



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

**“MEDICIÓN DEL CRECIMIENTO MICROBIANO EN AGUAS
RESIDUALES DOMÉSTICAS PROCEDENTES DEL BARRIO LA
PRIMAVERA, PARROQUIA LIZARZABURU, CANTÓN
RIOBAMBA, ESTIMULADO POR TECNOLOGÍA DE ONDAS DE
SONIDO AUDIBLE”**

**Trabajo de titulación presentado para optar el grado académico de:
INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

AUTOR: BYRON GERMÁN VILLACRÉS MORENO
TUTOR: Dr. ARQUÍMIDES XAVIER HARO VELASTEGUÍ

Riobamba – Ecuador

2016

CERTIFICACIÓN

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que el trabajo de investigación: **“MEDICIÓN DEL CRECIMIENTO MICROBIANO EN AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS PROCEDENTES DEL BARRIO LA PRIMAVERA, PARROQUIA LIZARZABURU, CANTÓN RIOBAMBA, ESTIMULADO POR TECNOLOGÍA DE ONDAS DE SONIDO AUDIBLE”**, de responsabilidad del señor egresado Byron Germán Villacrés Moreno, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dr. Arquímedes Haro

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Gerardo Medina

MIEMBRO DE TRIBUNAL

Yo, Byron Germán Villacrés Moreno, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en la tesis **“MEDICIÓN DEL CRECIMIENTO MICROBIANO EN AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS PROCEDENTES DEL BARRIO LA PRIMAVERA, PARROQUIA LIZARZABURU, CANTÓN RIOBAMBA, ESTIMULADO POR TECNOLOGÍA DE ONDAS DE SONIDO AUDIBLE”** y el patrimonio intelectual del Trabajo de titulación, pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

BYRON GERMÁN VILLACRÉS MORENO

AGRADECIMIENTO

Mi sincero agradecimiento a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Escuela de Ciencias Químicas, la Ingeniera Maritza Yanez Técnico Docente del Laboratorio de Microbiología y al Departamento de Vinculación con la Colectividad por contribuir con los conocimientos necesarios y la formación humanística para ser un excelente profesional y especialmente al Dr. Arquímedes Haro por su valiosa contribución para desarrollar esta investigación.

A Dios por todas sus bendiciones, a mi familia por su apoyo incondicional, y a todas las personas que hicieron posible la culminación de la presente investigación.

A mis amigos: Jairo Viteri, Ricardo Proaño, Nancy Coronel, Diego Jácome por su incondicional apoyo y amistad durante los años de estudio de esta carrera.

Al arte de la Música por educar mi espíritu e inspirarme libertad, confianza y valor para sobrellevar las dificultades de la vida, permitiéndome integrar lo cognitivo, emocional y motriz.

A mi espíritu de dedicación, paciencia, capacidad de finalizar y agotar recursos hasta lograr mi propósito.

DEDICATORIA

La presente investigación está dedicada a la voluntad de Dios, ya que me ha permitido vivir cada instante a plenitud para cumplir con todas mis metas.

A mi madre Jenny Moreno y mi padre Germán Villacrés que con su sabiduría, consejo y motivación constante, siempre han estado incondicionalmente, entregándome toda su atención y voluntad, siendo mi razón principal de seguir siempre adelante.

A mis hermanas Lis y Jacqueline siempre han estado a mi lado y han sido el motor de mi inspiración, para alcanzar mis metas y vivir en un futuro mejor.

A mis abuelos Rosa Chávez y Gonzalo Moreno por haberme tenido paciencia, por sus consejos, amor, esfuerzo y su tiempo invertido en mí.

BYRON GERMÁN VILLACRÉS

ÍNDICE GENERAL

	Páginas
PORTADA	i
CERTIFICACIÓN	ii
DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD	iii
AGRACEDIMIENTO	iv
DEDICATORIA	v
TABLA DE CONTENIDO	vi
INDICE DE TABLAS	vii
INDICE DE FIGURAS	viii
INDICE DE ANEXOS	ix
RESUMEN	x
SUMMARY	xi
INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN	3
OBJETIVOS	5
CAPÍTULO I	
1. MARCO TEÓRICO.....	6
1.1 Microorganismos presentes en aguas residuales.....	6
1.2 Organismos patógenos.....	7
1.3 Límites y barreras de los microorganismos.....	10
1.4 Onda de sonido.....	11
1.4.1 Movimiento ondulatorio.....	11
1.4.2 Ondas mecánicas.....	12
1.4.3 Onda sonora.....	12

1.4.4	<i>Amplitud</i>	12
1.4.5	<i>Longitud de onda</i>	12
1.4.6	<i>Frecuencia</i>	13
1.4.7	<i>El periodo</i>	13
1.4.8	<i>Velocidad de onda</i>	13
1.4.9	<i>Tipos de ondas</i>	13
1.4.10	<i>Energía transmitida por ondas</i>	13
1.5	Propiedades de las ondas	13
1.5.1	<i>Reflexión de onda</i>	14
1.5.2	<i>Frente de onda</i>	14
1.5.3	<i>Interferencia</i>	15
1.5.4	<i>Interferencia constructiva</i>	15
1.5.5	<i>Interferencia destructiva</i>	16
1.5.6	<i>Refracción</i>	16
1.5.7	<i>Difracción</i>	17
1.5.8	<i>Resonancia</i>	17
1.6	Origen del sonido	18
1.7	Clasificación del sonido	18
1.7.1	<i>Por su origen</i>	19
1.7.1.1	<i>Sonido natural</i>	19
1.7.1.2	<i>Sonido artificial</i>	19
1.7.2	<i>Por su característica</i>	19
1.7.2.1	<i>Sonido determinado</i>	19
1.7.2.2	<i>Sonido indeterminado</i>	19
1.8	Naturaleza del sonido	20
1.9	Intensidad de sonido	20
1.9.1	<i>La intensidad física u objetiva</i>	21
1.9.2	<i>La intensidad fisiológica o subjetiva (sonoridad)</i>	21
1.9.3	<i>Absorción sonora</i>	21

1.9.4	<i>Disipación de la energía</i>	22
1.10	El tono	22
1.11	Sonidos y límites audible	22
1.11.1	<i>Ultrasonidos</i>	22
1.11.2	<i>Infrasonidos</i>	22
1.12	Ruido	23
1.12.1	<i>Ruido de fondo</i>	23
1.13	Velocidad del sonido	23
1.14	Música	24
1.14.1	<i>Concepto de música</i>	24
1.15	Sonidos musicales	25
1.16	Altura del sonido y escalas	25
1.17	Altura de los sonidos musicales	25
1.18	Escala cromática bien temperada	26
1.19	Frecuencia de la cuerda de una guitarra	27
1.20	Cavitación	27
1.20.1	<i>Tipos de cavitación</i>	28
1.20.2	<i>Cavitación acústica</i>	28
1.21	Agua residual	29
1.21.1	<i>Domésticas</i>	29
1.22	Características físicas de las aguas residuales	29
1.22.1	<i>Color</i>	29
1.22.2	<i>Turbidez</i>	30
1.22.3	<i>Temperatura</i>	30
1.22.4	<i>Conductividad</i>	30
1.22.5	<i>Potencial de hidrógeno</i>	31
1.23	Características químicas del agua	31
1.23.1	<i>Alcalinidad</i>	31
1.23.2	<i>Demanda bioquímica de oxígeno (DBO)</i>	32

1.23.3	<i>Demanda química de oxígeno (DQO)</i>	32
1.24	Bacteriología del agua	32
1.25	Microbiología del agua	33
1.25.1	<i>Aerobios mesófilos</i>	33
1.25.2	<i>Anaerobio facultativo</i>	33
1.26	Conceptos para laboratorio de microbiología	34
1.26.1	<i>Esterilización</i>	34
1.26.2	<i>Desinfección</i>	34
1.26.3	<i>Sepsis o proceso séptico</i>	34
1.26.4	<i>Antiséptico</i>	34
1.26.5	<i>Asepsia</i>	34
1.27	Características morfológicas de las colonias bacterianas	35

CAPITULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	36
2.1	Lugar de estudio	36
2.2	Tipo de investigación	36
2.3	Métodos y técnicas	37
2.3.1	<i>Diseño del prototipo de estimulación de ondas de sonido audible</i>	37
2.3.1.1	<i>Materiales</i>	37
2.3.1.2	<i>Metodología</i>	38
2.3.2	<i>Construcción del prototipo de estimulación de ondas de sonido audible</i>	38
2.3.2.1	<i>Materiales</i>	38
2.3.2.2	<i>Metodología</i>	39
2.3.2.3	<i>Partes que constituyen el equipo</i>	40
2.3.2.4	<i>Funcionalidad del equipo</i>	41
2.3.3	<i>Determinación de los tratamientos expuestos a las muestras de agua residual doméstica de acuerdo a frecuencia, intensidad y tiempo de exposición</i>	41

2.3.3.1	<i>Procedimiento</i>	41
2.3.4	<i>Determinación de la frecuencia</i>	41
2.3.4.1	<i>Materiales</i>	41
2.3.4.2	<i>Metodología</i>	41
2.3.5	<i>Determinación de la intensidad</i>	42
2.3.5.1	<i>Materiales</i>	42
2.3.5.2	<i>Metodología</i>	42
2.3.6	<i>Determinación del tiempo de exposición de cada tratamiento</i>	43
2.3.6.1	<i>Materiales</i>	43
2.3.6.2	<i>Metodología</i>	43
2.3.7	<i>Muestreo del agua residual doméstica</i>	44
2.3.7.1	<i>Materiales</i>	44
2.3.7.2	<i>Metodología</i>	44
2.3.8	<i>Caracterización de las aguas residuales domésticas procedentes del barrio la primavera del cantón Riobamba</i>	45
2.3.8.1	<i>Materiales</i>	45
2.3.8.2	<i>Metodología</i>	46
2.3.9	<i>Determinación de la temperatura del agua residual doméstica dentro del prototipo</i>	47
2.3.9.1	<i>Materiales</i>	47
2.3.9.2	<i>Metodología</i>	47
2.3.10	<i>Selección del método para el cultivo de bacterias heterótrofas en agua residual doméstica</i>	48
2.3.10.1	<i>Metodología</i>	48
2.3.11	<i>Lavado y esterilización del material para el experimento</i>	49
2.3.11.1	<i>Materiales</i>	49
2.3.11.2	<i>Metodología</i>	50
2.3.12	<i>Preparación de agua de dilución</i>	51
2.3.12.1	<i>Materiales</i>	51
2.3.12.2	<i>Metodología</i>	51

2.3.13	<i>Preparación del medio de cultivo</i>	52
2.3.13.1	<i>Materiales</i>	52
2.3.13.2	<i>Metodología</i>	53
2.3.14	<i>Determinación del tiempo de duración del experimento</i>	54
2.3.14.1	<i>Metodología</i>	54
2.4	Condiciones de incubación para el conteo en placa	55
2.4.1	<i>Preparación de blancos para determinar la calidad de la esterilidad de aire, agua de dilución y medio de cultivo</i>	55
2.4.1.1	<i>Materiales</i>	55
2.4.1.2	<i>Equipos</i>	55
2.4.1.3	<i>Metodología</i>	55
2.4.2	<i>Cultivo de bacterias de las muestras sin tratamiento</i>	57
2.4.2.1	<i>Materiales</i>	57
2.4.2.2	<i>Equipos</i>	58
2.4.2.3	<i>Medios</i>	58
2.4.2.4	<i>Metodología</i>	58
2.4.3	<i>Cultivo de bacterias de las muestras con primer tratamiento</i>	59
2.4.3.1	<i>Materiales</i>	59
2.4.3.2	<i>Equipos</i>	60
2.4.3.3	<i>Medios</i>	60
2.4.3.4	<i>Metodología</i>	60
2.4.4	<i>Cultivo de bacterias de las muestras con segundo tratamiento</i>	61
2.4.4.1	<i>Metodología</i>	61
2.4.5	<i>Cultivo de bacterias de las muestras con tercer tratamiento</i>	62
2.4.5.1	<i>Metodología</i>	62
2.4.6	<i>Incubación</i>	62
2.4.6.1	<i>Metodología</i>	62
2.4.7	<i>Recuento y Registro</i>	63
2.4.7.1	<i>Metodología</i>	63

2.4.8	<i>Cálculo y comunicación de los recuentos</i>	64
2.4.8.1	<i>Metodología</i>	64
2.4.9	<i>Mantenimiento del prototipo generador de ondas sonoras audibles</i>	65
2.4.9.1	<i>Materiales</i>	65
2.4.9.2	<i>Metodología</i>	65

CAPITULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN	66
3.1	Diseño y construcción del prototipo generador de ondas sonoras audibles	66
3.3	Resultados de la caracterización físico- química de la calidad de las A.R.D	73
3.3	Resultado de la medición de la frecuencia	74
3.4	Medición de la intensidad de sonido	75
3.5	Recuento bacteriano de las muestras sin tratamiento o grupo control	76
3.6	Recuento microbiano de los grupos con primer tratamiento	78
3.7	Recuento microbiano de los grupos con segundo tratamiento	80
3.8	Recuento microbiano de los grupos con tercer tratamiento	83
3.9	Expresión de resultados	89
3.10	Análisis estadístico de la prueba de hipótesis aplicando el T studen't para los resultados de los tratamientos utilizados	90
	CONCLUSIONES	92
	RECOMENDACIONES	93

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Descripción de microorganismos presentes en aguas naturales y residuales	6
Tabla 2-1: Tamaño y formas resistentes de microorganismos y algunas especies	7
Tabla 3-1: Agentes potencialmente infecciosos presentes en el agua residual doméstica no tratada.....	8
Tabla 4-1: Límites y barreras	9
Tabla 5-1: Rangos de frecuencia de sonido	17
Tabla 6-1: Velocidad del sonido en diversos materiales.....	23
Tabla 7-1: Frecuencias de la escala musical	26
Tabla 1-2: Tiempos de exposición a ondas sonoras audibles.....	42
Tabla 2-2: Características de los muestreos de agua residual doméstica.....	44
Tabla 3-2: Parámetros físico químicos analizados.....	46
Tabla 4-2: Cantidad de material empleado para el experimento.....	49
Tabla 5-2: Planificación del horario para ejecución del experimento.....	53
Tabla 6-2: Condiciones de incubación para el conteo en placa	54
Tabla 7-2: Condiciones de incubación para recuento en placa	61
Tabla 1-3: Dimensiones de la cámara contenedora de aguas residuales.....	66
Tabla 2-3: Características del speaker	66
Tabla 3-3: Dimensiones del sistema de amplificación de audio	68
Tabla 4-3: Dimensiones de la estantería	69
Tabla 5-3: Dimensiones de paneles acústicos.....	69
Tabla 6-3: Dimensiones del sistema antivibratorio.....	70
Tabla 7-3: Resultados de los análisis físico-químicos del agua residual doméstica	72
Tabla 8-3: Resultados de las mediciones de frecuencia del track musical.....	73
Tabla 9-3: Promedio de la medición de la intensidad de sonido baja en diferentes periodos de tiempo	74
Tabla 10-3: Promedio de la medición de la intensidad de sonido media en diferentes periodos de tiempo.....	74
Tabla 11-3: Promedio de la medición de la intensidad de sonido alta en diferentes periodos de tiempo	75
Tabla 12-3: Resultado final del promedio de las mediciones de la intensidad de sonido baja, media y alta	75
Tabla 13-3: Resultado del recuento en placa para las muestras sin tratamiento	76
Tabla 14-3: Cálculo de resultados del recuento en placa para muestras con primer tratamiento utilizando diluciones de 10^{-4}	78
Tabla 15-3: Cálculo de resultados del recuento en placa para las muestras con primer tratamiento utilizando diluciones de 10^{-5}	79
Tabla 16-3: Cálculo de resultados del recuento en placa en muestras con primer tratamiento utilizando diluciones de 10^{-6}	80
Tabla 17-3: Cálculo de resultados del recuento en placa en muestras con segundo tratamiento utilizando diluciones de 10^{-4}	81
Tabla 18-3: Cálculo de resultados del recuento en placa para las muestras con segundo tratamiento utilizando diluciones de 10^{-5}	82
Tabla 19-3: Cálculo de resultados del recuento en placa en las muestras con segundo tratamiento utilizando diluciones de 10^{-6}	83

Tabla 20-3: Cálculo de resultados del recuento en placa en las muestras con tercer tratamiento utilizando diluciones de 10^{-4}	84
Tabla 21-3: Cálculo de resultados del recuento en placa en las muestras con tercer tratamiento utilizando diluciones de 10^{-5}	85
Tabla 22-3: Cálculo de resultados del recuento en placa en las muestras con tercer tratamiento utilizando diluciones de 10^{-6}	86
Tabla 23-3: Promedio de los resultados del recuento en placa en el primer, segundo y tercer tratamiento utilizando diluciones de 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}	87
Tabla 24-3: Comparación del crecimiento de bacterias en la muestra sin tratamiento y con tratamiento	89
Tabla 25-3: Valores del Promedio, desviación estándar y estadístico para las muestras sin tratamiento y con tratamiento.....	90
Tabla 26-3: Cálculo del estadístico aplicando T student para las Ufc entre tratamientos en comparación a la muestra sin tratamiento	91

INDICE DE FIGURAS

Figura: 1-1: Variaciones regulares de sonido	10
Figura: 2-1: Movimiento ondulatorio	10
Figura: 3-1: Características de una onda	11
Figura: 4-1: Reflexión de ondas	13
Figura: 5-1: Frentes de onda.....	13
Figura: 6-1: Interferencia de ondas.....	14
Figura: 7-1: Interferencia constructiva	14
Figura: 8-1: Interferencia destructiva	15
Figura: 9-1: Refracción de las ondas en la superficie del agua	15
Figura: 10-1: Difracción de onda.....	16
Figura: 11-1: Incremento de la amplitud	16
Figura: 12-1: Cuadro sinóptico de la clasificación del sonido.....	17
Figura: 13-1: Propagación del sonido en todas las direcciones	19
Figura: 14-1: Vibraciones irregulares ruido	22
Figura: 15-1: Formación, crecimiento de burbujas y posterior colapso durante varios ciclos acústicos.....	27
Figura: 1-2: Diagrama general del proceso	36
Figura: 2-2: Figura del prototipo generador de ondas en 3 dimensiones.....	37
Figura: 3-2: Diagrama del prototipo generador de ondas utilizado en este trabajo	39
Figura: 4-2: Medida de la temperatura con termómetro infrarrojo.....	47
Figura: 5-2: Material utilizado.....	49
Figura: 6-2: Medición del pH del agua de dilución.....	51
Figura: 7-2: Dilución del (PCA) PlateCount Agar	52
Figura: 8-2: Control estéril para aire, agua de dilución y agar	55
Figura: 2-9: Técnica para realizar diluciones seriadas y siembra en placa.....	56
Figura: 2-10: Diluciones seriadas y siembra en profundidad	60
Figura: 2-11: Incubación de bacterias	62
Figura: 2-12: Recuento de colonias	63
Figura: 1-3: Cámara contenedora de aguas residuales	65
Figura: 2-3: Speaker o altavoz.....	66
Figura: 3-3: Amplificador de audio	67
Figura: 4-3: Estantería	68
Figura: 5-3: Paneles acústicos	69
Figura: 6-3: Sistema antivibratorio.....	70
Figura: 7-3: Cotas del prototipo generador de ondas sonoras audibles	71
Figura: 8-3: Ensamblado final del prototipo	72
Figura: 9-3: Medición de la frecuencia en el laboratorio de sonido poliarte	73
Figura: 10-3: Comparación del crecimiento microbiano en los tres tratamientos	88
Figura: 11-3: comparación del crecimiento microbiano en las muestras sin tratamiento y con tratamiento	88

RESUMEN

El presente trabajo lleva por tema, medición del crecimiento microbiano en aguas residuales domésticas procedentes del barrio la primavera, parroquia Lizarzaburu, cantón Riobamba, estimulado por tecnología de ondas de sonido audible comunicael efecto de las ondas sonoras audibles en forma de música en el crecimiento microbiano en aguas residuales domésticas, este trabajo se lo realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias. Se realizó el diseño y construcción de un prototipo generador de ondas, se hizo la determinación de los tratamientos expuestos a las muestras de agua residual de acuerdo a frecuencia, intensidad de sonido y tiempo de exposición, se realizó el muestreo y caracterización físico-química de las aguas residuales domésticas procedentes del vertedero del barrio la primavera, cantón Riobamba, se utilizó la metodología del Stándar Methods en el recuento heterótrofo en placa, mediante el método de placa fluida y siembra en profundidad para calcular el número de bacterias vivas que existen el agua residual doméstica. Se emplearon equipos como cámara de flujo laminar, autoclave, incubadora, estufa, placas petri, tubos de ensayo. Los resultados demostraron que hubo un incremento en el crecimiento de microbiano expresado en (UFC/mL) unidades formadoras de colonias sobre mililitro, utilizando el segundo tratamiento, que se caracterizó por tener una frecuencia de 20440 Hz, una intensidad de 72 dB y un tiempo de exposición de 2 horas. Se realizó un análisis estadístico utilizando el T student que sirve para valorar si hay diferencias significativas entre la cantidad de unidades formadoras de colonias en las muestras sin tratamiento y en las muestras con tratamiento de ondas sonoras audibles. Se recomienda a los estudiantes e investigadores sustituir el speaker monofónico por dos speaker estéreo con la finalidad de que se aumente la capacidad de oxigenación al momento de emitir las ondas de sonido audible en la estimulación de las muestras de agua residual doméstica.

