



## **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**Optimización del humedal de la planta de tratamiento de lixiviados de Baños de Agua Santa aplicando bacterias rizosféricas de *Typha dominguensis* para remover la demanda química y bioquímica de oxígeno**

**JENNY KAROL BARRAGÁN GUERRERO**

**Trabajo de Titulación modalidad: Proyectos de Investigación y Desarrollo, presentado ante el Instituto de Posgrado y Educación Continua de la ESPOCH, como requisito parcial para la obtención del grado de:**

**MAGÍSTER EN INGENIERÍA QUÍMICA APLICADA**

Riobamba – Ecuador

Diciembre 2022

©2022, Jenny Karol Barragán Guerrero

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.



## ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

EL TRIBUNAL DE TRABAJO DE TITULACIÓN CERTIFICA QUE:

El Trabajo de Titulación modalidad Proyectos de Investigación y Desarrollo, titulado: **Optimización del humedal de la planta de tratamiento de lixiviados de Baños de Agua Santa aplicando bacterias rizosféricas de *Typha dominguensis* para remover la demanda química y bioquímica de oxígeno**, de responsabilidad de la señorita Jenny Karol Barragan Guerrero ha sido prolijamente revisado y se autoriza su presentación.

Dra. Lourdes Cumandá Carrera Beltran; Mag.

**PRESIDENTE**



Dr. Fabián Ernesto Arias Arias; Ph. D.

**DIRECTOR**



Ing. Mabel Mariela Parada Rivera; Mag.

**MIEMBRO**



Ing. Juan Carlos González García; Ph. D.

**MIEMBRO**



Riobamba, diciembre 2022

## DERECHOS INTELECTUALES

Yo, Jenny Karol Barragán Guerrero, declaro que soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en el **Trabajo de Titulación modalidad Proyectos de Investigación y Desarrollo**, y que el patrimonio intelectual generado por la misma pertenece exclusivamente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.



---

Jenny Karol Barragán Guerrero  
No. Cédula: 0603793001

## DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Jenny Karol Barragán Guerrero, declaro que el presente **Trabajo de Titulación modalidad Proyectos de Investigación y Desarrollo**, es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este proyecto de investigación de maestría.



---

Jenny Karol Barragán Guerrero  
No. Cédula: 0603793001

## **DEDICATORIA**

A Dios por ser el impulso para lograr mis objetivos.

A mis padres Angelito y Sarita por ser el apoyo incondicional en todo momento.

*Jenny*

## **AGRADECIMIENTO**

Mi agradecimiento a Dios y a mis padres Angelito y Sarita por su amor y sacrificio. A mis hermanos Milton, Virginia, Carmita, Isabel, David, y a mi compañero Teddy.

Un agradecimiento al Municipio de Baños de Agua Santa liderado por el Msc. Luis Silva Luna y a la Líder del Relleno Sanitario de Baños de Agua Santa Ing. Pamela Pozo por la apertura para la realización de este proyecto de investigación en la Planta de Tratamiento de Lixiviados del Relleno Sanitario.

A la Msc. Anita Cunachi Técnico Docente del Laboratorio de Ciencias Biológicas de la Facultad de Recursos Naturales, quién con su conocimiento y experticia en el área microbiológica dirigió esta investigación. También, al Ph. D. Juan Carlos González por su atención en todo momento durante el proceso del proyecto.

Ph. D. Fabian Arias y Mag. Mabel Parada mis profundos agradecimientos.

*Jenny*

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	xix
SUMARY.....	xx
CAPÍTULO I.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Situación problemática .....	1
1.2. Problema de investigación .....	2
1.3. Formulación del problema .....	2
1.4. Justificación del proyecto.....	2
1.5. Objetivos de la investigación .....	3
1.5.1. Objetivo general .....	3
1.5.2. Objetivos específicos .....	3
1.6. Hipótesis .....	4
1.6.1. Hipótesis general .....	4
1.6.2. Hipótesis específicas.....	4
1.7. Identificación de las variables .....	4
1.7.1. Variable independiente .....	4
1.7.2. Variable dependiente .....	4
CAPÍTULO II.....	5
2. MARCO TEÓRICO .....	5
2.1. Antecedentes .....	5
2.2. Marco conceptual .....	7
2.2.1. Biorremediación .....	7
2.2.2. Bioaugmentación de microorganismos.....	7
2.2.3. Bacterias Rizosféricas en el tratamiento de aguas residuales.....	7
2.2.4. Lixiviado.....	8
2.2.5. Humedad Artificial .....	8
2.2.5.1. Agua residual .....	8
2.2.5.2. Sustrato .....	8
2.2.5.3. Vegetación .....	9
2.2.5.4. Microorganismos.....	9
2.2.6. Remoción de materia orgánica .....	9



2.2.7.	Rizósfera .....	10
2.2.8.	<i>Typha domingensis</i> .....	10
2.2.9.	Demanda química de oxígeno (DQO) .....	10
2.2.10.	Demanda bioquímica de oxígeno (BQO <sub>5</sub> ) .....	10
2.2.11.	Tipos de Agar .....	11
2.2.11.1.	Agar Mc Conkey (AMC) .....	11
2.2.11.2.	Agar PDA (PDA) .....	11
2.2.11.3.	Agar Nutritivo (NA) .....	11
2.2.12.	Bacterias Enterobacterias .....	11
2.2.13.	Hongos .....	11
2.2.14.	Levaduras .....	11
2.2.15.	Cepas bacterianas .....	12
2.2.16.	Magnificación de microorganismos .....	12
2.2.17.	Cámara de Neubauer .....	12
2.2.18.	Unidades formadoras de colonias (UFC) .....	12
2.2.19.	Prueba bioquímica de la Catalasa en bacterias .....	12
2.2.20.	Morfología macroscópica .....	13
2.2.21.	Morfología de las Bacterias .....	13
2.2.22.	Tinción Gram .....	13
2.2.23.	Porcentaje de remoción de materia orgánica .....	13
CAPÍTULO III .....		14
3.	METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN .....	14
3.1.	Tipo y diseño de investigación .....	14
3.1.1.	Tipo de investigación .....	14
3.1.2.	Diseño de investigación .....	14
3.2.	Método de investigación .....	14
3.2.1.	Método Deductivo .....	14
3.2.2.	Método de Analítico .....	14
3.3.	Enfoque de la investigación .....	15
3.4.	Alcance de la investigación .....	15
3.5.	Población de estudio .....	15
3.5.1.	Localización de la investigación .....	15
3.5.2.	Unidad de Análisis .....	15

3.6.	Selección de la muestra.....	15
3.7.	Tamaño de la muestra .....	16
3.8.	Técnica de recolección de datos .....	16
3.8.1.	Instrumentos para procesar datos recopilados.....	16
3.9.	Diseño experimental.....	17
3.10.	Operacionalización de las variables.....	18
3.11.	Matriz de consistencia .....	19
3.12.	Experimentación.....	22
3.12.1.	Toma de muestras.....	23
3.12.2.	Análisis de pH de las muestras.....	24
3.12.3.	Inoculación de los microorganismos existentes en las muestras .....	24
3.12.3.1.	Preparación de Agar .....	24
3.12.3.2.	Preparación de diluciones de las muestras .....	24
3.12.3.3.	Inoculación de las diluciones .....	26
3.12.4.	Determinación de Unidades formadoras de colonias (UFC).....	26
3.12.5.	Bioaumentación de los microorganismos .....	27
3.12.6.	Tratamientos utilizados en la investigación .....	27
3.12.7.	Determinación de la concentración microbiana presente en los consorcios de cada tratamiento.....	29
3.12.8.	Almacenado de los microorganismos .....	30
3.12.9.	Morfología macroscópica y microscópica .....	30
3.12.10.	Prueba bioquímica de la Catalasa en bacterias.....	31
3.12.11.	Porcentaje de remoción.....	31
3.13.	Análisis estadístico .....	32
CAPÍTULO IV .....		33
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
4.1.	Resultados .....	33
4.1.1.	Diagnóstico de la planta de tratamiento de lixiviados del relleno sanitario de Baños de Agua Santa. ....	33
4.1.2.	Resultados iniciales de DQO y DBO <sub>5</sub> .....	37
4.1.3.	Análisis de pH.....	38
4.1.4.	Observaciones de las muestras inoculadas en AMC, PDA y AN.....	38
4.1.5.	Determinación de Unidades formadoras de colonias (UFC).....	40

4.1.6.	Bioaumentación de las colonias .....	42
4.1.7.	Concentración microbiana presente en los consorcios de cada tratamiento.....	44
4.1.8.	Clasificación de microorganismos.....	45
4.1.9.	Morfología macroscópica, microscópica y clasificación de los microorganismos.....	47
4.1.10.	Prueba bioquímica de la Catalasa en bacterias.....	49
4.1.11.	Resultados de DQO y DBO <sub>5</sub> de la investigación.....	50
4.1.12.	Porcentaje de remoción.....	52
4.1.13.	Análisis estadísticos descriptivos de DQO y DBO <sub>5</sub> .....	54
4.1.14.	Verificación de hipótesis.....	57
4.1.14.1.	DQO.....	58
4.1.14.2.	DBO <sub>5</sub> .....	60
4.2.	Análisis y Discusión.....	63
CAPÍTULO V.....		65
5.	PROPUESTA.....	65
5.1.	Proyección de la aplicación de los Tratamientos al Humedal Artificial.....	65
5.1.1.	Balance hídrico.....	65
5.1.2.	Balance de masa .....	66
CONCLUSIONES.....		68
RECOMENDACIONES.....		69
GLOSARIO		
BIBLIOGRAFÍA		
ANEXOS		

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-3	Diseño experimental.....	17
Tabla 2-3	Operacionalización de variables .....	17
Tabla 3-3	Matriz de consistencia .....	20
Tabla 4-3	Ubicación de las unidades de análisis .....	23
Tabla 5-3	Nomenclatura de las unidades de análisis.....	24
Tabla 6-3	Descripción general de los tratamientos.....	28
Tabla 7-3	Descripción específica de los tratamientos.....	28
Tabla 8-3	Planificación para los análisis de los parámetros DQO y DBO <sub>5</sub> .....	29
Tabla 9-3	Especificaciones para la prueba de Catalasa.....	31
Tabla 1-4	Composición de los desechos sólidos generados en Baños de Agua Santa.....	33
Tabla 2-4	Parámetros de diseño del humedal artificial.....	34
Tabla 3-4	Comparación entre los límites permisibles de descarga a un cuerpo de agua dulce y los resultados del efluente a la salida del humedal .....	36
Tabla 4-4	Resultados iniciales de la muestra 1 .....	37
Tabla 5-4	Resultados iniciales de la muestra 2.....	37
Tabla 6-4	Resultados iniciales de la muestra 3.....	37
Tabla 7-4	pH y temperatura de las muestras .....	38
Tabla 8-4	Observaciones de las muestras inoculadas en AMC, PDA y AN .....	38
Tabla 9-4	Unidades formadoras de colonias en AMC .....	40
Tabla 10-4	Unidades formadoras de colonias de la Muestra 2.....	40
Tabla 11-4	Unidades formadoras de colonias en PDA .....	41
Tabla 12-4	Tabla Unidades formadoras de colonias en AN.....	41
Tabla 13-4	Observaciones de los microorganismos bioaumentados en AMC .....	42
Tabla 14-4	Observaciones de los microorganismos bioaumentados en PDA .....	43
Tabla 15-4	Concentración microbiana presente en los consorcios de cada tratamiento .....	44
Tabla 16-4	Clasificación general de los microorganismos presentes en los tratamientos.....	45
Tabla 17-4	Morfología macroscópica, microscópica y clasificación de los microorganismos .....	47
Tabla 18-4	Prueba bioquímica de Catalasa para bacterias .....	49
Tabla 19-4	Resultados de DQO y DBO <sub>5</sub> analizados a los 15 días.....	50
Tabla 20-4	Resultados de DQO y DBO <sub>5</sub> analizados a los 30 días.....	51
Tabla 21-4	Resultados de DQO y DBO <sub>5</sub> analizados a los 45 días.....	51

Tabla 22-4 Promedio de las repeticiones por fecha de análisis .....	52
Tabla 23-4 Porcentaje de remoción.....	52
Tabla 24-4 Estadísticos descriptivos de DQO.....	54
Tabla 25-4 Estadísticos descriptivos de DBO <sub>5</sub> .....	56
Tabla 26-4 Análisis de la varianza de DQO .....	58
Tabla 27-4 Diferencias Intra-sujetos, comparaciones por pareja de DQO.....	59
Tabla 28-4 Diferencias Inter-Sujetos de DQO .....	59
Tabla 29-4 Tabla de análisis de la varianza de DBO <sub>5</sub> .....	61
Tabla 30-4 Diferencias Intra - Sujetos, comparaciones por pareja de DBO <sub>5</sub> .....	61
Tabla 31-4 Diferencias Inter - Sujetos del DBO <sub>5</sub> .....	62

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-3	Proceso de experimentación .....	22
Figura 2-3	Enriquecimiento de las muestras .....	25
Figura 3-3	Diluciones seriadas .....	25
Figura 4-3	Inoculación de las diluciones.....	26
Figura 5-3	Preparación de consorcios microbianos .....	27
Figura 6-3	Instalación de la experimentación.....	29
Figura 1-4	Humedal artificial .....	35
Figura 1-5	Humedal artificial de la planta de tratamiento de lixiviados .....	66

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-4 Porcentajes de remoción de DQO por tratamiento.....	53
Gráfico 2-4 Porcentajes de remoción de DBO <sub>5</sub> por tratamiento.....	53
Gráfico 3-4 Promedio de DQO por tratamiento y días de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado .....	55
Gráfico 4-4 Promedio de DBO <sub>5</sub> por tratamiento y días de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado.....	57
Gráfico 5-4 Disminución de DQO con respecto al tiempo de análisis.....	60
Gráfico 6-4 Disminución de DBO <sub>5</sub> con respecto al tiempo de análisis.....	63

## ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1-3 Unidades formadoras de colonias por recuento microscópico.....	26
Ecuación 2-3 Eficiencia de remoción .....	31
Ecuación 1-5 Balance hídrico.....	65
Ecuación 2-5 Balance de masa .....	66
Ecuación 3-5 Consumo de materia orgánica por microorganismos.....	66



## ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A. Plano estructural del humedal artificial perteneciente al Relleno Sanitario de Baños de Agua Santa.
- ANEXO B. Informe de resultados realizados al afluente a la entrada a la Planta de Tratamiento de lixiviados.
- ANEXO C. Informe de resultados realizados al efluente (Lixiviado a la salida del Humedal).
- ANEXO D. Análisis inicial de DQO y DBO<sub>5</sub> realizado al lixiviado del humedal artificial del relleno sanitario de Baños de Agua Santa (Muestra 1).
- ANEXO E. Análisis inicial de DQO y DBO<sub>5</sub> realizado al agua de la Laguna de Colta (Muestra 2).
- ANEXO F. Análisis inicial de DQO y DBO<sub>5</sub> realizado al agua de la Laguna de Langos (Muestra 3).
- ANEXO G. Toma de muestras.
- ANEXO H. Preparación de Agar y conteo de colonias.
- ANEXO I. Procesos varios de la investigación.
- ANEXO J. Diferentes muestras inoculadas.
- ANEXO K. Diferentes muestras inoculadas.
- ANEXO L. Muestras bioaumentadas en AMC.
- ANEXO LL. Muestras bioaumentadas en AMC.
- ANEXO M. Muestras bioaumentadas en PDA.
- ANEXO N. Muestras bioaumentadas en PDA.
- ANEXO O. Tinción Gram de Bacterias en AMC.
- ANEXO P. Tinción Gram de Bacterias en AMC.
- ANEXO Q. Tinción Gram de Bacterias en PDA.
- ANEXO R. Recuento de microorganismos del Tratamiento 1 (T1).
- ANEXO S. Recuento de microorganismos del Tratamiento 2 (T2).
- ANEXO T. Recuento de microorganismos del Tratamiento 3 (T3).
- ANEXO U. Recuento de microorganismos del Tratamiento 4 (T4).
- ANEXO V. Recuento de microorganismos del Tratamiento 5 (T5).

ANEXO W. Recuento de microorganismos del Tratamiento 6 (T6).

ANEXO X. Recuento de microorganismos del Tratamiento 7 (T7).

ANEXO Y. Resultados de los análisis de DQO y DBO<sub>5</sub> a los 15 días.

ANEXO Z. Resultados de los análisis de DQO y DBO<sub>5</sub> a los 30 días.

ANEXO AA. Resultados de los análisis de DQO y DBO<sub>5</sub> a los 45 días.

ANEXO BB. Datos de DQO y DBO<sub>5</sub> para los distintos tratamientos, a los 15, 30 y 45 días de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado.

ANEXO CC. Prueba de normalidad de Shapiro - Wilk para el DQO.

ANEXO DD. Prueba de igualdad de Levene de varianzas de error para el DQO.

ANEXO EE. Prueba de esfericidad de Mauchly para el DQO.

ANEXO FF. Prueba de normalidad de Shapiro - Wilk de DBO<sub>5</sub>.

ANEXO GG. Prueba de igualdad de Levene de varianzas de error para el DBO<sub>5</sub>.

ANEXO HH. Prueba de esfericidad de Mauchly para el DBO<sub>5</sub>.

## RESUMEN

En esta investigación se experimentó con consorcios microbianos obtenidos de la rizósfera de la planta de *Typha dominguensis* tanto del lixiviado (1) como del sedimento de la *Typha* (S1) del humedal, del agua (2) y sedimento (S2) de la Laguna de Colta, y del agua (3) y del sedimento (S3) de la Laguna de Langos. De las muestras 1, 2, 3, S1, S2 y S3 se prepararon 5 diluciones de  $10^{-1}$  a la  $10^{-5}$ , estas se inocularon agregando 0,5 mL de cada dilución en Agar McConkey (AMC), Agar de dextrosa de papa (PDA) y Agar Nutritivo (AN) que se incubaron a 15 °C por 24 horas. Se bioaugmentó los microorganismos con características morfológicas diferentes en AMC y PDA (los microorganismos en AN no se utilizaron). Las muestras bioaugmentadas se disgregaron formando consorcios microbianos que fueron parte de los tratamientos T1, T2, T3, T4, T5, T6, y T7. Estos se pusieron en contacto con el lixiviado donde se agregó 2 mL de consorcio en 200 mL de lixiviado de acuerdo a cada tratamiento, en los cuales se obtuvo 600 mL por fecha de análisis de los 2 parámetros a los 15, 30 y 45 días. Mediante los métodos analíticos APHA 5220-D y APHA 5210-B se obtuvieron sus resultados y por la prueba de hipótesis ANOVA con 2 factores de diseño mixto tomando como factores a los 7 tratamientos y los 3 tiempos transcurridos de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado. Se encontró que el consorcio microbiano más eficiente en la remoción del DQO es el T2 con 87,78% y para el DBO<sub>5</sub> el T4 con 80,49%.

### Palabras clave:

<MICROORGANISMOS RIZOSFÉRICOS>, <CONSORCIO MICROBIANO>, <LIXIVIADO>, <DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO>, <DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO>, <TRATAMIENTO DE LIXIVIADOS>.



Firmado electrónicamente por:  
**LUIS ALBERTO  
CAMINOS  
VARGAS**



11-08-2022

0109-DBRA-UPT-IPEC-2022

## SUMARY

In this research, experiments were carried out with microbial consortia obtained from the rhizosphere of the *Typha dominguensis* plant from both the leachate (1) and the Typha sediment (S1) from the wetland, from the water (2) and sediment (S2) of the Laguna de Colta, and from the water (3) and sediment (S3) of the Lagoon of Langos. From samples 1, 2, 3, S1, S2 and S3, 5 dilutions of 10<sup>-1</sup> were prepared to 10<sup>-5</sup>, these were inoculated by adding 0.5 mL of each dilution in McConkey Agar (AMC), Agar of potato dextrose (PDA) and Nutrient Agar (AN) that were incubated at 15 °C for 24 hours. Bioaugmented microorganisms with different morphological characteristics in AMC and PDA (the microorganisms in AN were not used). The bioaugmented samples disintegrated forming microbial consortia that were part of treatments T1, T2, T3, T4, T5, T6, and T7. These will be put in contact with the leachate where 2 mL of consortium was added to 200 mL of leachate from according to each treatment, in which 600 mL was obtained by date of analysis of the 2 parameters at 15, 30 and 45 days. Using the analytical methods APHA 5220-D and APHA 5210-B, their results and by the ANOVA hypothesis test with 2 factors of mixed design taking as factors at 7 treatments and the 3 elapsed times of contact of the microbial consortium with the leachate. It was found that the most efficient microbial consortium in COD removal is T2 with 87.78% and for BOD<sub>5</sub>, T4 with 80.49%.

### Key words:

<RIZOSPHERIC MICROORGANISMS>, <MICROBIAL CONSORTIUM>, <LEACHATE>, <BIOCHEMICAL OXYGEN DEMAND>, <CHEMICAL OXYGEN DEMAND>, <LEACHATE TREATMENT>.

# CAPÍTULO I

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Situación problemática

El crecimiento de la población urbana y de la cantidad de desechos sólidos en los rellenos sanitarios municipales generan lixiviados (Liu & Wang, 2020), estos provienen de reacciones bioquímicas (Yang et al., 2019) que contienen materia orgánica compuesta por carbohidratos, proteínas y ácidos grasos, provocando impactos ambientales desfavorables al ambiente (Salgado Bernal et al., 2012). Diversas técnicas biológicas han sido utilizadas para eliminar la materia orgánica de los efluentes (Liu & Wang, 2020).

La generación per cápita de residuos sólidos del Cantón Baños de Agua Santa es de 0,54 Kg/hab/día donde el 59,80% de residuos sólidos son depositados en las celdas emergentes del Relleno Sanitario ubicado en el sector de Juive Grande. Estas celdas cuentan con un sistema de drenaje pasivo con pozos de desfogue encargados de conducir los lixiviados hasta la planta para su tratamiento con un caudal de 21,62 m<sup>3</sup>/día (Dirección Municipal de Saneamiento Ambiental de Baños de Agua Santa, 2020). La Planta de Tratamiento de Lixiviados cuenta con un Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente que reduce la carga orgánica entre 40 a 50%, y un humedal artificial que complementa el proceso, el efluente después de ser tratado por el reactor es vertido con altos valores de la demanda química y bioquímica de oxígeno e ingresa al humedal agravándose el problema aún más en este punto y el lixiviado es vertido al Río Chambo (Ministerio del Ambiente & Saneamiento Ambiental, 2017).

Actualmente al humedal se agrega un consorcio bacteriano comercial “Micropan ALFA POBs” que es un bioactivador específico en polvo para remediar lixiviados contaminados por compuestos orgánicos difíciles de descomponer (Eurovix, 2021). El valor de estos reactivos es alto y la disminución de DQO y DBO<sub>5</sub> es deficiente (Salgado Bernal et al., 2010) de acuerdo con el Libro VI del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente: Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes al Recurso Agua (Ministerio del Ambiente Ecuador Normativa para Efluentes, 2015) para el vertido del lixiviado tratado al Río Chambo. (Salgado Bernal et al., 2012) en su investigación “Bacterias Rizosféricas con potencialidades fisiológicas para eliminar materia orgánica de aguas residuales” se caracterizaron 58 cepas bacterianas extraídas de la rizósfera de plantas hidrófitas de *Typha Dominguensis* para la remoción de materia orgánica de aguas

residuales, donde 13 cepas aisladas elegidas demostraron una remoción de DQO y DBO<sub>5</sub> sobre el 50% de un efluente complejo en 72 horas. Las cepas estudiadas contribuyeron a la remediación de efluentes al disminuir la materia orgánica.

## **1.2. Problema de investigación**

Los altos valores de los parámetros de DQO y DBO<sub>5</sub> del lixiviado tratado del actual proceso del humedal de la Planta de Tratamiento de Lixiviados de Baños de Agua Santa son vertidos al Río Chambo, estos ingresan al humedal con un DQO de 7626 mg/L y se descargan con 2365 mg/L, el DBO<sub>5</sub> ingresa con 3179,72 mg/L y se descargan con 1327,22 mg/L, siendo los límites permisibles de descarga a un cuerpo de agua dulce de acuerdo con la Norma Ambiental de DQO 100 mg/L y DBO<sub>5</sub> 50 mg/L.

## **1.3. Formulación del problema**

¿Es factible la Optimización del Humedal de la Planta de Tratamiento de Lixiviados de Baños de Agua Santa con la aplicación de Bacterias Rizosféricas de *Typha dominguensis* para la remoción de la demanda química de oxígeno y la demanda bioquímica de oxígeno del lixiviado, y este pueda ser vertido al Río Chambo?

## **1.4. Justificación del proyecto**

La presente investigación busca la optimización del humedal de la planta de tratamiento de lixiviados del relleno sanitario de Baños de Agua Santa con la magnificación de microorganismos obtenidos de la rizósfera de las plantas de *Typha dominguensis* del humedal, de la laguna de Colta y la laguna de Langos, para su posterior combinación en consorcios y aplicación en los lixiviados provenientes del humedal, y así remover la demanda química y bioquímica de oxígeno del lixiviado a nivel de laboratorio. Los valores actuales del lixiviado en la descarga final al Río Chambo son de 2365 mg/L DQO y 1327,22 mg/L DBO<sub>5</sub> de acuerdo con la línea bases y se pretende disminuir estos valores a 100 mg/L DQO y 50 mg/L DBO<sub>5</sub>, de esta forma, se cumpla con la Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes al Recurso Agua, para el vertido del efluente a fuentes de agua dulce (Ministerio del Ambiente, 2015).

Se busca determinar el mejor tratamiento aplicado al lixiviado, es decir, el consorcio microbiano que en contacto con el lixiviado durante un tiempo determinado sea capaz de disminuir el DQO y el DBO<sub>5</sub>, y de esta manera garantizar el cumplimiento de la Norma Ambiental. Para esto se

obtienen microorganismos rizosféricos de las plantas de *Typha dominguensis* de lagunas que en su ambiente natural contengan esta especie como la Laguna de Colta ubicada en el cantón Colta y la Laguna de Langos perteneciente al cantón Guano, posterior a esto, se magnifican y se suspenden en consorcios que se ponen en contacto con el lixiviado bajo condiciones controladas de laboratorio.

Este trabajo tendrá como beneficiarios directos a la población que usa el agua del Río Chambo para el riego de sembríos, e indirectos a la población del Cantón Baños de Agua Santa, además, contribuirá a la solución de problemas de plantas de tratamiento de lixiviados con un diseño similar y valores altos de DQO y DBO<sub>5</sub>.

## **1.5. Objetivos de la investigación**

### ***1.5.1. Objetivo general***

Optimizar el humedal de la planta de tratamiento de lixiviados de Baños de Agua Santa aplicando bacterias rizosféricas de *Typha dominguensis* para remover la demanda química y bioquímica de oxígeno.

### ***1.5.2. Objetivos específicos***

- a. Realizar el diagnóstico de los lixiviados generados en el Relleno Sanitario de Baños de Agua Santa, mediante su caracterización para conocer el estado actual de los parámetros problemáticos.
- b. Magnificar los microorganismos rizosféricos provenientes de las plantas de *Typha dominguensis* presentes en el humedal de la planta de tratamiento de lixiviados del relleno sanitario, la Laguna de Colta y la Laguna de Langos, que permitirán obtener consorcios microbianos.
- c. Evaluar la capacidad de los consorcios microbianos en la disminución de la demanda química y bioquímica de oxígeno del lixiviado, mediante análisis de laboratorio.
- d. Validar el consorcio microbiano más eficiente en la remoción de la demanda química y bioquímica de oxígeno a través de un análisis estadístico.

## **1.6. Hipótesis**

### ***1.6.1. Hipótesis general***

La optimización del humedal de la planta de tratamiento de lixiviados de Baños de Agua Santa aplicando microorganismos rizosféricas de *Typha dominguensis* disminuirá la demanda química y bioquímica de oxígeno del lixiviado para ser vertido al Rio Chambo.

### ***1.6.2. Hipótesis específicas***

- a. La caracterización de los lixiviados generados en el Relleno Sanitario del Cantón Baños permitirá conocer el estado de los parámetros problemáticos.
- b. La magnificación de los microorganismos rizosféricos provenientes de las plantas de *Typha dominguensis* presentes en el humedal de la planta de tratamiento de lixiviados del relleno sanitario, la Laguna de Colta y la Laguna de Langos, permitirán obtener consorcios microbianos que se pondrán en contacto con el lixiviado a nivel de laboratorio.
- c. La evaluación mediante análisis de laboratorio confirmará la eficiencia de los consorcios microbianos en la disminución de la demanda química y bioquímica de oxígeno del lixiviado.
- d. Un análisis estadístico validará los consorcios bacterianos más eficientes en la remoción de la demanda química y bioquímica de oxígeno del lixiviado.

