muertas y los microorganismos aun presentes en el agua caen por atracción de iones negativos. Se puede observar claramente que el mejor tratamiento se encuentra entre las 8 h y 10 h de retención (tratamientos 4 y 5) en el filtro biológico, con sedimentación secundaria.



### 5.1.1 Turbidez de la muestra en función del mejor tratamiento

La turbidez se define como la reducción de la transparencia en un líquido, en aguas residuales es un indicativo de contaminación (Ramalho, 2003). Dado que el agua residual en estudio es proveniente de procesos de lavado de leche y elaboración de quesos y yogurt, se puede afirmar que la turbidez del agua es debido a la presencia de materia orgánica disuelta y sin disolver como grasa.

Es evidente por las condiciones donde se dispone el agua residual *Figura 47*, que esta misma contiene microorganismos que generan turbiedad en el agua.



A continuación en la *Figura 48* se puede observar que el valor de la turbidez inicial sin tratamiento (Muestra N° 1) es de 799 NTU, mientras que el valor de la turbidez después del mejor tratamiento (Muestra N°2) es de 38,8 valor que representa el 95% de la remoción de la turbidez. La disminución de la turbidez es un claro indicador del tratamiento de aguas residuales, debido a que este indicador varía en función de la cantidad de materia orgánica disuelta en el agua residual y la cantidad de microorganismos y biomasa removida en una muestra de agua (Ramalho, 2003).

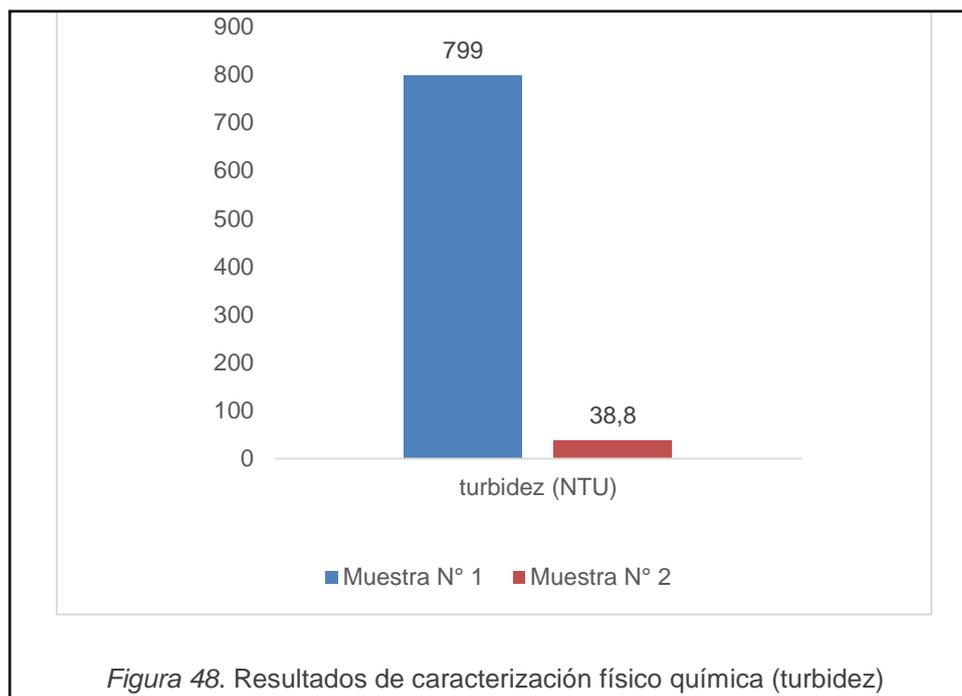
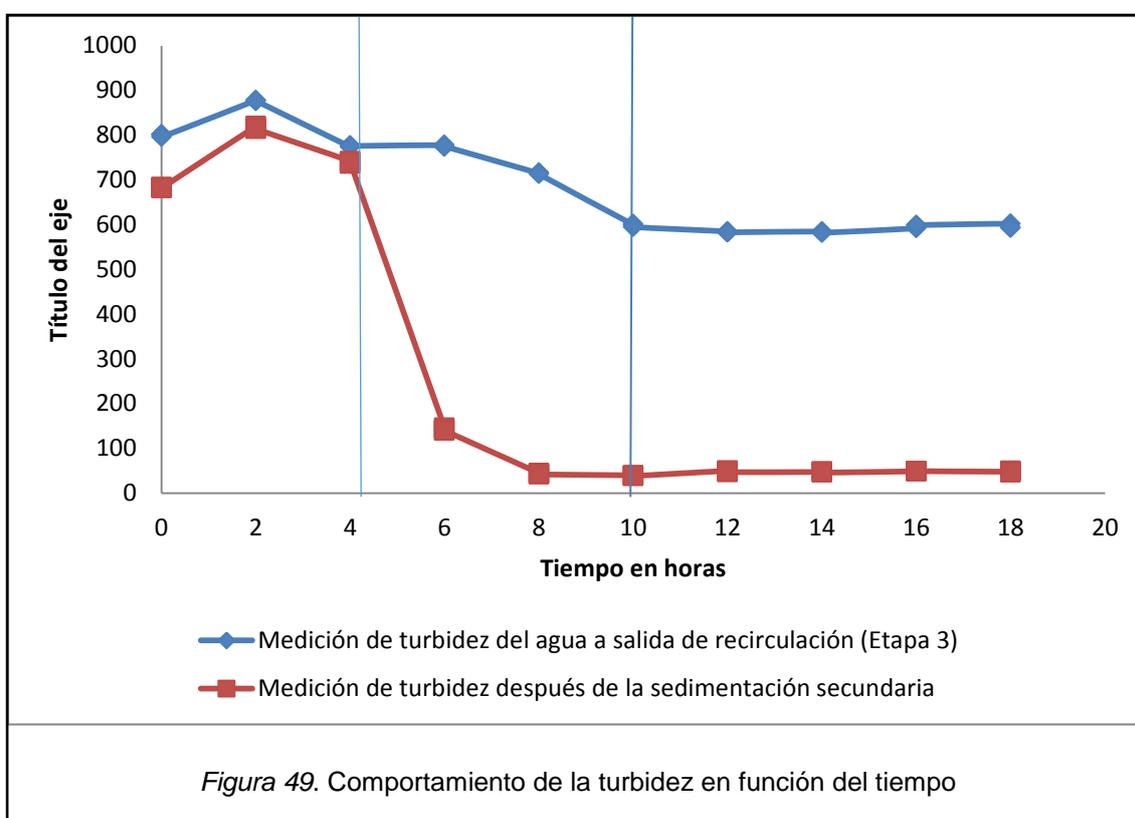


Figura 48. Resultados de caracterización físico química (turbidez)

En la *Figura 49*, se puede ver el comportamiento de la turbidez en función del tiempo de retención en la biorremediación del agua residual del mejor escenario. Al igual que en el comportamiento del pH se observa claramente que en las primeras dos horas de tratamiento la turbidez presenta un incremento. Esto es a razón del crecimiento de microorganismos en fase exponencial. Se pudo deducir que en las primeras horas de retención los microorganismos no se han adherido en su mayor porcentaje a los soportes sólidos. Las reacciones químicas de oxidación de materia orgánica también producen el incremento en la turbiedad ya que estas reacciones se están dando de manera libre en el agua (Behling e al., 2003). Podemos ver claramente que en el intervalo de tiempo entre la hora 4 (tratamiento 2) y la hora 8 (tratamiento 4), existe una reducción considerable del valor de la turbidez para las dos muestras. Se observa una notable diferencia entre el comportamiento de la turbidez para la muestra tomada inmediatamente a la salida de la etapa 3 del filtro biológico y la muestra después de la sedimentación secundaria. La sedimentación secundaria con zeolita activada ayuda a que las células de microorganismos muertos sedimenten y se clarifique la muestra. Se afirma que el mejor tratamiento se encuentra entre el

intervalo de 8h y 10h (tratamiento 4 y 5) en el filtro biológico con sedimentación secundaria.



### 5.1.2 Nitrógeno total de la muestra en función del mejor tratamiento

Los compuestos nitrogenados son complementos clave para el crecimiento de seres vivos incluyendo microorganismos. El nitrógeno puede ser eliminado del agua por microorganismos en procesos biológicos (Carrillo et al., 2000). A continuación en la Figura 50, se observa que el valor inicial de nitrógeno total fue de 195 mg/l (Muestra N°1) y para la muestra con el mejor tratamiento (Muestra N°2) fue de 11 mg/l. Este resultado representa el 95% de la remoción de nitrógeno total. De esta manera se afirma que en el tratamiento por biofiltración en el reactor piloto existieron procesos nitrificantes y desnitrificantes realizados por microorganismos en el tiempo de retención del mejor tratamiento (10h). Dado el hecho de que fue un proceso completamente

biológico (aerobio-anaerobio) el producto de la remoción de nitrógeno del agua residual fue  $\text{CO}_2$  y  $\text{N}_2$ , compuestos menos agresivos para el ambiente.

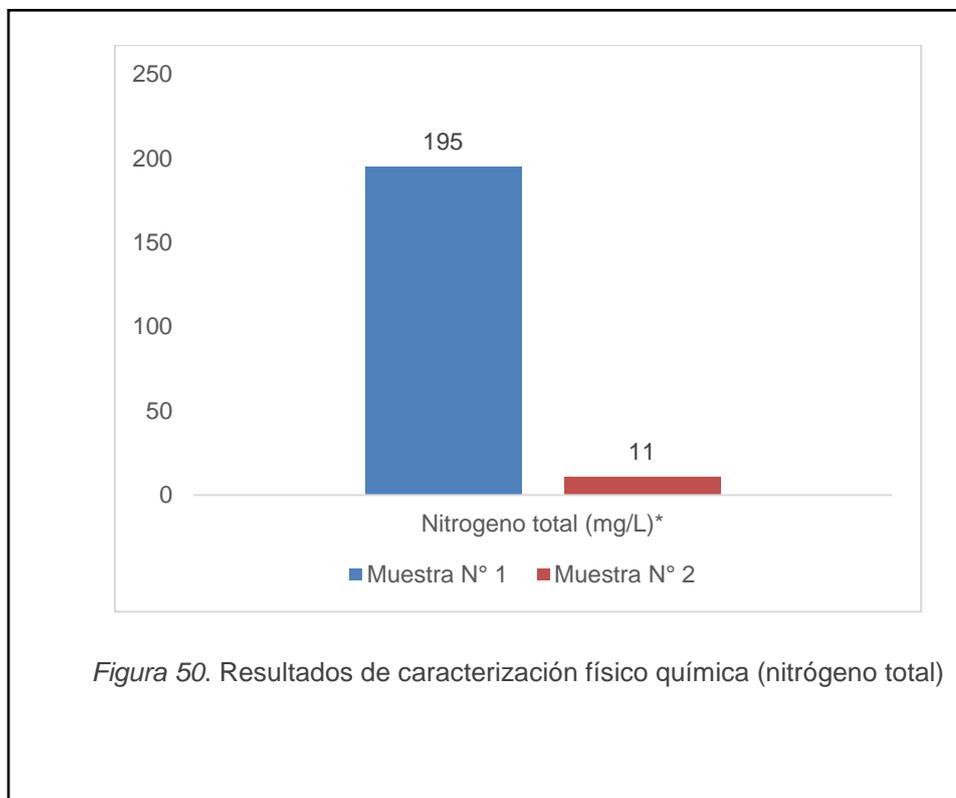
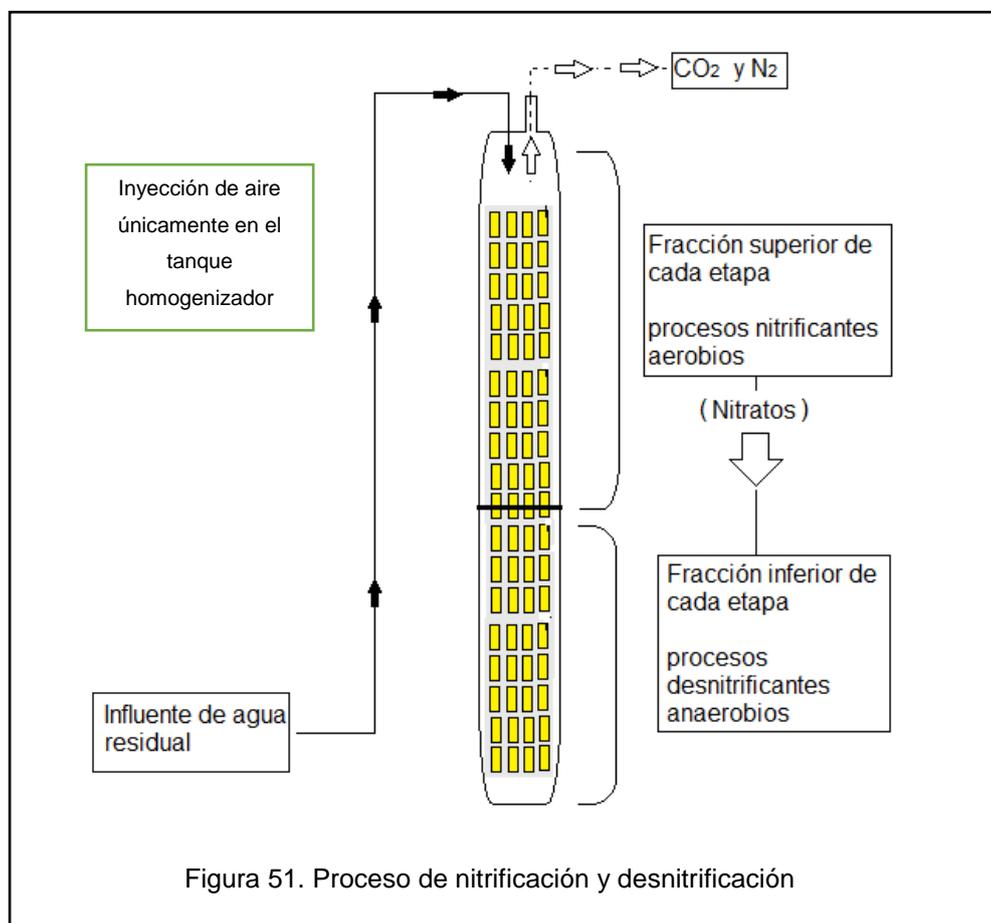


Figura 50. Resultados de caracterización físico química (nitrógeno total)

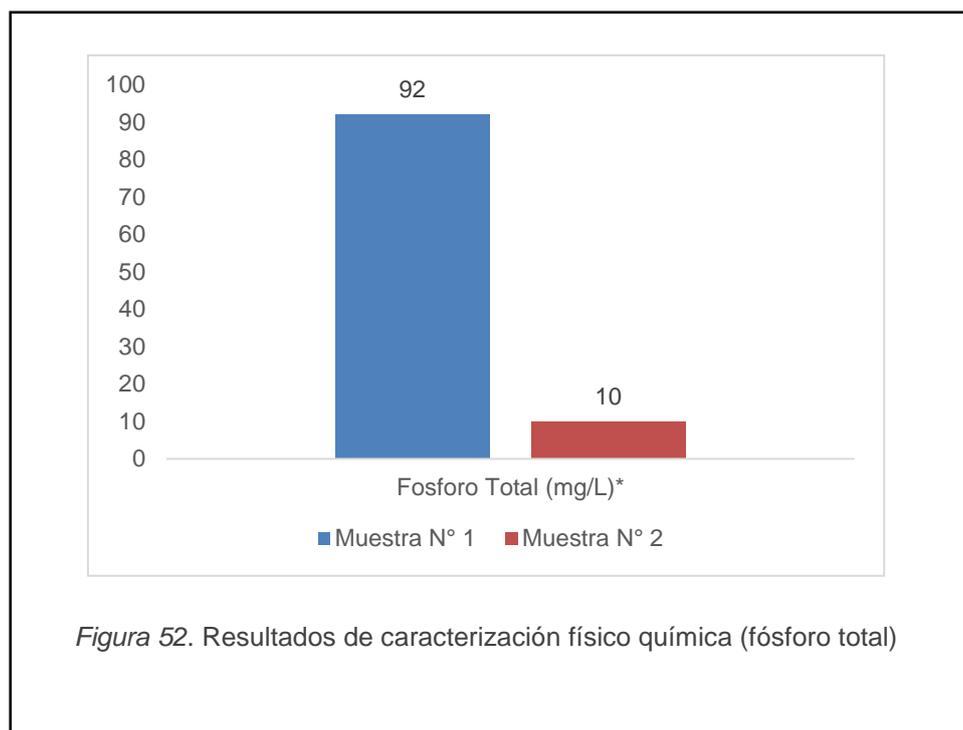
El proceso de biofiltración implementado a escala piloto en la presente investigación fue con inyección de aire continua centralizada únicamente en el tanque homogenizador. Existieron procesos nitrificantes (aerobios) y desnitrificantes (anaerobios), esto se explica en el contexto de que al ser un reactor de lecho fluidizado con inyección de aire central en el tanque homogenizador, ha creado zonas anaerobias en la parte inferior de cada etapa y zonas aerobias en la parte superior debido al peso molecular de los gases los cuales en una muestra de agua tienden a ir hacia la parte superior de esta manera el oxígeno se ubica en la parte superior de cada cilindro. Ya que el reactor se alimenta con el influente de agua residual de arriba hacia abajo, proporciona el nitrato a la fracción anaerobia desnitrificante. A continuación en la Figura 51 se explica este proceso



### 5.1.3 Fósforo total de la muestra en función del mejor tratamiento

La presencia de fósforo en el agua residual de la planta de lácteos, es debido al uso de detergentes en los procesos de lavado de materiales como bandejas mangueras etc. El fósforo así como el nitrógeno es esencial como nutriente en procesos de degradación biológica (Ramalho, 2003), sin embargo en cuerpos de agua es considerado un contaminante por razón de eutrofización. A continuación en la Figura 52, se observa que el valor de fósforo total para la muestra inicial sin tratamiento (Muestra N°1) es de 92mg/l y para la muestra con el mejor tratamiento en el equipo piloto filtro biológico (Muestra N° 2) es de 10 mg/l. de acuerdo a estos resultados existe un 89% de eliminación de fósforo total. Al ser un proceso de tratamiento biológico donde la absorción de

contaminantes se realiza mediante los microorganismos inmovilizados, se afirma que al igual que el nitrógeno los microorganismos metabolizan el fósforo presente en el agua. Estudios afirman que en porcentaje de biomasa producto de tratamiento biológicos, el fósforo ocupa entre el 2% y 5% de su peso en seco mientras que el nitrógeno alrededor del 15% (Morató et al., 2006)

