



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

**“EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE MICROORGANISMOS
TOLERANTES A TENSIOACTIVOS EN AFLUENTES Y
EFLUENTES DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS
RESIDUALES VILLA LA UNIÓN, CANTÓN COLTA”**

Trabajo de Titulación

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar el grado académico de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTORA:

LILIAN ELIZABETH JUNTAMAY TENEZACA

Riobamba – Ecuador

2021



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

“EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE MICROORGANISMOS TOLERANTES A TENSIOACTIVOS EN AFLUENTES Y EFLUENTES DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES VILLA LA UNIÓN, CANTÓN COLTA”

Trabajo de Titulación

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar el grado académico de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTORA: LILIAN ELIZABETH JUNTAMAY TENEZACA

DIRECTORA: ING. ANA RAFAELA PACURUCU REYES

Riobamba – Ecuador

2021

©2021, Lilian Elizabeth Juntamay Tenezaca.

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

Yo, **Lilian Elizabeth Juntamay Tenezaca**, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autora, asumo la responsabilidad legal y académicas de los contenidos de este trabajo de titulación. El patrimonio intelectual pertenece a las Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

Riobamba, 04 Marzo del 2021



Lilian Elizabeth Juntamay Tenezaca

060487997-3

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que el trabajo de investigación: Tipo Proyecto de Investigación “**EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE MICROORGANISMOS TOLERANTES A TENSIOACTIVOS EN AFLUENTES Y EFLUENTES DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES VILLA LA UNIÓN, CANTÓN COLTA**”, de responsabilidad de la señorita **LILIAN ELIZABETH JUNTAMAY TENEZACA**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Trabajo de Titulación. El mismo que cumple con los requisitos, científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Cristina Gabriela Calderón Tapia PRESIDENTA DEL TRIBUNAL	 Firmado electrónicamente por: CRISTINA GABRIELA CALDERON TAPIA	2021-03-04
Ing. Ana Rafaela Pacurucu Reyes MSc. DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	ANA RAFAELA PACURUC U REYES Firmado digitalmente por ANA RAFAELA PACURUCU REYES Fecha: 2021.03.08 11:03:52 -05'00'	2021-03-04
Dra. Verónica Lucía Caballero Serrano MIEMBRO DEL TRIBUNAL	VERONICA LUCIA CABALLERO SERRANO Firmado digitalmente por VERONICA LUCIA CABALLERO SERRANO Fecha: 2021.03.08 18:54:17 -05'00'	2021-03-04

DEDICATORIA

A mi familia las personas más importantes en mi vida que me han acompañado a lo largo de esta etapa y en diferentes logros anteriores, siempre mostrando su amor y comprensión, contribuyendo principalmente en mi formación como persona. A mis padres que se han esforzado día a día por brindarme una carrera, de manera especial a mi madre que con sus consejos me ha ayudado de manera incondicional, a mi padre por los sacrificios realizados. A mis hermanas y hermano que me han brindado su amor y cariño fraternal. A Dios por cuidar de mí y mi familia, dándonos la vida y salud para estar siempre presentes en cada momento importante.

AGRADECIMIENTO

A Dios por ayudarme cada día mediante su amor, brindándome la sabiduría necesaria para la culminación de este trabajo.

A mi familia que me ha acompañado incondicionalmente, permaneciendo siempre a mi lado y apoyándome en este proceso.

Mi sincero agradecimiento a la Ing. Ana Rafaela Pacurucu Reyes Directora del trabajo de investigación, por la atención y apoyo invaluable a dar la guía y tiempo necesario para el desarrollo de esta investigación.

A la Dra. Verónica Lucía Caballero Serrano por su tiempo, interés y sugerencias durante la revisión del este trabajo

Al Gobierno Autónomo Descentralizado del Cantón Colta por abrirme sus puertas y darme paso al desarrollo de mi trabajo de investigación. A la Ing. Erika Llanga responsable del Laboratorio de Análisis de Agua Potable y Residual por su cordialidad y amistad brindada.

De igual manera quiero agradecer a aquellas personas que de alguna manera me colaboraron Carolina C, Pamela P, Kathy S. y Katty Y. que me apoyaron de forma desinteresada en el desarrollo de mi tesis.

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xii
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
RESUMEN.....	xv
SUMMARY.....	xvi
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO I.....	4
1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....	4
1.1. Antecedentes.....	4
1.2. Marco conceptual.....	5
1.2.1. Agua residual.....	5
1.2.2. Tipos de microorganismos presentes en las aguas residuales.....	5
1.2.2.1. Bacterias.....	5
1.2.2.2. Algas.....	6
1.2.2.3. Protozoos.....	6
1.2.2.4. Hongos.....	6
1.2.2.5. Virus.....	6
1.2.3. Bioprospección.....	6
1.2.3.1. Bioprospección en las aguas residuales.....	7
1.2.4. Detergentes.....	7
1.2.4.1. Contaminación de las aguas a causa de los detergentes.....	8
1.2.5. Tensioactivos.....	8
1.2.5.1. Propiedades de los tensioactivos.....	9
1.2.5.2. Tipos de tensioactivos.....	9
1.2.5.3. Producción mundial de tensioactivos.....	11
1.2.5.4. Efectos de los tensioactivos en el recurso hídrico.....	12
1.2.5.5. Relación entre los tensioactivo y los microorganismos.....	12
1.2.6. Biodegradación de los tensioactivos.....	13
1.2.6.1. Factores que influyen en la biodegradación.....	13
1.2.6.2. Rutas de degradación.....	13

CAPÍTULO II	15
2. MARCO METODOLÓGICO	15
2.1. Diseño Experimental	15
2.1.1. <i>Tipo de investigación</i>	15
2.1.2. <i>Diseño de la investigación</i>	15
2.1.3. <i>Unidad de Análisis</i>	15
2.2. Metodología	15
2.2.1. <i>Lugar de recolección de muestras</i>	15
2.2.2. <i>Recolección de muestras</i>	16
2.2.3. <i>Medición de pH</i>	17
2.2.4. <i>Medición de temperatura</i>	17
2.2.5. <i>Preparación de los medios de cultivo</i>	18
2.2.6. <i>Siembra</i>	18
2.2.7. <i>Conteo de colonias</i>	18
2.2.8. <i>Determinación de UFC</i>	18
2.2.9. <i>Aislamiento</i>	19
2.2.9.1. <i>Selección de las colonias bacterianas</i>	19
2.2.10. <i>Aislamiento por agotamiento</i>	19
2.2.11. <i>Caracterización</i>	19
2.2.11.1. <i>Caracterización macroscópica</i>	19
2.2.11.2. <i>Caracterización microscópica</i>	20
2.2.12. <i>Pruebas Bioquímicas</i>	20
2.2.12.1. <i>Catalasa</i>	20
2.2.12.2. <i>Citrato</i>	20
2.2.12.3. <i>MacConkey</i>	20
2.2.12.4. <i>Oxidasa</i>	21
2.2.12.5. <i>Ureasa</i>	21
2.2.13. <i>Evaluación de tolerancia a tensioactivos</i>	21
CAPÍTULO III	23
3. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	23
3.1. Análisis físico – químico de las muestras	23
3.2. Número de colonias bacterianas	26
3.2.1. <i>Número de colonias bacterianas en el afluente</i>	26
3.2.2. <i>Número de colonias bacterianas en el efluente</i>	27
3.3. Evaluación macroscópica y microscópica	27

3.3.1.	<i>Caracterización macroscópica de los clones bacterianos</i>	27
3.3.2.	<i>Caracterización microscópica de los clones bacterianos</i>	28
3.4.	Evaluación bioquímica de los clones bacterianos	29
3.5.	Pruebas de tolerancia a tensioactivos	31
3.5.1.	<i>Evaluación de la tolerancia de los clones aislados en presencia del Amonio cuaternario</i>	31
3.5.2.	<i>Evaluación de la tolerancia de los clones aislados en presencia de la Dietanolamina (Comperlan)</i>	32
3.5.3.	<i>Evaluación de la tolerancia de los clones aislados en presencia del Lauril sulfato de Sodio (Texapon)</i>	33
3.5.4.	<i>Evaluación de la tolerancia de los clones aislados en presencia del Nonil fenol etoxilato 10 moles</i>	35
3.5.5.	<i>Evaluación comparativa del crecimiento de los clones bacterianos; en los medios suplementados y el medio PCA (sin presión selectiva)</i>	36
3.5.6.	<i>Evaluación de la capacidad de tolerancia de los clones aislados ante los tensioactivos</i>	38
	CONCLUSIONES	41
	RECOMENDACIONES	42
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2: Georreferencia de los puntos de muestreo	17
Tabla 2-2: Morfología macroscópica	19
Tabla 3-2: Preparación de los medios de cultivo	21
Tabla 1-3: Análisis de físico – químico de muestras del afluente la PTAR.....	23
Tabla 2-3: Análisis de físico – químico de muestras del efluente la PTAR.....	23
Tabla 3-3: Número de colonias bacterianas en el afluente	26
Tabla 4-3: Número de colonias bacterianas en el efluente	27
Tabla 5-3: Características morfológicas de los clones aislados	28
Tabla 6-3: Resultados de la Tinción Gram de los clones aislados	29
Tabla 7-3: Evaluación Bioquímica de los clones aislados.....	30
Tabla 8-3: Resultados de los géneros bacterianos encontrados	30
Tabla 9-3: Diámetros máximos obtenidos en los medios suplementados con tensioactivos.....	36
Tabla 10-3: Porcentajes de tolerancia de los clones hacia la presencia de tensioactivos	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Componentes del Detergente.....	8
Figura 2-1: Tipos de tensioactivos	9
Figura 3-1: Crecimiento de los tensioactivos en mercado por región.....	11
Figura 1-2: Diagrama de Flujo de la PTAR Villa La Unión.....	16
Figura 2-2: PTAR Villa La Unión	17

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3: Evolución de temperatura y pH en el afluente en la mañana.....	24
Gráfico 2-3: Evolución de temperatura y pH en el afluente en la tarde	24
Gráfico 3-3: Evolución de temperatura y pH en el afluente en la mañana.....	25
Gráfico 4-3: Evolución de temperatura y pH en el afluente en la tarde	25
Gráfico 5-3: Porcentaje de los resultados de la caracterización microscópica	29
Gráfico 6-3: Efecto del amonio cuaternario y la temperatura de 17°C en el crecimiento bacteriano.....	31
Gráfico 7-3: Efecto del amonio cuaternario y la temperatura de 35°C en el crecimiento bacteriano.....	31
Gráfico 8-3: Efecto de la Dietanolamina y la temperatura de 17°C en el crecimiento bacterian.....	32
Gráfico 9-3: Efecto de la Dietanolamina y la temperatura de 35°C en el crecimiento bacteriano.....	33
Gráfico 10-3: Efecto del Lauril sulfato de Sodio y la temperatura de 17°C en el crecimiento bacteriano.....	34
Gráfico 11-3: Efecto del Lauril Sulfato de Sodio (Texapon) y la temperatura de 35°C en el crecimiento bacteriano	34
Gráfico 12-3: Efecto del nonil fenol y la temperatura de 17°C en el crecimiento bacteriano	35
Gráfico 13-3: Efecto del Nonil Fenol etoxilato 10 moles y la temperatura de 35°C en el crecimiento bacteriano	35
Gráfico 14-3: Diagrama de cajas de la tolerancia de los clones a los tensioactivos.....	38