## **1.7. Identificación de las variables**

### ***1.7.1. Variable independiente***

- Tiempo de contacto de consorcio microbiano con el lixiviado
- Composición del consorcio microbiano

### ***1.7.2. Variable dependiente***

- Demanda Química de Oxígeno (DQO)
- Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>)



## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes

(Carvalho et al., 2021) Extrajo levaduras con una alta capacidad para sintetizar enzimas hidrolíticas de un ecosistema lótico continental en Brasil. Se cultivaron 75 levaduras en medio extracto de Levadura-Peptona-Dextrosa (YPD) suplementado con antibacteriano y su capacidad para la producción enzimática, donde 64 levaduras mostraron capacidad en la producción de enzimas. Todas muestran al menos una actividad de enzimas hidrolíticas para amilasa, celulasa y proteasa, lo que sugiere que las levaduras son metabólicamente activas.

(Cheng et al., 2021) Aplicaron la bioaumentación de microorganismos beneficiosos con genes beneficiosos en la degradación de la materia orgánica en efluentes de tenería que contenían varios compuestos orgánicos complejos que generalmente son resistentes a la biodegradación, logrando una eficiencia de eliminación de DQO del 95,2 % durante 328 días de operación. Los espectros de fluorescencia de matriz de emisión y excitación dimensional fueron consistentes e indicaron que los contaminantes orgánicos como: materiales proteicos, polisacáridos y ácidos húmicos.

(Cheng et al., 2021) Investigó nuevos microorganismos beneficiosos para degradar contaminantes orgánicos en una planta de tratamiento para la eliminación de material orgánico, donde, se logró una eficiencia de eliminación de DQO en un promedio de 95,2% durante la operación de 328 días. Además, los resultados de una espectroscopia infrarroja transformada de Fourier y los espectros de fluorescencia de matriz de emisión y excitación tridimensionales fueron consistentes, mostrando que los contaminantes orgánicos decrecen.

(Hadam et al., 2010) Investigó la tolerancia de la *Typha domingensis* en la eficiencia de remoción de contaminantes de un flujo de agua industrial en un humedal artificial. Donde, se utilizaron muestras de sus plantas, sedimentos y agua, para la determinación en la remoción de metales de Cr, Ni y Zn en dos humedales naturales y en un humedal construido, los cuales tenían un mayor porcentaje de remoción en las plantas a la entrada en comparación con las de salida del humedal. Los cambios del humedal construido no constituyeron alteraciones en la adaptabilidad de *Typha domingensis* lo que permitió continuar su alta capacidad en la retención de contaminantes del flujo.

(J. Quintero, 2014) En su estudio obtuvo un porcentaje de remoción de DBO<sub>5</sub> de 87,7% en un humedal de flujo subsuperficial piloto con una plantación de *Heliconia Psittacoru*, y un porcentaje de remoción de DBO<sub>5</sub> de 90,8% del humedal de flujo superficial con una plantación de *Lenma minor*, logrando una alta eficiencia de los humedales en la remoción de materia orgánica de aguas residuales.

(Mantovi et al., 2002) Instaló dos humedales de flujo subterráneo horizontales de 75 m<sup>2</sup> cada uno con la utilización de *Typha dominguensis*, donde se trata el efluente de una lechería y aguas residuales domésticas con un flujo de 6,5 m<sup>3</sup>/día de un pueblo rural. Los valores en el afluente fueron: sólidos en suspensión de 0,70 g/L, DQO 1200 mg/L y DBO 450 mg/L, y se determinó la eficiencia del humedal en la reducción de la carga contaminante en un 80%.

(Mawang et al., 2021) En su investigación describe a las actinobacterias como potencial en la degradación de contaminantes por su distribución cosmopolita en los sedimentos de las plantas macrófitas. Estas bacterias degradan los polímeros complejos, promueven el reciclaje de compuestos y la producción de moléculas bioactivas. Esto se puede lograr por un proceso de bioaumentación, mediante la cual la capacidad de degradación de las áreas contaminadas se puede mejorar mediante la introducción de microorganismos específicos.

(Mufarrege et al., 2012) Construyó un humedal artificial en el que trataron un efluente industrial contenido de Cromo, Níquel y Zinc; y un efluente cloacal con un contenido de Fósforo y Níquel, además de tener una salinidad y pH alto. En ensayos de invernadero, se valoró la respuesta de absorción de la *Typha domingensis Pers.* ante diferentes concentraciones de metales con alto pH y salinidad, demostrando la alta efectividad en la absorción de metales en los efluentes tratados.

(Salgado Bernal et al., 2010) Obtuvo 58 cepas de bacterias rizosféricas de plantas hidrófitas para mejorar la renovación de las plantas en humedales nativos, donde se realizó pruebas fisiológicas como fijación de nitrógeno y solubilización de fosfato. Estas bacterias podrían ser aptas para optimizar la eliminación de fósforo y nitrógeno de las aguas residuales.

(Salgado Bernal et al., 2012) En su investigación, caracterizó 58 cepas bacterianas extraídas de la rizósfera de *Typha dominguensis*, para la disminución de la materia orgánica en el tratamiento de aguas residuales. Realizó experimentos con 13 cepas seleccionadas que en contacto con el agua sintética residual compleja se estableció una disminución de DQO sobre el 50 % en 72 horas, actuando de manera similar cuando se empleó consorcios bacterianos formados las mismas cepas. Sus resultados permiten utilizarlas para remediar efluentes en un sistema de tratamiento biológico de aguas.

(Tondera et al., 2021) Bioaumentó en forma de micorrización artificial las raíces de plantas de los humedales, así como las bacterias en diferentes tipos de humedales de tratamiento. Si bien la inoculación con hongos micorrízicos arbusculares tendió a mostrar un efecto positivo en el crecimiento de algunas plantas como la *Phragmites australis*. La inoculación bacteriana tendió a promover el crecimiento de las plantas y la degradación de los contaminantes.

(Vymazal & Kröpfelová, 2009) Registró las eficiencias de remoción de DBO<sub>5</sub> y DQO de aguas residuales en 36 países, donde la mayoría de humedales artificiales se usan en el tratamiento secundario como para el terciario, obteniendo un promedio de 88% de eficiencia, todo esto gracias a la rizósfera de las macrófitas.

(Zecchin et al., 2017a) Indica los contenidos altos de arsenito y arsénico contenidos en los granos de arroz y como estos disminuyeron gracias a las bacterias rizosféricas recicladoras de hierro y arsénico que, cumplen un papel importante dentro de su genética para que los contaminantes no se acumulen en el grano de arroz, incluso por las inundaciones continuas.

## **2.2. Marco conceptual**

### **2.2.1. Biorremediación**

Es un método donde se utiliza microorganismos, plantas o sus enzimas para disminuir la concentración de contaminantes tóxicos a valores que cumplan con la Normativa. Se puede agregar nutrientes o microbios con características concretas (Mawang et al., 2021).

### **2.2.2. Bioaumentación de microorganismos**

Es un proceso donde se inoculan muestras ambientales de suelos, sedimentos y agua, los cuales contienen microorganismos con capacidades catalíticas en la degradación de contaminantes, y pueden ser introducidos a un ambiente contaminado y bajar los parámetros problemáticos (Vanegas 2015).

### **2.2.3. Bacterias Rizosféricas en el tratamiento de aguas residuales**

Las bacterias rizosféricas hidrolizan las macromoléculas a oligómeros y monómeros como: aminoácidos, péptidos, monosacáridos y largas cadenas de ácidos grasos. Estos se oxidan bioquímicamente aumentando su polaridad y haciéndolos más soluble en agua facilitando así su excreción, es decir se eliminan más fácilmente, produciendo dióxido de carbono, agua, amonio y nueva biomasa. (Lorena & Rueda, 2018).

Los microorganismos rizosféricos contribuyen para la disminución de la DQO del agua residual contaminada, ya sea de forma individual o en consorcios microbianos en los humedales artificiales donde suceden diferentes procesos físicos, químicos y biológicos, además, son sistemas de fácil mantenimiento y operación (Rocha et al., 2021).

#### **2.2.4. Lixiviado**

Es un líquido contaminante producto de la descomposición bioquímica de los desechos sólidos presentes en las celdas emergentes de los rellenos sanitarios, estos contienen altas concentraciones de materia orgánica, carga química y microbiana. Estos líquidos se percolan por la basura a un sistema de tratamiento donde se minimiza su impacto contaminante a fuentes de agua superficiales y subterráneas incluso varios años después del cierre de las celdas (Dereli et al., 2020).

#### **2.2.5. Humedad Artificial**

Es una construcción rellena de grava, donde se planta vegetación acuática (macrófitas) y se aplica agua residual con un flujo constante que circula a través de las raíces de la vegetación. En estos, suceden procesos de sedimentación, absorción y metabolismo bacterial, además que interactúan con la atmósfera. Se aplica a efluentes procedentes de tratamientos secundarios (J. Quintero, 2014).

##### **2.2.5.1. Agua residual**

Son aguas con características modificadas por los contaminantes antropogénicos provenientes de las actividades domésticas, comerciales e industriales, que son previamente tratadas antes de ser vertidas a un cuerpo de agua natural (Mendoza & Restrepo, 2020). Estas actúan con la atmósfera por evapotranspiración (pérdida de agua por la transpiración de las plantas y por evaporación de agua del suelo) (Galeano & Albornoz, 2019).

##### **2.2.5.2. Sustrato**

Es el material granular como restos de vegetación arena, grava o roca; este debe tener permeabilidad que permita el flujo del agua residual. También, sirve como soporte para la vegetación y favorece las transformaciones químicas, biológicas y microbianas, especialmente los procesos de biodegradación de contaminantes (biopelícula). Si el sustrato está constituido por grava aumenta la conductividad hidráulica, pero disminuye su capacidad de adsorción y su filtración (Dell'Osbel et al., 2020).

### **2.2.5.3. Vegetación**

Especialmente macrófitas emergentes que son organismos foto autótrofos que mediante la energía solar recogida transforma el carbono inorgánico en orgánico. La rizósfera de las plantas se oxigenan a través de la transferencia de oxígeno por las hojas y tallos, este oxígeno crea zonas aerobias donde los microorganismos producen reacciones de degradación de materia orgánica y nitrificación (Romeu, 2018).

### **2.2.5.4. Microorganismos**

En la parte superior del humedal existe suficiente oxígeno por las raíces de las plantas y la atmósfera, donde se desarrollan microorganismos aerobios. En el material granular prevalecen los microorganismos anaerobios. Los microorganismos principales de la biopelícula de los humedales son: bacterias, levaduras, hongos y protozoarios, los cuales degradan la materia orgánica, elementos traza, eliminación de nutrientes y la desinfección (Delgadillo et al., 2017).

### **2.2.6. Remoción de materia orgánica**

Se realiza por la biodegradación aeróbica o anaeróbica de los microorganismos rizosféricos de las plantas macrófitas sobre efluentes contaminados. Los microorganismos pueden ser heterótrofos que necesitan material orgánico como fuente de carbono para la producción de nuevos microorganismos, en cambio, los autótrofos utilizan CO<sub>2</sub> como fuente de carbono. Ambos, usan luz o una reacción de oxidación-reducción como fuente de energía para todas las síntesis y son llamados fotótrofos y quimiótrofos (Delgadillo et al., 2017).

Se dan diferentes tipos de biodegradación microbiana en los humedales, en la degradación aeróbica participan dos grupos de microorganismos: los aerobios quimioheterótrofos que oxidan compuestos orgánicos y liberan amonio; y aerobios quimioautótrofos que oxidan el nitrógeno amoniacal a nitrito y nitrato. Sin embargo, los microorganismos heterótrofos son los principales en la remoción del material orgánico; por lo tanto, la presencia de oxígeno disuelto es un factor condicionante (Pacasa et al., 2017).

La degradación anaeróbica puede ser resumida como:



### **2.2.7. Rizósfera**

La rizósfera un tipo de ecosistema de bacterias, hongos, algas, protozoos, nemátodos, insectos y ácaros. Proporciona un microambiente oxidado con potenciales desintoxicantes en un sustrato anaeróbico que provoca la descomposición de la materia orgánica como el desarrollo de bacterias nitrificantes (Zecchin et al., 2017b).

### **2.2.8. *Typha domingensis***

Es una monocotiledónea perteneciente a la Familia *Typhaceae* y su nombre vulgar es “Totora”. Es una hierba perenne, rizomatosa de rápido crecimiento y elevada biomasa, con una gran capacidad para almacenar nutrientes. Esta especie es ampliamente estudiada en humedales naturales y artificiales para el tratamiento de diversos efluentes debido a su elevada resistencia a los contaminantes (Probanza, 2012; J. Quintero, 2014).

Esta interviene en los mecanismos de remoción, ya que están adaptadas a suelos colmados de agua porque tienen un sistema interno con grandes espacios aéreos. Estos sistemas internos permiten el suministro de oxígeno desde la atmósfera hacia las raíces y rizomas. Además, proveen buenas condiciones para la filtración física y una superficie grande para el crecimiento microbiano (Delgadillo et al., 2017).

### **2.2.9. Demanda química de oxígeno (DQO)**

Determina la cantidad de oxígeno requerido para oxidar la materia orgánica en una muestra de agua, bajo condiciones específicas del agente oxidante, temperatura y tiempo. Esta indica la cantidad de compuestos oxidables presentes en el agua, y es un parámetro que se determina rápidamente para el control de plantas de tratamiento de desechos (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2013b; G. V. Quintero, 2021).

### **2.2.10. Demanda bioquímica de oxígeno (BQO<sub>5</sub>)**

Es la cantidad de oxígeno disuelto que consumen los microorganismos en la degradación bioquímica de sustancias orgánicas presente en el agua (Colares et al., 2021). En efluentes que han pasado por un procedimiento biológico, una parte numerosa de la BQO<sub>5</sub> puede ser por la oxidación de los compuestos nitrogenados (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2013a).

### **2.2.11. Tipos de Agar**

#### **2.2.11.1. Agar Mc Conkey (AMC)**

Es un cultivo selectivo y diferencial para enterobacterias Gram negativas tanto aerobias como anaerobias facultativas, en este crecen todas las especies de la familia Enterobacteriaceae. *Klebsiella spp.*, *Escherichia spp.*, *Shigella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Proteus sp.*, *Yersinia sp.*, *Serratia sp.*, *Morganella spp.*, *Hafnia spp.*, *Salmonella spp.* (Vanegas, 2015a).

#### **2.2.11.2. Agar PDA (PDA)**

El Agar de Dextrosa de Papa, es un cultivo que se utiliza para el aislamiento e identificación de hongos y levaduras. Este medio es de uso general y debe complementarse con antibiótico para inhibir el crecimiento de bacterias (Insumolab, 2019).

#### **2.2.11.3. Agar Nutritivo (NA)**

Es un medio no selectivo ni diferencial, se utiliza para aislar cultivos puros, determinar la morfología de la colonia y realizar el recuento de microorganismos (Vanegas, 2015a).

### **2.2.12. Bacterias Enterobacterias**

Son bacterias aerobias como anaerobios facultativos, con forma de cocobacilos o bacilos cortos, son Gram (-), oxidasa (-), catalasa (+), nitratos (+), glucosa (+). Esta familia de bacterias contiene más de 100 especies, son coliformes ampliamente utilizadas como indicadores de contaminación fecal en aguas, alimentos y medicamentos, ya que pueden causar infecciones en casi todos los órganos del cuerpo (Dickinson, 2014).

### **2.2.13. Hongos**

Son organismos parásitos unicelulares o pluricelulares, la mayoría se presentan en formas filamentosas. La unidad estructural es una especie de tubo con tabiques de frecuencia ramificado, llamado hifa, y su conjunto se denomina micelio. La morfología de las colonias bajo ciertas condiciones crece en forma de micelio, y otras lo hacen en forma unicelular o de levadura, a este fenómeno se denomina dimorfismo (Sonkar et al., 2021).

### **2.2.14. Levaduras**

Son hongos unicelulares microscópicos que están en estado levaduriforme por el fenómeno llamado dimorfismo fúngico. Los procesos de tratamiento con levaduras se caracterizan por las altas tasas de

eliminación de contaminantes, costos de producción bajos y sus aislados se adaptan fácilmente sin suplementos de nutrientes en exceso (Carvalho et al., 2021).

#### **2.2.15. Cepas bacterianas**

Conjunto de bacterias de la misma especie con iguales características morfológicas y fisiológicas (Raper et al., 2018).

#### **2.2.16. Magnificación de microorganismos**

Es la reproducción de cepas microbianas de forma masiva a partir de una sola célula progenitora mediante un sustrato, en un período de incubación. Esto permite obtener una mayor concentración microbiana/mililitro (Tondera et al., 2021).

#### **2.2.17. Cámara de Neubauer**

Es un aparato de vidrio con dos superficies reticuladas para el recuento de células y dos columnas laterales que poseen una altura de 0,1 mm por encima del retículo. También conocido como hemocitómetro (Brand, 2018).

#### **2.2.18. Unidades formadoras de colonias (UFC)**

Es un indicador de la cantidad de microorganismos vivos en un líquido. Este valor se determina por el número de colonias individuales a partir de diluciones de muestras de suelo, agua o alimentos en un medio de cultivo incubadas a una temperatura adecuada. Se obtiene mediante la técnica de recuento directo en placa y se miden en unidades de volumen (UFC/mL) o masa (UFC/g). Es importante para averiguar la cantidad de microorganismos presentes en el agua, lo que, permite ver como se desarrollan y el peligro que representan (Cheng et al., 2021; Luna, 2020).

#### **2.2.19. Prueba bioquímica de la Catalasa en bacterias**

Esta prueba identifica la enzima catalasa presente en bacterias aerobias y bacterias anaerobias facultativas que contienen Cito-Cromo oxidasa (Romo, 2012).

Es de gran importancia para la clasificación de las bacterias cocos Grampositivos, donde se diferencian los *Staphylococcus* (catalasa positiva) de los *Streptococcus* (catalasa negativa). Dentro de los bacilos Gram negativos están las familias Enterobacteriaceae y Pseudomonaceae, las cuales responden de forma positiva para la catalasa. Su ausencia es la razón por la cual algunas bacterias son



anaeróbicas. La función de la catalasa es descomponer el peróxido de hidrógeno que es tóxico para las bacterias (Luna, 2020).

#### **2.2.20. Morfología macroscópica**

Las características del crecimiento de los microorganismos en un cultivo permiten identificar el tipo de microorganismo, de acuerdo con la clasificación:

- Colonia entera: Puntiforme, granular, rizoides, irregular, filamentoso, circular.
- Borde: Filamentosa, dentada, lobulada, ondulada, entera.
- Elevación: plana, elevada, convexa, acojinado, umbilicada.

#### **2.2.21. Morfología de las Bacterias**

Las bacterias tienen tres formas básicas:

- a. Cocos: Presentan formas casi esféricas con agrupaciones homogéneas. Su tamaño oscila entre los 0,8 a 1,0  $\mu\text{m}$ .
- b. Bacilos: Presentan formas cilíndricas, bastón, largos y delgados, pequeños y gruesos, agrupaciones bastante heterogéneas.
- c. Espirilos: Presentan formas de espirilos, espiroquetas, o comas (Brennan et al., 2017).

#### **2.2.22. Tinción Gram**

Comprueba la existencia de bacterias en ciertos fluidos, clasificándolas en 2 grupos: grampositivas y gramnegativas de acuerdo como estas reaccionen a la tinción, si la tinción es púrpura son grampositivas, y rosadas o rojas son gramnegativas (Luna, 2020).

#### **2.2.23. Porcentaje de remoción de materia orgánica**

Es la disminución de materia orgánica contenida en los compuestos carbonados presentes en aguas residuales. Los principales grupos de sustancias orgánicas presentes en el agua residual son las proteínas 40 – 60%, hidratos de carbono 25 - 50%, grasas y aceites 10%. El DQO y DBO<sub>5</sub> son determinaciones del contenido de materia orgánica y tienen un gran valor de vigilancia para conocer la eficacia de los tratamientos aplicados en la depuración del agua (Sonkar et al., 2021).

## CAPÍTULO III

### 3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

#### 3.1. Tipo y diseño de investigación

##### 3.1.1. Tipo de investigación

Esta investigación es de tipo cuantitativo, ya que, mediante procedimientos técnicos se recolectaron y analizaron datos numéricos. También, es de tipo experimental, dado que, a través de pruebas de laboratorio se comprobó la eficacia de los consorcios microbianos rizosféricos obtenidos de la *Typha dominguensis* (Totora) en la disminución de los parámetros DQO y DBO<sub>5</sub> sobre los lixiviados del humedal.

##### 3.1.2. Diseño de investigación

La investigación fue experimental, donde, se establece la causa de los valores altos de DQO y DBO<sub>5</sub> en los lixiviados, y el efecto de los consorcios microbianos en el porcentaje de remoción de estos parámetros.

#### 3.2. Método de investigación

##### 3.2.1. Método Deductivo

Partiendo de lo general a lo particular, el valor los parámetros de DQO y DBO<sub>5</sub> de los lixiviados en el punto final del humedal artificial, a partir de esto, se determinó el mejor consorcio microbiano proveniente de la rizósfera de la *Typha dominguensis* para la disminución de los parámetros anteriormente descritos.

##### 3.2.2. Método de Analítico

La investigación se enfocó en estudiar los microorganismos existentes tanto del lixiviado como del sedimento de la rizósfera de la *Typha dominguensis* del ambiente propio del humedal artificial, y de otros ambientes con la misma planta macrófita. Esto mediante ensayos de laboratorio con la magnificación de los microorganismos suspendidos en consorcios microbianos disminuyeron el DQO y DBO<sub>5</sub> de los lixiviados.

### **3.3. Enfoque de la investigación**

El enfoque para el siguiente proyecto es de carácter cuantitativo, porque permitió examinar de manera numérica, secuencial y probatoria la disminución del DQO y DBO<sub>5</sub> en el lixiviado tratado por los consorcios microbianos.

### **3.4. Alcance de la investigación**

El alcance de la presente investigación es de tipo explicativo porque se estudió la solución al problema mediante ensayos de laboratorio donde se verificó la eficacia de cada consorcio al ponerlo en contacto con el lixiviado del humedal.

### **3.5. Población de estudio**

La población de estudio de la investigación fue el Humedal Artificial de la Planta de Tratamiento de lixiviados del Relleno Sanitario de Baños de Agua Santa. También, para complementar el estudio se tomó en cuenta como población la Laguna de Colta del cantón Colta y la Laguna de Langos del cantón Guano.

#### **3.5.1. Localización de la investigación**

El Humedal Artificial de la Planta de Tratamiento de Lixiviados del Relleno Sanitario de Baños de Agua Santa se ubica en el sector de Juive Grande a una altura de 2072 msnm, aproximadamente a una distancia de 7 km del centro de Baños, vía a Cochapamba – Las Juntas. Además, la Laguna de Colta del cantón Colta y la Laguna de Langos del cantón Guano, ambas ubicadas en la provincia de Chimborazo.

#### **3.5.2. Unidad de Análisis**

La unidad de análisis es el lixiviado y el sedimento de la *Typha Dominguensis* del humedal artificial, así como, el agua y el sedimento de la misma planta presente en la Laguna de Colta y la Laguna de Langos.

### **3.6. Selección de la muestra**

Las muestras de lixiviado del humedal como del agua de las Lagunas de Colta y Langos, fueron tomados mediante un muestreo no probabilístico, sin estratificaciones. El muestreo se realizó bajo la Norma NTE INEN 2169:2013 Agua. Calidad del agua. Muestreo. Manejo y Conservación de Muestras (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2013c). El muestreo del sedimento fue al azar,

donde se tomó el sedimento de la rizósfera de las plantas de Totora que están en el humedal, así como el sedimento presente en las dos lagunas de referencia.

### **3.7. Tamaño de la muestra**

Se aplicó 1 mL de los consorcios obtenidos de los microorganismos rizosféricos tanto del agua como del sedimento preparados de acuerdo a cada tratamiento, por cada 100 mL de lixiviado.

### **3.8. Técnica de recolección de datos**

a. Revisión Bibliográfica facilitada por el Departamento de Saneamiento Ambiental del Municipio de Baños de Agua Santa:

- Estudios de diseño definitivo de cierre técnico de botaderos Fase I y Fase II.
- Planos estructurales del humedal artificial perteneciente a la planta de tratamiento de lixiviados.
- Resultados del lixiviado a la entrada y salida del humedal artificial para conocer la situación de los parámetros problemáticos de DQO y DBO<sub>5</sub>.
- Artículos científicos relacionados al tema.

b. La recolección de datos en hojas de Excel para su posterior análisis e interpretación.

- Observación directa para el recuento de microorganismos a través del microscopio.
- Resultados de los análisis de laboratorio del DQO y DBO<sub>5</sub> durante la investigación realizados por los métodos: APHA 5220-D para el DQO, y para el DBO<sub>5</sub> APHA 5210-B.

#### **3.8.1. Instrumentos para procesar datos recopilados**

- a. Microscopio óptico
- b. Cámara de Neubauer
- c. Contenedores estériles, donde, el consorcio estuvo en contacto con el lixiviado.
- d. Método APHA 5220-D, para la determinación de DQO.
- e. Método APHA 5210-B, para la determinación de DBO<sub>5</sub>.

Análisis estadísticos que permitan obtener el mejor consorcio microbiano en la disminución del DQO y DBO<sub>5</sub> del lixiviado perteneciente al humedal.