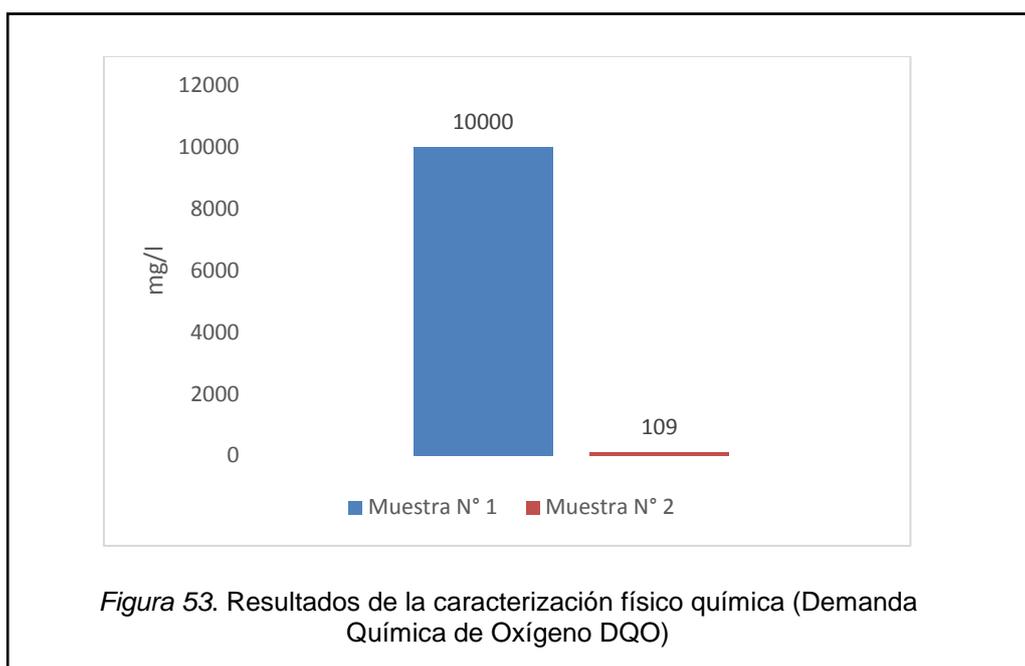


#### 5.1.4 Demanda Química de Oxígeno (DQO) de la muestra en función del mejor tratamiento

Estudios demuestran que las aguas residuales de industrias lácteas, se caracterizan por su alto contenido en DQO, Nitrógeno y fósforo. (Arrojo, Omil, Garrido, & Méndez, 2003) Afirman que en las industrias lácteas una concentración promedio general de DQO es de entre 2000-5000 mg/l (solo por el contenido de la leche), y demuestran que este valor aumenta considerablemente cuando el vertido de agua residual se mezcla con el suero, llegando a concentraciones de entre 50000 y 60000 mg/l de DQO. Mientras que el efluente del proceso de elaboración de queso y yogurt aportan entre 4450 y 1500 mg/l más de DQO respectivamente. (Arrojo et al., 2003). En

general el efluente global de materia orgánica en mg/l de DQO puede estar entre 9000 y 11000. En la *Figura 53*, se puede observar que el valor inicial de DQO del agua residual de la industria de lácteos (Muestra N°1) es de >10000, se concluye que este valor tan elevado es a razón de que en la planta de lácteos principalmente se elabora queso y yogurt y los efluentes de estos dos procesos no presentan una diferenciación para la descarga. El suelo de la planta se lava después de cada proceso y estos dos efluentes terminan en la descarga general del agua residual. Así mismo el suero que no es recolectado en la planta de lácteos aporta con carga orgánica considerable para el agua residual.

En la *Figura 53*, se aprecia que el valor para DQO de la muestra con el mejor tratamiento en el filtro biológico es de 109 mg/l, este valor representa el 98% de efectividad en la remoción del DQO.



Un estudio realizado por la Universidad de Santiago de Compostela, para evaluar la eficiencia de un tratamiento combinado aerobio-anaerobio de un efluente proveniente de industrias lácteas, recalca que: la eficiencia de eliminación de DQO en tratamientos completamente aerobios es de 92%, mientras que la eficiencia en tratamientos completamente anaerobios es de

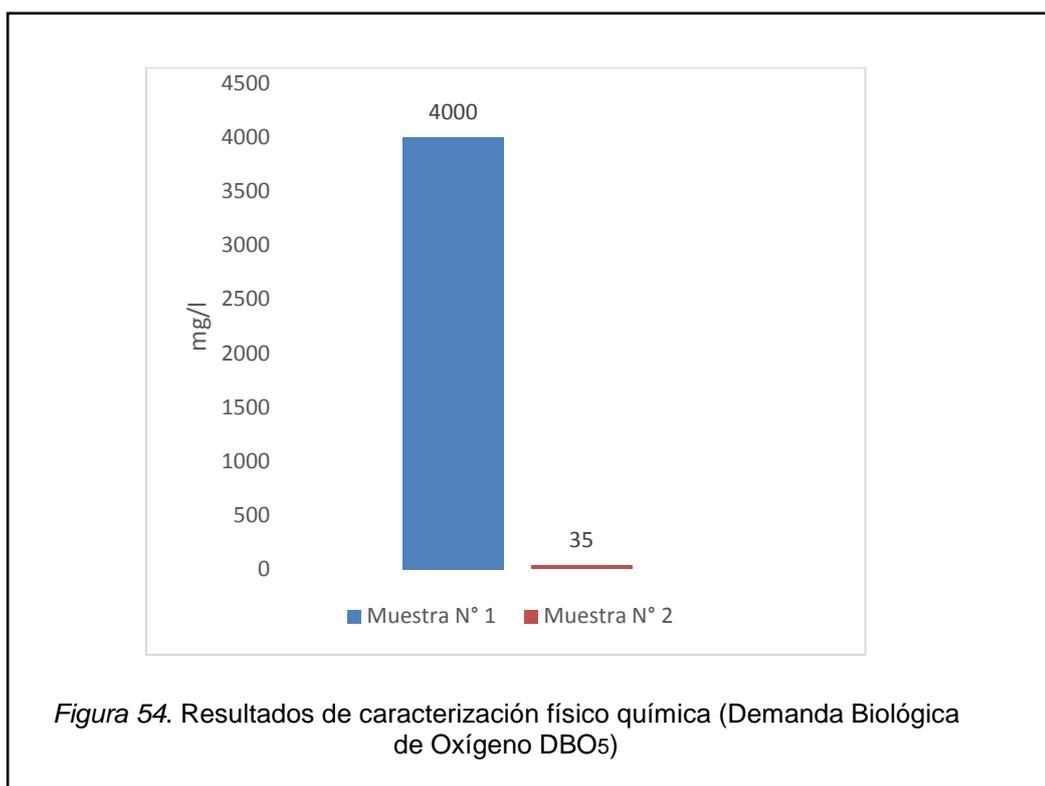
96%, no obstante la eficiencia de eliminación de DQO en tratamiento biológicos combinados aerobio-anaerobio es de 98% (Arrojo et al., 2003). Como se afirmó en la sección 5.1.3 el filtro biológico utilizado en el presente proyecto tiene la característica de que cada etapa de tratamiento es aerobia-anaerobia, en función de este criterio se puede ver que la eliminación en este proyecto es de DQO es del 98% para una carga orgánica > 10000 mg/l de DQO.

#### **5.1.5 Demanda Biológica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>) de la muestra en función del mejor tratamiento**

La prueba y medición de DBO<sub>5</sub> consiste en medir la cantidad de oxígeno requerido por microorganismos para lograr el equilibrio del agua residual durante 5 días (Metcalf & Edy, 2003). Todos los materiales con contenido carbónico ejercen una demanda de oxígeno, debido a la necesidad bioquímica en los procesos de oxigenación (Ramalho, 2003). Los contenidos carbónicos en el agua residual de una industria de lácteos están basados en la concentración de proteínas y carbohidratos provenientes directamente de la composición de la leche, y lípidos proveniente de los procesos de elaboración de queso y yogurt (Arrojo et al., 2003). Ya que las proteínas contienen nitrógeno se presenta también una demanda de oxígeno nitrogenada en el agua residual. (Carrillo et al., 2000). A continuación en la *Figura 54*, se observa que el valor inicial de DBO<sub>5</sub> para la muestra sin tratamiento (Muestra N°1) de la planta de lácteos es de 4000 mg/l, este valor se justifica en función de los procesos que se dan en la planta de lácteos, donde entre otros productos se elabora queso mozzarella el cual presenta un alto contenido de lípidos que se reflejan como compuestos orgánicos solubles en el agua que ejercen una demanda de oxígeno.

Pudimos ver en la sección 5.1.3 que el contenido inicial de nitrógeno es de 195 mg/l, este valor de nitrógeno total presente en el agua también ejerce una demanda de oxígeno nitrogenada, debido a la necesidad de oxígeno disuelto en el agua para complementar procesos de oxidación en la fase nitrificante del metabolismo de los microorganismos. La concentración de DQO también es un claro indicativo de los valores altos de DBO como material orgánico soluble en

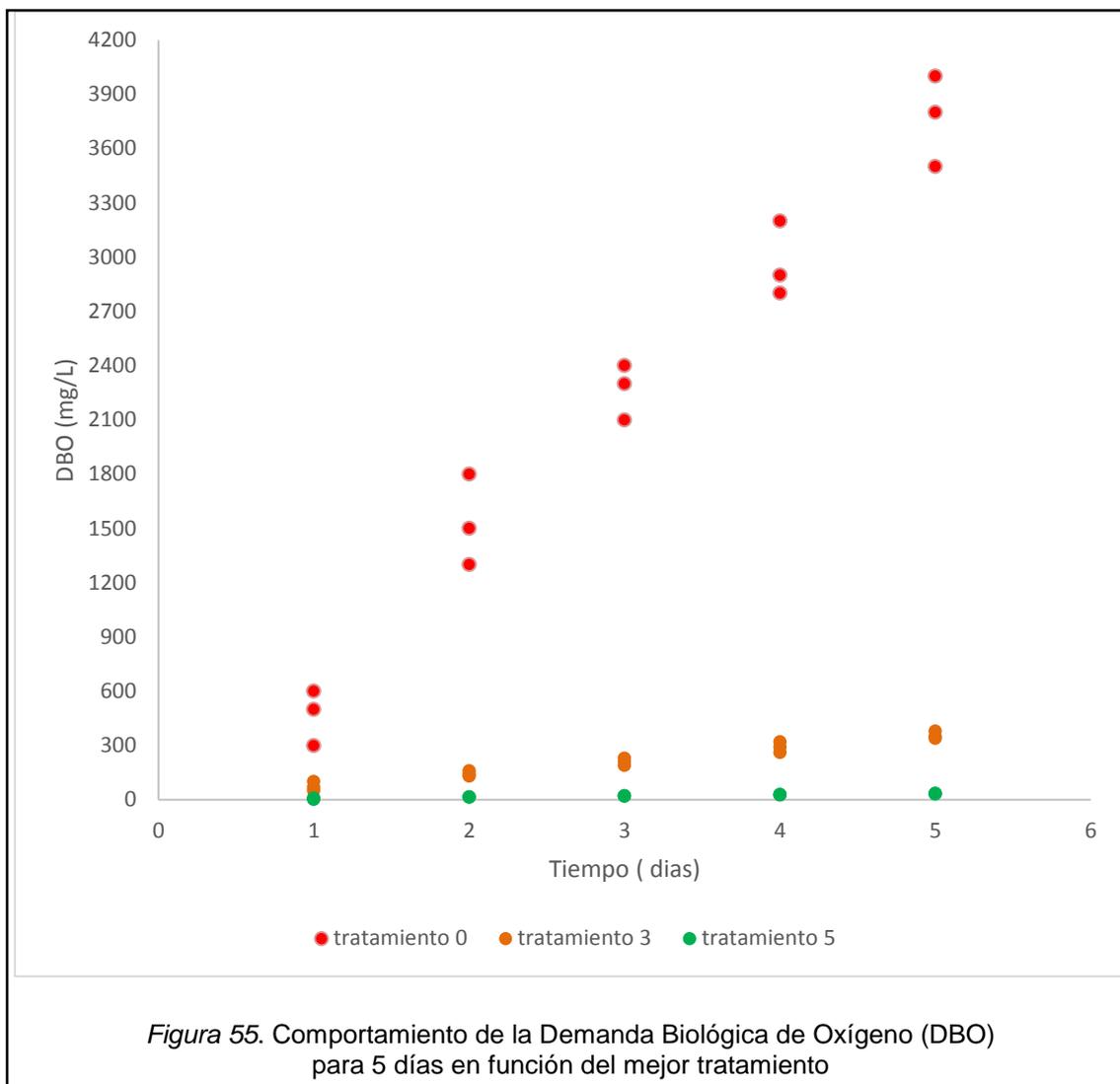
el agua. Estudios afirman que la DQO es de 1,4 a 2,4 veces mayor que la DBO (Behling et al., 2003). En la *Figura 54*, se puede observar que el valor de DBO<sub>5</sub> para la muestra con el mejor tratamiento en el filtro biológico (Muestra N°2) es de 35 mg/L, valor que representa el 99% de eliminación de DBO.



Una premisa que rige en los conceptos de bioquímica aplicados a los tratamientos de aguas residuales es aquel que indica que *“toda materia orgánica biodegradable contenida en una muestra de agua será oxidada a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O por microorganismos que usan el oxígeno molecular”* (Ramalho, 2003). Ya que el proceso de biofiltración que se utilizó en el presente proyecto contaba con una inyección continua de oxígeno se puede afirmar que se logró una descomposición aerobia de los compuestos orgánicos solubles en el agua y sus desechos gracias a la comunidad heterogénea de microorganismos inmovilizados en los soportes sólidos de cada etapa.

A continuación en la *Figura 55*, se puede observar el comportamiento de la DBO, para 5 días en función de 3 muestras: una inicial sin tratamiento

(Tratamiento 0), una segunda muestra con 6 h de retención en el equipo piloto filtro biológico (Tratamiento 3), y una tercera muestra con 10 h de retención en el equipo piloto filtro biológico (Tratamiento 5). Se puede ver que las tres muestras tienen un comportamiento ascendente en función del tiempo. Se observa que el mejor tratamiento en función del tiempo de retención para la eliminación de DBO es el tratamiento 5, con 10 horas de retención en el filtro biológico. Esto sustenta que es el mejor tratamiento para este proceso de biofiltración, en la sección 5.1.1 se pudo observar que entre las 8h-10h de tratamiento el pH se estabiliza en 7 (nivel alcalino) donde los procesos de nitrificación y desnitrificación se llevan a cabo con mejores resultados (sección 5.1.3) reduciendo los índices de turbidez, DQO y de DBO. Es necesario mencionar que este mejor tratamiento se dio en el primer escenario del diseño factorial para una sola variable del método de biorremediación del agua residual proveniente de una industria láctea a escala piloto filtro biológico.



## 5.2 Análisis de los factores biológicos de respuesta dentro del proceso de biofiltración

### 5.2.1 Relación C: N en el proceso de biofiltración

Uno de los parámetros más importantes en el proceso de nitrificación es la relación entre el carbono orgánico y el nitrógeno (Ferrada de Giner y Ramírez, 2010). El contenido de macronutrientes presentes en el agua residual, determina la competencia del crecimiento de población microbiana autótrofa y heterótrofa. Como resultados de un estudio realizado para definir el comportamiento de la relación C:N en un sistema combinado para el tratamiento de aguas residuales sintéticas, (Ferrada de Giner y Ramírez, 2010) afirman que la competencia entre estos dos tipos de microorganismos

(autótrofos y heterótrofos) ha sido claramente observado en sistemas de crecimiento adherido. (Ramalho, 2003) Hace referencia a que la relación C:N resumida en DQO/Nitrógeno define la composición de la biopelícula en tratamientos de película fija o adherida.

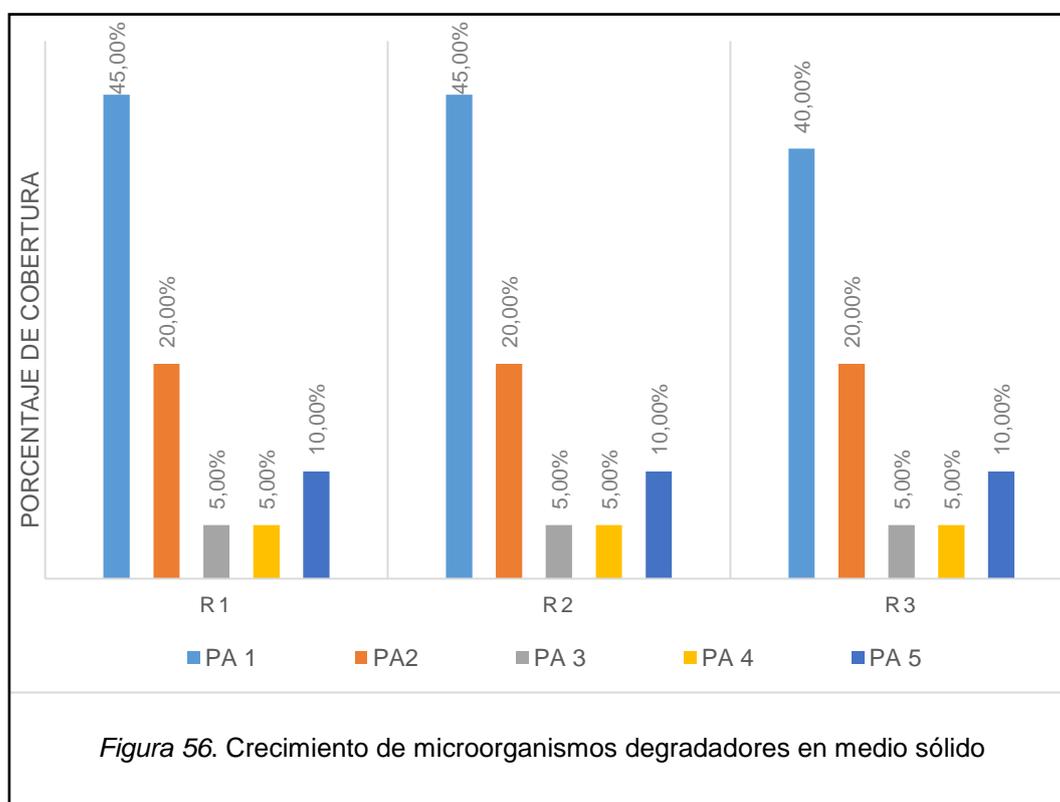
Elevados cocientes de C/N indican que la materia orgánica en forma de (DQO) está en exceso en relación al nitrógeno y viceversa. Favoreciendo el crecimiento de bacterias heterótrofas (desnitrificantes) disminuyendo así la capacidad de nitrificación del sistema (Carrillo et al., 2000). En la sección 5.1.5 pudimos observar que la carga inicial de materia orgánica en forma de DQO es alta en el agua residual de la industria de lácteos (10000 mg/l) en relación a la carga inicial de nitrógeno total (sección 5.1.3) de 195 mg/l. lo que en función de lo mencionado, nos indica un cociente potencialmente alto en la relación C/N, no obstante en la sección 5.1.3 se afirmó que existieron eficientemente procesos de nitrificación (microorganismos autótrofos) y desnitrificación (microorganismos heterótrofos) con una remoción del 95% de nitrógeno total y de 98% de DQO, esto es debido a que en el proceso de biofiltración en el filtro biológico se proporcionó externamente macronutrientes de nitrógeno y fósforo en soluciones al 10% de la carga inicial del agua residual. Lo que redujo potencialmente la relación C/N a cocientes donde se encontró el equilibrio para lograr procesos bioquímicos de nitrificación y desnitrificación eliminando así nitrógeno amoniacal. Y en consecuencia carga orgánica representada como DQO.