Palabras clave:

<ONDAS SONORAS AUDIBLES> <AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS>
<CRECIMIENTO MICROBIANO> <CIENCIAS QUÍMICAS> <RECUENTO
HETERÓTROFO EN PLACA> <MÉTODO DE PLACA FLUIDA> <SIEMBA EN
PROFUNDIDAD> <LIZARZABURU PARROQUIA, RIOBAMBA CANTÓN>

ABSTRACT

The theme of this research work is: The measurement of microbial growth in domestic wastewater from “La Primavera” neighborhood, Lizarburu Parish, Riobamba Canton, stimulated by sound wave technology audible, which communicates the effect of audible sound waves in the form of music in microbial growth in domestic wastewater, this work it was performed at the laboratory of Microbiology of the Faculty of Sciences. It was realized the design and construction of a prototype of generator of waves, it was made the determination of the treatments exposed to the wastewater samples according to frequency, intensity sound and exposure time, it was made the sampling and characterization physic- chemical of the domestic wastewater from the landfill in the neighborhood “La Primavera” , Riobamba Canton, it was used the methodology of the Standard Methods, in memory heterotrophic in plates, through the method of fluid plate and planting depth, to calculate the number of live bacteria that exist in the domestic wastewater. It was used the equipment such as laminar flow chamber, autoclave, incubator, stove petri dishes, test tubes. The results showed was an increase in microbial growth expressed in (UFC/mL) colony forming units per milliliter, using the second treatment, which it was characterized by a frequency of 20440 Hz, an intensity of 72 dB and an exposure time of 2 hours. It was performed a statistical analysis using the “T student”, which is used to assess whether there are significant differences between the amount of unit of signed colonies in untreated samples and samples with audible sound waves treatment units.

It is recommended to the students and researchers replace the monophonic speaker, two stereo speakers. With the aim that increase the oxygenation capacity, when issuing waves audible sound in the stimulation of samples of domestic wastewater.

Clue words: <SOUND WAVES AUDIBLE>, <DOMESTIC WASTEWATER>, <MICROBIAL GROWTH>, <CHEMICAL SCIENCES>, <HETROTROPHIC COUNTING IN PLATE>, <FLUID PLATE METHOD>, <PLANTING IN DEPTH>, <LIZARZABURU PARISH>, <RIOBAMBA CANTON>.

INTRODUCCIÓN

Los problemas ambientales que afectan al planeta y sus posibles soluciones tienen relación con el componente microbiano del ecosistema global, la creatividad y la tecnología, sin embargo estas dificultades están asociadas con la manera en que se desarrollan las actividades antropocéntricas y los procedimientos que se emplean para tratar las aguas residuales domésticas, pues para esto se requiere tener disponibilidad de recursos económicos.

La presente investigación se enfoca en la medición del crecimiento microbiano en aguas residuales domésticas procedentes del barrio la primavera, estimulado por tecnología de ondas de sonido audible.

La característica principal de este estudio en la medición del crecimiento microbiano en aguas residuales domésticas radica en que, en la estimulación con ondas de sonido audible interviene una afinación y tonalidad musical, debido a que los efectos del sonido audible y la música en el tratamiento de aguas residuales domésticas son de casos específicos y por lo tanto no están ampliamente disponibles en la literatura.

La presente investigación hace referencia para obtener información acerca de la medición del crecimiento microbiano en aguas residuales domésticas, estimulado por ondas de sonido audible, debido a que para tratar el agua residual empleando los métodos tradicionales se necesita de la disponibilidad de recursos económicos y esfuerzo por el coste alto de los reactivos y operacionalización de las estaciones depuradoras de aguas residuales “EDAR”.

Por esta razón se tomó en cuenta al sonido expresado con una tonalidad y escala musical considerada una tecnología verde, como un medio para lograr estimular a los microorganismos presentes en las aguas residuales domésticas.

Los trabajos que se han realizado en sonido audible, microorganismos y su aplicación a la biotecnología tienen sus antecedentes en investigaciones previas llevadas a cabo por investigadores de este grupo:

La investigación de un estudio piloto sobre el efecto del sonido audible en el crecimiento de *Escherichiacoli*. Aquí se investigó la respuesta de células de *Escherichiacoli* a la estimulación por el sonido audible bajo condiciones normales y tensiones ambientales. Los resultados mostraron que el tratamiento con sonido audible aumenta significativamente la formación de colonias de E. coli bajo la condición de crecimiento normal. Sin embargo, bajo estrés osmótico

inducido por el azúcar, la estimulación de sonido audible puede mejorar el efecto inhibitor de estrés osmótico en El crecimiento de *E. coli*. (Gu shaobin et al., 2010)

La investigación sobre el efecto de sonido audible en forma de música en el crecimiento y la producción de ciertos metabolitos importantes en microorganismos, en el cual se encontró que todas las bacterias y levaduras utilizados como organismos de prueba, registraron un aumento del 3,15 al 40,3 % en el crecimiento bajo la influencia de un tipo de música clásica de la India y también se encontró un tratamiento musical para afectar la producción de pigmentos bacterianos, la permeabilidad de la membrana y la susceptibilidad antibiótica en organismos procariotas y eucariotas. (Niral Sarvaiya, 2015)

Entre los sistemas de tratamiento de aguas residuales, se encuentra el tratamiento secundario, el cual consiste en procesos de fermentación, en este proceso una población heterogénea de microorganismos degradan los componentes orgánicos presentes en el agua residual, así obtienen materia y energía metabólicas para su propagación y la mantención de viabilidad.

Se conoce que la luz no tiene la capacidad de penetrar más allá de algunos metros bajo la superficie del agua y mucho menos cuando el agua contiene partículas microscópicas como los sólidos en suspensión, esta condición no aplica para las ondas sonoras audibles, puesto que tienen la capacidad de viajar a distancias mucho mayores a través del agua, es por eso que las vibraciones causadas por las ondas sonoras audibles en el agua dan lugar a la formación de burbujas de aire, fenómeno conocido como cavitación.

En la actualidad la mayoría de las personas sabe que es la música, sin embargo no es tan sencillo comprender en qué consiste y porque se produce, en términos de la frecuencia del sonido, hay aproximadamente tres tipos: los infrasonidos que van de 04,10 y 20 Hz, el sonido audible que corresponde a 20 a 20,000 Hz y el ultrasonido que tiene un valor superior a los 20,000 Hz.

Sofronios E. Papoutsoglou, et al. (2009), Señalan que se ha demostrado que el tratamiento con dos piezas de música (“Eine Kleine Nachtmusik” y “Romanza”) combinado con la intensidad de luz, utilizando un sistema de recirculación del agua, incrementa la eficacia en el rendimiento del crecimiento de la carpa común (*Ciprinus Carpio*) y que se destaca que la respuesta de los peces a la música, expresa los resultados de diversos procesos fisiológicos y bioquímicos especialmente cuando los peces en particular responden de manera diferente cuando se someten a dos piezas de música diferente.

JUSTIFICACIÓN

Tratar las aguas residuales es caro, puesto que se necesita tener disponibilidad de recursos para adquirir insumos químicos, equipos de laboratorio, extensiones grandes de terreno y en general para todo el mantenimiento de una (EDAR) Estación Depuradora de Aguas Residuales.

Es por eso que se hace hincapié en la necesidad reducir costes a través del planteamiento de una investigación primaria para tratar el agua residual doméstica, como método alternativo y a la vez creativo puesto que vincula el arte y la ciencia, para lograr estimular el crecimiento en células microbianas procedentes de aguas residuales domésticas del barrio la primavera cantón Riobamba, a través de ondas sonoras audibles y solucionar problemas contemporáneos de contaminación.

El cien por ciento de los habitantes del barrio la primavera del cantón Riobamba posee el servicio de alcantarillado lo cual permite recolectar las aguas que se han utilizado de diferentes maneras dentro de los hogares, esto quiere decir que hay variaciones en las concentraciones de los contaminantes de las aguas que se descargan al alcantarillado. No existe ningún tipo de tratamiento para aguas residuales domésticas del barrio la primavera, por ende cuando las aguas residuales domésticas son recolectadas no son tratadas antes de su eliminación o reutilización y existen potenciales peligros para la salud pública en el punto de descarga.

En todo el entorno natural la mayoría de los organismos vivos están inmersos en la percepción de una variedad de ondas de sonido esta característica nos permite interactuar con ellos en términos de frecuencia de sonido. Las bacterias también están sujetas a este particular, porque cada especie tiene un sonido a determinada frecuencia que lo perturba, lo cual les permite interactuar con otros ecosistemas y desarrollarse fisiológicamente en su hábitat.

La música puede alterar los parámetros morfo funcionales celulares, tales como tamaño y granularidad en células, por esta referencia se plantea una investigación que relacione las ondas de sonido audible con los microorganismos de las aguas residuales domésticas para estudiar qué efectos podría tener en su tasa de crecimiento.

Dependiendo de los resultados de esta investigación, sentar las bases para poder considerarlo como un método alternativo en el tratamiento de aguas residuales, evitando utilizar productos químicos, ahorrar dinero, esfuerzos y entender que la influencia de factores físicos como el sonido audible asociado a tonalidades musicales influyen sobre el desarrollo y actividad microbiana.

Razones por las cuales se dio inicio a la presente investigación la misma que beneficiaría específicamente a las posibles estaciones depuradoras de aguas residuales “EDAR” que se puedan diseñar y construir a futuro, generando información y asegurando que la obtención de los resultados de esta investigación hayan seguido los protocolos del método científico para garantizar que la información generada sea de calidad y reproducible.

El propósito de este tema surge por la necesidad de generar información confiable que permita conocer los efectos de las ondas sonoras audibles sobre la calidad de las aguas residuales domésticas del barrio la primavera del cantón Riobamba y el crecimiento microbiano y también acortar fronteras entre el arte y la ciencia para sentar las bases en la investigación un tratamiento alternativo para este tipo de aguas.

El propósito de la estimulación con ondas sonoras audibles en varias muestras de agua residual doméstica, es contar con información válida con respecto al efecto de estas ondas en el crecimiento microbiano, y poder verificar si aumento, disminuyó o se mantuvo su tasa de crecimiento.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Medir el crecimiento microbiano en aguas residuales domésticas procedentes del barrio la Primavera, Parroquia Lizarzaburu, Cantón Riobamba, estimulado por tecnología de ondas de sonido audible.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar el diseño y construcción del Prototipo de estimulación de ondas de sonido audible.
- Caracterizar físico y químicamentela calidad de las aguas residuales domésticas procedentes del barrio la primavera, del Cantón Riobamba.
- Determinar los tratamientos expuestos a las muestras de agua residual doméstica de acuerdo a frecuencia, intensidad de sonido y tiempo de exposición de ondas de sonido audible.
- Medir el crecimiento de microbiano en los diferentes tratamientos.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Microorganismos presentes en aguas residuales

Los principales grupos de organismos presentes en aguas superficiales y en aguas residuales están conformados por bacterias, hongos, algas, protozoos, plantas, animales y virus. Los microorganismos presentes en las aguas residuales pueden ser clasificados como eucariotas, eubacterias y arqueobacterias.

Se han identificado dos clases generales de estructura celular: eucariotas y procariotas en las células eucarióticas el núcleo se encuentra recubierto por una membrana nuclear, en las células procarióticas la región nuclear contiene tan solo una molécula de ADN que no se encuentra recubierta por membrana alguna.

Las bacterias y arqueobacterias son los únicos microorganismos procarióticos. Los virus son parásitos intracelulares que necesitan de la maquinaria de una célula huésped que soporte su crecimiento y aunque los virus contienen la información genética necesaria para replicarse por sí mismos, son incapaces de reproducirse fuera de la célula huésped y se clasifican de acuerdo con el huésped infectado, de ahí que cuando el huésped es una bacteria se denominan bacteriófagos. (Tchobanoglous, 2000)

Tabla 1-1: Descripción de microorganismos presentes en aguas naturales y residuales

Bacterias	Organismos procarióticos unicelulares. En el interior de la célula contiene una suspensión coloidal de proteínas carbohidratos y otros compuestos orgánicos complejos llamada citoplasma, la región citoplasmática contiene ácido ribonucleico, dentro del citoplasma se encuentra la región del núcleo que es rica en ADN.
Hongos	Los hongos son eucarióticos multicelulares, fotosintéticos y heterotróficos. Los hongos son aerobios estrictos y se reproducen de forma sexual o asexual, por fusión binaria, gemación ó por formación de esporas.
Protozoos	Los protozoos son móviles, de tamaño microscópico, con estructura eucariótica y generalmente unicelulares, mayoría son aerobios heterótrofos, por lo general son de tamaño mayor al de las bacterias, con frecuencia se usan como fuente de energía es por eso que son usados para el pulimento de los efluentes de procesos de tratamiento biológico al alimentarse de bacterias y materia orgánica particulada.
Rotíferos	Son eucarióticos animales aerobios, heterotróficos y multicelulares, son muy efectivos en el consumo de bacterias floculadas y dispersas y algunas partículas de materia orgánica. Su presencia en un efluente indica un proceso de purificación biológica bajo condiciones aerobias muy eficientes.
Algas	Son eucarióticas unicelulares ó multicelulares autotróficas y fotosintéticas. Son importantes en los procesos de tratamiento biológico, especialmente en los procesos de tratamiento de aguas residuales con lagunas de estabilización donde su habilidad de producir oxígeno por fotosíntesis es vital para el ambiente ecológico del agua.
Virus	Están compuestos de un ácido nucleico (ADN ó ARN) ubicado en el centro y rodeado por una capa externa de proteína llamada capsida, los virus son parásitos intracelulares obligados que se multiplican únicamente dentro de una célula huésped donde reorientan el sistema bioquímico de la célula para reproducirse a si mismos.

Fuente: (Tchobanoglous, 2000)

1.2 Organismos patógenos.

Los organismos patógenos presentes en las aguas residuales pueden provenir de desechos humanos que estén infectados o que sean portadores de una enfermedad determinada. Las principales clases de organismos patógenos que pueden encontrarse en aguas residuales son: bacterias parásitos (protozoos y helmintos) y virus.

Los organismos patógenos bacteriales excretados por el hombre causan por lo general enfermedades del tracto gastrointestinal, como fiebre tifoidea y paratifoidea, disentería, diarrea, cólera. En vista de que estos organismos son altamente infecciosos se les acusa de ser responsables de un gran número de muertes al año de zonas con escasa cobertura sanitaria, en especial en el trópico. Estudios al respecto estiman que cerca de 4,500 millones de personas están o han sido infectadas por algún tipo de parásito. (Madigan et al., 1997)

Tabla 2-1: Tamaño y formas resistentes de microorganismos y algunas especies

Microorganismo	Forma	Tamaño μm	Forma resistente
Bacterias Bacilo	Bastón	0.3-1.5D*1-10L	Endosporas o células dormidas
Coco	Esférico	0.5-4	Endosporas o células dormidas
<i>Escherichia coli</i>	Bastón	0.6-1.2D* 2-3L	Endosporas o células dormidas
Espirilla	Espiral	0.6-2D*20-50L	Endosporas o células dormidas
Vibrio	Bastón, curvo	0.4-2D*1-10L	Endosporas o células dormidas
Helmintos <i>Ancylostomaduodenale</i>	Elíptica o de huevo	36-40W*75-70L	Huevo embrionario
<i>Ascarislumbricoides</i>	Limón o huevo	35-50W* 45-70L	Huevo embrionario
<i>Trichuristrichiura</i>	Elíptica o de huevo	20-24W*50-55L	Huevo embrionario

Fuente: (Tchobanoglous, 2000)

Tabla 3-1: Agentes potencialmente infecciosos presentes en el agua residual doméstica no tratada

Organismo	Enfermedad	Síntomas
Bacterias <i>Campylobacter jejuni</i>	Gastroenteritis	Diarrea
<i>Escherichia coli</i> (enteropatógeno)	Gastroenteritis	Diarrea
<i>Legionella pneumophila</i>	Legionelosis	Malestar, fiebre, dolor de cabeza, enfermedades respiratorias agudas.
<i>Salmonella typhi</i>	Fiebre tifoidea	Fiebre alta, diarrea, úlceras en el intestino delgado
<i>Salmonella</i> (-2100esp)	Salmonelosis	Envenenamiento por comida
<i>Vibrio cholerae</i>	Cólera	Diarrea aguada deshidratación
Protozoos <i>Cryptosporidium parvum</i>	Criptosporidiasis	Diarrea
<i>Cyclospora</i>	Ciclosporiasis	Diarrea severa dolor del estómago, náuseas y vómitos prolongados.
<i>Entamoeba histolytica</i>	Amebiasis	Diarrea prolongada con sangrado, abscesos en el hígado, y en el intestino delgado.
<i>Giardia lamblia</i>	Giardiasis	Diarrea leve o severa, náuseas, indigestión
<i>Ascaris lumbricoides</i>	Ascariasis	Infestación de gusanos intestinales.
<i>Hymenolepis nana</i>	Himenolepiasis	Tenia enana
Virus Adenovirus (31clases)	Enfermedades respiratorias	---
Hepatitis A	Hepatitis infecciosa	Ictericia, fiebre, vómito

Fuente:(Tchobanoglous, 2000)

1.3 Límites y barreras de los microorganismos.

Cada especie tiene un límite en la naturaleza. Los límites físicos, químicos y biológicos se definen operacionalmente, a diferencia de los límites fisiológicos de una especie los cuales no permiten a sus miembros una función activa.

Por ejemplo los peces no pueden sobrevivir largo tiempo fuera del agua. Un límite incluye una mezcla compleja de factores, a veces muy altamente específicos de especies, algunos de estos factores tienen componentes bióticos y abióticos por ej. Los requerimientos de oxígeno (biótico) pueden restringir la altura o profundidad (abiótico) a la cual pueden funcionar los miembros de una especie. Una especie no puede mover su límite excepto mediante evolución. (Bartha, 2002).