### 3.9. Diseño experimental

**Tabla 1-3** Diseño experimental

<b>TIEMPO TRANSCURRIDO DEL CONSORCIO MICROBIANO EN CONTACTO CON EL LIXIVIADO</b>										
<b>TRATAMIENTOS</b>		<b>15 Días</b>			<b>30 Días</b>			<b>45 Días</b>		
		<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>
	<b>T1</b>	T1R1	T1R2	T1R3	T1R1	T1R2	T1R3	T1R1	T1R2	T1R3
	<b>T2</b>	T2R1	T2R2	T2R3	T2R1	T2R2	T2R3	T2R1	T2R2	T2R3
	<b>T3</b>	T3R1	T3R2	T3R3	T3R1	T3R2	T3R3	T3R1	T3R2	T3R3
	<b>T4</b>	T4R1	T4R2	T4R3	T4R1	T4R2	T4R3	T4R1	T4R2	T4R3
	<b>T5</b>	T5R1	T5R2	T5R3	T5R1	T5R2	T5R3	T5R1	T5R2	T5R3
	<b>T6</b>	T6R1	T6R2	T6R3	T6R1	T6R2	T6R3	T6R1	T6R2	T6R3
	<b>T7</b>	T7R1	T7R2	T7R3	T7R1	T7R2	T7R3	T7R1	T7R2	T7R3

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

### 3.10. Operacionalización de las variables

Tabla 2-3 Operacionalización de variables

Variable independiente	Conceptualización	Dimensiones	Indicadores	Definición de los indicadores	Criterio de medición	Técnica	Instrumento	Escala
Tiempo de contacto de consorcio microbiano con el lixiviado.	Tiempo de contacto de consorcio microbiano con el lixiviado, donde la población microbiana de la <i>Thypa dominguensis</i> (totora) actúa sobre los contaminantes del lixiviado.	Días	Concentración de DQO y DBO <sub>5</sub> removido.	El tiempo de eliminación de DQO y DBO <sub>5</sub> analizados a los 15, 30 y 45 días.	Cuantitativa Continua.	Analítica	Calendario	15, 30 y 45 días.
Composición del consorcio microbiano.	Diferentes tipos de microorganismos obtenidos por magnificación de los microorganismos rizosféricos de la planta de <i>Typha Dominguensis</i> (totora).	Identificación de microorganismos y clasificación en bacterias, hongos y levaduras, y el conteo de sus unidades formadoras de colonias.	Microorganismos bioaumentados disgregados en un consorcio microbiano que en contacto con el lixiviado del humedal artificial disminuya el DQO y DBO <sub>5</sub> .	La morfología y fisiología conocida por la tinción de Gram de los microorganismos disminuyan el DQO y DBO <sub>5</sub> .	Cualitativa	Observación en el microscopio óptico.	Microscopio óptico.	Aumento 100X

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

### 3.11. Matriz de consistencia

Variable dependiente	Conceptualización	Dimensiones	Indicadores	Definición de los indicadores	Criterio de medición	Técnica	Instrumento	Escala
DQO	Determina la cantidad de oxígeno requerido para oxidar la materia orgánica e indica la cantidad de compuestos oxidables presentes en el lixiviado.	mg/L	Límites permisibles de DQO según Normativa Ambiental TULSMA, para la disposición final del lixiviado a un cuerpo de agua dulce.	Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes: Recurso Agua, Libro VI Anexo 1, en el literal 5.2.4. Normas generales para descarga de efluentes a cuerpos de agua dulce, específicamente en la Tabla 10. Límites de descarga de DQO a un cuerpo de agua dulce.	Cuantitativa discreta	Analítica	Método APHA 5220-D	100 mg O <sub>2</sub> /L
DBO <sub>5</sub>	Determina la cantidad de oxígeno disuelto que consumen los microorganismos en la degradación bioquímica de sustancias orgánicas presente en el agua.	mg/L	Límites permisibles de DBO <sub>5</sub> según Normativa Ambiental TULSMA, para la disposición final del lixiviado a un cuerpo de agua dulce.	Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes: Recurso Agua, Libro VI Anexo 1, en el literal 5.2.4. Normas generales para descarga de efluentes a cuerpos de agua dulce, específicamente en la Tabla 10. Límites de descarga de DBO <sub>5</sub> a un cuerpo de agua dulce.	Cuantitativa discreta	Analítica	Método APHA 5210-B	50 mg O <sub>2</sub> /L

**Tabla 3-3** Matriz de consistencia

Aspectos Generales			Variables	Indicadores	Técnicas	Instrumento
Formulación del problema	Objetivo general	Hipótesis general				
¿Es factible la Optimización del Humedal Artificial de la Planta de Tratamiento de Lixiviados de Baños de Agua Santa con la aplicación de bacterias rizosféricas de <i>Typha dominguensis</i> para la remoción de la demanda química de oxígeno y la demanda bioquímica de oxígeno del lixiviado, y este pueda ser vertido al Río Chambo?	Optimizar el humedal de la planta de tratamiento de lixiviados de Baños de Agua Santa aplicando bacterias rizosféricas de <i>Typha dominguensis</i> para remover la demanda química y bioquímica de oxígeno.	La optimización del humedal de la planta de tratamiento de lixiviados de Baños de Agua Santa aplicando microorganismos rizosféricas de <i>Typha dominguensis</i> disminuirá la demanda química y bioquímica de oxígeno del lixiviado para ser vertido al Río Chambo.	<p><b>Independientes:</b></p> <p>Tiempo de contacto de los consorcios microbianos bioaumentados de los microorganismos rizosféricos de la planta de <i>Typha dominguensis</i> con el lixiviado.</p>	Concentración de DQO y DBOs removido.	Analítica	Calendario
Aspectos específicos			Tipo de microorganismos	Microorganismos bioaumentados disgregados en consorcios microbianos que en contacto con el lixiviado del humedal disminuya el DQO y DBOs.	Observación directa en el microscopio óptico.	Microscopio óptico
Formulación del problema	Objetivo específico	Hipótesis específicas				
¿El diagnóstico de los lixiviados generados en el Relleno Sanitario de Baños de Agua Santa, mediante su caracterización permitirá conocer el estado actual de los parámetros problemáticos?	Realizar el diagnóstico de los lixiviados generados en el Relleno Sanitario de Baños de Agua Santa, mediante su caracterización para conocer el estado actual de los parámetros problemáticos.	La caracterización de los lixiviados generados en el Relleno Sanitario del Cantón Baños permitirá conocer el estado de los parámetros problemáticos.				

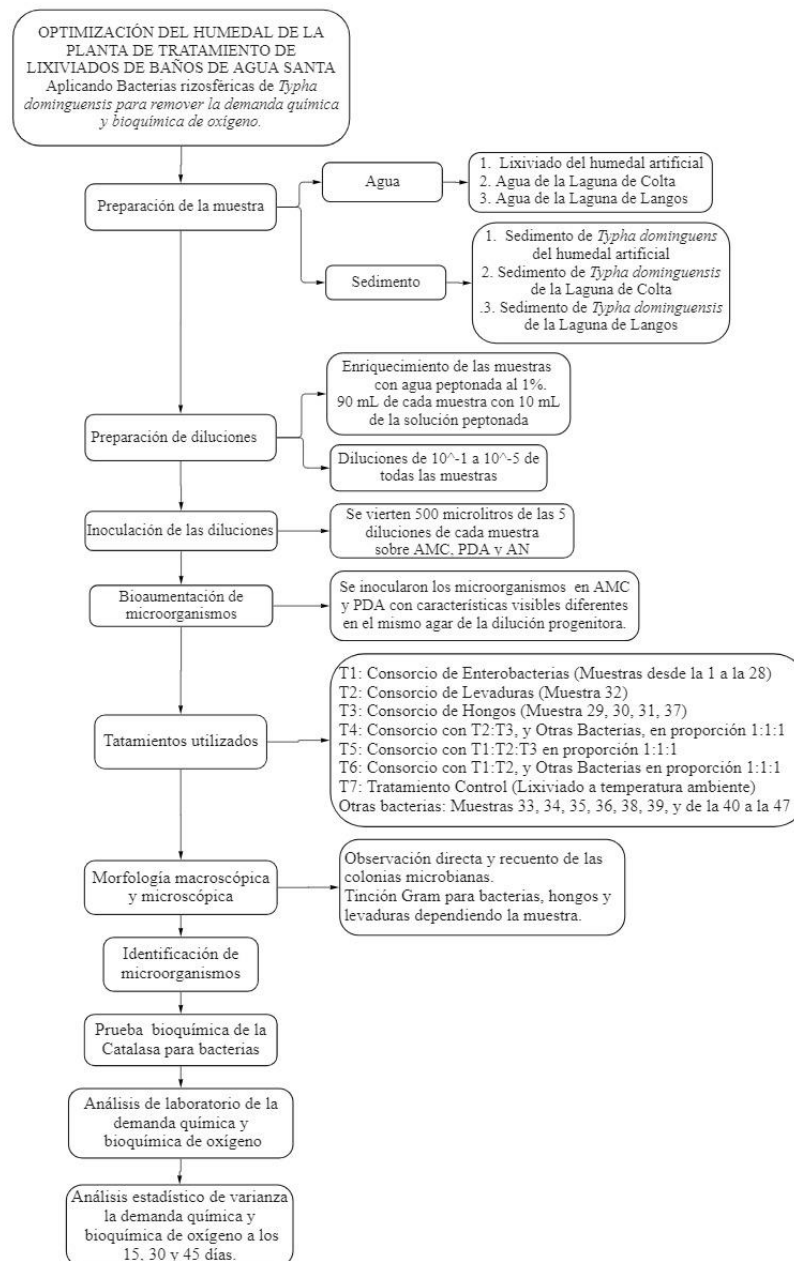


<p>¿La magnificación de los microorganismos rizoféricos provenientes de las plantas de <i>Typha dominguensis</i> presentes en el humedal de la planta de tratamiento de lixiviados del relleno sanitario, la Laguna de Colta y la Laguna de Langos, permitirá obtener consorcios microbianos que en contacto con el lixiviado disminuya el DQO y DBO<sub>5</sub>?</p>	<p>Magnificar los microorganismos rizoféricos provenientes de las plantas <i>Typha dominguensis</i> presentes en el humedal de la planta de tratamiento de lixiviados del relleno sanitario, la Laguna de Colta y la Laguna de Langos, que permitirán obtener consorcios microbianos.</p>	<p>La magnificación de los microorganismos rizoféricos provenientes de las plantas de <i>Typha dominguensis</i> presentes en el humedal de la planta de tratamiento de lixiviados del relleno sanitario, la Laguna de Colta y la Laguna de Langos, permitirán obtener consorcios microbianos que puedan ponerse en contacto con el lixiviado a nivel de laboratorio.</p>	<p><b>Dependientes:</b></p> <p>DQO 100 mg O<sub>2</sub>/L</p>	<p>Límites permisibles de DQO según Normativa Ambiental TULSMA, para la disposición final del lixiviado a un cuerpo de agua dulce.</p>	<p>Analítica</p>	<p>Método APHA 5220-D</p>
<p>¿La evaluación mediante análisis de laboratorio confirmará la eficiencia de los consorcios microbianos en la disminución de la demanda química y bioquímica de oxígeno del lixiviado en los diferentes tratamientos propuestos?</p>	<p>Evaluar la capacidad de los consorcios microbianos en la disminución de la demanda química y bioquímica de oxígeno del lixiviado, mediante análisis de laboratorio.</p>	<p>La evaluación mediante análisis de laboratorio confirmará la eficiencia de los consorcios microbianos en la disminución de la demanda química y bioquímica de oxígeno del lixiviado.</p>	<p>DBO<sub>5</sub> 50 mg O<sub>2</sub>/L</p>	<p>Límites permisibles de DBO<sub>5</sub> según Normativa Ambiental TULSMA, para la disposición final del lixiviado a un cuerpo de agua dulce.</p>	<p>Analítica</p>	<p>Método APHA 5210-B</p>
<p>¿La Validación del consorcio microbiano mediante un análisis estadístico comprobará el consorcio más eficiente en la remoción de la demanda química y bioquímica de oxígeno del lixiviado?</p>	<p>Validar el consorcio microbiano más eficiente en la remoción de la demanda química y bioquímica de oxígeno a través de un análisis estadístico.</p>	<p>Un análisis estadístico validará los consorcios bacterianos más eficientes en la remoción de la demanda química y bioquímica de oxígeno del lixiviado.</p>				

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

### 3.12. Experimentación

El objetivo de este proyecto de investigación fue encontrar una población de microorganismos eficiente del medio rizosférico de las plantas de *Typha domingensis* (Totora) para disminuir del DQO y DBO<sub>5</sub> de los lixiviados del Humedal de la Planta de Tratamiento de Lixiviados del Relleno Sanitario de Baños de Agua Santa bajo condiciones controladas de laboratorio.



**Figura 1-3** Proceso de experimentación

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

### 3.12.1. Toma de muestras

Se tomaron muestras de los lixiviados y del sedimento rizosférico de las totoras del humedal de la Planta de tratamiento de Lixiviados del Relleno Sanitario de Baños de Agua Santa, y del agua y sedimento de dos lagunas con plantas de Totorá en su medio natural, estas son la Laguna de Colta ubicada en el cantón Colta y la Laguna de Langos ubicada en el cantón Guano, ambas lagunas de la provincia de Chimborazo.

Para evitar que los microorganismos presentes en la muestra alteren su actividad biológica se tomó precauciones para su conservación y transporte en base a la Norma Técnica Ecuatoriana 2169:2013, como la utilización de envases ámbar y cajas térmicas para mantener la muestra por debajo de la temperatura del sitio de muestreo (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2013c).

**Tabla 4-3** Ubicación de las unidades de análisis

Unidad de análisis	Ubicación	Coordenadas Geográficas	Coordenadas
Humedal artificial	Relleno Sanitario de Baños de Agua Santa	1°24'54.8"S 78°28'20.6"W	-1.415222, -78.472382
Laguna de Colta	Cantón Colta, Provincia de Chimborazo	1°44'24.4"S 78°45'16.7"W	-1.740105, -78.754633
Laguna de Langos	Cantón Guano, Provincia de Chimborazo	1°37'06.0"S 78°38'02.3"W	-1.618332, -78.633960

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

La parte experimental se realizó en el Laboratorio de Ciencia Biológicas de la Facultad de Recursos Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y los informes de los análisis iniciales y finales de los dos parámetros analizados DQO y DBO5 se realizaron en LAQMIC Servicios Analíticos Químicos y Microbiológicos que están ubicados en la Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes en Riobamba – Ecuador.

La siguiente tabla describe la nomenclatura de las unidades de análisis que fueron utilizadas en el desarrollo de esta investigación.

**Tabla 5-3** Nomenclatura de las unidades de análisis

Descripción de la muestra	Muestra
Lixiviado del Humedal artificial	1
Agua de la Laguna de Colta	2
Agua de la Laguna de Langos	3
Sedimento rizosférico de las totoras del Humedal Artificial de la Planta de Tratamiento de Lixiviados de Baños de Agua Santa	S1
Sedimento rizosférico de las totoras de la Laguna de Colta	S2
Sedimento rizosférico de las totoras de la Laguna de Langos	S3

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

### **3.12.2. Análisis de pH de las muestras**

Se utilizó un pH-metro para determinar el pH de las muestras del lixiviado, agua y sedimento.

### **3.12.3. Inoculación de los microorganismos existentes en las muestras**

#### **3.12.3.1. Preparación de Agar**

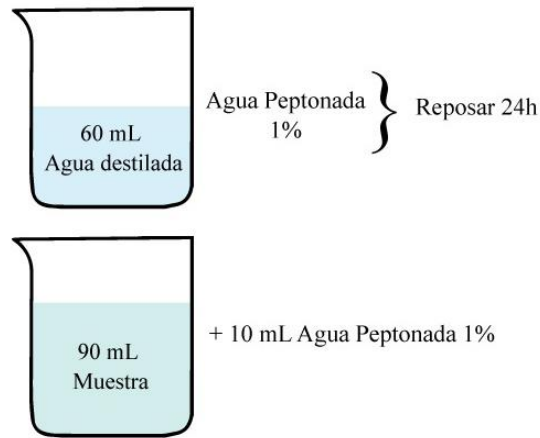
Se preparó AMC, PDA y AN, tomando en cuenta las instrucciones de preparación dadas por el fabricante presentes en cada envase.

- 50 gramos de AMC se disuelven en 1 litro de agua destilada.
- 39 gramos de PDA se disuelven en 1 litro de agua destilada.
- 23 gramos de AN se disuelven en 1 litro de agua destilada.

Se preparó cada agar y se esterilizaron en el autoclave por 20 minutos. Se llevaron a la cámara de aislamiento (desinfectada con alcohol y UV por 5 minutos), se prendió el blower y la luz blanca. Una vez frío el agar se vertió en 30 cajas Petri por Agar, obteniéndose 90 en total.

#### **3.12.3.2. Preparación de diluciones de las muestras**

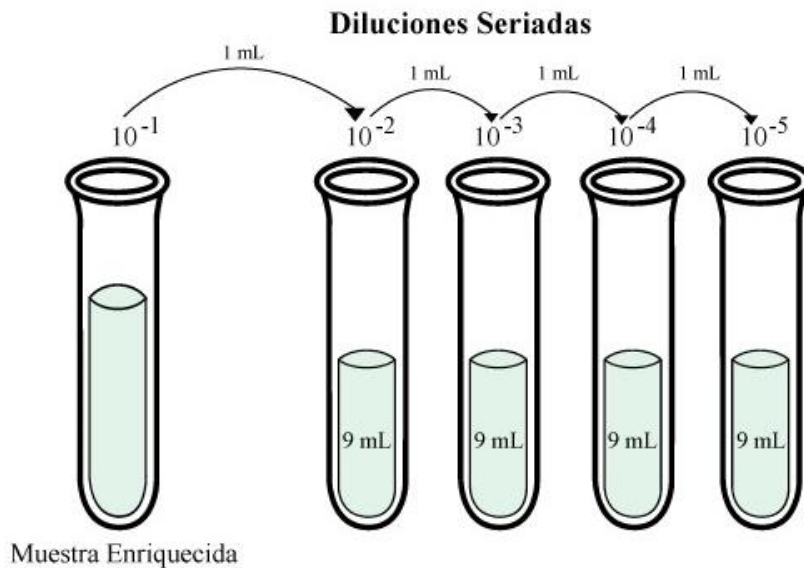
Se preparó agua peptonada al 1% con agua 60 mL de destilada estéril y se deja reposar por 24 horas. Se enriquece las 6 muestras 1, 2, 3, S1, S2 y S3, donde se coloca en una botella 90 mL de cada muestra con 10 mL de la solución peptonada al 1%.



**Figura 2-3** Enriquecimiento de las muestras

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

Se prepararon las diluciones de las muestras para obtener microorganismos en suspensión, donde la dilución  $10^{-1}$  es la muestra enriquecida. Para las siguientes diluciones, en un tubo de ensayo (previamente etiquetado) se agrega 9 mL de agua destilada estéril y con una micropipeta se agregan  $1000 \mu\text{L}$  de la dilución anterior para obtener la siguiente dilución  $10^{-2}$  y sucesivamente hasta llegar a la dilución  $10^{-5}$ , obteniéndose 5 diluciones por muestra y en total 30 diluciones por todas las muestras. Se debe cambiar las puntas de la micropipeta en cada dilución para evitar contaminación.

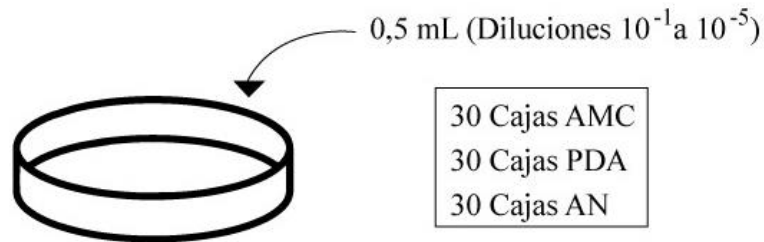


**Figura 3-3** Diluciones seriadas

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

### 3.12.3.3. Inoculación de las diluciones

En las cajas Petri previamente etiquetadas con AMC, PDA y AN sólido se vertió 0,5 mL de las diluciones de cada muestra sobre la superficie del agar y se homogenizó con movimientos rotatorios. Estas se incubaron a una temperatura similar a la que los microorganismos viven en el Humedad de la Planta de Tratamiento de Lixiviados de 13 - 15 °C por 24 horas. Una vez frío el agar se vertió en 30 cajas Petri por Agar, obteniéndose 90 en total.



**Figura 4-3** Inoculación de las diluciones

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

### 3.12.4. Determinación de Unidades formadoras de colonias (UFC)

Para obtener el valor de las Unidades formadoras de colonias de los microorganismos presentes en las muestras después de 24 horas de su incubación, se tomaron en cuenta las cajas Petri con las diluciones  $10^{-5}$  por cada agar, esto permitió el recuento macroscópico (células visibles) en placa del número de colonias.

Se utilizó la siguiente fórmula para calcular las UFC. El resultado se expresa como el número de microorganismos por volumen de muestra de lixiviado (UFC/mL).

**Ecuación 1-3** Unidades formadoras de colonias por recuento microscópico

$$\frac{UFC}{mL} = \frac{\left[ \frac{\text{Número de colonias}}{\text{de la dilución}} \right] * \left[ \frac{\text{Inverso del Factor de dilución decimal}}{\text{de la dilución}} \right] * \left[ \frac{\text{Volumen inoculado}}{\text{de la dilución (mL)}} \right]}{\text{Volumen total (mL)}}$$

Se volvió a inocular la muestra 2 porque no se pudo realizar el recuento de las colonias, esto por algún error durante el proceso. Las diluciones se realizaron de  $10^{-1}$  a  $10^{-8}$  y se procedió con el recuento macroscópico de las colonias en las diluciones  $10^{-8}$  en AMC, PDA y AN.

No se tomaron en cuenta las diluciones de las muestras en AN para el aislamiento debido a que sobrepasan las 300 colonias y no garantizan un UFC/mL confiable, además, las colonias microbianas eran las mismas en todas las cajas y sin características visibles diferentes.

Estas se esterilizaron a 212 °C por 40 minutos antes de ser desechados, este procedimiento se realizó para todas las cajas de cultivo descartadas.

### 3.12.5. *Bioaumentación de los microorganismos*

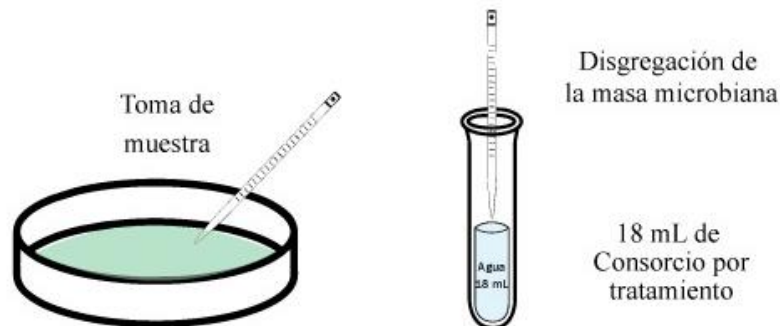
El proceso de bioaumentación se realizó en la cámara de aislamiento y encendida la flama del mechero, se pasó el asa de siembra por la llama para esterilizarla y posterior se tomó una cantidad de masa de microorganismos de las colonias anteriormente inoculadas con características diferentes de acuerdo a la morfología de las colonias de bacterias, hongos y levaduras de las muestras 1, 2, 3, S1, S2, S3. Se inocularon en forma de zigzag sobre el medio de cultivo solidificado que contiene el mismo agar AMC y PDA del cual proviene los microorganismos, de esta forma se obtuvieron microorganismos puros. Cabe recalcar que los microorganismos en AN no se utilizaron.

Los microorganismos para este proceso fueron seleccionados por sus características morfológicas diferentes de las colonias de cada caja Petri original, para esto, se codificó a cada una con las letras el abecedario.

Las cajas Petri ll, u, v, y, revelaron contaminación, por lo que se volvieron a inocular con la misma nomenclatura, ll1, ll2, u1, u2, v1, v2, y1, y2.

### 3.12.6. *Tratamientos utilizados en la investigación*

Para los tratamientos se realizaron consorcios microbianos y la Tabla 7-3 describe de forma general los microorganismos que se utilizaron para cada consorcio. Para la preparación de cada consorcio con el asa de inoculación se tomó una cantidad de masa de microorganismos de las cajas Petri especificadas y se disgregaron en 18 mL de agua destilada estéril. De las cajas que fueron re-inoculadas solo las muestras ll1, v2, y2 se incluyeron en los consorcios para los tratamientos, así como para su almacenado, las demás no se utilizaron porque revelaron contaminación.



**Figura 5-3** Preparación de consorcios microbianos

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

**Tabla 6-3** Descripción general de los tratamientos

Tratamiento	Descripción del Tratamiento
T1	Consortio de Enterobacterias
T2	Consortio de Levaduras
T3	Consortio de Hongos
T4	Consortio con T2:T3, y Otras Bacterias, en proporción 1:1:1
T5	Consortio con T1:T2:T3 en proporción 1:1:1
T6	Consortio con T1:T2, y Otras Bacterias en proporción 1:1:1
T7	Tratamiento Control, con el lixiviado a temperatura ambiente, sin la adición de consorcios
Otras Bacterias	Consortio de las Bacterias de las cajas Petri r, s, t, v2, x, y2 y diluciones $10^{-1}$ hasta las $10^{-8}$ de la muestra 2 (Todas las cajas de PDA) (Muestras 33, 34, 35, 36, 38, 39, y de la 40 a la 47).

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

**Tabla 7-3** Descripción específica de los tratamientos

Tratamiento	Composición de los consorcios para cada tratamiento
T1	Enterobacterias de las Cajas Petri a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l, y diluciones $10^{-1}$ a la dilución $10^{-8}$ de la muestra 2 (Todas las cajas de AMC). (Muestras desde la 1 a la 28).
T2	Levaduras de la caja Petri q (Muestra 32).
T3	Hongos de las cajas Petri ll1, o, p, w (Muestra 29, 30, 31, 37)
T4	Consortio con 4 mL de los tratamientos T2:T3, y Otras Bacterias, en proporción 1:1:1
T5	Consortio con 4 mL de los tratamientos T1:T2:T3 en proporción 1:1:1
T6	Consortio con 4 mL de los tratamientos T1:T2, y otras Bacterias, en proporción 1:1:1
T7	Tratamiento control con el lixiviado a temperatura ambiente.

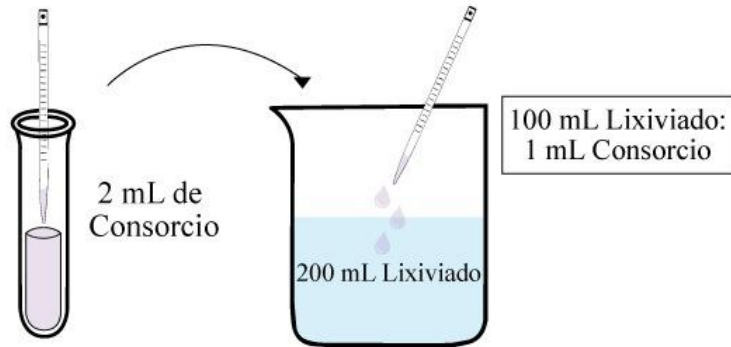
Realizado por: Jenny Barragán, 2022

La tabla 7-3 describe de forma específica las muestras utilizadas en cada tratamiento. La codificación con letras del abecedario coincide con la codificación de números arábigos que están entre paréntesis.

Para la instalación de la investigación, se agregó 2 mL de consorcio por cada 200 mL de lixiviado. Se utilizó 600 mL de volumen de lixiviado/consorcio por cada fecha de análisis de los parámetros



DQO y DBO<sub>5</sub> de acuerdo a la planificación. Los 600 mL se distribuyeron en 3 contenedores estériles de 200 mL, obteniéndose 3 contenedores (3 repeticiones) por cada fecha de análisis y 9 contenedores en total por cada tratamiento.



**Figura 6-3** Instalación de la experimentación

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

Se establecieron los períodos para el análisis de los parámetros de DQO y DBO<sub>5</sub> de los 7 tratamientos en 3 periodos quincenales (15, 30 y 35 días).

**Tabla 8-3** Planificación para los análisis de los parámetros DQO y DBO<sub>5</sub>

Análisis	Fecha de análisis
Análisis 1	3 de diciembre del 2021
Análisis 2	13 de diciembre del 2021
Análisis 3	03 de enero del 2022

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

### 3.12.7. *Determinación de la concentración microbiana presente en los consorcios de cada tratamiento*

Para conocer la concentración inicial UFC/mL lixiviado presente en los consorcios microbianos se contó los microorganismos en suspensión de los diferentes tratamientos mediante un recuento microscópico en la cámara de recuento Neubauer bajo el microscopio con el objetivo 100X. Las tablas del recuento de cada tratamiento se adjuntan en los Anexos R, S, T, U, V, W y X.

Para el cálculo del recuento microscópico se utilizó la ecuación 1-3.

### **3.12.8. Almacenado de los microorganismos**

Los microorganismos bioaumentados se conservan por congelación a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  en el Laboratorio de Ciencias Bológicas de la Facultad de Recursos Naturales. De cada caja Petri se tomó una cantidad de masa de microorganismos que se suspendieron en glicerol al 20% y se almacenaron en criotubos previamente esterilizados y etiquetados. Este procedimiento permite la conservación genética estable de los microorganismos y puedan ser estudiados posteriormente.

### **3.12.9. Morfología macroscópica y microscópica**

La tinción se realizó tomando en cuenta la clase de microorganismo en AMC y PDA.

#### ➤ Muestras bacterianas en AMC:

En una placa de vidrio se realizó un frotis microbiano, donde se colocó una gota de agua destilada estéril y se disgregó una pequeña cantidad de masa bacteriana de cada muestra, se extendió con el objetivo de separar los microorganismos y estos sean fáciles de observar mediante el análisis microscópico. Posteriormente se deja secar al ambiente y se fija a la llama del mechero, después se realiza la tinción donde se vierte colorante Cristal Violeta sobre muestra de la placa de vidrio y se deja reposar por un minuto, se lava con agua destilada y se deja secar (Vanegas, 2015b). Una vez seca, se observa a través del microscopio con un aumento 100X y se clasifican se acuerdo a su morfología en Gram Positivas o Negativas. Este procedimiento se realizó a las muestras 1 a la 20.

#### ➤ Muestras bacterianas en PDA:

Preparado el frotis se procedió con la tinción donde se vierte encima de la muestra colorante Cristal Violeta y se deja reposar por un minuto, después se vierte Lugol por un minuto, encima se vierte alcohol cetona por cinco minutos, finalmente se vierte safranina y se deja reposar 5 minutos. Se lavó con agua destilada y se dejó secar. Una vez seca, se observa a través del microscopio con un aumento 100X y se clasifican. Este procedimiento se realizó a las muestras 33 a la 36, y 38 a la 47.

#### ➤ Muestras de hongos en PDA:

Preparado el frotis, se siguió con el mismo procedimiento del punto anterior con la diferencia que no se sellan a la llama del mechero. Se vierte Arsenina Acética, se deja secar y se observa al microscopio. Este procedimiento se realizó a las muestras 29, 30, 31 y 37.

➤ Muestra de levadura en PDA:

Preparado el frotis, se vierte Azul de Bromotimol, se deja secar y se observa a través del microscopio. Este procedimiento se realizó a la muestra 32.

### 3.12.10. Prueba bioquímica de la Catalasa en bacterias

En una placa de vidrio con un asa estéril se depositó una cantidad de masa de microorganismos por placa y se dejó caer una gota de peróxido de hidrógeno. El desprendimiento de oxígeno se elimina en forma de efervescencia que es un indicativo de Catalasa positiva.