### **5.2.2 Crecimiento de microorganismos degradadores provenientes de aguas residuales de la planta de lácteos**

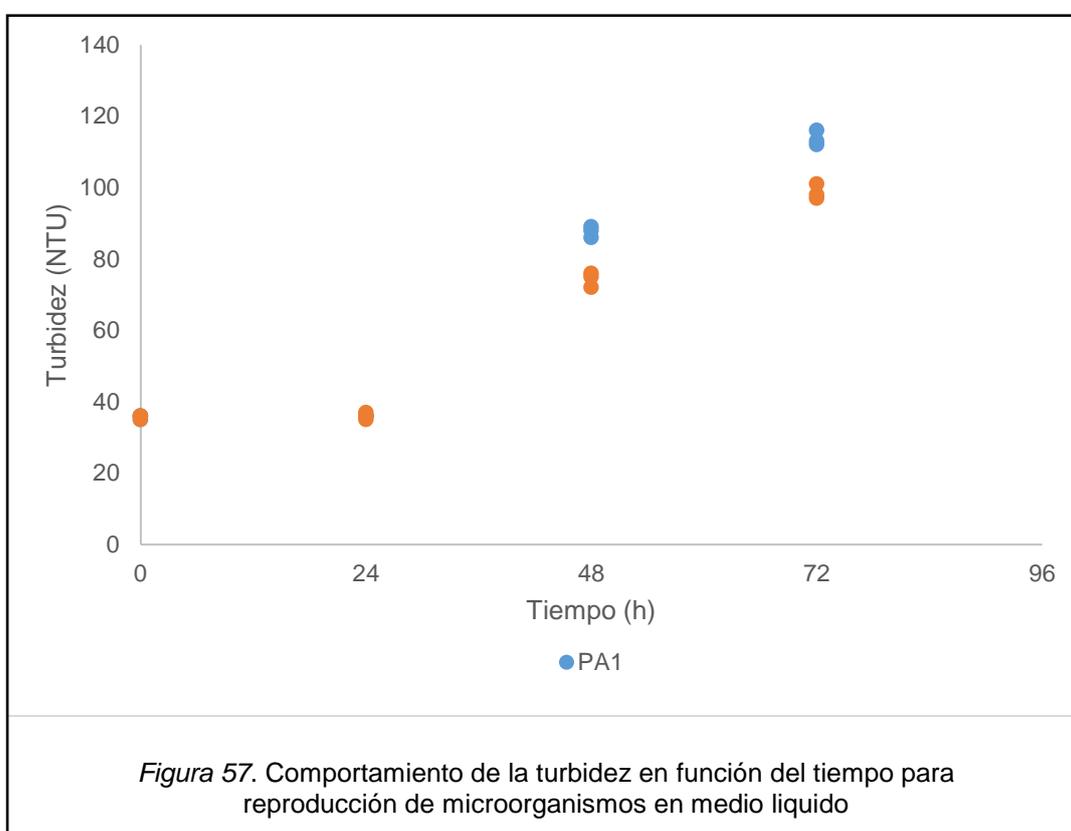
La formación de una comunidad de microorganismos heterogénea con propiedades degradadoras de contaminantes es fundamental en la biorremediación de aguas residuales en procesos de película biológica (Betancourth, Enrique Botero, & Rivera, 2004). Las propiedades de los microorganismos para conformar una biopelícula son de suma importancia y tienen relación a heterogeneidad, diversidad de microambientes, resistencia a antimicrobianos, comunicación intercelular (Betancourth, Enrique Botero, &

Rivera , 2004). Los microorganismos utilizados comúnmente son originarios de las propias aguas residuales por su única característica de resistencia al microclima del agua residual (Gallego, Gemini, & Korol, 2006).

A continuación en la *Figura 56*, se presenta el comportamiento respecto al crecimiento de microorganismos aislados de diferentes puntos de muestreo en la planta de lácteos de donde proviene el agua residual para 72 horas. Se puede observar que para las 3 réplicas, el punto de muestreo numero 1 (PA1) es el que mejores resultados mostro en función del crecimiento. Presentó un total de entre el 40% y 45% de cobertura de una caja Petri. Como se describió en el capítulo 3 sección 3.4, el (PA 1) presentaba característica de agua en condiciones turbias con vectores como mosquitos y escarabajos, el agua era proveniente del lavado del suelo en el área de recepción de la leche cruda. En la *Figura 56*, se puede observar que el segundo punto de muestreo (PA 2), también presenta resultados aceptables en cuanto al crecimiento de microorganismos en medio Agar Nutritivo. El (PA 2) presentaba características de formación de moho en el agua, este punto fue tomado en el canal de circulación del agua residual de la planta de lácteos.



Tomando los cultivos microbianos de PA 1 y PA 2, se utilizó un caldo nutritivo para evaluar el crecimiento de microorganismos en medio líquido como una reproducción in-vitro. Se utilizó como indicador de actividad microbiana el cambio de turbidez de una muestra caldo de cultivo con inóculo de microorganismos de menor a mayor. En la Figura 58 se puede observar que el comportamiento del indicador (turbidez) es similar para los dos puntos de muestreo (PA1 y PA2). De esta manera se puede decir que las características cualitativas de ambos puntos de muestreo del agua residual son adecuadas para el aislamiento de microorganismos degradadores.



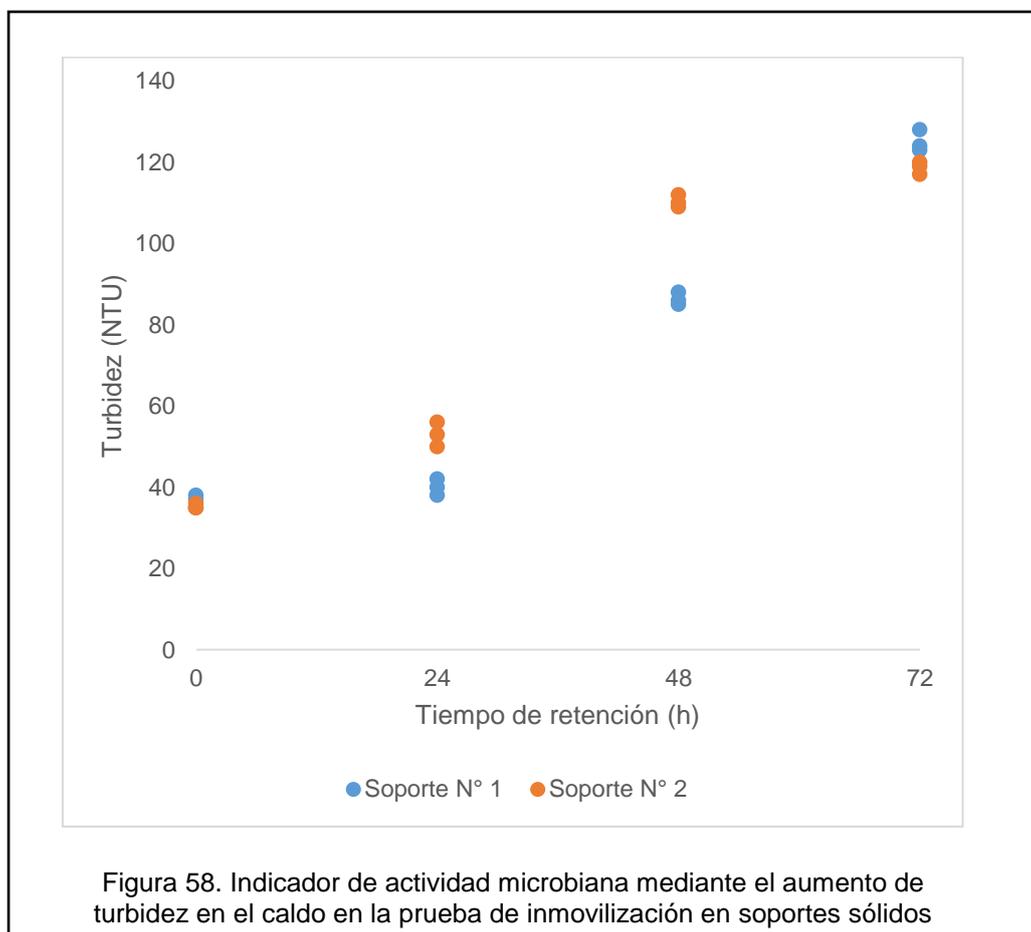
En base a lo referido en la sección 5.1.3 respecto a nitrificación y desnitrificación y sección 5.2.1 mencionando la relación de nitrificación con microorganismos autótrofos y desnitrificación con microorganismos heterótrofos, y tomando los resultados de la eliminación de nitrógeno del agua residual. Se puede decir que los microorganismos autótrofos degradadores en

este proceso de biofiltración están en el rango de microorganismos *litoautotróficos* que pertenecen a la familia *Nitrobacteriaceae*, pudiendo ser esféricos, bacilares o espirales (Carrillo et al., 2000). Mientras que los microorganismos heterótrofos estarían en el rango de los géneros desnitrificantes más citados que incluyen, *Alcaligenes*, *Paracoccus*, *Pseudomonas*, *Thiobacillus* y *Thiosphaera*, entre otros (Carrillo et al., 2000).

### **5.2.3 Formación de biopelícula y adherencia de microorganismos en función de las propiedades de dos soportes sólidos**

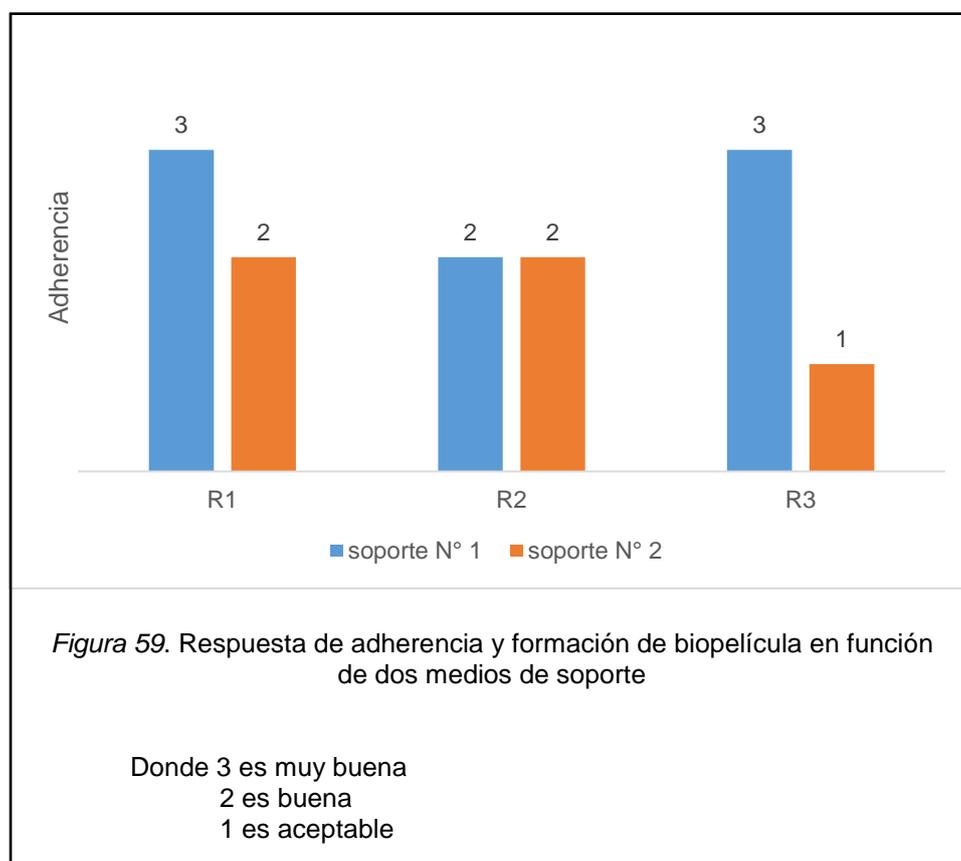
En la formación de biopelículas los microorganismos se adhieren a la superficie gracias a la secreción de un exopolímero (Betancourth et al., 2004). Estudios revelan que los soportes sólidos deben tener buena porosidad con el fin de permitir un intercambio constante de sustratos, productos, gases, etc. Mas una buena estabilidad química, biológica, y mecánica (Garzón et al., 2008). Estudios demuestran que la actividad de crecimiento de microorganismos es más acelerada en soportes sólidos de origen vegetal. Esto es debido al aporte de nutrientes y sustancias con contenido carboxílico presentes en las fibras vegetales (Garzón y Huerta, 2008). A continuación en la Figura 58 se observa el resultado de la actividad microbiana en función del aumento de turbidez en las pruebas de inmovilización pasiva por contacto para dos tipos de soportes sólidos. Se puede observar claramente que en las 48 horas de la prueba de inmovilización por contacto en medio líquido, el soporte N° 2 (fibra vegetal) muestra un cambio de turbidez mayor al que muestra el soporte N°1 (plástico P.V.C). Este patrón se debe a los nutrientes aportados por la fibra vegetal que aceleran el crecimiento de microorganismos. Sin embargo el hecho de que exista mayor actividad de reproducción de microorganismos no quiere decir que el soporte sólido vegetal en estudio presente mejores características de adherencia. Un ensayo realizado por (Sánchez Ortiz, y otros, 2010), en la universidad de Antioquia Colombia, demostró que algunas fibras de origen vegetal pierden rápidamente las propiedades mecánicas que mantienen

inmóviles a los microorganismos adheridos, esto debido a la sobreproducción de células que generan un peso en el soporte que al estar sumergido durante un tiempo prolongado pierde firmeza.

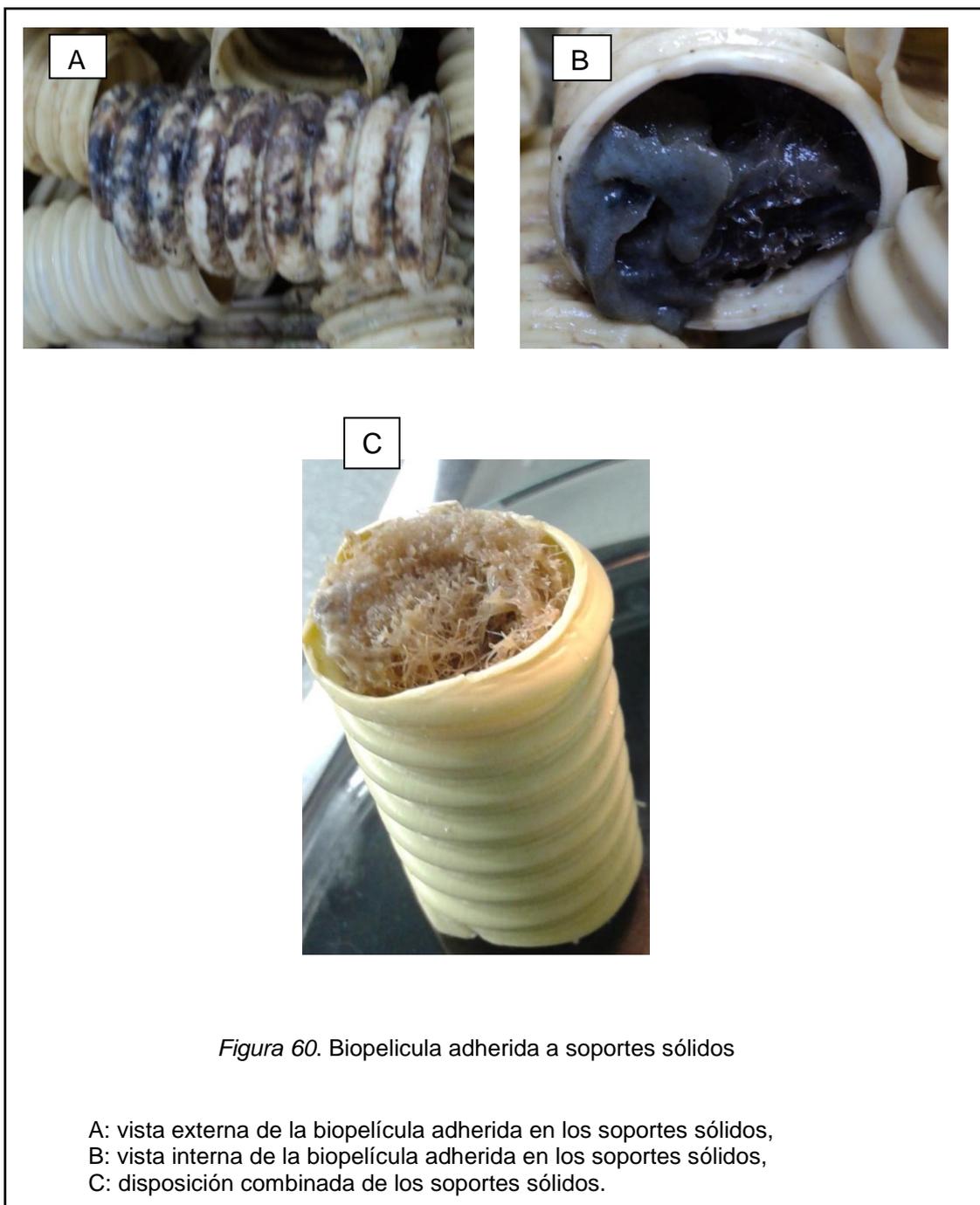


Mientras que los soportes de origen vegetal presentan propiedades de crecimiento de microorganismos, los soportes sólidos de origen sintético presentan mayor resistencia mecánica (Garzón y Huerta, 2008). Un estudio realizado por Dorinina y colaboradores (2006), logró el 100% de la remoción de dos contaminantes (etilacetato y metilacetato) inmovilizado *Pseudomonas esterophilus* en soportes de polivinilo. A continuación en la Figura 59 se observa los resultados respecto a la adherencia y formación de biopelícula de forma cualitativa. Se observa que el soporte N°1 tiene mejor adherencia de microorganismos. Estudios demuestran que los materiales plásticos porosos presentan una mejor relación de adherencia con el exopolímero que producen

los microorganismos, esto es debido a la atracción iónica de los materiales (Gallego, Gemini, & Korol, 2006).



