

ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA INGENIERÍA EN
BIOTECNOLOGÍA**

**ANÁLISIS Y MEJORA DE LOS PROCESOS BIOLÓGICOS
PARA LA REHABILITACIÓN DE LA PISCINA DE LODOS
ACTIVADOS (PLA) DE LA REFINERÍA ESTATAL
ESMERALDAS (REE)**

Previa a la obtención de Grado Académico o Título de:

Ingeniero en Biotecnología

ELABORADO POR:

SANTIAGO XAVIER MAFLA ANDRADE

SANGOLQUÍ, 21 de Julio de 2010

HOJA DE LEGALIZACIÓN DE FIRMAS

ELABORADO POR

Santiago Xavier Mafla Andrade

DIRECTOR DE LA CARRERA

Ing. Rafael Vargas

SECRETARIA ACADÉMICA

Abg. Vanessa Andrade

Sangolquí, 21 de Julio de 2010

CERTIFICACIÓN

Certifico que el siguiente trabajo fue realizado en su totalidad por el Sr. SANTIAGO XAVIER MAFLA ANDRADE como requerimiento parcial a la obtención del título de Ingeniero en Biotecnología.

Sangolquí, 21 de Julio de 2010

Ing. Pablo Araujo

DIRECTOR

B.S. Karina Ponce

CODIRECTORA

REVISADO POR:

Ing. Rafael Vargas

DIRECTOR DE LA CARRERA

DEDICATORIA

Mi tesis la dedico con todo el amor y cariño.

A ti Dios que me diste la oportunidad de vivir, de ser la persona quien soy con virtudes y defectos, pero sobre todo por darme a todas esas personas que están conmigo.

Santiago Xavier Mafla Andrade

AGRADECIMIENTO

Con mucho cariño a mis padres, Patricio y Fanny; que fueron, son y serán el soporte en mi vida. Gracias por todo, por darme una carrera para mi futuro y ser parte del sueño de un niño que siempre le gusto la biología y ser un científico; aunque hemos pasado momentos difíciles siempre han estado aquí para ayudarme con su cariño.

A mi hermano, Patricio, por su apoyo moral y fe en mi. A mi tía Jaddy por ser como mi hermana mayor. A mi tío Vicente y su familia por dejarme entrar en su hogar y ser parte de ella. A todos mis tíos, tías, primos que son muchos y quisiera nombrarlos, pero cada uno está presente en mi vivir diario.

A Anita por ser mi primera supervisora, apoyo, cariño y comprensión en todo este trabajo. A mis amigos y amigas del colegio que a pesar de todo el tiempo y las vivencias seguimos siendo los mejores amigos. A los amigos y amiga de curso; en especial a Galo, Caro, Chiqui; por todas esas aventuras, malas noches y desmanes que pasamos juntos y hoy comenzamos nuevas metas y sueños Y a todas esas personas que si las nombro no terminaría pero son una base en mi vivir.

A mis directores de tesis, Ing. Pablo Araujo y BS. Karina Ponce que con su apoyo profesional y académico, me asesoraron y acompañaron a lo largo de la tesis y en este camino que culmina hoy con el presente proyecto, gracias por compartir su conocimiento y amistad e inspirar admiración en mí.

A Petroecuador por darme la oportunidad de expresar mis conocimientos como Ingeniero en Biotecnología, en especial a las personas que trabajaron conmigo en el laboratorio de control, Paul, Loti y Lupita; por su colaboración en este trabajo.

Pero sobre todo gracias especiales aquellas personas que no están presentes pero desde el cielo sé que me cuidan y me protegen.

Les agradezco a todos ustedes con toda mi alma por estar en mi vida y compartir todos estos momentos, que nos hacen sentir vivos. Los quiero mucho y nunca los olvidare.

Santiago Xavier Mafla Andrade

ÍNDICE DE CONTENIDOS

LISTADO DE TABLAS	X
LISTADO DE CUADROS	XII
LISTADO DE FIGURAS	XIII
LISTADO DE ANEXOS	XVI
RESUMEN	XVII
ABSTRACT	XIX
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	1
1.1 Formulación del problema.....	1
1.2 Justificación del problema.....	2
1.3 Objetivos de la investigación.....	3
1.3.1 Objetivo general.....	3
1.3.2 Objetivos específicos.....	3
1.4 Marco Teórico.....	3
1.4.1 Tecnologías de remediación.....	3
1.4.2 Tipo de tratamiento.....	4
1.4.3 Tecnologías de remediación biológicas (biorremediación).....	5
1.4.3.1 Tecnologías in situ.....	6
1.4.3.1.1 Bioventeo.....	6
1.4.3.1.2 Bioestimulación.....	7
1.4.3.1.3 Bioaumentación.....	7
1.4.3.1.4 Fitorremediación.....	8
1.4.3.2 Tecnologías ex situ.....	9
1.4.3.2.1 Biorremediación en fase sólida (composteo).....	10
1.4.3.2.2 Biorremediación en fase de lodos (biorreactores).....	10
1.4.4 Piscina de lodos activados.....	11
1.4.5 Bacterias.....	14
1.4.5.1 Factores que afectan a la degradación.....	15
1.4.5.2 Temperatura.....	15
1.4.5.3 Concentración de contaminante.....	16
1.4.5.4 pH.....	16
1.4.5.5 Concentración de oxígeno disuelto.....	17

1.4.6 Desechos de la refinación de crudo.....	18
1.4.7 Efectos en la salud humana.....	18
1.4.8 Formación de Hipótesis.....	19
1.4.8.1 Hipótesis nula.....	19
1.4.8.2 Hipótesis alternativa.....	19
CAPITULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
2.1 Localización geográfica.....	20
2.2 Fase de laboratorio.....	20
2.2.1 análisis físico-químico del agua de la piscina de lodos activados.....	20
2.2.1.1 Medición de pH.....	21
2.2.1.2 Medición de Oxígeno disuelto (OD).....	22
2.2.1.3 Medición de Conductividad	22
2.2.1.4 Medición de Sólidos totales suspendidos.....	23
2.2.1.5 Medición de TPH's.....	24
2.2.1.6 Medición de fenol en las muestras.....	25
2.2.2 Análisis cuantitativo de la microfauna de la piscina de lodos activados...26	
2.2.2.1 Sembrado para la cuantificación.....	27
2.2.2.2 Aislamiento de colonias y establecimiento de cultivos puros.....	27
2.2.2.3 Identificación de cepas.....	28
2.3 Pruebas de antagonismo de la microfauna.....	30
2.3.1 Análisis de selección y mejora en los nutrientes de los microorganismos30	
2.3.1.1 Fórmula 1 (F1).....	31
2.3.1.2 Fórmula 2 (F2).....	31
2.3.1.3 Fórmula 3 (F3).....	31
CAPITULO 3: RESULTADOS.....	34
3.1 análisis físico-químico iniciales del agua de la piscina de lodos activados.34	
3.2 Análisis cuantitativo de la microfauna de la piscina de lodos activados.....	39
3.3 Resultados de la prueba de identificación.....	40
3.4 Análisis de las pruebas de antagonismo.....	42
3.5 Análisis de fórmula para bioestimulación en la piscina de lodos activados.45	
3.5.1 Demanda biológica de oxígeno (DBO).....	45
3.5.2 Demanda química de oxígeno (DQO).....	46
3.5.3 Oxígeno disuelto (OD).....	48

3.5.4 Fenoles.....	49
3.5.5 TPH's.....	51
3.5.6 pH.....	53
3.5.7 Conductividad eléctrica (CE).....	54
3.5.8 Nitrógeno (N).....	56
3.5.9 Sólidos totales (ST).....	58
3.5.10 Conteo bacteriano a 14 días de iniciado el tratamiento.....	59
CAPITULO 4: DISCUSIÓN.....	61
4.1 Análisis físico-químico inicial del agua de la piscina de lodos activados....	61
4.2 Análisis cuantitativo de la microfauna de la piscina de lodos activados.....	62
4.3 Identificación de bacterias.....	62
4.4 Análisis de fórmulas para bioestimulación de la piscina de lodos activados.....	64
CAPITULO 5: CONCLUSIONES.....	66
CAPITULO 6: RECOMENDACIONES.....	67
CAPITULO 7: BIBLIOGRAFÍA.....	68
ANEXOS.....	77

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1.1 Ventajas y desventajas de las tecnologías de remediación, clasificadas de acuerdo al tipo de tratamiento.....	4
Tabla 2.1 Pruebas de antagonismo realizadas a los 5 tipos de cepas.....	30
Tabla 2.2 Caudal de oxígeno suministrado a cada reactor etiquetado según su formulación	32
Tabla 3.1 Valores mínimos de los parámetros afectados en la piscina de lodos activados	35
Tabla 3.2 Resultados de las pruebas bioquímicas impuestas a las diferentes muestras bacterianas de la piscina de lodos activados.....	41
Tabla 3.3 Análisis de varianza de las Fórmulas y control para DBO.....	45
Tabla 3.4 Análisis de varianza de las Fórmulas y control para DQO.....	46
Tabla 3.5 Contraste Múltiple de Rango Método de Tukey con alta diferencia significativa, 95% (HSD= high significant difference) para los análisis de DQO de cada fórmula y control.	47
Tabla 3.6 Análisis de varianza de las Fórmulas y control para OD.....	48
Tabla 3.7 Análisis de varianza de las Fórmulas y control para FENOLES.....	49
Tabla 3.8 Contraste Múltiple de Rango Método de Tukey con alta diferencia significativa, 95% (HSD= high significant difference) para los análisis de FENOLES de cada fórmula y control.	50
Tabla 3.9 Análisis de varianza de las Fórmulas y control para TPH's.....	51
Tabla 3.10 Contraste Múltiple de Rango Método de Tukey con alta diferencia significativa, 95% (HSD= high significant difference) para los análisis de TPH's de cada fórmula y control.....	52
Tabla 3.11 Análisis de varianza de las Fórmulas y control para pH.....	53
Tabla 3.12 Análisis de varianza de las Fórmulas y control para CE.....	54
Tabla 3.13 Contraste Múltiple de Rango Método de Tukey con alta diferencia significativa, 95% (HSD= high significant difference) para los análisis de conductividad eléctrica de cada fórmula y control.	55
Tabla 3.14 Análisis de varianza de las Fórmulas y control para N.....	56
Tabla 3.15 Contraste Múltiple de Rango Método de Tukey con alta diferencia significativa, 95% (HSD= high significant difference) para los análisis de nitrógeno de cada fórmula y control.....	57

Tabla 3.16 Análisis de varianza de las Fórmulas y control para Sólidos Totales.....	58
Tabla 3.17 Análisis de varianza de las Fórmulas y control para Cepas bacterianas.....	59
Tabla 3.18 Contraste Múltiple de Rango Método de Tukey con alta diferencia significativa, 95% (HSD= high significant difference) para los análisis de UFC/ml después de 14 días de usado el tratamiento de cada fórmula y control.....	60

LISTADO DE CUADROS

Cuadro 1.1 Clasificación de bacterias según su temperatura de crecimiento...16

Cuadro 1.2 rangos de concentración de oxígeno disuelto [OD], condición y consecuencias para los organismos vivos.....17

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1.1 Exigencias principales de un flujo pistón.....	12
Figura 1.2 Esquema de la planta de tratamiento de aguas de la Refinería estatal Esmeraldas.....	13
Figura 2.1 Diagrama de la piscina de lodos activados, dimensiones y puntos de toma de muestra. ES: entrada de efluente, PM1: punto medio 1, PM2: punto medio 2, SE: salida del efluente.....	21
Figura 2.2 pH-meter Toledo usado para medición.....	21
Figura 2.3 Medidor de OD 3 star-plus.....	22
Figura 2.4 Medidor de conductividad 3 star-plus.....	22
Figura 2.5 Equipo de filtración para prueba de sólidos suspendidos.....	23
Figura 2.6 Desecador para el papel filtro, de la prueba de sólidos totales disueltos.....	24
Figura 2.7 Prueba de TPH's formación de las dos fases, polar y apolar, en la mezcla.....	25
Figura 2.8 Prueba de fenoles, equipo de destilación para la extracción de fenoles por arrastre.....	26
Figura 2.9 Equipo UFC counter para conteo de colonias.....	27
Figura 2.10 Identificación de colonias por su morfología.....	27
Figura 2.11 cepas de colonias aisladas en agar inclinado TSA.....	28
Figura 2.12 Prueba de TSI.	29
Figura 2.13 Esquema de resultados positivos o negativos de las pruebas API.....	29
Figura 2.14 Medición de caudal de oxígeno de los motores de pecera.....	33
Figura 2.15 Reactores aireados con agua de la piscina de lodos activados y fórmulas.....	33
Figura 3.1 promedio de pH de los 27 valores tomados en los 4 puntos de la piscina, valores máximos y mínimos permitidos según normas RAOH.....	35
Figura 3.2 promedio de Conductividad eléctrica de los 27 valores tomados en los 4 puntos de la piscina, valores máximos y mínimos permitidos según normas RAOH.	36
Figura 3.3 promedio de sólidos totales de los 27 valores tomados en los 4 puntos de la piscina, valores máximos y mínimos permitidos según normas RAOH.....	36

Figura 3.4 promedio de nitrógeno global de los 27 valores tomados en los 4 puntos de la piscina, valores máximos y mínimos permitidos según normas RAOH.....	37
Figura 3.5 promedio de TPH de los 27 valores tomados en los 4 puntos de la piscina, valores máximos y mínimos permitidos según normas RAOH.....	37
Figura 3.6 promedio de DQO de los 27 valores tomados en los 4 puntos de la piscina, valores máximos y mínimos permitidos según normas RAOH.....	38
Figura 3.7 promedio de Fenoles de los 27 valores tomados en los 4 puntos de la piscina, valores máximos y mínimos permitidos según normas RAOH.....	38
Figura 3.8 promedio de oxígeno disuelto de los 27 valores tomados en los 4 puntos de la piscina, valores máximos y mínimos permitidos según normas RAOH.	39
Figura 3.9 promedio de UFC/ml tomados en los 4 puntos de la piscina.....	40
Figura 3.10 promedios de halos de inhibición, en mm, de 1M vs 2M, 3M, 4M y T1 realizado en las pruebas de antagonismo.....	42
Figura 3.11 promedios de halos de inhibición, en mm, de 2M vs 1M, 3M, 4M y T1 realizado en las pruebas de antagonismo.....	43
Figura 3.12 promedios de halos de inhibición, en mm, de 3M vs 1M, 2M, 4M y T1 realizado en las pruebas de antagonismo.....	43
Figura 3.13 promedios de halos de inhibición, en mm, de 4M vs 1M, 2M, 3M y T1 realizado en las pruebas de antagonismo.....	44
Figura 3.14 promedios de halos de inhibición, en mm, de T1 vs 1M, 2M, 3M y 4M realizado en las pruebas de antagonismo.....	44
Figura 3.15 gráfico de cajas y bigotes de DBO para cada fórmula y control....	45
Figura 3.16 gráfico de cajas y bigotes de DQO para cada fórmula y control....	46
Figura 3.17 gráfico de cajas y bigotes de OD para cada fórmula y control.....	48
Figura 3.18 gráfico de cajas y bigotes de DBO para cada fórmula y control....	49
Figura 3.19 gráfico de cajas y bigotes de TPH's para cada fórmula y control.....	51
Figura 3.20 gráfico de cajas y bigotes de pH para cada fórmula y control....	53
Figura 3.21 gráfico de cajas y bigotes de CE para cada fórmula y control....	54
Figura 3.22 gráfico de cajas y bigotes de N para cada fórmula y control.....	56
Figura 3.23 gráfico de cajas y bigotes de ST para cada fórmula y control.....	58

Figura 3.24 gráfico de cajas y bigotes para conteo bacteriano a 14 días de iniciado el tratamiento con las fórmulas y el control.....59

LISTADO DE ANEXOS

ANEXO 1 CLASIFICACIÓN DE DESECHOS PELIGROSOS EN LA INDUSTRIA PETROQUÍMICA SEGÚN EL MINISTERIO DEL AMBIENTE DE ECUADOR.....	78
ANEXO 2 FIGURAS DE A) DESBASTADOR B) PISCINA DE HOMOGENIZACIÓN C) PISCINA DE LODOS ACTIVADOS.....	79
ANEXO 3 PH-METRO DE BANCO METTLER TOLEDO S20 SEVEN EASY PH METTLER TOLEDO S20 SEVEN EASY PH.....	80
ANEXO 4 MEDIDOR DE MESA ORIÓN 3-STAR PLUS DE DO NO. 1113000.....	81
ANEXO 5 MEDIDOR DE MESA ORIÓN 3-STAR PLUS DE CONDUCTIVIDAD.....	82
ANEXO 6 ESQUEMA PARA MEDICIÓN DE SÓLIDOS SUSPENDIDOS.....	83
ANEXO 7 LISTA DE PRECIOS DE LOS REACTIVO POR FÓRMULA.....	84

Resumen

El recurso hídrico es uno de los más importantes en el uso industrial además del uso doméstico; el agua que es tomada de ríos y vertientes es usada con fines de limpieza, consumo, y reacciones químicas; pero al ser sobre utilizada y no reconstituida, este recurso está escaseando de forma alarmante, haciendo que seres vivos, cosechas, y el consumo mismo de hombre se vea limitado y en algunos casos eliminado. Por ello el uso de técnicas de rehabilitación de aguas y descontaminación, como el uso de piscinas de lodos activados, es una de las medidas que se deben tomar en cuenta para todo los tipos de industria, para una adecuada rehabilitación del agua y que esta sea reutilizada o devuelta a su cauce natural.

En este proyecto se investiga cómo mejorar los procesos de descontaminación de la piscina de lodos activados de la refinería estatal Esmeraldas, mediante la bioestimulación de los microorganismos autóctonos de la piscina, para lo cual se realizó un análisis cuantitativo de parámetros físico-químicos como son: DBO, DQO, sólidos totales, fenoles, TPH's, nitrógeno, pH, conductividad eléctrica y UFC/ml dentro de la piscina. Una vez ya identificados los parámetros afectados y realizados las pruebas de antagonismo se aplicó tres tipos de formulaciones a escala piloto y se observó cual de ellas logró una mejor adaptación con los microorganismos y cual ayudó a una mejora en la degradación de contaminantes.

Por medio de cálculos estadísticos aplicados a los datos que arrojaron las diferentes repeticiones, en las pruebas de ensayo que se aplicó al agua de la piscina de lodos activados a escala piloto (5 litros de agua), se obtuvo como resultado que las formulaciones F2 y F3 son las más idóneas en la degradación de TPH's, Fenoles, DQO y DBO; además de un crecimiento adecuado de UFC/ml en el agua. Lo que indica que el proceso de bioestimulación dió resultados excelentes con estas formulaciones al rebajar de 28 a 14 días el tiempo de retención del agua; pero al ser comparadas entre si no existe

diferencia estadística significativa que indique que F3 es mejor que F2.
Tomando como conclusión que F2 fue la fórmula de uso apropiado.

Abstract

The water resource is one of the most important industrial use in addition to domestic use, the water that is taken from rivers and springs is used for cleaning purposes, consumption, and chemical reactions, but used to be on and not reconstituted, this resource is alarmingly scarce, making living things, crops, and consumption of man himself will be limited and in some cases eliminated. Therefore the use of rehabilitation techniques and decontamination water, such as using activated sludge pools, is one of the measures to be taken into account for all types of industry, in addition to function, for proper rehabilitation water and that it be reused or returned to its natural course.

This project investigates how to improve detoxification processes of activated sludge pool of the state refinery Esmeraldas through biostimulation of indigenous microorganisms in the pool, for which a quantitative analysis of physicochemical parameters such as: BOD, COD, total solids, phenols, TPH's, nitrogen, pH, electrical conductivity and CFU/ml in the pool. Once identified and the parameters involved and in the tests of antagonism was applied three types of formulations to pilot scale and we observe which of them achieving a better match with the microorganisms and which helped to improved degradation of pollutants.

Through statistical calculations applied to the data yielded different repetitions in the different tests that test was applied to water from the pool of activated sludge at pilot scale (5 liters of water) was obtained as a result, the formulations F2 and F3 are best placed in the degradation of TPH's, Phenols, COD and BOD in addition to adequate growth of CFU/ml in the water. This indicates that the process of biostimulation gave excellent results with these formulations to reduce from 28 to 14 days retention time of water, but when compared to each other there a statistically significant difference indicating that the F3 formulation is better than F2. Therefore, and for differing values of F3 to F2, F2 is the formula for proper use.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1 Formulación de problema

La unidad de efluentes recoge toda el agua que se desecha de los múltiples procesos de la Refinería Esmeraldas y de todas las actividades colaterales que se desarrollan. Para ello, se ha clasificado el agua en cuatro corrientes: reciclable, salada, lluvia y servida.

El afluente reciclable está formado por los drenajes de procesos y de los tanques de crudo; el diseño prevé recircular esta corriente a la torre de enfriamiento y desaladores. El agua salada está formada por los drenajes de los desaladores, torres de enfriamiento y agua de desecho de la desmineralizadora. El agua de lluvia es procedente de la recolección de canales perimetrales y cubetos de tanques de almacenamiento. El agua servida recoge todos los servicios sanitarios de las instalaciones. El efluente tratado se envía al río Teaone previo su aireación y estabilización.