La siguiente tabla describe la nomenclatura para la diferenciación de las Bacterias de acuerdo con la prueba bioquímica de la Catalasa.

**Tabla 9-3** Especificaciones para la prueba de Catalasa

Prueba bioquímica de Catalasa	
Positiva	+
Negativa	-

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

### 3.12.11. Porcentaje de remoción

Se calculó el porcentaje de remoción del DQO y DBO<sub>5</sub>, para esto, se tomó en cuenta los valores promedio de los resultados de las Repeticiones de todos los tratamientos analizados a los 15 días desde el inicio de la investigación, y los valores promedio de los resultados de las Repeticiones analizadas a los 45 días de la investigación experimental.

Para esto se utilizó la siguiente ecuación:

$$E = \frac{DQO_i - DQO_f}{DQO_i} \quad \text{Ecuación 2-3 Eficiencia de remoción}$$

Dónde:

E: Eficiencia de remoción de DQO, en %

DQO<sub>i</sub>: Carga contaminante de DQO a los 15 días, en mg /L

DQO<sub>f</sub>: Carga contaminante de DQO a los 45 días, en mg /L

La Ecuación 2-3 se aplicó para el DBO<sub>5</sub>.

### **3.13. Análisis estadístico**

Para la comprobación de la hipótesis propuesta se aplicó un tipo Experimental factorial mixto con un diseño Completamente al azar (DCA), en cuales toman en cuenta 2 factores:

Factor 1: Tipos de tratamiento, composición de consorcio microbiano (7 grupos: T1, T2, T3, T4, T5, T6 y T7). Factor inter-sujetos.

Factor 2: Tiempo transcurrido, del consorcio microbiano en contacto con el lixiviado (3 grupos: 15, 30 y 45 días de contacto). Factor intra-sujetos.

VARIABLES ALEATORIAS: DQO y DBO<sub>5</sub>.

Número de unidades experimentales: 7

Número de muestras por cada unidad experimental: 3

Número total de muestras: 21

La prueba de hipótesis aplicada es el ANOVA (análisis de varianza) con dos factores diseño mixto (inter-sujetos e intra-sujetos) a los datos de DQO y DBO<sub>5</sub>, teniendo como factores a los siete tipos de tratamientos y los tres tiempos transcurridos de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado (15, 30 y 45 días). La aplicación de la prueba ANOVA supone la existencia de distribución normal de los datos (prueba de Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas (pruebas de Levene y esfericidad de Mauchly). Para todas las pruebas se toma un nivel de significancia menor a 0,05. Adicionalmente se lleva a cabo un análisis de medias de las diferentes condiciones a través de ajustes Post-Hoc de los efectos principales con Bonferroni; esto sirve para identificar en donde se concentran las diferencias significativas a través de subgrupos homogéneos, siendo que interesa detectar los tratamientos que son significativamente mejores que el Tratamiento control T7 (aquellos que presentan menores valores de DQO y DBO<sub>5</sub>).

## CAPÍTULO IV

### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Resultados

##### 4.1.1. *Diagnóstico de la planta de tratamiento de lixiviados del relleno sanitario de Baños de Agua Santa.*

La composición de los desechos sólidos orgánicos que son depositados en las celdas emergentes del Relleno Sanitario, tiene la siguiente composición:

**Tabla 1-4** Composición de los desechos sólidos generados en Baños de Agua Santa

Nº	Tipo de residuos solidos	Peso (%)
1	Materia orgánica	68,15
2	Plásticos	10,98
3	Papel y cartón	5,36
4	Metales	0,30
5	Vidrio	2,57
6	Textiles	2,06
7	Otros	10,58
Porcentaje total		100

Fuente: Dirección Municipal de Saneamiento Ambiental del Cantón Baños, 2017

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

La tecnología existente para el tratamiento de lixiviados generados en el relleno sanitario utiliza un sistema de depuración biológico, el cual permite reducir la carga orgánica, los coliformes fecales y patógenos. Este sistema fue construido en el año 2017 por el Ministerio del Ambiente para alcanzar los límites permisibles que debe cumplir el lixiviado tratado antes de ser vertido al Río Chambo, de acuerdo, con la Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluente al Recurso Agua, Anexo 1 del Libro VI en el literal 5.2.4. Normas generales para descarga de efluentes a los cuerpos de agua dulce, específicamente en la Tabla 10. Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce (Ministerio del Ambiente & Saneamiento Ambiental, 2017).

El sistema biológico está integrado por un Sedimentador primario de doble cámara, Filtro biológico anaerobio de flujo ascendente, y un Humedal artificial SFS.

Los lixiviados producidos por los residuos sólidos de las celdas emergentes del Relleno Sanitario de Baños de Agua Santa son domésticos, por esa razón los valores de metales pesados están dentro de la Normativa de acuerdo con el último informe de resultados. Los lixiviados se percolan y son conducidos mediante tubería a la Planta de tratamiento de lixiviados, que está constituida por un Sedimentador primario donde precipitan la mayoría de sólidos, un Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente donde el lixiviado ingresa al reactor por la parte inferior y fluye hacia arriba por un manto de lodo suspendido que filtra el lixiviado gracias al sustrato y actividad microbológica anaerobia (Mendoza & Restrepo, 2020). Después del reactor el lixiviado entra a un humedal con un tiempo de retención de 1 día para ser vertido al Río Chambo. Los planos estructurales del humedal se pueden observar en el Anexo A. La siguiente tabla detalla los parámetros de diseño del humedal.

**Tabla 2-4** Parámetros de diseño del humedal artificial

<b>Estimación Caudal Generado de Lixiviados (Método Bilitewski)</b>		
<b>Parámetro</b>	<b>Valor</b>	<b>Unidades</b>
Caudal de lixiviado	21,62	m <sup>3</sup> /día
<b>Humedal Artificial SFS</b>		
Caudal Q	21,62	m <sup>3</sup> /día
Medio: Grava media	25,00	Mm
Porosidad del medio de contacto (n)	0,38	--
Vegetación	Totora	--
Profundidad SFS (y)	0,60	M
Temperatura del líquido	27	C°
Área superficial: $A_s = Q (\ln C_o - \ln C_e) / Kt(y)(n)$	110,02	m <sup>2</sup>
Largo (L)	18,00	M
Ancho	6,11	M
Ancho Asumido	6,00	M
Pendiente del fondo del lecho % en decimales	0,05	%
$TRH = L * W * y * n / Q$	1,14	Días

**Fuente:** Dirección Municipal de Saneamiento Ambiental del Cantón Baños, 2020

**Realizado por:** Jenny Barragán, 2022



**Figura 1-4** Humedal artificial

**Fuente:** Relleno Sanitario de Baños de Agua Santa, 2021

Como se observa en la Figura 1-4 el humedal artificial presenta plantas de totora dispersas de acuerdo con el área del humedal. Los resultados de los parámetros analizados al afluente de la entrada de la planta de tratamiento (pozo 1) se adjunta en el Anexo B y los resultados de los parámetros del lixiviado tratado se adjuntan en el Anexo C, los dos con fecha de análisis desde el 25 de Septiembre al 13 Octubre del 2020 y con una fecha de emisión 13 de octubre. Los Análisis fueron realizados por la empresa Lacquanálisis con un tipo de muestra puntual.

**Tabla 3-4** Comparación entre los límites permisibles de descarga a un cuerpo de agua dulce y los resultados del efluente a la salida del humedal.

Parámetros analizados	Unidad	Método	Límites permisibles de acuerdo a la Norma Ambiental	Resultados del efluente en la descarga final
<b>ANÁLISIS FÍSICO – QUÍMICOS</b>				
Aluminio	mg/L	PRO TEC 046 / HACH 8012	5,00	<0,050
Bario	mg/L	EPA 3005 A, Re v. 01, 1992; EPA 6010 B, December 1996; Standard Methods Ed. 23, 2017, 3120 B / PA-117.00	2,00	0,048
Zinc	mg/L	PRO TEC 065 / HACH 8009	5,00	2,28
Cobre	mg/L	PRO TEC 032 / HACH 8506	1,00	<0,05
Cromo Hexavalente	mg/L	PRO TEC 041 / HACH 8023	0,50	<0,041
DBO <sub>5</sub>	mg/L	PRO TEC 066 / HACH 8043	50,00	1327,22
DQO	mg/L	PRO TEC 014 / APHA 5220 D	100,00	2365,00
Fósforo Total	mg/L	PRO TEC 063 / HACH 8048	10,00	1,28
Hierro	mg/L	PRO TEC 020 / HACH 8008	10,00	6,26
Manganeso	mg/L	PRO TEC 048 / HACH 8149	2,00	0,963
Níquel	mg/L	EPA 3005 A, Re v. 01, 1992; EPA 6010 B, December 1996; Standard Methods Ed. 23, 2017, 3120 B / PA-117.00	2,00	0,051
Nitrógeno Total Kjeldahl	mg/L	Standard Methods Ed. 23, 2017, 4500-Norg C / PA-72.00	50,00	200,00
pH	UpH	PRO TEC 011 / APHA 4500 H+ B	5-9	8,52
Plomo	mg/L	EPA 3005 A, Re v. 01, 1992; EPA 6010 B, December 1996; Standard Methods Ed. 23, 2017, 3120 B / PA-117.00	0,2	<0,001
Sólidos suspendidos totales	mg/L	PRO TEC 029 / HACH 8006	80,00	236
Sólidos Totales	mg/L	PRO TEC 017 / APHA 2540 B	1600,00	2072
Sulfatos	mg/L	PRO TEC 026 / HACH 8051	1000,00	561,00
Sulfuros	mg/L	PRO TEC 042 / HACH 8131	0,5	0,374

Fuente: Dirección Municipal de Saneamiento Ambiental del Cantón Baños, 2020

Realizado por: Jenny Barragán, 2022



La tabla 3-4 muestra la comparación entre los límites permisibles de descarga a un cuerpo de agua dulce descritos en la Norma Ambiental y los resultados de los lixiviados a la salida del humedal artificial de la planta de tratamiento de lixiviados (datos que se pueden verificar en el Anexo C). Los parámetros resaltados de color azul son los parámetros fuera de Norma y los parámetros en los que nos enfocamos en esta investigación fueron el DQO y DBO<sub>5</sub>.

#### 4.1.2. Resultados iniciales de DQO y DBO<sub>5</sub>

**Tabla 4-4** Resultados iniciales de la muestra 1

Parámetros analizados	Unidades	Métodos de análisis	Muestra 1
DQO	mg/L	APHA 5220-D	3780,00
DBO <sub>5</sub>	mg/L	APHA 5210-B	3000,00
Nitrógeno orgánico total	mg/L	4500-N org-C	1050,00
Sólidos Suspendidos	mg/L	APHA 2540-D	880,00
Sólidos totales	mg/L	APHA 2540-B	10580,00

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

La tabla muestra los resultados iniciales de la muestra 1 de los parámetros en base a la Tabla 3-4 resaltados de color azul. Los parámetros, Nitrógeno total, Sólidos suspendidos y Sólidos totales se analizaron como complemento al DQO y DBO<sub>5</sub>. Estos valores se pueden verificar en el Anexo D.

**Tabla 5-4** Resultados iniciales de la muestra 2

Parámetros analizados	Unidades	Métodos de análisis	Muestra 2
DQO	mg/L	APHA 5220-D	54,00
DBO <sub>5</sub>	mg/L	APHA 5210-B	11,80

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

Los valores de la Tabla 5-4 se pueden verificar en el Anexo E.

**Tabla 6-4** Resultados iniciales de la muestra 3

Parámetros	Unidades	Métodos de análisis	Muestra 3
DQO	mg/L	APHA 5220-D	50,00
DBO <sub>5</sub>	mg/L	APHA 5210-B	11,00

Realizado por: Jenny Barragán, 2020

Los valores de la Tabla 6-4 se pueden verificar en el Anexo F.

#### 4.1.3. Análisis de pH

**Tabla 7-4** pH y temperatura de las muestras

Muestra	pH	Temperatura (°C)
Agua destilada	6,60	12,00
1	8,80	12,20
2	9,60	12,50
3	8,00	13,40
S1	8,80	17,30
S2	9,10	17,90
S3	7,40	18,09

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

#### 4.1.4. Observaciones de las muestras inoculadas en AMC, PDA y AN

Se evaluó el crecimiento de los microorganismos inoculados transcurridas 24 horas y la Tabla 8-4 muestra sus observaciones de acuerdo a cada dilución en el agar correspondiente. Los microorganismos tienen un tiempo de generación rápido, esto puede ayudar al ambiente natural del humedal y se pueda obtener una cantidad masa microbiana considerable.

**Tabla 8-4** Observaciones de las muestras inoculadas en AMC, PDA y AN

Muestra	Dilución	AMC	PDA	AN
1	10 <sup>-1</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio
1	10 <sup>-2</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Sin crecimiento Sin cambio del medio	Mayor crecimiento Sin cambio del medio
1	10 <sup>-3</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Sin crecimiento Sin cambio del medio	Mayor crecimiento Sin cambio del medio
1	10 <sup>-4</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio
1	10 <sup>-5</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Poco crecimiento Sin cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio
2	10 <sup>-1</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio
2	10 <sup>-2</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio
2	10 <sup>-3</sup>	Menor Crecimiento Sin cambio del medio	Menor Crecimiento Sin cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio
2	10 <sup>-4</sup>	Menor Crecimiento Cambio del medio	Menor Crecimiento Sin cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio

2	10 <sup>-5</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Menor Crecimiento Sin cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio
3	10 <sup>-1</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio
3	10 <sup>-2</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio
3	10 <sup>-3</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio	Mayor crecimiento Sin cambio del medio
3	10 <sup>-4</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio
3	10 <sup>-5</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio
S1	10 <sup>-1</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio
S1	10 <sup>-2</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio
S1	10 <sup>-3</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Mayor crecimiento Sin cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio
S1	10 <sup>-4</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio
S1	10 <sup>-5</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio
S2	10 <sup>-1</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio
S2	10 <sup>-2</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio
S2	10 <sup>-3</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Mayor crecimiento Sin cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio
S2	10 <sup>-4</sup>	Menor Crecimiento Cambio del medio	Mayor crecimiento Sin cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio
S2	10 <sup>-5</sup>	Menor Crecimiento Cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio
S3	10 <sup>-1</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio
S3	10 <sup>-2</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio
S3	10 <sup>-3</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Mayor crecimiento Sin cambio del medio	Crecimiento Sin cambio del medio
S3	10 <sup>-4</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio
S3	10 <sup>-5</sup>	Crecimiento Cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio	Menor crecimiento Sin cambio del medio

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

#### 4.1.5. *Determinación de Unidades formadoras de colonias (UFC)*

**Tabla 9-4** Unidades formadoras de colonias en AMC

Muestra	Dilución	Número de colonias	UFC (UFC/mL)
1	10 <sup>-5</sup>	42	210000
2	10 <sup>-5</sup>	1	5000
3	10 <sup>-5</sup>	164	820000
S1	10 <sup>-5</sup>	10	50000
S2	10 <sup>-5</sup>	88	440000
S3	10 <sup>-5</sup>	77	385000

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

Los datos tabulados en la Tabla 9-4 muestran las unidades formadoras de colonias en AMC de las diferentes muestras.

**Tabla 10-4** Unidades formadoras de colonias de la Muestra 2

Unidades formadoras de colonias de la muestra 2				
Muestra	Dilución	Agar	Número de colonias	UFC (UFC/mL)
2	10 <sup>-8</sup>	AMC	1	5000000
2	10 <sup>-8</sup>	PDA	1	5000000
2	10 <sup>-8</sup>	AN	6	30000000

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

Los datos tabulados en la Tabla 10-4 muestran el recuento macroscópico de las colonias re-inoculadas de la muestra 2 en las diluciones 10<sup>-8</sup> en AMC, PDA y AN. Los microorganismos en AN tiene un mejor número de colonias con referencia a los otros cultivos, esto porque los microorganismos de la dilución son específicos para este agar.

Las siguientes tablas muestran las Unidades formadoras de Colonias en PDA y AN (UFC/mL).

**Tabla 11-4** Unidades formadoras de colonias en PDA

<b>Unidades formadoras de colonias en PDA</b>			
<b>Muestra</b>	<b>Dilución</b>	<b>Número de colonias</b>	<b>UFC (UFC/mL)</b>
1	10 <sup>-5</sup>	8	40000
2	10 <sup>-5</sup>	31	155000
3	10 <sup>-5</sup>	28	140000
S1	10 <sup>-5</sup>	51	255000
S2	10 <sup>-5</sup>	69	345000
S3	10 <sup>-5</sup>	70	350000

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

**Tabla 12-4** Tabla Unidades formadoras de colonias en AN

<b>Unidades formadoras de colonias en AN</b>			
<b>Muestra</b>	<b>Dilución</b>	<b>Número de colonias</b>	<b>UFC (UFC/mL)</b>
1	10 <sup>-5</sup>	230	1150000
2	10 <sup>-5</sup>	más de 300	-
3	10 <sup>-5</sup>	más de 300	-
S1	10 <sup>-5</sup>	100	500000
S2	10 <sup>-5</sup>	más de 300	-
S3	10 <sup>-5</sup>	más de 300	-

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

#### 4.1.6. Bioaumentación de las colonias

**Tabla 13-4** Observaciones de los microorganismos bioaumentados en AMC

Muestra	Dilución	Código de las Cajas Petri bioaumentadas	Número de colonias	UFC (UFC/mL)	Observaciones
1	10 <sup>-5</sup>	a	35	175000	Crecimiento uniforme, colonias incoloras a color beige.
1	10 <sup>-5</sup>	b	57	285000	Colonias mucoides de color rosa, colonias incoloras con color del medio de anaranjado a ámbar, e inhibición de parcial a completa.
1	10 <sup>-5</sup>	c	49	245000	Colonias de color de rosa a rojo, algunas colonias son incoloras a color rosa, con inhibición parcial a completa.
S3	10 <sup>-5</sup>	d	62	310000	Colonias de incoloras a color beige, color del medio de anaranjado a ámbar.
S3	10 <sup>-5</sup>	e	69	345000	Crecimiento uniforme, colonias incoloras a color beige.
S3	10 <sup>-5</sup>	f	83	415000	Colonias incoloras a beige, color del medio de anaranjado a ámbar.
2	10 <sup>-5</sup>	g	167	835000	Colonias incoloras a beige, color del medio de anaranjado a ámbar.
2	10 <sup>-5</sup>	h	134	670000	Colonias incoloras a beige, color del medio de anaranjado a ámbar.
S1	10 <sup>-5</sup>	i	11	55000	Colonias incoloras a beige y rosa, color del medio de anaranjado a ámbar.
S1	10 <sup>-5</sup>	j	21	105000	Colonias incoloras a beige y colonias mucoides de color rosa. Color del medio de anaranjado a ámbar.
3	10 <sup>-5</sup>	k	180	900000	Colonias incoloras a beige con agrupamiento dinámico inhibido. Color del medio de anaranjado a ámbar.
3	10 <sup>-5</sup>	l	146	730000	Colonias incoloras a beige con agrupamiento dinámico inhibido. Color del medio de anaranjado a ámbar.

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

La tabla 13-4 presenta las observaciones de los microorganismos bioaumentados en AMC, así como sus unidades formadoras de colonias de acuerdo con su número de colonias.

Las observaciones de las muestras en AMC se pueden verificar en el Anexo L y LL.

**Tabla 14-4** Observaciones de los microorganismos bioaumentados en PDA

Muestra	Dilución	Código de las Cajas Petri bioaumentadas	Número de colonias	UFC (UFC/mL)	Observaciones
1	10 <sup>-1</sup>	ll1	26	1300	Crecimiento uniforme a lo largo del estriado, con elevaciones color gris que son los cuerpos fructíferos llenos de esporas.
1	10 <sup>-1</sup>	ll2	12	600	Colonia circular de color verde y borde blanco, con formación de anillos elevados y textura polvorienta.
1	10 <sup>-1</sup>	o	23	1150	Colonia circular de color blanco, textura algodonosa aterciopelada, superficie elevada en el centro y disminuye hacia los bordes. Reverso color blanco crema intensa con borde filamentosos.
2	10 <sup>-1</sup>	p	1	50	Crecimiento uniforme a lo largo del sembrado estriado, color crema con crecimiento de vellosidades color blanco.
3	10 <sup>-1</sup>	q	5	250	Crecimiento uniforme a lo largo del sembrado estriado, color rosado gelatinoso.
3	10 <sup>-1</sup>	r	1	50	Crecimiento uniforme a lo largo del sembrado estriado, color café gelatinoso.
3	10 <sup>-1</sup>	s	1	50	Crecimiento uniforme a lo largo del sembrado estriado, color café gelatinoso en el centro y a su alrededor café claro con vellosidades blancas.
3	10 <sup>-2</sup>	t	1	500	Crecimiento uniforme a lo largo del sembrado estriado, color café gelatinoso.
S1	10 <sup>-1</sup>	u1	123	6150	Crecimiento puntiforme a lo largo del sembrado y plano convexa de color blanco.
S1	10 <sup>-1</sup>	u2	200	10000	Crecimiento puntiforme a lo largo del sembrado y plano convexa de color blanco.
S1	10 <sup>-1</sup>	u1	123	6150	Crecimiento puntiforme a lo largo del sembrado y plano convexa de color blanco.
S1	10 <sup>-1</sup>	u2	200	10000	Crecimiento puntiforme a lo largo del sembrado y plano convexa de color blanco.
S2	10 <sup>-1</sup>	v1	153	7650	Crecimiento puntiforme a lo largo del sembrado, mucosidad blanca - amarillenta con el centro más mucoso.
S2	10 <sup>-1</sup>	v2	148	7400	Crecimiento puntiforme a lo largo del sembrado, mucosidad blanca - amarillento con el centro más mucoso.
S3	10 <sup>-1</sup>	w	1	50	Colonia circular de rápido crecimiento de color café oscuro y blanco, textura algodonosa. Reverso café negruzco.
S3	10 <sup>-3</sup>	x	32	1600	Crecimiento irregular de mucosidades blancas.
2	10 <sup>-1</sup>	y1	5	250	Crecimiento uniforme a lo largo del sembrado y planoconvexa de color beige.
2	10 <sup>-1</sup>	y2	7	350	Crecimiento uniforme a lo largo del sembrado, mucosidad blanca - transparente, plano convexo.

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

Las cajas Petri ll, u, v, y, revelaron contaminación, por lo que, se inocularon 2 microorganismos por cada caja con la misma nomenclatura ll1, ll2, u1, u2, v1, v2, y1, y2, y se incluyen en la Tabla 14-4.

Las observaciones de las muestras en PDA se pueden verificar en el Anexo M y N.

#### 4.1.7. *Concentración microbiana presente en los consorcios de cada tratamiento*

**Tabla 15-4** Concentración microbiana presente en los consorcios de cada tratamiento

<b>Tratamiento</b>	<b>Concentraciones microbianas de los consorcios (UFC/mL)</b>
T1	7292812
T2	2328000
T3	301000
T4	3553125
T5	2475250
T6	3660000
T7	2751000
Otras Bacterias	4951000

**Realizado por:** Jenny Barragán, 2022

La concentración de “Otras bacterias” que es de 4951000 UFC/mL y se promedian con la concentración de los tratamientos T4 y T6 porque este grupo de bacterias está incluido en los tratamientos antes mencionados, y sus resultados se tabulan en la Tabla 15-4. El recuento en la cámara de Neubauer se puede observar en el Anexo R, S, T, U, V, W y X.



#### 4.1.8. Clasificación de microorganismos

**Tabla 16-4** Clasificación general de los microorganismos presentes en los tratamientos

Muestra	Dilución	Medio	Cajas Petri aisladas	Código para su almacenamiento. Congelación (-20 °C)	Bacteria	Hongo	Levadura	Otros
1	10 <sup>-5</sup>	AMC	a	1	x			
1	10 <sup>-5</sup>	AMC	b	2	x			
1	10 <sup>-5</sup>	AMC	c	3	x			
S3	10 <sup>-5</sup>	AMC	d	4	x			
S3	10 <sup>-5</sup>	AMC	e	5	x			
S3	10 <sup>-5</sup>	AMC	f	6	x			
2	10 <sup>-5</sup>	AMC	g	7	x			
2	10 <sup>-5</sup>	AMC	h	8	x			
S1	10 <sup>-5</sup>	AMC	i	9	x			
S1	10 <sup>-5</sup>	AMC	j	10	x			
3	10 <sup>-5</sup>	AMC	k	11	x			
3	10 <sup>-5</sup>	AMC	l	12	x			
2	10 <sup>-1</sup>	AMC	-	13	x			
2	10 <sup>-2</sup>	AMC	-	14	x			
2	10 <sup>-3</sup>	AMC	-	15	x			
2	10 <sup>-4</sup>	AMC	-	16	x			
2	10 <sup>-5</sup>	AMC	-	17	x			
2	10 <sup>-6</sup>	AMC	-	18	x			
2	10 <sup>-7</sup>	AMC	-	19	x			
2	10 <sup>-8</sup>	AMC	-	20	x			
2	10 <sup>-1</sup>	AN	-	21				
2	10 <sup>-2</sup>	AN	-	22				
2	10 <sup>-3</sup>	AN	-	23				
2	10 <sup>-4</sup>	AN	-	24				
2	10 <sup>-5</sup>	AN	-	25				
2	10 <sup>-6</sup>	AN	-	26				

2	10 <sup>-7</sup>	AN	-	27				
2	10 <sup>-8</sup>	AN	-	28				
1	10 <sup>-1</sup>	PDA	lll	29		x		
1	10 <sup>-1</sup>	PDA	o	30		x		
2	10 <sup>-1</sup>	PDA	p	31		x		
3	10 <sup>-1</sup>	PDA	q	32			x	
3	10 <sup>-1</sup>	PDA	r	33	x			
3	10 <sup>-1</sup>	PDA	s	34				x
3	10 <sup>-2</sup>	PDA	t	35	x			
3	10 <sup>-1</sup>	PDA	v2	36	x			
S3	10 <sup>-1</sup>	PDA	w	37		x		
S3	10 <sup>-3</sup>	PDA	x	38	x			
2	10 <sup>-1</sup>	PDA	y2	39	x			
2	10 <sup>-1</sup>	PDA	-	40	x			
2	10 <sup>-2</sup>	PDA	-	41	x			
2	10 <sup>-3</sup>	PDA	-	42	x			
2	10 <sup>-4</sup>	PDA	-	43	x			
2	10 <sup>-5</sup>	PDA	-	44	x			
2	10 <sup>-6</sup>	PDA	-	45	x			
2	10 <sup>-7</sup>	PDA	-	46	x			
2	10 <sup>-8</sup>	PDA	-	47	x			

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

La Tabla 16-4 codifica las muestras con números arábigos en base a la codificación del abecedario, esta codificación se utilizó para el almacenamiento en congelación a -20°C de los microorganismos, desde este punto en adelante se describirán los siguientes procesos en base a la codificación arábica. También, clasifica los microorganismos utilizados en los tratamientos por caja Petri progenitora en: bacteria, hongos y levaduras. Las muestras desde la 21 a la 28 se almacenaron, por esa razón tienen un código, sin embargo, cabe recalcar que no se utilizaron en los tratamientos. La muestra 34 está en la columna “otros” fue identificada como Actinobacteria, estas son importantes en la descomposición quitina y celulosa.