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

PTAR	Planta de Tratamientos de Agua Residual
PCA	Medio de cultivo Plate Count Agar
SPS	Sin Presión Selectiva
AC	Amonio Cuaternario
DEA	Dietanolamina (Comperlan)
LSS	Lauril Sulfato de Sodio (Texapon)
NF	Nonil Fenol 10 moles
mL	Mililitro
μL	Microlitros

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** Análisis del Agua de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Villa La Unión, Cantón Colta
- ANEXO B:** Evaluación del crecimiento de los clones en el afluente
- ANEXO C:** Evaluación del crecimiento de los clones en el efluente
- ANEXO D:** Evaluación de tolerancia hacia el Amonio cuaternario
- ANEXO E:** Evaluación de tolerancia hacia la Dietanolamina
- ANEXO F:** Evaluación de tolerancia hacia el Lauril Sulfato de Sodio (Texapon)
- ANEXO H:** Recolección de muestras y medición de temperatura y pH
- ANEXO I:** Siembra de las muestras de agua residual
- ANEXO J:** Crecimiento bacteriano y conteo de colonias
- ANEXO K:** Aislamiento de clones bacterianos
- ANEXO L:** Aislamiento por agotamiento de las colonias 1 al 5
- ANEXO M:** Aislamiento por agotamiento de las colonias 6 al 10
- ANEXO N:** Tinción Gram
- ANEXO O:** Pruebas bioquímicas
- ANEXO P:** Evaluación de tolerancia a los tensioactivos

RESUMEN

En la presente investigación se evaluó la presencia de microorganismos tolerantes a tensioactivos en afluentes y efluentes de la planta de tratamiento de aguas residuales Villa La Unión del Cantón Colta. Se recolectaron dos muestras al día durante una semana, a las que se les realizó la medición de pH y temperatura, siendo inoculadas en agar PCA e incubadas a temperatura ambiente y a 35° C. Posteriormente se realizó la selección y purificación de las colonias más representativas de acuerdo a rasgos distintivos, a las que se caracterizó macro y microscópicamente, logrando determinar 6 clones bacterianos Gram negativos y 4 clones Gram positivos. Mediante pruebas bioquímicas, se planteó los posibles géneros, siendo estos: *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Micrococcus spp.*, *Pseudomonas spp.*, y *Acinetobacter spp.* A continuación, los clones fueron sometidos a una evaluación de tolerancia a los tensioactivos, mostrando el amonio cuaternario un marcado efecto tóxico sobre el crecimiento microbiano con una tolerancia del 1,53%; tras la acción del tensioactivo dietanolamina se obtuvo un efecto tolerante del 45,71%; habiéndose aplicado el tensioactivo lauril sulfato de sodio se encontró un 39,28% de resistencia; mientras que, con el tensioactivo nonil fenol de 10 moles se desarrolló una tolerancia del 45.71%. A través de estos resultados los clones bacterianos demostraron ser capaces de sobrevivir a la presencia de los tensioactivos, por lo que se recomienda desarrollar una evaluación a profundidad de los diferentes clones aislados que sean eficientes en la remoción de los tensioactivos como herramienta biotecnológica en la recuperación de medios hídricos contaminados.

Palabras claves: <BIOTECNOLOGÍA> <MICROBIOLOGÍA> <TENSIOACTIVO>
<AGUA RESIDUAL> <TOLERANCIA A TENSIOACTIVOS> <VILLA LA UNIÓN>
<COLTA (CANTÓN)>



Firmado electrónicamente por:
**HOLGER GERMAN
RAMOS UVIDIA**

0781-DBRAI-UPT-2021

2021-03-18

SUMMARY

The purpose of the current research was to evaluate the presence of surfactant-tolerant microorganisms in tributaries and effluents of Villa La Unión sewage treatment plant located in Colta County. Two samples a day were collected during a week, in which pH and temperature were measured for their further inoculation in agar PCA, these were incubated at room temperature and 35° C. Then, the selection and purification of the most representative colonies according to distinctive characteristics were carried out, they were characterized in a macro and microscopic way so that, it was possible to determine 6 Gram negative bacterial clones and 4 Gram positive clones. By means of biochemical tests the possible genders were considered, they were: *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Micrococcus spp.*, *Pseudomonas spp.*, and *Acinetobacter spp.* In addition, the clones were put under surfactant-tolerance evaluation in which quaternary ammonium reflected a clear toxic effect on microbial growth with a tolerance of 1.53%; after the action of diethanolamine surfactant, a tolerant effect of 45.71% was obtained and with the use of sodium lauryl sulfate surfactant, a resistance of 39.28% was found; while, with the nonyl phenol 10 mole surfactant, a tolerance of 45.71% was developed. Through these results, the bacterial clones were able to survive in presence of surfactants, so it is recommended to develop an in-depth evaluation of the different isolated clones, which are effective in the removal of surfactants as a biotechnological tool in the recovery of contaminated water environments.

Keywords: <BIOTECHNOLOGY> <MICROBIOLOGY> <TENSIOACTIVE> <SEWAGE>
<COLTA (COUNTY)>

INTRODUCCIÓN

El uso diario de detergentes en diferentes actividades antropogénicas ha contribuido con el aumento de la contaminación en fuentes hídricas, teniendo como componente principal el uso de "tensioactivos" que no permiten que las partículas de grasa o mugre se adhieran a las superficies, además, imposibilitan la solubilidad del oxígeno en el agua siendo necesaria para los organismos que habitan en ella, sufriendo importantes afectaciones en sus sistemas orgánicos (Sanz 2010). La demanda actual de tensioactivos está cubierta por menos de diez tipos de tensioactivos que ocupan las principales posiciones en el mercado (Altmajer Vaz et al. 2006). Varios países han prohibido el uso de detergentes compuestos por fosfatos debido a su efecto destructor, estos productos después de ser usados van directo a las aguas residuales terminando en ríos y lagos siendo difíciles de remover y representando un peligro. Las algas que por medio del proceso de fotosíntesis liberan el oxígeno requerido por otros seres vivos, no obstante, las alteraciones producidas por los detergentes llevan a la desaparición progresiva de éstas y a la proliferación de las bacterias que se alimentan de la basura y el oxígeno, provocando la desaparición de la diversidad biológica. (1)

La biodegradación es una descomposición orgánica, que permite la eliminación o reducción de contaminantes, siendo necesario para el reciclaje de los elementos en la biosfera (2). Los microorganismos son los principales encargados de llevar este proceso, convirtiendo sustancias complejas en sustancias simples, desarrollando nuevas rutas catabólicas para la degradación de contaminantes convirtiéndose en portadores de carbono, energía y diferentes nutrientes para su proliferación. (Arbeli, 2009, pp. 58)

El aislamiento de los microorganismos tolerantes a sustancias contaminantes contribuye una investigación importante para determinar propiedades y características particulares, presentando un gran potencial para la degradación del compuesto contaminante, mediante mecanismos enzimáticos capaces de romper enlaces moleculares de forma amigable con el ambiente (García 2016). Los bioensayos ecotoxicológicos se han convertido en un instrumento fundamental en la evaluación de los efectos y mecanismos de una sustancia química en un organismo biológico (Iannacone, Salazar y Alvarino 2016). Los microorganismos son los más usados en estas pruebas toxicológicas por su tamaño y la capacidad de replicarse en un tiempo corto, además que no se requiere de grandes instalaciones para su alojamiento siendo accesible para el investigador.

El agua residual aloja una gran diversidad microbiológica que varía de acuerdo a la composición y concentración del contaminante, donde su actividad se verá limitada por la temperatura y el pH pues estos parámetros son importantes para el crecimiento de los mismos. Los principales microorganismos que se encuentran son las bacterias, virus, algas, protozoos y hongos, entre los

que destacan: *Escherichia*, *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Nocardia*, *Anabaena*, *Spyrogira*, *Euglena*, *Enteromorpha*, *Cladophora*, *Chlorella*, *Anacystis*, entre otros microorganismos causantes de diversas enfermedades siendo potenciales de riesgo para la salud y afectando las actividades agropecuarias.(CIDTA, 2018, pp. 2)

La planta de tratamiento de agua residual es el lugar idóneo para el aislamiento de microorganismos tolerantes, principalmente a tensioactivos debido a estar en contacto con el medio hídrico, desarrollando una adaptación a la presencia del compuesto contaminante, considerándose un estudio de interés para aplicaciones biotecnológicas en la recuperación de ambientes contaminados.

El GAD Municipal de Colta dota de los servicios básicos como el sistema de alcantarillado a la población de la cabecera municipal. La red de drenaje fue ampliada con el fin de incrementar la cobertura de este servicio, ya que a lo largo de los años la población ha crecido junto con las actividades antropogénicas, reflejándose una elevada concentración de sustancias contaminantes, provocando alteraciones ambientales y el aumento de recursos económicos para su tratamiento. (Gobierno Municipal de Colta, 2019). En el año 2017, el GAD Municipal construyó la planta de tratamiento de aguas residuales “Villa La Unión” implementando nuevos parámetros de evaluación físicos, químicos y microbiológicos para el cumplimiento de los límites de descarga a un cuerpo de agua dulce en base al Acuerdo Ministerial N° 097-A, Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes al recurso agua, TULSMA, Libro VI, Anexo 1, Tabla 9 (MAE 2015, pp. 24).

La presente investigación se enfoca en la búsqueda de microorganismos capaces de recuperar un ambiente contaminado por tensioactivos, evaluando los efectos tóxicos sobre los microorganismos, los mismos que serán obtenidos a partir de muestras de agua de la PTAR del Cantón Colta para implementar en un futuro tratamientos biológicos, que permitan cumplir con el límite permisible del parámetro tensioactivo de acuerdo a la normativa ambiental vigente (Acuerdo Ministerial N°097-A), además de contribuir con el desarrollo de nuevas alternativas biológicas para el manejo y saneamiento del recurso hídrico de manera sustentable.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Evaluar la presencia de microorganismos tolerantes a tensioactivos en afluentes y efluentes de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Villa La Unión, Cantón Colta

Objetivos Específicos

- Determinar las características físicas y químicas (temperatura y pH) del agua residual de entrada y salida de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales del Cantón Colta.
- Aislar la flora bacteriana presente en muestras de agua de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Villa La Unión.
- Determinar la capacidad de crecimiento de los clones aislados en presencia de tensioactivos a diferentes concentraciones

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Antecedentes

Según el programa hidrológico de la UNESCO, en el año 2025 una gran parte de la población deberá conformarse con bajas reservas de agua (UNESCO, 2015). El aumento demográfico, la expansión industrial y agropecuaria, junto con el mejoramiento de la calidad de vida del hombre, han hecho que el agua se convierta en un recurso frágil (Yves 2015, pp. 1,5). Incorporándose soluciones la reutilización de este recurso mediante una serie de procesos como son las plantas de tratamientos de agua residual que cumplen con el objetivo de eliminar los elementos contaminantes de una fuente hídrica.

Diferentes elementos extraños ingresan a los ambientes hídricos, debido a aportes pluviales o mediante vertidos directos al sistema de alcantarillado (3). Los ecosistemas acuáticos cercanos a las zonas urbanas sufren un deterioro en sus propiedades y calidad, siendo los detergentes entre los vertidos líquidos domésticos elementos de interés de evaluación por sus efectos contaminantes (Castiglioni y Collins 2010, pp. 43-53).