De esta manera observando ambos resultados: de la actividad microbiológica en el proceso de inmovilización de microorganismos degradadores, y de la formación de biopelícula y adherencia de microorganismos a los soportes sólidos. Para el proceso de biofiltración del agua residual en el filtro biológico, se seleccionaron los dos tipos de soportes. Dispuestos de manera que la fibra vegetal con propiedades de aporte al crecimiento de microorganismos se encontró adentro del soporte plástico con propiedades de mejor adherencia de los microorganismos, logrando así una asociación entre los dos materiales (*Figura 60*)



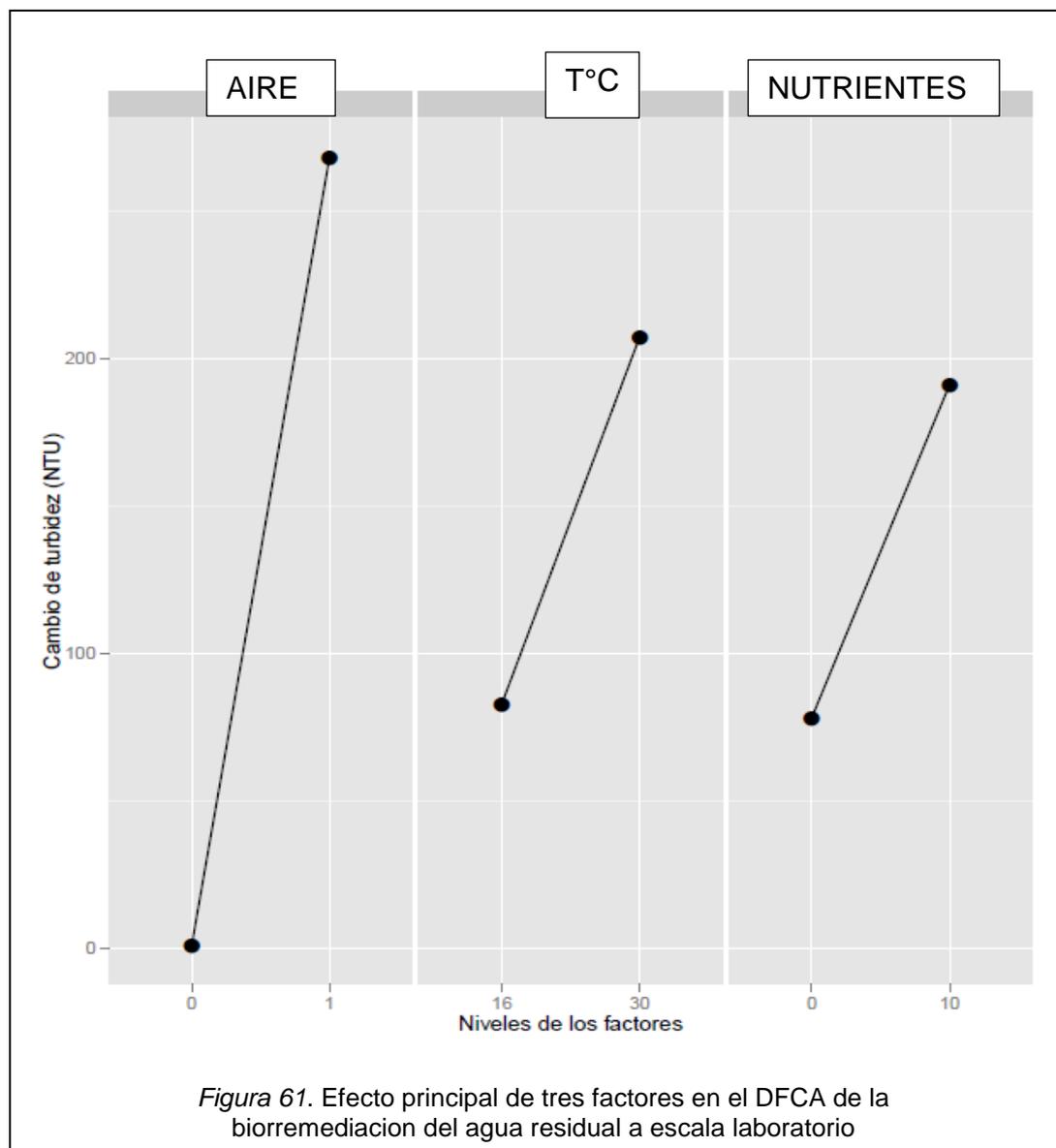
### 5.3 Análisis estadístico de la biorremediación a escala laboratorio mediante (DFCA)

Como resultado del diseño factorial completamente aleatorio a escala de laboratorio, se obtuvieron 8 combinaciones (8 tratamientos) en función de tres factores. Los factores seleccionados para la experimentación fueron la temperatura la adición de nutrientes, y la inyección de aire.

### **5.3.1 Efectos principales de 3 factores en función del cambio de turbidez**

La turbiedad del agua residual es un indicador contundente de la concentración de microorganismos, biomasa como células muertas y materia orgánica disuelta y soluble es alta, la relación entre estos componentes y el aumento de turbiedad en el agua es directamente proporcional (Ramalho, 2003). A continuación en la *Figura 61*, se puede observar el efecto principal que presenta los tres factores evaluados en el DFCA en función del cambio de turbidez. Se observa que el factor aire con inyección continua es el factor más representativo en las 8 combinaciones siendo positivo el cambio de turbidez de mayor a menor en los tratamientos con presencia de aire. La *Figura 61* nos confirma el hecho de que los tres factores juntos en nivel (+) son esenciales en la biorremediación del agua residual a escala laboratorio, tomando como indicador el cambio de turbidez (NTU) de mayor a menor. Este resultado es debido a que la presencia de oxígeno disuelto en el agua es esencial para los procesos de nitrificación por microorganismos aerobios. La presencia de oxígeno es fundamental para la eliminación de DQO y DBO, ya que es el componente principal en los procesos de descomposición aerobia de materia orgánica soluble presente en el agua residual. El equilibrio entre nutrientes en el agua residual para procesos de biorremediación es la clave para lograr la eficiencia en la remoción de contaminantes, la presencia de macronutrientes como nitrógeno y fosforo ayudan a contrarrestar el efecto negativo del exceso de materia orgánica presente en el agua, mejorando los procesos de nitrificación, desnitrificación y oxidación de sustancias presentes en el agua residual (Carrillo et al., 2000). La temperatura es el medio por el cual los microorganismos degradadores actúan, estudios hacen referencia que a mayor

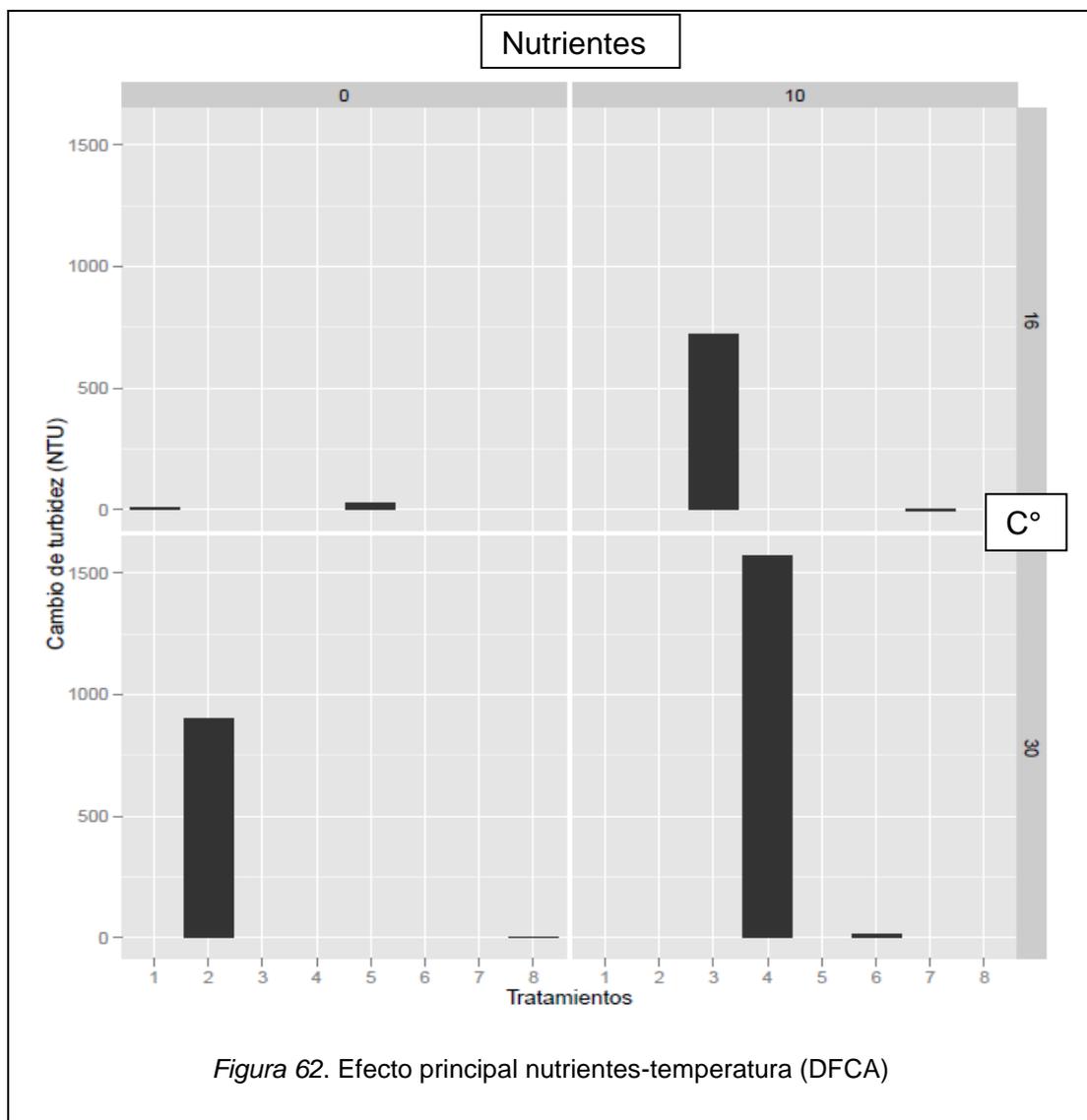
temperatura mejor comportamiento presentan los microorganismos en procesos metabólicos y de reproducción (Ramalho, 2003).



### 5.3.2 Efecto principal Nutrientes-Temperatura para 8 tratamientos

De los resultados del DFCA en la *Figura 62*, podemos ver cuál es el efecto principal en la relación entre los niveles para los factores de nutrientes y temperatura. Recordamos que el nivel (+) de nutrientes es una solución de nitrógeno y fósforo al 10% y el nivel (+) de temperatura es de 30°C. En la *Figura 62*, podemos observar que para esta relación de factores nutrientes-temperatura la mejor respuesta en función del cambio de turbidez es en el

tratamiento N° 4 con temperatura de 30° y solución de nutrientes al 10%. Siendo temperatura (+) y nutrientes (+).



De manera complementaria en la *Figura 63*, se presenta un modelo matemático que refleja el comportamiento del cambio de turbiedad (eje vertical Y), en función de los factores nutrientes y temperatura. Aseverando lo discutido con anterioridad podemos ver que cuando los macronutrientes alcanzan su máximo nivel y así mismo la temperatura, el cambio de turbiedad de mayor a menor es más alto.

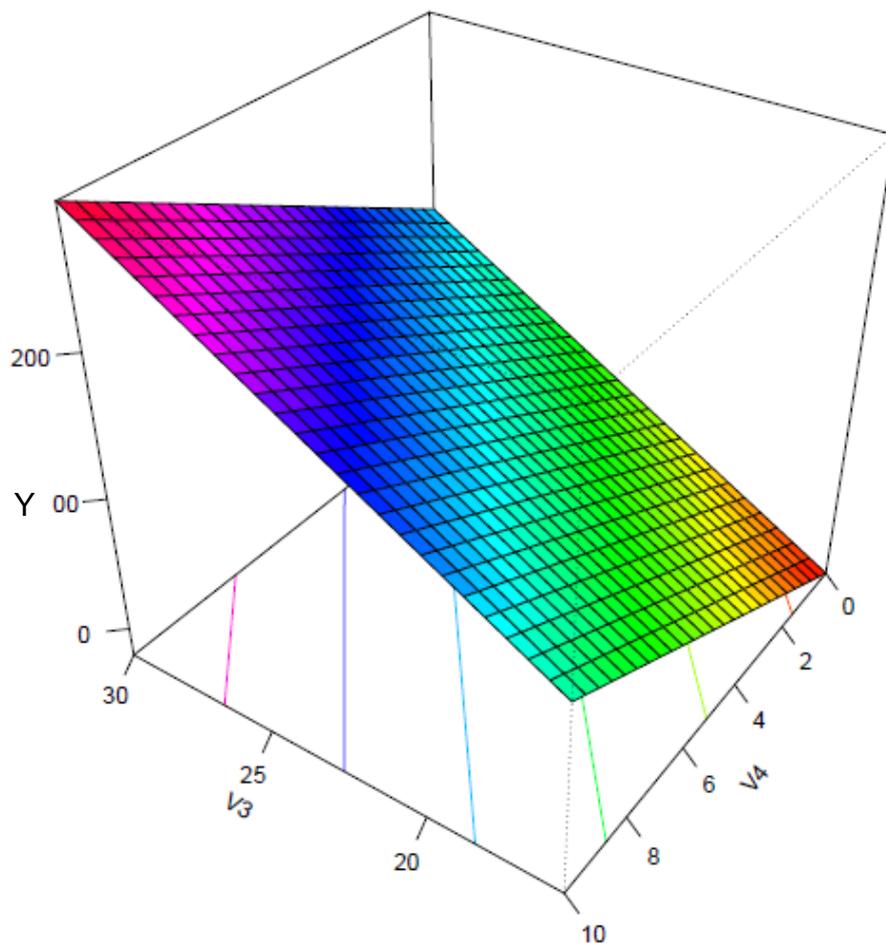


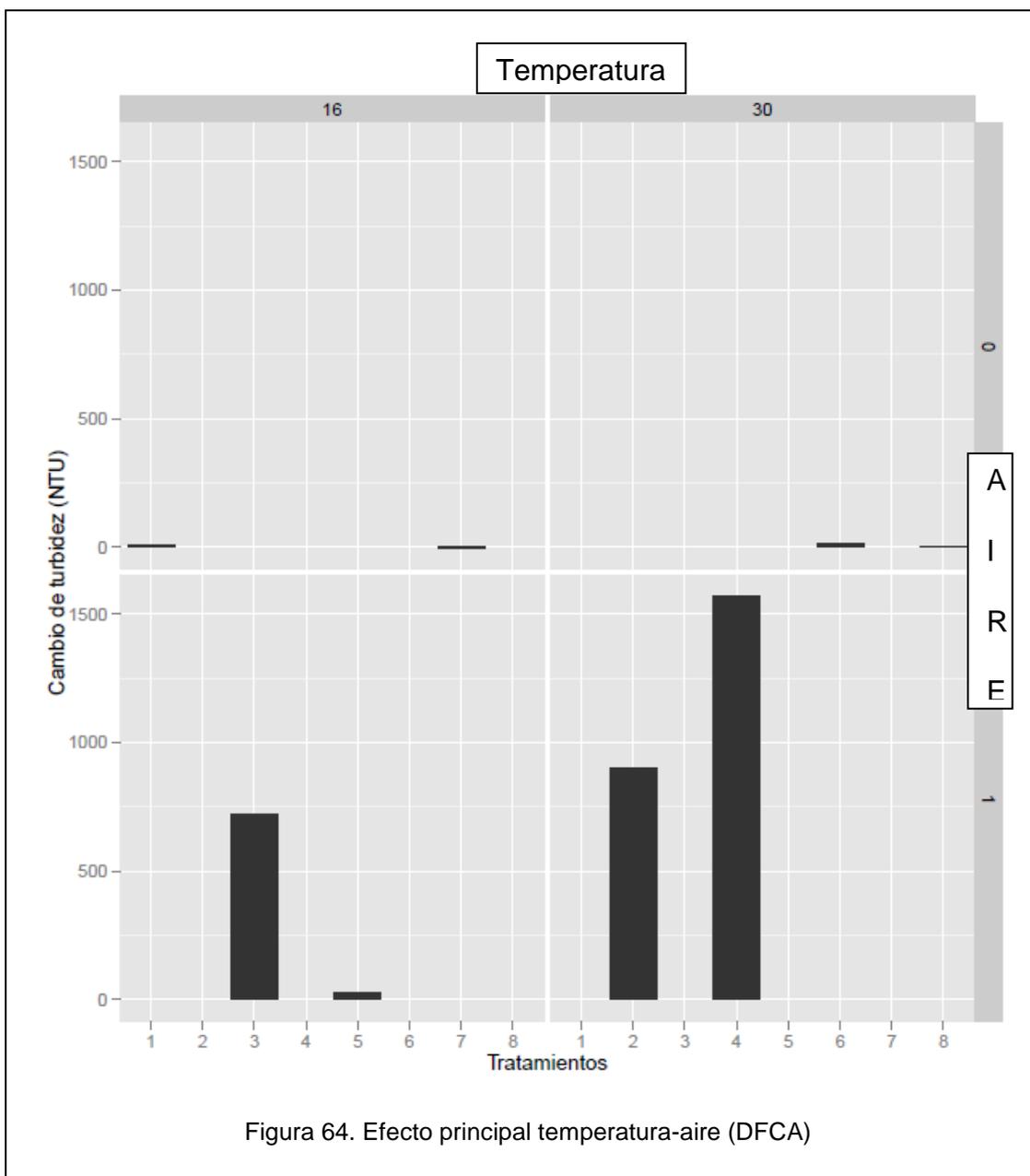
Figura 63. Superficie de respuesta temperatura en función del cambio de turbidez

Dónde: Y es el cambio de turbidez,  
V3 son los niveles de factor temperatura,  
V4 son los niveles de factor nutrientes.

Se puede afirmar que a mayor temperatura y en presencia de nutrientes como complemento para el agua residual, los microorganismos asimilan mejor estos nutrientes para metabolizar los compuestos orgánicos en el agua residual. Sin embargo la falta de oxígeno genera dificultad para los procesos de nitrificación.

### **5.3.3 Efecto principal Temperatura-Aire para 8 tratamientos**

A continuación en la Figura 64, podemos observar el efecto de la temperatura-aire para los 8 tratamientos resultado del DFCA. Se observa que la relación aire temperatura es más influyente en la remoción de la turbidez en la muestra de agua. La inyección de aire genera resultados de eliminación de turbidez en los dos niveles de temperatura (-) 16° C y (+) 30°. Para la combinación de los dos factores en niveles (+) (+) los tratamientos N°2 y N°4 muestran valores más altos de reducción de turbidez, siendo representativo el tratamiento N° 4. Se observa claramente que el efecto de la inyección continua de aire sobre los microorganismos inmovilizados es vital para las reacciones bioquímicas. Como se discutió en secciones anteriores la nitrificación se da por efecto de microorganismos aerobios autótrofos y si las condiciones de adecuada temperatura son constantes los procesos metabólicos de los microorganismos son más eficientes (Carrillo et al., 2000). La presencia de oxígeno disuelto en el agua ayuda a remplazar moléculas de nitrógeno, convirtiendo el nitrógeno amoniacal en compuestos más simples disminuyendo así la concentración de DQO y DBO (Carrillo et al., 2000).



A continuación en la *Figura 65* se observa la perspectiva de la biofiltración a escala laboratorio en función del comportamiento del cambio de turbidez (eje vertical Y) para los factores de aire y temperatura. Corroborando lo mencionado con anterioridad se observa que el cambio de turbidez de mayor a menor se da a lugar cuando los dos factores alcanzan su máximo nivel. Se observa que el factor aire es más influyente sobre la remoción de turbidez en el agua residual.