#### 4.1.9. Morfología macroscópica, microscópica y clasificación de los microorganismos

**Tabla 17-4** Morfología macroscópica, microscópica y clasificación de los microorganismos

Código de muestra	Morfología macroscópica o de colonia	Morfología microscópica	Tinción de Gram	Microorganismo
1	Irregular, ondular, áspero, suave, elevado	Bacilo	Gram negativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Salmonella Abony</i> DSM 4224</li> <li>• <i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028</li> </ul>
2	Irregular, ondular, reluciente, suave, elevada	Bacilo	Gram negativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter</i>, <i>Klebsiella</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</li> <li>• <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212</li> <li>• <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923</li> </ul>
3	Irregular, ondular, reluciente, suave, elevada	Bacilo	Gram negativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>E. Coli</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</li> <li>• <i>Pseudomonas</i></li> <li>• <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212</li> <li>• <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923</li> </ul>
4	Irregular, ondular, reluciente, suave, elevada	Bacilo	Gram negativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Salmonella Abony</i> DSM 4224</li> <li>• <i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028</li> <li>• <i>Salmonella</i>, <i>Shigella</i></li> </ul>
5	Irregular, ondular, áspero, elevada	Bacilo	Gram negativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Salmonella Abony</i> DSM 4224</li> <li>• <i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028</li> <li>• <i>Salmonella</i>, <i>Shigella</i></li> </ul>
6	Puntiforme, ondular, áspero, elevada	Bacilo	Gram negativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Salmonella Abony</i> DSM 4224</li> <li>• <i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028</li> </ul>
7	Puntiforme, ondulada, áspero, elevada	Bacilo	Gram negativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Salmonella Abony</i> DSM 4224</li> <li>• <i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028</li> <li>• <i>Salmonella</i>, <i>Shigella</i></li> </ul>
8	Rizoide, ondulada, áspero, suave, elevada	Bacilo	Gram negativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Salmonella Abony</i> DSM 4224</li> <li>• <i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028</li> <li>• <i>Salmonella</i>, <i>Shigella</i></li> </ul>
9	Rizoide, ondulada, suave, elevada	Bacilo	Gram negativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</li> <li>• <i>Salmonella</i>, <i>Shigella</i></li> <li>• <i>Salmonella Abony</i> DSM 4224</li> <li>• <i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028</li> </ul>
10	Irregular, ondular, áspero, elevado	Bacilo	Gram negativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter</i>, <i>Klebsiella</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</li> <li>• <i>Salmonella</i>, <i>Shigella</i></li> </ul>
11	Irregular, ondular, suave, reluciente, elevada	Bacilo	Gram negativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Salmonella Abony</i> DSM 4224</li> <li>• <i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028</li> <li>• <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453</li> <li>• <i>Salmonella</i>, <i>Shigella</i></li> </ul>
12	Irregular, ondular, suave, reluciente, elevada	Bacilo	Gram negativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Salmonella Abony</i> DSM 4224</li> <li>• <i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028</li> <li>• <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453</li> <li>• <i>Salmonella</i>, <i>Shigella</i></li> </ul>
13	Puntiforme, ondulada, áspero, elevada	Bacilo	Gram negativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter</i>, <i>Klebsiella</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</li> <li>• <i>Salmonella</i>, <i>Shigella</i></li> </ul>

14	Puntiforme, ondulada, áspero, elevada	Coco-Bacilo	Gram negativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter, Klebsiella</i></li> <li>• <i>Escherichia coli ATCC 25922</i></li> <li>• <i>Salmonella, Shigella</i></li> </ul>
15	Puntiforme, ondulada, áspero, elevada	Bacilo	Gram negativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter, Klebsiella</i></li> <li>• <i>Escherichia coli ATCC 25922</i></li> <li>• <i>Salmonella, Shigella</i></li> </ul>
16	Puntiforme, ondulada, áspero, elevada	Bacilo	Gram negativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter, Klebsiella</i></li> <li>• <i>Escherichia coli ATCC 25922</i></li> <li>• <i>Salmonella, Shigella</i></li> </ul>
17	Puntiforme, ondulada, áspero, elevada	Bacilo	Gram negativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter, Klebsiella</i></li> <li>• <i>Escherichia coli ATCC 25922</i></li> <li>• <i>Salmonella, Shigella</i></li> </ul>
18	Puntiforme, ondulada, áspero, elevada	Bacilo	Gram negativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter, Klebsiella</i></li> <li>• <i>Escherichia coli ATCC 25922</i></li> <li>• <i>Salmonella, Shigella</i></li> </ul>
19	Puntiforme, ondulada, áspero, elevada	Bacilo	Gram negativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter, Klebsiella</i></li> <li>• <i>Escherichia coli ATCC 25922</i></li> <li>• <i>Salmonella, Shigella</i></li> </ul>
20	Puntiforme, ondulada, áspero, elevada	Bacilo	Gram negativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacter, Klebsiella</i></li> <li>• <i>Escherichia coli ATCC 25922</i></li> <li>• <i>Salmonella, Shigella</i></li> </ul>
29	Circular, irregular, ondulada, áspero, elevada	Hongo	Gram positiva	<i>Hongo Filamentoso Penillicillum sp.</i>
30	Circular, irregular, ondulada, áspero, elevada	Hongo	Gram positiva	<i>Hongo Filamentoso Fusarium sp.</i>
31	Circular, irregular, ondulada, áspero, elevada	Hongo	Gram positiva	<i>Hongo Filamentoso Penillicillum sp.</i>
32	Irregular, ondular, suave, reluciente, convexo	Levadura	Gram positiva	<i>Rhodotorula mucilaginoso.</i>
33	Irregular, ondular, suave, reluciente, convexo	Coco	Gram positiva	<i>Exophiala</i>
34	Rizoide, ondulada, áspero, elevado	Coco	Gram positiva	<i>Exophiala</i>
35	Irregular, ondular, suave, reluciente, convexo	Coco	Gram positiva	<i>Exophiala</i>
36	Rizoide, ondulada, suave, reluciente, elevada	Coco	Gram positiva	<i>Aspergillus sp1</i>
37	Circular, irregular, ondulada, áspero, elevada	Hongo	Gram positiva	<i>Trichoderma sp Trichosporon asteroides</i>
38	Rizoide, ondulada, suave, umbonate	Coco	Gram positiva	<i>Trichosporon asteroides</i>
39	Rizoide, ondulada, suave, convexo	Coco	Gram positiva	<i>Bacillus subtilis</i>
40	Granular, convexa, lobulada	Coco	Gram positiva	<i>Trichosporon asteroides</i>
41	Puntiforme, ondulada, suave, elevado	Coco	Gram positiva	<i>Trichosporon asteroides</i>
42	Puntiforme, ondulada, suave, elevado	Coco	Gram positiva	<i>Bacillus subtilis</i>
43	Puntiforme, ondulada, suave, elevado	Coco	Gram positiva	<i>Trichosporon asteroides</i>

44	Puntiforme, ondulada, suave, elevado	Coco	Gram positiva	<i>Bacillus subtilis</i>
45	Puntiforme, ondulada, suave, elevado	Coco	Gram positiva	<i>Bacillus subtilis</i>
46	Puntiforme, ondulada, suave, elevado	Coco	Gram positiva	<i>Trichosporon asteroides</i>
47	Puntiforme, ondulada, suave, elevado	Coco	Gram positiva	<i>Trichosporon asteroides</i>

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

La Tabla 17-4 describe la morfología macroscópica o de colonia y la morfología microscópica, así como, la tinción de Gram de cada muestra. A la par se describen los posibles microorganismos presentes en cada muestra. Las muestras de la 21 a la 28 no se tomaron en cuenta para los tratamientos, por lo que, no se analizan y no se incluyeron en la tabla.

Las observaciones de la Tinción Gram se pueden verificar en el Anexo O, P y Q.

#### 4.1.10. Prueba bioquímica de la Catalasa en bacterias

**Tabla 18-4** Prueba bioquímica de Catalasa para bacterias

Código de muestra	Prueba de Catalasa	Código de muestra	Prueba de Catalasa
1	+	18	+
2	+	19	+
3	+	20	+
4	+	33	-
5	+	34	+
6	+	35	-
7	+	36	+
8	+	38	+
9	+	39	+
10	+	40	+
11	+	41	+
12	+	42	+
13	+	43	+
14	+	44	+
15	+	45	+
16	+	46	+
17	+	47	+

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

La tabla especifica las bacterias con un resultado negativo a las muestras pertenecientes a la familia Enterobacteria desde la muestra 1 a la 20, y desde la 33 a la 47 a los microorganismos con un resultado positivo pertenecientes a la familia Micrococcus.

#### 4.1.11. Resultados de DQO y DBO<sub>5</sub> de la investigación

**Tabla 19-4** Resultados de DQO y DBO<sub>5</sub> analizados a los 15 días

Tratamientos	Demanda Bioquímica de Oxígeno (Mét. de análisis APHA 5210-B) DQO mg/L lixiviado			Demanda Química de Oxígeno (Mét. de análisis APHA 5220-D) DBO <sub>5</sub> mg/L lixiviado		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
<b>T1</b>	6275,00	6345,00	6187,00	320,00	305,00	332,00
<b>T2</b>	6220,00	5980,00	5863,00	295,00	265,00	301,00
<b>T3</b>	5665,00	5862,00	5485,00	285,00	320,00	288,00
<b>T4</b>	5860,00	5671,00	5911,00	280,00	282,00	258,00
<b>T5</b>	5690,00	5548,00	5736,00	295,00	270,00	286,00
<b>T6</b>	5380,00	5671,00	5549,00	270,00	288,00	312,00
<b>T7</b>	5850,00	6130,00	5832,00	310,00	352,00	305,00

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

La tabla 19-4 muestra los resultados de DQO y DBO<sub>5</sub> de los 7 tratamientos cada uno con sus 3 repeticiones analizadas a los 15 días de la fecha de instalación de la investigación que fue el 18 de noviembre y la fecha de análisis el 3 de diciembre del 2021. Los valores de DQO y DBO<sub>5</sub> analizados a los 15 días se puede verificar en el Anexo Y.

**Tabla 20-4** Resultados de DQO y DBO<sub>5</sub> analizados a los 30 días

Tratamientos	Demanda Bioquímica de Oxígeno (Mét. de análisis APHA 5210-B) DQO mg/L lixiviado			Demanda Química de Oxígeno (Mét. de análisis APHA 5220-D) DBO <sub>5</sub> mg/L lixiviado		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
T1	2700,00	2841,00	2652,00	112,00	103,00	120,00
T2	2666,00	2475,00	2410,00	84,00	89,00	68,00
T3	2328,00	2185,00	2415,00	104,00	130,00	108,00
T4	2630,00	2688,00	2487,00	90,00	71,00	95,00
T5	2680,00	2510,00	2802,00	94,00	75,00	91,00
T6	2912,00	3223,00	3156,00	108,00	133,00	118,00
T7	2972,00	3117,00	2914,00	104,00	127,00	84,00

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

La tabla 20-4 muestra los resultados de DQO y DBO<sub>5</sub> de los 7 tratamientos cada uno con sus 3 repeticiones analizados a los 30 días con la fecha de análisis 13 de diciembre del 2021. Los valores de DQO y DBO<sub>5</sub> analizados a los 30 días se puede verificar en el Anexo Z.

**Tabla 21-4** Resultados de DQO y DBO<sub>5</sub> analizados a los 45 días

Tratamientos	Demanda Bioquímica de Oxígeno (Mét. de análisis APHA 5210-B) DQO mg/L lixiviado			Demanda Química de Oxígeno (Mét. de análisis APHA 5220-D) DBO <sub>5</sub> mg/L lixiviado		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
T1	826,00	952,00	803,00	84,00	70,00	98,00
T2	838,00	690,00	679,00	76,00	82,00	62,00
T3	816,00	974,00	730,00	86,00	94,00	111,00
T4	804,00	749,00	817,00	56,00	62,00	42,00
T5	822,00	888,00	702,00	68,00	64,00	53,00
T6	1047,00	1133,00	1003,00	76,00	102,00	98,00
T7	928,00	903,00	1108,00	82,00	95,00	78,00

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

La tabla 21-4 muestra los resultados de DQO y DBO<sub>5</sub> de los 7 tratamientos cada uno con sus 3 repeticiones analizados a los 45 días con la fecha 03 de enero del 2022. Los valores de DQO y DBO<sub>5</sub> analizados a los 45 días se puede verificar en el Anexo AA.

#### 4.1.12. Porcentaje de remoción

**Tabla 22-4** Promedio de las repeticiones por fecha de análisis

Tratamientos	15 días		30 días		45 días	
	DQO	DBO <sub>5</sub>	DQO	DBO <sub>5</sub>	DQO	DBO <sub>5</sub>
<b>T1</b>	6269,00	319,00	2731,00	111,67	860,33	84,00
<b>T2</b>	6021,00	287,00	2517,00	80,33	735,67	73,33
<b>T3</b>	5670,67	297,67	2309,33	114,00	840,00	97,00
<b>T4</b>	5814,00	273,33	2601,67	85,33	790,00	53,33
<b>T5</b>	5658,00	283,67	2664,00	86,67	804,00	61,67
<b>T6</b>	5533,33	290,00	3097,00	119,67	1061,00	92,00
<b>T7</b>	5937,33	322,33	3001,00	105,00	979,67	85,00

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

La tabla 22-4 muestra los promedios calculados de DQO y DBO<sub>5</sub> en mg/L de las repeticiones por fecha de análisis. Estos resultados están basados en la Tabla del Anexo BB.

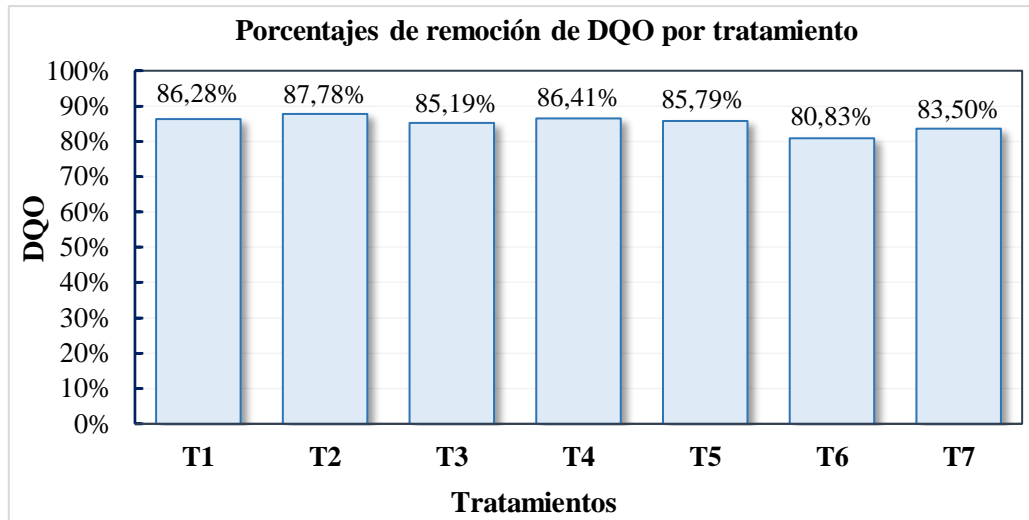
**Tabla 23-4** Porcentaje de remoción

Tratamientos	DQO (%)	DBO <sub>5</sub> (%)
<b>T1</b>	86,28	73,67
<b>T2</b>	87,78	74,45
<b>T3</b>	85,19	67,41
<b>T4</b>	86,41	80,49
<b>T5</b>	85,79	78,26
<b>T6</b>	80,83	68,28
<b>T7</b>	83,50	73,63

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

La Tabla 23-4 muestra los porcentajes de remoción de DQO y DBO<sub>5</sub> por tratamiento, los cuales fueron calculados en base a los valores de la Tabla 22-4 tomando en cuenta la primera de fecha de análisis a los 15 días con la tercera fecha de análisis a los 45 días.

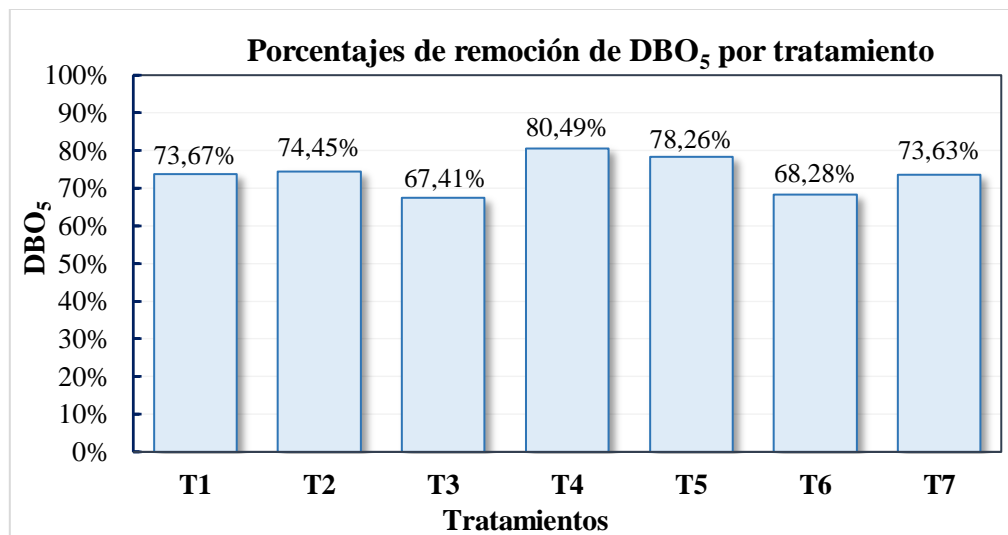




**Gráfico 1-4** Porcentajes de remoción de DQO por tratamiento

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

De acuerdo a la información de la Tabla 23-4 y Gráfico 1-4, se observa que los porcentajes promedio de remoción de DQO a los 45 días de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado respecto a los 15 días fluctúa entre 80,8 y 87,8%; destacándose el tratamiento T2 (Levaduras de la caja Petri q o muestra 32) por ser el de mayor capacidad de remoción.



**Gráfico 2-4** Porcentajes de remoción de DBO<sub>5</sub> por tratamiento

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

Según la información de la Tabla 23-4 y Gráfico 2-4, se observa que los porcentajes promedio de remoción de DBO<sub>5</sub> a los 45 días de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado respecto a los

15 días fluctúa entre 67,41% y 80,49%; destacándose el tratamiento T4 por tener la mayor capacidad de remoción.

#### 4.1.13. Análisis estadísticos descriptivos de DQO y DBO<sub>5</sub>

A continuación, se muestran los estadísticos descriptivos (media y desviación estándar) del parámetro DQO a los 15, 30 y 45 días de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado para cada uno de los tratamientos desarrollados:

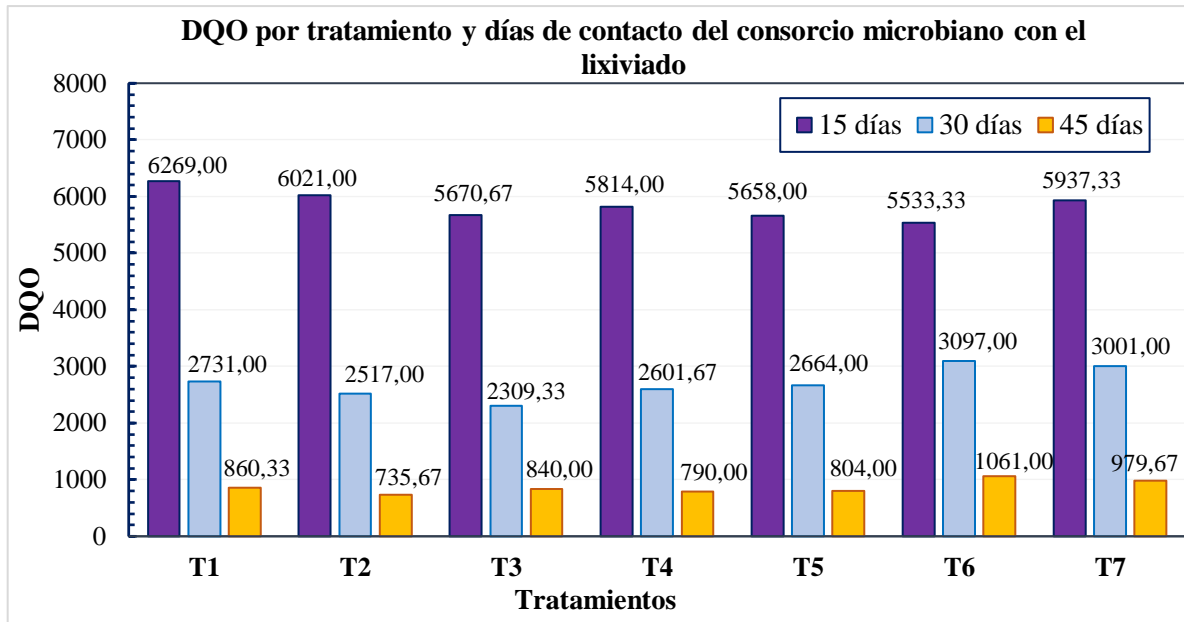
**Tabla 24-4** Estadísticos descriptivos de DQO

Tratamientos	15 días		30 días		45 días	
	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar
<b>T1</b>	6269,00	79,17	2731,00	98,24	860,33	80,21
<b>T2</b>	6021,00	181,997	2517,00	133,07	735,67	88,79
<b>T3</b>	5670,67	188,56	2309,33	116,13	840,00	123,76
<b>T4</b>	5814,00	126,44	2601,67	103,45	790,00	36,10
<b>T5</b>	5658,00	98,00	2664,00	146,66	804,00	94,30
<b>T6</b>	5533,33	146,13	3097,00	163,68	1061,00	66,12
<b>T7</b>	5937,33	167,10	3001,00	104,56	979,67	111,84
<b>Total</b>	5843,33	269,05	2703,00	279,29	867,24	131,94

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

N=3.

Para complementar la información de la tabla anterior, también se presentan gráficos de los valores promedios de DQO a los 15, 30 y 45 días de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado para cada uno de los tratamientos desarrollados:



**Gráfico 3-4** Promedio de DQO por tratamiento y días de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado

**Realizado por:** Jenny Barragán, 2022

Como se observa en el Gráfico 3-4 los valores del parámetro DQO fueron más altos a los 15 días de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado en comparación con los 30 días, siendo que a los 45 días alcanzaron valores más bajos. Se identifica que los valores más bajos correspondieron al tratamiento T2 (Levaduras de la caja Petri q o muestra 32).

A continuación, se muestran los estadísticos descriptivos (media y desviación estándar) del parámetro  $DBO_5$  a los 15, 30 y 45 días de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado para cada uno de los tratamientos desarrollados:

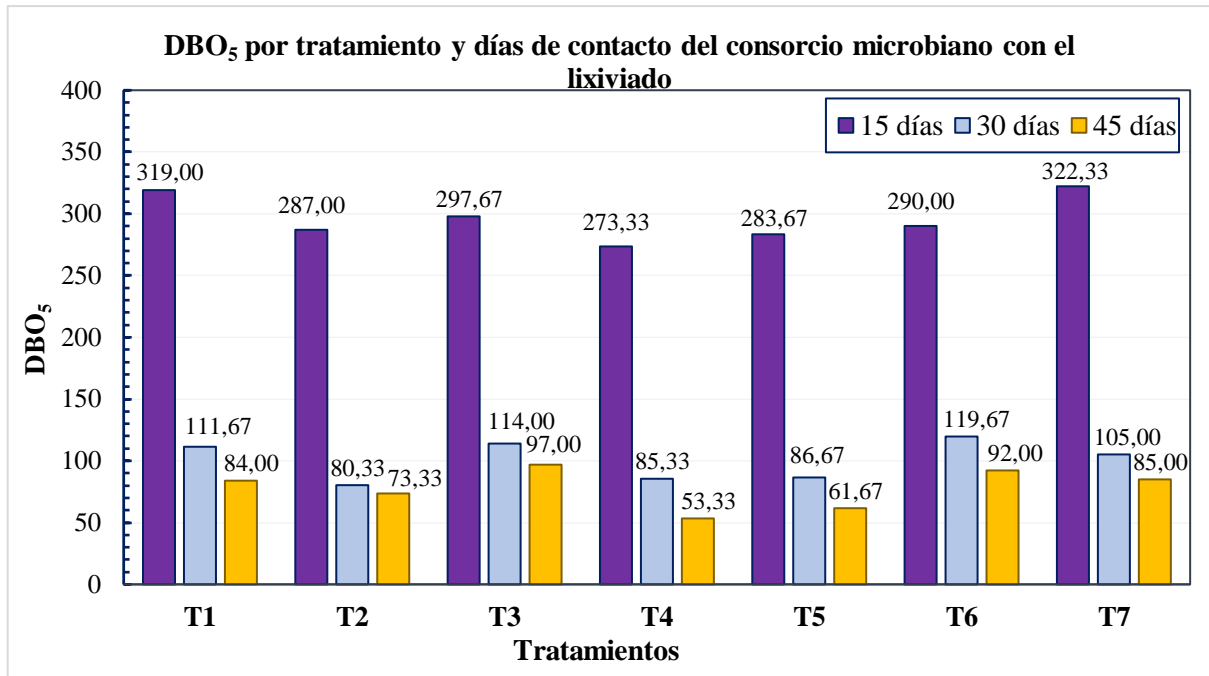
**Tabla 25-4** Estadísticos descriptivos de DBO<sub>5</sub>

Tratamiento	15 días		30 días		45 días	
	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar
<b>T1</b>	319,00	13,53	111,67	8,50	84,00	14,00
<b>T2</b>	287,00	19,29	80,33	10,97	73,33	10,26
<b>T3</b>	297,67	19,40	114,00	14,00	97,00	12,77
<b>T4</b>	273,33	13,32	85,33	12,66	53,33	10,26
<b>T5</b>	283,67	12,66	86,67	10,21	61,67	7,77
<b>T6</b>	290,00	21,07	119,67	12,58	92,00	14,00
<b>T7</b>	322,33	25,81	105,00	21,52	85,00	8,89
<b>Total</b>	296,14	23,22	100,38	18,86	78,05	17,93

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

N=3.

Para complementar la información de la tabla anterior, también se presenta un gráfico de los valores promedios de DBO<sub>5</sub> a los 15, 30 y 45 días de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado para cada uno de los tratamientos desarrollados:



**Gráfico 4-4** Promedio de DBO<sub>5</sub> por tratamiento y días de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

Según el Gráfico 4-4 los valores del parámetro DBO<sub>5</sub> fueron más altos a los 15 días de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado en comparación con los 30 días, siendo que a los 45 días alcanzaron valores más bajos. Se identifica que los valores más bajos son del T4.

#### 4.1.14. Verificación de hipótesis

Para la verificación de la hipótesis se aplicó la prueba ANOVA con dos factores de diseño mixto (inter-sujetos e intra-sujetos) a los datos de DQO y DBO<sub>5</sub> del Anexo 4-28 tomando como factores a los 7 tipos de tratamientos y los 3 tiempos transcurridos de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado (15, 30 y 45 días). En primer lugar, se realizó una comprobación de los supuestos de distribución normal de datos (prueba de Shapiro-Wilk) y de homogeneidad de varianzas (Levene y esfericidad de Mauchly). Los resultados están en los Anexos CC, DD y EE para el DQO, y para el DBO<sub>5</sub> en los Anexos FF, GG y HH con un nivel de significancia menor a 0,05.

#### 4.1.14.1. DQO

En primer lugar, se presenta la tabla de análisis de la varianza para identificar si existen diferencias significativas de DQO entre el tiempo transcurrido de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado y la interacción entre el tiempo con el tratamiento.

**Tabla 26-4** Análisis de la varianza de DQO

Pruebas multivariante <sup>a</sup>						
Efecto		Valor	F	gl de hipótesis	gl de error	Significancia
Tiempo transcurrido	Traza de Pillai	1,000	13346,62 9 <sup>b</sup>	2,000	13,000	<b>0,000</b>
	Lambda de Wilks	0,000	13346,62 9 <sup>b</sup>	2,000	13,000	<b>0,000</b>
	Traza de Hotelling	2053,3 28	13346,62 9 <sup>b</sup>	2,000	13,000	<b>0,000</b>
	Raíz mayor de Roy	2053,3 28	13346,62 9 <sup>b</sup>	2,000	13,000	<b>0,000</b>
Tiempo transcurrido * Tratamiento	Traza de Pillai	1,480	6,644	12,000	28,000	<b>0,000</b>
	Lambda de Wilks	0,037	9,137 <sup>b</sup>	12,000	26,000	<b>0,000</b>
	Traza de Hotelling	12,148	12,148	12,000	24,000	<b>0,000</b>
	Raíz mayor de Roy	10,852	25,321 <sup>c</sup>	6,000	14,000	<b>0,000</b>
a. Diseño: Intersección + Tratamiento Diseño intra-sujetos: tiempo transcurrido						
b. Estadístico exacto						
c. El estadístico es un límite superior en F que genera un límite inferior en el nivel de significación.						

**Realizado por:** Jenny Barragán, 2022

De acuerdo con la información de la tabla anterior, existen diferencias significativas (significancia < 0,05) entre el tiempo transcurrido de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado y la interacción entre el tiempo con el tratamiento. Esto quiere decir que la optimización del humedal de la planta de tratamiento de lixiviados de Baños de Agua Santa aplicando microorganismos rizosféricas de *Typha dominguensis* disminuyó la DQO del lixiviado para ser vertido al Río Chambo. Estos resultados se comprueban por las pruebas de diferencias intra-sujetos mostrada a continuación:

**Tabla 27-4** Diferencias Intra-sujetos, comparaciones por pareja de DQO

Comparaciones por parejas						
(I) tiempo transcurrido	(J) tiempo transcurrido	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig. <sup>b</sup>	95% de intervalo de confianza para diferencia <sup>b</sup>	
					Límite inferior	Límite superior
15 días	30 días	3140,333*	32,413	<b>0,000</b>	3052,242	3228,425
	45 días	4976,095*	30,617	<b>0,000</b>	4892,887	5059,304
30 días	15 días	-3140,333*	32,413	<b>0,000</b>	-3228,425	-3052,242
	45 días	1835,762*	36,941	<b>0,000</b>	1735,366	1936,157
45 días	15 días	-4976,095*	30,617	<b>0,000</b>	-5059,304	-4892,887
	30 días	-1835,762*	36,941	<b>0,000</b>	-1936,157	-1735,366
Se basa en medias marginales estimadas						
*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.						
b. Ajuste para varias comparaciones: Bonferroni.						