Tabla 4-1: Límites y barreras

Barreras	Tipos
Físicas	Térmicas, acústicas, la estimulación de sonido audible puede mejorar el efecto inhibitor de estrés osmótico en el crecimiento de E. coli(ultrasonido), presión (barométrica, hidrostática, osmótica) Radiación (electrónica, neutrónica, fotónica, protónica) Impactación, adhesión (adsorción, electrostática, van der Waals) Filtración, características geográficas, factores atmosféricos
Químicas	Iónicas (pH, salinidad), Surfactantes, Oxidantes, Alcalinizantes, Desecantes, Denaturalizantes.
Biológicas	Inmunológicas, Inducidas naturalmente, Transferidas naturalmente (láctea, transovárica, transplacentaria), inducidas artificialmente (vacunas), transferidas artificialmente (transfusión), Resistencia biomolecular, pérdida de receptores moleculares, mecanismos de atracción molecular, compuestos antibióticos, competiciones

Fuente: (Bartha, 2002)

1.4 Onda de sonido

Una onda de sonido es una alteración física que es transportada por un medio (aire, agua, tierra) a través del mecanismo de la interacción de partículas, el sonido se describe como una onda mecánica longitudinal de presión, producida por la propagación en un medio elástico (sólido, líquido o gaseoso) del movimiento vibratorio de un cuerpo u objeto. (Thomas, 2011)

Figura: 1-1: Variaciones regulares de sonido



Fuente:<https://www.google.com.ec/search?q=imagenes&biw>

1.4.1 Movimiento ondulatorio

El movimiento ondulatorio es la propagación de un movimiento oscilatorio y es un medio de transporte de la energía que se desplaza grandes distancias y que es ampliamente utilizado por la naturaleza. (Giancoli, 1997)

Figura: 2-1: Movimiento ondulatorio



Fuente:<http://www.fis.puc.cl/~jalfaro/fis1503/clases/movond.pdf>

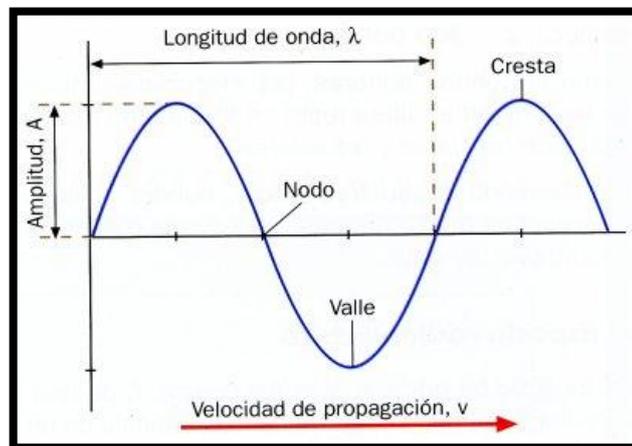
1.4.2 Ondas mecánicas

Las ondas mecánicas son aquellas que se desplazan de un lugar a otro través de un medio deformable, originando una perturbación temporal en ese medio y sin que el medio a su vez se transporte de un lugar a otro. (Giancoli, 1997)

1.4.3 Onda sonora

A cualquier onda longitudinal que viaje a través de un medio material se le suele llamar onda sonora. (Giancoli, 1997)

Figura: 3-1: Características de una onda



Fuente: <http://cmapspublic2.ihmc.us/rid=1G5YQ4Q0H-16JWF14-CLW/ondas.cmap>

1.4.4 Amplitud

La amplitud es la altura máxima de una de una cresta, o bien la profundidad de un valle, en relación con el nivel de referencia o equilibrio. (Giancoli, 1997)

1.4.5 Longitud de onda

La distancia entre dos crestas sucesivas se llama longitud de onda y esta también es igual a la distancia entre dos puntos idénticos sucesivos cualesquiera de la onda. (Giancoli, 1997)

1.4.6 Frecuencia

La frecuencia f es el número de crestas o ciclos completos que pasan por determinado punto por unidad de tiempo. (Giancoli, 1997)

1.4.7 El periodo

El periodo T es por supuesto $1/f$ y es el tiempo transcurrido entre dos crestas sucesivas que pasan por el mismo punto en el espacio. (Giancoli, 1997)

1.4.8 Velocidad de onda

La velocidad de onda v , es la velocidad a la cual se desplazan las crestas, o cualquier otra parte de la onda, esta velocidad se debe diferenciar de la velocidad de una partícula del medio mismo. (Giancoli, 1997)

1.4.9 Tipos de ondas

Cuando una onda viaja por una cuerda las secciones de la cuerda vibran hacia arriba y hacia abajo en dirección transversal al movimiento de la onda misma, a esta onda se la llama **onda transversal**, existen otro tipo de ondas llamadas **ondas longitudinales** en estas ondas las partículas del medio vibran a lo largo de la misma dirección del movimiento de la onda. (Giancoli, 1997)

1.4.10 Energía transmitida por las ondas

Las ondas transmiten energía de un lado a otro, a medida que viajan a través de un medio, la energía se transmite como energía vibratoria entre las partículas del medio. (Giancoli, 1997)

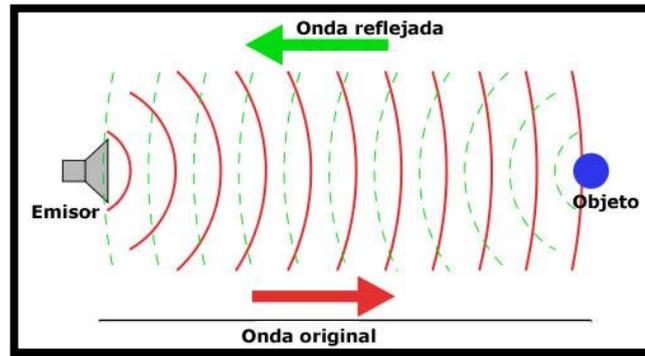
1.5 Propiedades de las ondas

Como cualquier onda, las ondas sonoras pueden reflejarse, refractarse, difractarse, interferir con otras ondas y experimentar efecto Doppler. Sin embargo, por tratarse de ondas longitudinales, no experimentan polarización. (Rojas M. D., 2011)

1.5.1 Reflexión de onda

Cuando una onda se encuentra con un obstáculo, o con el límite del medio en el que se propaga, al menos parte de ella se refleja. (Giancoli, 1997)

Figura: 4-1: Reflexión de ondas



Fuente: <https://prezi.com/-m70s9h0g-0d/reflexion-de-onda/>

1.5.2 Frentes de onda

En el caso de ondas bi o tridimensionales, como las ondas del agua, un frente de onda es una cresta de onda en toda su extensión (Giancoli, 1997)

Figura: 5-1: Frentes de onda

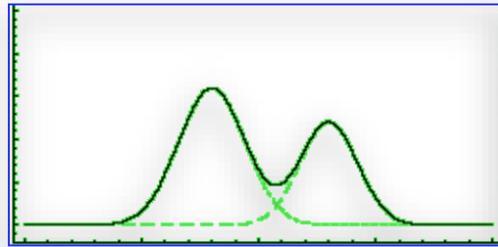


Fuente: <http://www.sabelotodo.org/ondas41/onda.html>

1.5.3 Interferencia

Cuando dos ondas pasan por una misma región del espacio al mismo tiempo, sucede lo que se llama interferencia (Giancoli, 1997)

Figura: 6-1: Interferencia de ondas

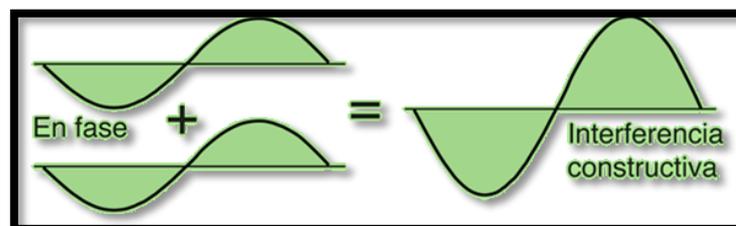


Fuente: <http://slideplayer.es/slide/20454>

1.5.4 Interferencia constructiva

Cuando hay dos pulsos de onda que se rebanan uno al otro, el desplazamiento resultante es mayor que el de cualquiera de los dos pulsos se llama interferencia constructiva. (Giancoli, 1997)

Figura: 7-1: Interferencia constructiva

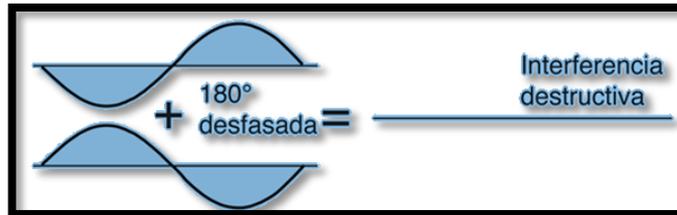


Fuente: <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbasees/sound/interf.html>

1.5.5 Interferencia destructiva

Cuando las dos ondas se oponen entre sí al pasar por el mismo lugar y el desplazamiento resultante es menor se llama interferencia destructiva. (Giancoli, 1997)

Figura: 8-1: Interferencia destructiva

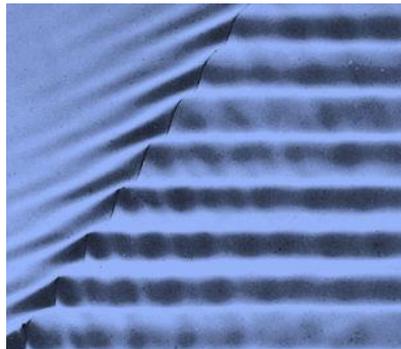


Fuente: <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbasees/sound/interf.html>

1.5.6 Refracción

Cuando una onda de dos o tres dimensiones viaja por un medio y cruza la frontera con otro medio a la cual su velocidad cambia, la onda transmitida puede moverse en una dirección distinta a la onda incidente. (Giancoli, 1997)

Figura: 9-1: Refracción de las ondas en la superficie del agua

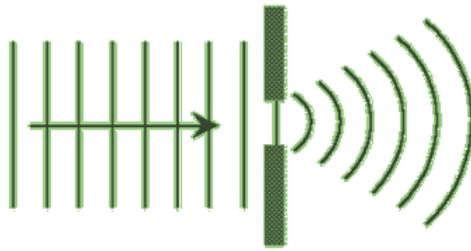


Fuente: http://www.natureduca.com/fis_sonyonda_fenomond02.php

1.5.7 Difracción

Conforme se propagan las ondas se dispersan y cuando encuentran un obstáculo, lo rodean y continúan su desplazamiento detrás de él, como sucede en las ondas marinas, a este fenómeno de le llama difracción. (Giancoli, 1997)

Figura: 10-1: Difracción de onda

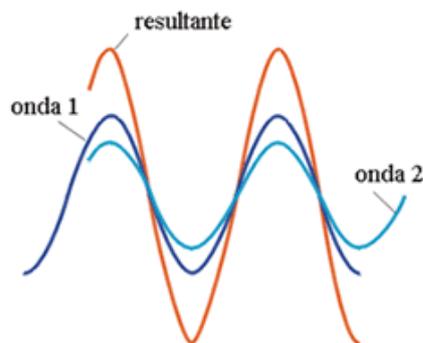


Fuente: <http://www.sabelotodo.org/ondas/onda.html>

1.5.8 Resonancia

Fenómeno de un sistema oscilante sometido a la acción de una fuerza exterior, en el cual una frecuencia que estaba inactiva comienza a vibrar en respuesta a otra de similar frecuencia que esté vibrando activamente y por ende aumenta la amplitud. (Enciclopedia, 1996)

Figura: 11-1: Incremento de la amplitud



Fuente: <http://tumejortarea.blogspot.com/2012/11/todo-sobre-el-sonido.html>

Tabla 5-1: Rangos de frecuencia de sonido

Audición humana	16– 18 KHz
Ultrasonidos de potencia convencional	20-100 KHz
Rango extendido para sonoquímica	20 KHz - 2 MHz
Diagnóstico por ultrasonidos	5-10 MHz

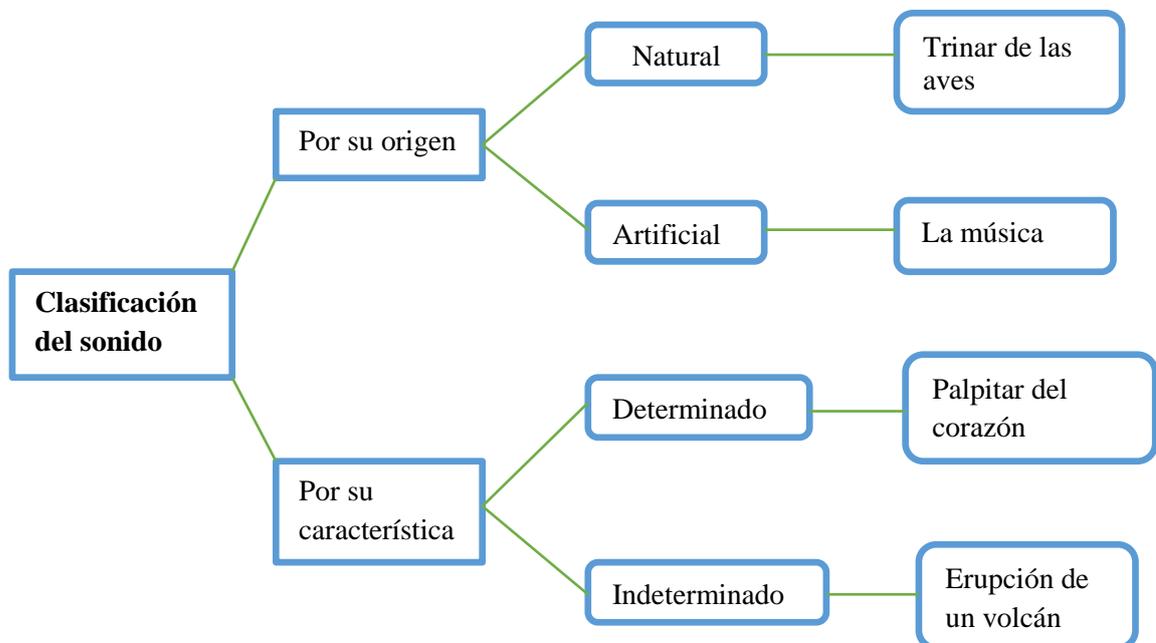
Fuente: (Yaqud, 2011)

1.6 Origen del sonido

En física se estudia que los cuerpos están formados por partículas muy pequeñas llamadas moléculas, entre estas existen espacios intermoleculares, los mismos que les permiten moverse o vibrar chocándose unas a otras, produciéndose de esta manera el sonido. (López, 1998)

1.7 Clasificación del sonido

Figura: 12-1: Cuadro sinóptico de la clasificación del sonido



Fuente: (López, 1998)

1.7.1 Por su origen

El sonido de acuerdo a su procedencia es de origen natural y artificial. (López, 1998)

1.7.1.1 Sonido natural

Es aquel que procede de la naturaleza, en el no ha intervenido la mano del hombre. Ejemplos: el trinar de las aves, el croar de los anfibios, el murmullo del agua, el rugir de los animales salvajes etc. A este sonido se le denomina también voces de la naturaleza porque de ella proceden. (López, 1998)

1.7.1.2 Sonido artificial

Este sonido es producto de la tecnología humana, es decir ha intervenido la mano del hombre. Ejemplos: los emanados por los electrodomésticos, el de los automotores y particularmente la música. (López, 1998)

1.7.2 Por su característica

El sonido por su característica se clasifica en:

1.7.2.1 Sonido determinado

Este está clasificado como sonido musical y se caracteriza por tener sus vibraciones regulares. Este sonido llega de forma agradable al oído. Ejemplo: una melodía, el palpitar de un corazón. (López, 1998)

1.7.2.2 Sonido indeterminado

Está clasificado como sonido no musical, sus vibraciones son irregulares y causa fastidio y molestias al oído. Ejemplos: el trueno el estallido de una bomba etc. (López, 1998)

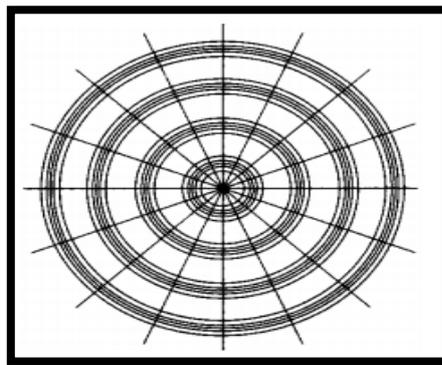
1.8 Naturaleza del sonido

Cuando se golpea un cuerpo ó se pulsa un instrumento musical, se habla de que en nuestro oído se produce un efecto psicofisiológico que llamamos sonido. El sonido es de vital importancia para la mayor parte de los seres vivos, que suelen tener órganos para producirlo y detectarlo, mediante el sonido pueden comunicarse entre sí y obtener información acerca del medio que les rodea. Un sonido tiene su origen en la vibración de un cuerpo (foco sonoro).

Las vibraciones del foco sonoro se transmiten a las partículas del medio en que se encuentra, originando en todos los puntos variaciones de presión y densidad alrededor de una posición de equilibrio (compresiones y dilataciones o enrarecimientos), con una cadencia igual a la frecuencia con la que vibra el foco. Como consecuencia de las sucesivas compresiones y dilataciones, cada partícula del medio choca contra la contigua, sin arrastrarla, y le transmite la perturbación generando una onda longitudinal de presión, que se propaga en todas direcciones. (Rojas, 2011)

Para una mejor comprensión la figura 1-3 presenta la propagación del sonido en todas sus direcciones.

Figura: 13-1: Propagación del sonido en todas las direcciones



Fuente: (Rojas M. D., 2011)

1.9 Intensidad de sonido

La intensidad de una onda se define como la potencia que se transfiere a través de un área unitaria perpendicular a la dirección del flujo de energía y sus unidades son Watts/metro².(Giancoli, 1997). Cuando se percibe un sonido cualquiera, se tiene conciencia de que

dicho sonido posee tres propiedades fundamentales: su intensidad (es débil ó fuerte), su altura (es grave o agudo), su timbre (es agradable o desagradable) (Matras, 2006)

La intensidad sonora permite distinguir sonidos fuertes y débiles. Presenta dos aspectos bien diferenciados:

1.9.1 La intensidad física u objetiva

Relacionada con la magnitud física de su mismo nombre. Para que un sonido sea percibido, además de tener una frecuencia dentro del intervalo audible (20-20.000 Hz), debe tener una intensidad mínima, por encima del umbral de audición. Si el sonido audible presenta una intensidad mayor que el llamado umbral de dolor, produce una sensación dolorosa al oído. (Rojas, 2011)

1.9.2 La intensidad fisiológica o subjetiva (sonoridad)

La sensación sonora de mayor o menor intensidad que percibe el oído no se corresponde con la intensidad física del sonido; así, un sonido físicamente el doble de intenso no es escuchado por nuestro oído el doble de fuerte. La relación observada es logarítmica, según establece la ley psicofísica de Weber-Fechner, y lleva a definir el nivel de intensidad sonora (β) como: $\beta = 10 \cdot \log I/I_0$.

Donde I_0 es la intensidad umbral de referencia en el aire para un sonido de 1.000Hz (10-12 W/m²) (frecuencia que se sitúa en el límite entre los sonidos graves y agudos), I es la intensidad del sonido que se quiere comparar y β es el nivel de intensidad sonora de ese sonido en decibelios (dB). El nivel de intensidad sonora se mide con aparatos llamados sonómetros. (Rojas, 2011)

1.9.3 Absorción sonora

La absorción del sonido se le atribuye principalmente a las propiedades de los materiales o estructuras que se usan para absorber el sonido y la capacidad que tienen estos en convertir energía sonora en calor. (Giancoli, 1997)

1.9.4 Disipación de la energía sonora

La ley de la conservación de la energía dice que esta no puede desaparecer ni destruirse, por lo que es lógico que cambie de forma, en el caso de la energía sonora, las vibraciones de las moléculas del agua, se transformarían en calor. (Giancoli, 1997)

1.10 El tono

El tono de un sonido se refiere a cuán grave o agudo es un sonido, como el sonido de un flautín o de un bajo. La cantidad física que determina el tono es la frecuencia, mientras menor es la frecuencia de un sonido, más grave será este y mientras mayor es la frecuencia, el sonido será más agudo. (Giancoli, 1997)

1.11 Sonidos y límites audibles

Son cantidades en las cuales el oído humano responde a frecuencias entre 20 Hz a 20 000 Hz, los valores de estos límites varían de un individuo a otro a medida que avanza su edad. (Giancoli, 1997)

1.11.1 Ultrasonidos

Las ondas sonoras cuyas frecuencias son mayores de 20 000 Hz y que por ende están fuera del límite audible mayor se les llama ultrasónicas. (Giancoli, 1997)

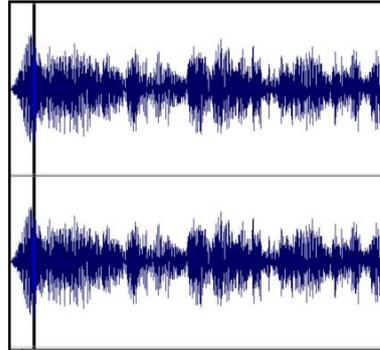
1.11.2 Infrasonidos

Las ondas sonoras cuyas frecuencias son más bajas que aquella del límite audible menor, es decir menores de 20 Hz, se llaman infrasónicas. (Giancoli, 1997)

1.12 Ruido

Cuando un cuerpo no es sonoro y sus vibraciones son irregulares, no se puede discernir altura alguna, tenemos como resultado un sonido indeterminado, impreciso y confuso llamado ruido. (López, 1998)

Figura: 14-1: Vibraciones irregulares ruido



Fuente: <http://www.unavarra.es/organiza/acustica/Ruido>

1.12.1 Ruido de fondo

Se considera ruido de fondo a cualquier sonido indeseado que se produce de forma simultánea a la elaboración de una medida acústica y que puede afectar al resultado de la misma.