Los detergentes están conformados por diferentes componentes químicos dentro de ellos tenemos a los tensioactivos, constituyendo por volumen, uno de los principales compuestos xenobióticos presentes en las aguas residuales urbanas. La producción anual mundial alcanza los 12,5 millones de toneladas, con un incremento anual estimado de 500.000 toneladas. (Edser 2006, pp. 1-8)

Se han desarrollado algunas investigaciones relacionadas con la contaminación de agua por la presencia de tensioactivos, como la realizada en España que presentaron los aspectos relacionados con la biodegradabilidad y toxicidad de los tensioactivos, y los efectos del uso del ozono para la eliminación del elemento contaminante. (Ríos Ruiz, 2014, pp. 17). En la Provincia de Cádiz con la evaluación de la biodegradabilidad y ecotoxicidad de 5 especies de microalgas en el medio acuático frente a los tensioactivos (Lores y Ángel 2008, pp. 17-19). Sun y otros (2014) usaron el alga verde *Chlorella vulgaris* en la bioconcentración y degradación de tensioactivos no iónicos mostrando eficiencia en la eliminación del contaminante. Herrera (2017) realizó un estudio comparativo de la biodegradación de los tensioactivos aniónicos, no iónicos y anfóteros siendo influidos por la concentración y el tiempo. En Ecuador se ha reportado estudios para la remoción de detergentes en aguas residuales textiles con el uso de cuatro cultivos y un consorcio de hongos

aislados a nivel de laboratorio (Yépez Guerrero, 2011, pp. 15), y la evaluación de microorganismos capaces de crecer en presencia de tensoactivos aislados a partir de muestras de agua en los efluentes de una PTAR realizado por Pérez (2019).

El empleo de microorganismos, fundamentalmente bacterias para la depuración de las aguas residuales se ha convertido en uno de los tratamientos adecuados para la descontaminación de las mismas. El agua contaminada constituye el sustrato de microorganismos, manteniendo las condiciones óptimas para el desarrollo de la biocenosis (Arnáiz, Isac y Lebrato 2000, pp. 1-7). A través del uso de microorganismos capaces de adaptarse a ambientes extremos y de sus mecanismos enzimáticos se hace posible la recuperación de sistemas hídricos constituyendo una estrategia potencial para la degradación de compuestos tóxicos. (Oliart, Manresa y Sánchez 2016, pp. 1-12)

1.2. Marco conceptual

1.2.1. Agua residual

Son aguas que presentan alteraciones en su calidad, afectada directamente por las actividades antropogénicas, agua desechada por entornos domésticos, urbanos y naturales, conformado por elementos contaminantes ya sean sólidos o disueltos, cuya composición y concentración es variable. El reciclaje de esta agua es de gran importancia tal que requiere sistemas de tratamientos para su incorporación a una fuente hídrica. (Gil et al. 2012, pp. 52-53)

1.2.2. Tipos de microorganismos presentes en las aguas residuales

1.2.2.1. Bacterias

Organismos microscópicos procarióticos que actúan en el proceso de biodegradación y estabilización de la materia orgánica, en las aguas residuales brutas predominan especies pertenecientes a grupos como: *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Nocardia*, *Flavobacterium*, *Spirochaeta sp* esta última habita en medios donde abunda la materia orgánica disuelta.

Las bacterias coliformes son indicadores de contaminación de vertidos antropogénicos, cada persona elimina diariamente de 100.000 - 400.000 millones de coliformes a través de las heces, (Marín 2014, pp. 75-76), además de diferentes tipos de bacterias entre estos los *Micrococcus* encontrándose en ambientes hídricos o el género *Gallionella* caracterizado por crecer en lugares donde existen mezclas de aguas aerobias y anaerobias (Torres 2012, pp. 21)

1.2.2.2. Algas

Organismos eucariotas que intervienen en la estabilización de la materia orgánica utilizándola como fuente de carbono. Su crecimiento es favorecido por la presencia de nitrógeno y fósforo en distintas formas. Su excesiva presencia provoca recubrimiento por colonias flotantes y dando lugar a procesos de eutrofización. Estos fenómenos de eutrofización son producidos por algas de géneros como: *Anabaena*, *Spyrogira*, *Euglena*, *Enteromorpha*, *Cladophora*, *Chlorella*, *Anacystis*, *Chaetophora elegans*, Cyanophyceae.

1.2.2.3. Protozoos

Microorganismos eucariotas de una sola célula. Los más comunes en estas aguas son: amebas, flagelados, y ciliados libres, fijos y reptantes. Son importantes en los tratamientos biológicos, especialmente en los filtros percoladores y fangos activados. Capaces de mantener el equilibrio natural entre microorganismos, eliminan bacterias en suspensión, evitando el proceso de turbidez. El *Paramecium caudatum*, protozoo ciliado alimentada por bacterias y vive en aguas con elevada carga nutritiva. (CIDTA 2018, pp. 2-9)

1.2.2.4. Hongos

Los hongos son organismos eucariotas, unicelulares y multicelulares, aerobios y no fotosintéticos. Muchos de ellos son saprófitos, se alimentan de materia orgánica muerta. Junto con las bacterias, los hongos son los principales responsables de la descomposición del carbono en la biósfera. Crecen en condiciones de poca humedad, pH bajo y en concentraciones de nitrógeno bajo.

1.2.2.5. Virus

Los virus son partículas parásitas de células presentes en las aguas residuales debido a la excreción por parte de individuos infectados, ya sean humanos o animales. Capaces de adsorber sólidos fecales y otras materias, resistentes a algunos tratamientos del agua residual, constituyendo un peligro para las aguas receptoras (CIDTA 2018, pp. 10-13). Entre los virus de origen hídrico tenemos al *Rotavirus* y el *Adenovirus* causantes de infecciones al humano, transmitidos mediante el contacto directo, la transmisión fecal-oral, y ocasionalmente mediante transmisión por agua. (Torres 2012, pp. 19-20)

1.2.3. Bioprospección

La bioprospección es la búsqueda sistemática de nuevas fuentes de compuestos químicos, genes, proteínas y otros productos que poseen un valor económico actual o potencial, encontrándose en componentes de la diversidad biológica. Práctica antigua pero que en la actualidad ha aumentado su desarrollo, gracias a los avances tecnológicos que se han permitido descifrar gran parte de la

fisiología de los seres vivos, con el fin de explorar la potencialidad de las llamadas sustancias bioactivas y la opción de encontrar en ellas la solución a importantes problemas. (Torres, 2011, pp. 1)

1.2.3.1. Bioprospección en las aguas residuales

La bioprospección es una herramienta valiosa para la elucidación del consorcio microbiano que participa en la degradación de contaminantes, los microorganismos utilizados en el tratamiento de estos contaminantes pueden ser los ya existentes (autóctonos) en el sitio contaminado o pueden provenir de otros ecosistemas, en cuyo caso deben ser agregados o inoculados, las enzimas empleadas en este proceso por lo general son las enzimas peroxidasas que se utilizan para iniciar la degradación de fenoles y aminas aromáticas presentes en aguas residuales de muchas industrias (Pérez, Petro y Verona 2015)

La implementación de enzimas peroxidasas en los procesos biológicos del tratamiento de las aguas residuales generalmente no puede eliminar los tensioactivos cuando están presentes en grandes cantidades en el efluente, para mejorar la degradación de estos productos contaminantes se deben desarrollar enfoques biotecnológicos y técnicas de bioaumentación, agregando a estos procesos el uso de microorganismos como soluciones eficientes en la limpieza biológica. (4).

La aplicación de la bioprospección como instrumento para la degradación de contaminantes ha contribuido al restablecimiento de medios contaminantes de una forma amigable con el ambiente que va aumentando cada día.

1.2.4. Detergentes

Son sustancias formadas por uno o varios tensioactivos y otros componentes que contribuyen a la acción de los primeros, como aditivos, coadyuvantes y auxiliares para mejorar su presencia, con la capacidad de deshacer o separar la suciedad que está en la superficie de un objeto sin dañarlo. Pueden ser usados para actividades domésticas de limpieza, produciendo un efecto limpiador y protector eficiente en la superficie, provocando una serie de beneficios en la prenda como es el color, olor y tacto. (Altmajer Vaz et al. 2006, pp. 22)

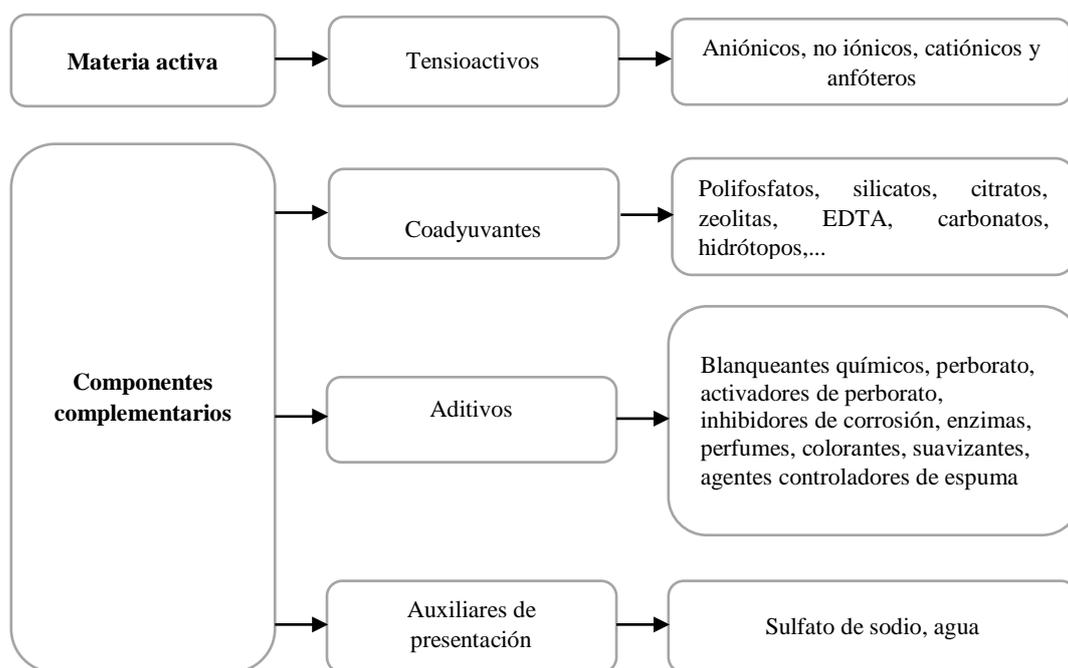


Figura 1-1: Componentes del Detergente

Fuente: (Domínguez Juan, 1986, pp. 166)

Elaborado por: Juntamay Lilian, 2020

1.2.4.1. Contaminación de las aguas a causa de los detergentes

La mayoría de los detergentes contienen sosa, la cual mata los microorganismos que viven en el agua, constituyendo una fuente contaminante importante, debido a sus compuestos químicos perjudiciales y su degradación lenta, acumulándose en los cuerpos de agua y formando capas de espuma que afectan el proceso de autopurificación. Los problemas antes mencionados provocaron que la industria de los detergentes altere químicamente la estructura molecular de los tensioactivos y haciéndolos más vulnerables a la degradación biológica, que en otras perspectivas han resultado efectos perjudiciales (Moukalled, 2015).