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

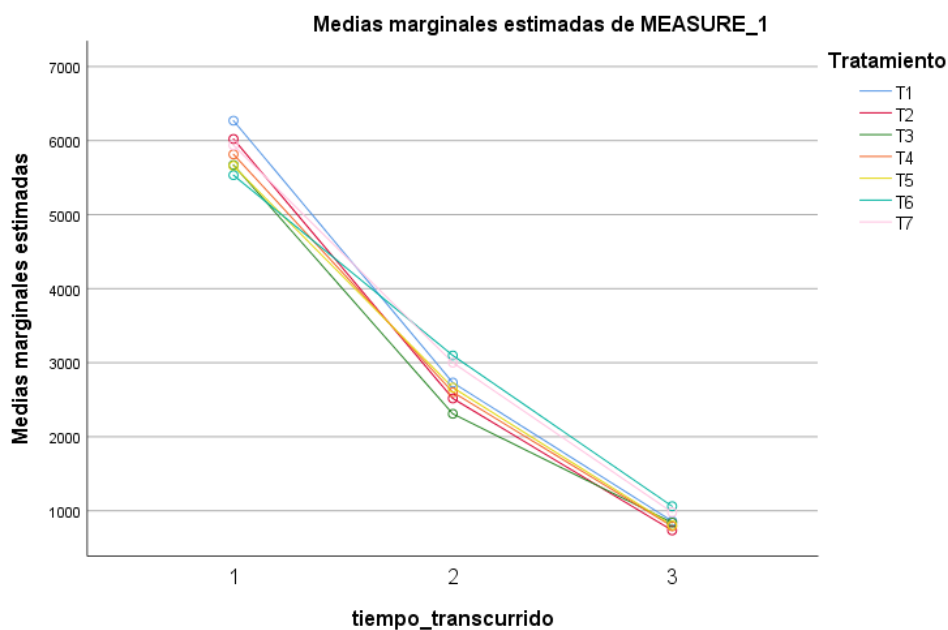
Como se observa en la tabla anterior existen diferencias significativas (significancia < 0,05) entre el tiempo transcurrido de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado (15, 30 y 45 días) para el parámetro DQO. Adicionalmente se aplicó la prueba de HSD Tukey para establecer los subconjuntos homogéneos a partir de los tratamientos que obtuvieron resultados similares:

**Tabla 28-4** Diferencias Inter-Sujetos del DQO

HSD Tukey <sup>a,b</sup>			
Tratamiento	N	Subconjuntos homogéneos	
		1	2
T3	3	2940,00	
T5	3	3042,00	
T4	3	3068,56	
T2	3	3091,22	
T6	3		3230,44
T1	3		3286,78
T7	3		3306,00
Significancia		<b>0,368</b>	<b>0,168</b>
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. Se basa en las medias observadas. El término de error es la media cuadrática (Error) = 7286,894.			
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.			
b. Alfa = ,05.			

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

Según los resultados de la tabla anterior, los tratamientos T3, T5, T4 y T2 fueron significativamente mejores que los obtenidos para el tratamiento control (T7) con el lixiviado a temperatura ambiente para el parámetro DQO. Finalmente se presenta un gráfico que resume todos los resultados obtenidos:



**Gráfico 5-4** Disminución de DQO con respecto al tiempo de análisis

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

#### 4.1.14.2. DBO<sub>5</sub>

En primer lugar, se presenta la tabla de análisis de la varianza para identificar si existen diferencias significativas de DBO<sub>5</sub> entre el tiempo transcurrido de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado y la interacción entre el tiempo con el tratamiento.



**Tabla 29-4** Tabla de análisis de la varianza de DBO<sub>5</sub>

Pruebas multivariante <sup>a</sup>						
Efecto		Valor	F	gl de hipótesis	gl de error	Significancia
Tiempo_transcurrido	Traza de Pillai	0,996	1691,712 <sup>b</sup>	2,000	13,000	<b>0,000</b>
	Lambda de Wilks	0,004	1691,712 <sup>b</sup>	2,000	13,000	<b>0,000</b>
	Traza de Hotelling	260,263	1691,712 <sup>b</sup>	2,000	13,000	<b>0,000</b>
	Raíz mayor de Roy	260,263	1691,712 <sup>b</sup>	2,000	13,000	<b>0,000</b>
Tiempo_transcurrido * Tratamiento	Traza de Pillai	0,872	1,802	12,000	28,000	<b>0,097</b>
	Lambda de Wilks	0,306	1,753 <sup>b</sup>	12,000	26,000	<b>0,112</b>
	Traza de Hotelling	1,692	1,692	12,000	24,000	<b>0,132</b>
	Raíz mayor de Roy	1,215	2,834 <sup>c</sup>	6,000	14,000	<b>0,051</b>
a. Diseño: Intersección + Tratamiento Diseño intra-sujetos: Tiempo_transcurrido						
b. Estadístico exacto						
c. El estadístico es un límite superior en F que genera un límite inferior en el nivel de significación.						

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

De acuerdo con la tabla anterior, existen diferencias significativas (significancia < 0,05) entre el tiempo transcurrido de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado, pero no entre la interacción con el tratamiento. Es decir, que la optimización del humedal de la planta de tratamiento de lixiviados aplicando microorganismos rizosféricos de *Typha dominguensis* disminuyó el DBO<sub>5</sub> del lixiviado. Estos resultados se comprueban por pruebas de diferencias intra-sujetos mostrada a continuación:

**Tabla 30-4** Diferencias Intra - Sujetos, comparaciones por pareja de DBO<sub>5</sub>

Comparaciones por parejas						
(I) Tiempo transcurrido	(J) tiempo transcurrido	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig. <sup>b</sup>	95% de intervalo de confianza para diferencia <sup>b</sup>	
					Límite inferior	Límite superior
15 días	30 días	195,762*	3,694	0,000	185,723	205,801
	45 días	218,095*	3,801	0,000	207,765	228,426
30 días	15 días	-195,762*	3,694	0,000	-205,801	-185,723
	45 días	22,333*	2,972	0,000	14,255	30,411
45 días	15 días	-218,095*	3,801	0,000	-228,426	-207,765
	30 días	-22,333*	2,972	0,000	-30,411	-14,255
Se basa en medias marginales estimadas						
*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.						
b. Ajuste para varias comparaciones: Bonferroni.						

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

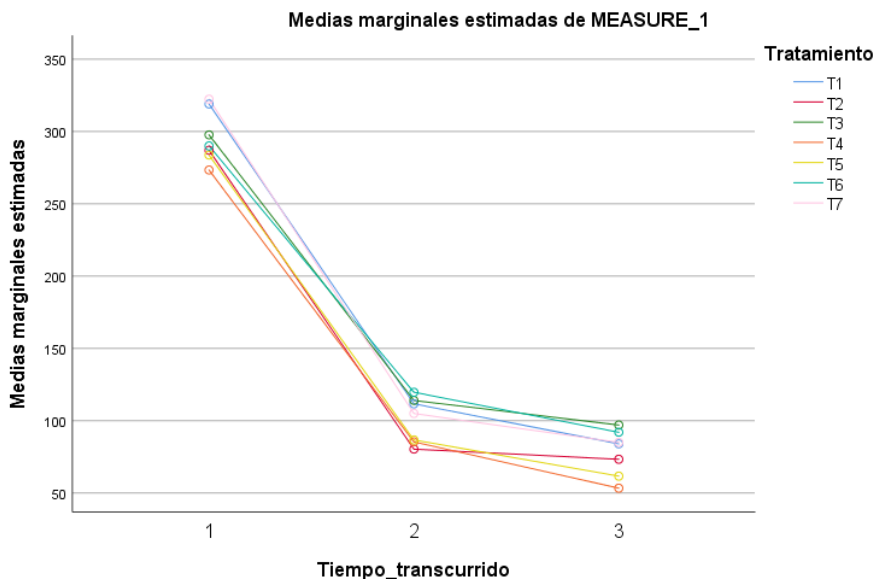
Como se observa en la tabla anterior existen diferencias significativas (significancia < 0,05) entre el tiempo transcurrido de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado (15, 30 y 45 días) para el parámetro DBO<sub>5</sub>. Adicionalmente se aplicó la prueba de HSD Tukey para establecer los subconjuntos homogéneos a partir de los tratamientos que obtuvieron resultados similares:

**Tabla 31-4** Diferencias Inter - Sujetos del DBO<sub>5</sub>

<b>HSD Tukey<sup>a,b</sup></b>			
Tratamiento	N	Subconjuntos homogéneos	
		1	2
T4	3	137,33	
T5	3	144,00	
T2	3	146,89	
T6	3		167,22
T3	3		169,56
T7	3		170,78
T1	3		171,56
Significancia		<b>0,073</b>	<b>0,112</b>
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.			
Se basa en las medias observadas.			
El término de error es la media cuadrática (Error) = 130,931.			
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.			
b. Alfa = ,05.			

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

Según los resultados de la tabla anterior, los tratamientos T4, T5 y T2 fueron significativamente mejores que los obtenidos para el tratamiento control con el lixiviado a temperatura ambiente (T7) para el parámetro DBO<sub>5</sub>. Finalmente se presenta un gráfico que resume todos los resultados obtenidos:



**Gráfico 6-4** Disminución de DBO<sub>5</sub> con respecto al tiempo de análisis

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

#### 4.2. Análisis y Discusión

En los resultados de este proyecto de investigación se puede observar el decremento de DQO y DBO<sub>5</sub> del lixiviado del humedal de la Planta de Tratamiento del Relleno Sanitario de Baños de Agua Santa. Donde, los consorcios microbianos obtenidos de la bioaumentación de los microorganismos rizosféricos de las plantas de *Typha dominguensis* (Totora) se pusieron en contacto con el lixiviado, obteniéndose 6 tratamientos y 1 tratamiento control (T7). De acuerdo con el Análisis ANOVA los consorcios pertenecientes al T2, T3, T4 y T5 fueron significativamente mejores que el tratamiento control, sin embargo, se toma el T2 (*Rhodotorula mucilaginosa*) como el más eficiente en la disminución del DQO con una concentración inicial de 3780,00 mg/L a 735,67 mg/L tomando como criterio el análisis de laboratorio en el cual el T2 tiene el menor valor, para el DBO<sub>5</sub> los consorcios del T2, T4 y T5 fueron significativamente mejores que el T7, sin embargo, se toma el T4 como el más eficiente en el remoción de DBO<sub>5</sub> que descendió de una concentración 3000,00 mg/L a 53,33 mg/L por tener el menor valor en los análisis de laboratorio (Valores analizados a los 15 y 45 días). El decremento del DQO coincide con la investigación de (Carvalho et al., 2021) que cultivaron 75 cepas de levaduras y 64 de ellas mostraron actividad enzimática sobre la materia orgánica de aguas residuales. Esto concuerda con (Salgado Bernal et al., 2012) que trabajaron con 13 cepas de bacterias rizosféricas de *Typha dominguensis* a nivel de laboratorio y mediante ensayos con consorcios

demonstraron remoción de 50% de DQO de un efluente complejo durante 72 horas de tratamiento. El DBO<sub>5</sub> el decremento coincide con (Mawang et al., 2021) quienes describen a las actinobacterias con una gran capacidad de degradación de contaminantes y se puede mejorar mediante la introducción de microorganismos cosmopolita, ya que en el T4 está presente la muestra 34 que posiblemente es la actinobacteria *Exophiala*. Los microorganismos presentes en el T2 y T4 son Gram positivos que coincide con la investigación de (Ortiz et al., 2021) quienes aplicaron dos Bacilos Grampositivos, el primero obtenido de suelo de jardín que disminuyó el DQO en un 67,96% y el DBO<sub>5</sub> en un 54,62%; y el segundo Bacilo Gram positivo obtenido del Pululahua tuvo una remoción 69,15% para el DQO y 62,52% para el DBO<sub>5</sub>, las dos cepas aplicadas en aguas residuales urbanas de Quito, esta eficiencia sugiere un potencial de biodegradación con las características químicas de la pared celular constituida por peptidoglicano de los microorganismos Gram positivos. Conforme a la Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes al Recurso Agua del Libro VI del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente el DBO<sub>5</sub> no cumple con la especificación al estar por encima de 50,00 mg/L al igual que el DQO sobrepasa los 100,00 mg/L que estipula la Normativa, esto se debe a que, el humedal artificial no cuenta con la suficientes plantas de *Typha dominguensis* y consigo los microorganismos rizosféricos suficientes que cumplan la función de transformar las sustancias orgánicas e inorgánicas en sustancias inocuas, alterando las condiciones de potencial de reducción y oxidación del sustrato como lo describe (Delgadillo et al., 2017). Además, que el proceso anterior al humedal que es el Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente no reduce el porcentaje de materia orgánica establecida. También, se obtuvo el consumo por microorganismos del humedal artificial que coincide con (Fuenzalida, 2017), tomando como referencia la concentración del T2 para el DQO el consumo por microorganismos de materia orgánica en el verano es de 65,44 Kg/día y en el invierno de 65,19 Kg/día. Para el DBO<sub>5</sub> con referencia al T4 el consumo por los microorganismos en verano es de 63,69 Kg/día y para el invierno de 63,67 Kg/día, estos valores se obtendrán en condiciones donde exista una cantidad considerable de plantas de Totora de acuerdo con el área del humedal.

## CAPÍTULO V

### 5. PROPUESTA

#### 5.1. Proyección de la aplicación de los Tratamientos al Humedal Artificial

La mayoría de microorganismos operan con un pH de 5,5 a 9,5, y de acuerdo con la Tabla 7-4 el pH de las muestras tiene una media 8,3 siendo el pH óptimo para su crecimiento (Baldovi et al., 2021).

Los meses más calurosos de Baños de Agua Santa son febrero marzo abril, octubre, noviembre y diciembre con un promedio de temperatura de 15,2 °C, y tienen una tasa de evapotranspiración de 0,004 m/día. Para enero, mayo, junio, julio, agosto y septiembre con la temperatura más baja con un promedio de 12 °C la tasa de evapotranspiración es 0,001 m/día (Valencia et al., 2014).

La tasa de precipitación en Baños de Agua Santa es de 0,0075 m/día. Los datos climatológicos se obtuvieron de Accu Weather.

##### 5.1.1. Balance hídrico

El balance hídrico estima valor de salida del lixiviado del humedal artificial, y se define por la siguiente ecuación:

$$Q_i + (P * A) - (ET * A) = Q_f \quad \text{Ecuación 1-5 Balance hídrico}$$

Dónde:

$Q_i$  = Flujo actual de entrada de lixiviado 21,62 (m<sup>3</sup>/día)

$Q_f$  = Flujo salida de lixiviado (m<sup>3</sup>/día)

$P$  = Tasa de precipitación 0,0075 (m/día)

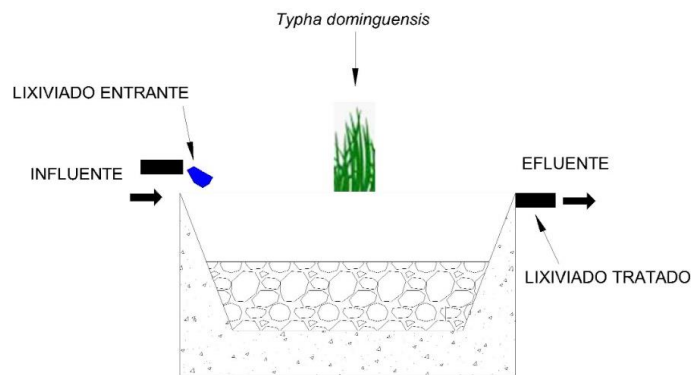
$A$  = Área superficial del humedal (110 m<sup>2</sup>)

$ET$  = Tasa de evapotranspiración (0,004 m/día en verano, y 0,001 m/día en invierno)

Aplicando la ecuación 1-5 se obtuvo un flujo de salida de lixiviado  $Q_f = 22,00$  m<sup>3</sup>/día para el verano, y para el invierno  $Q_f = 22,33$  m<sup>3</sup>/día.

### 5.1.2. Balance de masa

Mediante un balance de masa del humedal artificial y utilizando los resultados del análisis estadístico donde el tratamiento T2 para el DQO es el más eficiente, se aplica la siguiente Ecuación 1-5 para obtener los gramos de materia orgánica degradada o almacenada por los microorganismos tanto en invierno como en verano.



**Figura 1-5** Humedal artificial de la planta de tratamiento de lixiviados

Realizado por: Jenny Barragán, 2022

$$C_i * Q_i - C_{mo+a} - C_p = C_f * Q_f \quad \text{Ecuación 2-5 Balance de masa}$$

$$C_{mo+a} = \{(C_i * Q_i) - (C_f * Q_f)\}$$

**Ecuación 3-5** Consumo de materia orgánica por microorganismos

Dónde:

$C_i$  = Concentración de DQO a la entrada del humedal (3780,00 mg/L o 3,78 Kg/m<sup>3</sup>)

$Q_i$  = Flujo actual de entrada de lixiviado (21,62 m<sup>3</sup>/día)

$D_{mo+a}$  = Consumo de materia orgánica por microorganismos (Kg/día)

$C_f$  = Concentración de DQO a la salida del humedal (T2 = 735,67 mg/L o 0,74 Kg/m<sup>3</sup>)

$Q_f$  = Flujo de salida del lixiviado (22,00 m<sup>3</sup>/día para el verano, y 22,33 m<sup>3</sup>/día para el invierno)

Se obtuvo para el DQO en el verano el consumo por los microorganismos de materia orgánica es de 65,44 Kg/día, y en el invierno es de 65,19 Kg/día. Cabe recalcar que el parámetro  $C_p$  Consumo por las plantas de la Ecuación 2-5 no se utilizó porque no existen las suficientes plantas de totora de acuerdo con el área del humedal, y en su lugar se aplicó la Ecuación 3-5.

Mediante el balance de masa del humedal y con referencia al T4 para el DBO<sub>5</sub>, se aplicó la Ecuación 3-5 para obtener los kilogramos de materia orgánica degradada los microorganismos tanto en verano e invierno.

$C_i$  = Concentración de DBO<sub>5</sub> a la entrada del humedal (3000,00 mg/L o 3 Kg/m<sup>3</sup>)

$Q_i$  = Flujo actual de entrada de lixiviado (21,62 m<sup>3</sup>/día)

$D_{mo+a}$  = Consumo de materia orgánica por microorganismos (Kg/día)

$C_f$  = Concentración de DBO<sub>5</sub> a la salida del humedal (T4 = 53,33 mg/L o 0,053 Kg/m<sup>3</sup>)

$Q_f$  = Flujo de salida del lixiviado (22,00 m<sup>3</sup>/día para el verano, y 22,33 m<sup>3</sup>/día para el invierno)

Aplicando la Ecuación 3-5 para el DBO<sub>5</sub> en el verano el consumo por los microorganismos es de 63,69 Kg/día, y para el invierno es de 63,67 Kg/día.

## CONCLUSIONES

1. Se realizó un diagnóstico de los lixiviados del humedal artificial de la planta de tratamiento de lixiviados del Relleno Sanitario de Baños de Agua Santa, mediante su caracterización por el método APHA 5220-D para el DQO y APHA 5210-B para el DBO<sub>5</sub>, obteniendo que las concentraciones están fuera de los límites permisibles, por lo que, no cumple con los criterios de calidad para su descarga del efluente al Río Chambo especificados en la Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes al Recurso Agua del Libro VI Anexo 1 del Libro VI del TULSMA.
2. Se magnificó a nivel de laboratorio los microorganismos del agua como del sedimento de las plantas de *Typha dominguensis* presentes en el humedal de la Planta de Tratamiento de Lixiviados del Relleno Sanitario, la Laguna de Colta y la Laguna de Langos, en agar McConkey (AMC), Agar de dextrosa de papa (PDA) y Agar nutritivo (AN); obteniéndose microorganismos como enterobacterias, hongos, levaduras y actinobacterias las cuales se disgregaron formando consorcios que se pusieron en contacto con el lixiviado formando 6 tratamientos donde la actividad microbiana promovió la disminución de DQO y DBO<sub>5</sub>, y un tratamiento control (T7) donde se utilizó el lixiviado sin adición de consorcio microbiano.
3. Se evaluó la capacidad de los tratamientos con referencia al tiempo de contacto con el lixiviado a los 15, 30 y 45 días, siendo el T2 el más eficiente para el DQO con una concentración de 735,67 mg/L y para el DBO<sub>5</sub> el T4 con 53,33 mg/L; esto, en base a los promedios de las tres repeticiones analizadas a los 45 días de contacto de los consorcios microbianos con el lixiviado. También, a gran escala, el consumo de materia orgánica por los microorganismos es de 65,44 Kg/día en verano y en invierno 65,19 Kg/día tomando en cuenta la concentración del T2 para el DQO; y el para el DBO<sub>5</sub> el consumo durante el verano es de 63,69 Kg/día y para el invierno es de 63,67 Kg/día en base a la concentración del T4.
4. Se validó el mejor consorcio microbiano mediante una verificación de hipótesis donde se aplicó la prueba ANOVA con dos factores de diseño mixto (inter-sujetos e intra-sujetos) a los datos de DQO y DBO<sub>5</sub>, teniendo como factores a los siete tipos de tratamientos y a los tres tiempos transcurridos de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado (15, 30 y 45 días); donde, se encontró que los consorcios más eficientes en la remoción de la demanda química y bioquímica de oxígeno fueron los tratamientos T2 y el T4 respectivamente, y los microorganismos que lo conforman son Gram positivos.



## **RECOMENDACIONES**

1. Se recomienda sembrar más unidades de plantas de Totora en el humedal, de esta manera su rizósfera estimulará la comunidad microbiana y a su vez la reducción de materia orgánica en los lixiviados.
2. Consideramos la adaptación de un laboratorio dentro del Relleno Sanitario que permita tener una línea base de los parámetros problemáticos y se puedan dar posteriores tratamientos óptimos a los lixiviados.
3. Se recomienda realizar un estudio profundo con pruebas específicas para cada microorganismo presente tanto del consorcio microbiano del Tratamiento 2 y Tratamiento 4 para conocer la vía metabólica de los microorganismos frente a los diferentes elementos contaminantes de los lixiviados.
4. Consideramos estudiar estandarizar un consorcio microbiano con microorganismos Gram positivos cosmopolitas que se encuentren en la mayoría de los ecosistemas para aumentar el porcentaje de remoción del DQO y DBO<sub>5</sub> en aguas residuales domésticas con bajos valores en metales pesados.

## GLOSARIO

<b>Símbolo</b>	<b>Descripción</b>	<b>Unidades</b>
AN	Agar Nutritivo	-
AMC	Agar McConkey	-
AN	Agar Nutritivo	-
DQO	Demanda química de oxígeno	mg/L
DBO <sub>5</sub>	Demanda bioquímica de oxígeno	mg/L
G	Gramos	g
Kg	Kilogramos	Kg
L	Litro	L
PDA	Agar de dextrosa de papa	-
Mg	Miligramos	mg
MI	Militros	-
m <sup>3</sup>	Metros cúbicos	m <sup>3</sup>
UFC	Unidades formadoras de colonias	mg/L
μL	Microlitros	-

## BIBLIOGRAFÍA

- Baldovi, A. A., de Barros Aguiar, A. R., Benassi, R. F., Vymazal, J., & de Jesus, T. A. (2021). Phosphorus removal in a pilot scale free water surface constructed wetland: hydraulic retention time, seasonality and standing stock evaluation. *Chemosphere*, 266. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128939>
- Brand. (2018). *Cámaras de recuento*. www.brand.de
- Brennan, R., Clifford, E., Devroedt, C., Morrison, L., & Healy, M. G. (2017). Treatment of landfill leachate in municipal wastewater treatment plants and impacts on effluent ammonium concentrations. *Journal of Environmental Management*, 188, 64–72. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.11.055>
- Carvalho, J. K., Panatta, A. A. S., Silveira, M. A. D., Tav, C., Johann, S., Rodrigues, M. L. F., & Martins, C. V. B. (2021). Yeasts isolated from a lotic continental environment in Brazil show potential to produce amylase, cellulase and protease. *Biotechnology Reports*, 30. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00630>
- Cheng, Y., Chon, K., Ren, X., Kou, Y., Hwang, M. H., & Chae, K. J. (2021). Bioaugmentation treatment of a novel microbial consortium for degradation of organic pollutants in tannery wastewater under a full-scale oxic process. *Biochemical Engineering Journal*, 175. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2021.108131>
- Colares, G. S., Dell’Osbel, N., Barbosa, C. v., Lutterbeck, C., Oliveira, G. A., Rodrigues, L. R., Bergmann, C. P., Lopez, D. R., Rodriguez, A. L., Vymazal, J., & Machado, E. L. (2021). Floating treatment wetlands integrated with microbial fuel cell for the treatment of urban wastewaters and bioenergy generation. *Science of the Total Environment*, 766. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142474>
- Delgadillo, O., Camacho, A., Luis, •, Pérez, F., & Andrade, M. (2017). *Depuración de aguas residuales por medio de humedales artificiales*.
- Dell’Osbel, N., Colares, G. S., Oliveira, G. A., Rodrigues, L. R., da Silva, F. P., Rodriguez, A. L., López, D. A. R., Lutterbeck, C. A., Silveira, E. O., Kist, L. T., & Machado, Ê. L. (2020). Hybrid constructed wetlands for the treatment of urban wastewaters: Increased nutrient removal and landscape potential. *Ecological Engineering*, 158. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2020.106072>
- Dereli, R., Giberti, M., Liu, Q., Flynn, D., & Casey, E. (2020). Benchmarking leachate co-treatment strategies in municipal wastewater treatment plants under dynamic conditions and energy prices. *Journal of Environmental Management*, 260. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110129>
- Dickinson, B. (2014). *BD MacConkey II Agar*.
- Eurovix, B. P. L. V. (2021). *Micropan ALFA POBs*.
- Fuenzalida, D. (2017). *Operación de un sistema piloto de humedales construidos para la depuración de aguas servidas: Consideraciones de la actividad biológica en la eliminación de materia orgánica y nutrientes*.
- Galeano, K., & Alborno, D. (2019). *Eficiencia de los humedales artificiales de flujo superficial en la remoción de contaminantes microbiológicos de aguas residuales domésticas*.

- Hadad, H. R., Mufarrege, M. M., Pincirolí, M., di Luca, G. A., & Maine, M. A. (2010). Morphological response of *Typha domingensis* to an industrial effluent containing heavy metals in a constructed wetland. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 58(3), 666–675. <https://doi.org/10.1007/s00244-009-9454-0>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización, E. (2013a). *NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 1202:2013 AGUA. DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (DBO5)*.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización, E. (2013b). *NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 1203:2013 AGUA. DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO)*.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización, E. (2013c). *NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 2169:2013 AGUA. CALIDAD DEL AGUA. MUESTREO. MANEJO Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS*.
- Insumolab. (2019). *Agar Papa Dextroa*.
- Liu, Y., & Wang, J. (2020). Treatment of fresh leachate from a municipal solid waste incineration plant by combined radiation with coagulation process. *Radiation Physics and Chemistry*, 166, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2019.108501>
- Lorena, C., & Rueda, V. (2018). *Propuesta de optimización del humedal artificial de flujo subsuperficial en la planta de almacenamiento y abastecimiento Biomax Mansilla*.
- Luna, J. (2020). *Métodos Analíticos de Microbiología General y Aplicada* (Primera edición, Vol. 1). Unimagdalena.
- Mantovi, P., Marmiroli, M., Maestri, E., Tagliavini, S., Piccinini, S., & Marmiroli, N. (2002). Application of a horizontal subsurface flow constructed wetland on treatment of dairy parlor wastewater. *Bioresource Technology*, 88.
- Mawang, C. I., Azman, A. S., Fuad, A. S. M., & Ahamad, M. (2021). Actinobacteria: An eco-friendly and promising technology for the bioaugmentation of contaminants. In *Biotechnology Reports* (Vol. 32). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00679>
- Mendoza, A., & Restrepo, D. (2020). *Evaluación de Bacterias con Posible Potencial Biorremediador Presentes en el Sistema de Tratamiento de Aguas Residuales El Salguero de Valledupar*.
- Ministerio del Ambiente, E. (2015). *NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL Y DE DESCARGA DE EFLUENTES. RECURSO AGUA*.
- Ministerio del Ambiente, E., & Saneamiento Ambiental, M. de B. de A. S. (2017). *ESTUDIOS DE DISEÑO DEFINITIVO DE CIERRE TÉCNICO DE BOTADEROS Y CELDA EMERGENTE PARA EL PAQUETE 5 CONFORMADO POR LOS GOBIERNOS AUTÓNOMOS DESCENTRALIZADOS MUNICIPALES DE LA MANÁ Y LATACUNGA, PROVINCIA DE COTOPAXI; BAÑOS, PROVINCIA DE TUNGURAHUA; RIOBAMBA Y CHAMBO, PROVINCIA DE CHIMBORAZO; Y MERA, PROVINCIA DE PASTAZA. FASE I: DIAGNÓSTICO DE LA SITUACIÓN ACTUAL DEL VERTEDERO DEL CANTÓN BAÑOS, ANÁLISIS Y SELECCIÓN DE ALTERNATIVAS DEL CIERRE TÉCNICO*.
- Ministerio del Ambiente Ecuador Normativa para Efluentes. (2015). *Norma de Calidad de Efluentes: Recurso Agua*.
- Mufarrege, M., Maine, A., & Hadad, H. (2012). *Tolerancia y eficiencia de Typha domingensis Pers. en la retención de metales y nutrientes de efluentes industriales*.