Para tratar las dos primeras corrientes se ha instalado dos sistemas paralelos de procesamiento que comprende tres partes principales: tratamiento primario API (Separador de hidrocarburos por gravedad) y DAF (Disolver air flotation), tratamiento biológico (piscinas de homogenización, fangos activos y clarificador) y tratamiento terciario (biofiltros y filtros de arena para el agua reciclable). El agua de lluvia corre por los canales perimetrales hacia el río Teaone, en caso de contaminarse con aceite, ésta se desvía hacia la piscina de agua lluvias y se reprocesan mediante un tratamiento primario similar al descrito anteriormente y se suman al de agua reciclable.

La calidad del efluente no es satisfactoria ya que no se logra estabilizar la operación de la unidad completa. Téngase en cuenta que los procesos de fangos activos requieren de tres meses de operación continua para su estabilización y cada parada implica el reinicio total de las actividades.

La baja calidad del efluente y la incertidumbre operativa no permiten trabajar conforme al diseño en el sistema de agua reciclable, es decir, no se puede recircular el agua hacia los centros de consumo. El proyecto se enfocó en el estudio y mejoramiento de los procesos biológicos de la piscina de lodos activados empleando la microfauna nativa. Actualmente el Sistema de Efluentes de la refinería Estatal de Esmeraldas no se encuentra en condiciones aptas ni satisfactorias debido al mal manejo y control de todos los desechos líquidos provenientes de los diferentes procesos. La piscina de lodos activados es una parte esencial en el sistema de efluentes siendo esta la que mejorará notablemente la calidad del agua reduciendo y viabilizando todos los parámetros y estándares que exigen las normas ambientales vigentes.

1.2 Justificación del problema.

Realizando diagnósticos de la planta de lodos activados se ha descubierto que varios parámetros químicos están afectados, llegando a la conclusión de que la microfauna está afectada en su crecimiento y en la biodegradación de ciertos compuestos dando como tal una pobre calidad.

Además, el incremento en las operaciones de elaboración de derivados de petróleo y un mal mantenimiento de la planta ha llevado al deterioro de la misma encontrando al agua de tratamiento fuera de los límites permisibles establecidos en las normas RAOH.

El problema será enfocado en diferentes etapas las cuales consisten en: la primera se analizará los parámetros que la norma RAOH exige para el desecho de efluentes, con estos se tendrá una pauta para la segunda fase en la que se identificará las cepas microbianas afectadas. Seguidamente se cuantificará y seleccionará a la población microbiana, lo cual nos dará los términos para realizar una bioestimulación de los microorganismos degradadores de los contaminantes y el antagonismo entre especies nativas.

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general

Analizar y mejorar los procesos biológicos para la rehabilitación de la piscina de lodos activados de la Refinería Estatal Esmeraldas, mediante su caracterización físico-química y microbiológica.

1.3.2 Objetivos específicos

- Realizar un análisis físico-químico de la piscina de lodos activados; tomando en cuenta los parámetros principales que exige la normativa RAOH para procesos hidrocarburíferos.
- Elaborar un análisis cuantitativo de la microfauna de la piscina de lodos activados.
- Identificar las cepas microbianas principales, y realizar pruebas de antagonismo entre ellas para los procesos de degradación de la piscina de lodos activados.
- Plantear un método de bioestimulación para las cepas seleccionadas en las pruebas de antagonismo, para provocar su crecimiento y mejorar la calidad del efluente.

1.4 Marco Teórico

1.4.1 Tecnologías de remediación

El término “tecnología de tratamiento” implica una o varias operaciones unitarias que altera la composición de una sustancia peligrosa o contaminante a través de acciones químicas, físicas o biológicas de manera que reducen la toxicidad, movilidad o volumen del material contaminado (EPA, 2001). Las tecnologías de remediación representan una alternativa a la disposición en tierra de desechos peligrosos que no han sido tratados, y sus capacidades o posibilidades de éxito, bajo las condiciones específicas de un sitio, pueden variar ampliamente.

1.4.2 Tipo de tratamiento.

Esta clasificación se basa en el principio de la tecnología de remediación y se divide en tres tipos de tratamiento:

Biológicos (biorremediación). Utiliza las actividades metabólicas de ciertos organismos (plantas, hongos, bacterias) para degradar (destrucción), transformar o remover los contaminantes a productos metabólicos inocuos.

Fisicoquímicos. Usa las propiedades físicas y/o químicas de los contaminantes o del medio contaminado para destruir, separar o contener la contaminación.

Térmicos. Manejan calor para incrementar la volatilización (separación), quemar, descomponer o fundir (inmovilización) los contaminantes en un suelo.

Tabla 1.1 Ventajas y desventajas de las tecnologías de remediación, clasificadas de acuerdo al tipo de tratamiento.

	Ventajas	Desventajas
Tratamientos biológicos	<p>Son efectivos en cuanto a costos</p> <p>Son tecnologías más benéficas para el ambiente</p> <p>Los contaminantes generalmente son destruidos</p> <p>Se requiere un mínimo o ningún tratamiento posterior</p>	<p>Requieren mayores tiempos de tratamiento</p> <p>Es necesario verificar la toxicidad de intermediarios y/o productos</p> <p>No pueden emplearse si el tipo de medio (suelo, agua, etc.) no favorece el crecimiento microbiano</p>
Tratamientos	Son efectivos en cuanto	Los residuos generados por

fisicoquímicos	a costos Pueden realizarse en periodos cortos El equipo es accesible y no se necesita de mucha energía ni ingeniería	técnicas de separación, deben tratarse o disponerse: aumento en costos y necesidad de permisos Los fluidos de extracción pueden aumentar la movilidad de los contaminantes: necesidad de sistemas de recuperación
Tratamientos térmicos	Permite tiempos rápidos de limpieza	Es el grupo de tratamientos más costoso Los costos aumentan en función del empleo de energía y equipo Intensivos en mano de obra y capital

1.4.3 Tecnologías de remediación biológicas (biorremediación)

El término biorremediación se utiliza para describir una variedad de sistemas que utilizan organismos vivos (plantas, hongos, bacterias, etc.) para degradar, transformar o remover compuestos orgánicos tóxicos a productos metabólicos inocuos o menos tóxicos. Esta estrategia biológica depende de las actividades catabólicas de los organismos, y por consiguiente de su capacidad para utilizar los contaminantes como fuente de alimento y energía (Van Deuren et al, 1997).

Las rutas de biodegradación de los contaminantes orgánicos, varían en función de la estructura química del compuesto y de las especies microbianas degradadoras. El proceso de biorremediación incluye reacciones de oxido-reducción, procesos de sorción e intercambio iónico, e incluso reacciones de acomplejamiento y quelación que resultan en la inmovilización de metales (Eweis et al, 1998).

La biorremediación puede emplear organismos propios del sitio contaminado (autóctonos) o de otros sitios (exógenos), puede realizarse in situ

o ex situ, en condiciones aerobias (en presencia de oxígeno) o anaerobias (sin oxígeno) (Eweis et al, 1998). Aunque no todos los compuestos orgánicos son susceptibles a la biodegradación, los procesos de biorremediación se han usado con éxito para tratar suelos, lodos y sedimentos contaminados con hidrocarburos del petróleo (HTPs), solventes (benceno y tolueno), explosivos (TNT), clorofenoles (PCP), pesticidas (2,4-D), conservadores de madera (creosota) e hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) (Van Deuren et al, 1997; Semple et al, 2001).

1.4.3.1 Tecnologías in situ

Las técnicas in situ buscan estimular y crear un ambiente favorable para el crecimiento microbiano a partir de los contaminantes. Este objetivo generalmente puede lograrse con el suministro de aire u oxígeno (bioventeo), nutrientes (bioestimulación), microorganismos (bioaumentación) y/o humedad, además del control de temperatura y pH (EPA, 2001).

1.4.3.1.1 Bioventeo

El objetivo de esta es estimular la biodegradación natural de cualquier compuesto biodegradable en condiciones aerobias. El aire se suministra en el sitio contaminado a través de pozos de extracción, por movimiento forzado (extracción o inyección), con bajas velocidades de flujo, con el fin de proveer solamente el oxígeno necesario para sostener la actividad de los microorganismos degradadores (Van Deuren et al, 1997).

Aplicaciones: Se utiliza para tratar compuestos orgánicos biodegradables semivolátiles (COVs) o no volátiles. Además de favorecer la degradación de contaminantes adsorbidos, pueden degradarse COVs, por medio de su movimiento a través del suelo biológicamente activo (Eweis et al, 1998). Se ha utilizado con éxito para remediar suelos contaminados con TPHs, solventes no clorados, pesticidas y conservadores de la madera, entre algunos otros químicos (Van Deuren et al, 1997).

Limitaciones: (1) el tipo y la concentración del contaminante, (2) falta de nutrientes; (3) bajo contenido de humedad; y (4) dificultad para alcanzar el flujo de aire necesario (Eweis et al, 1998).

1.4.3.1.2 Bioestimulación

Implica la circulación de soluciones acuosas (que contengan nutrientes y/u oxígeno) a través del suelo o aguas contaminadas, para estimular la actividad de los microorganismos autóctonos, y mejorar así la biodegradación de contaminantes orgánicos o bien, la inmovilización de contaminantes inorgánicos in situ (Van Deuren et al, 1997).

Aplicaciones: experimentado con éxito para remediar suelos o aguas contaminadas con gasolinas, COVs, COSs, y pesticidas (Alexander, 1994). Estudios a escala piloto, han mostrado la biodegradación de suelos contaminados con desechos de municiones.

Limitaciones: Esta tecnología no es recomendable para suelos arcillosos, altamente estratificados o demasiado heterogéneos, ya que pueden provocar limitaciones en la transferencia de O₂. Otros factores pueden ser que el tipo del suelo no favorezca el crecimiento microbiano; incremento en la movilidad de los contaminantes y obstrucción en los pozos de inyección provocada por el crecimiento microbiano.

1.4.3.1.3 Bioaumentación

Se recurre a esta tecnología cuando se requiere el tratamiento inmediato de un sitio contaminado, o cuando la microflora autóctona es insuficiente en número o capacidad degradadora. Consiste en la adición de microorganismos vivos, que tengan la capacidad para degradar el contaminante en cuestión, para promover su biodegradación o biotransformación. El tamaño del inóculo a utilizar, depende del tamaño de la zona contaminada, de la dispersión de los contaminantes y de la velocidad de crecimiento de los microorganismos degradadores (Riser-Roberts, 1998).

Aplicaciones: Se ha empleado para tratar suelos contaminados con herbicidas (2,4-D, clorofam), insecticidas (lindano, clordano, paratión), clorofenoles (PCP) y nitrofenoles, BPCs, HTPs y HAPs (Alexander, 1994). También se ha aplicado efectivamente para tratar desechos con concentraciones relativamente altas de metales (Eweis et al, 1998).

Limitaciones: Antes de llevar a cabo la bioaumentación en un sitio, deben realizarse cultivos de enriquecimiento, aislar microorganismos capaces de cometabolizar o utilizar el contaminante como fuente de carbono, y cultivarlos hasta obtener grandes cantidades de biomasa (Alexander, 1994).

1.4.3.1.4 Fitorremediación

Es un proceso que utiliza plantas para remover, transferir, estabilizar, concentrar y/o destruir contaminantes (orgánicos e inorgánicos) en suelos, lodos y sedimentos, y puede aplicarse tanto in situ como ex situ. Los mecanismos de fitorremediación incluyen la rizodegradación, la fito-extracción, la fitodegradación y la fitoestabilización (Van Deuren et al, 1997; Hutchinson et al, 2001).

La rizodegradación se lleva a cabo en el suelo que rodea a las raíces. Las sustancias excretadas naturalmente por éstas, suministran nutrientes para los microorganismos, mejorando así su actividad biológica. Durante la fitoextracción, los contaminantes son captados por las raíces (fitoacumulación), y posteriormente éstos son traslocados y/o acumulados hacia los tallos y hojas (fitoextracción). En la fitoestabilización, las plantas limitan la movilidad y biodisponibilidad de los contaminantes en el suelo, debido a la producción en las raíces de compuestos químicos que pueden adsorber y/o formar complejos con los contaminantes, inmovilizándolos así en la interfase raíces:suelo (Sellers, 1999). La fitodegradación consiste en el metabolismo de contaminantes dentro de los tejidos de la planta, a través de enzimas que catalizan su degradación.

Aplicaciones: Es eficiente para tratar suelos contaminados con compuestos orgánicos como benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos (BTEX); solventes clorados; HAPs; desechos de nitrotolueno; agroquímicos clorados y organofosforados; además de compuestos inorgánicos como Cd, Cr (VI), Co, Cu, Pb, Ni, Se y Zn (Sellers, 1999). Se ha demostrado también su eficiencia en la remoción de metales radioactivos y tóxicos de suelos y agua.

Limitaciones: (1) el tipo de plantas utilizado determina la profundidad a tratar; (2) altas concentraciones de contaminantes pueden resultar tóxicas; (3) puede depender de la estación del año; (4) no es efectiva para tratar contaminantes fuertemente sorbidos; (5) la toxicidad y biodisponibilidad de los productos de la degradación no siempre se conocen y pueden mobilizarse o bioacumularse en animales.

1.4.3.2 Tecnologías ex situ

Los procesos de biorremediación ex situ, incluyen: procesos de biodegradación en fase de lodos, en donde el suelo se mezcla con agua (para formar un lodo), microorganismos y nutrientes; y de biodegradación en fase sólida, en donde los suelos se colocan en una celda de tratamiento (composteo) o sobre membranas impermeables (biolabranza), en donde se agrega agua y nutrientes (EPA, 2001).

1.4.3.2.1 Biorremediación en fase sólida (composteo)

El composteo es un proceso biológico controlado, por el cual pueden tratarse suelos y sedimentos contaminados con compuestos orgánicos biodegradables, para obtener subproductos inocuos estables. El material contaminado se mezcla con agentes de volumen (paja, aserrín, estiércol, desechos agrícolas), que son sustancias orgánicas sólidas biodegradables, adicionadas para mejorar el balance de nutrientes, así como para asegurar una mejor aireación y la generación del calor durante el proceso. Los sistemas de composteo incluyen tambores rotatorios, tanques circulares, recipientes abiertos y biopilas (Alexander, 1994; Eweis et al, 1998; Semple et al, 2001).

Las pilas estáticas (biopilas) son una forma de composteo en el cual, además de agentes de volumen, el sistema se adiciona con agua y nutrientes, y se coloca en áreas de tratamiento (que incluyen alguna forma de aireación y sistemas para colectar lixiviados). Las pilas de suelo generalmente se cubren con plástico para controlar los lixiviados, la evaporación y la volatilización de contaminantes, además de favorecer su calentamiento (Eweis et al, 1998).

Aplicaciones: se ha adoptado seriamente los últimos años aprovechándose con éxito para remediar suelos contaminados con PCP, gasolinas, HTPs, HAPs. Se ha demostrado la reducción, hasta niveles aceptables, en la concentración y toxicidad de explosivos (TNT). (Van Deuren et al, 1997; Semple et al, 2001).

Limitaciones: (1) necesidad de espacio y de excavar el suelo contaminado lo que puede provocar la liberación de COVs; (2) incremento volumétrico del material remediado; (3) no se pueden tratar metales pesados (Van Deuren et al, 1997).

1.4.3.2.2 Biorremediación en fase de lodos (biorreactores)

Los biorreactores pueden usarse para tratar suelos heterogéneos y poco permeables, o cuando es necesario disminuir el tiempo de tratamiento, ya que es posible combinar controlada y eficientemente, procesos químicos, físicos y biológicos, que mejoren y aceleren la biodegradación (Reiser-Roberts, 1998). Es la tecnología más adecuada cuando existen peligros potenciales de descargas y emisiones.

Uno de los reactores más utilizados para biorremediar suelos es el biorreactor de lodos, en el cual el suelo o agua contaminados se mezcla constantemente con un líquido, y la degradación se lleva a cabo en la fase acuosa por microorganismos en suspensión o inmovilizados en la fase sólida. El tratamiento puede realizarse también en lagunas construidas para este fin o bien en reactores sofisticados con control automático de mezclado (Alexander,

1994).

Aplicaciones: Los biorreactores de lodos aerobios, se destinan principalmente para tratar TPHs, COVs. Los reactores secuenciales de lodos aerobios/anaerobios ocupados para tratar BPCs, COVs halogenados, pesticidas y desechos de artillería (Van Deuren et al, 1997).

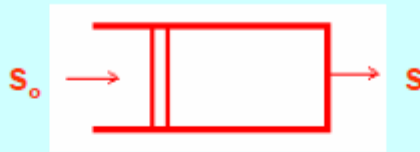
Limitaciones: (1) el suelo debe tamizarse; (2) suelos heterogéneos y arcillosos pueden generar problemas de manipulación; (3) los productos intermedios pueden ser más tóxicos que el contaminante original (en caso de explosivos o solventes clorados); (4) los residuos pueden requerir de tratamiento o disposición final (Van Deuren et al, 1997; Riser-Roberts, 1998).

Costos y tiempos de remediación. Los biorreactores de lodos pueden clasificarse como una tecnología de corto a mediano plazo. El uso de biorreactores de lodos oscila entre 130 y 200 USD/m³.

1.4.4 Piscina de lodos activados

Es un tratamiento en el cual el agua contaminada, en este caso con hidrocarburo, es mezclada con el lodo biológico (microorganismos) y aireada en un tanque llamado reactor. (Soluciones ambientales, 2007) En este caso tenemos un reactor tipo flujo pistón, el cual consiste en un sistema de mezcla en dirección radial; el que prevé una degradación de contaminantes por lotes, es decir que mientras una sección del agua sigue el camino, esta irá rebajando su contaminación. (Cumbal, 2007). Una vez reducido el contaminante los flóculos bacterianos precipitan, parte recircularán al reactor y el restante será llevado para su posterior estabilización y desecho.

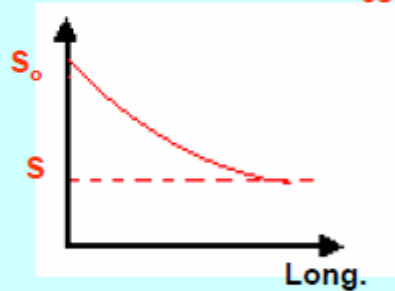
3. Reactor flujo pistón



Composición homogénea en dirección radial. No existe mezcla axial

Depende del espacio

Estado estacionario



Estado transitorio

Tiempo y espacio son variables

E.D.P.

Figura1.1 Exigencias principales de un flujo pistón (Cumbal, 2007)

En el proceso de lodos activados los microorganismos son completamente mezclados con la materia orgánica en el agua residual de manera que ésta les sirve de sustrato alimenticio. Es importante indicar que la mezcla o agitación se efectúa por medios mecánicos superficiales o sopladores sumergidos, los cuales tiene doble función 1) producir mezcla completa y 2) agregar oxígeno al medio para que el proceso se desarrolle. (Wetland, 2007)

Elementos básicos de las instalaciones del proceso de lodos activados:

- Tanque de aireación. Estructura donde el afluente y los microorganismos (incluyendo retorno de los lodos activados) son mezclados.
- Tanque sedimentador. El agua mezclada procedente del tanque es sedimentado separando los sólidos suspendidos (lodos activados), obteniéndose un efluente tratado clarificado. (Soluciones ambientales, 2007)
- Equipo de inyección de oxígeno. Para activar las bacterias heterotróficas y

homogenización de los nutrientes.

- Sistema de retorno de lodos. El propósito de este sistema es el de mantener una alta concentración de microorganismos en el tanque de aireación. (Wetland, 2007)

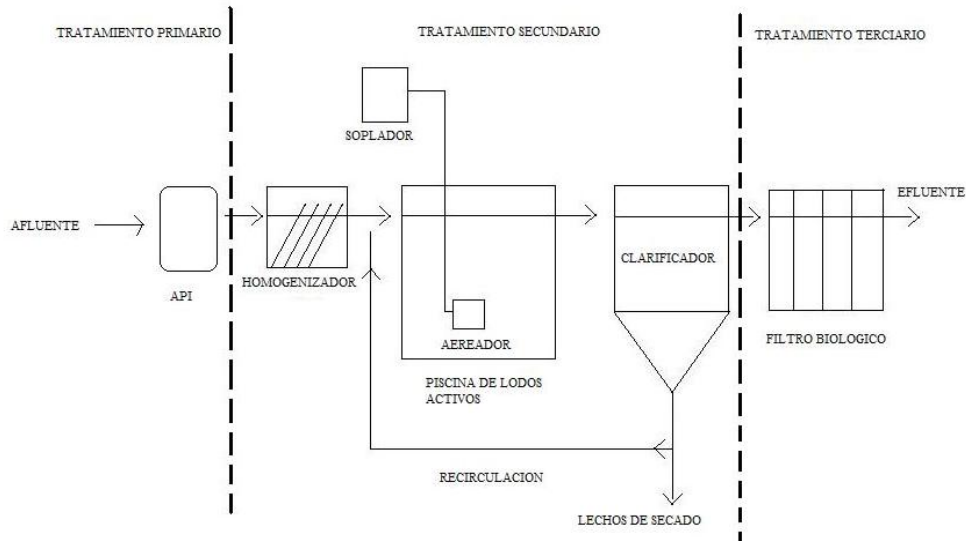


Figura 1.2 Esquema de la planta de tratamiento de aguas de la REE.

Tratamiento biológico de aguas residuales produce distintos tipos de lodo dentro de cada uno de los procesos individuales.