1.2.5. Tensioactivos

Denominados también surfactantes o tensoactivos, son sustancias que modifican la tensión superficial disminuyendo la fuerza de adhesión de las partículas en la superficie, empleados en una amplia gama de actividades humanas. Compuesto de una parte hidrofóbica formada por cadenas alquílicas, y otra hidrofílica constituida por un grupo polar (iónico o no). A medida que aumenta la concentración de tensioactivo, las moléculas tienden a colocarse en forma de monocapa superficial con la cabeza polar hacia el agua y la cadena hidrofóbica orientada hacia el aire (Ana Gil Muño, 2014, pp. 17)

1.2.5.1. Propiedades de los tensioactivos

Poder mojante: Las moléculas del tensioactivo se disponen con la parte lipófila hacia el sólido, y la parte hidrófila hacia el agua, de esta forma disminuye la tensión en la interfase y el agua penetra en el sólido.

Poder emulgente y dispersante: Como emulgente estabiliza dispersiones entre dos líquidos inmiscibles entre sí y como dispersante estabiliza cualquier dispersión sólidos en líquidos.

Poder espumante: Capacidad presente al penetrar aire en el interior del líquido. Formada por una burbuja de aire, rodeada de tensioactivo, con la parte lipófila en contacto con el aire y la parte hidrófila dirigida hacia el agua.

Poder detergente: Capacidad para eliminar suciedad, arrancándola de la superficie. Acción debida a que la composición química del tensioactivo rompiendo la capa de grasa, formando gotas microscópicas que son estabilizadas dentro de las micelas de las moléculas de tensioactivo (Solé 2014, pp. 144-145)

1.2.5.2. Tipos de tensioactivos

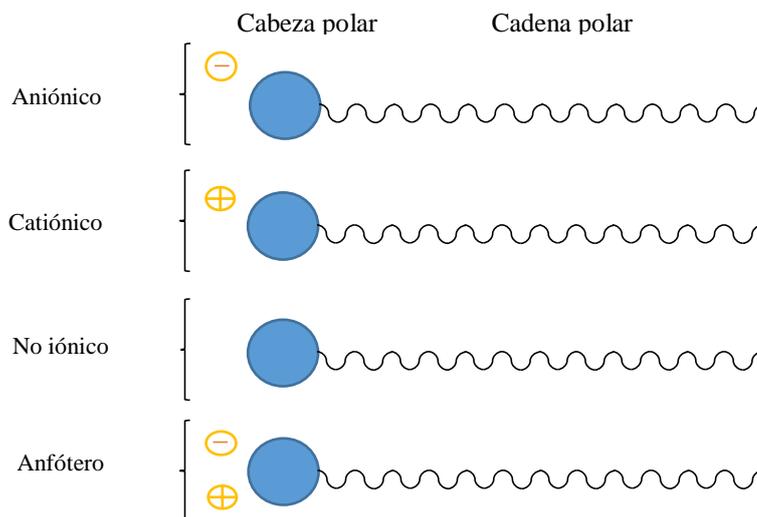


Figura 2-1: Tipos de tensioactivos

Fuente: (Solé 2014)

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

Tensioactivos aniónicos: Su grupo hidrófobo queda cargado negativamente, su extremo polar de la molécula se encuentra un anión. Representantes de este grupo son derivados del ion sulfato o de sulfonatos (Sanz Tejedor, 2010)

Lauril sulfato de Sodio (Texapon): Tensioactivo aniónico altamente concentrado derivado de alcoholes grasos naturales. Uno de los mejores espumantes más conocidos, no tiene agentes de

conservación de consistencia pastosa. (Herrero 2016). Usado en la fabricación de lavavajillas líquido y productos de limpieza técnicos. El producto también es adecuado como un agente surfactante básico para preparados de limpieza cosméticos tales como champús, geles de ducha y baños de espuma.(BASF 2019). Con propiedades humectantes y emulsionantes así como su gran compatibilidad con la piel y gran persistencia a causa de su débil olor propio y de fácil de coloración. La adición de cloruro sódico aumenta la viscosidad de las soluciones de Texapon (ACOFARMA 2018)

Tensioactivos catiónicos: Poseen una cabeza polar con carga positiva, pueden ser sales de amonio cuaternario, normalmente cloruros o bromuros, poseen un poder bactericida importante.(Solé, 2014, pp. 146-147)

Amonio cuaternario: Tensioactivo catiónico compuesta por un átomo de nitrógeno unido a cuatro cadenas alquílicas (parte funcional de la molécula) y un átomo halógeno (generalmente cloro). Destacado por sus propiedades biocidas, con un amplio espectro bactericida, fungicida y virucida. Con un alto poder residual permaneciendo activo después de la aplicación conservando sus propiedades por un largo periodo de tiempo. Incompatible con tensioactivos aniónicos dificultando su formulación en conjunto. (PROQUIMIA 2020)

Tensioactivos no iónicos: La parte hidrofilia no tiene carga, compatibles con tensioactivos aniónicos y catiónicos, La solubilidad en agua de estos compuestos se debe a la capacidad de los átomos de oxígeno y del grupo oxhidrilo para formar puentes de hidrógeno con el agua, biodegradables y de propiedades humectantes.(Gil 2014, pp. 19)

Dietanolamina (Comperlan): Tensioactivo no iónico, estabilizante de espuma y químicamente estable. Formado por una amina secundaria y un dialcohol, con un alto poder solubilizante, al combinarse con otros tensoactivos de tipo no-iónico, como alcoholes grasos, permite obtener un aspecto de alta viscosidad y completamente transparentes y brillantes.(CONQUIMICA 2020). La dietanolamina utiliza en la formulación de jabones en detergentes líquidos para lavar la ropa y platos, cosméticos, champús y acondicionadores para el cabello. En la producción de lubricantes de la industria textil, en la purificación de gases industriales y en la elaboración de productos químicos agrícolas. (IARC 2013)

Nonil Fenol Etoxilato 10 moles: Tensioactivo no iónico, compuesto orgánico perteneciente a la familia de los alquilfenoles, formada por un fenol unido a una cadena hidrocarbonada de nueve átomos de carbono, dispersante, solubilizante y de alta hidrofobicidad (EPA 2010, pp. 1-2); su parte hidrofóbica la provee el nonil fenol etoxilato, mientras que la parte hidrofílica la provee el óxido de etileno usado, usado en la fabricación de productos de limpieza y en procedimientos

industriales (MAQUIMEX 2012), persistente en el medio ambiente acuático, moderadamente bioacumulable y extremadamente tóxico para los organismos acuáticos. (Soares et al. 2008)

Tensioactivos anfóteros: Actúan dependiendo del medio en que se encuentren, en medio básico son aniónicos y en medio ácido son catiónicos. (Ospina 2012, pp. 5)

1.2.5.3. Producción mundial de tensioactivos

El mercado global de tensioactivos representó \$ 43,655 millones en 2017, y se proyecta que alcance \$ 66,408 millones para el 2025, registrando un crecimiento del 5.4% en el periodo 2018 a 2025. El desarrollo en las industrias en el mercado se debe a los bajos precios y la fácil disponibilidad debido a procesos tecnológicos avanzados y la viabilidad comercial, factores que impulsan el crecimiento del mercado de tensioactivos. El mercado global de tensioactivos está segmentado en función de varios parámetros, como el tipo, la aplicación y la región. (Laxman Shasttri & Onkar Sumant 2018)

Según la región, se analiza en América del Norte, Europa, Asia-Pacífico y América Latina obteniendo diferentes niveles de usos de los tensioactivos, como se muestra en la Figura 3-1.



Figura 3-1: Crecimiento de los tensioactivos en mercado por región

Fuente: (Mordor Intelligence 2018)

Se espera un crecimiento en Asia-Pacífico significativo debido al aumento de los ingresos de los hogares combinado con una gran población en la región, particularmente en economías emergentes como China e India. Además el aumento de las plantas petroquímicas en países como China, India, Japón y Corea del Sur contribuye aún más al crecimiento del mercado de tensioactivos, ya que crea una fácil disponibilidad de materias primas. (Laxman Shasttri & Onkar Sumant 2018)

A pesar de las consecuencias que producen en el ambiente por el uso de estos químicos no ha reducido su venta pues hay un incremento en la demanda, importación y exportación, pues estos productos químicos de superficie activa se encuentran en casi todos los hogares y se usa en numerosas aplicaciones industriales. (Stark 2017)

1.2.5.4. Efectos de los tensioactivos en el recurso hídrico

Los tensioactivos traen consigo efectos e impactos ambientales ya que se depositan en las depuradoras que son arrastrados por las aguas residuales. Entre los efectos más representativos se encuentran la facilidad de transporte de agentes patógenos mediante la formación de espumas debido a la presencia de sales de calcio y proteínas en el medio. Otro de los efectos que ocasionan es la alteración en la transferencia y la disolución del oxígeno produciendo un bajo rendimiento en los procesos de tratamiento de sedimentación, floculación, coagulación y biológico. (Botanical 2019). La permeabilidad de los suelos también se ve afectada permitiendo la libre penetración de los microorganismos a las aguas subterráneas. Los detergentes generan efectos tóxicos, mutagénicos y cancerígenos en microorganismos y organismos superiores. En el agua provoca un incrementando el pH y nutrientes, además de la presencia de malos olores a partir de la presencia de compuestos contaminantes (Brand 2019, pp. 8-9)

1.2.5.5. Relación entre los tensioactivo y los microorganismos

Debido al alto consumo de agentes tensioactivos y al efecto del tratamiento inadecuado de los tensioactivos, hay una necesidad de desarrollar tecnologías para el tratamiento de este contaminante, que a mayores concentraciones y un tiempo de exposición largo tienen un efecto tóxico sobre las bacterias, inhibiendo o disminuyendo la actividad microbiológica la cual es una herramienta valiosa para la aclaración del consorcio microbiano que participa en la degradación. (Jiménez, Medina y Gracida 2010)

Su mecanismo de acción se da en una adsorción y penetración en la pared celular, provocando una reacción en la membrana citoplasmática, fuga de material intracelular, la degradación de proteínas y ácidos nucleicos; y finalmente lisis de la pared celular, su actividad hidrofóbica también los hace efectivos contra los virus que contienen lípidos. (Gerba 2015, pp. 464)

Durante la biodegradación, los microorganismos pueden utilizar tensioactivos como sustratos de energía y nutrientes o co-metabolizar los agentes tensioactivos. La tasa de biodegradación del surfactante depende de factores químicos y ambientales tales como la temperatura, el pH, la aireación, la concentración y la presencia de otras fuentes. (Karray et al. 2016)

1.2.6. Biodegradación de los tensioactivos

La biodegradación con respecto a los tensioactivos se define de la siguiente manera:

- La biodegradación primaria significa una transformación cambio estructural de un tensioactivo por microorganismos que resulta en la pérdida de sus propiedades de superficie activa debido a la degradación de la sustancia original y la consiguiente pérdida de la propiedad de superficie activa. (Wu et al. 2019)
- La biodegradación definitiva se da cuando el microorganismo utiliza totalmente el surfactante, obteniendo como resultado dióxido de carbono, agua y sales minerales de cualquier otro elemento presente (mineralización) y nuevos componentes celulares microbianos (biomasa).
- La biodegradabilidad aeróbica después de una serie de pruebas de detección específica para la biodegradabilidad final, se desarrollan pruebas estrictas que a dichos compuestos se biodegradan rápida y completamente en el medio ambiente acuático en condiciones aeróbicas. (Merrettig y Jelen 2009)

1.2.6.1. Factores que influyen en la biodegradación

La biodegradación depende de por varios factores, entre estos el número de microorganismos capaces de metabolizar el compuesto, factores de crecimiento como temperatura, pH, nutrientes, contenido de agua y la biodisponibilidad del sustrato.