1.13 Velocidad del sonido

La velocidad del sonido es distinta para diferentes materiales, en el aire a 0°C y a 1 atm el sonido viaja a una velocidad de 331 m/s, la velocidad depende del módulo de volumen, y de la densidad del material, en líquidos y sólidos que son mucho menos compresibles y que por tanto tiene módulos de volumen mucho mayores la velocidades todavía mayor. (Giancoli, 1997)

Los valores dependen en parte de la temperatura aunque esta es significativa principalmente para los gases. Por ejemplo en el aire, la velocidad aumenta más o menos 0.60 m/s por cada grado que aumente la temperatura:

$$v \approx (331 + 0.60 T) \text{ m/s}$$

Donde T es la temperatura en grados centígrados.

Tabla 6-1: Velocidad del sonido en diversos materiales

Material	Velocidad (m/s)
Aire	343
Aire (0°C)	331
Helio	1005
Hidrógeno	1300
Agua	1440
Agua de mar	1560
Hierro y Acero	5000
Vidrio	4500
Aluminio	5100
Maderas duras	4000

Fuente:(Giancoli, 1997)

1.14 Música

La música es una manifestación cultural, de los pueblos que se expresa a través de sentimientos y emociones. (López, 1998)

1.14.1 Concepto de música

La música tiene múltiples definiciones; así, etimológicamente la palabra música proviene del latín musa. Musas eran genios mitológicos de aspecto femenino, protectoras e inspiradoras de las artes.(López, 1998)

- En otra definición decimos que la música es: Ciencia, Arte y Lenguaje.
 - Es ciencia porque está regida por leyes precisas de acústica y matemática.
 - Es arte porque necesita de creación, inspiración y técnica para su composición y ejecución.
 - Es lenguaje ya que a través de ella, podemos transmitir nuestros sentimientos a los demás.
- (López, 1998)

1.15 Sonidos musicales

El sonido musical más simple es el producido por el diapasón, se dice que su marcha es rigurosamente sinusoidal, la velocidad de la varilla del diapasón, que produce el sonido, primero aumenta, pasa por un máximo, decrece, cambia el sentido y vuelve a empezar en un ritmo constante.

El diapasón oscila regularmente, periódicamente alrededor de su posición de equilibrio, la curva que representa estas variaciones se llama senoide. Se sabe que los sonidos musicales siguen siendo musicales a cualquier distancia que se los oiga, es decir que una onda sinusoidal en un punto permanece constantemente sinusoidal cualquiera sea su forma, esta propiedad caracteriza a este tipo de ondas, que tiene por otra parte otras propiedades muy particulares. (Matras, 2006)

1.16 Altura del sonido y escalas

Si se extiende la aplicación de la ley de Weber-Fechner a la medida de la altura H de un tono puro de frecuencia N , se obtiene la siguiente relación:

$$H = \log \frac{N}{N_0}$$

Siendo N_0 la frecuencia de referencia que corresponde a la altura O . la relación de N/N_0 se llama intervalo musical de las frecuencias N y N_0 . Se utilizan para esto dos unidades corrientes para medir la altura de un sonido. La octava considerada como unidad teórica obtenida tomando 2 como base del logaritmo de este modo sucede con dos sonidos de los cuales la frecuencia del más agudo es el doble de la frecuencia del más grave en cuyo caso se considera que tienen entre sí una diferencia de altura de una octava:

El savart, unidad práctica es la milésima parte de la unidad obtenida si se toma 10 como base del logaritmo: $H_{\text{savarts}} = 1.000 \log_{10} N/N_0$, se comprueba fácilmente que: 1 octava # 300 savarts. (Matras, 2006)

1.17 Altura de los sonidos musicales

Durante la propagación de un sonido musical, su altura permanece invariable. La utilización de instrumentos de dimensiones definidas llevo a los antiguos a limitar la cantidad de alturas de

sonido utilizadas en música esta limitación es la base de las notas musicales: se llama así a las alturas de sonido o las frecuencias utilizadas por los músicos.

Sea en Grecia, China, Egipto en la Edad media o en nuestros días, los sonidos cuyas frecuencias están en relación 1 a 2 han recibido siempre el mismo nombre y debido a su estrecho parentesco, pertenecieron siempre al mismo conjunto musical. Para definir este conjunto es pues suficiente con elegir las notas musicales comprendidas en el intervalo de una octava. La serie de estas notas recibe el nombre de escala. (Matras, 2006)

1.18 Escala cromática bien temperada

Es la escala más utilizada por los compositores occidentales desde hace dos siglos, las frecuencias fundamentales de cada nota se obtienen a partir de una frecuencia inicial N_0 , por multiplicación por el factor $\sqrt[12]{2^n}$ siendo n símbolo de los valores enteros 0, 1, 2, 3...

Los músicos utilizan diez escalas sucesivas, es decir, exactamente ciento veintiuna notas que por otra parte cubren casi completamente el conjunto de sonidos desde el extremo grave al extremo agudo. Las notas de cada escala contadas a partir de la nota base reciben el mismo nombre sucesivamente:

- Ut o do10 o sea si sostenido (si #).
- Do sostenido (do #) o sea re bemol (re b).
- Re
- Re sostenido (re #) o sea mi bemol (mi b).
- Mi o sea fa bemol (fa b).
- Fa o sea mi sostenido (mi #).
- Fa sostenido (fa #) o sea sol bemol (sol b).
- Sol
- Sol sostenido (sol #) o sea la bemol (la b).
- La
- Las sostenido (la #) o sea si bemol (si b).
- Si o sea do bemol (do b).(Matras, 2006)

1.19 Frecuencia de la cuerda de una guitarra

La frecuencia de la cuerda de la guitarra se puede variar ya sea cambiando la tensión de la cuerda o cambiando su longitud. Por ejemplo, la tensión en las cuerdas se varía por medio del giro de clavijas situadas en el clavijero del instrumento. Una vez que la guitarra se ha “afinado”, el instrumentista varía la frecuencia al mover sus dedos, pisando los trastes a lo largo del mástil; de este modo cambia la longitud de la parte vibrante de la cuerda.

Las notas musicales corresponden a frecuencias determinadas. Cuando se acorta la longitud, la frecuencia aumenta, ya que las frecuencias de los modos propios son inversamente proporcionales a la longitud de la cuerda. Así conseguimos la escala natural, conjunto de 8 notas o tonos musicales repetitivos de forma que la octava nota viene a ser el comienzo de la siguiente escala. (Sancho, 2011)

Tabla 7-1: Frecuencias de la escala musical

La (A)	440,0 Hz
Si (B)	493,9 Hz
Do (C)	523,2 Hz
Re (D)	587,3 Hz
Mi (E)	659,3 Hz
Fa (F)	698,5 Hz
Sol (G)	784,0 Hz
La (A)	880,0 Hz

Fuente: (Sancho, 2011)

1.20 Cavitación

Es la formación, crecimiento y el colapso implosivo de cavidades en los líquidos que liberan grandes cantidades de energía, la implosión causa ondas de presión que viajan en el líquido a velocidades próximas a las del sonido. (Thomas, 2011)

1.20.1 Tipos de cavitación

El fenómeno de cavitación puede ser clasificado en cuatro tipos, basados en su modo de generación:

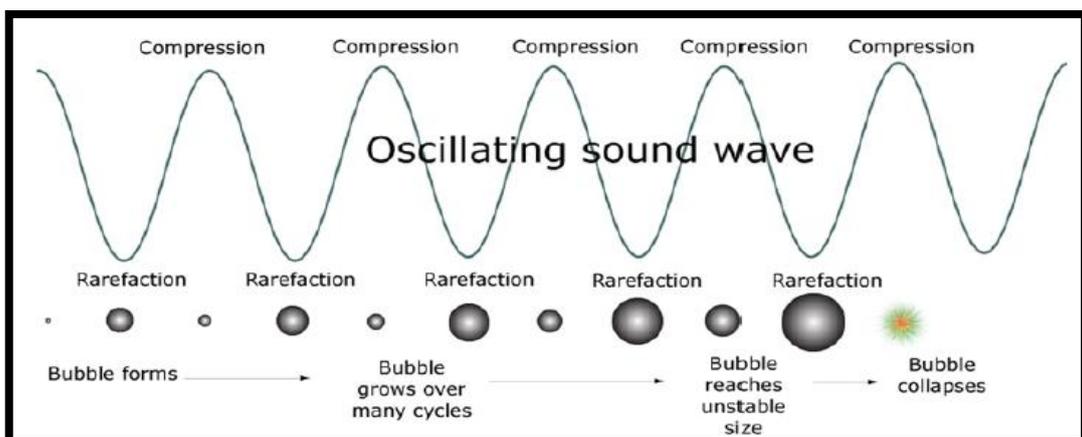
- Acústica,
- Hidrodinámica,
- Óptico
- Partículas

De éstos, sólo la cavitación acústica e hidrodinámica son capaces de generar las intensidades necesarias para inducir cambios químicos o físicos en un sistema celular. (Thomas, 2011)

1.20.2 Cavitación Acústica

Cavitación acústica se refiere al crecimiento, variación en una forma sinusoidal y el colapso de microburbujas en medios líquidos debido a las fluctuaciones de presión generadas por la onda de ultrasonidos. Durante el ciclo de presión negativa, el líquido es atraído en sitios que contienen una impureza tal gaseosa, que son conocidos como los "puntos débiles" en el fluido. El número de burbujas que se producen durante este ciclo de dilatación es proporcional a la densidad de dichos puntos débiles que se presentan en el fluido. (Thomas, 2011).

Figura: 15-1: Formación, crecimiento de burbujas y posterior colapso durante varios ciclos acústicos



Fuente: (Thomas, 2011)

1.21 Agua Residual

Las Aguas residuales son las aguas que provienen de un sistema de abastecimiento de agua de una población después de haber sido alteradas por las distintas actividades antropocéntricas que se realizan en el área doméstica, industrial y comunitaria. (Mara, sewage Treatment in Hot Climates, 1976).

Las aguas servidas son líquidos contaminados, como consecuencia de descargas de domicilios, principalmente se refiere a las aguas de desecho provenientes de tinas de baño, lavaplatos, lavamanos, lavanderías, y demás electrodomésticos que no descargan materias fecales. Debido a la alteración que presentan sus características físicas, químicas y biológicas no se deben verter directamente a los cuerpos receptores de agua.

La composición de las aguas residuales es 99,9% de agua y un 0,01 % de otros materiales como coliformes fecales, residuos de metales pesados, materia orgánica, sólidos suspendidos, entre otros. (Ramalho, 2002)

1.21.1 Domésticas

Las aguas domésticas son las aguas provenientes de actividades higiénicas (baños, cocinas, lavanderías, etc.), estas aguas son descargadas en las redes de alcantarillado, las aguas residuales domésticas también incorporan residuos producidos en locales comerciales, establecimientos públicos y similares. (Merli&Ricciouti, 2009).

En las zonas rurales donde no existen sistemas de alcantarillado las aguas residuales domésticas son vertidas en los cuerpos de aguas dulces, sobre el suelo, o son almacenadas en fosas sépticas.

1.22 Características Físicas de las aguas residuales

1.22.1 Color

Las causas más comunes del color del agua son la presencia de hierro y manganeso coloidal o en solución; el contacto del agua con desechos orgánicos, hojas, madera, raíces, etc., en diferentes estados de descomposición, y la presencia de taninos, ácido húmico y algunos residuos industriales. Dos tipos de color se reconocen en el agua: el color verdadero y el color aparente, La unidad de color es el color producido por un mg/L de platino, en la forma de ion cloroplatinato. (Romero J, 2002)

1.22.2 Turbidez

La turbidez o turbiedad es una expresión de la propiedad o efecto óptico causado por la dispersión e interferencia de los rayos luminosos que pasan a través de una muestra de agua, en otras palabras, es la propiedad óptica de una suspensión que hace que la luz sea remitida y no transmitida a través de la suspensión.

La turbidez en un agua puede ser ocasionada por una gran variedad de materiales en suspensión que varían en tamaño, desde dispersiones coloidales hasta partículas gruesas, entre otra arcilla, limón, materia orgánica e inorgánica finamente dividida, organismos planctónicos y microorganismos.

Los valores de turbidez sirven para establecer el grado de tratamiento requerido por una fuente de agua cruda, su filtrabilidad y, consecuentemente, la tasa de filtración más adecuada, la efectividad de los procesos de coagulación, sedimentación y filtración, así como para determinar la portabilidad del agua". (Carrera C, 2001)

1.22.3 Temperatura

La determinación de la temperatura es importante para los diferentes procesos de tratamiento y análisis de laboratorio por ejemplo, el grado de saturación de OD, la actividad biológica y el valor de saturación con carbonato de calcio se relacionan con la temperatura. (Romero J, 2002)

1.22.4 Conductividad

La conductividad del agua es una expresión numérica de su habilidad para transportar una corriente eléctrica, que depende de la concentración total de sustancias disueltas ionizadas en el agua y de la temperatura a la cual se haga la determinación.

Por tanto, cualquier cambio en la cantidad de sustancias disueltas, en la movilidad de los iones disueltos y en su valencia, implica un cambio en la conductividad. Por esta razón, el valor de la conductividad se usa mucho en análisis de aguas para obtener un estimativo rápido del contenido de los sólidos disueltos. (Romero J, 2002)

1.22.5 Potencial de Hidrógeno

El pH es una medida de acidez o alcalinidad de una disolución. El pH indica la concentración de iones hidronio $[H_3O^+]$ presentes en determinadas sustancias. La sigla significa "potencial de hidrógeno", el término "pH" se ha utilizado universalmente por lo práctico que resulta para evitar el manejo de cifras largas y complejas. En disoluciones diluidas, en lugar de utilizar la actividad del ion hidrógeno, se le puede aproximar empleando la concentración molar del ion hidrógeno.

La escala de pH típicamente va de 0 a 14 en disolución acuosa, siendo ácidas las disoluciones con pH menores a 7 (el valor del exponente de la concentración es mayor, porque hay más iones en la disolución), y alcalinas las que tienen pH mayores a 7. El pH igual a 7 indica la neutralidad de la disolución. (Chiliquinga C, 2012)

1.23 Características químicas del agua

1.23.1 Alcalinidad

La alcalinidad es la medida de la capacidad del agua para neutralizar los ácidos. Los componentes alcalinos en el agua como los bicarbonatos, carbonatos y los hidróxidos remueven iones de H^+ y reducen la acidez del agua la cual (incrementa el pH). Hacen esto combinando iones de H^+ para hacer nuevos componentes. Sin esta capacidad de neutralizar la acidez cualquier ácido añadido al río podría inmediatamente cambiar el pH. Es importante medir la alcalinidad para determinar la habilidad del río para neutralizar la contaminación ácida del aire y de las aguas residuales.

La alcalinidad es una de las mejores medidas de la sensibilidad de los ríos a ingresos de ácidos, se encuentra influenciada por las rocas, el suelo, sales, y ciertas descargas industriales, la alcalinidad total se mide calculando la cantidad de ácido necesario para llevar una muestra a pH 4,2a este pH todos los componentes alcalinos de la muestra son "usados" el resultado es reportado como ppm o mg/L de Carbonato de calcio ($CaCO_3$). (Carrera C, 2001)

1.23.2 Demanda bioquímica de oxígeno (DBO)

La oxidación microbial o mineralización de la materia orgánica es una de las principales reacciones que ocurren en los cuerpos naturales de agua y constituye una de las demandas de oxígeno, ejercida por los microorganismos heterotróficos, que hay que cuantificar.

Materia orgánica + O₂ + nutrientes → CO₂ + H₂O + nuevas células + nutrientes + energía

Uno de los ensayos más importantes para determinar la concentración de la materia orgánica de aguas residuales es el ensayo de la DBO a cinco días, esencialmente la DBO es una medida de cantidad de oxígeno utilizada por los microorganismos en la estabilización de la materia orgánica biodegradable, en condiciones aeróbicas, en un periodo de cinco días y a 20°C. En aguas residuales domésticas, el valor de la DBO a cinco días representa en promedio un 65 a 70% del total de materia orgánica oxidable. (Romero J, 2002)

1.23.3 Demanda química de oxígeno (DQO)

La demanda química de oxígeno es un parámetro analítico de polución que mide el material orgánico contenido en una muestra líquida mediante oxidación química. La determinación de DQO es una medida de la cantidad de oxígeno consumido por la porción de materia orgánica existente en la muestra y oxidable por un agente químico oxidante fuerte.

Específicamente, representa el contenido orgánico total de la muestra, oxidable por bicromato de solución ácida. El ensayo tiene la ventaja de ser más rápido que el de DBO y no está sujeto a tantas variables como las que pueden presentarse en el ensayo biológico. Todos los compuestos orgánicos, con unas pocas excepciones, pueden ser oxidados a CO₂ y aguas mediante la acción de agentes oxidantes fuertes, en condiciones ácidas. (Romero J, 2002)

1.24 Bacteriología del agua

Todo organismo debe encontrar en su medio ambiente las unidades estructurales y las fuentes de energía necesarias para formar y mantener su estructura y organización. Dichos materiales son llamados nutrientes. Casi todos los organismos vivos requieren los siguientes nutrientes:

- Fuente de carbono
- Fuente de energía

- Fuente de nitrógeno
- Agua
- Fuente mineral

Además, algunos organismos requieren ciertos factores accesorios de crecimiento, tales como vitaminas y aminoácidos. (Romero J, 2002)

1.25 Microbiología del agua

El agua contiene suficientes sustancias nutritivas para permitir el desarrollo de diferentes microorganismos. Muchas de las bacterias del agua provienen del contacto del aire, el suelo, animales o plantas vivas o en descomposición, fuentes minerales y materia fecal.

La transmisión de organismos patógenos a través del agua ha sido la fuente más grave de epidemia de algunas enfermedades. (Romero J, 2002)

1.25.1 Aerobios mesófilos

Son aquellos microorganismos que se desarrollan en presencia de oxígeno libre y a una temperatura comprendida entre 20°C y 45°C con una zona óptima entre 30°C y 40°C. Según Vanderzant y Splittstoesser (1992), se agrupan en dos géneros importantes: *Bacillus* y *Sporolactobacillus* formadores de endoesporas.

Las especies encontradas en aguas y alimentos son generalmente extensas y no poseen un hábitat definido y en general no provocan enfermedades en el ser humano. Son utilizados como indicadores de la calidad del procesamiento. (Tchobanoglous, 2000)

1.25.2 Anaerobio facultativo

Microorganismo capaz de crecer en condiciones anaerobias aunque se desarrolla más rápidamente en un medio aerobio. (Tchobanoglous, 2000)

1.26 Conceptos para laboratorio de microbiología

1.26.1 Esterilización

Es el procedimiento por el cual se destruyen o elimina completamente todos los microorganismos. Los microorganismos tratados por procesos de esterilización son incapaces de reproducirse.(Delgado, 1998)

1.26.2 Desinfección

Destruye los microorganismos patógenos que se encuentran en estado vegetativo. El proceso de desinfección se aplica estrictamente a la destrucción de microorganismos sobre objetos inanimados y no sobre tejidos vivos.(Delgado, 1998)

1.26.3 Sepsis o proceso séptico

Es un estado que indica la degradación de los tejidos vivos por la acción de los microorganismos patógenos.(Delgado, 1998)

1.26.4 Antiséptico

Agente que actúa contra la sepsis, generalmente son sustancias más débiles que los desinfectantes porque se aplica a tejidos vivos y pueden provocar por lo menos un efecto bacterioestático.(Delgado, 1998)

1.26.5 Asepsia

Significa procesos para evitar la sepsis o para atenuar su desarrollo, el objetivo de la asepsia es prevenir la infección, eliminarla o limitarla.(Delgado, 1998)

1.27 Características morfológicas de las colonias bacterianas

Tamaño.- se aprecia su diámetro en milímetros ej. 1-2 mm.

Forma.- se presenta como puntiforme, filamentosa, irregular, rizoide, fusiforme o en huso.

Elevación.- ver si es plana, levada, convexa, pulvinada, (en forma de montículo).

Borde.- contorno de la colonia, entero lobulado, lobulado, erosionado, filamentoso, rizado o encorvado.

Color.- una característica muy importante, blanco, amarillo, negro, gris, violeta, habano, anaranjado, verde oscuro, verde claro azulado, rojo rozado etc.

Superficie.- si es brillante, opaca de aspecto esmerilado, si forma o no círculos concéntricos entorno a la colonia bacteriana.

Densidad.- si es opaca, translúcida o transparente.

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1 Lugar de estudio

La medición del crecimiento microbiano estimulado con tecnología de ondas sonoras audibles se realizó en el Laboratorio de Microbiología la Facultad de Ciencias, y la caracterización físico química de las aguas residuales domésticas se realizó en el Laboratorio de Calidad de Agua de la Facultad de Ciencias.