Lodo crudo, es aquel que no ha sido tratado ni estabilizado, que puede extraerse de plantas de tratamiento de aguas residuales. Tiene a producir la acidificación de la digestión y produce olor. (Eweis, J et al, 1999)

El lodo primario es producido en el fondo de tanque primario de sedimentación. Esta contiene generalmente una gran cantidad de materia orgánica, vegetales, frutas, papel, etc. La consistencia se caracteriza por ser un fluido denso con un porcentaje en agua que varía entre 93 % y 97 %. (Miranda, J; 2000.)

La eliminación de DBO disuelto y los nutrientes de las aguas residuales tiene lugar durante el tratamiento biológico del agua. Normalmente se caracteriza por la interacción de distintas bacterias y microorganismos, que requieren oxígeno para vivir, crecer, multiplicarse y consumir materia orgánica.

El lodo se llama lodo activo, normalmente este se encuentra en forma de flóculos que contienen biomasa viva y muerta además de partes minerales y orgánicas adsorbidas y almacenadas.

Los flóculos de lodo activo sedimentan al fondo y pueden separarse del agua limpia residual. La mayoría del lodo que se lleva de nuevo a tanque de aireación e llama lodo activo de retorno. (Cunningham y Philp, 2000.)

1.4.5 Bacterias

Las bacterias, son organismos unicelulares, simples y sin color, que utilizan los nutrientes para su propia reproducción sin la necesidad de energía solar. Son bioreductores y su papel ecológico es indispensable para la degradación de materia orgánica permite la estabilización de residuos orgánicos existentes en las plantas de tratamiento, son responsables del crecimiento de lodos activos en plantas domésticas de tratamiento de aguas. (Lentch, 2001)

Las bacterias metanogénicas, homoacetogénicas o reductoras de sulfatos, consumen inmediatamente cualquier H_2 producido en procesos fermentativos primarios. Los organismos claves en la conversión de sustancias orgánicas complejas como metano son por ejemplo *Syntrophomonas* que oxidan los ácidos grasos produciendo acetato y CO_2 y *Syntrophobacter*, que se especializa en la oxidación de propionato y genera CO_2 y H_2 . En muchos ambientes anaeróbicos los precursores inmediatos del metano son H_2 y CO_2 por parte de las bacterias metanogénicas: *Metanosphaera*, *Stadtmanae*, *Metanopinillum*, *Metanogenium*, *Metanosarcina*, *Metanosaeta* y *Metanococcus*. (Miliarum, 2004)

Las bacterias presentes en el lodo activo son contadas por 10^{10} UFC/ml, un ejemplo es la bacteria *Zooglea ramigera* que forma grandes colonias con numerosas células encerradas en una gruesa cubierta mucilaginoso común, las células individuales libres se mueven con ayuda de flagelos polares. Entre las

bacterias de flóculos predominan las representantes de géneros con metabolismo aerobio-oxidativo como *Zooglea*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Acinetobacter*, *Micrococcus* y *Flavobacterium*. Pero también se presentan bacterias anaerobias facultativas, que son fermentativas en ausencia de sustratos oxigenados, de los géneros *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Streptococcus* y distintas especies de *Bacillus*. Todas las bacterias contribuyen con las cápsulas de mucílago y con las microfibrillas al crecimiento colonial y a la formación de los flóculos. (Ahumada y Gómez, 2009)

1.4.5.1 Factores que afectan a la degradación

Los principales factores que afectan al crecimiento celular y por ende a la degradación de los contaminantes son: temperatura, concentración del contaminante, pH, y concentración de oxígeno disuelto (OD). (Ahumada y Gómez, 2009)

1.4.5.2 Temperatura

Todos los microorganismos tienen un rango óptimo de crecimiento, es decir, que su velocidad de duplicación es mayor. La temperatura de crecimiento y mantención de las cepas bacterianas se encuentra entre 20 y 24 °C (Weng, et al. 2005). Este es un factor que afecta la estabilidad de las proteínas celulares porque induce cambios conformacionales que alteran la actividad biológica de estos compuestos, especialmente de las enzimas (Ahumada y Gómez, 2009) como además de afectar a los hidrocarburos y su forma de ser metabolizada por la bacteria. (Mayo & Noike, 1999) El crecimiento adecuado para todo tipo de bacteria se encuentra a los 37°C, siendo este un referente para los procesos de descontaminación.

Cuadro 1.1 Clasificación de bacterias según su temperatura de crecimiento (Weng, et al. 2005)

Clasificación	Rango	Óptima
Termófilos	25 - 80 °C	50 - 60 °C
Mesófilos	10 - 45 °C	20 - 40 °C
Psicrófilo	-5 - 30 °C	10-20 °C

1.4.5.3 Concentración de contaminante

La concentración del contaminante también es un punto relevante, este será el alimento para el desarrollo de las bacterias; ya sea este de origen orgánico como los hidrocarburos o inorgánico como los químicos aumentados para la refinación del petróleo. Si la carga de contaminante es alta puede producir un efecto inverso al crecimiento, siendo un factor de muerte bacteriana; por ello la biodisponibilidad del mismo debe ser regulada antes de entrar en la piscina de lodos, los contaminantes deben ser estandarizados en una piscina de homogenización para su posterior ingreso.

1.4.5.4 pH

El pH afecta al metabolismo de las bacterias y al mismo tiempo la solubilidad de diversas moléculas y su disposición. (Mayo & Noike, 1999) Las bacterias se encuentran a un nivel óptimo de 7 donde el crecimiento es máximo, aunque hay otras que se adaptan a otros rangos, (Miliarum, 2004). Los microorganismos suelen modificar el pH del medio mediante la adición de sustancias producto de su metabolismo para un correcto desarrollo biológico.

Para hidrocarburos y especies inorgánicas se reporta un rango de pH de 6-8 para su biodisponibilidad, siendo el más favorable de 6,8. (Ahumada y Gómez, 2009)

1.4.5.5 Concentración de oxígeno disuelto.

Las aguas superficiales limpias suelen estar saturadas de oxígeno, lo que es fundamental para la vida. Si el nivel de oxígeno disuelto es bajo (ver cuadro 1.1), indica contaminación con materia orgánica, septicización, mala calidad del agua e incapacidad para mantener determinadas formas de vida. (Goyenola, 2007)

Cuadro 1.2 rangos de concentración de oxígeno disuelto [OD], condición y consecuencias para los organismos vivos. (Goyenola, 2007)

[OD] mg/L	Condición	Consecuencias
0	Anoxia	Muerte masiva de organismos aerobios
0-5	Hipoxia	Desaparición de organismos y especies sensibles
5-8	Aceptable	[OD] adecuadas para la vida de la gran mayoría de especies de peces y otros organismos acuáticos
8-12	Buena	
>12	Sobresaturada	Sistemas en plena producción fotosintética

1.4.6 Desechos de la refinación de crudo

Los desechos de hidrocarburo y la refinación del mismo, es un contaminante importante que afecta en gran medida la calidad del agua, formando una película impermeable que impide el intercambio gaseoso y la penetración de la luz solar. La refinación del crudo emplea grandes cantidades de agua, ya sea para el enfriamiento, producción de vapor, procesos de

reacción y limpieza de reactores. Entre los principales contaminantes (anexo 1) de estos procesos se encuentran, además del crudo de petróleo, aceites, grasa, agua con elevados niveles de temperatura, compuestos fenólicos, sulfuros, ácidos, benceno, plomo, benzopierenos. Estos son los principales contaminantes que terminan en las cuencas del río Teañe, generando así una muerte paulatina del plancton y de la vida en el mismo, debido al aumento de pH, conductividad y temperatura del río. (Torres y Castro. 2002)

1.4.7 Efectos en la salud humana

El petróleo tiene un coctel de sustancias químicas que son dañinas tanto para el hombre como para la fauna que se encuentre a su alrededor. Las principales afecciones debido al contacto son irritación en las mucosas y piel, vómito, dolor de cabeza. Uno de los contaminantes son los HAPs, causantes de daños genotóxicos, es decir que producen mutaciones a nivel del ADN y carcinogénesis, formación de tumores, debido a su acumulación en las células (bioacumulativos). (ATSDR, 1995)

En estudios realizados con ratonas que fueron alimentadas con benzo(a)pireno se demostraron afecciones en la etapa de desarrollo fetal dando como resultado abortos espontáneos, así como problemas en el déficit de peso en las crías, haciendo una comparación a la salud humana se puede decir que tiene los mismos efectos, tal es el caso de los testimonios tomados de las comunidades indígenas del río Coca cuando este sufrió de un derrame. (Maippa, 2009)

La vida silvestre también es afectada, ya sea por los altos niveles de conductividad, o su alta temperatura, el plancton, crustáceos y peces del río están expuestos a una contaminación severa, no solo por el crudo en si sino por sus derivados que son aún más dañinos, afectando a su reproductividad, daños pulmonares, daño hepático entre otros. (Amsa, 2003)

1.4.8 Formación de Hipótesis

1.4.8.1 Hipótesis nula

Los procesos biológicos de degradación la piscina de tratamiento de lodos posterior al estudio del mismo no tendrá diferencias significativas

1.4.8.2 Hipótesis alternativa

Los procesos biológicos de degradación la piscina de tratamiento de lodos posterior al estudio del mismo si tendrá diferencias significativas

CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Localización geográfica

El proyecto se desarrolló en la Refinería Estatal de Esmeraldas de Petroproducción REE. En la ciudad de Esmeraldas, Provincia de Esmeraldas, localizada 31° en sentido anti horario con respecto al norte geográfico a una altitud de 24.5 metros sobre el nivel del mar. La identificación de las cepas se las realizó en los laboratorios de microbiología de la facultad de biotecnología ESPE.

Las muestras fueron tomadas en envases de vidrio y en frascos recolectores de orina estériles, para los análisis físico-químicos y microfauna respectivamente. Todas estas pruebas se realizaron a temperatura ambiente (promedio de 29°C) dentro del laboratorio de calidad de agua de la REE.

2.2 Fase de Laboratorio

2.2.1 Análisis físico-químicos del agua de la piscina de lodos activados

El ensayo comenzó con los análisis físico-químicos de: DBO (demanda biológica de oxígeno), DQO (demanda química de oxígeno), pH, CE (conductividad eléctrica), TPH (Hidrocarburos totales de petróleo), fenol, ST (sólidos totales disueltos) y OD (oxígeno disuelto); los dos primeros se realizaron en el laboratorio particular LABANNCY; las pruebas restante se efectuaron en el laboratorio de aguas de la REE siguiendo el manual de laboratorio que se basa en el libro Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.

La obtención de muestras se realizó mediante un muestreo aleatorio estratificado (MAE), dividiendo a la piscina en 4 partes: la entrada del agua, dos partes intermedias y la salida del efluente. Figura 2.1

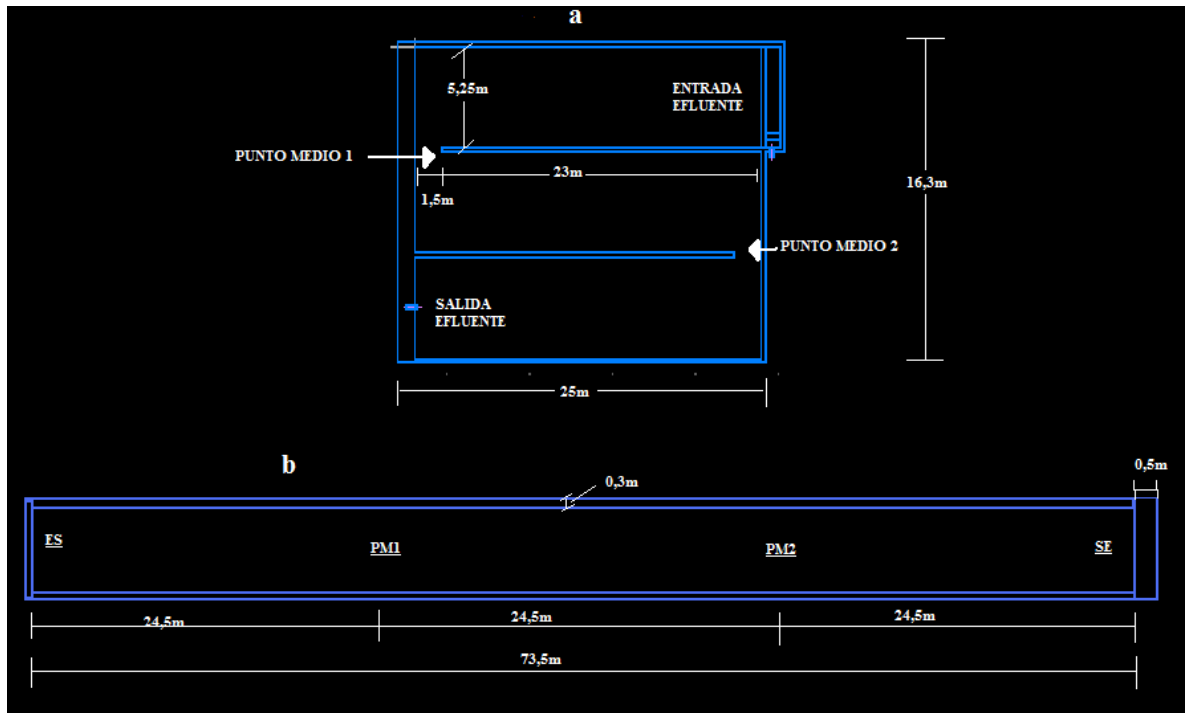


Figura 2.1 Diagrama de la piscina de lodos activados, dimensiones y puntos de toma de muestra. ES: entrada de efluente, PM1: punto medio 1, PM2: punto medio 2, SE: salida del efluente.

2.2.1.1 Medición de pH

Para esta medición se utilizó un pH-Metro Mettler Toledo S20 Seven Easy. (Anexo 3). Los cálculos de pH se realizan según el manual del fabricante.



Figura 2.2 pH-meter Toledo usado para medición.

2.2.1.2 Medición de Oxígeno disuelto (OD)



Figura2.3 Medidor de OD 3 star-plus

El Oxígeno disuelto se midió en un medidor de mesa de OD Orión 3-star plus (Anexo 4). Para la medición se sigue el instructivo colocado detrás del mismo.

2.2.1.3 Medición de Conductividad.

De igual forma esta prueba se realizó mediante un medidor de conductividad Orión 3-star plus siguiendo las especificaciones técnicas del fabricante. (Anexo 4)



Figura 2.4 Medidor de conductividad 3 star-plus.

2.2.1.4 Medición de Sólidos totales suspendidos

En este paso hay que tener cuidado con la manipulación del papel filtro, este debe ser manipulado únicamente con pinzas metálicas y nunca ser operado con las manos, porque se pueden producir falsos positivos en la medición de su peso y errores en el resultado final.



Figura 2.5 Equipo de filtración para prueba de sólidos suspendidos

De igual manera el método de medición es basado en la bibliografía de *Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Los ppm de sólidos totales suspendidos se midieron según la siguiente fórmula:



Figura 2.6 Desecador para el papel filtro, de la prueba de sólidos totales disueltos.

$$\text{ppm de sólidos totales suspendidos} = \frac{(A - B) \times 1000}{\text{ml de la muestra}}$$

Donde:

A = el peso del filtro+ los residuos secados en mg

B = el peso inicial del filtro

2.2.1.5 Medición de TPH's (Hidrocarburos totales de petróleo)

Este método fue realizado mediante los procesos estandarizados del manual químico de petroproducción, tomando como referencia el libro Method for the Examination of water and wastewater



Figura 2.7 Prueba de TPH's formación de las dos fases, polar y apolar, en la mezcla.

Los THP's finales se calculan mediante la diferencia entre el peso final e inicial del vaso, como indica la ecuación:

$$\text{ppm de TPH's} = (A - B)$$

Donde

A= peso final de vaso, luego de la evaporación del cloroformo

B= peso inicial del vaso, sacado del desecador.

2.2.1.6 Medición de Fenoles

Medición de fenol en las muestras

Debido a que la muestra contiene muchas impurezas, se debe realizar una prueba de fenoles por volatilización. La volatilización del fenol es gradual, el volumen de destilado será igual a la muestra original quedando solamente las impurezas no volátiles en el fondo. Para su posterior cálculo y análisis se siguen los pasos de Method of the examination of water and wastewater.



Figura 2.8 Prueba de fenoles, equipo de destilación para la extracción de fenoles por arrastre

En este caso se calibró el espectrofotómetro para que este arroje los resultados directamente en ppm de fenol con la fórmula siguiente:

$$ppm.de.fenol = \frac{C * D * 1000}{E * B}$$

Donde:

B = ml de la muestra

C = mg de la solución estándar de fenol

D = absorvancia de la muestra

E = absorvancia del estándar de fenol.

2.2.2 Análisis cuantitativo de la microfauna de la piscina de lodos activados

Los puntos de muestreo fueron los mismos que en el análisis físico-químico. En el diagnóstico cuantitativo se elaboró un conteo superficial en cajas Petri con agar conteo (DIFCO), las muestras de agua se diluyeron hasta una concentración de 10^{-6} . Posteriormente el medio fue inoculado con esta dilución y cultivado durante 24 horas a temperatura ambiente.

2.2.2.1 Sembrado para cuantificación

Las muestras de agua de la piscina de lodos fue tomada directamente en un frasco estéril para muestreo de orina etiquetado con fecha, hora, punto de la toma de muestra y temperatura.

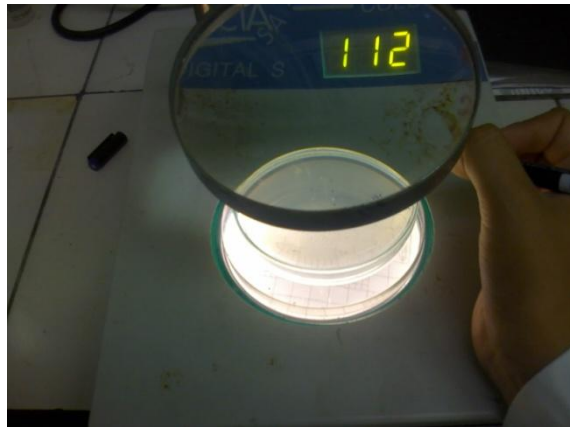


Figura 2.9 Equipo UFC counter para conteo de colonias.

2.2.2.2 Aislamiento de colonias y establecimiento de cultivos puros

Ya que el conteo bacteriano se realizó de manera superficial en caja Petri; se aislaron diferentes colonias por la morfología presentada. (Figura 2.10)

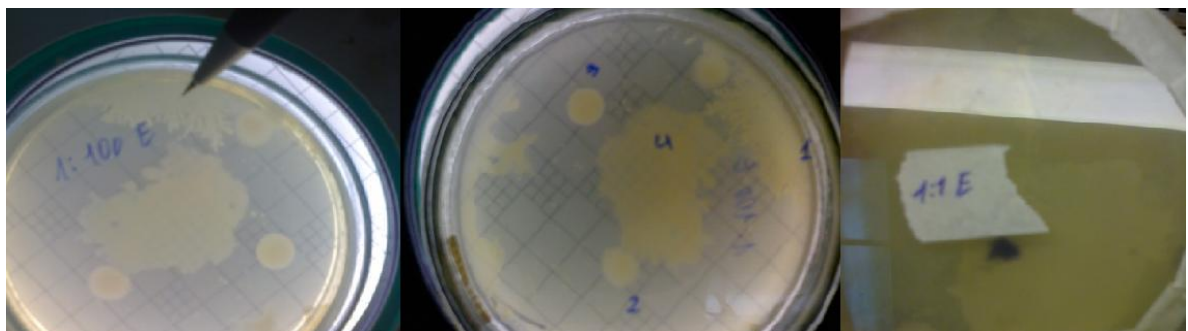


Figura 2.10 Identificación de colonias por su morfología.

Las bacterias fueron sembradas en agar nutritivo inclinado (DIFCO), posteriormente se realizó un recultivo en tubos Tripticasa soya agar TSA (DIFCO) para mantener un cepario de estas.

2.2.2.3 Identificación de las cepas

De la aislación anterior se obtuvieron 5 cepas; M1, M2, M3, M4, T1.



Figura 2.11 Cepas de colonias aisladas en agar inclinado TSA. a) Muestra 1: código M1, b) Muestra 2: código M2, c) Muestra 3: código M3, d) Muestra 4: código M4, e) Muestra 5: código T1

Las muestras fueron sembradas en agar King B (SIGMA), Agar hierro triple azúcar TSI (DIFCO) y se les aplicó tinción Gram, prueba de oxidasa (MERCK) y API 20E (BIOMÉRIEUX).

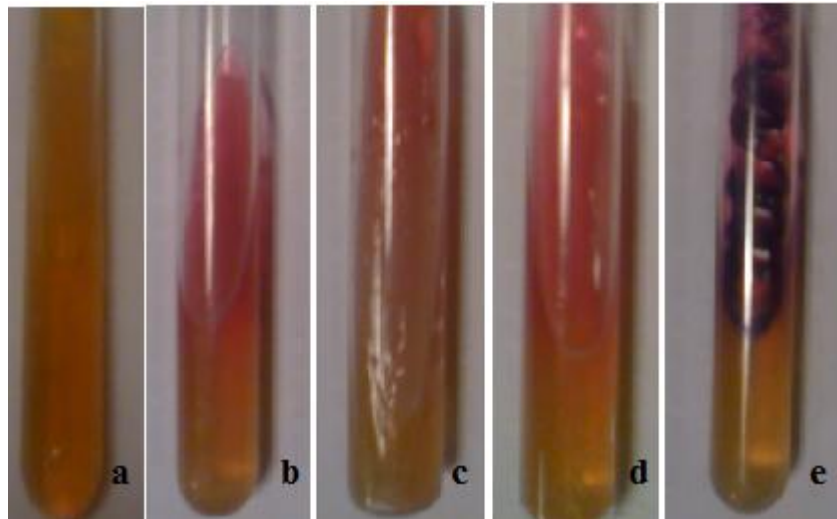


Figura 2.12 Prueba de TSI. a) muestra M1, b) muestra M2, c) muestra M3, d) muestra M4, e) muestra T1

Pruebas de oxidasa

Esta prueba se realizó mediante un test de identificación de oxidasa (MERCK) siguiendo el instructivo del fabricante. Si la prueba tomó un color violeta fue positiva.