En las pruebas y en los procesos de biodegradación, la reacción puede iniciarse con un suministro inicial de microorganismos que se adaptan a condiciones especiales o al compuesto utilizado como fuente de sustrato para una biodegradación óptima. (Merrettig y Jelen 2009)

1.2.6.2. Rutas de degradación

Las moléculas de tensioactivos tienen lugar a procesos de hidrólisis o desulfonación, con lo que se originan productos que sufren uno o varios mecanismos como:

- ***La β -oxidación:*** Acorta la cadena hidrocarbonada en dos unidades, con liberación de un radical de acetato y la producción de una molécula original en CO₂, agua y biomasa. En un sistema aeróbico, el hidrógeno termina por desprenderse en forma de agua y, en un sistema anaerobio, en forma de metano o de ácido sulfhídrico. (Wu et al. 2019, pp. 5)
- ***Oxidación metílica:*** Degrada las moléculas de hidrocarburos con alto peso molecular originando una molécula de ácido graso.

- Oxidación aromática: Producción de un compuesto del tipo del ácido-cetoadípico, sometido posteriormente al mecanismo de β -oxidación hasta su total biodegradación, generando grupos acetato y succinato. (Manuela María Lechuga Villena, 2005, pp. 90)

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Diseño Experimental

2.1.1. Tipo de investigación

El tipo de investigación fue experimental – exploratoria; ya que representa un estudio poco explorado en el país, La finalidad de esta investigación es recabar información y determinar el grado de tolerancia de los microorganismos a diversas concentraciones de tensioactivos, como alternativa ambiental en la recuperación de medios hídricos contaminados.

2.1.2. Diseño de la investigación

Para el presente estudio se utilizó el método de investigación mixta, la misma que implica la recolección y análisis de datos cuantitativos y cualitativos (Hernández y Mendoza 2018, pp. 612). Se manipularon las variables temperatura y las diferentes concentraciones de tensioactivos, observando la capacidad de respuesta de los clones bacterianos, resultados que permitieron alcanzar una conclusión objetiva de la investigación.

2.1.3. Unidad de Análisis

Muestras de aguas recolectadas dos veces al día al transcurso de una semana en dos puntos (afluente y efluente), pertenecientes a la planta de tratamiento de aguas residuales Villa La Unión, Cantón Colta.

2.2. Metodología

2.2.1. Lugar de recolección de muestras

Las muestras de agua residual fueron tomadas en la planta de tratamiento de aguas residuales Villa La Unión, ubicada en la parroquia Cajabamba a un kilómetro de las instalaciones del Gobierno Autónomo Descentralizado del Cantón Colta. La PTAR Villa la Unión consta de rejillas que retienen el material suspendido que trae consigo el afluente, evitando la obstrucción de las tuberías y proteger los equipos. El canal parshall mide el fluido que entra en el equipo, los filtros

percoladores se basan en la interacción de las bacterias formadas en su interior y las sustancias contenidas en el agua a tratar. (5). Los tanques de sedimentación usados para separar la fracción líquida y sólida de los lodos, formada por dos procesos la coagulación y la floculación. (6); En la etapa de desinfección se esteriliza el agua a través de los humificadores, los que llevan ozono (O3) en forma de gas, eliminando cualquier agente patógeno. En el lecho de secado el agua es filtrada por la gravedad pasando por arena y grava, siendo esta recogida para ser conducida a las lagunas de oxidación donde comienza a sedimentar más sólidos y partículas, finalmente el agua tratada es descargada hacia el río Sicalpa. (GAD Municipal del Cantón Colta, 2020).

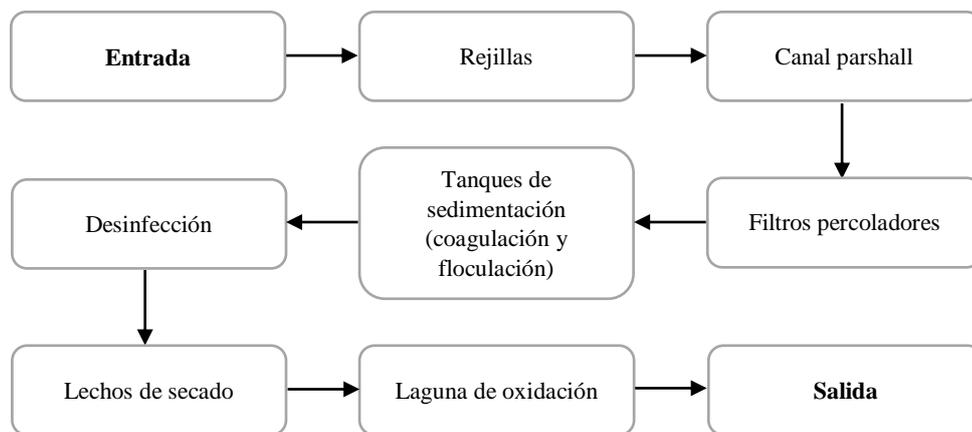


Figura 1-2: Diagrama de Flujo de la PTAR Villa La Unión

Fuente: (GAD Municipal del Cantón Colta, 2020)

Elaborado por: Juntamay Lilian, 2020

2.2.2. *Recolección de muestras*

Para la recolección de muestras se utilizaron frascos de vidrios con tapa, limpios y estériles de 300 mL, cada frasco fue enjuagado tres veces con el agua residual antes de tomar la muestra final, (NTE INEN 2176, 2013). Se tomaron dos muestras por día, la primera en la mañana a las 9 horas y en la tarde a las 14 horas debido a que se desarrollan diferentes actividades (doméstica, comercial e industrial) en estos horarios, los mismos que provocan que la composición del agua residual sufra diferentes cambios haciendo que las muestras individuales no sean homogéneas. Por lo que fue necesario conformar una muestra compuesta pues permite conocer un promedio de composición y minimizar la variabilidad de las muestras individuales (Reutelshöfer y Guzmán 2015). Este proceso se repitió durante una semana en el afluente y efluente, las muestras recolectadas fueron transportadas al laboratorio de análisis de agua potable y agua residual del GAD Municipal de Cantón Colta.

Las muestras fueron tomadas del afluente y el efluente, como se puede observar en la Tabla 1-2:

Tabla 1-2: Georreferencia de los puntos de muestreo

Punto	Sitio de muestreo	Coordenadas UTM
1	Afluente	747746, 9812389
2	Efluente	747755, 9812519

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020



Figura 2-2: PTAR Villa La Unión

Fuente: Google Earth, 2020

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

2.2.3. Medición de pH

En un vaso de precipitación se depositó una cantidad de muestra, y se procedió a introducir el electrodo del potenciómetro para la lectura del pH, se esperó hasta que la lectura se estabilice para el registro de la medida.

2.2.4. Medición de temperatura

Al obtener la lectura del potenciómetro del parámetro pH también se registró el valor de la temperatura, ya que el mismo dispositivo posee un sensor de temperatura, facilitando de una forma más rápida y exacta la medición de este parámetro.

2.2.5. Preparación de los medios de cultivo

Para la presente investigación se usó el agar PCA (Standard Methods Agar), este es un medio no selectivo de crecimiento microbiológico, con formulación especificada para muestras procedentes de aguas y aguas residuales. En el medio existen los nutrientes necesarios para el crecimiento de una vasta variedad de microorganismos (Soria 2009, pp. 1-2). El medio fue preparado de acuerdo a las indicaciones del fabricante y a las necesidades de la investigación, para su preparación se procedió a pesar 23,5 gramos en una balanza, para ser incorporada a un litro de agua destilada, posteriormente la esterilización del medio se realizó en un frasco de vidrio termo resistente de 500 ml con tapa hermética.

2.2.6. Siembra

La siembra de las muestras de agua residual se realizó mediante diluciones seriadas (base 10), en el afluente por su alta carga microbiana se procedió a sembrar las diluciones óptimas 10^{-4} y 10^{-3} ; y en el efluente debido a tratamientos previos la carga microbiana disminuye por lo que se sembró la disolución óptima de 10^{-2} , pues a mayores disoluciones no hay presencia de crecimiento mayor a 30 colonias, se usó un volumen de 100 μ L por triplicado. A continuación, se tomó la espátula de vidrio Drigalski estéril para una distribución uniforme del volumen en toda la superficie de la placa y se incubaron a dos temperaturas, a 17°C valor de la temperatura ambiente del lugar de estudio y a 35°C para comprobar la presencia de microorganismos desarrollados a altas temperaturas.

2.2.7. Conteo de colonias

Se utilizó un contador de colonias donde, se ubicó la caja Petri sobre la superficie de apoyo iluminado del dispositivo, con la ayuda de un marcador se cuantificó las colonias en la cubierta de la placa Petri. Los datos obtenidos de la lectura realizada se anotaron para estimar las unidades formadoras de colonias (UFC).

2.2.8. Determinación de UFC

Para la estimación de UFC se tomó en cuenta únicamente aquellas cajas Petri que tuvieron entre 30 a 300 colonias. Se contaron todas las colonias de las placas, debido a que fueron sembradas por triplicado se realizó un promedio, el cual fue multiplicado por el inverso de la dilución y por la cantidad de muestra sembrada, obteniéndose la cantidad de UFC. (NTE INEN 1205 2013, pp. 5)

2.2.9. Aislamiento

Para el aislamiento microbiano, se seleccionaron las colonias morfológicamente diferentes, con el uso de palillos estériles se tomó una porción de la colonia a aislar, realizando un total de 3 repiques a nuevas placas, luego se incubaron durante 24 horas a 17°C y a 35°C,

2.2.9.1. Selección de las colonias bacterianas

Tras el último repique se procedió a seleccionar las colonias más repetitivas y representativas que demostraron ser diferentes debido a sus características morfológicas, identificándolas con un número único a las colonias.

2.2.10. Aislamiento por agotamiento

En el aislamiento por agotamiento se usó una asa bacteriológica de platino, la que se flameó para que se encuentre en condiciones estériles, antes y después de cada colonia aislada, se dejó enfriar el asa para posteriormente tomar una colonia que se sembró en forma de estrías al acabar en un extremo este será llevado de forma perpendicular hasta obtener tres lados con estrías, la última estría será en el centro de las anteriores (Luna 2012, pp. 30-34). Por último las placas fueron incubadas a 17°C y a 35°C.