2.2 Tipo de investigación

Por el tipo de investigación: La investigación clasificará como cuasi-experimental y correlacional puesto que se afectara a las variables de frecuencia, intensidad y tiempo de exposición y tiene como propósito medir el grado de relación que exista entre dos o más variables presentes en el sistema de estimulación de ondas de sonido audible esto se realizará de forma descriptiva narrando como se manifiesta determinado tratamiento en las células microbianas apoyándose en datos de reportes de análisis previos similares al tema.

Por la temporalidad: Longitudinal, ya que se va a recolectar datos a través del tiempo de exposición a las células microbianas en los diferentes tratamientos de acuerdo a la frecuencia e intensidad y tiempo de exposición de sonido audible.

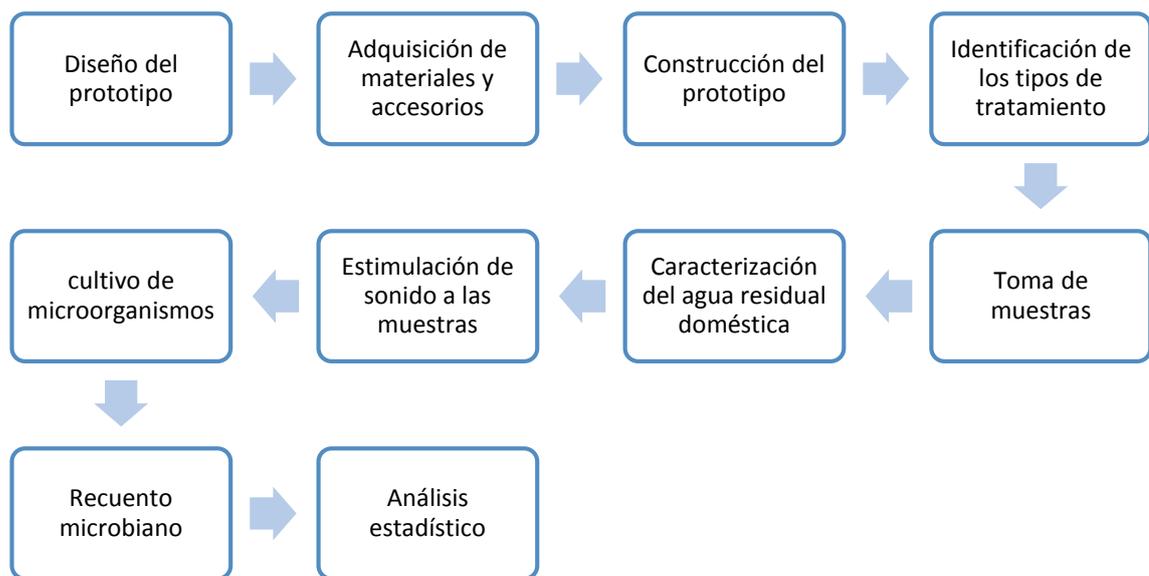
Por el tipo de enfoque: Cuantitativo, Porque se va a recolectar datos de medición numérica con respecto al crecimiento microbiano expresado en UFC, y para comprobar una hipótesis con base en el análisis estadístico.

Por el diseño de investigación: Experimental, porque se realizará una manipulación intencionada de tres variables independientes como son frecuencia intensidad y tiempo de exposición con el fin de observar y analizar el efecto que produce sobre la variable dependiente que son las unidades formadoras de colonias, UFC pero la asignación de los sujetos no se realizara al azar puesto que provienen exclusivamente de aguas residuales domésticas y existirá un grupo control.

2.3 Métodos y Técnicas

En la figura 2-1 se presenta un diagrama general del proceso el cual inició con el diseño, obtención de los materiales y construcción del equipo de estimulación de ondas de sonido audible, luego se realizó el muestreo del agua residual y la lectura de los resultados de los análisis físicos químicos y microbiológicos.

Figura: 1-2: Diagrama general del proceso



Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

2.3.1 *Diseño del prototipo de estimulación de ondas de sonido audible*

2.3.1.1 *Materiales*

- Papel
- Lápiz
- Regla
- Software para diseño Autocad
- Software para gráficos y animación 3D Max

2.3.1.2 Metodología

Se realizó el diseño del prototipo utilizando el programa Autocad estableciendo su funcionalidad, dimensiones y su estética, luego se procedió a darle más detalle al diseño utilizando el programa 3D Max que le permitió desarrollar más realismo puesto que se convierte en un diseño en 3 dimensiones.

Figura: 2-1: Figura del prototipo generador de ondas en 3 dimensiones



Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

2.3.2 Construcción del prototipo de estimulación de ondas de sonido audible

2.3.2.1 Materiales

- 5 vidrios laminados (para la cámara contenedora de agua residual)
- Speaker o altavoz monofónico de 300 Watts
- Un sistema de amplificación Public P.A.
- 4 aislante acústico
- 2 cables de audio
- Estaño, pasta y cautín
- Taladro
- Caladora eléctrica
- Flexómetro
- Media plancha de MDF Madera
- Tornillos

- Una barra de silicona
- Plantilla antivibratoria

2.3.2.2 Metodología

Para la construcción del equipo generador de ondas sonoras audibles se empezó por ensamblar la carcasa general, la cual fue elaborada con una plancha de aglomerado que fue cortada en diferentes dimensiones, sus partes fueron unidas con ayuda de un flexómetro, taladro y tornillos la misma que sirvió como una estantería, un sistema de aislamiento sonoro y protección contra posibles golpes puesto que las partes que conforman el prototipo son sensibles.

Se hizo una división superior e inferior de la estantería para lo cual se realizó un corte circular en un segmento del aglomerado con ayuda de la caladora eléctrica con un diámetro apropiado para que quepa el speaker y a su vez sostenga la cámara contenedora de agua residual.

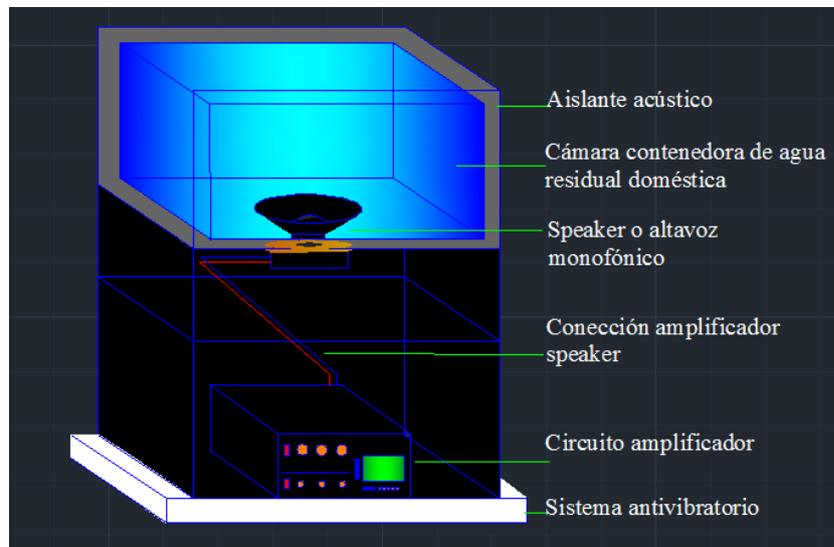
Para la construcción de la cámara contenedora de agua residual se utilizó vidrio reforzado al cual se le hizo varios cortes con sus respectivas dimensiones, se unió su base y sus paredes con silicona y también se realizó un corte circular en la base para que pueda calzar el speaker.

Se introdujo el speaker en el agujero hecho en el centro de la cámara contenedora de aguas residuales y se selló todo el borde con silicona para evitar que filtre el agua residual, se alojó la cámara contenedora en la división superior de la estantería. Se colocó el sistema de amplificación de audio en la división inferior de la estantería y este se conectó con un cable de audio al speaker.

Se adhirió los paneles acústicos a las paredes externas de la estantería para evitar que algún sonido externo afecte a la muestra que se esté estimulando dentro de la cámara contenedora de aguas residuales. Se colocó en la base de la estantería un sistema antivibratorio con el objeto de que movimientos sísmicos o pequeños temblores afecten la muestra a la cual se esté tratando.

2.3.2.3 Partes que constituyen el equipo

Figura: 3-2: Diagrama del prototipo generador de ondas utilizado en este trabajo



Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Para llevar a cabo la medición del crecimiento microbiano en aguas residuales domésticas, estimulado con ondas sonoras audibles, fue diseñado el prototipo generador de ondas de sonido audible, el mismo está conformado por dos secciones.

La primera es la unidad generadora de ondas sonoras audibles y la segunda es la cámara de estimulación, la sección inferior contiene un circuito amplificador, este es un sistema continuo de reproducción de audio, en el cual la señal eléctrica es amplificada y luego es enviada al speaker o altavoz.

La sección superior lo constituye un speaker o altavoz y una cámara contenedora de agua residual, el speaker está instalado dentro de la cámara contenedora de agua residual y cumple la función de convertir la señal eléctrica del equipo amplificador en variaciones de presión acústica o en la generación de un movimiento ondulatorio, este equipo tiene la particularidad de que la generación de movimiento ondulatorio se propaga a través del agua residual doméstica.

Las paredes de la cámara contenedora de agua residual están hechas de vidrio laminado con la finalidad de reducir la influencia del sonido externo en los tratamientos seleccionados con ondas sonoras audibles para las muestras.

2.3.2.4 Funcionalidad del equipo

El equipo permite generar una emisión de ondas de sonido audible, donde las vibraciones causadas por las ondas sonoras se transportan a través del agua residual doméstica y conforme se manipula intensidad, frecuencia asociada a una escala musical y tiempo de exposición, se esperara ver el efecto que tendrán las células microbianas con respecto a su crecimiento.

2.3.3 Determinación de los tratamientos expuestos a las muestras de agua residual doméstica de acuerdo a frecuencia, intensidad y tiempo de exposición

2.3.3.1 Procedimiento

Este procedimiento describe la forma en la cual se eligieron las variables independientes que representan los tratamientos o condiciones controladas para probar el efecto que tiene sobre la variable dependiente.

2.3.4 Determinación de la frecuencia

Selección de frecuencia: La frecuencia se seleccionó en base a una afinación estándar que representa el umbral más alto dentro de una gama de afinaciones o frecuencias musicales y que tiene un valor de 440 Hz.

2.3.4.1 Materiales

- Interfaz de audio
- Programa multimedia cubase

2.3.4.2 Metodología

En el laboratorio de sonido de la Epoch se realizó la medición de la frecuencia utilizando el programa multimedia Cubase en donde se obtuvo los valores de la frecuencia correspondientes a las notas del track observando la gráfica del analizador de espectro.

Selección de tonalidad: se seleccionó la tonalidad en base a un aspecto importante el cual, según el libro TRAITÉ DE L'HARMONIE (Rameau, 1722) impone cierto carácter o personalidad a las tonalidades musicales.

Es decir si al momento de escuchar una tonalidad musical se genera un efecto de alegría o tristeza en el ser humano, se deseaba conocer que sucedería y que efecto tendría con las bacterias, este aspecto fue importante para seleccionar la tonalidad de (Mi) que se la denota de acuerdo a la notación anglosajona con la letra (E).

Selección del track musical: Se seleccionó una canción instrumental basada en que posea las características de afinación en 440 Hz y tonalidad en (E) previamente señalados para la estimulación de las muestras de agua residual doméstica.

2.3.5 Determinación de la intensidad

Selección de la intensidad: Se seleccionaron 3 intensidades en base a los antecedentes de estudios relacionados al tema como por ejemplo, la investigación de un estudio piloto sobre el efecto del sonido audible en el crecimiento de *Escherichia coli*.

2.3.5.1 Materiales

- Sonómetro
- Prototipo de estimulación de ondas de sonido audible

2.3.5.2 Metodología

Se encendió el sonómetro y se colocó dentro de la cámara contenedora de aguas residuales, cerca del speaker, y se tomaron los valores expresados en decibelios (dB) durante 1 hora los cuales fueron 70, 72 y 78 decibeles.

2.3.6 Determinación del tiempo de exposición de cada tratamiento

Selección del tiempo de exposición: Se seleccionó tres tiempos de exposición en base a la revisión bibliográfica de un estudio realizado por (Niral Sarvaiya, 2015) relacionado con experimentos de estimulación con sonido audible donde se usó tiempos de exposición de 1,2 y 3 horas.

2.3.6.1 Materiales

- Reloj

2.3.6.2 Metodología

Se midió el tiempo de exposición mediante la utilización de un reloj registrando la hora de inicio y final de los tratamientos para la experimentación.

Tabla 1-2: Tiempos de exposición a ondas sonoras audibles

Tratamiento	Tiempo de exposición
Primer	1 hora
Segundo	2 horas
Tercer	3 horas

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

2.3.7 Muestreo del agua residual doméstica

2.3.7.1 Materiales

- Botella estéril de color ámbar de 3 litros
- Hielo en gel
- Guantes
- Cámara fotográfica
- Mascarilla
- Cooler
- Botas de caucho
- Marcador permanente
- Termómetro infrarrojo

2.3.7.2 Metodología

La ejecución del muestreo se realizó en 3 fechas distintas puesto que la duración de los procesos de experimentación y el tiempo de incubación de los microorganismos fueron extensos, para la primera fecha se recolectó una muestra que contenía un volumen de 3 litros, para la segunda fecha se recolectó nuevamente una muestra que contenía un volumen de 3 litros, y para la tercera fecha al igual que en la primera y la segunda se recolectó una muestra con un volumen de 1 litro, en total se obtuvo un volumen de 9 litros en las fechas de muestreo.

Se realizó la toma de muestra de agua residual doméstica ubicándose en el centro del vertedero puesto que no es conveniente tomar muestras demasiado cerca de la orilla y también para lograr la homogeneidad de la misma, la toma de muestra se hizo sosteniendo la botella cerca de su base con una mano y sumergiéndola boca abajo, se giró la botella hasta que el cuello apunte hacia arriba con la boca dirigida hacia la corriente.

Se dejó un espacio aéreo en la botella aproximadamente de 2.5 cm para facilitar la mezcla por agitación antes de proceder al estudio, salida la muestra se lavó la botella con agua limpia y se colocó un etiqueta con todos los datos de identificación, finalmente se la depositó en el cooler que contenía hielo en gel y se la transportó al laboratorio de microbiología en un tiempo estimado de 20 a 25 min. (METHODS, 2005)

Tabla 2-1: Características de los muestreos de agua residual doméstica

FECHAS	# DE MUESTRAS DIARIAS	VOLUMEN RECOLECTADO EN CADA MUESTREO	TIPO DE MUESTRA	LUGAR DE RECOLECCIÓN DE MUESTRA	VOLUMEN TOTAL RECOLECTADO
Primera: 04 de marzo del 2016	1	3 litros	Simple	vertedero del barrio la primavera	9 litros
Segunda: 17 marzo del 2016	1	3 litros	Simple	vertedero del barrio la primavera	
Tercera: 22 de marzo del 2016	1	3 litros	Simple	vertedero del barrio la primavera	

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

En la tabla 3-5 se muestran los resultados de los muestreos del A.R.D. donde se puede observar que para el desarrollo experimental se utilizó un total de 9 litros de agua residual doméstica procedente del vertedero del barrio la primavera, no se utilizaron grandes volúmenes de muestra puesto que se sabe en un pequeño volumen pueden existir millones de microorganismos.

2.3.8 Caracterización físico química de las aguas residuales domésticas procedentes del barrio la primavera del cantón Riobamba

2.3.8.1 Materiales

- Termómetro infrarrojo
- pH metro
- turbidímetro
- sensor de análisis para DBO
- capuchón de caucho
- botella de muestra
- Botella estéril de color ámbar
- Agitador magnético
- Pizeta
- Pipetas de vidrio

- Probeta

2.3.8.2 *Substancias*

- Agua destilada
- Agua residual doméstica
- Solución de cloruro de calcio
- Solución de cloruro férrico
- Solución de sulfato de magnesio

2.3.8.3 *Metodología*

Se realizó la toma de muestra de agua residual doméstica ubicándose en el centro del vertedero puesto que no es conveniente tomar muestras demasiado cerca de la orilla y también para lograr la homogeneidad de la misma, la toma de muestra se hizo sosteniendo la botella cerca de su base con una mano y sumergiéndola boca abajo, se giró la botella hasta que el cuello apunte hacia arriba con la boca dirigida hacia la corriente.

Se dejó un espacio aéreo en la botella aproximadamente de 2.5 cm para facilitar la mezcla por agitación antes de proceder al análisis.

Se tomó la botella que contenía la muestra de agua residual y se homogenizó agitando constantemente, se lavó el frasco de análisis para DBO_5 con agua del grifo y detergente, se enjuagó con agua destilada y con una probeta se tomó 100 mL de agua residual y se colocó en el frasco, se preparó una solución buffer con cloruro de calcio, cloruro férrico y sulfato de magnesio.

Se agito constantemente y se añadió 2mL al frasco de análisis para DBO_5 , se introdujo en el frasco el agitador magnético, se colocó el capuchón de caucho y se tapó el frasco con el sensor de análisis para DBO_5 , e ajusto el cabezal a 0,999rango de acuerdo a volumen de la muestra. Se dejó durante 5 días.

Tabla 3-2: Parámetros físico químicos analizados

Parámetro	Unidad
Temperatura	°C
Conductividad	μS/cm
pH	Und
Turbiedad	UNT
Demanda bioquímica de oxígeno	mg/L
Salinidad	Sal

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

2.3.9 Determinación de la temperatura del agua residual doméstica dentro del prototipo.

2.3.9.1 Materiales

- Termómetro infrarrojo

2.3.9.2 Metodología

Se encendió el termómetro infrarrojo, se levanto la tapa de la cámara contenedora de aguas residuales y se apunto con el laser del termómetro infrarrojo al agua residual contenida dentro del speaker durante un tiempo de 30 segundos para que nos de la lectura final de la temperatura.

Figura: 4-2: Medida de la temperatura con termómetro infrarrojo



Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

2.3.10 Selección del método para el cultivo de bacterias heterótrofas en agua residual doméstica.

2.3.10.1 Metodología

Se realizó la revisión bibliográfica del libro STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER en la sección 9215 B., correspondiente al recuento heterótrofo de placa, el cual consiste en calcular el número de bacterias vivas heterótrofas que existen en el agua residual doméstica.

donde se investigó acerca de las aplicaciones, selección del método, el área de trabajo, las muestras, la preparación de muestras, medios de cultivo, preparación de los medios, incubación, recuento y registro, cálculo y comunicación de los recuentos y los errores personales que pueden surgir en el transcurso de la ejecución de la experimentación.

En la sección 9215 B, recuento heterótrofo de placa del ítem número 2 de correspondiente a selección del método, se indagó con respecto al método de placa fluida o placa pobre donde entre algunas de sus características explicaba que este método es apropiado para volúmenes pequeños de muestra diluida que oscilan entre 0,1 y 2,0 mL.

En donde las colonias que se producen son relativamente pequeñas, compactas y muestran menor tendencia a rodear unas a otras que las producidas por crecimiento de superficie.

A diferencia del método de placa difusa donde se necesita placas de agar absorbente predesechadas y el método de filtro de membrana que se utiliza para aguas de baja turbidez, se eligió el método de placa fluida que según sus características puesto que se adaptaría mucho mejor a mis necesidades experimentales ya que las muestras de estudio serían de aguas residuales domésticas. (*METHODS, 2005*)

2.3.11 Lavado y esterilización del material para el experimento

2.3.11.1 Materiales

- Tubos de ensayo
- Tapas de caucho y metálicas para tubos de ensayo
- Pipetas de vidrio y automática
- Vasos de precipitación
- Puntas plásticas para pipeta automática
- Pera
- Cajas petri de vidrio
- Gradilla
- Frascos de plástico
- Frascos de vidrio
- Matraz Erlenmeyer
- Balones aforados

2.3.11.2 Metodología

La preparación del material se lo realizó un día antes de empezar la experimentación, se tomó en cuenta los posibles imprevistos que se pueden generar en el laboratorio al momento de la ejecución experimental, se entiende como material a los tubos de ensayo, cajas Petri, balones, matraces, frascos, pipetas y puntas para pipeta.

Estos materiales fueron lavados con detergente, enjuagados con agua destilada y finalmente esterilizados durante un tiempo de 15 minutos, procedimiento que se tomó en base a indicaciones del STANDARD METHODS, (METHODS, 2005)

Tabla 4-2: Cantidad de material empleado para el experimento

Tubos de ensayo	Cajas petri	Frascos de vidrio	Puntas para pipeta automática
150	108	30	300

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

En la tabla 2-3 se muestra la cantidad de material que se usó para la ejecución del experimento, estas cantidades surgen en base al número de diluciones seriadas y al número de repeticiones de cada tratamiento.