Pruebas API 20E

	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	
Negativo	White	Yellow	Yellow	Yellow	Green	Yellow	Yellow	Orange	Yellow	White	White	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	White
					Green	Brown						Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
Positivo	Yellow	Red	Red	Red	Blue	Black	Red	Red	Red	Red	Black	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow
	Yellow	Red	Red	Red	Blue	Black	Red			Red	Black											

Figura 2.13 Esquema de resultados positivos o negativos de las pruebas API 20E

La prueba API20E (BIOMÉRIEUX), es un sistema de identificación para bacterias gram negativas. Consta de 20 test bioquímicos numerados y codificados para una identificación numérica en la base del fabricante. Para el manejo del kit se siguió el manual de BIOMÉRIEUX.

2.3 Pruebas de antagonismo de la microfauna

Las cepas aisladas fueron sometidas a pruebas de antagonismo, confrontando dos cepas diferentes, observando la existencia de inhibición del crecimiento una de la otra. Tomando como antagonismo positivo a las cepas que presentaron un halo mayor a 5mm y negativo menor a 5 mm. (Mora, 2007)

Se plantearon 2 hipótesis para descartar las cepas que presentaron un alto grado de antagonismo, teniendo en cuenta el halo de inhibición:

Ho: Halo de inhibición de cada una de las cepas es $<$ a 0.5 cm de diámetro.

HA: Halo de inhibición de cada una de las cepas es $>$ a 0.5 cm de diámetro.

Este proceso se lo realizó para cada una de las combinaciones indicadas en la tabla 2.1; además de hacerlas por triplicado en agar nutriente y en agar PLA (Agua estéril de la piscina de lodos).

Tabla 2.1 Pruebas de antagonismo realizadas a los 5 tipos de cepas

CAJAS CON CEPAS SEMBRADAS VS DISCOS CON CEPAS INOCULADAS				
1M-2M	2M-1M	3M-1M	4M-1M	T1-1M
1M-3M	2M-3M	3M-2M	4M-2M	T1-2M
1M-4M	2M-4M	3M-4M	4M-3M	T1-3M
1M-T1	2M-T1	3M-T1	4M-T1	T1-4M

2.3.1 Análisis de selección y mejora en los nutrimentos de los microorganismos para bioestimulación

Se utilizaron tres tipos de fórmulas, cada una agregada al agua de la piscina de lodos en un reactor de 5 litros los cuales fueron homogenizados por motores de aireación de peceras.

Se plantearon 2 hipótesis para identificar la fórmula de mejor adaptación.

HO: F1=F2=F3=C.

HA: F1≠F2≠F3≠C.

2.3.1.1 Fórmula 1 (F1)

Esta fórmula es estándar para el crecimiento y estimulación de bacterias para biorremediación en diferentes tipos de tratamientos sea *in situ* o *ex situ* (Cumbal 2008), consiste en una relación entre la carga orgánica, nitrógeno y fósforo como se indica a continuación:

DBO:	N:	P
100:	5:	1

Para lo cual se usó 5gr de nitrato de amonio y 1 gramo de fosfato ácido di sódico por litro

2.3.1.2 Fórmula 2 (F2)

Se hizo una modificación a la fórmula King B, en la cual se agregó 5g de nitrato de amonio. La fórmula King B (CONDA) por litro de agua tiene como ingredientes 2g sulfato de magnesio y 2g fosfato di básico de potasio, además de una mezcla de peptona que fue reemplazada con la carga orgánica que ofrecían los hidrocarburos de la piscina y 4g de glucosa como fuente de carbono adicional y de fácil degradación. La nueva fórmula obtuvo una nueva proporción siendo la siguiente:

N:	P:	S:	C
5:	2	2	4

El azufre es usado como fuente energética, en algunos tipos de bacterias gram negativas, haciendo reducir a este hasta el sulfuro de hidrógeno como producto final y estable.

2.3.1.3 Fórmula 3 (F3)

Es un medio mineral mínimo usado para la proliferación masiva bacteriana en la degradación de hidrocarburos, (Foght, Gutnick y Westlake, 1989) debido a esto se redujo las concentraciones de los reactivos en un 70% para una bioestimulación en la piscina de lodos activados

La composición quedó así:

Cloruro de sodio	6g
Cloruro de potasio	0,35
Fosfato di básico de potasio	1,0 g
Sulfato de magnesio heptahidratado	1,5g
Fosfato ácido disódico	1,5 g
Nitrato de amonio	5 g
Agua	1000 ml

Una vez pesadas las cantidades adecuadas se mezcló cada una de las fórmulas en recipientes de 5 litros de capacidad, estos fueron aireados y mezclados mediante un sistema de flujo de aire que se utiliza en la aireación de peceras. (Figura 2.19) Para medir el caudal de oxígeno que producía cada uno de los motores se colocó la manguera dentro de una probeta graduada invertida y colmada de agua; se midió el volumen inicial del sistema y en un intervalo de 10 segundos tomados por cronómetro se encendió el motor de pecera. Posteriormente se registró el desplazamiento final; la diferencia entre estos valores será los mililitros de O₂ en un sexto de minuto. (Figura 2.20) extrapolar los datos a un minuto se tuvo los valores de la tabla 2.2 este proceso se repitió tres veces para cada motor.

Tabla 2.2 Caudal de oxígeno suministrado a cada reactor etiquetado según su formulación

Caudal de oxígeno ml/min			
F1	F2	F3	F4
5.7	5.3	5.6	5.7

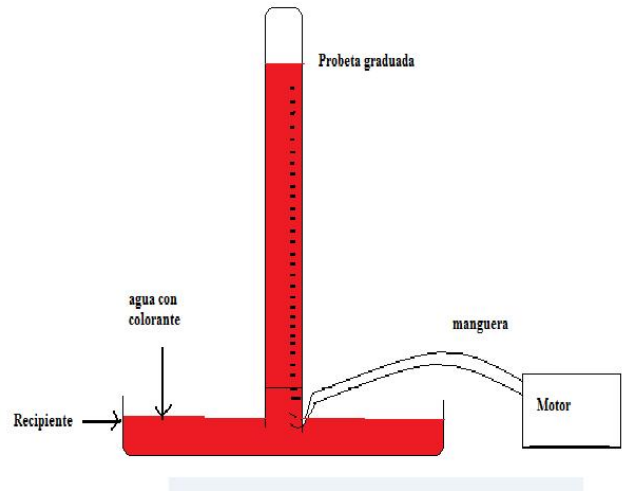


Figura 2.14 Medición de caudal de oxígeno de los motores de pecera



Figura 2.15 Reactores aireados con agua de la piscina de lodos activados y fórmulas. C= control, F1=fórmula 1, F2= fórmula 2, F3= fórmula 3.

CAPÍTULO 3. RESULTADOS

3.1 Análisis físico químicos iniciales del agua de la piscina de lodos activados

Los datos se obtuvieron mediante un muestreo aleatorio estratificado (MAE) dividiendo la piscina en 4 puntos de toma de muestras, como indica la figura 2.1.

Durante esta etapa se tomaron muestras durante 27 días seguidos, de estos datos se determinaron las medias, figuras 3.1 – 3.8, y se compararon versus los valores permitidos por la norma RAOH, siendo los parámetros afectados TPH's, DQO, Fenoles y OD, figuras 3.5, 3.6, 3.7, 3.8 respectivamente. Posteriormente estos fueron estudiados con énfasis en el proceso de bioestimulación.

Los TPH's se encontraron en un rango entre 264 ppm y 123 ppm, teniendo que reducir sus valores a un máximo de 20 ppm. Figura 3.5. En este parámetro podemos observar un patrón de decrecimiento natural hallándose el mayor valor en la entrada de la piscina de lodos, luego de la homogenización, y reduciéndose en el recorrido de la piscina como era de esperar.

En cuanto a los DQO se presentaron valores entre 390 ppm y 373 ppm, la norma establece un máximo de 120 ppm (Figura 3.6) lo que indicó que los niveles de crecimiento bacteriano estaban afectados.

Los fenoles tuvieron como promedio máximo de 6,6 ppm y un mínimo 1,3 ppm, los que deben disminuir a 0,15 ppm. Figura 3.7. De igual manera que los TPH's, estos también decrecen según transita el agua dentro de la piscina, aunque fueron valores altos para su desecho.

La concentración de OD se situó entre 4,6 y 3,4 ppm, un valor óptimo para el crecimiento bacteriano y oxidación de compuestos inorgánicos debió tener un mínimo de 5 ppm de oxígeno disuelto a nivel del mar y una temperatura promedio de 30°C.

Tabla 3.1 Valores mínimos encontrados en los parámetros afectados

Parámetro	V. Mínimo (ppm)	V Permitido (ppm)
TPH	123	20
DQO	373	120
FENOLES	1,3	0,15
OD	3,4	5

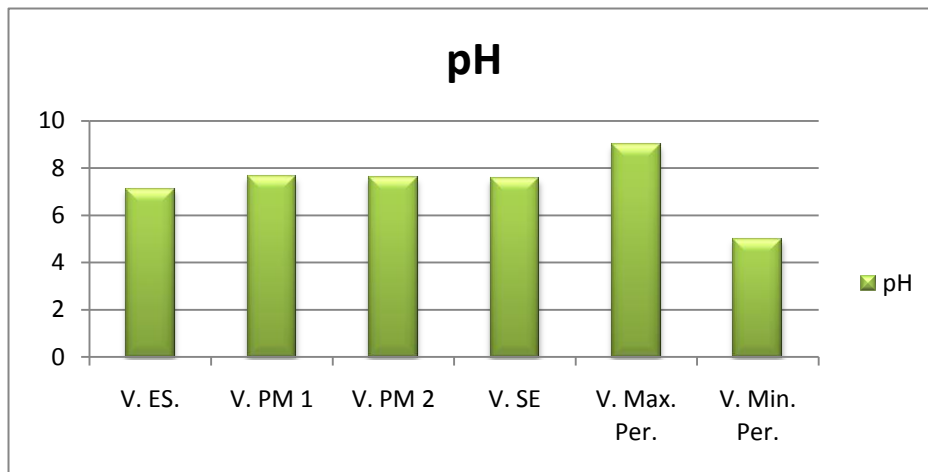


Figura 3.1 Promedio de pH de los 27 valores tomados en los 4 puntos de la piscina, máximos y mínimos permitidos según normas RAOH. V.ES = Valor de entrada de la piscina, V. PM 1 = valor punto medio 1, V. PM 2 = valor punto medio 2, V. SE= valor de salida de la piscina, V. Max. Per.= valor máximo permitido, V. Min. Per.= valor mínimo permitido.

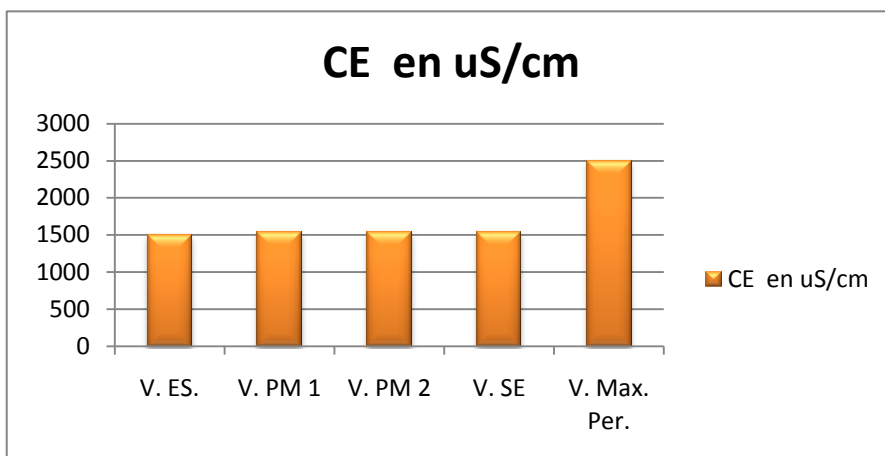


Figura 3.2 Promedio de Conductividad eléctrica de los 27 valores tomados en los 4 puntos de la piscina y máximo permitido según normas RAOH. V.ES = Valor de entrada de la piscina, V. PM 1 = valor punto medio 1, V. PM 2 = valor punto medio 2, V. SE= valor de salida de la piscina, V. Max. Per.= valor máximo permitido,

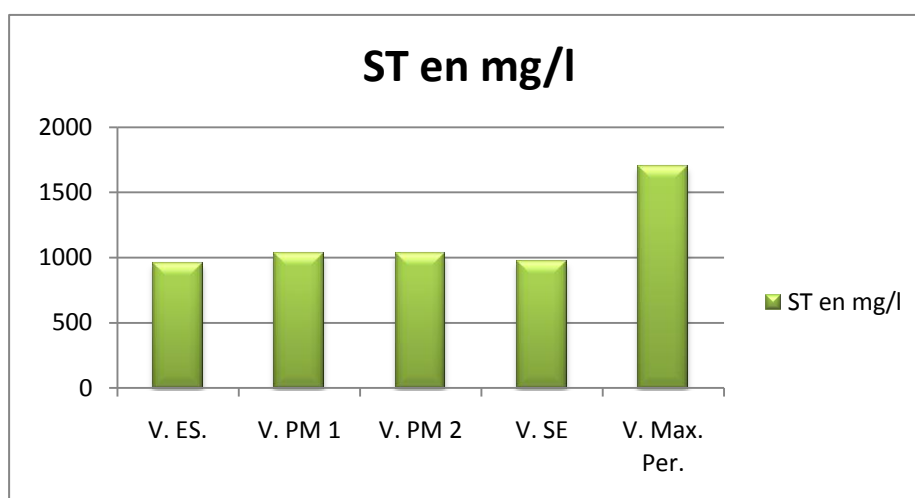


Figura 3.3 Promedio de sólidos totales de los 27 valores tomados en los 4 puntos de la piscina y máximo permitido según normas RAOH. V.ES = Valor de entrada de la piscina, V. PM 1 = valor punto medio 1, V. PM 2 = valor punto medio 2, V. SE= valor de salida de la piscina, V. Max. Per.= valor máximo permitido.

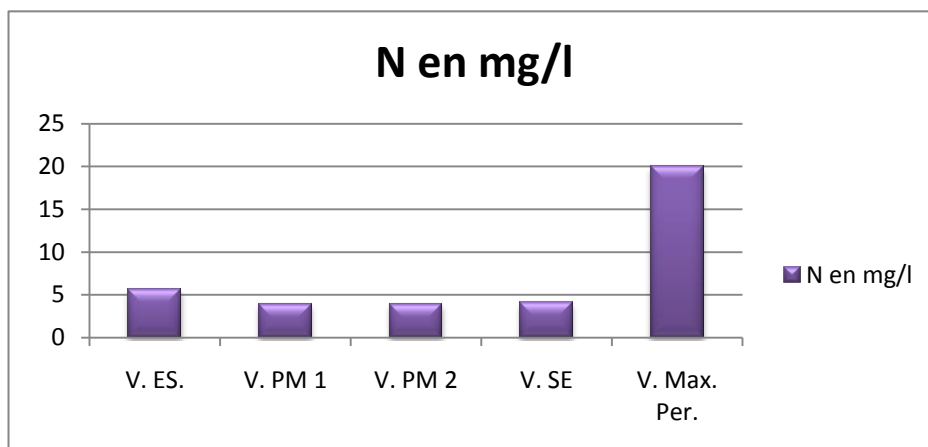


Figura 3.4 Promedio de nitrógeno global de los 27 valores tomados en los 4 puntos de la piscina y máximo permitido según normas RAOH. V.ES = Valor de entrada de la piscina, V. PM 1 = valor punto medio 1, V. PM 2 = valor punto medio 2, V. SE= valor de salida de la piscina, V. Max. Per.= valor máximo permitido.

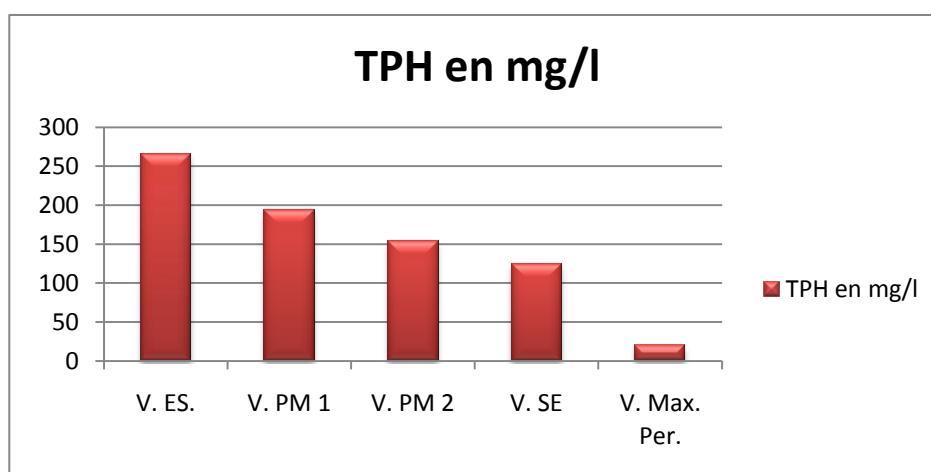


Figura 3.5 Promedio de TPH de los 27 valores tomados en los 4 puntos de la piscina y máximo permitido según normas RAOH. V.ES = Valor de entrada de la piscina, V. PM 1 = valor punto medio 1, V. PM 2 = valor punto medio 2, V. SE= valor de salida de la piscina, V. Max. Per.= valor máximo permitido.

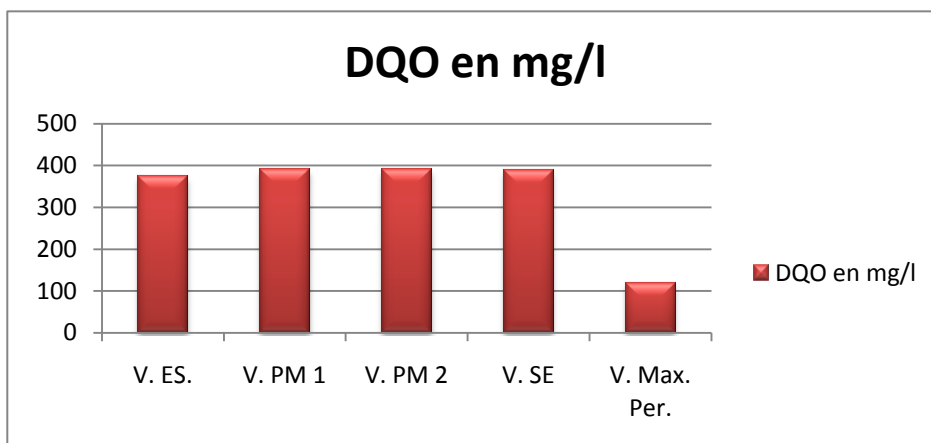


Figura 3.6 Promedio de DQO de los 27 valores tomados en los 4 puntos de la piscina y máximo permitido según normas RAOH. V.ES = Valor de entrada de la piscina, V. PM 1 = valor punto medio 1, V. PM 2 = valor punto medio 2, V. SE= valor de salida de la piscina, V. Max. Per.= valor máximo permitido.

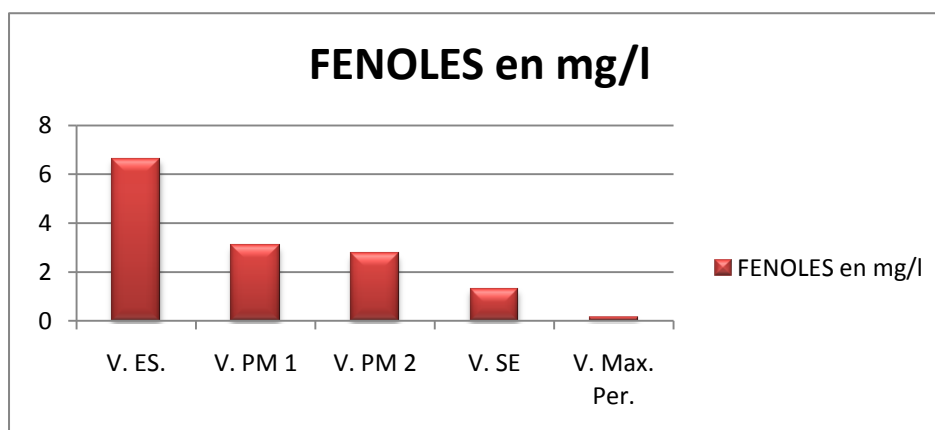


Figura 3.7 Promedio de Fenoles de los 27 valores tomados en los 4 puntos de la piscina y máximo permitido según normas RAOH. V.ES = Valor de entrada de la piscina, V. PM 1 = valor punto medio 1, V. PM 2 = valor punto medio 2, V. SE= valor de salida de la piscina, V. Max. Per.= valor máximo permitido.