2.2.11. Caracterización

2.2.11.1. Caracterización macroscópica

La caracterización macroscópica consistió en determinar a través de la observación directa cada característica fenotípica de las colonias aisladas, y se realizó de acuerdo a los criterios que se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 2-2: Morfología macroscópica

Morfología de colonias			
Borde	Consistencia	Elevación	Forma
<ul style="list-style-type: none">▪ Entero▪ Filamentoso▪ Ondulado▪ Lobulado	<ul style="list-style-type: none">▪ Cremosa▪ Duras▪ Viscosa	<ul style="list-style-type: none">▪ Convexa▪ Elevada▪ Plana	<ul style="list-style-type: none">▪ Circular▪ Puntiforme▪ Irregular▪ Rizoide▪ Fusiforme
Superficie	Luz reflejada		Luz Transmitida
<ul style="list-style-type: none">▪ Lisa▪ Rugosa	<ul style="list-style-type: none">▪ Brillante▪ Mate		<ul style="list-style-type: none">▪ Translucida▪ Opaca

Fuente: (López y Torres 2006, pp. 3) (Díaz 2010, pp. 8-9)

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

2.2.11.2. *Caracterización microscópica*

La identificación microscópica se realizó mediante la técnica de tinción Gram, la cual se realizó un frotis del clon en un portaobjeto, fijando la colonia con la ayuda de un mechero; a continuación, se aplicó una gota de cristal violeta sobre la muestra fijada durante un minuto y se lavó con abundante agua destilada. Posteriormente se aplicó lugol por un minuto y se enjuagó; de igual forma, se cubrió la preparación con alcohol-acetona por 30 segundos y luego se enjuagó con agua destilada; por último se añadió safranina por un minuto y lavó, para luego dejar secar la muestra en posición vertical, finalmente se agregó aceite de inmersión al portaobjetos y se llevó a observar en el microscopio (Santiago 2006, pp. 59-60). A través del proceso, se obtuvo la diferenciación de Gram positivas y Gram negativas, y por su morfología entre bacilos y cocos.

2.2.12. *Pruebas Bioquímicas*

Las pruebas bioquímicas sirven para identificar características propias de las bacterias, algunas pruebas son de lectura rápida, que permiten evaluar la presencia de una enzima, obteniendo resultados en menor tiempo; otras pruebas consisten en detectar componentes metabólicos o determinar la sensibilidad a una sustancia, su lectura varía hasta las 48 horas. (Bou et al. 2011, pp. 6)

2.2.12.1. *Catalasa*

Se agregó una gota de peróxido de hidrógeno a un portaobjetos, con un asa estéril se tomó un frotis de la colonia, se observaron los resultados y se reportó. La prueba se consideró positiva al observar espuma esto es para aquellas bacterias aerobias y anaerobias facultativas que poseen la enzima catalasa

2.2.12.2. *Citrato*

Se preparó el medio de cultivo Citrato Simmons, se colocó en tubos de ensayo para luego ser esterilizados en la autoclave, se dejó enfriar en una posición inclinada o también denominada pico de flauta, se inoculó en forma de estría con una incubación de 72 horas, pasado el periodo de tiempo, se observó y se reportó el resultado. El resultado se consideró positivo la coloración azul y la coloración verde como resultado negativo. (Britania 2015b, pp. 1)

2.2.12.3. *MacConkey*

Se preparó el medio de cultivo se acuerdo a las condiciones del fabricante, se colocó el medio en tubos de ensayo para ser llevados al autoclave, se dejó enfriar a manera de pico de flauta, con un asa se tomó una colonia bacteriana y se sembró en forma de estría con una incubación de 24 horas. El resultado se consideró positivo a la coloración rosada indicando que poseen la capacidad de fermentar la lactosa. (Gil 2019)

2.2.12.4. Oxidasa

Con un palillo estéril se tomó una colonia bacteriana y se transfirió a la tira de papel, se dejó reaccionar por unos minutos y luego se reportó el resultado. La reacción positiva se mostró de color púrpura claro o púrpura intenso indicando la presencia de citocromo oxidasa, caso contrario no llegó a sufrir ningún cambio de color

2.2.12.5. Ureasa

Se preparó el medio de cultivo Urea Agar base al cual se le agregó una solución de urea al 40%, se fraccionó en tubos de ensayo con un contenido de 3 ml y se dejó enfriar el medio en forma de pico de flauta con fondo profundo. Se tomó una colonia bacteriana para sembrarla en forma de estría con una incubación de 24 horas, pasado el tiempo, se reportó el resultado obtenido, considerando positivo la coloración fucsia y la coloración amarilla como resultado negativo. (Britania 2015a, pp. 1)

2.2.13. Evaluación de tolerancia a tensioactivos

Para la evaluación de la tolerancia de los clones, se preparó plate count agar (PCA) suplementado con tensioactivos a concentraciones crecientes aplicados como presión selectiva, para la evaluación de tolerancia microbiana como se muestra en la Tabla 2-2

Tabla 3-2: Preparación de los medios de cultivo

Medio de cultivo	Tensioactivo	Concentración
Plate Count Agar	• Amonio cuaternario	10 %
	• Dietanolamina (Comperlan)	30%
	• Lauril sulfato de Sodio (Texapon)	50%
	• Lauril sulfato de Sodio (Texapon)	70%
	• Nonil fenol etoxilato 10 moles	90%
	• Nonil fenol etoxilato 10 moles	100%

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

- *Medio PCA con Amonio cuaternario*

Se preparó el medio PCA para luego ser suplementado con el tensioactivo amonio cuaternario a diferentes concentraciones ya mencionadas, para que el tensioactivo se incorpore al medio, se esterilizó y distribuyó en las cajas Petri

- *Medio PCA con Dietanolamina (Comperlan)*

Con el medio PCA ya preparado se le agregó el tensioactivo Comperlan y con una barra de agitación tratando que éste se disuelva en el medio, para luego ser llevado a la autoclave y

posteriormente se distribuyó en cajas Petri de forma lenta para que no exista la generación de burbujas

- *Medio PCA con Lauril sulfato de Sodio (Texapon)*

Al medio preparado PCA se suplementó con el tensioactivo Texapon, se agitó suavemente el frasco para una adecuada disolución, se llevó a esterilizar y finalmente se distribuyó a cajas Petri sin que se desarrolle burbujas en el medio.

- *Medio PCA con Nonil fenol etoxilato 10 moles.*

En el medio PCA se agregó el tensioactivo Nonil fenol etoxilato, se agitó suavemente el frasco provocando la disolución del tensioactivo, se esterilizó y luego se depositó en cajas Petri, la distribución fue lenta con el fin de que no se generaren burbujas.

Una vez preparados los medios se procedió a sembrar los clones aislados y previamente caracterizados, que serían evaluados de acuerdo a la metodología descrita a continuación:

Para la siembra de los clones aislados en los medios suplementados, se tomó con un palillo estéril la colonia a sembrar y se trasladó a la nueva placa suplementada, se repitió el mismo proceso descrito anteriormente hasta obtener en cada placa todas las diez colonias aisladas. Se incubaron durante 24 horas a temperatura ambiente y a 35°C, se observó el crecimiento y se reportó, se midió los diámetros de las colonias cada 24 horas, donde finalmente a las 72 horas se mostró claras tendencias de crecimiento a ciertas concentraciones y a tensioactivos, esta información se comparó y se reportó.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

3.1. Análisis físico – químico de las muestras

A continuación, en las tablas 1-3 y 2-3, se detallan los valores de temperatura y pH registrados durante el monitoreo del afluente y efluente de la PTAR

Tabla 1-3: Análisis de físico – químico de muestras del afluente la PTAR

Hora	9:00			14:00		
	Caudal (L/s)	Temperatura (°C)	pH	Caudal (L/s)	Temperatura (°C)	pH
Lunes	16.0	17.4	7.86	14.6	17.2	8,49
Martes	14.0	16.3	8.14	15.2	16.8	8.32
Miércoles	15.3	17.2	8.04	16.2	17.8	7.89
Jueves	15.0	17.3	7.96	15.9	17.5	8.40
Viernes	12.4	16.1	8.26	17.0	18.1	8.01
Promedio	14.5	16.9	8.05	15.8	17.5	8.22

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

Tabla 2-3: Análisis de físico – químico de muestras del efluente la PTAR

Hora	9:00			14:00		
	Caudal (L/s)	Temperatura (°C)	pH	Caudal (L/s)	Temperatura (°C)	pH
Lunes	15.6	17.2	7.10	14.0	18.5	8.01
Martes	13.2	16.0	7.94	14.9	17.5	7.97
Miércoles	14.9	16.3	8.14	15.8	18.2	7.81
Jueves	14.6	17.1	8.24	16.2	18.3	8.23
Viernes	12.6	17.1	7.82	16.5	18.6	8.01
Promedio	14.2	16.9	7.85	15.48	18.2	8.22

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

El afluente, correspondiente a las muestras tomadas durante la mañana, se registró un caudal promedio de 14.5 L/s con un caudal mínimo de 12.4 L/s y un máximo de 16.0 L/ (Tabla 1-3), un rango de temperatura entre 16.1 a 17.4 °C, con un valor promedio de 16.9 °C; y valores de pH desde los 7.86 a 8.26, con un valor promedio de 8.05; como se observa en el Gráfico 1-3.

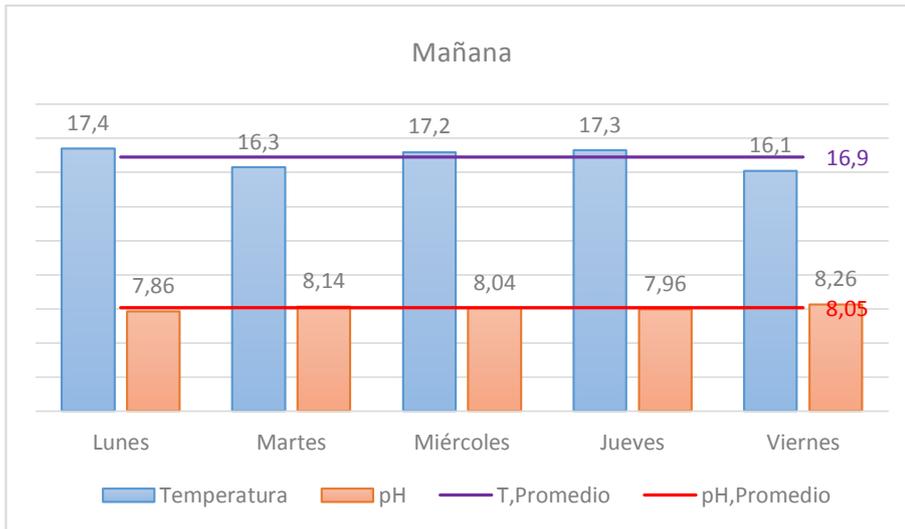


Gráfico 1-3: Evolución de temperatura y pH en el afluente en la mañana

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

Los resultados de los muestreos realizados durante la tarde se registró un caudal mínimo 14,6 L/s y un máximo de 17,0 L/s, con un caudal promedio de 15,8 L/s (Tabla 1-3). Se evidenció un rango de pH entre 7,89 y 8,49, con un valor promedio de 8,22; y temperaturas en un rango comprendido entre los 16,8 y los 18,1°C, con un valor promedio de 17,5°C; lo cual puede ser observado en el Gráfico 2-3

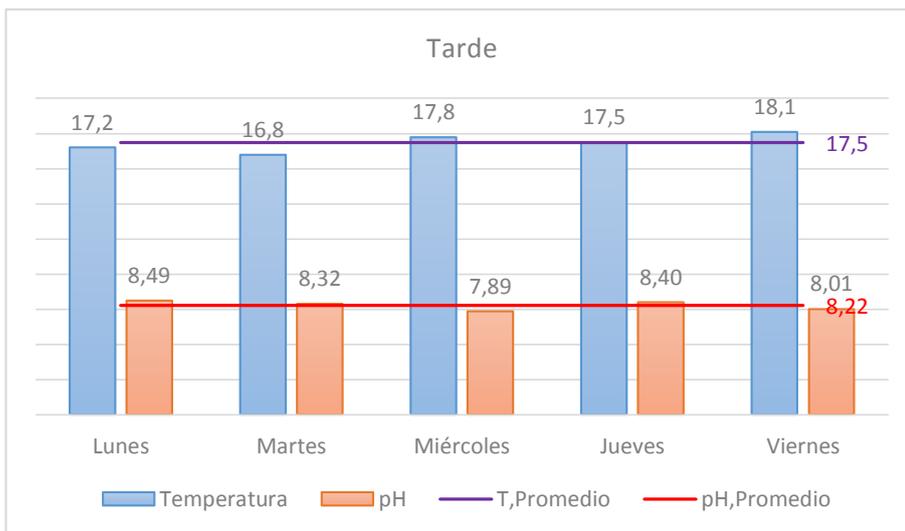


Gráfico 2-3: Evolución de temperatura y pH en el afluente en la tarde

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

En el efluente las muestras tomadas durante la mañana, se registró un caudal mínimo de 12,6 L/s y un máximo de 15,6 L/s, con un caudal promedio de 14,2 L/s (Tabla 2-3), los valores de temperatura que van desde un rango de 16,3 a 17,2 °C, con un valor promedio de 16,7 °C; y un

rango de pH entre 7.1 y a 8.14, con un valor promedio de 7.85, como se observa en el Gráfico 3-3.