Figura: 5-2: Material utilizado



Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

2.3.12 Preparación de agua de dilución

2.3.12.1 Materiales

- Matraz Erlenmeyer
- Balanza analítica
- pHmetro
- gotero
- probeta
- pipeta

2.3.12.2 Metodología

El agua de dilución se usó para bajar la concentración de la muestra de agua residual doméstica, previamente estimulada con ondas sonoras audibles y que después de haber sido sembrada e incubada no haya resultados erróneos en el recuento y que este en un rango de 30 y 300 UFC.

Para su preparación se pesó en la balanza analítica 17 gramos de fosfato dihidrógeno de potasio (KH_2PO_4), luego se disolvió en 250 mL de agua destilada, a esta solución se le añadió una solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 1N y mediante la verificación del pHmetro se ajustó el pH a un valor de 7.

Luego se diluyó hasta 500 mL con agua destilada, a esta solución se la llamó solución madre. Posteriormente se pesó 40.5 gramos de cloruro de magnesio hidratado con 6 aguas ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) y se diluyó hasta 500 mL con agua destilada a esta solución se la llamo solución de cloruro de magnesio.

Se tomó con la pipeta 1,25 mL de solución madre y 5,0 mL de solución de cloruro de magnesio se añadió a un nuevo matraz y se disolvió hasta 1 litro, finalmente a esta solución se llamó agua de disolución, donde se utilizó un total de 2,220 mL, todas estas soluciones se prepararon vitando la luz directa del sol para conservar sus propiedades. (METHODS, 2005)

Figura: 6-2: Medición del pH del agua de dilución



Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

2.3.13 Preparación del medio de cultivo

2.3.13.1 Materiales

- Plate Count Agar(PCA)
- Balanza analítica
- Autoclave
- Baño María
- Reverbero
- Una paleta de madera
- Lamina de aluminio
- Frascos de vidrio de 500 mL
- Balón aforado de 1000 mL
- Vaso de precipitación

2.3.13.2 Metodología

Plate Count Agar significa agar para conteo en placa, es un medio de cultivo que no contiene ningún inhibidor y es principalmente usado para determinar el contenido total microbiano en productos lácteos, agua y aguas residuales por esa razón fue seleccionado para usarlo en la presente investigación. La composición típica de este medio es caseína, peptona, extracto de levadura, glucosa y agar.

Para la preparación se pesó 11,75 gramos de medio (PCA), y se introdujo en un frasco de vidrio, se agitó constantemente y se disolvió en 500 mL de agua destilada, se trasladó el frasco con medio a un reverbero, se agitó frecuentemente y se dejó hervir durante 1 minuto, una vez disuelto el medio se procedió a esterilizarlo en el autoclave durante 30 minutos a 121 °C, una vez llegada a cero la presión en el autoclave se retiró el medio y se lo depositó en el baño María a una temperatura de 45 a 46 °C, se utilizó un total de 1,620 mL para el experimento, este medio se mantuvo protegido de la luz directa del sol para evitar la alteración de sus componentes. (METHODS, 2005)

Figura: 7-2: Dilución del (PCA) PlateCount Agar



Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

2.3.14 Determinación del tiempo de duración del experimento

2.3.14.1 Metodología

Para la determinación del tiempo de duración del experimento, se planificó un horario y se estableció las horas de inicio y de fin del experimento, sumando las horas de estimulación de cada tratamiento.

Tabla 5-2: Planificación del horario para ejecución del experimento

TRATAMIENTO	REPETICIÓN	DURACIÓN	HORA INICIO	HORA FINAL	TIEMPO DE EJECUCIÓN
Sin tratamiento	1ra	1hora	7:00 am	7:30 am	22 HORAS
Primero	1ra	1hora	7:50 am	8:50 am	
	2da		9:10 am	10:10 am	
	3ra		10: 30 am	11:30 am	
Segundo	1ra	2 horas	11:50 am	1:50 pm	
	2da		2:10 pm	4:10 pm	
	3ra		4:30 pm	6:30 pm	
Tercer	1ra	3 horas	6:50 pm	9:50 pm	
	2da		10:10 pm	1:10 pm	
	3ra		1: 30 am	4:30 am	

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

2.4 Condiciones de incubación para el conteo en placa

Tabla 6-2: Condiciones de incubación para el conteo en placa

Grupo bacteriano	Tipo de agar	Temperatura	Tiempo de incubación	Humedad dentro de la incubadora
Bacterias heterótrofas	(PCA) PlateCount Agar	28 °C	5 días	15%

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

2.4.1 Preparación de blancos para determinar la calidad de la esterilidad de aire, agua de dilución y medio de cultivo.

2.4.1.1 Materiales

- Tubos de ensayo
- Tapas de caucho y metálicas para tubos de ensayo
- Tubos de ensayo
- Cajas Petri de vidrio
- Frascos de vidrio
- Puntas para pipeta automática
- Pipeta automática

2.4.1.2 Equipos

- Cámara de flujo laminar
- Incubadora

2.4.1.3 Metodología

La prueba para blancos es un procedimiento que se lo realizó al inicio de cada tratamiento para conocer la calidad de la esterilidad del aire que circula en la cámara de flujo laminar, el agua de dilución, y el agar que se utilizó en la siembra, este procedimiento atestigua que en la siembra

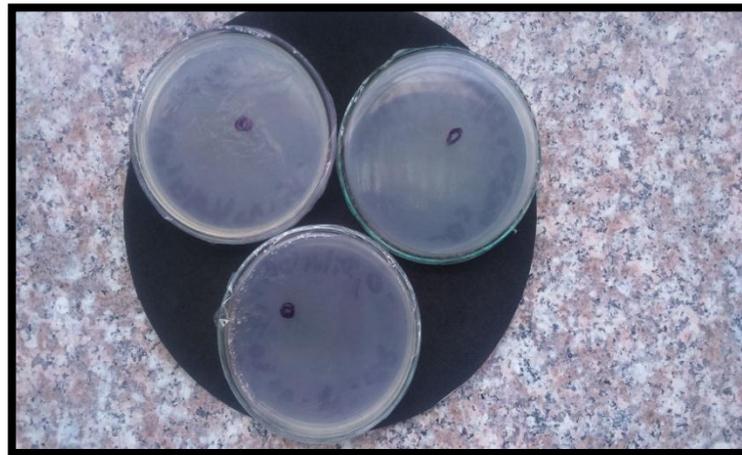
no hubo contaminación en el aire, agua de dilución, medio de cultivo y que los microorganismos estuvieron presentes solo en la muestra sembrada.

Prueba blanco para aire.- se depositó en una caja petri agar y se dejó destapado durante todo el tiempo de siembra hasta que se termine el procedimiento. Posteriormente se depositó en la incubadora y se esperó los días necesarios hasta su recuento.

Prueba blanco para agua de dilución.- En una caja Petri se depositó cierta cantidad de agua de dilución estéril, sobre esta se dejó verter un volumen de medio de cultivo PCA y luego se tapó se agitó constantemente de forma circular. Posteriormente se depositó en la incubadora y se esperó los días necesarios hasta su recuento.

Prueba blanco para medio de cultivo.- En una caja Petri se dejó verter un volumen de 20 mL de medio de cultivo PCA y posteriormente se depositó en la incubadora y se esperó durante 5 días hasta su recuento

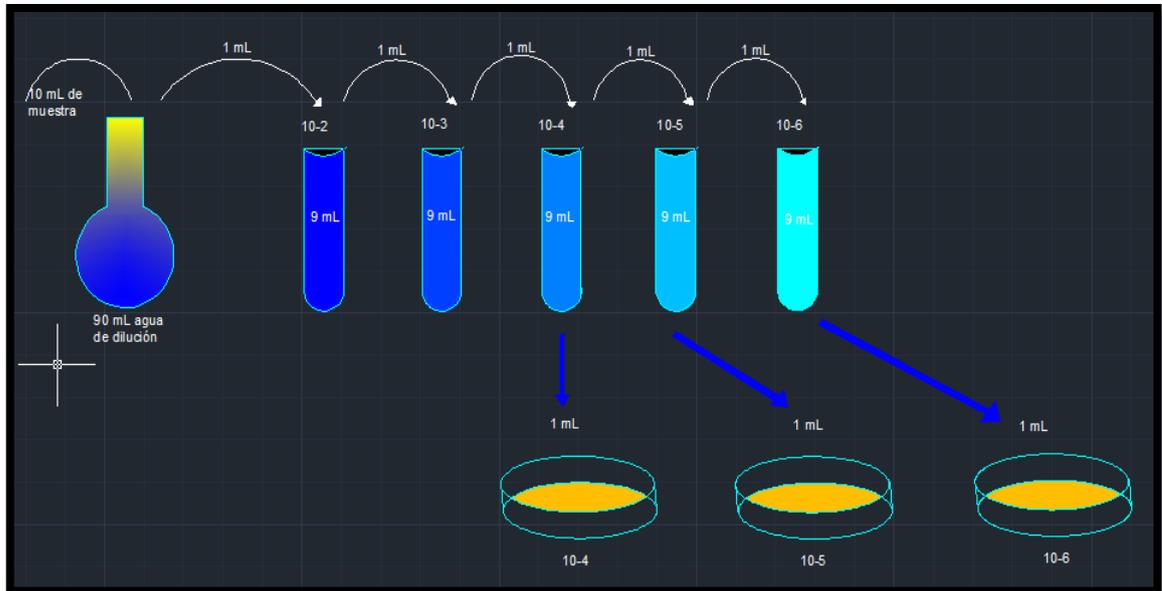
Figura: 8-2: Control estéril para aire, agua de dilución y agar



Fuente: VILLACRÉS GERMÁN, 2016

2.4.2 Cultivo de bacterias de las muestras sin tratamiento.

Figura: 9-2: Técnica para realizar diluciones seriadas y siembra en placa



Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

2.4.2.1 Materiales

- Tubos de ensayo
- Tapas de caucho y metálicas para tubos de ensayo
- Gradilla
- Frascos de vidrio
- Vasos de plástico
- Cajas Petri de vidrio
- Pipetas de vidrio y automática
- Puntas plásticas para pipeta automática
- Pera
- Marcador permanente
- Cinta adhesiva
- Guantes
- Mascarilla
- Cofia

2.4.2.2 Equipos

- Estufa de secado de material
- Cámara de flujo laminar
- Autoclave
- Incubadora
- Reverbero
- Baño maría
- Refrigerador

2.4.2.3 Medios

- (PCA) Plate Count Agar
- Agua para dilución

2.4.2.4 Metodología

Se desinfectó la superficie de la cámara de flujo laminar con alcohol industrial 3 minutos antes de empezar el trabajo, se encendió el filtro y luego se encendió la lámpara de luz UV, se evitó la aglomeración en la zona de trabajo, limitando el ingreso de personas al momento del cultivo bacteriano, se depositó en la superficie de la cámara de flujo laminar el material el medio de cultivo, agua de dilución y muestras necesarios para el trabajo.

Se realizó la prueba de blancos para aire, medio, y agua de dilución los cuales sirven para garantizar que no haya contaminación antes del cultivo y que pueda reflejar resultados erróneos en el recuento. Se codificó las cajas Petri y los tubos de ensayo con el número de dilución, la fecha, el tipo de tratamiento.

Se realizó la selección de diluciones de forma que la cantidad de colonias en una caja Petri este entre un número de 30 a 300 UFC tomando en cuenta que el tipo de agua es residual doméstica. En un frasco de vidrio con 90mL de agua de dilución se diluyó 10 mL de muestra original y sin tratamiento, se agitó constantemente.

Luego se tomó 1mL con la pipeta automática para depositar cuidadosamente en el tubo de ensayo que contenía 9mL de agua de dilución luego se agito constantemente y se tomó una nueva punta de plástico estéril se acopló a la pipeta automática para realizar el siguiente pase y

así sucesivamente para los pases posteriores del material procedente de cada tubo de ensayo. Se depositó 1 mL de muestra en las cajas Petri manteniendo la pipeta en un ángulo estimado de 45°, con diluciones de 10^{-2} hasta 10^{-6} respectivamente en cada caja Petri.

Se añadió agar PCA previamente preparado y mantenido en baño maría a una temperatura entre 44 y 46 °C luego se mezcló cuidadosamente la muestra en estudio con el medio líquido haciendo movimientos circulares de izquierda a derecha y de arriba hacia abajo con la precaución de no proyectar la mezcla contra los bordes luego se dejó solidificar.

se selló los bordes con cinta adhesiva, posteriormente se llevaron las cajas Petri a la incubadora a una temperatura de 28°C durante 5 días, manteniendo la humedad colocando un vaso de plástico con agua en la base de la incubadora para evitar pérdida de peso por evaporación. Inmediatamente después de la incubación se hizo el recuento de todas las colonias de las placas Petri limpiando la base de la caja en forma circular con una tela, alcohol una lupa y una base de color negro para que haya contraste y que se facilite el recuento.

Se contó las bacterias que no estaban cerca de los bordes, ni apelmazadas, señalándolas con un marcador registrando su número y expresando su número con dos cifras significativas al convertirlas en unidades formadoras de colonias. Finalmente se evitó inexactitudes evitando usarse elementos ópticos dañados o sucios que dificulten la visión o que impidan reconocer las colonias.

2.4.3 Cultivo de bacterias de las muestras con primer tratamiento

2.4.3.1 Materiales

- Tubos de ensayo
- Tapas de caucho y metálicas para tubos de ensayo
- Gradilla
- Frascos de vidrio
- Vasos de plástico
- Cajas Petri de vidrio
- Pipetas de vidrio y automática
- Puntas plásticas para pipeta automática
- Pera

- Marcador permanente
- Cinta adhesiva
- Guantes
- Mascarilla
- Cofia

2.4.3.2 Equipos

- Estufa de secado de material
- Cámara de flujo laminar
- Autoclave
- Incubadora
- Reverbero
- Baño maría
- Refrigerador

2.4.3.3 Medios

- PlateCount Agar (PCA)
- Agua para dilución

2.4.3.4 Metodología

Se Homogenizó el contenido de la botella agitándola constantemente durante 30 segundos y luego se transvasó 80 mL de agua residual doméstica a un vaso de plástico estéril, luego se colocó la muestra dentro de la cámara contenedora de aguas residuales específicamente sobre el speaker, a esta muestra se le aplicaron tratamientos de ondas sonoras audibles con una intensidad de 70 dB, frecuencia de 20400 Hz y 1 hora de tiempo de exposición.

Se desinfectó la superficie de la cámara de flujo laminar con alcohol industrial 3 minutos antes de empezar el trabajo, se encendió el filtro y luego se encendió la lámpara de luz UV, se evitó la aglomeración en la zona de trabajo. Se depositó en la superficie de la cámara de flujo laminar el material, medio de cultivo, agua de dilución y la muestra necesarios para el trabajo.

Cumplido el tiempo de estimulación se apagó el equipo y se tomó con una pipeta estéril, 10 mL de agua residual estimulada, para luego dejar verter en un frasco de vidrio estéril que contenía 90 mL de agua de dilución y se procedió a agitarla durante 15 segundos, posteriormente se tomó con la pipeta automática 1 mL y se depositó en un tubo de ensayo que contenía 9 mL de agua de dilución se agitó y se continuó haciendo diluciones sucesivas hasta obtener concentraciones y diluciones seleccionadas.

Se sembró en las cajas petri 1 mL de las diluciones seleccionadas, se agitó cuidadosamente de forma circular y de arriba hacia abajo con la precaución que no se derrame la mezcla en los bordes y se dejó solidificar, luego se sellaron los bordes con cinta adhesiva y se llevaron las cajas petri a la incubadora.

Figura: 10-2: Diluciones seriadas y siembra en profundidad



Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

2.4.4 *Cultivo de bacterias de las muestras con segundo tratamiento*

2.4.4.1 *Metodología*

Se utilizaron los mismos materiales, equipos, medios de cultivo y la misma metodología del tratamiento anterior para el cultivo de bacterias con la diferencia de que se utilizó una intensidad de 73 dB, frecuencia de 20400 Hz y tiempo de exposición de 2 horas

2.4.5 Cultivo de bacterias de las muestras con tercer tratamiento

2.4.5.1 Metodología

Se utilizaron los mismos materiales, equipos, medios de cultivo y la misma metodología del tratamiento anterior para el cultivo de bacterias con la diferencia de que se utilizó una intensidad de 738 dB, frecuencia de 20400 Hz y tiempo de exposición de 3 horas

2.4.6 Incubación

2.4.6.1 Metodología

La incubación se dio durante 5 días a una temperatura de 28 °C, se mantuvo la humedad en la incubadora colocando en el interior un vaso pequeño con agua destilada, con el fin de que la pérdida de peso por evaporación en las cajas petri no supere el 15%, aspecto importante puesto que la incubación fue larga. (METHODS, 2005)

Tabla 7-2: Condiciones de incubación para recuento en placa

Grupo bacteriano	Tipo de agar	Temperatura	Tiempo de incubación	Humedad
Heterótrofo	(PCA) PlateCount Agar	28 °C	5 días	15%

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Figura: 11-2: Incubación de bacterias



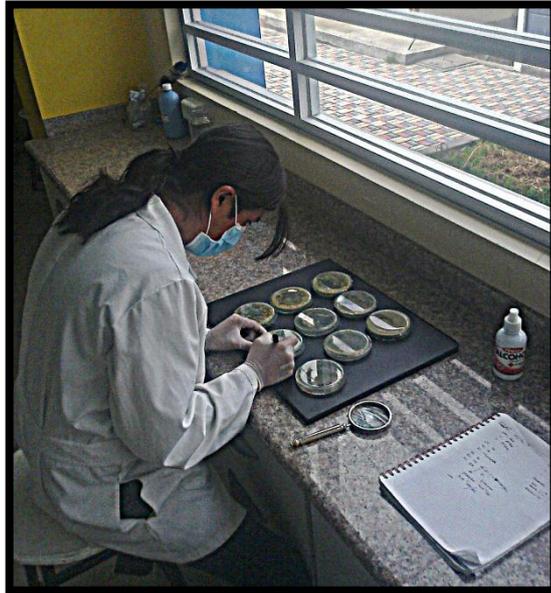
Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

2.4.7 Recuento y registro

2.4.7.1 Metodología

Inmediatamente después de la incubación se contaron y se registraron todas las colonias de las cajas petri correspondientes a las diluciones 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} se hizo un recuento manual utilizando una lupa que proporcionó aumento y una base de color oscuro para que haya contraste con las cajas y poder visualizar mejor las colonias, solamente se tomo en cuenta las cajas que tengan entre 30 y 300 colonias.(METHODS, 2005)

Figura: 12-2: Recuento de colonias



Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

2.4.8 Cálculo y comunicación de los recuentos

2.4.8.1 Metodología

Para calcular el recuento heterótrofo en placa se multiplico el número de colonias contadas por el inverso de la dilución utilizada dividida para la cantidad de muestra sembrada, donde se utilizaron las cajas petri correspondientes a las diluciones 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , para su resultado final se realizo un promedio puesto que se tenía cajas por triplicado de cada dilución y de cada tratamiento y se presento el valor de los recuentos con dos cifras significativas. (METHODS, 2005)

La fórmula para determinar las unidades formadoras de colonias fue la siguiente:

$$\frac{UFC}{mL} = \frac{\text{Número de colonias contadas} * \text{inverso del factor de dilución}}{mL \text{ de muestra sembrada}}$$

2.4.9 *Mantenimiento del prototipo generador de ondas sonoras audibles.*

2.4.9.1 *Materiales*

- Franela
- Detergente
- Desinfectante
- Agua limpia
- Guantes
- Mascarilla
- Pipeta de vidrio
- Pera
- Vaso de plástico

2.4.9.2 *Metodología*

Se realizó la limpieza de la cámara contenedora de aguas residuales utilizando mandil, mascarilla y guantes puesto que se trabajó con aguas residuales domésticas y podrían existir microorganismos patógenos que comprometan la salud, se lavó con agua limpia y detergente la superficie, las paredes y el interior del speaker, luego se enjuagó y se retiró el agua sobrante usando una pipeta, se secó con una franela, se desinfectó toda la cámara.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Diseño y construcción del prototipo generador de ondas sonoras audibles

El prototipo fue diseñado con:

Unacámara contenedora de aguas residuales que consiste en un espacio con capacidad volumétrica de 57.6 L, cuyas paredes internas están hechas con vidrio, con el fin de reducir la influencia del ruido ambiental en el resultado experimental.