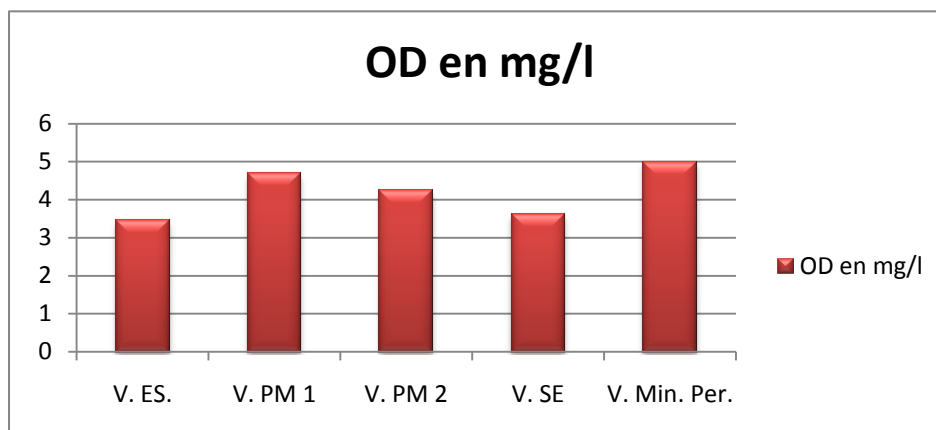


Figura 3.8 Promedio de oxígeno disuelto de los 27 valores tomados en los 4 puntos de la piscina y mínimo aceptable. V.ES = Valor de entrada de la piscina, V. PM 1 = valor punto medio 1, V. PM 2 = valor punto medio 2, V. SE= valor de salida de la piscina, V. Min. Per.= valor mínimo aceptable para estimulación.

3.2 Análisis cuantitativo de la microfauna de la piscina de lodos activados

De igual forma que los análisis químicos, estos fueron muestreados en los cuatro puntos que se indica la figura 2.1 durante 27 días mediante un muestreo estratificado aleatorio (MAE).

Los resultados indicaron un decrecimiento bacteriano durante el recorrido de la PLA dando un promedio máximo de $8,4 \times 10^4$ UFC/ml en la entrada y un mínimo de $4,2 \times 10^4$ UFC/ml a la salida de la piscina; si bien es cierto en una piscina flujo pistón estos deben mermar, se consideraron muy bajos como para poder realizar una biodegradación eficiente.

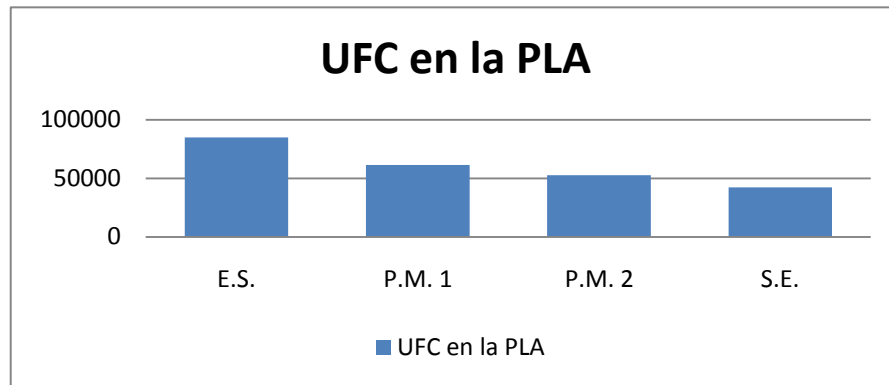


Figura 3.9 Promedio de UFC/ml tomados en los 4 puntos de la piscina, ES = entrada de la piscina, PM 1 = punto medio 1, PM 2 = punto medio 2, SE= salida del efluente

3.3 Resultado de las pruebas de identificación.

De la tinción Gram se pudo identificar que las muestras M1, M2, M4 y T1 fueron bacilos gram negativos y M3 un bacilo gram positivo. También se realizó una siembra en agar King B, para determinar la presencia de *Pseudomonas* las que tomaron un color verde metálico en el medio.

En la prueba de TSI, se pudo identificar que M2, M3, M4 y T1 fueron fermentadoras solo de glucosa y M1 fue fermentadora además de glucosa de lactosa y/o sacarosa figura 2.16

De las pruebas bioquímicas restantes como oxidasa (MERCK) y API 20E (BIOMÉRIEUX) se obtuvo los resultados mostrados en la Tabla 3.1.

Tabla 3.2 Resultados de las pruebas bioquímicas aplicadas a las muestras bacterianas de la piscina de lodos activados.

	MUESTRAS				
PRUEBAS	M1	M2	M3	M4	T1
Tinción	Bacilo	Bacilo	Bacilo	Bacilo	Bacilo negativo
Gram	negativo	negativo	positivo	negativo	
Oxidasa	(-)	(+)	(+)	(+)	
TSI	A/A	K/A	k/A	K/A	K/A
Nombre	<u><i>E. coli</i></u>	<u><i>Aeromona hydrophila</i></u>	<u><i>B. subtilis</i></u>	<u><i>Pseudomona luteola</i></u>	<u><i>Chromobacterium violaceum</i></u>

Gonzales B. (1999) explica *Escherichia coli* es un bacilo gram negativo, anaerobio facultativo de la familia Enterobacteriaceae, fermentador de glucosa y lactosa, esta bacteria coloniza el intestino del hombre pocas horas después del nacimiento y se le considera un microorganismo de flora normal, por ello se encuentra en las aguas negras, las mismas que son mezcladas en la piscina de lodos juntamente con agua proveniente de procesos hidrocarburíferos

Hayes J. (2004) expresa que *Aeromona hydrophila* es una bacteria gram negativa en forma de bastón, aerobio facultativo se puede aislar de heces humanas, agua potable, residuales y negras.

Bacillus subtilis es un aerobio facultativo gram positivo, no patógeno tolerante a condiciones ambientales extremas y se encuentra en suelo marítimo, perteneciente a la familia Bacillaceae. Bertero M (1999)

Pseudomonas luteola es una bacteria gram-negativa perteneciente a la rama de las proteobacterias, la misma a la que pertenecen las enterobacterias, dentro del género *Pseudomonas*, son bacilos curvados además de ser aerobios estrictos aunque en algunos casos usan el nitrato como aceptor de electrones; se puede aislar de muestras de suelo, aguas, piscinas contaminadas, así como de plantas y animales. Todas las cepas son potencialmente patógenas para el hombre.

Chromobacterium violaceum es un bacilo aerobio facultativo gram negativo. Produce un antioxidante llamado violaceín que previene la oxidación de la membrana además de dar el color violeta característico del mismo. Es parte normal de la flora del agua y en el suelo de las zonas tropicales y subtropicales.

3.4 Análisis de las pruebas de antagonismo

Los resultados expuestos indicaron que no existía antagonismo entre cepas, como se pudo observar en las figuras 3.10- 3.12 que no existían halos representativos entre todas las cepas ya que sus diámetros eran menores a 5mm, y esto fue considerado como simbiosis entre las cepas.

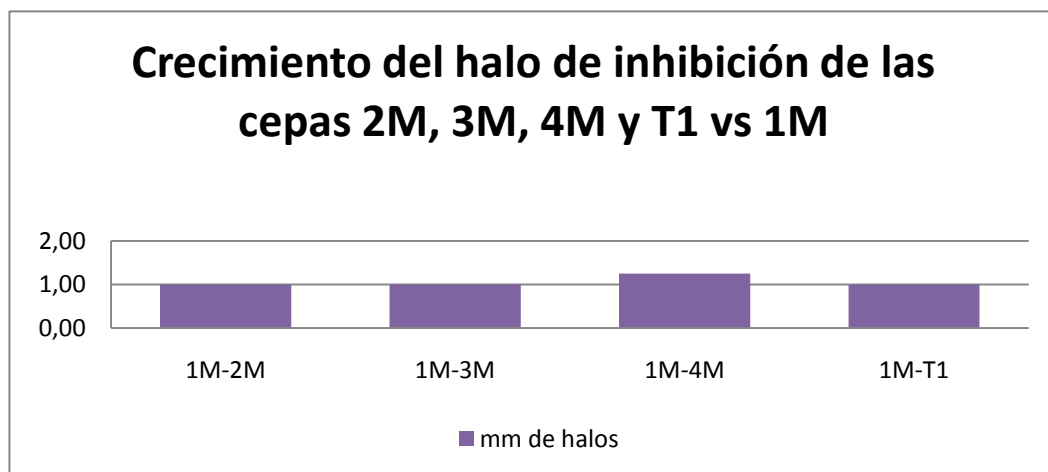


Figura 3.10 Promedios de halos de inhibición, en mm, de 1M vs 2M, 3M, 4M y T1 realizado en las pruebas de antagonismo.

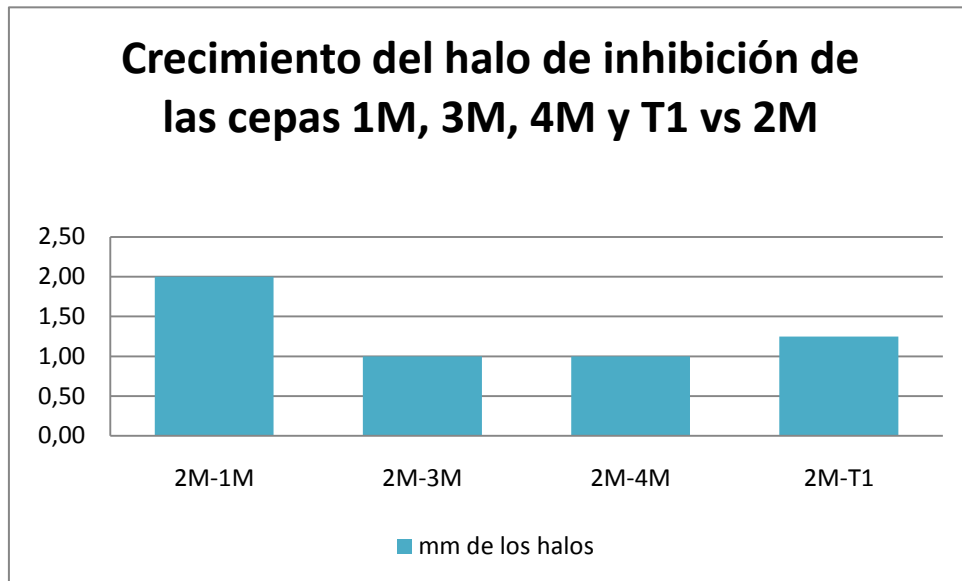


Figura 3.11 Promedios de halos de inhibición, en mm, de 2M vs 1M, 3M, 4M y T1 realizado en las pruebas de antagonismo.

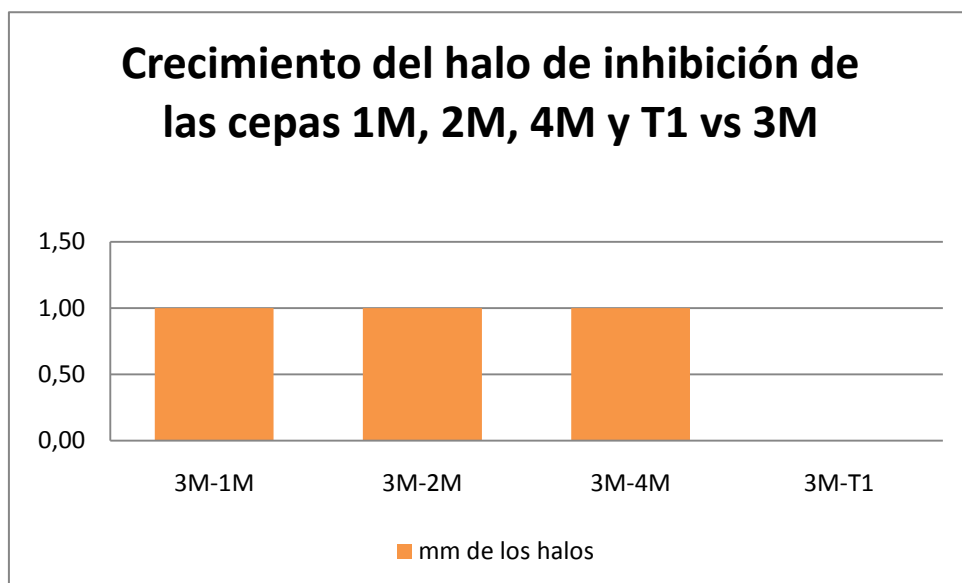


Figura 3.12 Promedios de halos de inhibición, en mm, de 3M vs 1M, 2M, 4M y T1 realizado en las pruebas de antagonismo.

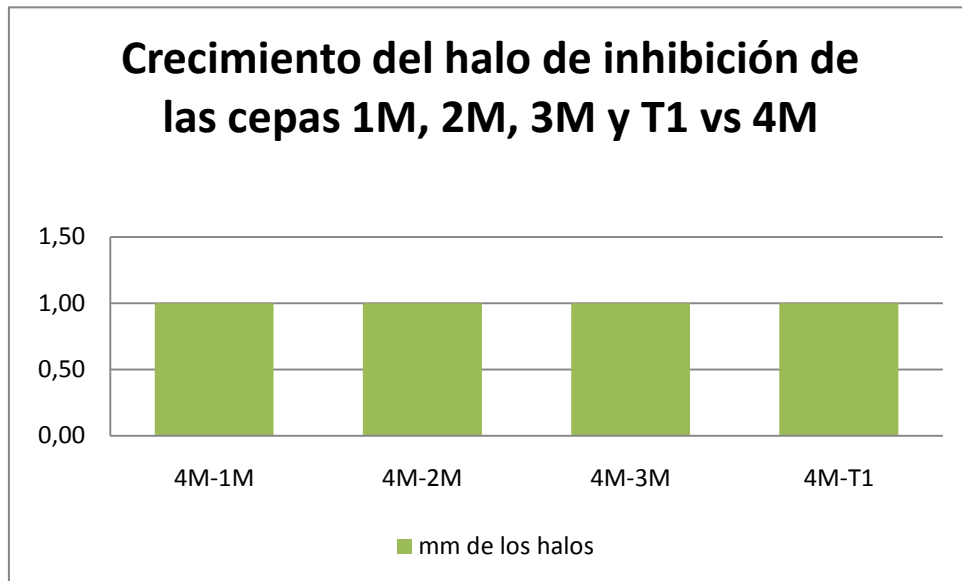


Figura 3.13 Promedios de halos de inhibición, en mm, de 4M vs1M, 2M, 3M y T1 realizado en las pruebas de antagonismo.

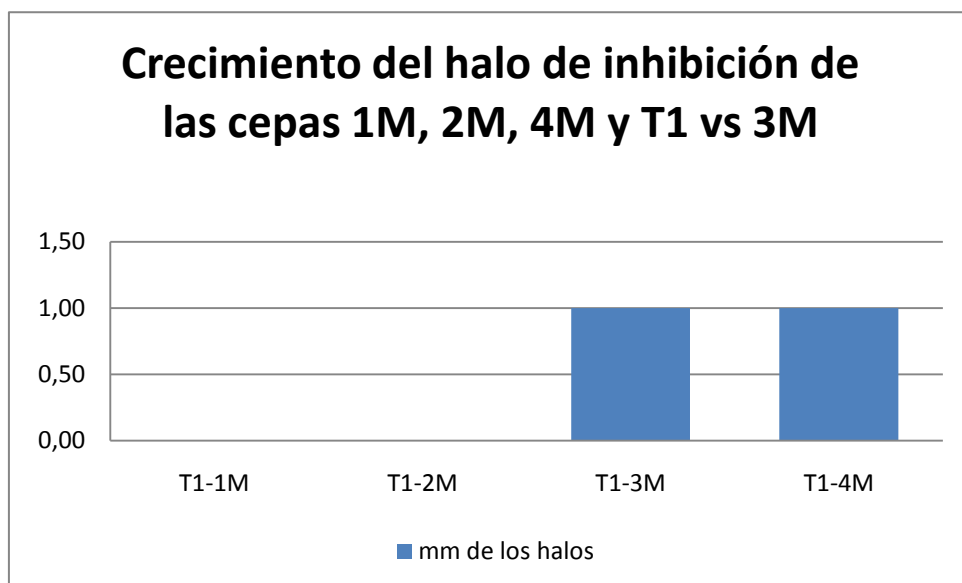


Figura 3.14 Promedios de halos de inhibición, en mm, de T1 vs1M, 2M, 3M y 4M realizado en las pruebas de antagonismo.

3.5 Análisis de fórmula para bioestimulación en la piscina de lodos activados

En la identificación de una fórmula adecuada para la bioestimulación, se realizó análisis de varianza para cada uno de los parámetros estudiados, además de un gráfico de cajas y bigotes para una identificación más visible.

3.5.1 Demanda biológica de oxígeno (DBO)

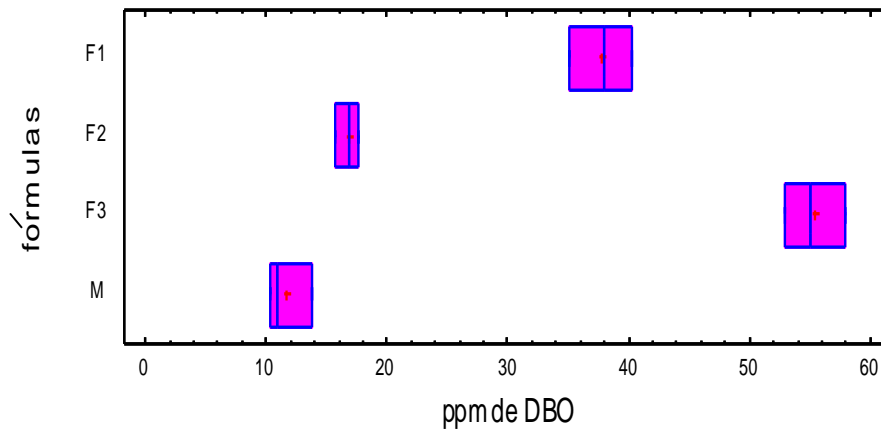


Figura 3.15 Gráfico de cajas y bigotes de DBO para cada fórmula y control.

Tabla 3.3 Análisis de varianza de las fórmulas y control para DBO.

Fuente	Suma de cuad.	de GI	Cuadrado medio	Cociente-F	P- valor
Entre grupos	3633,02	3	1211,01	274,45	0,0000
Intra grupos	35,3	8	4,4125		
Total (Corr.)	3668,32	11			

La tabla 3.3 de ANOVA descompone la varianza de los datos de DBO en dos componentes: uno entre grupos, es decir una comparación entre las fórmulas y un segundo dentro de cada fórmula entre sus repeticiones. El F-ratio, que en este caso es igual a 274,449, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es

inferior a 0,05; indica una diferencia estadísticamente significativa entre las medias del control y cada una de las fórmulas con un nivel de confianza del 95,0%

3.5.2 Demanda química de oxígeno (DQO)

En el caso de DQO los valores de F1 aumentaron un 38% más del valor permitido, F2 disminuyó en un 45% y F3 aumentó en un 116%

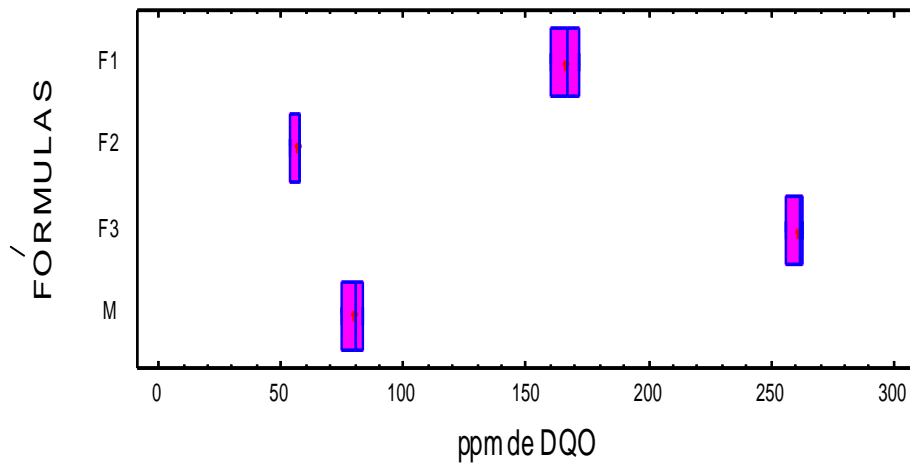


Figura 3.16 Gráfico de cajas y bigotes de DBO para cada fórmula y control.

Tabla 3.4 Análisis de varianza de las fórmulas y control para DQO.

Fuente	Suma de cuad.	de GI	Cuadrado medio	Cociente-F	P- valor
Entre grupos	77665,5	3	25888,5	1476,95	0,0000
Intra grupos	140,227	8	17,5283		
Total (Corr.)	77805,7	11			

La tabla 3.4 de ANOVA descompone la varianza de los datos de DQO en dos componentes: uno entre grupos, es decir una comparación entre fórmulas y un segundo dentro de cada fórmula entre sus repeticiones. El F-ratio, que en este caso es igual a 1476,95 es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es

inferior a 0,05, indica una diferencia estadísticamente significativa entre las medias del control y cada una de las fórmulas con un nivel de confianza del 95,0%

Tabla 3.5 Contraste Múltiple de Rango Método de Tukey con alta diferencia significativa, 95%(HSD= high significant difference) para los análisis de DQO de cada fórmula y control. (*) Demuestra una diferencia significativa.