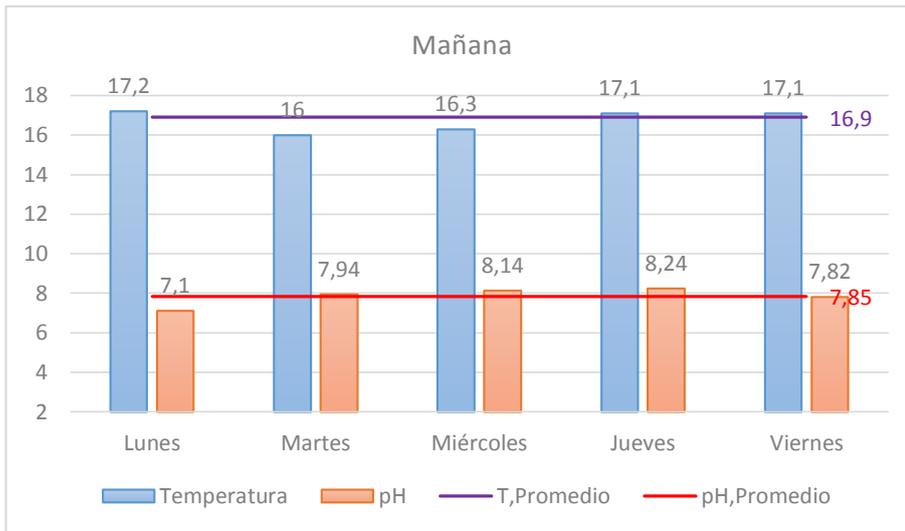


Gráfico 3-3: Evolución de temperatura y pH en el afluente en la mañana

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

Los resultados de los muestreos realizados durante la tarde muestran un caudal promedio de 15.48 L/s, un caudal mínimo de 14.0 L/s y un máximo de 16.5 L/s (Tabla 2-3). Se registró un rango de pH entre 7.81 y 8.23, con un valor promedio de 7.96; y temperaturas en un rango comprendido entre los 17,5 y 18,6°C, con un valor promedio de 18.2°C; lo cual puede ser observado en el Gráfico 4-3.

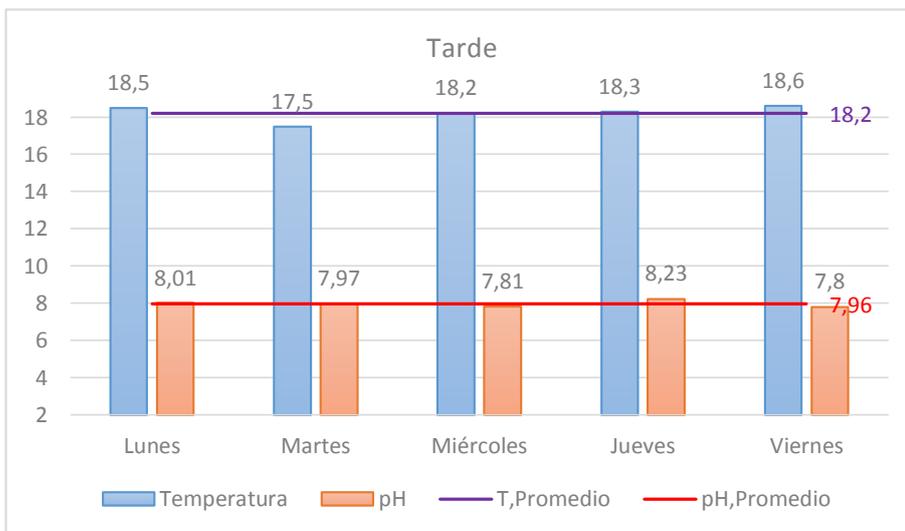


Gráfico 4-3: Evolución de temperatura y pH en el afluente en la tarde

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

En la planta de tratamiento de agua residual “Villa La Unión, correspondiente a las muestras tomadas durante una semana, se evidenció que los caudales sufren una variación en su crecimiento de acuerdo a los registrados en sus promedios generales en la mañana con un caudal de 14.35 L/s y en la tarde de 15.6 L/s, esto se debe principalmente a las diferentes actividades antropogénicas relacionadas con el uso del agua; se registró en el afluente temperaturas desde los 16.1 a 18.1 °C, con una temperatura promedio de 17.2°C, y pH en un rango comprendido entre los 7.86 a 8.49, con pH promedio de 8.14; y en el efluente, temperaturas con un rango de 16.0 a 18.6 °C, con un promedio de 17.3°C, y pH comprendido entre los 7.1 y 8.24, con un promedio de 7.67.

La temperatura ambiente del lugar de estudio fue de 17°C el cual permite identificar a los microorganismos presentes dentro del grupo de los psicrófilos facultativos, los cuales se desarrollan dentro de un rango entre los 0°C a 20°C, con una temperatura óptima de 15°C. (Ramírez, Serrano y Sandoval 2006, pp. 58), en similitud este valor concuerda con el obtenido por Macas y Tipantasig 2019 con un registro de 16°C en el mismo cantón; y en los valores de pH registrados se observó una disminución, esto se debe a los diferentes tratamientos que sufre el agua residual, principalmente en la fase de coagulación y floculación por la adición de sales de aluminio como el policloruro de aluminio (PAC), el cual produce una serie de reacciones en el agua y la formación de especies hidrolizadas con carga positiva. (Barrenechea 2004, pp. 1-2)

3.2. Número de colonias bacterianas

3.2.1. Número de colonias bacterianas en el afluente

Tras la realización de pruebas, se identificaron como disoluciones óptimas 10^{-4} y 10^{-3} , las cuales cumplieron con el rango de 30 a 300 colonias por caja para la estimación UFC (NTE INEN 1205 2013, pp. 5), siendo sembradas a dos temperaturas, cuyos resultados se muestran en la Tabla 3-3.

Tabla 3-3: Número de colonias bacterianas en el afluente

Día	Dilución	T. 17°C		Total UFC/ml	T. 35°C		Total UFC/ml
		Tiempo (H)			Tiempo (H)		
		48	72		48	72	
Lunes	10^{-3}	209	234	2.34×10^6	154	181	1.81×10^6
	10^{-4}	38	43	4.3×10^6	17	26	2.6×10^6
Martes	10^{-3}	266	242	2.42×10^6	142	163	1.63×10^6
	10^{-4}	37	48	4.8×10^6	18	27	2.7×10^6
Miércoles	10^{-3}	240	255	2.55×10^6	157	175	1.75×10^6
	10^{-4}	41	49	4.9×10^6	18	32	3.2×10^6
Jueves	10^{-3}	238	254	2.54×10^6	139	163	1.63×10^6
	10^{-4}	30	39	3.9×10^6	15	25	2.5×10^6
Viernes	10^{-3}	249	258	2.58×10^6	150	169	1.69×10^6
	10^{-4}	34	39	3.9×10^6	21	29	2.9×10^6

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

3.2.2. Número de colonias bacterianas en el efluente

En el efluente se llegó a identificar la serie 10^{-2} , como disolución óptima; el cual fue sembrado cuyo crecimiento se observa en la Tabla 4-3.

Tabla 4-3: Número de colonias bacterianas en el efluente

Día	T. 17°C		Total UFC/ml	T. 35°C		Total UFC/ml
	Tiempo (H)			Tiempo (H)		
	48	72		48	72	
Lunes	252	269	2.69×10^5	184	226	2.66×10^5
Martes	254	266	2.66×10^5	183	220	2.2×10^5
Miércoles	243	256	$2,56 \times 10^5$	185	233	$2,33 \times 10^5$
Jueves	254	266	2.66×10^5	183	221	2.21×10^5
Viernes	250	255	2.55×10^5	188	231	2.31×10^5

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

Los resultados reflejan que las muestras con mayor carga microbiana se desarrollaron a una temperatura ambiente, al contrario de las incubadas a 35°C. Esto se debe a que la microbiota presente se desarrolla a una temperatura promedio de 17°C; valor que se acerca a los 15°C, siendo esta temperatura óptima para los microorganismos psicrófilos, valores que permite un adecuado funcionamiento y crecimiento en el medio. (Luna 2020, pp. 62). Estos resultados obtenidos también concuerdan con un estudio realizado por López (2018) en el mismo territorio, en la cual se muestra un mejor crecimiento de las bacterias a temperatura frías, clasificándolas dentro del grupo de bacterias psicrófilas facultativas.

3.3. Evaluación macroscópica y microscópica

Del total de clones bacterianos se seleccionaron 10 clones, basándose en sus características fenotípicas diferentes, los mismos que fueron caracterizados macro y microscópicamente.

3.3.1. Caracterización macroscópica de los clones bacterianos

En la caracterización macroscópica se identificó las características morfológicas, como se puede apreciar en la Tabla 5-3.

Tabla 5-3: Características morfológicas de los clones aislados

Colonia	Color	Forma	Borde	Consist.	Elevación	Superf.	Luz reflejada	Luz transmitida
1	Blanco	Irregular	Ondulado	Creмоса	Elevada	Lisa	Brillante	Traslúcida
2	Blanco	Circular	Entero	Creмоса	Elevada	Lisa	Brillante	Opaca
3	Blanco	Irregular	Lobulado	Creмоса	Elevada	Lisa	Brillante	Traslúcida
4	Amarillo	Circular	Entero	Creмоса	Elevada	Lisa	Brillante	Opaca
5	Amarillo	Irregular	Ondulado	Viscosa	Elevada	Lisa	Brillante	Opaca
6	Amarillo verdoso	Circular	Entero	Creмоса	Elevada	Lisa	Brillante	Traslúcida
7	Blanco	Irregular	Lobulado	Creмоса	Plana	Rugosa	Mate	Opaca
8	Café	Circular	Entero	Creмоса	Elevada	Lisa	Brillante	Opaca
9	Rosado	Circular	Entero	Creмоса	Elevada	Lisa	Brillante	Opaca
10	Crema	Circular	Entero	Creмоса	Elevada	Lisa	Brillante	Opaca

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

La evaluación macroscópica de los clones bacterianos, reflejaron resultados en el parámetro de coloración un 40% de color blanco, con 20% amarillo y el 10% en las coloraciones amarillo verdoso, café, crema y rosado. Por su forma, el 60% representaron la forma circular y el 40% irregular. Sus bordes se definieron con el 60% entero, 20% onduladas y 20% lobuladas. En su consistencia se observó en el 90% cremosa y el 10% viscosa. Mientras que en la elevación consta el 90% elevada y un 10% plana; la superficie que presentan las colonias tienen un 90% lisa y el 10% rugosa; en el parámetro de luz reflejada existe un 90% brillante y un 10% mate; y en luz transmitida se obtuvo el 70% opaca y 30% translúcida.