Sus paredes externas fueron recubiertas con paneles aislantes acústicos en forma piramidal, para separar y prevenir que ruidos indeseados lleguen al área interna de estimulación. Dentro de la cámara contenedora de aguas residuales se encuentra ubicado el speaker o altavoz que es el responsable de emitir sonido y que está en contacto con el agua residual doméstica.

Figura: 1-3: Cámara contenedora de aguas residuales



Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Tabla 1-3: Dimensiones de la cámara contenedora de aguas residuales

DENOMINACIÓN	SIMBOLOGÍA	VALOR (cm)
Largo	L	47
Ancho	A	35
Alto	H	35

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Volumen cámara

$$V \text{ cámara} = L * A * H$$

$$V \text{ cámara} = 35 \text{ cm} * 47 \text{ cm} * 35 \text{ cm}$$

$$V \text{ cámara} = 57,575 \text{ cm}^3$$

$$V \text{ cámara} = 57.6 \text{ litros}$$

Un **speaker o altavoz** es un elemento que permitió transformar la energía eléctrica en movimiento expresada en energía acústica respondiendo a las variaciones de frecuencia de la señal de entrada asociada al track musical.

Figura: 2-3: Speaker o altavoz



Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Tabla 2-3: Características del speaker

DESCRIPCIÓN	SIMBOLO	MEDIDA (cm)
Diámetro	D	20
Altura interna	H	2
Potencia	P	300 w

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Volumen speaker

$$V_{speaker} = \frac{1}{3} * \pi r^2 * h$$
$$V_{speaker} = \frac{1}{3} * \pi * 10^2 cm^2 * 2 cm$$
$$V_{speaker} = 207,2 cm^3$$
$$V_{speaker} = 0.20 litros$$

Cálculo del volumen total de la cámara contenedora de aguas residuales

$$V_{total} = (\text{volumen cámara} + \text{volumen speaker})$$
$$V_{total} = (57,6 + 0,20)$$
$$V_{total} = 58 litros$$

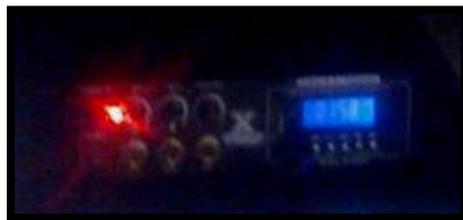
Volumen real utilizado en la cámara contenedora de aguas residuales

En microbiología se utilizan muestras pequeñas debido a que en un mililitro pueden estar presentes millones de microorganismos se utilizó un volumen constante de 100 mL de muestra de agua residual doméstica para someterla a los diferentes tratamientos con ondas sonoras audibles.

$$Volumen real = 100 mL$$
$$V real = 0.1 L$$

El sistema de amplificación de audio es un sistema electrónico que capta la señal de audio desde un lector de tarjeta de memoria y luego la amplifica con buena calidad de sonido, este equipo se utilizó para introducir una memoria que contenía el track musical con el que se estimuló las muestras de agua residual doméstica.

Figura: 3-1: Amplificador de audio



Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Tabla 3-1: Dimensiones del sistema de amplificación de audio

DESCRIPCIÓN	SIMBOLO	MEDIDA (cm)
Largo	L	23,5
Ancho	A	22
Alto	H	7

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Una estantería esta estructura sujeta, protege y aíslala cámara contenedora de aguas residuales, el speaker, el amplificador de audio y permite hacer una distribución del espacio para ordenar los elementos antes mencionados en un espacio pequeño agilitando su manipulación y acceso.

En la parte superior de la estantería se colocó paneles aislantes acústicos PH 440*406 los cuales previenen que sonidos o ruidos externos se desplacen y lleguen a la cámara contenedora de aguas residuales y generen algún efecto no deseado en la experimentación. En la parte inferior o base de la estantería se colocó una plancha de material elástico que actúa como una especie de sistema para aislar vibraciones propagadas por otros artefactos o estructuras sólidas externas.

Figura: 4-3: Estantería



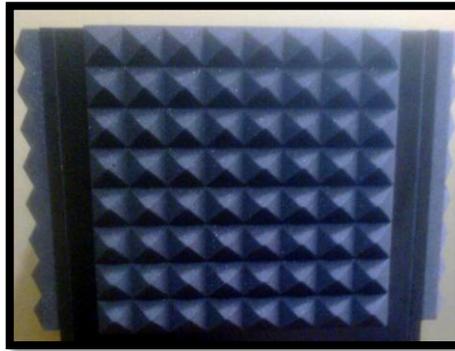
Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Tabla 4-3: Dimensiones de la estantería

SOPORTE DE LA ESTRUCTURA		
DESCRIPCION	SIMBOLO	VALOR (cm)
Largo	L	38
Ancho	A	51
Alto	H	77

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Figura 5-3: Paneles acústicos



Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Tabla 5-3: Dimensiones de paneles acústicos

PANELES ACÚSTICOS PH 440*406		
DESCRIPCION	SIMBOLO	VALOR (cm)
Alto	H	40
Ancho	A	40

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Figura 6-3: Sistema antivibratorio



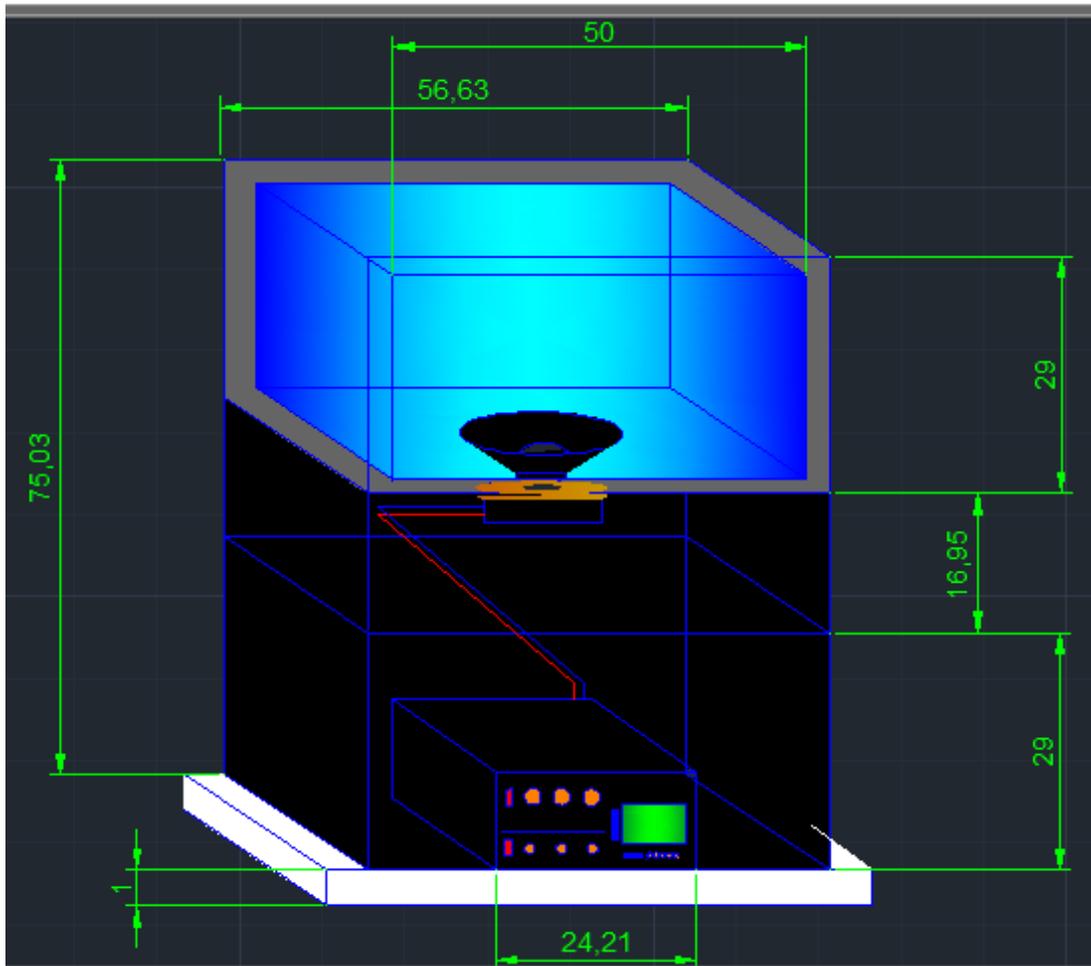
Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Tabla 6-3: Dimensiones del sistema antivibratorio

SISTEMA ANTIVIBRATORIO		
DESCRIPCION	SIMBOLO	VALOR (cm)
Largo	L	70
Ancho	A	60

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Figura: 7-3: Cotas del prototipo generador de ondas sonoras audibles



Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

En la tabla 3-2 los valores de las cotas del prototipo generador de ondas están expresados en centímetros.

Figura: 8-3: Ensamblado final del prototipo



Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

3.2 Resultados de la caracterización físico- química de la calidad de las A.R.D

Para este proceso se hizo el muestreo previamente señalado donde a partir de la primera muestra principal se tomo una porción para realizar los análisis físico - químicos de los siguientes parámetros donde sus resultados se registraron de la siguiente manera

Tabla 7-3: Resultados de los análisis físico-químicos del agua residual doméstica

Parámetro	Expresado como	Unidad	Valor
Temperatura	°C	-	14,7
Conductividad	-	µs/cm	336
Potencial de hidrógeno	pH	Und	7,30
Turbidez	-	UNT	348
Demanda bioquímica de oxígeno	D.B.O ₅ .	mg/L	67
Sólidos totales disueltos	S.T.D	mg/L	191
Salinidad	-	mg/L	0,2

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

En la tabla 3-5 Resultados de los análisis físico – químicos se observan los valores de los parámetros analizados, para el caso de la DBO₅ fue un procedimiento más largo donde se tomó 100 mL de agua residual y se dejó verter en un frasco, se preparó una solución buffer con cloruro de calcio, cloruro férrico y sulfato de magnesio, se agitó constantemente y se añadió 2mL al frasco de análisis para DBO₅.

3.3 Resultado de la medición de la frecuencia

Se utilizó el medidor de frecuencia del programa multimedia Cubase en donde se obtuvo los valores de la frecuencia correspondientes a las notas del track utilizado.

Figura: 9-3: Medición de la frecuencia en el laboratorio de sonido poliarte



Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Tabla 8-3: Resultados de las mediciones de frecuencia del track musical

FRECUENCIA CANAL IZQUIERDO	FRECUENCIA CANAL DERECHO	PROMEDIO
21134 Hz	19746Hz	20440 Hz

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

En la tabla 3-6 se representa las frecuencias del track utilizado y se realiza un promedio puesto que el sonido era estéreo es decir tenía salida por dos canales el izquierdo y el derecho pero como el speaker del prototipo era monofónico se realizó un promedio de las dos frecuencias

3.4 Medición de la intensidad de sonido

Se utilizó el sonómetro y se colocó dentro de la cámara contenedora de aguas residuales donde se hizo la medición durante 60 minutos y se fueron registrando los valores del nivel de presión sonora constante en los minutos 1, 15, 30, 45, 60 para sacar un promedio y obtener un valor más confiable, la intensidad esta expresada en decibeles, dichos valores se obtuvieron al ir moviendo el potenciómetro de menor a mayor es decir en posición baja, media y alta.

Tabla 9-3: Promedio de la medición de la intensidad de sonido baja en diferentes periodos de tiempo

Número de Mediciones	Tiempo (min)	Intensidad (dB)	Promedio
1	1	44	70,94
2	15	76,6	
3	30	77,8	
4	45	78,3	
5	60	78	

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Tabla 10-3: Promedio de la medición de la intensidad de sonido media en diferentes periodos de tiempo

Número de Mediciones	Tiempo (min)	Intensidad (dB)	Promedio
1	1 min	55,5	72,14
2	15 min	72,2	
3	30 min	76,2	
4	45 min	78,3	
5	60 min	78,5	

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Tabla 11-3: Promedio de la medición de la intensidad de sonido alta en diferentes periodos de tiempo

Número de Mediciones	Tiempo (min)	Intensidad (dB)	Promedio
1	1 min	76,4	77,82
2	15 min	77,5	
3	30 min	78,1	
4	45 min	78,6	
5	60 min	78,5	

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Tabla 12-3: Resultado final del promedio de las mediciones de la intensidad de sonido baja, media y alta

Medición	Intensidad (dB)
Baja	70,94
Media	72,14
Alta	77,82

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

3.5 Recuento bacteriano de las muestras sin tratamiento o grupo control

En esta fase del experimento se analizó el grupo de muestra de agua residual doméstica que no tuvo estímulo de ondas de sonido audible donde se realizaron diluciones seriadas se sembró en las cajas petri utilizando la técnica de siembra en profundidad y se depositaron en la incubadora durante un periodo de 5 días a una temperatura de 28 °C según el Estándar Methods para luego realizar el recuento microbiano y finalmente su reporte.

Tabla 13-2: Resultado del recuento en placa para las muestras sin tratamiento

GRUPO	TIPO DE RECUENTO	NÚMERO DE REPETICIÓN	NÚMERO DE DILUCIÓN	CONTEO	RESULTADO UFC/mL
AUSENCIA DE TRATAMIENTO	RECUENTO MANUAL	1ra REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10 ⁻²	> 300 incontable	-
			10 ⁻³	> 300 incontable	-
			10 ⁻⁴	39	4x10 ⁵
			10 ⁻⁵	29	3x10 ⁶
			10 ⁻⁶	18	2x10 ⁷
		2da REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10 ⁻²	> 300	-
			10 ⁻³	> 300	-
			10 ⁻⁴	72	7,2x10 ⁵
			10 ⁻⁵	53	5,3x10 ⁶
			10 ⁻⁶	26	2,6x10 ⁷
		3ra REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10 ⁻²	> 300	-
			10 ⁻³	> 300	-
			10 ⁻⁴	56	6x10 ⁵
			10 ⁻⁵	Contaminación No reportado	-
			10 ⁻⁶	Contaminación No reportado	-

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN 2016

3.6 Recuento microbiano de los grupos con primer tratamiento

El primer tratamiento consistió en la presencia de tres condiciones experimentales que son frecuencias bajas, intensidad de 71 dBy tiempo de exposición de 1 hora a las cuales fueron expuestas las muestras, se seleccionaron las diluciones de 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} para la siembra puesto que se comprobó en el grupo sin tratamiento que en dichas diluciones se podían realizar un recuento que este en el rango de 30 a 300 colonias puesto que las muestras están más diluidas.

Tabla 14-3: Calculo de resultados del recuento en placa para muestras con primer tratamiento utilizando diluciones de 10^{-4} .

GRUPO	TIPO DE RECUENTO	NÚMERO DE REPETICIÓN	NÚMERO DE DILUCIÓN	CONTEO	RESULTADO UFC/mL
PRIMER TRATAMIENTO	RECUENTO MANUAL	1ra REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10^{-4}	69	7×10^5
				71	7×10^5
				73	$7,3 \times 10^5$
		2da REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10^{-4}	73	$7,3 \times 10^5$
				82	$8,2 \times 10^5$
				12	$1,2 \times 10^5$
		3ra REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10^{-4}	61	$6,1 \times 10^5$
				Contaminación no reportado	-
				Contaminación no reportado	-

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Tabla 15-3: Calculo de resultados del recuento en placa para las muestras con primer tratamiento utilizando diluciones de 10^{-5}

GRUPO	TIPO DE RECUENTO	NÚMERO DE REPETICIÓN	NÚMERO DE DILUCIÓN	CONTEO	RESULTADO UFC/mL
PRIMER TRATAMIENTO	RECUENTO MANUAL	1ra REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10^{-5}	60	6×10^6
				54	5.4×10^6
				32	$3,2 \times 10^6$
		2da REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10^{-5}	47	$4,7 \times 10^6$
				6	6×10^6
				62	$6,2 \times 10^6$
		3ra REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10^{-5}	36	4×10^6
				Contaminación no reportado	-
				Contaminación no reportado	-

Realizado por: VILLACRES, GERMAN, 2016

Tabla 16-3: Calculo de resultados del recuento en placa en muestras con primer tratamiento utilizando diluciones de 10^{-6}

GRUPO	TIPO DE RECUENTO	NÚMERO DE REPETICIÓN	NÚMERO DE DILUCIÓN	CONTEO	RESULTADO UFC/mL
PRIMER TRATAMIENTO	RECUENTO MANUAL	1ra REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10^{-6}	46	5×10^7
				40	4×10^7
				18	$1,8 \times 10^7$
		2da REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10^{-6}	28	3×10^7
				32	3×10^7
				46	5×10^7
		3ra REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10^{-6}	12	$1,2 \times 10^7$
				Contaminación	-
				Contaminación	-

Realizado por: VILLACRES, GERMAN, 2016

3.7 Recuento microbiano de los grupos con segundo tratamiento

El segundo tratamiento consiste en la presencia de tres condiciones experimentales que son frecuencias medias, intensidad de 72 dB y tiempo de exposición de 2 horas a las cuales fueron expuestas las muestras, se seleccionaron las diluciones de 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} para la siembra puesto que se comprobó en el grupo sin tratamiento que en dichas diluciones se podían realizar un recuento que este en el rango de 30 a 300 colonias puesto que las muestras están más diluidas.

Tabla 17-3: Calculo de resultados del recuento en placa en muestras con segundo tratamiento utilizando diluciones de 10^{-4}

GRUPO	TIPO DE RECUENTO	NÚMERO DE REPETICIÓN	NÚMERO DE DILUCIÓN	RECUENTO	RESULTADO UFC/mL
SEGUNDO TRATAMIENTO	RECUENTO MANUAL	1ra REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10^{-4}	102	10×10^5
				99	10×10^5
				114	12×10^5
		2da REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10^{-4}	107	11×10^5
				86	$8,6 \times 10^5$
				104	11×10^5
		3ra REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10^{-4}	133	14×10^5
				Contaminación	-
				Contaminación	-

Realizado por: VILLACRES, GERMAN. 2016

Tabla 18-3: Calculo de resultados del recuento en placa para las muestras con segundo tratamiento utilizando diluciones de 10^{-5}

GRUPO	TIPO DE RECUENTO	NÚMERO DE REPETICIÓN	NÚMERO DE DILUCIÓN	CONTEO	RESULTADO UFC/mL
SEGUNDO TRATAMIENTO	RECUENTO MANUAL	1ra REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10^{-5}	94	$9,5 \times 10^6$
				76	7.6×10^6
				88	9×10^6
		2da REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10^{-5}	90	9×10^6
				80	8×10^6
				57	6×10^6
		3ra REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10^{-5}	46	5×10^6
				Contaminación	-
				Contaminación	-

Realizado por: GERMAN, VILLAVRES, 2016

Tabla 19-3: Cálculo de resultados del recuento en placa en las muestras con segundo tratamiento utilizando diluciones de 10^{-6}

GRUPO	TIPO DE RECUESTO	NÚMERO DE REPETICIÓN	NÚMERO DE DILUCIÓN	CONTEO	RESULTADO UFC/mL
SEGUNDO TRATAMIENTO	RECUESTO MANUAL	1ra REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10^{-6}	62	6×10^7
				39	4×10^7
				52	5×10^7
		2da REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10^{-6}	47	5×10^7
				43	4×10^7
				21	2×10^7
		3ra REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10^{-6}	23	2×10^7
				Contaminación	-
				Contaminación	-

Realizado por: VILLACRES, GERMAN, 2016

3.8 Recuento microbiano de los grupos con tercer tratamiento

El tercer tratamiento consiste en la presencia de tres condiciones experimentales que son frecuencias altas, intensidad de 78 dB y tiempo de exposición de 3 horas a las cuales fueron expuestas las muestras, se seleccionaron las diluciones de 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} para la siembra puesto que se comprobó en el grupo sin tratamiento que en dichas diluciones se podían realizar un recuento que este en el rango de 30 a 300 colonias puesto que las muestras están más diluidas.