Fórmulas	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
F2	3	56,0667	X
M	3	79,3667	X
F1	3	166,233	X
F3	3	260,333	X
Contraste	Diferencias	+/- Límites	
F1-F2	*110,167	10,9431	
F1-F3	*-94,1	10,9431	
F1-M	*86,8667	10,9431	
F2-F3	*-204,267	10,9431	
F2-M	*-23,3	10,9431	
F3-M	*180,967	10,9431	

En la tabla 3.5 se pudo determinar que las medias son significativamente diferentes unas de otras. La mitad inferior revela una diferencia estimada entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 6 pares, indica que éstos muestran diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza al 95,0%. El método utilizado para discernir entre las medias es el procedimiento de la diferencia más francamente significativa de Tukey (HSD). Con este método, hay un 5,0% de riesgo de considerar uno o más pares como significativamente diferentes cuando su diferencia real es igual a 0.

3.5.3 Oxígeno disuelto (OD)

Los valores en el caso de OD llegaron al mínimo permitido que es de 5 ppm.

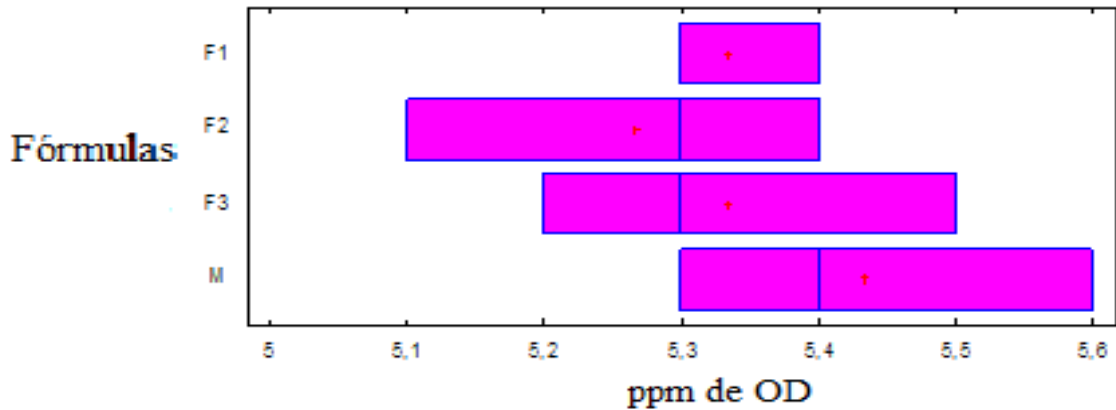


Figura 3.17 Gráfico de cajas y bigotes de OD para cada fórmula y control.

Tabla 3.6 Análisis de varianza de las fórmulas y control para OD.

Fuente	Suma de cuad.	de GI	Cuadrado medio	Cociente-F	P- valor
Entre grupos	0,0425	3	0,0141667	0,77	0,5410
Intra grupos	0,146667	8	0,018333		
Total (Corr.)	0,189167	11			

La tabla 3.6 de ANOVA descompone la varianza de los datos de OD en dos componentes: uno entre grupos, es decir una comparación entre fórmulas y un segundo dentro de cada fórmula entre sus repeticiones. El F-ratio, que en este caso es igual a 0,7777 es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior a 0,05, no hay una diferencia estadísticamente significativa entre los datos de OD proporcionado a cada fórmula y control con un nivel de confianza del 95,0%. Ya que los motores de inyección de oxígeno son estándares y vienen con un nivel promedio de suministro de oxígeno de 5mg/l.

3.5.4 Fenoles

Los fenoles se redujeron de 1,55ppm a 0,09 en el caso de F1 (-94%), F2 a 0,077 ppm (-95%) y finalmente F3 a 0,023 ppm (-98%) versus el control.

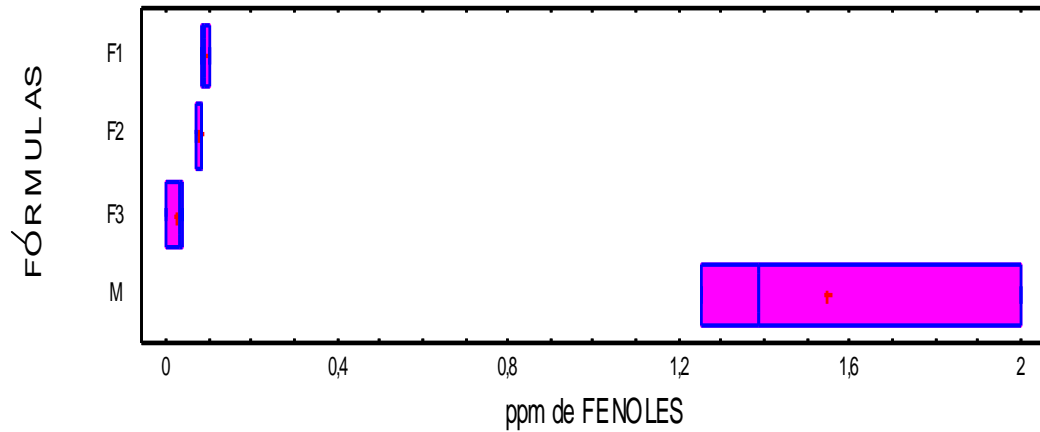


Figura 3.18 Gráfico de cajas y bigotes de Fenoles para cada fórmula y control.

Tabla 3.7 Análisis de varianza de las fórmulas y control para FENOLES.

Fuente	Suma de cuad.	de GI	Cuadrado medio	Cociente-F	P- valor
Entre grupos	4,95809	3	1,6527	41,42	0,0000
Intra grupos	0,3192	8	0,0399		
Total (Corr.)	5,27729	11			

La tabla 3.7 de ANOVA descompone la varianza de los datos de FENOLES en dos componentes: uno entre grupos, es decir una comparación entre fórmulas y un segundo dentro de cada fórmula entre sus repeticiones. El F-ratio, que en este caso es igual a 41,421 es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es inferior a 0,05, indica una diferencia estadísticamente significativa entre las medias del control y de cada una de las fórmulas con un nivel de confianza del 95,0%

Tabla 3.8 Contraste Múltiple de Rango Método de Tukey con alta diferencia significativa, 95%(HSD= high significant difference) para los análisis de FENOLES de cada fórmula y control. (*) Demuestra una diferencia significativa.

Fórmulas	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
F3	3	0,023333	X
F2	3	0,076667	X
F1	3	0,09	X
M	3	1,5467	X
Contraste	Diferencias	+/- Límites	
F1-F2	*0,01333	0,522102	
F1-F3	*0,06667	0,522102	
F1-M	*-1,45667	0,522102	
F2-F3	0,05333	0,522102	
F2-M	*-1,47	0,522102	
F3-M	*-1,52333	0,522102	

En la tabla 3.8 podemos determinar que las medias son significativamente diferentes unas de otras. La mitad inferior revela la diferencia estimada entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 5 pares, muestran diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza al 95,0%. En la parte superior de la página, se identifican 2 grupos homogéneos según la alineación del signo X en la columna. El método utilizado para discernir entre las medias es el procedimiento de la diferencia más significativa de Tukey (HSD).

3.5.5 TPH's

En comparación del control vs las formulaciones los TPH's se redujeron a 35,20 ppm (-69%) en el caso de F1; 15,67 ppm para F2 (-86%) y 13,40 ppm en F3(-88%).

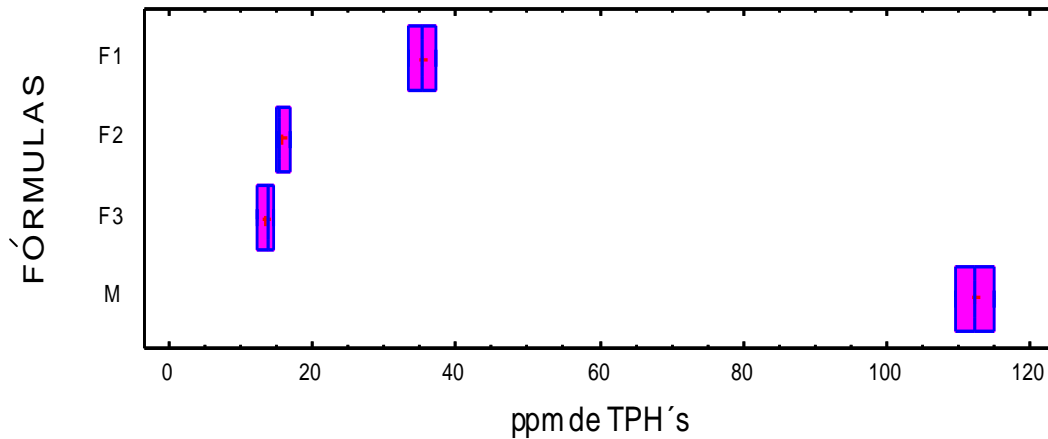


Figura 3.19 Gráfico de cajas y bigotes de TPH's para cada fórmula y control

Tabla 3.9 Análisis de varianza de las fórmulas y control para TPH's.

Fuente	Suma de cuad.	de GI	Cuadrado medio	Cociente-F	P- valor
Entre grupos	19449,6	3	6483,21	1845,24	0,0000
Intra grupos	28,1077	8	3,51347		
Total (Corr.)	19477,7	11			

La tabla 3.9 de ANOVA descompone la varianza de los datos de TPH's en dos componentes: uno entre grupos, es decir una comparación entre fórmulas y un segundo componente dentro de cada fórmula entre las repeticiones. El F-ratio, que en este caso es igual a 1845,24 es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es inferior a 0,05; indica una diferencia estadísticamente

significativa entre las medias del control y cada una de las fórmulas con un nivel de confianza del 95,0%

Tabla 3.10 Contraste Múltiple de Rango Método de Tukey con alta diferencia significativa, 95%(HSD= high significant difference) para los análisis de TPH's de cada fórmula y control. (*) Demuestra una diferencia significativa.

Fórmulas	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
F3	3	13,4	X
F2	3	15,667	X
F1	3	35,2	X
M	3	112,313	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
F1-F2	*19,5333	4,89933
F1-F3	*21,8	4,89933
F1-M	*-77,1133	4,89933
F2-F3	2,26667	4,89933
F2-M	*-96,6467	4,89933
F3-M	*-98,9133	4,89933

En la tabla 3.10 se puede determinar que las medias son significativamente diferentes unas de otras. La mitad inferior revela la diferencia estimada entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 5 pares, muestran diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza al 95,0%. En la parte superior de la página, se identifican 4 grupos homogéneos según la alineación del signo X en la columna. El método utilizado para discernir entre las medias es el procedimiento de la diferencia más francamente significativa de Tukey (HSD).

3.5.6 pH

Los valores de pH se encuentran dentro del rango que es de 5 a 9, teniendo como promedio 7,4.

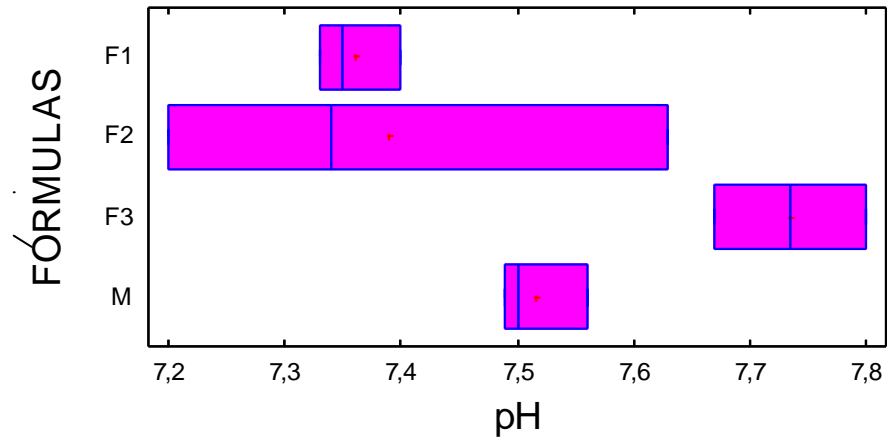


Figura 3.20 gráfico de cajas y bigotes de pH para cada fórmula y control.

Tabla 3.11 Análisis de varianza de las fórmulas y control para pH.

Fuente	Suma de cuad.	de GI	Cuadrado medio	Cociente-F	P- valor
Entre grupos	0,201574	3	0,0671914	4,27	0,0519
Intra grupos	0,110117	8	0,015731		
Total (Corr.)	0,311691	11			

La tabla 3.11 de ANOVA descompone la varianza de los datos de pH en dos componentes: uno entre grupos, es decir una comparación entre fórmulas y un segundo componente dentro de cada fórmula entre repeticiones. El F-ratio, que en este caso es igual a 4,27129 es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior a 0,05, no hay una diferencia estadísticamente significativa entre las medias del control y a cada fórmula con un nivel de confianza del 95,0%.

3.5.7 Conductividad eléctrica (CE)

La conductividad para el control, F1 y F2 se encuentran bajo el límite establecido de 2500uS/cm, solamente F3 está sobre el nivel máximo llegando a un promedio de 16000 uS/cm excediendo en un 600%.

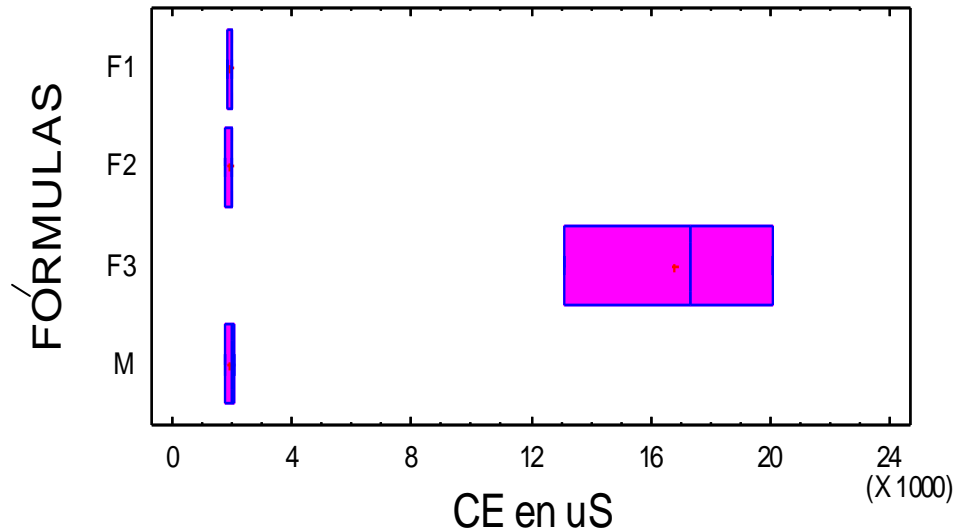


Figura 3.21 gráfico de cajas y bigotes de CE para cada fórmula y control.

Tabla 3.12 Análisis de varianza de las fórmulas y control para CE.

Fuente	Suma de cuad.	de GI	Cuadrado medio	Cociente-F	P- valor
Entre grupos	4,99314E8	3	1,66438E8	53,40	0,0000
Intra grupos	2,49364E7	8	3,11705E6		
Total (Corr.)	5,24251E8	11			

La tabla 3.12 de ANOVA descompone la varianza de los datos de CE en dos componentes: uno entre grupos, es decir una comparación entre fórmulas y un segundo componente dentro de cada fórmula entre repeticiones. El F-ratio, que en este caso es igual a 53,3961 es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es inferior a 0,05; indica una diferencia estadísticamente significativa entre las

medias del control y cada una de las fórmulas con un nivel de confianza del 95,0%

Tabla 3.13 Contraste Múltiple de Rango Método de Tukey con alta diferencia significativa, 95%(HSD= high significant difference) para los análisis de FENOLES de cada fórmula y control. (*) Demuestra una diferencia significativa.

Fórmulas	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
M	3	1928,67	X
F2	3	1933,67	X
F1	3	1947,0	X
F3	3	16833,3	X
Contraste	Diferencias	+/- Límites	
F1-F2	13,333	4614,67	
F1-F3	*-14886,3	4614,67	
F1-M	18,333	4614,67	
F2-F3	*-14899,7	4614,67	
F2-M	5,0	4614,67	
F3-M	*14904,7	4614,67	

En la tabla 3.13 se puede determinar que las medias son significativamente diferentes unas de otras. La mitad inferior muestra la diferencia estimada entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares, muestran diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza al 95,0%. En la parte superior de la página, se identifican 3 grupos homogéneos según la alineación del signo X en la columna. El método actualmente utilizado para discernir entre las medias es el procedimiento de la diferencia más francamente significativa de Tukey (HSD).

3.5.8 Nitrógeno (N)

Los valores de ppm de nitrógeno en cada fórmula están muy por debajo de los niveles máximos, 80% menos de lo recomendado.

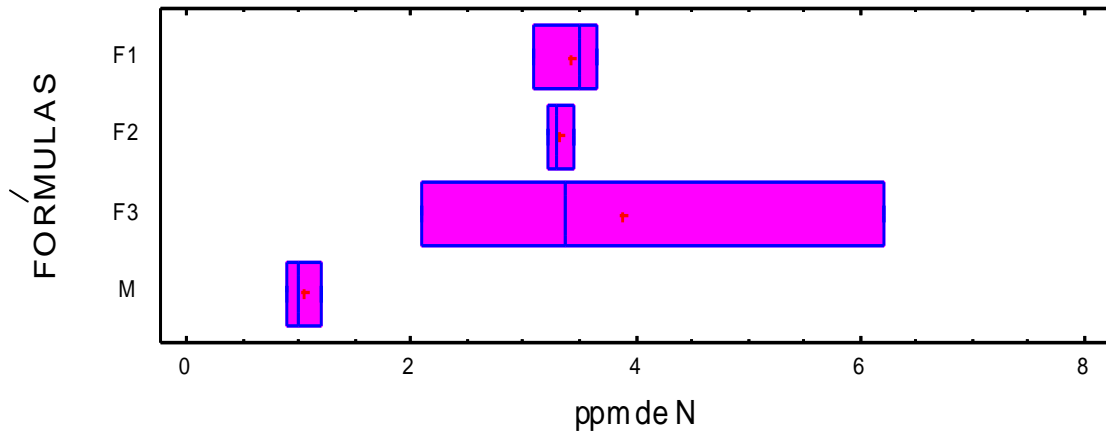


Figura 3.22 Gráfico de cajas y bigotes de N para cada fórmula y control.

Tabla 3.14 Análisis de varianza de las fórmulas y control para N.

Fuente	Suma de cuad.	de GI	Cuadrado medio	Cociente-F	P-valor
Entre grupos	14,7291	3	4,9097	4,34	0,0429
Intra grupos	9,0418	8	1,13022		
Total (Corr.)	23,7709	11			

La tabla 3.14 de ANOVA descompone la varianza de los datos de N en dos componentes: uno entre grupos, es decir una comparación entre fórmulas y un segundo componente dentro de cada fórmula entre repeticiones. El F-ratio, que en este caso es igual a 4,344 es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es inferior a 0,05, indica una diferencia estadísticamente significativa entre las

medias del control y cada una de las fórmulas con un nivel de confianza del 95,0%

Tabla 3.15 Contraste Múltiple de Rango Método de Tukey con alta diferencia significativa, 95%(HSD= high significant difference) para los análisis de nitrógeno de cada fórmula y control. (*) Demuestra una diferencia significativa.

Fórmulas	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
M	3	1,0333	X
F2	3	3,32333	XX
F1	3	3,41667	XX
F3	3	3,89	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
F1-F2	0,09333	2,77876
F1-F3	-0,47333	2,77876
F1-M	2,38333	2,77876
F2-F3	-0,5667	2,77876
F2-M	2,29	2,77876
F3-M	*2,85667	2,77876

En la tabla 3.15 podemos determinar que las medias son significativamente diferentes unas de otras. La mitad inferior revela la diferencia estimada entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de un par, muestra diferencia estadísticamente significativa a un nivel de confianza al 95,0%. En la parte superior de la página, se identifican 4 grupos homogéneos según la alineación del signo X en la columna. El método utilizado para discernir entre las medias es el procedimiento de la diferencia más francamente significativa de Tukey (HSD).

3.5.9 Sólidos Totales (ST)

De igual manera los sólidos totales están por debajo de la norma.

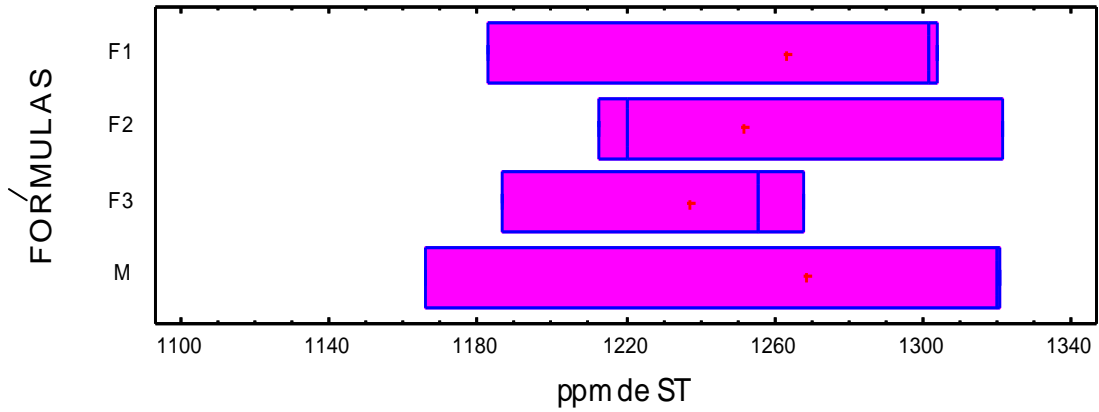


Figura 3.23 Gráfico de cajas y bigotes de ST para cada fórmula y control.