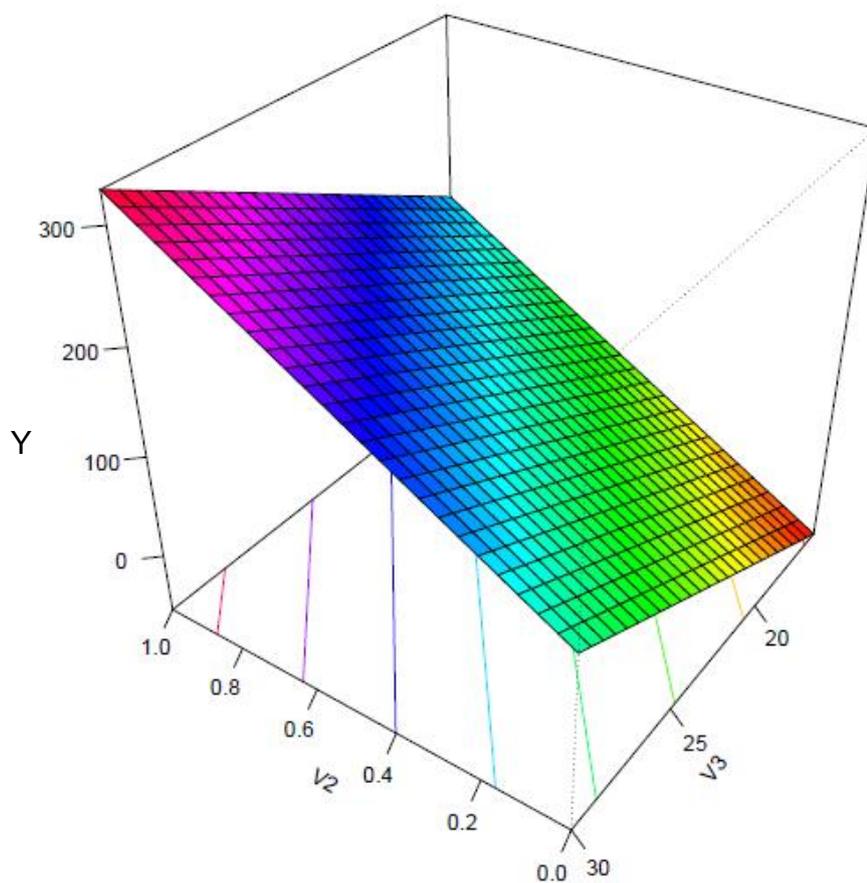
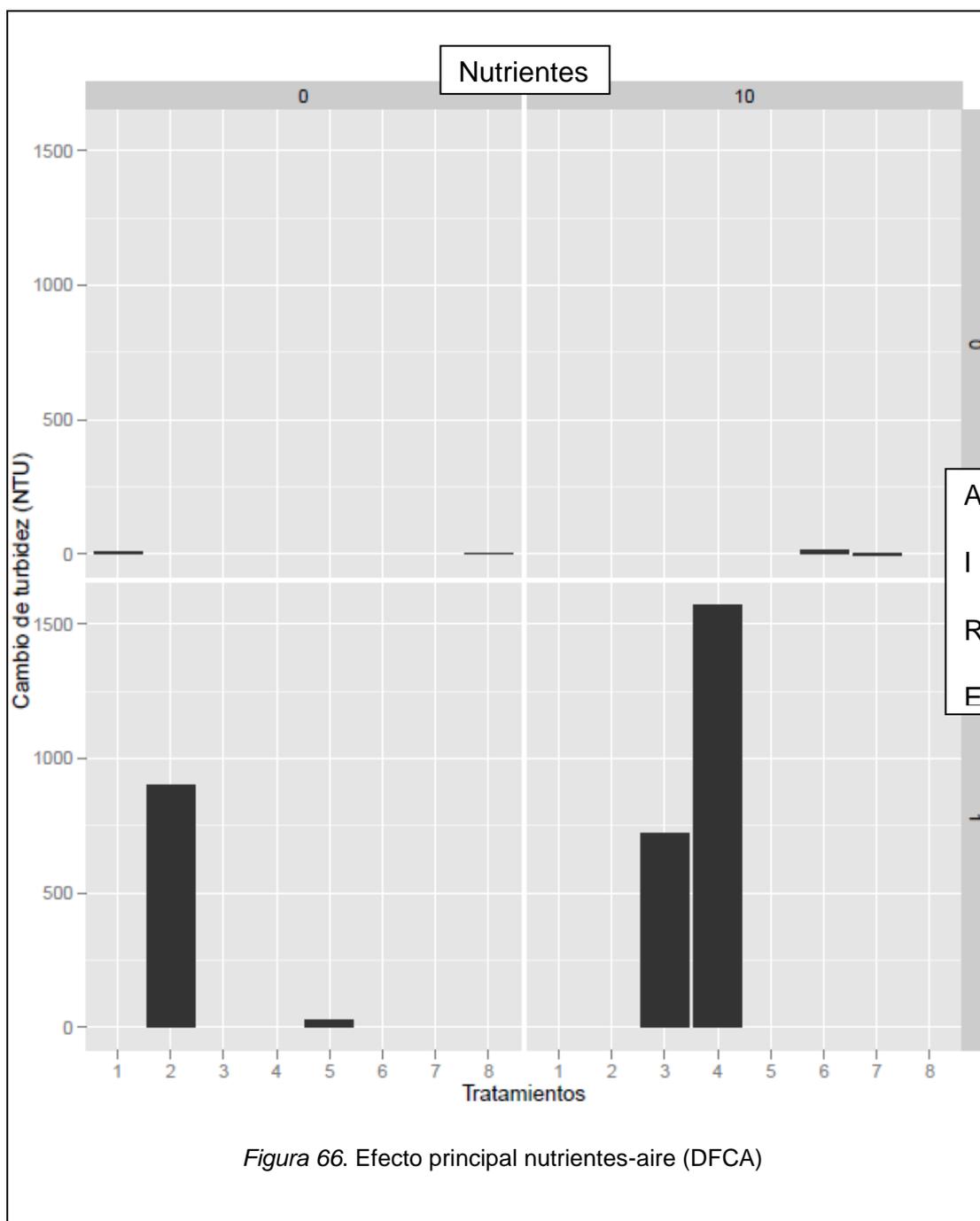


Figura 65. Superficie de respuesta en el (DFCA) para el efecto temperatura-aire en función del cambio de turbidez

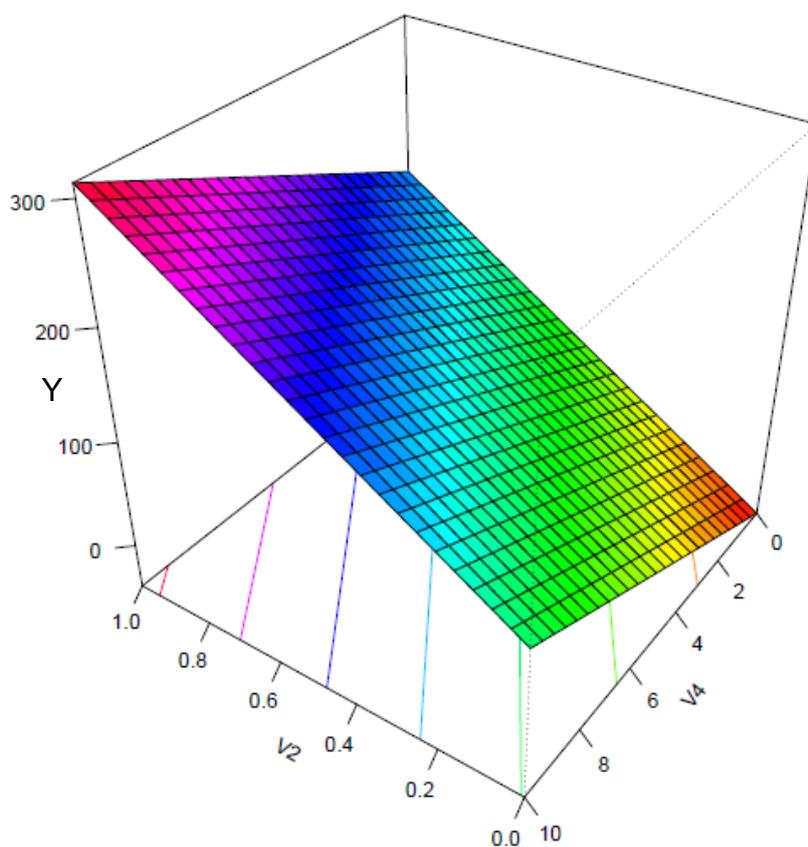
Dónde: Y es el cambio de turbidez,  
V3 son los niveles del factor temperatura,  
V2 son los niveles del factor aire.

#### 5.3.4 Efecto principal Nutrientes-Aire para 8 tratamientos

A continuación en la figura podemos observar el efecto principal de la relación de los factores nutrientes-aire para 8 tratamientos resultantes del DFCA en función del cambio de turbidez de mayor a menor del agua residual en la biorremediación a escala laboratorio. En la *Figura 66*, podemos observar una vez más que el mejor tratamiento es el N°4 con los factores de aire y nutrientes en los niveles (+) (+) respectivamente. Se puede ver que el efecto del aire es significativo también para el tratamiento N° 3 en niveles (+) de los dos factores y para el tratamiento N°2 en niveles aire (+) y nutrientes (-). Una vez más se puede observar que la inyección continua de aire tiene un efecto relevante sobre la actividad de los microorganismos. En ausencia de aire elevadas concentraciones de nutrientes, la remoción de la turbidez es mínima o cero, esto es debido a que al complementar la muestra de agua residual con nitrógeno y fósforo y sin las condiciones adecuadas de aire y temperatura. Surge un efecto de eutrofización del agua residual, donde el exceso de componentes orgánicos incluso nitrógeno generan una demanda química de oxígeno (DQO) muy elevada, así mismo una DBO alta debido a que los microorganismos no encuentran las condiciones adecuadas para los respectivos procesos metabólicos, causando así la muerte celular y el incremento de biomasa en el agua (Ramalho, 2003).



En la *Figura 67* se observa la perspectiva de biofiltración para el efecto de la relación nutrientes-aire en función de la eliminación de la turbidez en la biorremediación del agua residual a escala laboratorio. Se observa una vez más que cuando los factores alcanzan su máximo nivel es cuando más cambio de turbidez existe en la muestra de agua residual.



*Figura 67.* Superficie de respuesta en el (DFCA) para el efecto nutrientes-aire en función del cambio de turbidez

Dónde: Y es el cambio de turbidez,  
 V4 son los niveles del factor nutrientes,  
 V2 son los niveles del factor aire.

De esta manera tomando todos los resultados de los efectos principales de los factores evaluados en el DFCA  $2^3$ , se observa que el mejor tratamiento fue el N° 4 con la distribución aleatoria (+) (+) (+) para los tres factores. Esto complementa el efecto principal que se observó en la *Figura 61* (sección 5.3.1), que recalca el efecto que tienen los 3 factores sobre la biorremediación del

agua residual a escala laboratorio. El aporte externo de nutrientes (nitrógeno y fósforo) ayuda al equilibrio de la relación C/N proporcionando así macronutrientes esenciales para procesos de nitrificación y desnitrificación, al ocurrir estas reacciones la carga orgánica expresada en DQO disminuye. Al mantener una aireación continua los microorganismos aerobios aislados en los soportes sólidos logran una adecuada degradación biológica de los compuestos orgánicos solubles y disueltos en el agua residual disminuyendo la DBO. La temperatura en un rango promedio de 30 °C es eje fundamental para que las reacciones químicas y biológicas que realizan los microorganismos tanto aerobios como anaerobios se den a lugar complementando así el proceso de biorremediación del agua residual proveniente de una industria láctea. En función de estos resultados y discusión, se tomó como base para el proceso de biofiltración a escala piloto en el filtro biológico las condiciones del mejor tratamiento (tratamiento N°4) las cuales fueron aireación continua, solución de macronutrientes (N y P al 10%) y temperatura de 30° C.

#### **5.4 Análisis estadístico de la biorremediación a escala piloto mediante un diseño factorial aleatorio**

Para la biorremediación del agua residual proveniente de una industria de lácteos de la parroquia de San Miguel de Nono, se evaluó una variable independiente la cual fue la presencia de sustrato en dos niveles: con sustrato y sin sustrato. Estos dos niveles fueron expresados en dos escenarios para evaluar en un tiempo de retención en el filtro biológico de 18h, se consideró cada intervalo de 2h como un tratamiento presentando un total de 9 tratamientos. partiendo de la definición de que la turbiedad del agua residual es un indicador contundente de la concentración de microorganismos, biomasa como células muertas, materia orgánica disuelta y soluble es alta, la relación entre estos componentes y el aumento de turbiedad en el agua es directamente proporcional (Ramalho, 2003). Se utilizó la eliminación de la turbidez del agua residual como indicador de respuesta para el tratamiento biológico. Para la el cálculo de la eficiencia de remoción de turbidez para cada escenario se utilizó la Ecuación 2, descrita a continuación.

$$x = \frac{T_o - T_f}{T_o}$$

Dónde:  $T_o$  Es el valor de la turbidez inicial,

$T_f$  Es la turbidez final,

$x$  Es la eficiencia en porcentaje.

Ecuación 2. Cálculo de la eficiencia de la biorremediación a escala piloto  
filtro biológico

De esta manera para el primer escenario (con sustrato), se tomó el valor más alto de turbidez de la muestra inicial (799 NTU), y se tomó el valor más bajo de turbidez después de la sedimentación con zeolita (38.6 NTU) del mejor tratamiento (tratamiento 5 correspondiente a 10h de retención). Reemplazando los valores de turbidez en la Ecuación 2, se obtuvo el porcentaje de eficiencia de biorremediación para el primer escenario descrito a continuación en la Ecuación 3. Podemos ver que la eficiencia de biorremediación del agua residual para el primer escenario (con sustrato) en función de la eliminación de la turbidez es del 95%.

$$x = \frac{799 - 38,6}{802}$$

$$x = 95.1 \%$$

Ecuación 3. Calculo de la eficiencia de biorremediación para el primer  
escenario con sustrato

De igual manera para el segundo escenario (sin sustrato), como valor de turbidez inicial, se tomó el valor más alto de turbidez de la muestra ya sin sustrato con pre tratamiento por decantación, el cual fue de 716 NTU, y se tomó el valor más bajo de turbidez después de la sedimentación con zeolita 98.2 NTU, este valor se encontraba en el tratamiento 6 correspondiente a 12 horas de retención. Reemplazando los valores en la Ecuación 2, se obtuvo el porcentaje de eficiencia de biorremediación para el segundo escenario (sin sustrato) descrito a continuación en la Ecuación 4. Podemos ver que la eficiencia de biorremediación del agua residual para el segundo escenario (sin sustrato) en función de la eliminación de la turbidez es del 86,2 %.

$$x = \frac{716 - 98,2}{716}$$

$$x = 86.2 \%$$

Ecuación 4. Cálculo de la eficiencia de biorremediación para el segundo escenario sin sustrato

Siendo el primer escenario (con sustrato) el que presenta mayor eficiencia de remoción de turbidez en menor tiempo de retención, se replicó la evaluación para realizar el análisis-físico químico (sección 5.1). En función de estos resultados de eficiencia, podemos decir que el contenido de sustrato en el agua residual mejora la eficiencia de remoción de contaminantes orgánicos. Debido a que: los microorganismos inmovilizados en soportes sólidos y en especial los microorganismos nitrificantes (aerobios) generalmente tienden a formar estructuras denominadas flóculos gracias a la secreción de sustancias exopoliméricas (Carrillo et al., 2000). La presencia de sustrato ayuda a la formación de estos flóculos adheridos a los soportes sólidos (Betancourth y Rivera ., 2004). Debido a que el sustrato proveniente de los procesos lácteos además de lípidos contiene carbohidratos y proteínas las cuales principalmente están formadas de almidones, aminoácidos y celulosa (Arrojo et al., 2003), estos 3 compuestos son conocidos como sustancias poliméricas

extracelulares, (et al., 2008) aseguran que estos compuestos poliméricos complejos forman estructuras con sistemas de canales y aireación que permiten el transporte de sustratos como nutrientes, desechos y oxígenos. Y gracias a estos canales se generan diferentes gradientes de tensión pH y oxígeno lo cual permite que se desarrollen nichos de diversos grupos microbiológicos (Garzón et al, 2008).

En la Figura 68, se presenta el comportamiento comparativo de los dos escenarios en función del cambio de turbidez de mayor a menor para la 18 horas de retención sin sedimentación secundaria. Se observa que sin sedimentación secundaria el escenario sin sustrato presenta mayor reducción de turbidez esto es debido a que al eliminar sustrato se remueve un alto contenido de materia orgánica disuelta en el agua residual (Ramalho, 2003). Mientras que el escenario con sustrato presenta un comportamiento lineal de eliminación de turbidez que no es tan notorio como el escenario sin sustrato. Esto es debido a que gracias al contenido de sustrato en el agua residual existió más formación de microorganismos inmovilizados (fase exponencial del comportamiento de microorganismos en medio líquido) (Medigan, Martinko, & Parker, 2003), que al separarse de los soportes sólidos quedaron suspendidos en el agua residual reflejándose en la turbidez del agua residual. Sin embargo en la Figura 69, respecto al comportamiento comparativo de los dos escenarios después de la sedimentación secundaria con zeolita activada, se observa claramente que el primer escenario con sustrato tiene mejor eliminación de turbiedad entre las 8h y 10h de retención en el filtro biológico, mostrando una notable caída entre las 4h y 6h de retención después de una subida entre las 0h y 2h de retención. Este comportamiento se justifica en medida de que en las primeras horas de tratamiento biológico los microorganismos adaptan su metabolismo a las nuevas condiciones ambientales de nutrientes y cultivos (fase lag del crecimiento microbiano en medio líquido) (Medigan et al., 2003). Seguido a la fase lag del crecimiento microbiano en medio líquido, los microorganismos entran en una fase exponencial donde se consume a velocidad máxima los nutrientes del medio líquido (agua residual) (Medigan et al., 2003), este comportamiento se ve reflejado en la caída de la turbidez entre

las 4h y 6h de tratamiento, donde todo residuo o subproducto de la metabolización de nutrientes del agua residual, más las células muertas de microorganismos son sedimentados por la zeolita activada mediante atracción iónica ya que estos subproductos, desechos y células muertas presentan cargas negativas que son atraídas por la zeolita activada (Ramalho, 2003).