Tabla 20-3: Cálculo de resultados del recuento en placa en las muestras con tercer tratamiento utilizando diluciones de 10^{-4}

GRUPO	TIPO DE RECUESTO	NÚMERO DE REPETICIÓN	NÚMERO DE DILUCIÓN	CONTEO	RESULTADO UFC/mL
TERCERTRATAMIENTO	RECUESTO MANUAL	1ra REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10^{-4}	138	14×10^5
				104	11×10^5
				102	11×10^5
		2da REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10^{-4}	6	6×10^4
				148	15×10^5
				133	14×10^5
		3ra REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10^{-4}	159	16×10^5
				Contaminación	-
				Contaminación	-

Realizado por: GERMAN, VILLACRES, 2016

Tabla 21-3: Cálculo de resultados del recuento en placa en las muestras con tercer tratamiento utilizando diluciones de 10-5

GRUPO	TIPO DE RECUESTO	NÚMERO DE REPETICIÓN	NÚMERO DE DILUCIÓN	CONTEO	RESULTADO UFC/mL
TERCER TRATAMIENTO	RECUESTO MANUAL	1ra REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10 ⁻⁵	73	7,3x10 ⁶
				69	7x10 ⁶
				62	6,2x10 ⁶
		2da REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10 ⁻⁵	66	7x10 ⁶
				55	6x10 ⁶
				36	4x10 ⁶
		3ra REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10 ⁻⁵	63	6,3x10 ⁶
				Contaminación	-
				Contaminación	-

Realizado por: GERMAN, VILLACRES, 2016

Tabla 22-3: Cálculo de resultados del recuento en placa en las muestras con tercer tratamiento utilizando diluciones de 10-6

GRUPO	TIPO DE RECUENTO	NÚMERO DE REPETICIÓN	NÚMERO DE DILUCIÓN	CONTEO	RESULTADO UFC/mL
TERCER TRATAMIENTO	RECUENTO MANUAL	1ra REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10 ⁻⁶	42	4x10 ⁷
				57	6x10 ⁷
				40	4x10 ⁷
		2da REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10 ⁻⁶	23	3x10 ⁷
				11	11x10 ⁶
				22	2x10 ⁷
		3ra REPETICIÓN DEL EXPERIMENTO	10 ⁻⁶	16	2x10 ⁷
				Contaminación	-
				Contaminación	-

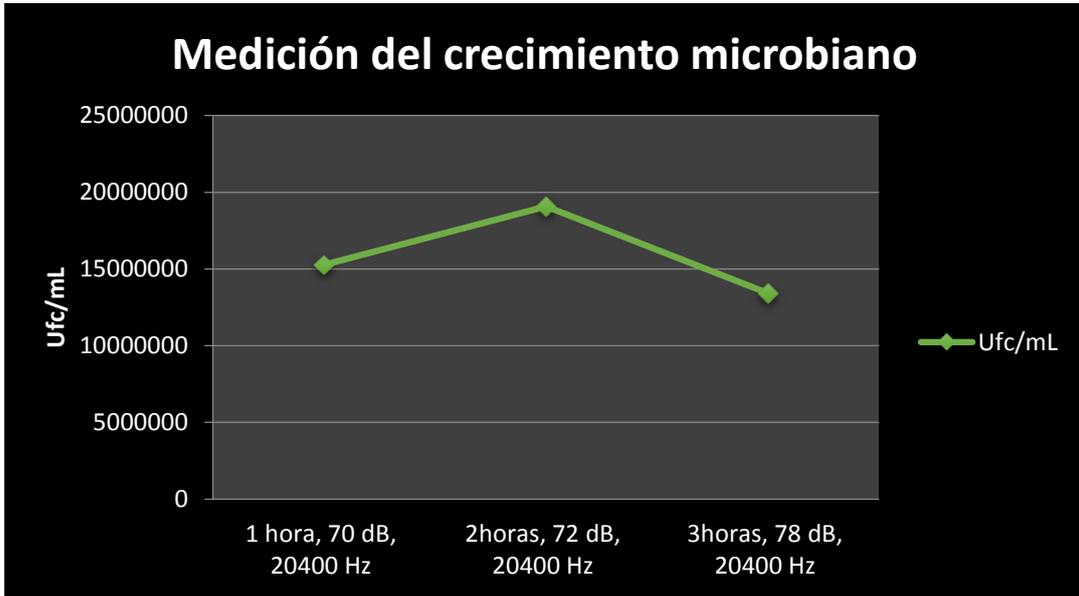
Realizado por: GERMAN, VILLACRES, 2016

Tabla 23-3: Promedio de los resultados del recuento en placa en el primer, segundo y tercer tratamiento utilizando diluciones de 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}

	Dilución 10^{-4}	Dilución 10^{-5}	Dilución 10^{-6}	Promedio
Primer tratamiento (frecuencia 20440 Hz, intensidad 70 dB, tiempo de exposición 1 hora)	7×10^5	6×10^6	5×10^7	15×10^6
	7×10^5	$5,4 \times 10^6$	4×10^7	
	$7,3 \times 10^5$	$3,2 \times 10^6$	5×10^7	
	$8,2 \times 10^5$	$4,7 \times 10^6$	3×10^7	
	$6,1 \times 10^5$	6×10^6	3×10^7	
Segundo tratamiento (frecuencia 20440 Hz, intensidad 72 dB, tiempo de exposición 2 horas)	10×10^5	$9,5 \times 10^6$	6×10^7	19×10^6
	10×10^5	$7,6 \times 10^6$	4×10^7	
	12×10^5	9×10^6	5×10^7	
	$8,6 \times 10^5$	9×10^6	5×10^7	
	14×10^5	8×10^6	4×10^7	
Tercer tratamiento (Frecuencia 20440 Hz, intensidad 78 dB, tiempo de exposición 3 horas)	14×10^5	$7,3 \times 10^6$	4×10^7	13×10^6
	11×10^5	7×10^6	6×10^7	
	11×10^5	$6,2 \times 10^6$	2×10^7	
	15×10^5	7×10^6	3×10^7	
	16×10^5	6×10^6	11×10^7	

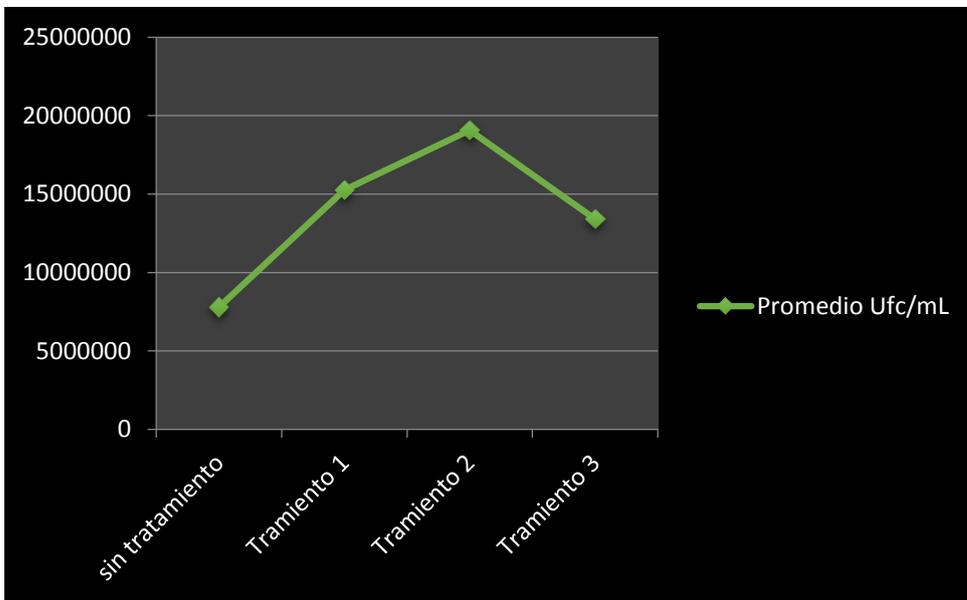
Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Figura: 10-3: Comparación del crecimiento microbiano en los tres tratamientos



Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Figura: 11-2: comparación del crecimiento microbiano en las muestras sin tratamiento y con tratamiento



Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Tabla 24-3: Comparación del crecimiento de bacterias en la muestra sin tratamiento y con tratamiento

SIN TRATAMIENTO	CON TRATAMIENTO
Dilución 10^{-4}	Dilución 10^{-4}
13 colonias	70 colonias
	

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

$$\frac{UFC}{mL} = \frac{70 \text{ colonias contadas} * 10000 \text{ inverso del factor de dilución}}{1 \text{ mL de muestra sembrada}}$$

$$\frac{UFC}{mL} = 700000 = 7 \times 10^5 \frac{UFC}{mL}$$

3.9 Expresión de resultados

Las bacterias en placa en PlateCount Agar PCA incubadas por el periodo de 5 días a una temperatura de 28 °C y estimuladas con frecuencia de 20440 Hz, con una intensidad de 78 dB y un tiempo de exposición de 3 horas dieron como resultado 13×10^{-5} UFC/mL

3.10 Análisis estadístico de la prueba de hipótesis aplicando el T studen't para los resultados de los tratamientos utilizados.

Tabla 25-3: Valores del Promedio, desviación estándar y estadístico para las muestras sin tratamiento y con tratamiento.

Tratamiento	Dilución	Ufc/mL	# de datos	Promedio	Desviación estándar	valor del estadístico
AUSENCIA	10 ⁻⁴	400000	3	7800000	13037637,82	$T = \frac{\bar{X}_n - \mu}{S_n/\sqrt{n}}$
	10 ⁻⁵	3000000				
	10 ⁻⁶	20000000				
PRIMER	10 ⁻⁴	700000	15	15257333,33	19647896,94	1,469985714
		700000				
		730000				
		820000				
		610000				
	10 ⁻⁵	6000000				
		5400000				
		3200000				
		4700000				
		6000000				
	10 ⁻⁶	50000000				
		40000000				
		50000000				
		30000000				
		30000000				
SEGUNDO	10 ⁻⁴	1000000	15	19081333,33	22669977,63	1,927325066
		1000000				
		120000				
		860000				
		140000				
	10 ⁻⁵	9500000				
		7600000				
		9000000				
		9000000				
		8000000				
	10 ⁻⁶	60000000				
		40000000				
		50000000				
		50000000				
		40000000				
TERCER	10 ⁻⁴	1400000	15	13413333,33	17836754,07	1,218851055
		1100000				
		1100000				
		1500000				
		1600000				
	10 ⁻⁵	7300000				
		7000000				
		6200000				
		7000000				
		6000000				
	10 ⁻⁶	40000000				
		60000000				
		20000000				
		30000000				
		11000000				

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

Tabla 26-3: Cálculo del estadístico aplicando T student para las Ufc entre tratamientos en comparación a la muestra sin tratamiento

Tratamiento	valor del estadístico	Nivel de significancia
Primer	1,469985714	1,7613
Segundo	1,927325066	
Tercer	1,218851055	

Realizado por: VILLACRÉS, GERMÁN, 2016

CONCLUSIONES

Se realizó el diseño y construcción del prototipo de estimulación de ondas de sonido audible conformado por una cámara contenedora de aguas residuales, un sistema de amplificación de audio, un speaker o altavoz, una estantería recubierta con paneles acústicos para reducir la influencia del sonido externo.

Se hizo la caracterización físico - química de las muestras de agua residual doméstica procedentes del barrio la primavera del cantón Riobamba dando como resultado el análisis de los de parámetros como temperatura con un valor de 14.7 °C, conductividad 336 $\mu\text{s/cm}$, pH 7.30, turbiedad 348 UNT y demanda bioquímica de oxígeno 67 mg/L con estos valores se tuvo una idea referencial del estado del agua residual doméstica.

Se estimó los tratamientos de ondas de sonido audible expuestos a las células microbianas, estos fueron primer tratamiento que consistió en una frecuencia de 20440 Hz, intensidad de 70 dB y tiempo de exposición de 1 hora, el segundo tratamiento con una frecuencia de 20440 Hz, intensidad de 72 dB y tiempo de exposición de 2 horas y el tercer y último tratamiento con una frecuencia de 20440 Hz, intensidad de 78 dB y tiempo de exposición de 3 horas.

Se midió el crecimiento de microbio en los diferentes tratamientos expresados en unidades formadoras de colonias sobre mililitro (UFC/mL) y se obtuvo un mayor crecimiento en el segundo tratamiento, que se caracterizó por tener una frecuencia de 20440 Hz, una intensidad de 72 dB y un tiempo de exposición de 2 horas.

Se hizo un análisis estadístico utilizando el T student para valorar si hay diferencias significativas entre la cantidad de unidades formadoras de colonias en las muestras sin tratamiento y en las muestras con tratamiento. Se utilizó este método debido a que el tamaño de las muestras es menor a 30 y la población de la cual provienen es normal.

Se conoció que a un 95% de precisión y un valor de 14 en grados de libertad, el nivel de significancia fue de 1,7613 este valor se comparó con los valores del estadístico y se confirmó que para el primer y tercer tratamiento los valores son menores por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y para el segundo tratamiento el valor es mayor, por lo tanto no se cumple la hipótesis nula.

RECOMENDACIONES

Se recomienda sustituir el speaker monofónico por dos speaker'sstereo con la finalidad de que se aumente la capacidad de oxigenación al momento de emitir las ondas de sonido audible en la estimulación de las muestras de agua residual doméstica.

Seleccionar un track o pista que tenga las características de afinación y tonalidad más grave es decir menor que 440 Hz puesto que mediante a la experimentación se logró determinar que existe un mayor movimiento del agua residual doméstica con frecuencias bajas, para favorecer el movimiento y oxigenación del agua.

BIBLIOGRAFÍA

- Bin Liu, et, a.** (2011). *The influence of ultrasound on the fluoroquinolones antibacterial activity.* (En línea) Elsevier. Pp 1052 – 1056, China. www.elsevier.com/locate/ultsonch 2015-05-27.
- Bartha.** (2002). *Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental.* Segunda edición. Madrid: Pearson Educación. Págs. Pp 245 - 252
- Crites, R., & Tchobanoglous, G.** (2000). *Tratamiento de Aguas Residuales en Pequeñas Poblaciones.* Cuarta edición. Bogotá: Mc Graw-Hill. Págs. 321 - 325
- Ekaterina V. Rokhina, P. L.** (2009). *Low-frequency ultrasound in biotechnology: state of the art.* Elsevier Págs. Pp 45– 50. Finlandia. www.elsevier.com/copyright. 2015-05-27.
- Gao, S.** (2013). *Inactivation of microorganisms by low-frequency high-power.* (En línea) AK press. Págs. Pp 121 – 125. New Zealand. www.elsevier.com/locate/ultson. 2016-01-04
- Tortora Gerard J, B.** (2007). *Introducción a la microbiología.* Novena edición. Buenos Aires, Argentina: Panamericana. Págs. Pp 564 - 571
- Giancoli, D. C.** (1997). *Física principios con aplicaciones.* Cuarta edición. Mexico: Simon y Schuster Company. Págs. Pp 198 - 203
- Gu shaobin et al.** (2010). *A pilot study of the effect of audible sound on the growth of eschericha coli .* (En línea) Elsevier. Págs. Pp 377 – 379 China. www.elsevier.com/locate/colsurfb. 2016-01-07
- Prescott H. K** (2002). *Microbiology.* Tercera edición, EE.UU. Ibucku, Págs. Pp 233 - 234
- López, A.** (1998). *Educación musical.* Segunda edición . Riobamba: Edipcentro. Págs. Pp 84 - 92
- Madigan et al.** (1997). *organismos patógenos.* Sexta edición, Madrid, Miguel Martín Romo, paginas 1143-1147
- Mara, D. D.** (1993). *sewage Treatment in Hot Climates.* (En línea). Elsevier. Págs. Pp 74 – 78 London, Inglaterra. www.eurjchem.com 2016-01-03
- Matras, J. J.** (2006). *El sonido.* Quinta edición, Madrid- España, Oceano, Págs. 56 - 89
- Metcalf, & Eddy.** (1995). *Ingeniería de Aguas Residuales. Tratamiento, Vertido y Reutilización.* Tercera edición. Madrid, España: McGraw-Hill Interamericana. Págs. Pp 161 - 177
- Methods, s.** (2005). *Standard methods for the examination of water and wastewater.* Quinta edición. Estados Unidos: Centennial Edition. Págs. Pp 965 - 979

Niral Sarvaiya, V. K. *Efecto de sonido audible en forma de música en el crecimiento y producción de ciertos metabolitos importantes en microorganismos.*s(2015). Pags. Pp 99 – 104<http://link.springer.com/article/10.1134%2FS0026261715020125#/#/pag>

Ling Ling Hsieh. (2009)*Optimal degradation of dye wastewater by method in the presence of nanoscale iron.*(En línea). Contentsserver. Págs. Pp 04 – 07. China.www.eurjchem.com2015-06-23

Ramalho R.S. *Tratamiento de Aguas Residuales.* Tercera edición. Barcelona: Reverté S.A. (1993). Págs. Pp 29 - 35

Rameau, J. P. *Traite del harmonie.*Segunda edición. New York.Books LLC.(1722). Págs. Pp 56- 62

Rojas, M. D. *El sonido. Cuarta edicion.*Mexico. Inia Huasi. (2011). Págs. Pp 102 - 106

Sancho, C. *Faraday y la guitarra eléctrica. Revista Eureka sobre ensañanza y divulgación de la cienca. Barcelona.*JMW GROUP. (2011). Págs. Pp 4 – 5.

Tchobanoglous, C. y. *Tratamiento de aguas residuales en pequeñas poblaciones. Sexta edicion. Cordova.* Reverté S.A.(2000). Págs. Pp 34 - 37

Thomas, L. (2011). *the fundamental of power ultrasound.*(En línea). Melbourne.Págs. Pp67 – 71 . China.2016-01-06

Turantaş, F. (2014). *Ultrasound in the Meat Industry; General Applications and Decontamination Efficiency.*(En línea). Melbourne.Págs. Pp145 – 152.Turkey. www.sandraek.com/unimelb.edu.au. 2016-01-18

Yaqud, A. (2011). *Aplications of sonoelectrochemistryin wastewater treatment system.*(En línea). Melbourne. Págs. Pp 97 – 100.Pakistan.www.Department of Environmental

Sciencescomsats.com/ Institute of Information Technology.2016-01-

ANEXOS

Anexo A:

Ajuste de pH para agua de dilución



Realizado por: GERMÁN VILLACRÉS, 2016

Anexo B:

Colocación de la muestra en el prototipo



Realizado por: GERMÁN VILLACRÉS, 2016

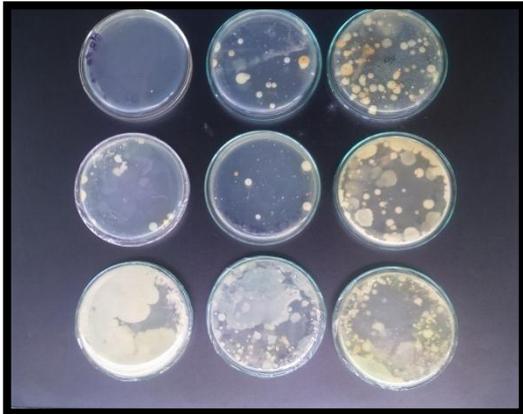
Anexo C:

Proceso de diluciones seriadas y siembra en profundidad



Anexo D:

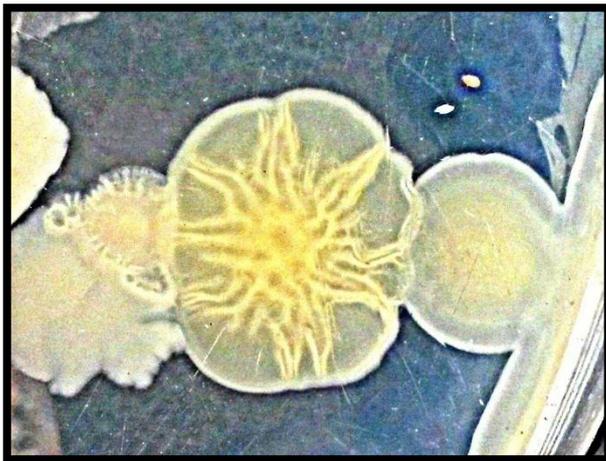
Formación de colonias en cajas petri



Realizado por: GERMÁN VILLACRÉS, 2016

Anexo E

Forma estrellada de bacteria estimulada con ondas sonoras audibles



Realizado por: GERMÁN VILLACRÉS, 2016

Anexo F

Medición de la frecuencia en laboratorio de sonido poliarte ESPOCH



Realizado por: GERMÁN VILLACRÉS, 2016

Anexo G

Preparación de material de vidrio



Realizado por: GERMÁN VILLACRÉS, 2016

Anexo H

Recuento microbiano



Realizado por: GERMÁN VILLACRÉS, 2016

Anexo I

Homogenización de la muestra antes de colocarla en el prototipo



Realizado por: GERMÁN VILLACRÉS, 2016