Tabla 3.16 Análisis de varianza de las fórmulas y control para ST.

Fuente	Suma de cuad.	de GI	Cuadrado medio	Cociente-F	P- valor
Entre grupos	1785,0	3	595,0	0,13	0,9399
Intra grupos	36782,7	8	4597,83		
Total (Corr.)	38567,7	11			

La tabla 3.16 de ANOVA descompone la varianza de los datos de ST en dos componentes: uno entre grupos, es decir una comparación entre fórmulas y un segundo dentro de cada fórmula entre repeticiones. El F-ratio, que en este caso es igual a 0,129409 es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior a 0,05, no hay una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de cada una de las fórmulas y el control con un nivel de confianza del 95,0%.

3.5.10 Conteo bacteriano a 14 días de iniciado el tratamiento

Los UFC/ml de las fórmulas 1, 2 y 3 sobrepasan los 6×10^6 , encontrándose aptos aun a los 14 días de iniciado el tratamiento, esto no es evidente en el control ya que no se acerca a un promedio de 10^6

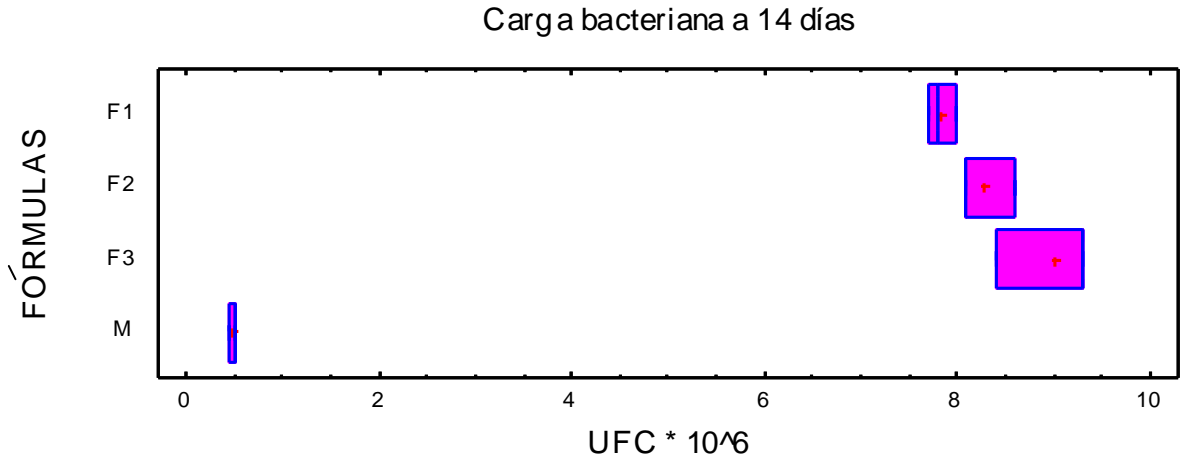


Figura 3.24 Gráfico de cajas y bigotes para conteo bacteriano a 14 días de iniciado el tratamiento con las fórmulas y el control.

Tabla 3.17 Análisis de varianza de las fórmulas y control para Cepas bacterianas.

Fuente	Suma de cuad.	de GI	Cuadrado medio	Cociente-F	P- valor
Entre grupos	142,036	3	47,3452	500,26	0,0000
Intra grupos	0,757133	8	0,0946417		
Total (Corr.)	142,793	11			

La tabla 3.17 de ANOVA descompone la varianza de los datos de cepas bacterianas en dos componentes: uno entre grupos, es decir una comparación entre fórmulas y un segundo componente dentro de cada fórmula entre repeticiones. El F-ratio, que en este caso es igual a 500,257 es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior a 0,05, no hay una diferencia estadísticamente

significativa entre los datos de las cepas bacterianas proporcionados por cada fórmula con un nivel de confianza del 95,0%.

Tabla 3.18 Contraste Múltiple de Rango Método de Tukey con alta diferencia significativa, 95%(HSD= high significant difference) para los análisis de UFC/ml después de 14 días de usado el tratamiento de cada fórmula y control. (*) Demuestra una diferencia significativa.

Fórmulas	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
M	3	0,48	X
F2	3	7,83333	XX
F1	3	8,26667	XX
F3	3	9,0	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
F1-F2	*0,43333	0,8041
F1-F3	*1,16667	0,8041
F1-M	*7,3533	0,8041
F2-F3	-0,73333	0,8041
F2-M	*7,78667	0,8041
F3-M	*8,52	0,8041

En la tabla 3.18 podemos determinar que las medias son significativamente diferentes unas de otras. La mitad inferior revela la diferencia estimada entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 5 pares, muestra diferencia estadísticamente significativa a un nivel de confianza al 95,0%. En la parte superior de la página, se identifican 3 grupos homogéneos según la alineación del signo X en la columna. El método utilizado para discernir entre las medias es el procedimiento de la diferencia más francamente significativa de Tukey (HSD).

CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN

4.1 Análisis físico químico inicial del agua de la piscina de lodos activados (PLA)

En la fase inicial del proyecto se realizó los análisis físico-químicos los cuales confirmaron que parámetros como Demanda Biológica de Oxígeno (DBO), Demanda Química de Oxígeno (DQO), Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH), Fenoles y Oxígeno Disuelto (OD), sobrepasaron los valores permitidos por la norma Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador (RAOH).

Sandra Bolaños (2008), explica que la alta concentración en la DQO conjuntamente con valores bajos en la conductividad eléctrica representa una escasa oxidación de los compuestos orgánicos. Lo que se demostró en este estudio con los datos obtenidos de TPH's de 123 ppm y fenoles de 1,3 ppm (Figuras 3.5 y 3.7 respectivamente) un exceso del 500% y 800% respecto a las referencias proporcionadas por la norma RAOH (1998), la cual indica, los valores máximos permisibles para TPH's son de 20 ppm y 0,15 ppm para fenoles; los mismos son expulsados al efluente del río Teaone donde se localizan diferentes comunidades a las orillas del mismo; el contacto con estos compuestos conlleva a la presencia de daños en la piel, el sistema inmune y son posibles causantes de cáncer como lo demuestra la Agencia para sustancias tóxicas y el registro de enfermedades de EE.UU. (2000).

Durante la ejecución del proyecto se encontró que la DQO excedía en un 200% y que la DBO tuvo un promedio de 12 ppm, estudios de Lorena Ortiz (2002), demuestran como una concentración baja de DBO y una alta de DQO son indicativos de un crecimiento bacteriano pobre; esto fue corroborado con el recuento bacteriano que se realizó a la piscina de la Refinería Estatal Esmeraldas (REE) donde se halló una media máxima de $8,4 \times 10^4$ UFC/ml y un mínimo de $4,2 \times 10^4$ UFC/ml (figura 3.9). Para un crecimiento bacteriano y una oxidación de compuestos orgánicos eficaz Sebastián Cisneros (2009)

menciona que se exige un mínimo de 5 ppm de oxígeno disuelto, en el presente trabajo se logró incrementar la concentración de oxígeno de 3,4 ppm hasta 5 ppm mediante dispersores y motores de aireación lo cual produjo una oxigenación homogénea facilitando la biodisponibilidad de los nutrientes en el medio acuoso para las bacterias; contraponiendo con lo antes mencionado la DQO demostró la existencia de compuestos orgánicos, como TPH y fenoles, que podían ser degradados por oxigenación o por medios biológicos aumentando la flora bacteriana.

4.2 Análisis cuantitativo de la microfauna de la piscina de lodos activados

En el conteo inicial se reveló un crecimiento bacteriano máximo de $8,4 \times 10^4$ UFC/ml esto comparado con los enunciados de Israel S. y Robert F. (2000) indican que los valores promedio para una adecuada degradación llegan a una concentración de 10^6 UFC/ml, con lo cual se demostró que la población bacteriana fue insuficiente para este tipo de tratamiento, a pesar de tener a su disposición los nutrientes básicos. La hipótesis subsecuente fue que gran porcentaje de las UFC/ml encontradas eran de bacterias filamentosas, debido a su adaptabilidad y las principales causantes de problemas en este tipo de reactores, como la reducción de bacterias degradadoras producido por el antagonismo entre ellas, tal y como lo sugiere Luis Cumbal (2008). Debido a ello se realizó una identificación bacteriana a cada una de las cepas y pruebas de antagonismo entre ellas (Tabla 2.1). Cynthia Díaz (2008) señala en su tesis que la prueba de antagonismo consiste en confrontar dos tipos de bacterias y medir su halo de inhibición si este resultaba mayor a 5 mm la prueba es positiva. Los resultados en la investigación fueron negativos, ya que encontraron con un máximo de 2mm.

4.3 Identificación de bacterias

En esta etapa se identificó que el crecimiento de bacterias filamentosas fue nulo y la hipótesis antes mencionada no era relevante. Es verdad que los bacilos son considerados filamentosos por su forma, como lo explica Tatiana

Olivares (2007), pero estos no se encierran en un grupo limitado y se debe distinguir entre las que forman flóculos difusos y los de malla; en este caso se encontraron bacilos formadores de mallas que son los responsables de la degradación de compuestos. Dado que este no fue el problema se investigó la cantidad y calidad de nutriente, oxígeno y su biodisponibilidad, además de la identificación de género y especie de las bacterias encontradas y si estas podían actuar como bacterias biodegradadoras.

Algunos microorganismos, según Sharabí y Bartha (1993), pueden utilizar hidrocarburos del petróleo como alimento y fuente de energía; durante la biodegradación las bacterias oxidan el petróleo a dióxido de carbono, agua, energía y el 50% del carbono de petróleo es usado para biomasa bacteriana. La bioestimulación de la piscina de lodos activos mediante la inserción de oxígeno y nutrientes permitió al consorcio bacteriano encontrado: *E. coli*, *Aeromona hydrophila*, *B. subtilis*, *Pseudomona luteola* y *Chromobacterium violaceum*; obtener una adaptación en el medio y una degradación exitosa en el caso de las fórmulas 2 y 3. Torres (2003) en su estudio indica que una bacteria es considerada degradadora cuando poseen características como ser microorganismos autóctonos, indicar un crecimiento exponencial, reducir considerablemente la concentración de contaminantes y una simbiosis entre especies; en la presente tesis se observó que la asociación de bacterias conservaron todas estas características adecuadas para ser aptas para la biodegradación de compuestos hidrocarburíferos en la piscina de lodos activos.

Por lo que se experimentó colocando 9ml aproximadamente de cepas puras cultivadas en caldo nutritivo (DIFCO) a 5 litros del agua de la piscina para luego medir los cambios de concentración en TPH's; las cepas fueron colocadas en etapa de crecimiento masivo, tomando lo mencionado por Jennifer Guzmán (2005) que en un lapso de 24 horas se puede lograr un crecimiento masivo de $4,7 \times 10^{21}$ UFC/ml aproximadamente. Después de 7 días se pudo observar una disminución del 31% de TPH's en este experimento versus el control que disminuyó el 23%, lo que demostró que la disponibilidad de nutrientes era la causante del problema.

Van Hamme (2000) demostró que algunos microorganismos, como los aislados en el proyecto *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas*, contienen actividades de peroxidasas y oxigenasas, las cuales oxidan algunas fracciones de petróleo, cambiando la propiedad de los compuestos haciéndolos más susceptibles a una degradación secundaria en dióxido de carbono y agua.

Rich, J. y Heichen (2000) mencionan que las *Pseudomonas* son las mejores productoras de biosurfactantes tales como ramnolípidos y viscosín los cuales ayudan a la remoción de aceites. Otras bacterias como *B. subtilis*, produce surfactín un biosurfactante extracelular que solubiliza y facilita la penetración de hidrocarburos a través de la pared celular hidrofílica, conjuntamente con violaceína que es un antioxidante, formaron un conglomerado bacteriano que evitó la propia oxidación y una mejor degradación de compuestos hidrocarburíferos.

4.4 Análisis de fórmulas para bioestimulación de la piscina de lodos activados

Se comprobó en el estudio que las mejores fórmulas fueron la 2 y 3, como indican las figuras de barras y bigotes; en los que se registraron valores mínimos para cada uno de los parámetros afectados. F2 adquirió una concentración de DBO, DQO, TPH's y fenoles muy reducidos (figuras 3.15, 3.16, 3.18 y 3.19) y estadísticamente tuvo igual grado de degradación que F3. La fórmula 3 fue apropiada para una degradación de contaminantes y un incremento en la población bacteriana (figuras 3.15, 3.16, 3.18, 3.19 y 3.24) pero el incremento en conductividad y DQO (figuras 3.21 y 3.16) como los costos que esta demandó la hicieron no idónea para su uso.

En el caso de F3 la demanda biológica de oxígeno se tuvo valores muy agudos debido a una alta concentración bacteriana y de DQO, ya que en su conformación poseía un exceso de iones; el análisis de varianza, mostrado en la tabla 3.3, provee una comparación entre F2 y F3 la cual indicó que estos son significativamente diferente entre sí con un 95% de confiabilidad. En la tabla

3.4 se pudo identificar que todas las relaciones entre fórmulas son significativamente diferentes, siendo la 2 de mejor uso.

El oxígeno disuelto obtuvo valores similares, llegando a un promedio de 5ppm, en todos los tratamientos probados y concordaron con el análisis de varianza que indica que la relación entre fórmulas fue igual estadísticamente con un 95% de confiabilidad, indicando que no existe diferencia que refleje que un tratamiento obtuvo mejor oxigenación que otro. De igual manera los valores de pH, nitrógeno y sólidos totales fueron iguales y se encontraron dentro del rango permitido por la normativa.

Los TPH's obtuvieron valores diferentes entre fórmulas siendo las de mayor degradación la 2 y 3, figura 3.19. A estos resultados se les practicó un análisis de varianza y de contraste múltiple de tukey que demuestra la homogeneidad entre F2 y F3. Tabla 3.9; es decir que no existe diferencia estadística que indique que la F3 puede descontaminar en mayor o menor cantidad que la F2, mostrando que los dos tratamientos tienen el mismo porcentaje de descontaminación.

En la prueba de conductividad eléctrica F3 sobrepasó en un 300% los máximos permisibles por la norma RAOH (tabla 3.11); mientras que el control, F1 y F2 estuvieron dentro del rango, permitiendo una descarga directa al efluente sin necesidad de utilizar un tratamiento posterior para su reducción.

En caso del recuento bacteriano, las medias de crecimiento de estas dos fórmulas fueron las que mayor cantidad de UFC/ml obtuvieron, con lo que se logró una descontaminación más rápida que el control. De estos resultados se realizó un análisis de tukey, el cual reveló un crecimiento similar entre F2 y F3 estadísticamente, lo que indicó que el crecimiento bacteriano entre estas no es diferente una de la otra y la utilización de cualquiera de las dos fórmulas obtendrá igual resultado.

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES

El problema principal para una mala degradación de contaminantes fue debido a una desfavorable distribución de oxígeno y de nutrientes presentes en la piscina de lodos activados, la misma que se vio reflejada en el estudio de bioestimulación posterior.

Mediante una bioestimulación adecuada, se obtuvieron resultados satisfactorios para cada parámetro afectado, dando como resultado una disminución de los tiempos de retención hidráulica en un 50%, llegando a una degradación exitosa a los 14 días de iniciado el tratamiento.

Las fórmulas 2 y 3 obtuvieron resultados positivos llegando a tener valores más bajos que los establecidos por la norma RAOH para una degradación de contaminantes óptima.

Se identificaron 5 cepas diferentes: *E.coli*, *B. subtilis*, *Aeromona hydrophila*, *Pseudomona luteola*, y *Chromobacterium violaceum*, que formaron un conglomerado bacteriano degradador-simbionte capaz de degradar los compuestos hidrocarbúricos y demás contaminantes presentes en la piscina de lodos activados.

En el caso de las variables de pH y nitrógeno se encontraron dentro del rango permitido por la norma RAOH, en todas las fórmulas probadas.

La fórmula 2 que contiene: 2g sulfato de magnesio, 2g fosfato di potásico y 4g de glucosa como fuente de carbono adicional por litro de agua de la PLA, alcanzó los mejores niveles de degradación versus F1, F3 y el control.

F2 obtuvo valores idénticos a F3 estadísticamente, esta al ser de bajo costo fue apta y puede ser utilizada en la siguiente fase a escala industrial tomando en cuenta variables que puedan influenciar en sus resultados.

CAPÍTULO 6. RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio con las fórmulas 2 y 3 a escala real para poder identificar de manera más precisa la bioestimulación de la PLA y como estas afectan a la degradación de contaminante y reducen los tiempos de retención hidráulicos.
- Efectuar el mantenimiento adecuado a las piezas de oxigenación como son bombas, aspersores y tuberías, ya que un mal mantenimiento de estas piezas producen una pérdida de su potencial de oxigenación para la piscina.
- Capacitar al personal operativo que maneja esta planta, tanto a nivel de dosificación de los diferentes nutrientes y el manejo de los mismos; así como el mantenimiento de la piscina en su totalidad.
- Si se acepta la fórmula 3, se debe construir un intercambiador iónico por el cual pasara el agua tratada, así se podrá reducir significativamente la carga de conductividad eléctrica.
- Controlar el continuo funcionamiento de la piscina de lodos, ya que favorece a la estabilización del sistema y a la remoción del contaminante en el efluente.
- Ejecutar un control mensual de las condiciones biológicas como UFC/ml al inicio, en puntos intermedios y al final de la piscina; la adición de nutrientes en el afluente de la piscina cada 14 días, niveles de oxigenación, limpieza de la piscina semestralmente y formación de bacterias filamentosas ya que estas son las causantes de producir disminución en el crecimiento de bacterias degradadoras y una mala floculación.

CAPITULO 7: BIBLIOGRAFÍA.

Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR). 2000. Reseña toxicológica de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP).

Ahumada, M. P. y Gómez, R. K. (2009). Evaluación y selección de bacterias degradadoras de fenol por respirometría. Bogotá DC.

Alexander, M. (1991). Introduction to Soil Microbiology. Wiley, New York.

Alexander, M. (1994). Biodegradation and Bioremediation. Academic Press, San Diego. 302

American Public Health Association (1995). Standard methods for the examination of water and wastewater, 19th ed. Washington, DC.

Araujo, I., Montilla M., Cárdenas C., Herrera L., Angulo N., Monillo G., 2006, Lodos estabilizados y cepas bacterianas en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, Interciencia, abril 31, numero 004, Caracas, Venezuela. 268-275.

Atlas R, Bartha R. Ecología microbiana y microbiología ambiental. Ed. Addison Wesley. Madrid. 2002. 561p.

Aycachi Inga, R., 2008, Biodegradación de petróleo diesel, Facultad de ciencias biológicas universidad nacional Pedro Ruiz gallos, Lambayeque-Perú.

Banat, I. M. 1995. Biosurfactant production and possible uses in microbial enhanced oil recovery and oil pollution remediation. Biores. Technol. 51:1-12.

Bertero MG, Gonzalez B, Tarricone C, Ceciliani F, Galizzi A. Overproduction and characterization of the *Bacillus subtilis* anti-sigma factor FlgM. J Biol Chem 1999; 23:12103-7.

Benavides J, Roldan F, Ocampo A, Londoño M, Pardo A, Perdomo C. Efecto de la adición de nutrientes (nitrógeno y fósforo) e identificación de microorganismos degradadores de hidrocarburos de suelos contaminados con petróleo. Universidad de la Salle. Facultad de Ingeniería ambiental. Ambiental. Bogotá, 2004.

Billingsley, K. A., S. M. Backus, and O. P. Ward. 1999. Effect of surfactant solubilization on biodegradation of polychlorinated biphenyl congeners by *Pseudomonas* LB400. Appl. Microbiol. Biotechnol. 52:255-260

Bolaños S., Casas J., Aguirre N., (2008), Análisis comparativo de la remoción de un sustrato orgánico por las macrofitas pistia estratiotes y Egeria densa en un sistema batch. Gestión y Ambiente, Vol. 11, 2 de agosto de 2008, pp. 39-49

Bouwer, E. J. y Zehnder, A. J. (1993). Bioremediation of organic compounds - putting microbial metabolism to work. Trends Biotechnol. 11: 360-367.

Chayabutra C, Wu J and Ju LK. (2001) Rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* under denitrification: effects of limiting nutrients and carbon substrates. Biotechnol Bioeng 72:25–33

Christofi, N. & Ivshina, I. B. (2002) Microbial surfactants and their use in field studies of soil remediation. Journal of Applied Microbiology 93: 915–929

Cisneros S., Gómez L., Velásquez L., (2000). El metabolismo microbiano, energético y de crecimiento. Public Domain. Pp17-146

Cunningham, C. J. y Philp, J.C., 2000. Comparison of bioaugmentation and biostimulation *ex situ* treatment of diesel contaminated soil. *Land Contamination & Reclamation*, 8,261-269.

DEGREMONT. (1991) Water treatment handbook. Sixth edition

Díaz C. P., (2007). Cinética bacteriana de las cepas degradadoras de hidrocarburos y su consorcio en diferentes condiciones de pH y temperature, a

nivel de laboratorio y biofermentación para la producción piloto. PEPDA, Petroproducción. Campo Sacha.

Drysdale G, Kasan H, Bux F. Denitrification bacteria during activated sludge treatment. Water SA. 1999; 25: 357-362.