- Ortiz, D., Anrango, M., Pérez, H., Chela, L., Vilagrán, G., & Fernandez, L. (2021). Uso de microorganismos eficientes para la depuración de contaminantes orgánicos en aguas residuales urbanas. *Melica*, 5, 355–362. <https://doi.org/10.46480/esj.5.3.16>
- Pacasa, F., Loza, M., Bonifacio, A., Vino, L., & Serrano, T. (2017). Comunidad de hongos filamentosos en suelos del Agroecosistema de K'iphak'iphani, Comunidad Choquenaira-Viacha. *Journal of the Selva Andina Research Society*.
- Probanza, A. (2012). *La rizosfera: un "Criptoecosistema" vital. Aspectos básicos y aplicados*. [www.conama2012.org](http://www.conama2012.org)
- Quintero, G. V. (2021). *Análisis de biopelículas aplicado a la remoción de carga de contaminantes en plantas de tratamiento de aguas residuales no domésticas en empresas de bebidas no alcohólicas*.
- Quintero, J. (2014). Evaluación de humedales artificiales pilotos de flujo horizontal y tipo superficial y subsuperficial para el tratamiento de aguas residuales. *Ingenium*, 29.
- Raper, E., Stephenson, T., Anderson, D. R., Fisher, R., & Soares, A. (2018). Industrial wastewater treatment through bioaugmentation. *Process Safety and Environmental Protection*, 118, 178–187. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2018.06.035>
- Rocha, E. G., Cunha Feitosa, P. H., de Amorim Coura, M., & Barbosa, D. L. (2021). Temporal and spatial trends of a floating islands system's efficiency. *Journal of Environmental Management*, 277. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111367>
- Romeu, P. (2018). *Efecto del tiempo de retención hidráulico sobre la dinámica poblacional en un reactor anaerobio de membranas para el tratamiento de aguas residuales*. Universidad de Valencia.
- Romo, J. M. (2012). *Análisis de Muestras en el Laboratorio de Microbiología* (Segunda edición). ICB, S.L.
- Salgado Bernal, I., Cruz Arias, M., Durán Domínguez, M. del C., Oviedo, R., Carballo Valdés, M. E., & Sardiñas Martínez, A. (2010). *Bacterias como herramientas potenciales en el mejoramiento de humedales artificiales para el tratamiento de aguas*. 1–10.
- Salgado Bernal, I., Durán Domínguez, C., Cruz Arias, M., Carballo Valdés, M. E., & Martínez Sardiñas, A. (2012). Bacterias Rizosféricas con potencialidades fisiológicas para eliminar materia orgánica de aguas residuales. *Revista Contaminación Ambiental*, 28, 17–26.
- Dirección Municipal de Saneamiento Ambiental de Baños de Agua Santa, (2020).
- Sonkar, M., Kumar, V., Kumar, P., Shah, M. P., Majumdar, C. B., Biswas, J. K., Dutt, D., & Mishra, P. K. (2021). Bioaugmentation with existing potent microorganisms to accelerate the treatment efficacy of paper industry wastewater pollutants. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(5). <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105913>
- Tondera, K., Chazarenc, F., Chagnon, P. L., & Brisson, J. (2021). Bioaugmentation of treatment wetlands – A review. In *Science of the Total Environment* (Vol. 775). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145820>
- Valencia, J., Administradora, Q., Código, A., 349 Director, I. 152, Mauricio, J., & Rojas, C. (2014). *EVALUACIÓN DE HUMEDALES EVAPORATIVOS PARA EL POS TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS*. Universidad Tecnológica de Pereira.

- Vanegas, M. (2015a). Guías para el laboratorio de Bacteriología. *Nature*, 453(7195), 12. <https://elibro.net/es/ereader/epoch/70556>
- Vanegas, M. (2015b). *Guías para el laboratorio de Bacteriología* (Primera edición). Uniandes.
- Vymazal, J., & Kröpfelová, L. (2009). Removal of organics in constructed wetlands with horizontal sub-surface flow: A review of the field experience. *Science of the Total Environment*, 407(13), 3911–3922. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.08.032>
- Yang, X., Meng, L., Meng, F., & Meng, F. (2019). Combination of self-organizing map and parallel factor analysis to characterize the evolution of fluorescent dissolved organic matter in a full-scale landfill leachate treatment plant. *Science of the Total Environment*, 654, 1187–1195. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.135>
- Zecchin, S., Corsini, A., Martin, M., Romani, M., Beone, G. M., Zanchi, R., Zanzo, E., Tenni, D., Fontanella, M. C., & Cavalca, L. (2017a). Rhizospheric iron and arsenic bacteria affected by water regime: Implications for metalloid uptake by rice. *Soil Biology and Biochemistry*, 106, 129–137. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.12.021>
- Zecchin, S., Corsini, A., Martin, M., Romani, M., Beone, G. M., Zanchi, R., Zanzo, E., Tenni, D., Fontanella, M. C., & Cavalca, L. (2017b). Rhizospheric iron and arsenic bacteria affected by water regime: Implications for metalloid uptake by rice. *Soil Biology and Biochemistry*, 106, 129–137. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.12.021>



**ANEXO B.** Informe de resultados realizados al afluyente a la entrada a la Planta de Tratamiento de lixiviados.

**INFORME DE RESULTADOS**

DATOS DEL CLIENTE		Versión:	9
CLIENTE:	GAD CANTONAL BAÑOS DE AGUA SANTA	Pág.	1 de 1
REPRESENTANTE:	Ing. Pamela Pozo	Código:	REG TEC 018
DIRECCION:	Juive Grande - Relleno Sanitario	Fecha formato:	20/03/2017
TELEFONO:	032 740 421	NÚMERO DE INFORME:	
CELULAR:	09 9268 7652	LACQUA	2   0   3   1   7   8
e - mail:	<a href="mailto:pamapozo@gmail.com">pamapozo@gmail.com</a>		

CONDICIONES AMBIENTALES	HUMEDAD (%):	44	TEM. AMBIENTE(°C):	20
-------------------------	--------------	----	--------------------	----

TIPO DE MUESTRA:	Lixiviados - Entrada a la Planta: Pozo 1	FECHA TOMA DE MUESTRA:	25 de septiembre de 2020
RESPONSABLE MUESTREO:	Lacuanálisis		
TIPO DE TOMA DE MUESTRA:	Puntual		
FECHA DE ANALISIS:	Desde el 25 de septiembre al 13 de octubre de 2020		
FECHA EMISION DE INFORME:	13 de octubre de 2020		

**INFORME ANALISIS FISICO-QUIMICOS**

PARAMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO	INCERTIDUMBRE DEL METODO
Aluminio	mg/l	0,080	PRO TEC 046 / HACH 8012	± 7,04 %
Bario***	mg/l	0,283	EPA 3005 A, Rev. 01, 1992; EPA 6010 B, December 1996; Standard Methods Ed. 23, 2017, 3120 B / PA-117.00	± 0,0002 mg/l
Cobre	mg/l	<0,05	PRO TEC 032 / HACH 8506	± 13,70 %
Cromo Hexavalente	mg/l	0,041	PRO TEC 041 / HACH 8023	± 21,26 %
DBO5*	mg/l	3179,72	PRO TEC 066 / HACH 8043	± 3,72 %
DQO	mg/l	7626	PRO TEC 014 / APHA 5220 D	± 18,30 %
Fósforo Total	mg/l	8,80	PRO TEC 063 / HACH 8048	± 26,70 %
Hierro*	mg/l	30,34	PRO TEC 020 / HACH 8008	± 23,38 %
Manganeso	mg/l	2,269	PRO TEC 048 / HACH 8149	± 3,72 %
Níquel***	mg/l	0,122	EPA 3005 A, Rev. 01, 1992; EPA 6010 B, December 1996; Standard Methods Ed. 23, 2017, 3120 B / PA-117.00	± 0,00011 mg/l
Nitrógeno Total Kjeldahl****	mg/l	718,50	Standard Methods Ed. 23, 2017, 4500-Norg C / PA-72.00	± 21,75 mg/l
pH	UpH	8,45	PRO TEC 011 / APHA 4500 H+ B	± 1,30 %
Plomo***	mg/l	<0,001	EPA 3005 A, Rev. 01, 1992; EPA 6010 B, December 1996; Standard Methods Ed. 23, 2017, 3120 B / PA-117.00	± 0,00003 mg/l
Sólidos Suspendidos Totales	mg/l	644	PRO TEC 029 / HACH 8006	± 12,45 %
Sólidos Totales*	mg/l	10892	PRO TEC 017 / APHA 2540 B	± 5,49 %
Sulfatos	mg/l	16,00	PRO TEC 026 / HACH 8051	± 13,01 %
Sulfuros	mg/l	0,860	PRO TEC 042 / HACH 8131	± 4,89 %
Zinc*	mg/l	2,40	PRO TEC 065 / HACH 8009	± 14,63 %

**ANALISIS MICROBIOLÓGICO**

PARAMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO	INCERTIDUMBRE DEL METODO
Coliformes Fecales***	NMP/100ml	2200,0	Standard Methods 9221 B, E y F / PA - 66.00	± 2,1 NMP/100ml

Parámetro acreditado  
\* Parámetro acreditado fuera del alcance

\*\* Parámetro No acreditado  
\*\*\* Parámetro Subcontratado Acreditado: SAE LEN 05-005  
\*\*\*\* Parámetro Subcontratado No Acreditado: N/A

**NOTA:**

El informe solo afecta a las muestras sometidas a ensayo.  
Prohibida la reproducción total o parcial, por cualquier medio sin el permiso escrito del laboratorio.  
Este borrador de informe se ha emitido con fines de información rápida para el cliente



ANEXO C. Informe de resultados realizados al efluente (Lixiviado a la salida del Humedal).

**INFORME DE RESULTADOS**

DATOS DEL CLIENTE		Versión:	9
CLIENTE:	GAD CANTONAL BAÑOS DE AGUA SANTA	Pág.	1 de 1
REPRESENTANTE:	Ing. Pamela Pozo	Código:	REG TEC 018
DIRECCION:	Juive Grande - Relleno Sanitario	Fecha formato:	20/03/2017
TELEFONO:	032 740 421	NÚMERO DE INFORME:	
CELULAR:	09 9268 7652	LACQUA	203179
e - mail:	parepozo@gmail.com		

CONDICIONES AMBIENTALES	HUMEDAD (%):	44	TEM. AMBIENTE(°C):	20
-------------------------	--------------	----	--------------------	----

TIPO DE MUESTRA:	Lixiviados - Descarga Final	FECHA TOMA DE MUESTRA:	25 de septiembre de 2020
RESPONSABLE MUESTREO:	Lacquanálisis		
TIPO DE TOMA DE MUESTRA:	Puntual		
FECHA DE ANALISIS:	Desde el 25 de septiembre al 13 de octubre de 2020		
FECHA EMISION DE INFORME:	13 de octubre de 2020		

**INFORME ANALISIS FISICO-QUIMICOS**

PARAMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO	INCERTIDUMBRE DEL METODO
Aluminio	mg/l	<0,050	PRO TEC 046 / HACH 8012	± 7,04 %
Bario***	mg/l	0,048	EPA 3005 A, Rev. 01, 1992; EPA 6010 B, December 1996; Standard Methods Ed. 23, 2017, 3120 B / PA-117.00	± 0,0002 mg/l
Cobre	mg/l	<0,05	PRO TEC 032 / HACH 8506	± 13,70 %
Cromo Hexavalente	mg/l	<0,041	PRO TEC 041 / HACH 8023	± 21,26 %
DBO5*	mg/l	1327,22	PRO TEC 066 / HACH 8043	± 3,72 %
DQO	mg/l	2365	PRO TEC 014 / APHA 5220 D	± 18,30 %
Fósforo Total	mg/l	1,28	PRO TEC 063 / HACH 8048	± 26,70 %
Hierro*	mg/l	6,26	PRO TEC 020 / HACH 8008	± 23,38 %
Manganeso	mg/l	0,963	PRO TEC 048 / HACH 8149	± 3,72 %
Níquel***	mg/l	0,051	EPA 3005 A, Rev. 01, 1992; EPA 6010 B, December 1996; Standard Methods Ed. 23, 2017, 3120 B / PA-117.00	± 0,00011 mg/l
Nitrógeno Total Kjeldahl***	mg/l	200,50	Standard Methods Ed. 23, 2017, 4500-Norg C / PA-72.00	± 0,45 mg/l
pH	UpH	8,52	PRO TEC 011 / APHA 4500 H+ B	± 1,30 %
Plomo***	mg/l	<0,001	EPA 3005 A, Rev. 01, 1992; EPA 6010 B, December 1996; Standard Methods Ed. 23, 2017, 3120 B / PA-117.00	± 0,00003 mg/l
Sólidos Suspendidos Totales	mg/l	236	PRO TEC 029 / HACH 8006	± 12,45 %
Sólidos Totales	mg/l	2072	PRO TEC 017 / APHA 2540 B	± 5,49 %
Sulfatos*	mg/l	561,00	PRO TEC 026 / HACH 8051	± 13,01 %
Sulfuros	mg/l	0,374	PRO TEC 042 / HACH 8131	± 4,89 %
Zinc*	mg/l	2,28	PRO TEC 065 / HACH 8009	± 14,63 %

**ANALISIS MICROBIOLÓGICO**

PARAMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO	INCERTIDUMBRE DEL METODO
Coliformes Fecales***	NMP/100ml	1300,0	Standard Methods 9221 B, E y F / PA - 66.00	± 2,1 NMP/100ml

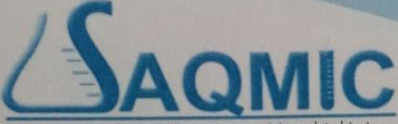
\* Parámetro acreditado fuera del alcance

\*\* Parámetro No acreditado  
 \*\*\* Parámetro Subcontratado Acreditado: SAE LEN 05-005  
 \*\*\*\* Parámetro Subcontratado No Acreditado: N/A

**NOTA:**

El informe solo afecta a las muestras sometidas a ensayo.  
 Prohibida la reproducción total o parcial, por cualquier medio sin el permiso escrito del laboratorio.  
 Este borrador de informe se ha emitido con fines de información rápida para el cliente

**ANEXO D.** Análisis inicial de DQO y DBO5 realizado al lixiviado del humedal artificial del relleno sanitario de Baños de Agua Santa (Muestra 1).

  
Servicios Analíticos Químicos y Microbiológicos  
en Aguas y Alimentos

**INFORME DE ANÁLISIS DE LIXIVIADOS**

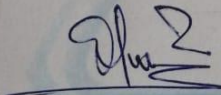
Fecha: 31 de agosto del 2021  
Análisis solicitado por: Srta. Jenny Barragán  
Tipo de muestras: Lixiviado/ingreso al humedal  
Localidad: Plata de tratamiento de lixiviados de Baños de Agua Santa


**Análisis Químico**

Determinaciones	Unidades	*Métodos de análisis	Resultados
Demanda Química de Oxígeno	mg/L	5220-D	3780.0
Demanda Bioquímica de Oxígeno	mg/L	5210-B	3 000.0
Nitrógeno orgánico total	mg/L	4500-N org- C	1 050.0
Sólidos Suspendidos	mg/L	2540-D	880.0
Sólidos Totales	mg/L	2540-B	10 580.0

Observaciones:

Atentamente,



  
Servicio de Análisis Químicos y Microbiológicos  
**Dra. Gina Alvarez**  
Telf.: 2 924 322 // Cel.: 0998580374

Dra. Gina Álvarez R.  
RESPONSABLE TECNICO LABORATORIO de Análisis Químicos y Microbiológicos en Aguas y Alimentos

Nota: El presente informe afecta solo a la muestra analizada.

ANEXO E. Análisis inicial de DQO y DBO<sub>5</sub> realizado al agua de la Laguna de Colta (Muestra 2).



Contáctanos: 0998580374 - 032924417  
Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes Riobamba – Ecuador

**INFORME DE ANÁLISIS DE LIXIVIADOS**

Fecha de admisión de muestras: 18 de octubre del 2021  
Análisis solicitado por: Srta. Jenny Barragán  
Tipo de Muestras: Agua Laguna de Colta  
Localidad: Cantón Colta

**Análisis Químico**

Determinaciones	Unidades	Métodos de análisis	Agua Laguna de Colta
Demanda Química de Oxígeno	mg/L	5220-D	54.00
Demanda Bioquímica de Oxígeno	mg/L	5210-B	11.80

El presente informe solo representa a las muestras analizadas.

Atentamente.



Dra. Gina Álvarez R.  
RESPONSABLE TÉCNICO DE LABORATORIO

ANEXO F. Análisis inicial de DQO y DBO<sub>5</sub> realizado al agua de la Laguna de Langos (Muestra 3).



Contactanos: 0998580374 - 032924417  
Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes Riobamba – Ecuador

**INFORME DE ANÁLISIS DE LIXIVIADOS**

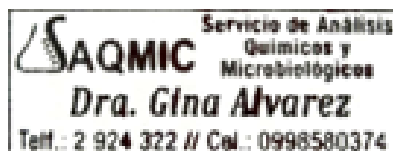
Fecha de admisión de muestras: 18 de octubre del 2021  
Análisis solicitado por: Srta. Jenny Barragán  
Tipo de Muestras: Agua Laguna de Langos  
Localidad: Cantón Guano

**Análisis Químico**

Determinaciones	Unidades	Métodos de análisis	Agua Laguna de Guano
Demanda Química de Oxígeno	mg/L	5220-D	50.0
Demanda Bioquímica de Oxígeno	mg/L	5210-B	11.0

El presente informe solo representa a las muestras analizadas.

Atentamente.





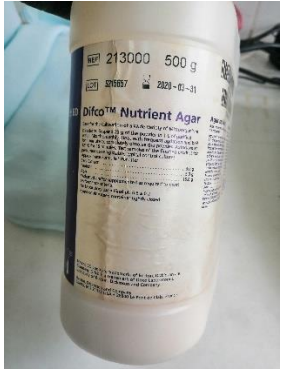
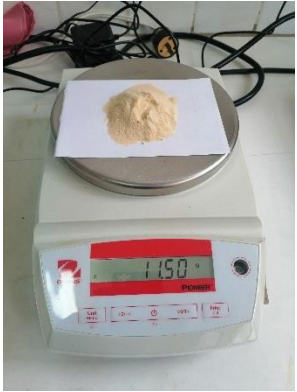


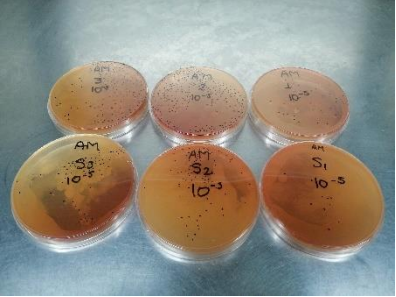

Dra. Gina Álvarez R.  
RESPONSABLE TÉCNICO DE LABORATORIO

**ANEXO G. Toma de muestras.**


		
<p>Relleno Sanitario de Baños de Agua Santa.</p>	<p>Humedal de la Planta de Tratamiento de Lixiviados.</p>	<p>Toma de muestras de lixiviados y sedimento de las plantas de Totora del humedal.</p>
		
<p>Toma de muestras de lixiviados y sedimento de las plantas de Totora de la Laguna de Colta.</p>	<p>Toma de muestras de lixiviados y sedimento de las plantas de Totora de la Laguna de Langos.</p>	<p>Preparación de muestras.</p>









ANEXO H. Preparación de Agar y conteo de colonias.

			
<p>Agar MacConkey (AMC).</p>	<p>Agar de dextrosa de papa (PDA).</p>	<p>Agar Nutritivo (AN).</p>	<p>Pesado de Agar.</p>
			
<p>Agar licuado para su vertido en las Cajas Petri.</p>	<p>Agar sólido AMC.</p>	<p>Conteo del número de colonias en AMC.</p>	<p>Conteo del número de colonias en PDA.</p>

**ANEXO I.** Procesos varios de la investigación.





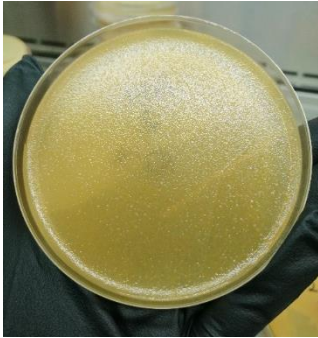

			
<p>Conteo del número de colonias en AN.</p>	<p>Esterilización de Agar.</p>	<p>Consortios microbianos de cada tratamiento.</p>	<p>Recuento de microorganismos con un aumento 100X.</p>
			
<p>Prueba bioquímica de Catalasa para bacterias en AMC.</p>	<p>Tinción Gram de Bacterias en AMC.</p>	<p>Tinción Gram de microorganismos en PDA.</p>	<p>Tinción Gram de hongos en PDA.</p>

ANEXO J. Diferentes muestras inoculadas.


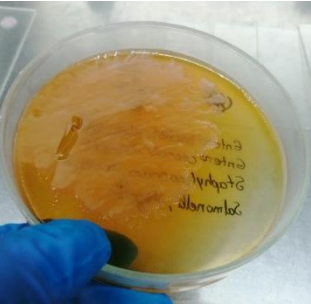
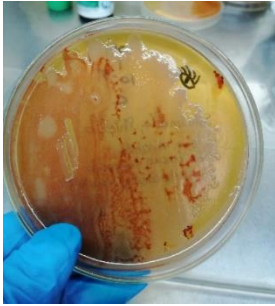



		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• 1</li> <li>• <math>10^{-1}</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• 2</li> <li>• <math>10^{-1}</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• 3</li> <li>• <math>10^{-1}</math></li> </ul>
		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• 3</li> <li>• <math>10^{-2}</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• 3</li> <li>• <math>10^{-4}</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• 3</li> <li>• <math>10^{-5}</math></li> </ul>








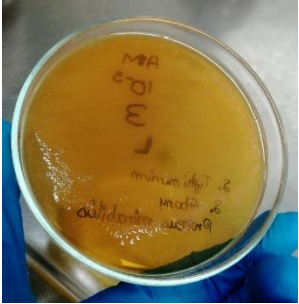
ANEXO K. Diferentes muestras inoculadas.

		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• S1</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• S2</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• S3</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> </ul>
		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• AN</li> <li>• 1</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AN</li> <li>• 2</li> <li>• 10<sup>-2</sup></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AN</li> <li>• S3</li> <li>• 10<sup>-4</sup></li> </ul>









ANEXO L. Muestras bioaumentadas en AMC.

		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• 1</li> <li>• <math>10^{-5}</math></li> <li>• a</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• 1</li> <li>• <math>10^{-5}</math></li> <li>• b</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• 1</li> <li>• <math>10^{-5}</math></li> <li>• c</li> </ul>
		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• S3</li> <li>• <math>10^{-5}</math></li> <li>• d</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• S3</li> <li>• <math>10^{-5}</math></li> <li>• e</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• S3</li> <li>• <math>10^{-5}</math></li> <li>• f</li> </ul>

ANEXO LL. Muestras bioaumentadas en AMC.






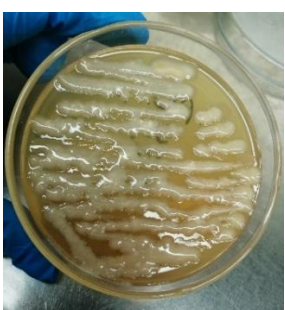

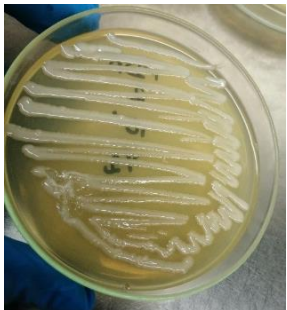
		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• 2</li> <li>• 10<sup>-5</sup></li> <li>• g</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• 2</li> <li>• 10<sup>-5</sup></li> <li>• h</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• S1</li> <li>• 10<sup>-5</sup></li> <li>• i</li> </ul>
		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• S1</li> <li>• 10<sup>-5</sup></li> <li>• j</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• 3</li> <li>• 10<sup>-5</sup></li> <li>• k</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• 3</li> <li>• 10<sup>-5</sup></li> <li>• l</li> </ul>

ANEXO M. Muestras bioaumentadas en PDA.

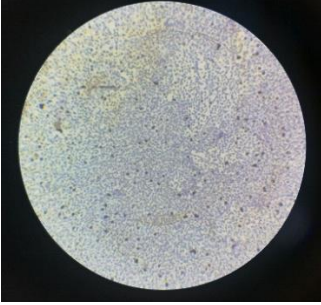
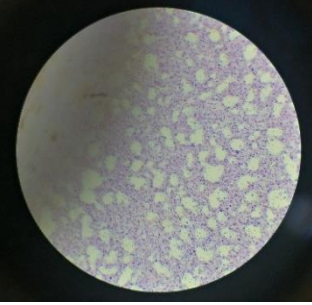
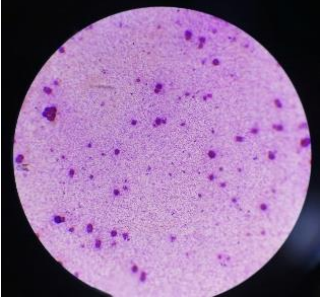
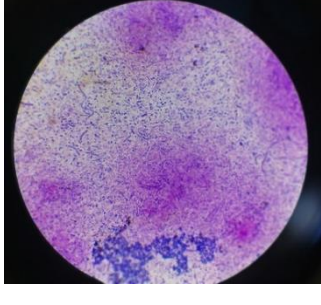
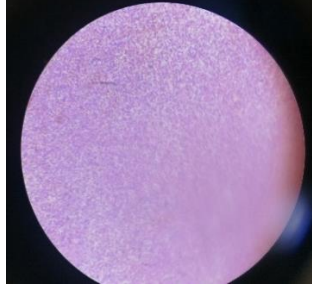
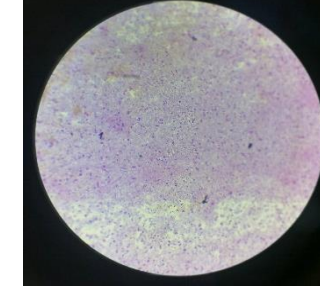
			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• 1</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> <li>• ll 1</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• 1</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> <li>• ll 2</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• 1</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> <li>• o</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• 2</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> <li>• p</li> </ul>
			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• 1</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> <li>• q</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• 3</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> <li>• r</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• 3</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> <li>• s</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• 3</li> <li>• 10<sup>-2</sup></li> <li>• t</li> </ul>




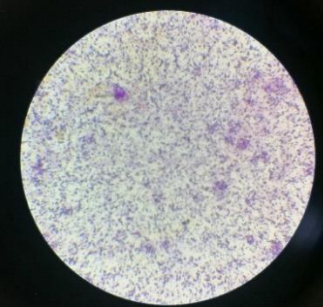
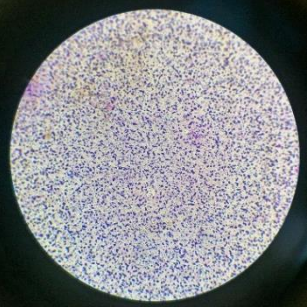
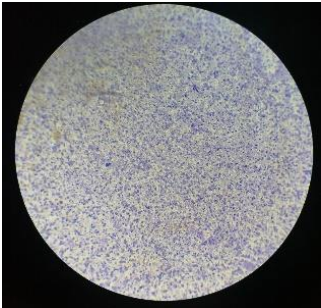
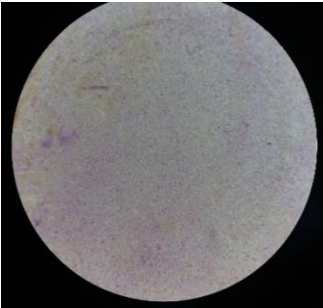
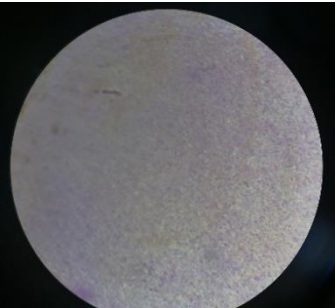
ANEXO N. Muestras bioaumentadas en PDA.