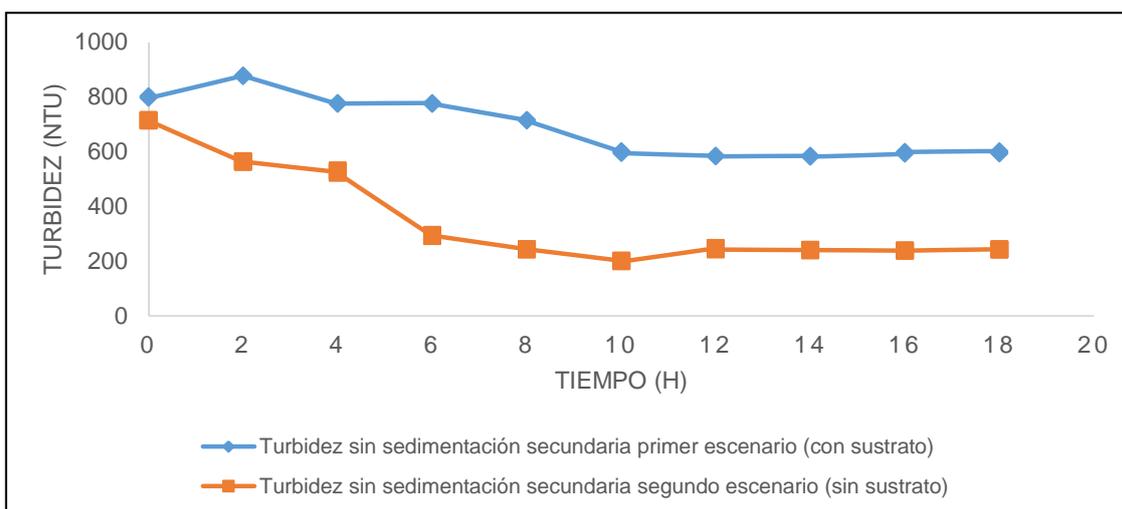


Figura 68. Comportamiento comparativo de dos escenarios en función del cambio de turbidez en la biorremediación del agua residual en filtro biológico sin sedimentación secundaria.

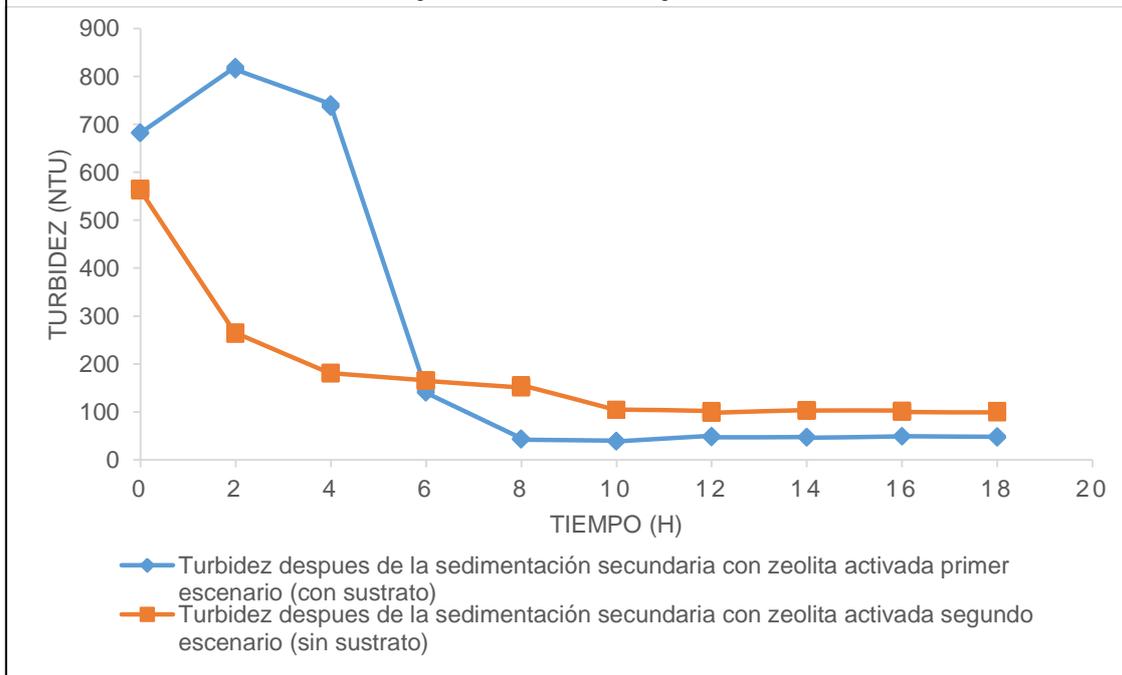
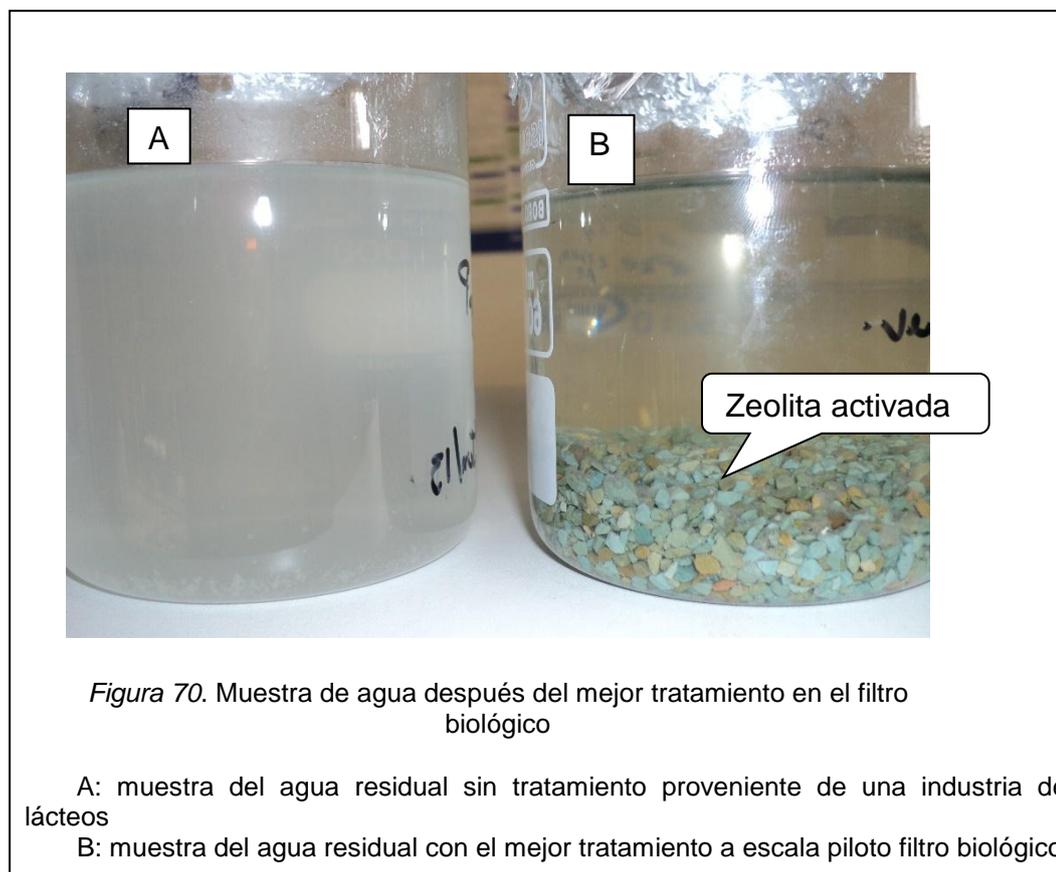


Figura 69. Comportamiento comparativo de dos escenarios en función del cambio de turbidez en la biorremediación del agua residual en filtro biológico con sedimentación secundaria

A continuación en la *Figura 70* se puede ver una muestra del agua residual sin tratamiento en comparación de una muestra del agua residual (mejor escenario) después del mejor tratamiento (10h) en el filtro biológico.

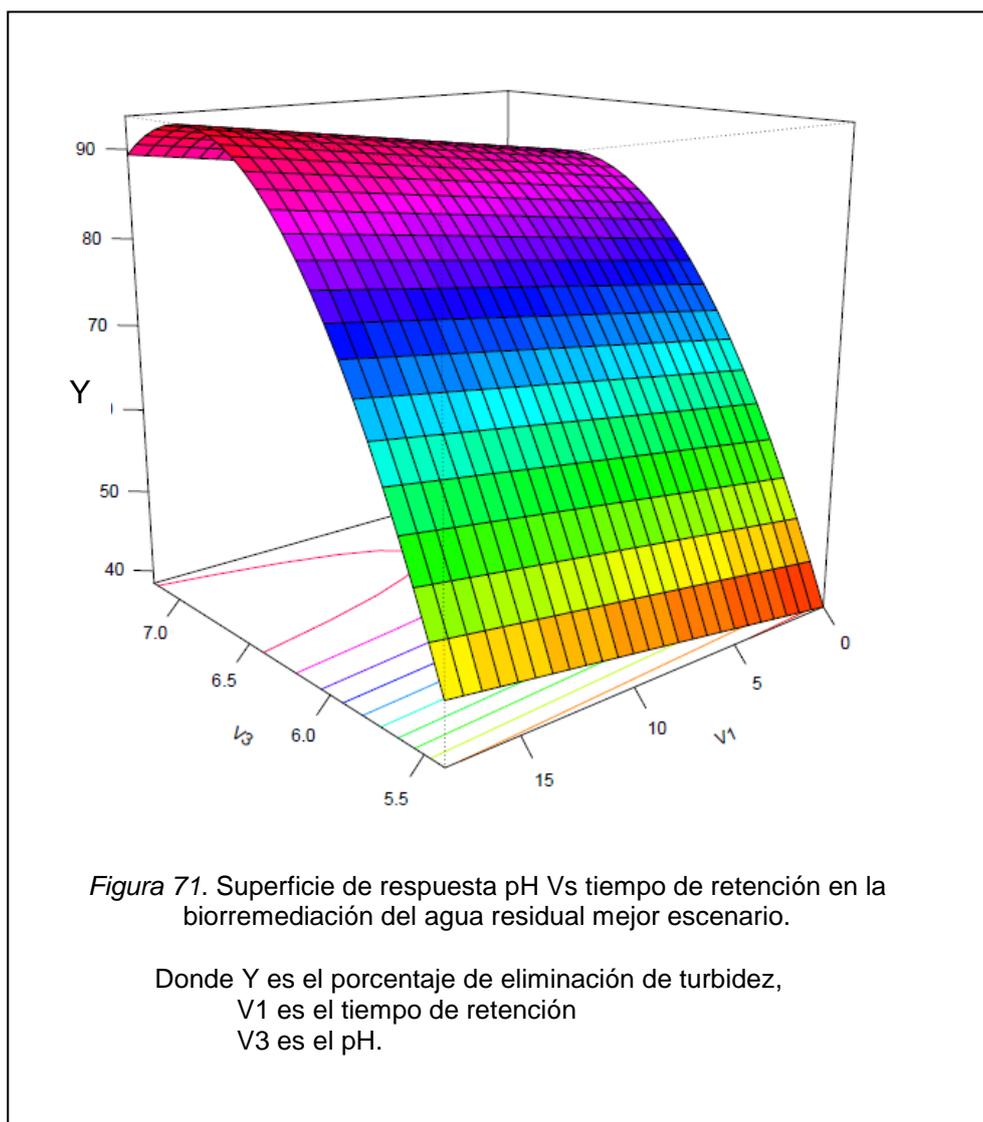


En función de estos resultados, se tomó como mejor tratamiento a escala piloto en el filtro biológico al primer escenario (con sustrato) en el tiempo de retención de 10h, resultado que se replicó para el análisis físico químico presentado en la sección 5.1. Referente a caracterización físico-química.

#### **5.4.1 Análisis de los factores de respuesta en la biorremediación del agua residual a escala piloto del mejor escenario (con sustrato)**

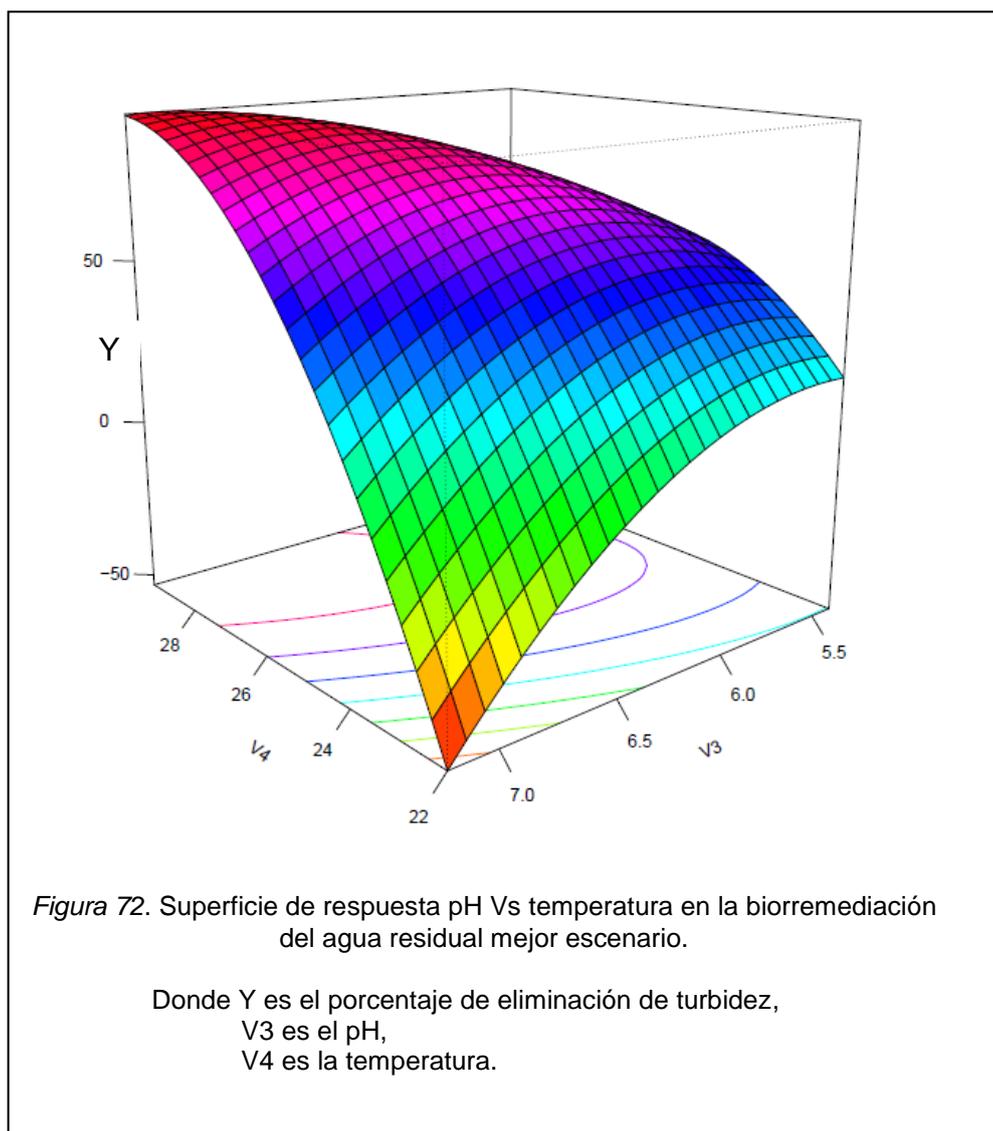
El mejor escenario evaluado a escala piloto resultante del diseño factorial aleatorio en el filtro biológico fue el primer escenario (con sustrato), a continuación se muestra un análisis de la relación de los factores de respuesta pH, turbidez, temperatura y tiempo de retención durante el proceso de biorremediación del agua residual de una industria de lácteos en el filtro biológico.

En la *Figura 71*, podemos ver la relación del tiempo de retención Vs pH en función de la eficiencia de remoción de turbidez en el mejor escenario (con sustrato). Podemos ver que cuando el pH alcanza niveles alcalinos el porcentaje de eliminación de turbidez es mayor alcanzando los más óptimos valores de remoción del 95%, esto es debido a que cuando el pH se encuentra equilibrado en niveles alcalinos cercanos a 8, los procesos nitrificantes se ven favorecidos, y cuando el pH está por niveles inferiores a 5 la nitrificación se detiene por completo, posiblemente por la acumulación de ácido nitroso y falta de oxígeno, condiciones que inhiben la oxidación de amonio y de otros compuestos (Carrillo et al., 2000).



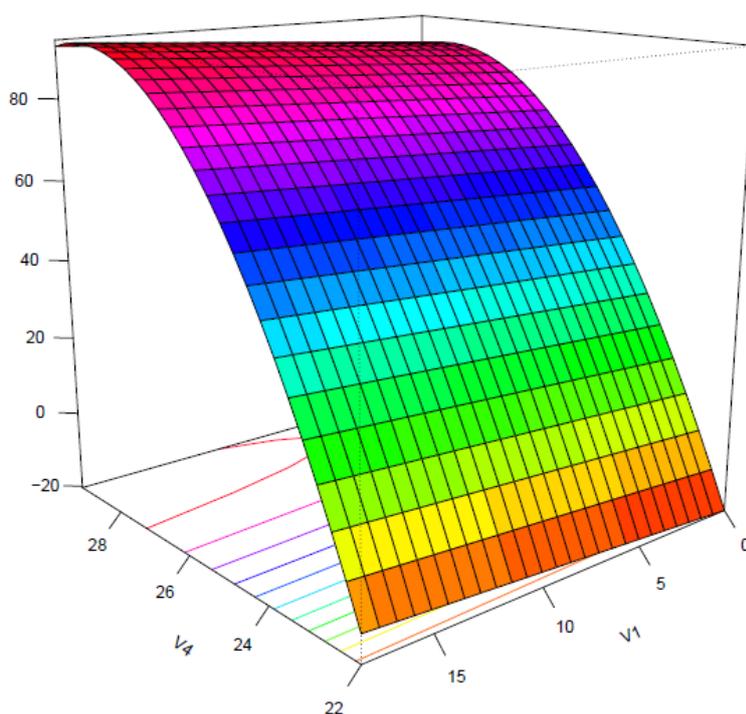
A continuación en la *Figura 72*, podemos observar la relación del pH Vs Temperatura en función de la eficiencia de remoción de turbidez para el mejor tratamiento en el mejor escenario con sustrato. En el modelo presentado se puede ver que la temperatura tiene una influencia directa sobre la remoción de contaminantes en el agua residual sin importar si el pH es ácido o básico a temperaturas menores es mínima o nula la disminución de la turbidez. Mientras que a temperaturas superiores a 26° centígrados la temperatura logra porcentajes de eliminación representativos incluso con pH ácido. Siendo el mejor comportamiento a pH alcalino y temperatura de >28°C. Estudios han demostrado que la velocidad de crecimiento de colonias de microorganismos

se modifica con la temperatura, siendo que a intervalos de entre 28°C y 30°C existe mayor crecimiento de microorganismos tanto aerobios como anaerobios (Carrillo et al., 2000). En función de esto podemos decir que estabilizando el pH en niveles alcalinos y manteniendo la temperatura en un promedio de 29° C se mejora los tiempos de retención biológica en tratamientos de aguas residuales.