Eweis, J.B.; Ergas, S.J.; Chang, D. y Schroeder, E. (1998). Bioremediation Principles. McGraw-Hill International Editions. 296 pp.

Eweis, J et all. (1999). Principios de biorrecuperación. Ed. Mc Graw Hill.

Fatima B, Flavio A, Oliveira C, Benedict O, William T. Bioremediation of soil contaminated by diesel oil. Brazilian Journal Microbiology. 2003; 34

Fernández, MC, Giampaolo, BN, Ibanez, SB, Guagliardo, MV, Esnaola, MM, Conca, L., Valdivia, P., Stagnaro, SM, Chiale, C., y Frade, H. (2000) Aeromonas hydrophila and its relation with drinking water indicators of microbiological quality in Argentina. Instituto Nacional de Medicamentos, Buenos Aires, Argentina. 108(1):35-40.

Foght J.M., Gutnick D.L. y Westlake D.W.S. (1989). Effect of emulsion on biodegradation of crude oil by pure and mixed bacterial cultures. Applied and Environmental Microbiology Vol.5, N°1, 36-42.

Goyenola, G. (2007). Guía para la utilización de oxígeno disuelto. Uruguay: REDMAPSA. 135:22-29

González, B. y Galizzi, A., 2003, Desarrollo de cepa de *Bacillus subtilis* para la obtención de mutantes de FlgM deficientes de su capacidad de interactuar con el factor sigma SigD., Biotecnología aplicada, número 20, pp. 173-175

Hayes, John, (2004) *Aeromonas hydrophila* su relación con los indicadores de agua potable de calidad microbiológica en la Argentina. Genética, 108: 35-40

Holloway, B. W. & A. F. Morgan. 1986. Genome organization in Pseudomonas. Rev. Microbiol. 40: 79-105.

Hutchinson, S.L.; Banks, M. K. y Schwab, A. P. (2001). Phytoremediation of aged petroleum sludge: effect of inorganic fertilizer. J. Environ. Qual. 30: 395-403.

Isken S, Derks A, Wolfs P and de Bont JA (1999) Effect of organic solvents on the yield of solvent tolerant *Pseudomonas putida* S12. Appl. Environ. Microbiol. 65 (6): 2631-35.

Jiménez, C., Fernández, N., De La Horra, J. M., Rodríguez, E., Isac, L., Salas, D., Gómez, E. Sistema rápido de estimación de los rendimientos en depuración de una E.D.A.R. en función de las características macroscópicas y microscópicas del fango activado. Tecnología del Agua, 216, 40-44 (2001)

King, R. B., Long G. y Sheldon J. 1992. Practical environmental bioremediation. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida

Kreiner, I. Cortinas, C. y Mosler, C. (2002). Tecnologías para el tratamiento de residuos peligrosos. Ed.: Gestión de Residuos Peligrosos. Universidad Nacional Autónoma de México.

Lapeña, R., (1999). Tratamiento de aguas residuales industriales: aguas de proceso y residuales. Editores Boixareu.

López de Mesa J. B., Quintero G., Guevara Vizcaíno A., Cáceres D.C., Gutiérrez S., García J. M., 2006, Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo, nova-publicación científica, vol. 4, N0 5, pp. 82-90

Maroto A, Roger J. Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos. Geocisa. División de protección ambiental de suelos. En: http://www.igme.es/internet/web_aguas/igme/publica/con_recu_acuiferos/0.28.pdf.

Mayo, A. W., & Noike, T., (1999). Efectos de la temperatura y pH en el crecimiento de bacterias heterótrofas en lagunas de estabilización de residuos. Science directy, 30, 447-455

Menéndez C. L., García J. (2007). Proceso para el tratamiento biológico de aguas residuales industriales. Ciudad de la Habana: Felix-Varrera.

Miller, R. M., 1995. Biosurfactant-facilitated remediation of metal contaminated soils. Environ. Health Perspect. 103(Supple): 59-62.

Mora, A; Chávez, C; Cabra, J; Camona, Y. (2005). Desarrollo de un inóculo microbiano empleando lodos activados para la remoción de ácido sulfhídrico (H₂S) mediante biofiltración. Revista colombiana de Biotecnología. Volumen 7. N° 2. Páginas 26-34

Moro, P. (1998)Aparición de organismos filamentosos en fangos activos. Ingeniería Química, 97, 106

Murado, M. A., Mirón, J. y González, M.P. (1996). Tratamiento microbiológico de la contaminación por petróleo en ambientes marinos. Estudios de su posible optimización. Instituto de Investigación Marinas (CSIC). Vigo. Galicia.

Neumann, J; Malia, A; Pérez, H; Ramos, A. (2002). Diseño del sistema de tratamiento biológico para la disposición final del lodo petrolizado en la refinería el Palito. Congreso iberoamericano de ingeniería sanitario y ambiental.

Olivares, T. (2007). Bacterias filamentosas en el tratamiento de aguas residuales. Aleph Zero. 43

Ortiz, O; Enrique de Casas, E; (2005). Nueva planta de lodos activados para el tratamiento de los efluentes líquidos del complejo industrial refinería de Lujan de Cuyo. Repsol

Paillat, T; Moreau, E; Grimaud, P.O. y Touchard, G. (2000). Electrokinetic phenomena in porous media applied to soil decontamination. IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation, 7: 693-704

Pace, N. R. 1997. A molecular view of microbial diversity and the biosphere. Science. 276: 139-144.

Pérez, N; Soval, S; (2003) Biodegradación de hidrocarburos de petróleo y compuestos relacionados. Instituto de Ingeniería. UNAM.

Pozzo Ardizzi, M.G., Manacorda, A.M., Altamirano, M.G., Barbieri, L., Sánchez, A., Cuadros, D., Sánchez, N., Díaz, G., Arias, C. y Fredes, M. (1998). Rehabilitación por biorremediación de Áreas destinadas a la disposición de aguas de producción provenientes de la actividad petrolera. *Ingeniería Sanitaria y Ambiental* (38): 52-61

Raiger Lustman L. y López N., (2009), Los biosurfactantes y la industria petrolera, Laboratorio de biotecnología ambiental y ecología bacteriana. departamento de química biológica, Buenos Aires, Argentina, Química viva, No 3 año 8 pp. 146-161

Rich J, Heichen R, Bottomley P, Cromack J, Myrold D. Community composition and functioning do denitrifying bacteria from adjacent meadow and forest soil. Applied and Environmental Microbiology. 2000; 69(10): 5974. 5982.

Riser-Roberts, E. (1998). Remediation of petroleum contaminated soils. Lewis Publisher. 542 pp.

Rivera M, Ferrera R, Volke V, Rodríguez R, Linares L. Adaptación y Selección de Microorganismos Autóctonos en Medios de Cultivos Enriquecidos con Petróleo Crudo. Terra. 2000; 20: 423-434.

Rojas N, Rodríguez R, Enríquez F, Martínez J, Poggi H. Transformer oil degradation by an indigenous microflora isolated from a contaminated soil. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, Centro de Investigación y de Estudios avanzados.1999: 15-24.

Ronald M. Atlas and Carl E. Cerniglia Bioremediation of Petroleum Pollutants. BioScience, Vol. 45, No. 5 (May, 1995), pp. 332-338

Sánchez, N., Díaz, G., Arias, C. y Fredes, M. 1998. Rehabilitación por biorremediación de Áreas destinadas a la disposición de aguas de producción provenientes de la actividad petrolera. Ingeniería Sanitaria y Ambiental (38): 52-61

Saint HS, Barragán-Huerta BE, Lebrón-Paler A, Pemberton JE, Vázquez R., Burns AM, Marron MT, Seliga C., Gunatilaka A., Maier R. (2008) Efficient purification of the biosurfactant viscosin from *Pseudomonas libanensis* strain M9-3 and its physicochemical and biological properties. Journal Nat. Prod 71:1011-1015

Semple, K.T.; Reid, B. J. y Fermor, T.R. (2001). Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. Environ. Pollution, 112: 269-283.

Sever, L. (2005). Contaminación petrolera y efectos sobre la salud en la cuenca amazónica de Ecuador. Ecuador

Sharabi, N.E.-D. y R. Bartha. 1993. Testing some assumptions about biodegradability in soil as measured by carbon dioxide evolution. Appl. Environ. Microbiol. 59: 1201-1205.

Silva M, Toledo M, Trabulsi L. (2000) Biochemical and cultural characteristics of invasive *E. coli*. J. Clin. Microbiol. 11: 441-444.

Torres, C., R. Adams, D. Sergent y M.I. Ferrer. (1999). Propuesta para la restauración de suelo y lodos contaminados por hidrocarburos, en Altamira, Tamaulipas. Propuesta empresarial. SHB AGRA de México, S.A. de C.V., México.

Torres, R. y Castro, J. J. (2002). Análisis y simulación de procesos de refinación del petróleo. México D.F.: Instituto politécnico nacional.

U.S. Environmental Protection Agency (EPA). (1998). An analysis of composting as an environmental remediation technology. 6ª Ed. Office of Solid Waste and Emergency Response.

Van Deuren, J.; Wang, Z. y Ledbetter, J. (1997). Remediation Technologies Screening Matrix and Reference Guide. 3ª Ed. Technology Innovation Office, EPA. <http://www.epa.gov/tio/remed.htm>.

Weng, Z., Junco R., Díaz, O. E., Álvarez, I., Beltrán, J. R., Rodríguez, M. C., (2005). Concentración bacteriana por método simple a temperatura ambiente: una alternativa viable. Revista cubana higiene y epidemiología, 43, 23-31

Van Hamme J, Ajay S, et al. Recent advances in petroleum Microbiology. Microbiol Mol Biol Rev. 2000; 67(4): 503-549.

Wetland S. A, (2007, Abril). Tratamiento biológico de aguas residuales. Mesoamerica, 28, 18-22

Yin, J. Qing Y., Jia Y, Ye J, Peng H, Qin H, Zhang N and He B. (2008). Characteristics of biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* S6 from oil-containing wastewater, Proc. Biochem.44: 302–308

ANEXOS

Anexo 1

Clasificación de desechos peligrosos en la industria petroquímica según el ministerio del ambiente de Ecuador.



**LISTA 1
CLASIFICACION DE DESECHOS PELIGROSOS POR FUENTE ESPECIFICA**

No.	SECTOR INDUSTRIAL Y	CODIGO	DESCRIPCION DE LOS DESECHOS PELIGROSOS	ES AVI	CLASIFICACION DE LOS DESECHOS PELIGROSOS
12.5 PETROQUIMICA					
PRODUCCION EN GENERAL					
		T, I	FONDOS DE LOS SEPARADORES API Y CARCAMOS		DP-FE-12.5.1
PRODUCCION DE ACETALDEHIDO VIA OXIDACION DE ETILENO					
		C, T, I	FONDOS DE LA ETAPA DE		DP-FE-12.5.2
		C, T, I	CORTES LATERALES DE LA ETAPA DE DESTILACION		DP-FE-12.5.3
PRODUCCION DE ACRILONITRILLO					
		T	POLIMERO Y CATALIZADOR USADO DE LA PURGA DE LA TORRE DE APAGAR (K)		DP-FE-12.5.4
PRODUCCION DE BUTADIENO					
		I	DESECHOS DE LA DESHIDROGENACION DEL N-BUTANO		DP-FE-12.5.5
PRODUCCION DE DERIVADOS CLORADOS					
		C, I, I	CLORADOS INTERMEDIOS PROVENIENTES DE FONDO DE LA COLUMNA REDESTILADORA DE MONOMERO DE VINILO		DP-FE-12.5.6
		C, T, I	CLORADOS PESADOS PROVENIENTES DE LOS FONDOS DE LA COLUMNA DE PURIFICACION DE DICLOROETANO		DP-FE-12.5.7
		T	DESECHOS DE PROCESOS, INCLUYENDO PERO NO LIMITADO A DESECHOS DE DESTILACION, FONDOS PESADOS, BREAS Y DESECHOS DE LA LIMPIEZA DE REACTORES DE LA PRODUCCION DE HIDROCARBUROS ALIFATICOS CLORADOS POR PROCESOS DE CATALIZACION DE RADICALES LIBRES QUE TIENEN CADENAS DE HASTA 5 (CINCO) CARBONES CON DIVERSAS CANTIDADES Y POSICIONES DE SUSTITUCION DE CLORO		DP-FE-12.5.8 Benceno, benz(a)pireno, criseno, plomo, cromo
PRODUCCION DE ESTIRENO					
		T	CATALIZADOR CON OXIDOS DE HIERRO, CROMO Y POTASIO PROVENIENTES DEL REACTOR DE		DP-FE-12.5.9
		T	DERIVADOS HEXACLORADOS PROVENIENTES DE LOS FONDOS DE LA COLUMNA DE RECUPERACION DE PERCLOROETILENO		DP-FE-12.5.10

Anexo 2



Figuras de a) desbastador b) piscina de homogenización c) Piscina de lodos activados

ANEXO 3

pH-Metro de banco Mettler Toledo S20 Seven Easy pH



Especificaciones	
pH	Descripción
Rango de lectura/Resolución	-2.000 a 19.99 o 0 a 14 en soluciones acuosas /0.1/0.01/0.001
Precisión relativa	± 0.002
mV	
Rango - mV/RmV	± 1999.9
ORP	Auto calibración EH en referencia al electrodo normal de hidrógeno
Resolución	0.1
Precisión Relativa	± 0.2 mV o 0.05% , se puede incrementar
Temperatura	
Rango/Resolución	-5 a 105 °C / 0.01 hasta 99.9 °C / 1.0 más 99.9 °C
Precisión relativa	± 0.1
Energía	Adaptador Universal de energía y energía de baterías 4 x pilas AA
Condiciones de operación	

ambiental	
Temperatura ambiente de operación	5 a 45 °C
Humedad relativa	5 al 85 % sin condensar
Rango IP	IP 54 a prueba de salpicaduras y polvo

ANEXO 4

Medidor de mesa Orión 3-Star PLUS de DO No. 1113000



Especificaciones	
DO	
Concentración rango/resolución	0.00 a 90.0 mg/L / 0.0 / 0.00
% de saturación rango/resolución	0.0 a 600% / 0 / 0.0
Precisión relativa de concentración / % de saturación	0.5% ± 1 cifra
Auto calibración o entrada manual	Agua saturada de aire, aire saturado de agua, winkler
Factor de salinidad	0 a 45 ppt
Rango de presión barométrica	450 a 850 mm de Hg
Tipo de sonda	polarográfica
Temperatura	
Rango/Resolución	-5 a 105 °C / 0.01 hasta 99.9 °C / 1.0 más 99.9 °C
Precisión relativa	± 0.1 °C
Compensación de temperatura	Auto
Energía	Adaptador Universal de energía y energía de baterías 4 x pilas AA
Condiciones de operación	

ambiental	
Temperatura ambiente de operación	5 a 45 °C
Humedad relativa	5 al 85 % sin condensar
Rango IP	IP 54 a prueba de salpicaduras y polvo

ANEXO 5

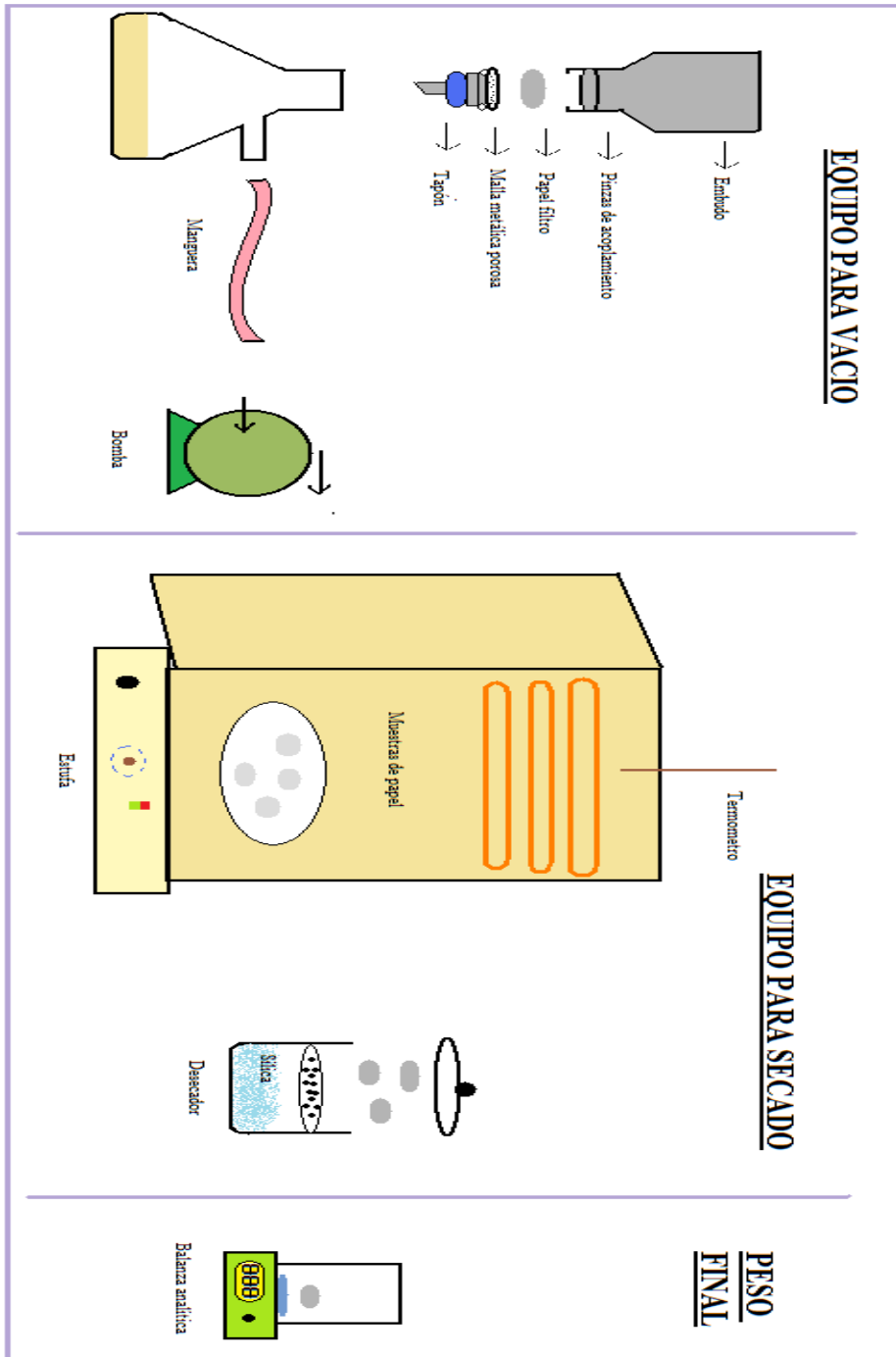
Medidor de mesa Orión 3-Star PLUS de Conductividad 1114000



Especificaciones	
Conductividad	Descripción
Rango	0.000 a 3000 mS/cm con resolución automática dependiendo de constante de celda
Resolución	4 cifras significativas hasta 0.001 μ S/cm , dependiendo de la constante de celda
Precisión relativa	0.5% \pm 1 cifra o 0.01 μ S/cm , se puede incrementar
Constante de celda	0.001 a 199.9
Resistividad	
Rango/Resolución	0.0001 a 100 Megaohm / Auto resolución
Precisión relativa	0.5% \pm 1 cifra
Salinidad	
Rango/Resolución	0.01 a 80 ppt equivalente a NaCl, 0.01 a 42 ppt de salinidad practica /0.01
Precisión relativa	\pm 0.1 \pm 1 cifra
Temperatura	
Rango/Resolución	-5 a 105 $^{\circ}$ C / 0.01 hasta 99.9 $^{\circ}$ C / 1.0 más 99.9 $^{\circ}$ C
Precisión relativa	\pm 0.1 $^{\circ}$ C

Compensación de temperatura	nLF, lineal, 0.0 a 10.0% / °C
Energía	Adaptador Universal de energía y energía de baterías 4 x pilas AA
Condiciones de operación ambiental	
Temperatura ambiente de operación	5 a 45 °C
Humedad relativa	5 al 85 % sin condensar

ANEXO 6



Esquema para medición de Sólidos suspendidos

ANEXO 7

FÓRMULAS	COMPONENTES	COSTO en \$ por gr.	CANTIDAD en gr	COSTO en \$ por litro	COSTO TOTAL EN \$ (5l.)	COSTO ESCALA TOTAL EN \$ POR MES
F1	Nitrato de amonio	0,1	5	0,5	2,5	65000
	Fosfato ácido di sódico	0,08	1	0,08	0,4	10400
	COSTO POR FÓRMULA			0,58	2,9	75400
F2	Nitrato de amonio	0,1	5	0,5	2,5	65000
	Sulfato de magnesio heptahidratado	0,12	2	0,24	1,2	31200
	Fosfato di básico de potasio	0,08	2	0,16	0,8	20800
	Glucosa	0,04	4	0,16	0,8	20800
	COSTO POR FÓRMULA			1,06	5,3	137800
F3	Cloruro de sodio	0,033	6	0,20	1	26000
	Cloruro potásico	0,06	0,35	0,02	0,1	2600
	Fosfato di básico de potasio	0,08	1	0,08	0,4	52000
	Sulfato de magnesio heptahidratado	0,12	1,5	0,18	0,9	23400
	Fosfato ácido disódico	0,08	1,5	0,12	0,6	15600
	Nitrato de amonio	0,1	5	0,50	2,5	65000
	COSTO POR FÓRMULA			1,10	5,5	184600

Lista de costos por fórmula (proforma de La casa de los químicos)