			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• S1</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> <li>• u1</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• S1</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> <li>• u2</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• S2</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> <li>• v1</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• S2</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> <li>• v2</li> </ul>
			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• S3</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> <li>• w</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• S3</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> <li>• X</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• 2</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> <li>• y1</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• 2</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> <li>• y2</li> </ul>


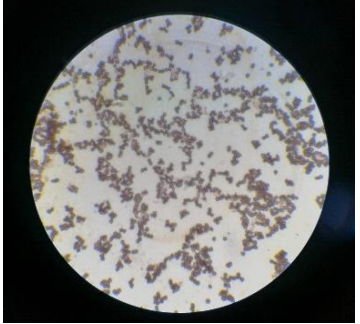
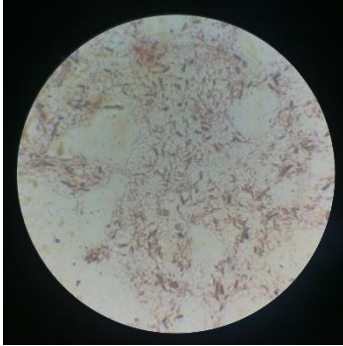
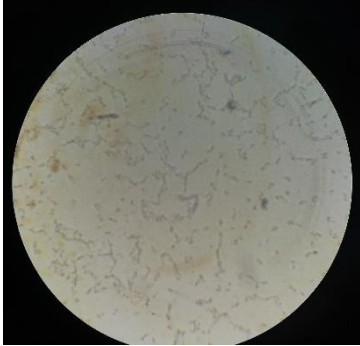
**ANEXO O. Tinción Gram de Bacterias en AMC**

		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• 1</li> <li>• <math>10^{-5}</math></li> <li>• a</li> <li>• +</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• 1</li> <li>• <math>10^{-5}</math></li> <li>• b</li> <li>• +</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• 1</li> <li>• <math>10^{-5}</math></li> <li>• c</li> <li>• +</li> </ul>
		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• S3</li> <li>• <math>10^{-5}</math></li> <li>• d</li> <li>• +</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• S3</li> <li>• <math>10^{-5}</math></li> <li>• e</li> <li>• +</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• S3</li> <li>• <math>10^{-5}</math></li> <li>• f</li> <li>• -</li> </ul>

**ANEXO P. Tinción Gram de Bacterias en AMC**

		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• 2</li> <li>• <math>10^{-5}</math></li> <li>• g</li> <li>• +</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• 2</li> <li>• <math>10^{-5}</math></li> <li>• h</li> <li>• +</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• S1</li> <li>• <math>10^{-5}</math></li> <li>• i</li> <li>• +</li> </ul>
		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• S1</li> <li>• <math>10^{-5}</math></li> <li>• j</li> <li>• +</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• 3</li> <li>• <math>10^{-5}</math></li> <li>• k</li> <li>• -</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AMC</li> <li>• 3</li> <li>• <math>10^{-5}</math></li> <li>• l</li> <li>• +</li> </ul>

ANEXO Q. Tinción Gram de Bacterias en PDA

	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• 1</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> <li>• ll 1</li> <li>• hongo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• 1</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> <li>• o</li> <li>• hongo</li> </ul>
	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• 2</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> <li>• p</li> <li>• hongo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA</li> <li>• 1</li> <li>• 10<sup>-1</sup></li> <li>• q</li> <li>• levadura</li> </ul>



**ANEXO R.** Recuento de microorganismos del Tratamiento 1 (T1).

T1/10															
65	69	70	72	76	74	58	80	93	80	97	88	56	50	76	79
93	79	84	91	73	65	70	82	88	92	78	80	72	84	70	81
84	86	88	90	86	89	85	90	62	68	73	84	87	91	71	66
88	92	81	87	90	82	78	74	93	78	91	72	81	78	73	53

**ANEXO S.** Recuento de microorganismos del Tratamiento 2 (T2).

T2 / 10																			
6	11	11	10	20	13	20	22	8	11	19	20	21	14	11	15	7	12	13	9
12	13	9	15	12	17	12	21	10	22	9	15	20	21	23	24	13	14	10	17
15	17	13	16	14	22	17	33	20	17	13	24	13	21	20	21	15	21	16	32
15	24	14	17	19	24	19	16	13	18	17	13	20	15	19	18	17	22	18	17
12	28	17	27	26	21	15	24	16	17	22	22	20	20	19	14	14	18	20	15
27	32	22	25	21	40	22	18	22	30	22	37	22	60	40	18	26	29	22	18
33	75	40	32	15	17	27	33	26	32	43	26	35	62	54	65	29	31	40	36
45	82	73	42	33	31	22	19	39	26	34	43	45	57	49	35	30	31	36	40
51	54	90	33	40	33	49	41	38	53	39	81	85	60	41	31	52	56	65	31
42	59	93	85	43	38	34	42	43	39	48	45	46	70	43	28	45	61	43	41
63	58	51	96	92	83	45	34	54	45	35	31	37	40	39	29	53	59	55	51
49	51	62	69	59	39	63	37	31	35	53	62	45	31	29	24	46	32	39	28
34	39	62	92	45	63	61	54	45	32	42	53	25	19	10	12	28	21	14	16
53	52	48	35	49	38	31	41	58	28	47	27	30	28	19	12	31	26	25	17
62	58	28	74	71	69	53	39	49	42	25	37	45	30	35	15	44	28	31	13
91	84	73	53	38	43	38	45	41	45	36	38	42	35	25	20	39	31	27	18
38	42	35	59	31	61	41	19	29	17	26	29	45	12	19	22	43	38	39	34
41	52	62	13	17	17	15	10	35	29	19	17	15	19	31	29	44	53	65	19
49	35	19	12	25	21	45	19	25	29	35	17	27	18	32	18	35	32	18	16
51	21	35	41	31	8	25	12	30	31	37	20	41	53	43	52	43	36	25	22

**ANEXO T. Recuento de microorganismos del Tratamiento 3 (T3).**

T3/10																			
2	0	6	8	2	0	5	2	0	0	0	3	4	4	10	0	1	1	2	2
4	2	0	4	4	2	2	0	0	0	1	3	0	3	1	4	3	1	1	3
1	1	0	1	5	2	0	6	2	4	1	0	3	2	3	0	0	2	2	1
5	0	1	4	3	0	0	0	2	1	3	4	4	2	10	1	2	0	4	2
6	1	3	1	1	1	0	0	0	2	1	1	0	1	1	3	1	2	2	0
2	2	1	1	2	2	1	1	1	2	0	1	3	0	1	2	0	0	2	1
1	4	2	2	2	2	0	3	1	3	7	2	1	0	2	2	1	1	2	1
1	0	2	2	2	2	2	3	1	1	0	7	3	2	2	0	2	0	0	1
2	1	4	2	1	1	1	3	1	2	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0
2	2	5	1	1	1	1	0	1	4	1	0	2	3	0	3	3	5	6	2
0	6	1	2	0	0	0	3	3	2	2	1	1	2	0	0	2	2	2	4
2	2	2	1	0	0	0	2	0	0	0	1	4	2	1	0	3	2	0	2
0	1	2	3	2	2	0	1	2	0	2	1	2	2	3	1	2	3	2	1
0	0	0	0	0	0	3	3	1	0	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1
0	0	0	1	0	0	2	0	2	2	0	2	2	0	0	1	0	0	1	1
0	1	2	0	1	1	1	4	2	3	1	1	1	1	1	4	3	1	1	2
4	6	2	2	0	2	1	2	1	1	3	1	0	3	3	1	1	0	0	1
2	2	0	2	0	3	0	1	2	1	1	1	2	1	4	4	0	0	1	1
1	1	1	0	1	0	0	0	3	2	2	3	0	0	1	1	0	1	2	1
1	5	5	4	1	1	2	3	1	0	2	3	0	0	0	0	1	2	0	1

**ANEXO U. Recuento de microorganismos del Tratamiento 4 (T4).**

T4/10																			
30	28	12	36	24	33	25	23	29	21	23	18	22	23	19	171	19	27	25	21
29	31	33	28	19	26	25	27	17	27	26	23	19	27	17	23	28	26	24	26
26	33	27	36	22	25	29	19	23	25	21	25	15	19	25	17	20	18	16	18
25	28	23	28	32	27	23	28	29	22	19	23	19	29	27	25	17	19	20	26
18	28	18	15	21	29	25	20	18	19	17	29	23	22	23	28	26	28	22	27
17	20	23	16	18	25	26	19	21	16	19	17	15	24	26	2	24	26	28	20
14	18	24	16	23	24	20	16	23	21	16	23	32	37	40	35	25	27	21	19
15	11	19	18	19	21	17	22	18	26	25	27	48	50	60	69	17	25	18	31
16	12	15	19	18	25	15	16	12	15	13	15	16	18	21	19	15	13	19	16
17	14	16	15	27	19	17	12	26	16	19	17	22	14	18	19	16	12	13	18
15	17	14	19	13	15	13	16	17	15	28	23	19	17	15	12	22	20	18	15
22	15	21	15	13	18	19	17	21	16	27	15	20	12	16	18	14	18	12	19
18	17	19	16	35	13	12	16	12	16	18	19	24	18	22	19	21	18	16	10
23	21	14	17	17	13	18	17	19	15	13	23	22	17	25	17	19	23	14	12
30	26	28	15	18	20	18	21	12	19	35	13	17	30	16	12	12	9	14	11
37	30	31	25	23	19	15	12	13	18	16	19	32	19	20	17	14	9	8	10
26	18	25	19	17	16	19	16	19	13	11	17	30	19	22	24	18	14	15	32
16	21	15	29	16	32	18	20	17	15	17	19	17	15	28	29	21	16	36	16
28	32	25	21	22	29	23	19	26	26	19	26	21	19	21	20	19	38	32	18
26	35	36	38	21	34	38	30	22	21	16	15	20	26	19	14	31	28	29	22

**ANEXO V. Recuento de microorganismos del Tratamiento 5 (T5).**

T5/10																			
22	25	29	34	19	16	30	32	34	25	21	19	36	31	35	27	29	27	24	30
23	24	29	38	20	24	28	22	21	23	19	17	27	21	18	19	23	21	32	28
26	28	21	32	28	38	40	26	29	23	27	31	32	28	30	18	10	21	12	15
23	20	16	18	32	36	30	19	21	20	24	19	18	21	37	15	19	11	17	19
17	18	19	17	31	29	26	30	32	29	25	28	16	18	24	19	17	23	29	32
23	21	24	20	28	27	21	29	30	26	23	20	10	14	12	16	11	16	15	17
27	28	21	18	21	17	19	23	22	24	28	27	11	18	15	11	12	15	19	18
38	35	32	16	26	23	22	29	28	30	31	36	9	16	12	14	18	14	18	13
9	10	8	11	22	25	20	19	15	25	28	32	28	30	26	21	26	21	23	28
10	8	12	9	28	29	26	27	17	16	21	34	32	31	39	36	15	19	17	18
7	8	8	14	33	31	30	27	21	19	23	26	27	29	21	22	21	25	29	25
13	12	14	17	36	27	22	34	26	24	30	22	35	37	38	31	21	23	27	29
34	36	31	35	30	38	36	29	36	32	32	28	31	33	30	28	19	24	17	18
30	32	28	23	31	29	27	23	21	26	29	32	31	30	28	27	31	34	29	26
26	28	21	26	21	26	25	20	27	29	33	36	22	26	31	20	32	35	37	30
27	23	29	31	24	21	20	18	30	28	33	30	30	21	20	31	30	32	36	39
26	25	21	29	17	19	18	22	20	22	28	21	12	14	16	19	26	29	30	32
29	30	32	36	29	30	27	32	22	26	31	26	26	29	25	21	21	29	22	26
32	36	38	31	25	32	26	36	27	28	22	25	17	19	15	27	26	28	32	31
27	29	21	28	29	30	23	31	31	33	35	28	22	17	16	21	31	29	33	28

**ANEXO W.** Recuento de microorganismos del Tratamiento 6 (T6).

T6/10																			
28	24	26	30	30	28	32	22	19	23	22	17	19	24	29	26	25	21	29	30
21	26	22	29	28	29	26	21	16	15	13	17	25	27	21	20	29	28	32	28
27	29	28	32	32	30	34	37	18	16	19	20	27	28	28	23	27	26	26	21
25	27	26	30	29	36	39	22	25	21	21	23	21	18	32	30	15	18	21	19
19	21	17	21	21	30	22	27	22	20	28	30	15	19	22	17	31	29	22	24
21	23	26	26	26	30	28	35	25	21	23	27	19	21	20	19	18	31	32	30
19	26	28	27	27	31	35	37	20	19	18	22	30	20	26	31	19	34	36	34
17	19	21	17	32	28	33	38	19	16	18	23	23	18	21	24	21	25	26	19
26	22	18	16	22	32	18	19	19	17	17	19	28	31	33	26	19	17	19	22
25	30	16	15	22	29	31	26	15	13	12	17	30	36	28	32	15	19	16	11
30	31	29	13	31	35	36	28	17	16	19	18	33	31	36	34	13	17	13	18
31	20	30	20	19	17	20	23	15	13	17	20	26	28	34	23	12	14	15	16
29	36	32	31	29	30	25	28	23	21	17	20	28	33	26	29	19	21	17	22
27	28	36	32	27	23	29	32	30	26	31	30	36	39	33	32	12	15	16	13
31	26	30	28	19	16	21	19	32	28	33	32	17	15	19	23	20	27	23	23
19	17	24	22	17	15	14	17	31	29	28	30	21	13	19	26	11	12	20	29
19	17	21	23	25	23	21	27	19	21	17	16	29	25	21	21	15	13	25	27
15	19	16	19	29	33	28	23	20	23	19	21	19	16	18	20	26	28	30	29
13	19	21	20	19	21	22	16	33	30	29	36	17	20	17	25	31	33	27	31
21	23	27	25	16	14	19	20	19	17	15	23	19	13	16	20	29	25	23	30

**ANEXO X.** Recuento de microorganismos del Tratamiento 7 (T7).

T7/10																			
11	14	10	12	15	9	22	16	28	22	28	26	29	27	31	39	24	38	26	29
17	15	8	10	42	34	26	30	25	21	27	33	39	44	38	36	19	23	30	34
14	16	12	16	38	26	18	24	22	19	21	26	29	36	31	24	24	29	28	22
13	10	14	11	37	32	28	25	20	26	32	30	30	28	26	29	32	30	19	23
39	41	43	47	45	41	39	49	39	36	31	37	35	31	29	27	30	26	25	22
32	35	36	43	37	45	43	46	29	32	36	31	37	32	30	29	25	28	29	25
40	45	47	39	40	35	29	35	34	37	39	36	33	36	28	29	27	26	27	26
35	38	45	45	39	36	32	41	35	31	34	31	28	24	27	31	29	31	35	38
26	24	26	29	24	22	26	29	26	36	19	18	20	26	28	36	30	28	26	24
18	22	28	30	26	29	24	20	20	29	28	22	22	19	20	38	22	24	28	36
17	20	22	36	24	31	27	20	24	26	20	26	25	28	26	28	27	26	24	22
19	28	26	22	30	23	28	39	32	20	36	32	22	28	36	32	22	30	22	26
19	24	26	20	22	23	26	29	28	39	38	26	20	27	32	29	32	36	29	27
23	27	29	36	24	26	23	20	26	28	33	30	28	26	28	25	27	31	32	37
28	30	23	20	26	39	33	36	28	22	28	32	30	29	30	31	28	25	30	29
18	23	26	27	28	29	26	28	29	26	27	42	40	39	32	28	25	25	22	27
15	17	19	16	17	11	20	18	22	24	26	27	31	29	28	33	26	34	24	27
19	17	10	13	25	28	32	33	25	27	31	29	28	25	29	31	29	31	25	26
15	18	19	17	28	34	36	35	21	25	27	22	25	23	24	29	26	19	24	27
17	13	17	12	25	31	32	29	26	22	25	21	23	21	23	26	23	21	23	26

ANEXO Y. Resultados de los análisis de DQO y DBO<sub>5</sub> a los 15 días.



Contáctanos: 0998580374 - 032924322  
Av. 11 de noviembre y Milton Reyes Riobamba – Ecuador

**RESULTADO DE ANÁLISIS**

Fecha de admisión de muestras: 03 de diciembre del 2021  
Fecha de emisión de resultados: 09 de diciembre del 2021  
Análisis solicitado por: Srta. Jenny Barragán  
Tipo de Muestras: Muestras de lixiviados, diferentes tratamientos  
Localidad: Riobamba

Tratamientos	Demanda Bioquímica de Oxígeno (Mét. de análisis APHA 5210-B)			Demanda Química de Oxígeno (Mét. de análisis APHA 5220-D)		
	DQO mg/mL lixiviado			DBO <sub>5</sub> mg/mL lixiviado		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
T1	6275	6345	6187	320	305	332
T2	6220	5980	5863	295	265	301
T3	5665	5862	5485	285	320	288
T4	5860	5671	5911	280	282	258
T5	5690	5548	5736	295	270	286
T6	5380	5671	5549	270	288	312
T7	5850	6130	5832	310	352	305

El presente informe solo representa a las muestras analizadas.

Atentamente



Dra. Gina Álvarez R.  
RESPONSABLE TÉCNICO DE LABORATORIO

ANEXO Z. Resultados de los análisis de DQO y DBO<sub>5</sub> a los 30 días



Contáctanos: 0998580374 - 032924417  
Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes Riobamba – Ecuador

**INFORME DE ANÁLISIS DE LIXIVIADOS**

Fecha de admisión de muestras: 13 de diciembre del 2021  
Fecha de emisión de resultados: 20 de diciembre del 2021  
Análisis solicitado por: Srta. Jenny Barragán  
Tipo de Muestras: Muestras de lixiviados, diferentes tratamientos  
Localidad: Riobamba

Tratamientos	Demanda Bioquímica de Oxígeno (Mét. de análisis APHA 5210-B)			Demanda Química de Oxígeno (Mét. de análisis APHA 5220-D)		
	DQO mg/mL lixiviado			DBO <sub>5</sub> mg/mL lixiviado		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
T1	2700	2841	2652	112	103	120
T2	2666	2475	2410	84	89	68
T3	2328	2185	2415	104	130	108
T4	2630	2688	2487	90	71	95
T5	2680	2510	2802	94	75	91
T6	2912	3223	3156	108	133	118
T7	2972	3117	2914	104	127	84

El presente informe solo representa a las muestras analizadas.

Atentamente,



Dra. Gina Álvarez R.  
RESPONSABLE TÉCNICO DE LABORATORIO

QUIJITOS TUTOR MIEMBROS



ANEXO AA. Resultados de los análisis de DQO y DBO<sub>5</sub> a los 45 días.



Contáctanos: 0998580374 - 032924417  
Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes Riobamba – Ecuador

**INFORME DE ANÁLISIS DE LIXIVIADOS**

Fecha de admisión de muestras: 03 de enero del 2022  
Fecha de emisión de resultados: 10 de enero del 2022  
Análisis solicitado por: Srta. Jenny Barragán  
Tipo de Muestras: Muestras de lixiviados, diferentes tratamientos  
Localidad: Riobamba

Tratamientos	Demanda Bioquímica de Oxígeno (Mét. de análisis APHA 5210-B)			Demanda Química de Oxígeno (Mét. de análisis APHA 5220-D)		
	DQO mg/mL lixiviado			DBO <sub>5</sub> mg/mL lixiviado		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
T1	826	952	803	84	70	98
T2	838	690	679	76	82	62
T3	816	974	730	86	94	111
T4	804	749	817	56	62	42
T5	822	888	702	68	64	53
T6	1047	1133	1003	76	102	98
T7	928	903	1108	82	95	78

El presente informe solo representa a las muestras analizadas.

Atentamente.



Dra. Gina Álvarez R.  
RESPONSABLE TÉCNICO DE LABORATORIO

**ANEXO BB.** Datos de DQO y DBO<sub>5</sub> para los distintos tratamientos, a los 15, 30 y 45 días de contacto del consorcio microbiano con el lixiviado

No.	Tratamiento	Repetición	DQO 15	DBO5 15	DQO 30	DBO5 30	DQO 45	DQO5 45
1	T1	1	6275,00	320,00	2700,00	112,00	826,00	84,00
2	T1	2	6345,00	305,00	2841,00	103,00	952,00	70,00
3	T1	3	6187,00	332,00	2652,00	120,00	803,00	98,00
4	T2	1	6220,00	295,00	2666,00	84,00	838,00	76,00
5	T2	2	5980,00	265,00	2475,00	89,00	690,00	82,00
6	T2	3	5863,00	301,00	2410,00	68,00	679,00	62,00
7	T3	1	5665,00	285,00	2328,00	104,00	816,00	86,00
8	T3	2	5862,00	320,00	2185,00	130,00	974,00	94,00
9	T3	3	5485,00	288,00	2415,00	108,00	730,00	111,00
10	T4	1	5860,00	280,00	2630,00	90,00	804,00	56,00
11	T4	2	5671,00	282,00	2688,00	71,00	749,00	62,00
12	T4	3	5911,00	258,00	2487,00	95,00	817,00	42,00
13	T5	1	5690,00	295,00	2680,00	94,00	822,00	68,00
14	T5	2	5548,00	270,00	2510,00	75,00	888,00	64,00
15	T5	3	5736,00	286,00	2802,00	91,00	702,00	53,00
16	T6	1	5380,00	270,00	2912,00	108,00	1047,00	76,00
17	T6	2	5671,00	288,00	3223,00	133,00	1133,00	102,00
18	T6	3	5549,00	312,00	3156,00	118,00	1003,00	98,00
19	T7	1	5850,00	310,00	2972,00	104,00	928,00	82,00
20	T7	2	6130,00	352,00	3117,00	127,00	903,00	95,00
21	T7	3	5832,00	305,00	2914,00	84,00	1108,00	78,00

**ANEXO CC.** Prueba de normalidad de Shapiro - Wilk para el DQO.

	<b>Tratamiento</b>	<b>Estadístico</b>	<b>G1</b>	<b>Significancia</b>
DQO 15	T1	0,996	3	0,875
	T2	0,962	3	0,625
	T3	0,999	3	0,950
	T4	0,901	3	0,388
	T5	0,920	3	0,452
	T6	0,991	3	0,822
	T7	0,795	3	0,103
DQO 30	T1	0,925	3	0,471
	T2	0,925	3	0,471
	T3	0,981	3	0,733
	T4	0,944	3	0,543
	T5	0,991	3	0,819
	T6	0,903	3	0,394
	T7	0,942	3	0,537
DQO 45	T1	0,863	3	0,275
	T2	0,802	3	0,118
	T3	0,972	3	0,678
	T4	0,887	3	0,346
	T5	0,973	3	0,683
	T6	0,966	3	0,648
	T7	0,840	3	0,214

a. Corrección de significación de Lilliefors

**ANEXO DD.** Prueba de igualdad de Levene de varianzas de error para el DQO.

Prueba de igualdad de Levene de varianzas de error <sup>a</sup>					
		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Significancia
DQO 15	Se basa en la media	0,583	6	14	0,738
	Se basa en la mediana	0,208	6	14	0,968
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,208	6	10,041	0,966
	Se basa en la media recortada	0,549	6	14	0,763
DQO 30	Se basa en la media	0,334	6	14	0,908
	Se basa en la mediana	0,098	6	14	0,995
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,098	6	11,388	0,995
	Se basa en la media recortada	0,310	6	14	0,921
DQO 45	Se basa en la media	0,996	6	14	0,465
	Se basa en la mediana	0,224	6	14	0,962
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,224	6	10,436	0,960
	Se basa en la media recortada	0,904	6	14	0,519
Prueba la hipótesis nula de que la varianza de error de la variable dependiente es igual entre grupos.					
a. Diseño: Intersección + Tratamiento Diseño intra-sujetos: tiempo_transcurrido					

**ANEXO EE.** Prueba de esfericidad de Mauchly para el DQO.

Prueba de esfericidad de Mauchly <sup>a</sup>							
Efecto intra-sujetos	W de Mauchly	Aprox. Chi-cuadrado	gl	Significancia	Épsilon <sup>b</sup>		
					Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Límite inferior
Tiempo transcurrido	0,948	0,698	2	<b>0,705</b>	0,950	1,000	0,500
Prueba la hipótesis nula de que la matriz de covarianzas de error de las variables dependientes con transformación ortonormalizada es proporcional a una matriz de identidad.							
a. Diseño: Intersección + Tratamiento Diseño intra-sujetos: Tiempo transcurrido							
b. Se puede utilizar para ajustar los grados de libertad para las pruebas promedio de significación. Las pruebas corregidas se visualizan en la tabla de pruebas de efectos intra-sujetos.							

**ANEXO FF.** Prueba de normalidad de Shapiro - Wilk de DBO<sub>5</sub>.

	<b>Tratamiento</b>	<b>Estadístico</b>	<b>gl</b>	<b>Significancia</b>
DBO <sub>5</sub> 15	T1	0,996	3	0,878
	T2	0,871	3	0,298
	T3	0,814	3	0,148
	T4	0,812	3	0,144
	T5	0,975	3	0,694
	T6	0,993	3	0,843
	T7	0,829	3	0,185
DBO <sub>5</sub> 30	T1	0,999	3	0,935
	T2	0,916	3	0,439
	T3	0,862	3	0,274
	T4	0,898	3	0,380
	T5	0,865	3	0,281
	T6	0,987	3	0,780
	T7	0,998	3	0,923
DBO <sub>5</sub> 45	T1	10,000	3	10,000
	T2	0,949	3	0,567
	T3	0,959	3	0,609
	T4	0,949	3	0,567
	T5	0,932	3	0,497
	T6	0,862	3	0,274
	T7	0,915	3	0,433

a. Corrección de significación de Lilliefors

**ANEXO GG.** Prueba de igualdad de Levene de varianzas de error para el DBO<sub>5</sub>.

<b>Prueba de igualdad de Levene de varianzas de error<sup>a</sup></b>					
		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Significancia
DBO <sub>5</sub> 15	Se basa en la media	0,790	6	14	0,592
	Se basa en la mediana	0,119	6	14	0,992
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,119	6	9,408	0,991
	Se basa en la media recortada	0,702	6	14	0,653
DBO <sub>5</sub> 30	Se basa en la media	0,577	6	14	0,743
	Se basa en la mediana	0,281	6	14	0,937
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,281	6	11,302	0,935
	Se basa en la media recortada	0,554	6	14	0,760
DBO <sub>5</sub> 45	Se basa en la media	0,334	6	14	0,908
	Se basa en la mediana	0,123	6	14	0,992
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,123	6	11,152	0,991
	Se basa en la media recortada	0,314	6	14	0,919
Prueba la hipótesis nula de que la varianza de error de la variable dependiente es igual entre grupos.					
a. Diseño: Intersección + Tratamiento Diseño intra-sujetos: Tiempo_transcurrido					

**ANEXO HH.** Prueba de esfericidad de Mauchly para el DBO<sub>5</sub>

<b>Prueba de esfericidad de Mauchly<sup>a</sup></b>							
Efecto intra-sujetos	W de Mauchly	Aprox. Chi-cuadrado	gl	Significancia	Épsilon <sup>b</sup>		
					Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Límite inferior
Tiempo transcurrido	0,919	1,100	2	<b>0,577</b>	0,925	1,000	0,500
Prueba la hipótesis nula de que la matriz de covarianzas de error de las variables dependientes con transformación ortonormalizada es proporcional a una matriz de identidad.							
a. Diseño: Intersección + Tratamiento Diseño intra-sujetos: Tiempo transcurrido							
b. Se puede utilizar para ajustar los grados de libertad para las pruebas promedio de significación. Las pruebas corregidas se visualizan en la tabla de pruebas de efectos intra-sujetos.							