A continuación en la *Figura 73* se muestra la relación del tiempo de retención Vs temperatura en función de la eficiencia de remoción de turbidez para el mejor tratamiento en el mejor escenario con sustrato. Se puede ver que la temperatura tiene una incidencia directa sobre la eficiencia en la eliminación de

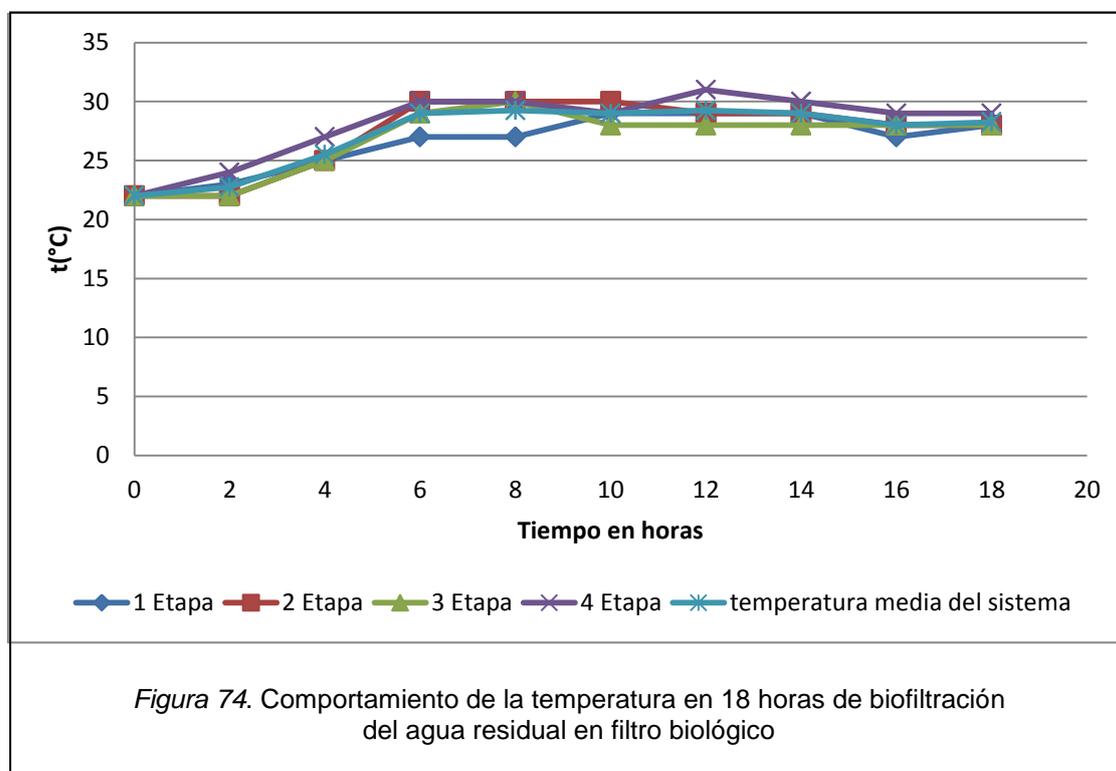
turbidez, el modelo estadístico fue construido en función de datos numéricos obtenidos durante el proceso de biofiltración. En base a esto el modelo nos muestra que si la temperatura fuese de valores entre 28° y 30° C promedio durante todo el proceso de biofiltración la eficiencia estaría por sobre el 80% para cualquier tiempo de retención esto es debido a lo ya mencionado de que la temperatura influye directamente en la velocidad de formación de colonias adheridas a los soportes sólidos y a la capacidad de metabolizar sustancias en medio líquido (Medigan et al., 2003). La temperatura actúa de tal manera que a mayor temperatura entre el rango promedio de 16°C y 32°C en un ecosistema definido, los microorganismos disminuyen el tiempo de la fase de adaptación (fase lag), entrando a una fase exponencial más rápido y debido a que la fase de adaptación tomó menos tiempo existe menos muerte celular (Medigan et al., 2003).



*Figura 73.* Superficie de respuesta tiempo de retención Vs temperatura en la biorremediación del agua residual mejor escenario.

Donde Y es el porcentaje de eliminación de turbidez,  
 V1 es el tiempo de retención,  
 V4 es la temperatura.

A continuación en la *Figura 74*, se presenta el comportamiento que presentó la temperatura en las 18h de retención en el proceso de biofiltración del agua residual para el mejor escenario. Podemos ver claramente que en las primeras 2 horas de tratamiento la temperatura en cada módulo del equipo piloto es inferior a los 25°C, esto se debe a que al iniciar el proceso de biofiltración la energía calorífica que transfiere el aireador (A1) aún no ha llegado a todo el sistema, a medida que el agua residual circula por el sistema, transfiere la energía absorbida en el tanque homogenizador (H1), y a la par transfiere la energía absorbida en las etapas (E1, E2, E3), energía que se logró por transferencia de la luz solar a cada etapa. Se puede ver que a partir de las 4 horas de retención el sistema tiene una temperatura mayor a 25°C. Entre las 4 y 6 horas la temperatura en todo el sistema ha alcanzado un promedio entre 28° y 30° C. intervalo de tiempo en el cual se presenta una caída del valor de turbidez interpretado a razón de que la fase exponencial de microorganismos se da a lugar.



## **5.5 Análisis tecnológico del filtro biológico**

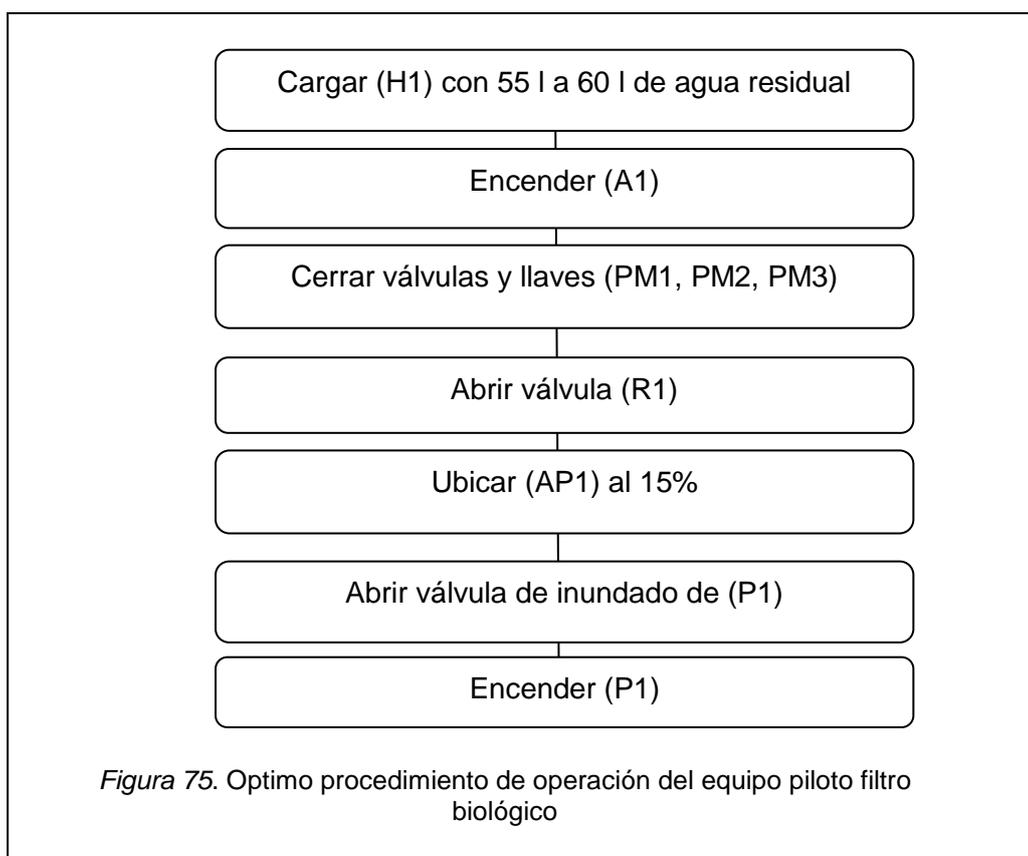
Para el proceso de biofiltración del agua residual intervinieron los microorganismos inmovilizados en soportes sólidos. En función de lo discutido con anterioridad en la sección 5.2 los microorganismos se presentaron como una comunidad con características de heterogeneidad. Los soportes sólidos utilizados para la inmovilización pasiva de microorganismos estuvieron compuestos por dos tipos de materiales, un soporte sintético de plástico P.V.C y un soporte de origen vegetal, la unión de estos dos soportes ayudo a mantener propiedades de resistencia mecánica, adherencia y actividad microbiana. Para la biorremediación se utilizó inyección de aire continua, complemento de macronutrientes y temperatura, componentes que colaboraron con los procesos de microorganismos en cuanto a nitrificación desnitrificación y otros procesos de oxidación. El equipo piloto conto con tanque homogenizador que sirvió como espacio central para la inyección de aire, 3 etapas de tratamiento biológico rellenos de soportes con microorganismos inmovilizados y un sistema de recirculación. Para el proceso de biofiltración se utilizó agua residual proveniente de una industria de lácteos de la parroquia de san miguel de nono se determinó que el mejor escenario para tratar esta agua residual fue con la presencia de sustrato en el agua residual.

### **5.5.1 Respuesta del proceso de biofiltración en función de la eficiencia de remoción de contaminantes**

La respuesta del proceso de biofiltración en el equipo piloto fue positiva alcanzado un pH de 7.1 para la mejor muestra. Se eliminó 95% de la turbiedad del agua residual. Gracias a la forma de cada etapa del proceso de biofiltración, se logró dos procedimientos indispensables para reducción de nitrógeno en un 95% y DQO en 98%, esta remoción se basó en la inyección de oxígeno y macronutrientes complementarios y en la diferenciación de microorganismos autótrofos y heterótrofos en la parte superior e inferior respectivamente de cada etapa de remediación biológica. En el proceso de biofiltración se logró el 99% de eliminación de DBO5 y el 89% para fósforo total.

### 5.5.2 Operación del equipo piloto para la biofiltración en función de las condiciones óptimas de funcionamiento

A continuación en la *Figura 75*, se describe el óptimo proceso de operación del equipo piloto para lograr los resultados descritos en el presente capítulo para agua residual proveniente de una industria láctea con alta carga orgánica. El mantener una presión de entrada controlada genera que el volumen de entrada del agua residual no produzca efecto de lavado sobre la biopelícula formada en los soportes sólidos. La recirculación ayuda a que los microorganismos que no han logrado adherirse a los soportes sólidos regresen al inicio del sistema y se consoliden en la biopelícula. La ubicación del aireador en el tanque homogenizador ayudó a que la inyección de aire sea central y equilibrada para todo el volumen de agua a tratar biológicamente. Mantener aireadores en la parte superior de cada etapa es indispensable para la liberación de subproductos gaseosos.



## 5.6 Análisis de costo/beneficio

### 5.6.1 Costo de implementación del equipo piloto filtro biológico

A continuación en la Tabla 29 se presenta un balance del costo de implementación del equipo piloto.

Tabla 29. Costo de implementación del equipo piloto filtro biológico	
Material	Costos \$
Bidón azul de 60l	\$ 24.00
Bomba de aire sumergible 2500 sp	\$ 32.00
Bomba de circulación periférica de 1/2 hp	\$ 34.00
6 m de tubo P.V.C de 15mm de radio y 1/2 cm de espesor	\$ 68.00
6 tapas para tubo P.V.C de 15 mm de radio y 1/2 cm de espesor	\$ 30.00
9 m de tubería de agua caliente de 3/4 in	\$ 9.00
1 m de tubería de 1/2 in	\$ 2.00
Accesorios para tubería (uniones universales, válvulas, llaves, tapas, etc.)	\$ 45.00
4 l de pintura negra	\$ 8.00
Tablero triplex 2 m	\$ 27.00
Estructura de acero	\$ 15.00
Banco plástico	\$ 6.00
Cerrajería (tornillos, rodela, pernos, codos, etc.)	\$ 18.00
Electricidad (cable de energía, etc.)	\$ 13.00
<b>Total</b>	<b>\$ 331.00</b>

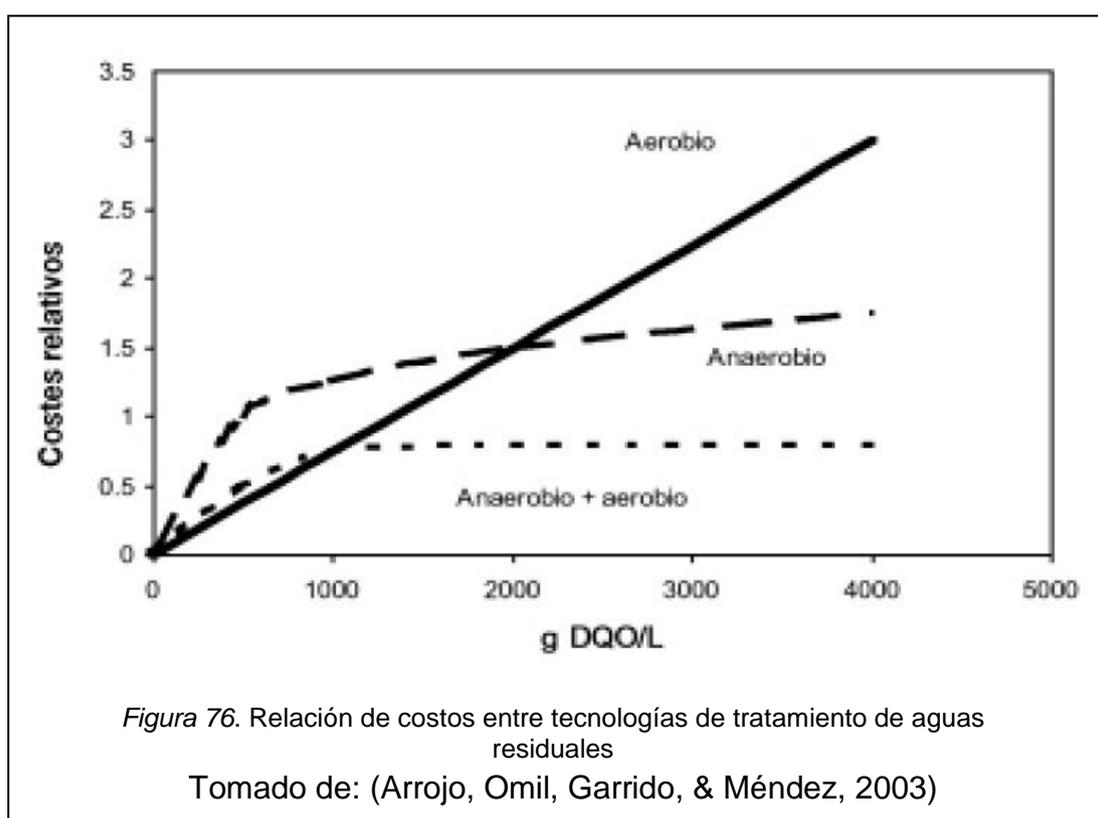
### 5.6.2 Beneficio del uso de tratamientos biológicos en industrias lácteas en el Ecuador

El interés de los sistemas inmovilizados en los procesos de biorremediación, ha sido creciente debido a las numerosas ventajas que estos prometen, ya que permiten acortar los tiempos de reacción disminuyendo costos de generación (Martínez-Trujillo & García-Rivero, 2012). Las biopelículas tienen cualidades magníficas para disminuir contaminantes del ambiente, como el no requerir energía extra para trabajar, no generar desechos tóxicos, y ser relativamente económicas y fáciles de manejar (Betancourth, Enrique Botero, & Rivera, 2004).

Los procesos biológicos que implican el uso de microorganismos han sido utilizados para la biorremediación principalmente debido a su bajo costo ya que los materiales para inmovilizar microorganismos son relativamente económicos (Garzón Jiménez & Barragán Huerta, 2008). Actualmente en el Ecuador no existen datos confirmados de la cantidad de plantas de tratamiento de aguas residuales que existen, sin embargo datos no oficiales aseguran que un 70% de industrias utilizan sistemas clásicos de tratamientos de aguas residuales como son: lodos activados, tratamientos físico químicos por coagulación floculación o complejos sistemas anaerobios (Salazar Cordova, 2013). Un estudio realizado por (Arrojo, Omil, Garrido, & Méndez, 2003) asegura que en España la mayoría de industrias lácteas utilizan los clásicos sistemas de lodos activos para el tratamientos de sus aguas residuales, creando una problemática del gran consumo de energía sumado a las grandes cantidades de lodos que deben tener un adecuado gestionamiento. También concluyen los tratamientos completamente anaerobios pueden ser más eficientes, sin embargo presentan el problema de que deben contar con una continua aplicación de cargas orgánicas muy elevadas y sistemas de atrapamiento de gas metano.

En el Ecuador cifras oficiales del Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca para 2003 indican que se producían diariamente 4 millones de litros de leche. Siendo que las empresas que se podrían considerar grandes producen 1,5 millones de litros diarios de leche, y las empresas que podrían considerarse medianas producen entre 500 y 600 mil litros diarios de leche (Salazar Bermudes Nelly, Vera Villamar Celinda, 2009). De esta manera a nivel nacional existen aproximadamente 2 millones de litros diarios de leche que son producidos por un sin número de plantas pequeñas y artesanales dedicadas a la producción de quesos frescos y yogurt con un valor de hasta 10 mil litros diarios de leche. Plantas que se encuentran en parroquias ganaderas alrededor de todo el Ecuador (Salazar Bermudes Nelly, Vera Villamar Celinda, 2009). De acuerdo a estas cifras podemos decir que la mayoría de plantas pequeñas y artesanales posiblemente no cuenten con sistemas adecuados de tratamiento de aguas residuales, debido a que como pudimos ver los costos de operación

de sistemas de tratamiento convencionales son elevados y requieren de espacio físico sumado a que la carga orgánica de entrada debe ser elevada. (Arrojo, Omil, Garrido, & Méndez, 2003) En su estudio aseveran que la combinación de tecnologías aerobias anaerobias en el tratamiento de aguas residuales de industrias lácteas, ayudan a reducir costos reduciendo el consumo de energía y la producción de lodos debido a su simplicidad y menores costes de mantenimiento y menor carga orgánica manteniendo la eficiencia de remoción de contaminantes. En la *Figura 76*, se puede ver como un sistema combinado aerobio anaerobio presenta menor costo en comparación de un sistema plenamente aerobio o plenamente anaerobio en función de la carga orgánica de remoción.



En el presente proyecto se presenta un proceso de biofiltración utilizando un filtro biológico por etapas las cuales como se revisó en la sección 5.1.3, tienen la propiedad de presentar secciones aerobias y anaerobias. El filtro biológico utilizado presentó una remoción de carga orgánica DQO del 95% para el agua residual de una industria de lácteos proveniente de la parroquia de San Miguel

de Nono. Parroquia caracterizada por que la industria de producción de leche es la principal economía del sector (Parroquia de Nono, 2013). Y la planta de lácteos recibe aproximadamente entre 5 mil litros de leche diario (Nazate, 2013). De esta manera y en función de lo mencionado se puede decir que el uso de un sistema de tratamiento biológico mediante microorganismos endógenos inmovilizados en soportes sólidos es una potencial opción para implementar como tratamiento de aguas residuales en industrias lácteas de pequeña magnitud que sin embargo son la actividad económica productiva más importante de parroquias pequeñas a nivel nacional, sin afectar la economía de la pequeña empresa promoviendo el cuidado ambiental y la productividad local.

## 6. Conclusiones y recomendaciones

### 6.1 Conclusiones

- Se determinaron las características físico-químicas del agua residual proveniente de una industria de lácteos de manera que para la muestra inicial sin tratamiento el pH fue de 5.5. La turbidez inicial fue de 799 NTU. La concentración de nitrógeno total inicial fue de 195 mg/l. La concentración de fósforo inicial fue de 92 mg/l. la Demanda Química de Oxígeno (DQO) presento un valor inicial de >10000 mg/l. la Demanda Biológica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>) presentó un valor inicial de >4000. Se realizó una caracterización física química de los mismos parámetros después del mejor tratamiento a escala piloto teniendo como resultados para el mejor tratamiento un pH de 7,1. Se eliminó el 95% de la turbiedad del agua con un valor final de 38,6 NTU. Se removió el 95% del nitrógeno total con un valor final de 11 mg/l. se eliminó el 89% de fósforo total con un valor final de 10 mg/l. se removió el 98% de DQO con un valor final de 109 mg/l. se redujo en un 99% de DBO<sub>5</sub> con un valor final de 35 mg/l.
- Se proporcionó externamente macronutrientes en forma de nitrógeno y fósforo para contrarrestar la carga orgánica carboxílica identificada en el alto valor de DQO, de manera que se disminuya el cociente en la relación C/N.
- En la reproducción de microorganismos se lograron porcentajes de cobertura de una caja Petri con medio Agar Nutritivo del 40%-45% mediante conteo por fracciones en un tiempo de 72 h. siendo los puntos de muestreo más representativos en la planta de lácteos (PA 1 y PA 2) provenientes del agua residual con características de actividad microbiana como la presencia de moho y vectores como moscas y escarabajos.
- Para el proceso de inmovilización de microorganismos degradadores se utilizaron dos soportes solidos combinados. Un material plástico de P.V.C y una fibra vegetal colocada dentro del tubo de P.V.C. se concluyó

que el material plástico presenta mejores características de adherencia y estabilidad de los microorganismos, y que la fibra vegetal presenta mejores características de reproducción de microorganismos ya que brinda una fuente de carbono propia del material.

- El mejor tratamiento resultante del diseño factorial completamente aleatorio fue el tratamiento N°4, con niveles (+) en los tres factores, siendo así inyección continua de aire, solución de macronutrientes de nitrógeno y fósforo al 10%, y temperatura de 30°C.
- Con el mejor resultado de la biorremediación a escala laboratorio, e inmovilización de microorganismos degradadores se diseñó un proceso de biofiltración para implementar a escala piloto con un volumen de 55 l. el equipo piloto contó con 3 etapas de tratamiento biológico, un tanque homogenizador, un sistema de aireación centralizada y un sistema de recirculación y sedimentación secundaria con zeolita activada
- Se determinó que cada etapa del filtro biológico presentaba características de condiciones aerobias en la parte superior y anaerobia en la parte inferior. Lo que logro que existiera un proceso eficiente de nitrificación y desnitrificación, y brindaran condiciones ideales para que las comunidades heterogéneas de microorganismos inmovilizados actúen como película biológica.
- En la biorremediación del agua residual a escala laboratorio se determinó que el mejor escenario fue con la presencia de sustrato debido a su aporte de sustancias poliméricas que ayudan al mantenimiento de la biopelícula. Y el mejor tratamiento fue el N° 5 correspondiente a 10 h de retención debido que en este tiempo de retención se obtuvieron los mejores resultados de los indicadores de turbidez y pH, y la remoción de nitrógeno, fósforo, DQO, DBO5.
- Se determinó que las mejores condiciones de operación del filtro biológico para una eficiente degradación de contaminantes fueron con la combinación de dos soportes sólidos de origen vegetal y de origen plástico. Con la presencia de sustrato, en condiciones de aireación continua, con aporte externo de macronutrientes en forma de nitrógeno y

fósforo, con un promedio de 28 a 30 °C y en un tiempo de retención de 10h.

## **6.2 Recomendaciones**

- Realizar un monitoreo de la relación C/N durante todo el proceso de biofiltración en las mejores condiciones ya identificadas.
- Se recomienda realizar pruebas que determinen si se puede reducir los tiempos de retención adicionando una fuente alcalina externa como carbonato de calcio de manera que se establezca el pH en menor tiempo
- Es primordial llevar un monitoreo de la temperatura durante todo el proceso de biofiltración debido a que los microorganismos metabolizan de una manera más eficiente los contaminantes a temperaturas mayores a 28°C.
- Se recomienda realizar un estudio para caracterizar los microorganismos presentes en la biopelícula con el fin de identificar el consorcio bacteriano de cada contaminante

## Referencias

- American Society for testing and Materials. (2014, Febreo 4). *ASTM International-standars worldwide*. Retrieved from ASTM International-standars worldwide wb site: <http://www.astm.org>
- Arrojo, B., Omil, F., Garrido, J., & Méndez, R. (2003). Combinacion de un filtro anaerobio y un sistema SBR para el tratamiento de las aguas generadas en un laboratorio de análisis de productos lácteos. *Revista Química Teoría y Aplicada*, 1-17.
- Bedienungsanleitung Instrution Manual. (2013, noviembre 14). *Manometric BOD Measuring Devices*. Retrieved from Manometric BOD Measuring Devices web site: <http://www.globalw.com>
- Behling, E., Cesar Marin, J., Gutierrez, E., y Fernandez, N. (2003). Tratamiento Aerobico de dos Efluentes Industriales Utilizando Reactores Rotativos de Contacto. *Revista Multiciencias*, vol 3.
- Betancourth, M., Botero, J., y Rivera , P. S. (2004). Biopelículas: una unidad microscópica en desarrollo. *Colombia Medica*, 2-7.
- Carmen Canales, Andres Pascual. (2005). *Guia de Mejores Tecnicas Disponibles en España del Sector Lacteo*. Centro de Publicaciones Secretaria General Tecnica Ministerio de Medio Ambiente.
- Carrillo Cervantes, F., Perez, J., y Gomez, J. (2000). Avances en la Eliminación Biológica del Nitrogeno en Aguas Residuales. *Revista Latino Americana de Microbiología*, 74-82.
- Censos, E. e. (2010). *Ecuador estadistico Instituto Nacional de Estadística y Censos*. Retrieved septiembre 2013, from Ecuador estadistico Instituto Nacional de Estadística y Censos: [www.inec.gob.ec](http://www.inec.gob.ec)
- Direccion Metropolitana de Ambiente. (2008). *Resolución 0002-DMA-2008*. Quito: Secretaria de Ambiente.

- Enriquez, S. (2013, Junio 10). Contaminación Ambiental en Nono. (D. Procel, Interviewer)
- Estela Pagans, X. F. (2006, julio 28). *Adsorption, Absorption, and Biological Degradation of Ammonia in Different Biofilter Organic Media*. Retrieved from wiley interscience web site: <http://www.interscience.wiley.com>
- Evans, G. M., y Furlong, J. C. (2003). *Environmental Biotechnology Theory and Application*. Durham: John Wiley & sons LTD.
- Ferrada de Giner, G., y Ramírez, A. (2010). Influencia de la Relación C:N en la Remoción de Nitrógeno Usando un Sistema Combinado de Reactores por Carga Secuencial. *Revista de la Facultad de Ingeniería U.C.V*, 41-51.
- Gallego, A., Gemini, V. L., y Korol, S. E. (2006). Sistemas aerobios de película biológica fija para la biodegradación de aguas residuales. *Revista Argentina de Microbiología*, 143.
- Garzon Jimenez Catherine, Barragan Huerta Estela. (2008). Inmovilización microbiana: técnicas y usos en el tratamiento de residuos tóxicos. *Revista Sistemas Ambientales*, 23-34.
- Garzón Jiménez, C., y Barragán Huerta, B. E. (2008). Inmovilización Microbiana: Técnicas y Usos en el Tratamiento de Residuos Tóxicos. *Sistemas Ambientales*, 23-34.
- Gobierno de la Republica del Ecuador. (2005). Texto Unificado de Legislacion Ambiental Secundaria. In *Libro VI De la calidad ambiental* (p. Anexo 1). Quito.
- Martínez-Trujillo, M., y García-Rivero, M. (2012). REVISIÓN: APLICACIONES AMBIENTALES DE MICROORGANISMOS INMOVILIZADOS. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 55-73.
- Medigan, M. T., Martinko, J. M., y Parker, J. (2003). *Brock Biología de los Microorganismos*. Madrid: Prentice-hall.

- Messer Ibérica de Gases S.A. (2014, Febrero 10). *Messer Ibérica de Gases*. Retrieved from Messer Ibérica de Gases S.A Web site: [http://www.messer.es/Sectores\\_y\\_aplicaciones/Medio\\_Ambiente/Agua/aplicaciones\\_EDAR\\_impresion.pdf](http://www.messer.es/Sectores_y_aplicaciones/Medio_Ambiente/Agua/aplicaciones_EDAR_impresion.pdf)
- Ministerio del Ambiente. (2013). *Ministerio del Ambiente*. Retrieved marzo 13, 2013, from Ministerio del Ambiente: <http://www.ambiente.gob.ec/>
- Ministero de Medio Ambiente (España). (2005). *Guia de mejores técnicas disponibles en España del setor lacteo*. Madrid: Centro de Publicaciones Secretaria General Técnica Ministerio de Medio Ambiente.
- Morató, J., Subirana, A., Gris, A., Carneiro, A., y Pastor, R. (2006). Tecnologías sostenibles para la potabilización y el tratamiento de aguas residuales. *Revista Lasallista de Investigación*, 19-29.
- Nazate, C. (2013, Junio 23). Procesos en la planta Montano S.A. de Nono. (D. Procel, Interviewer)
- Nono, J. P. (2010). *Nono Ecuador*. Retrieved marzo 13, 2013, from Nono Ecuador: <http://www.nono.ec/nono.html>
- Parroquia de Nono. (2013, enero). *Nono Ecuador mas que naturaleza*. Retrieved from Nono Ecuador mas que naturaleza: [www.nono.ec](http://www.nono.ec)
- Perez Garcia, M., Romero Garcia, L. I., y Saes Marquez, D. (1997). Inmovilización de Biomasa Anaerobia Termofílica en Soportes Porosos. *Ingeniería del Agua*, 7-12.
- Precidencia de la Republica del Ecuador. (2003). *Texto Unificado de Legislacion Ambiental Secundaria*. Quito: Precidencia de la Republica.
- Ramalho, R. S. (2003). *Tratamiento de Aguas Residuales (Edición Revisada)*. Sevilla: Editorial Reverté S.A.
- Ramos Alvariño Caridad, Gutiérrez Navarrete Jacqueline, Rodríguez Petit Xiomara. (2010). Filtro biológico en el tratamiento de lixiviados. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, vol. 41, 2010,, pp 1-11.

- Ramos Alvariño, C., Gutierrez Navarrete, J., Rodriguez Petit, X., y Agramonte Hernández, M. (2010). Filtro Biológico en el Tratamiento de Lixiviados. *Revista CENIC. Ciencias Biologicas*, 1-11.
- Ramos, G., y Garcia, B. (2005). Tendencias en el desarrollo de nuevas tecnologías para el tratamiento de aguas, residuos y lodos. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, vol 36.
- Ramoz Gisel, Garcia Beatriz. (2005). Tendencias en el desarrollo de nuevas tecnologías para el tratamiento de aguas residuales y lodos. *CNIC. Ciencias Biologicas, Vol. 36, 2005*, 1-8.
- S.N, H. I. (2013, noviembre 13). *Hanna Instruments*. Retrieved from Hanna Instrments web site: <http://www.hannainst.es>
- Salazar Bermudes Nelly, Vera Villamar Celinda. (2009). *Analisis de la producción y comercialización de los productos lacteos de Indulac S.A. y su participación en las ventas del canton portoviejo*. . Portoviejo: Universidad Tecnica de Manabi.
- Salazar Bermudez, N. L., y Vera Villamar, C. A. (2009). *ANÁLISIS DE LA PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE LOS PRODUCTOS LÁCTEOS DE INDULAC S.A. Y SU PARTICIPACIÓN EN LAS VENTAS DEL CANTÓN PORTOVIEJO*. Portoviejo: Universidad Tecnica de Manabí.
- Salazar Cordova, S. B. (2013, Agosto 13). *Estado actual del tratamiento de aguas residuales domesticas y municipales en el Ecuador*. Retrieved from carlos.redes.org.ec: [www.carlos.redes.org.ec](http://www.carlos.redes.org.ec)
- Sánchez Ortiz, I. A., Teixeira Correia, G., Santos de Araujo, L., Guevara, D., Dall'Aglio, S., y Matsumoto, T. (2010). Reactores aeróbios de lecho fluidizado trifásico con circulación interna: caracterización hidrodinámica y del soporte. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, 68-77.

- Sánchez Ortiz, Iván Andrés; Teixeira Correia, Gleyce, Santos de Araújo, Leandro. (2010). Reactores aeróbios de lecho fluidizado trifásico con circulación interna: caracterización. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, núm. 56, diciembre, 2010,, pp 68-77.
- Udo Weismann, I., y Dombrowski, E.-M. (2007). *Fundamentals of Biological Wastewater Treatment*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Valera Rodriguez, F. (2006). *Prácticas de Microbiología-Licenciatura de Farmacia*. Madrid: Universidad Miguel Hernandez.
- Vallero, D. A. (2010). *Environmental Biotechnology, a biosystems approach*. USA: Elsevier.
- WTW GmbH. (2013, Diciembre 14). *Operation of de Single Measuring Sistem Oxitop*. Retrieved from Operation of de Single Measuring Sistem Oxitop web site: <http://www.globalw.com/downloads/WQ/oxitopis.pdf>

## **ANEXOS**

**Anexo 1**

**Informe de Análisis de Agua Residual CESAQ-PUCE N° 13303**

## Anexo 2

**Tabla de resultados del aislamiento en medio sólido**

	replica	porcentaje de cobertura		
		crecimiento en 24 horas	crecimiento en 48 horas	crecimiento en 72 horas
PA 1	R1	10.00%	25.00%	45.00%
	R2	15.00%	25.00%	45.00%
	R3	10.00%	20.00%	40.00%
PA2	R1	5.00%	15.00%	20.00%
	R2	5.00%	15.00%	20.00%
	R3	5.00%	15.00%	20.00%
PA 3	R1	2.00%	2.00%	5.00%
	R2	2.00%	2.00%	5.00%
	R3	2.00%	2.00%	5.00%
PA 4	R1	2.00%	5.00%	5.00%
	R2	2.00%	5.00%	5.00%
	R3	2.00%	2.00%	5.00%
PA 5	R1	5.00%	5.00%	10.00%
	R2	5.00%	5.00%	10.00%
	R3	5.00%	5.00%	10.00%

### Anexo N° 3

#### Monitoreo de la temperatura en el proceso de biofiltración para el primer escenario con sustrato

			1 Etapa	2 Etapa	3 Etapa	4 Etapa	temperatura media del sistema
control temperatura	Replica	tiempo de retención	T(°C)	T(°C)	T(°C)	T(°C)	T(°C)
Tratamiento 0	R1	0	22	22	22	22	22
	R2	0	22	22	22	22	22
	R3	0	22	22	22	22	22
Tratamiento 1	R1	2	23	22	22	24	22.75
	R2	2	23	22	22	24	22.75
	R3	2	23	22	22	24	22.75
Tratamiento 2	R1	4	25	25	25	27	25.5
	R2	4	25	25	25	27	25.5
	R3	4	25	25	25	27	25.5
Tratamiento 3	R1	6	27	30	29	30	29
	R2	6	27	30	29	30	29
	R3	6	27	30	29	30	29
Tratamiento 4	R1	8	27	30	30	30	29.25
	R2	8	27	30	30	30	29.25
	R3	8	27	30	30	30	29.25
Tratamiento 5	R1	10	29	30	28	29	29
	R2	10	29	30	28	29	29
	R3	10	29	30	28	29	29
Tratamiento 6	R1	12	29	29	28	31	29.25
	R2	12	29	29	28	31	29.25
	R3	12	29	29	28	31	29.25
Tratamiento 7	R1	14	29	29	28	30	29
	R2	14	29	29	28	30	29
	R3	14	29	29	28	30	29
Tratamiento 8	R1	16	27	28	28	29	28
	R2	16	27	28	28	29	28
	R3	16	27	28	28	29	28
Tratamiento 9	R1	18	28	28	28	29	28.25
	R2	18	28	28	28	29	28.25
	R3	18	28	28	28	29	28.25

## Anexo N° 4

**Monitoreo de la temperatura en el proceso de biofiltración para el  
segundo escenario sin sustrato**

			1 Etapa	2 Etapa	3 Etapa	4 Etapa	temperatura media del sistema
control temperatura	Replica	tiempo de retención	T (C°)				
Tratamiento 0	R1	0	22	22	22	22	22
	R2	0	22	22	22	22	22
	R3	0	22	22	22	22	22
pre- tratamiento	R1	0	21	21	21	21	21
	R2	0	21	21	21	21	21
	R3	0	21	21	21	21	21
tratamiento 1	R1	2	22	24	24	26	24
	R2	2	22	24	24	26	24
	R3	2	22	24	24	26	24
tratamiento 2	R1	4	24	24	25	26	24.75
	R2	4	24	24	25	26	24.75
	R3	4	24	24	25	26	24.75
tratamiento 3	R1	6	26	30	29	30	28.75
	R2	6	26	30	29	30	28.75
	R3	6	26	30	29	30	28.75
tratamiento 4	R1	8	27	29	30	30	29
	R2	8	27	29	30	30	29
	R3	8	27	29	30	30	29
tratamiento 5	R1	10	29	30	29	29	29.25
	R2	10	29	30	29	29	29.25
	R3	10	29	30	29	29	29.25
tratamiento 6	R1	12	30	29	28	29	29
	R2	12	30	29	28	29	29
	R3	12	30	29	28	29	29
tratamiento 7	R1	14	29	29	29	30	29.25
	R2	14	29	29	29	30	29.25
	R3	14	29	29	29	30	29.25
tratamiento 8	R1	16	28	28	29	30	28.75
	R2	16	28	28	29	30	28.75
	R3	16	28	28	29	30	28.75
tratamiento 9	R1	18	28	28	28	29	28.25
	R2	18	28	28	28	29	28.25
	R3	18	28	28	28	29	28.25

## Anexo 5

**Tabla de resultados del monitoreo de DBO<sub>5</sub>**

	tratamiento 0	tratamiento 3	tratamiento 5
tiempo en días	DBO(mg/l)	DBO(mg/l)	DBO(mg/l)
1	300	50	2
1	500	70	6
1	600	100	9
2	1300	130	13
2	1500	140	16
2	1800	160	16
3	2100	190	19
3	2300	210	21
3	2400	230	22
4	2800	260	25
4	2900	290	27
4	3200	320	29
5	3500	340	31
5	3800	350	34
5	4000	380	35