De forma general se puede mencionar que las características más sobresalientes son el color blanco, forma circular, borde entero, consistencia cremosa, elevadas, superficie lisa, luz reflejada brillante y transmitida opaca, estos resultados fueron cotejados con un estudio realizado en el Cantón Colta por Macas y Tipantasig (2019) reportando características similares, predominando bacterias circulares, enteras, de pigmentación blanca y cremosas con un 64%, y en un 100% elevadas y lisas.

3.3.2. Caracterización microscópica de los clones bacterianos

Tras la realización de las pruebas de tinción de Gram y la observación morfológica de los clones bacterianos se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 6-3: Resultados de la Tinción Gram de los clones aislados

Número de Clon	Tinción Gram	Forma de la colonia
1	Positivo	Cocos
2	Positivo	Cocos
3	Positivo	Cocos
4	Positivo	Cocos
5	Positivo	Cocos
6	Negativo	Bacilos
7	Negativo	Bacilos
8	Negativo	Bacilos
9	Positivo	Cocos
10	Negativo	Coco

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

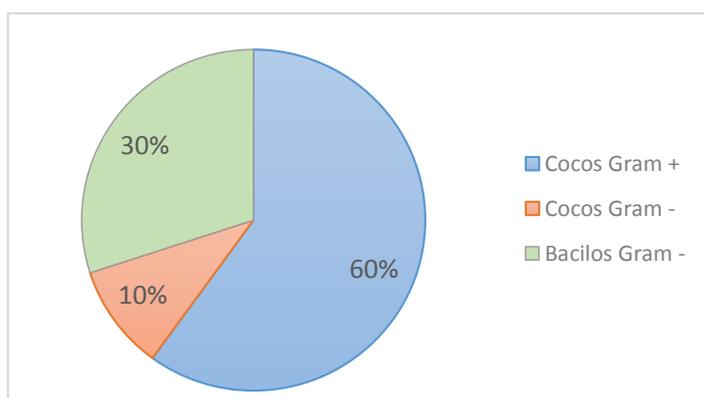


Gráfico 5-3: Porcentaje de los resultados de la caracterización microscópica

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

En los gráficos 7-3 se muestra el análisis microscópicos de los 10 clones aislados. El 60% de los clones pertenecieron al grupo Gram positivos siendo estos de morfología cocos, con un 40% de Gram negativos siendo en un 30% bacilos y un 10% Cocos. Coincidiendo estos datos con los obtenidos por Pérez 2019, pp. 41 durante la caracterización microscópica de la microbiota de muestras de agua residual del Cantón Patate, con resultados del 55% de bacterias Gram positivos y el 45% de bacterias Gram Negativas.

3.4. Evaluación bioquímica de los clones bacterianos

Para la evaluación bioquímica de los clones bacterianos obtenidos en la investigación se emplearon las pruebas rápidas de la catalasa y oxidasa; y las pruebas bioquímicas mediante medios de cultivo, entres estos la ureasa, citrato y MacConkey; estas pruebas fueron usadas debido a su accesibilidad e implementación en laboratorios (Bou et al. 2011, pp. 7). Estos ensayos fueron probados en los clones aislados, evidenciando los siguientes resultados descritos en la Tabla 7-3:

Tabla 7-3: Evaluación Bioquímica de los clones aislados

Clon	Catalasa	Oxidasa	Ureasa	Citrato	MacConkey
1	+	-	+	-	+
2	+	-	-	-	+
3	-	-	+	-	+
4	-	-	-	-	-
5	+	-	-	-	-
6	+	+	-	+	-
7	+	+	-	+	-
8	+	+	-	+	+
9	+	-	+	-	-
10	+	+	-	-	+

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

Los resultados de las pruebas inmediatas, arrojaron que el 80% de los aislamientos son positivas y el 20% negativos para la producción de catalasa; y en la prueba oxidasa el 60% son negativos y 40% positivos para la producción de la enzima citocromo c oxidasa.

Los cultivos realizados en el agar base urea Christensen y en el agar citrato, evidenciaron que el 30% de los aislamientos sufrieron un cambio de color, dando como positivo en la producción de la enzima ureasa y citrato, mientras que el 70% fue negativo; por último, en la prueba con agar Macconkey se obtuvo el 50% de clones capaces de fermentar la lactosa.

Los resultados de la Tabla 7-3 se cotejaron con información bibliográfica, coincidiendo que los clones bacterianos podrían pertenecer a los géneros *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Micrococcus spp.*, *Pseudomonas spp.*, y *Acinetobacter spp.*, los mismos que se han encontrado con frecuencia en caracterizaciones bacterianas realizadas en las aguas residuales como las presentadas por Calonge (2014), Moeller (2010) y Torres (2012)

En la tabla 8-3 se presentan los resultados de los posibles géneros bacterianos pertenecientes a cada clon.

Tabla 8-3: Resultados de los géneros bacterianos encontrados

Número de Clon	Resultado
1	<i>Staphylococcus spp.</i>
2	<i>Micrococcus spp.</i>
3	<i>Streptococcus spp.</i>
4	<i>Sreptococcus spp.</i>
5	<i>Micrococcus spp.</i>
6	<i>Pseudomonas spp.</i>
7	<i>Pseudomonas spp.</i>

8	<i>Pseudomonas spp.</i>
9	<i>Micrococcus spp.</i>
10	<i>Acinetobacter spp.</i>

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

3.5. Pruebas de tolerancia a tensioactivos

Los resultados derivados de la evaluación de tolerancia hacia los tensioactivos, presentaron rangos diferentes de crecimiento en su diámetro, los cuales mostraron tendencias en su crecimiento.

3.5.1. Evaluación de la tolerancia de los clones aislados en presencia del Amonio cuaternario

Los diámetros de crecimiento de los clones bacterianos sembrados en el medio suplementado con amonio cuaternario y diferentes temperaturas, presentaron un efecto en los clones como se muestra en los gráficos 6-3 y 7-3.

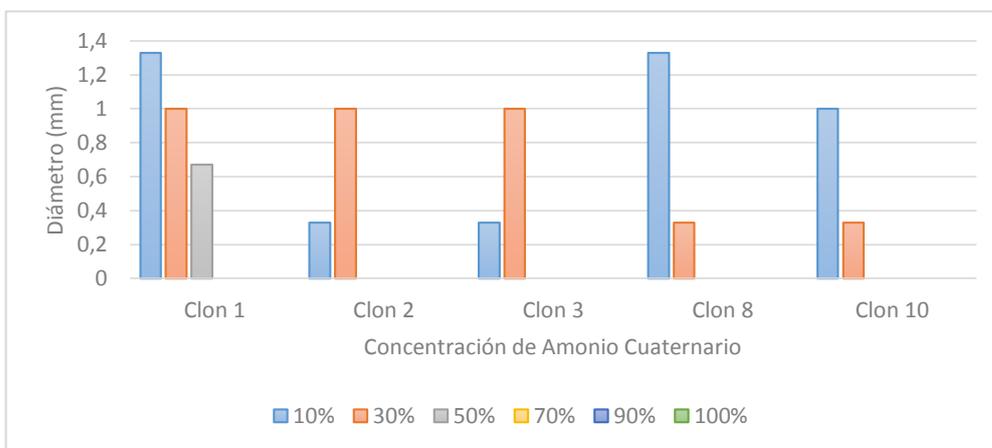


Gráfico 6-3: Efecto del amonio cuaternario y la temperatura de 17°C en el crecimiento bacteriano

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

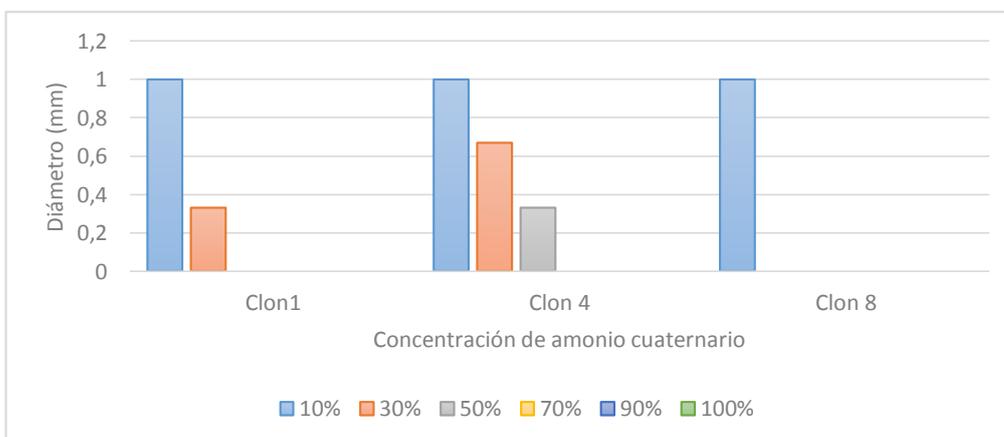


Gráfico 7-3: Efecto del amonio cuaternario y la temperatura de 35°C en el crecimiento bacteriano

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

El amonio cuaternario mostró un marcado efecto tóxico sobre los clones. En el Gráfico 6-3 se observa una mayor tolerancia en el clon 1 soportando una concentración del 50% de AC, los clones 2, 3, 8 y 10 solo llegaron a un concentración del 30%; a diferencia de los clones a 35° C (Gráfico 7-3), donde el clon 4 creció hasta la concentración del 50%, y el clon 1 soportó una concentración del 30%, mientras que el clon 8 no superó la primera concentración; y los demás clones han sido inhibidos en su crecimiento; pues este tensioactivo se adhiere fácilmente por su carga positiva a la superficie de las bacterias con carga negativa, incrementando la permeabilidad de la membrana con la consecuente pérdida de los componentes citoplasmáticos (McDonnell 2009). Los resultados se pueden contrastar con los obtenidos en el estudio realizado por Sidhu, Sørum y Holck (2002) donde se determinó la resistencia al amonio cuaternario, encontrando apenas 16 cepas resistentes a un bajo nivel de exposición, encontradas entre 1325 aislamientos.

3.5.2. *Evaluación de la tolerancia de los clones aislados en presencia de la Dietanolamina (Comperlan)*

Los resultados obtenidos del crecimiento de clones aislados, muestran que los clones seleccionados presentan una alta tolerancia al tensioactivo frente a una temperatura ambiente de 17°C, al contrario de la presentada a 35°C como se muestra a continuación en los Gráficos 8-3 y 9-3:

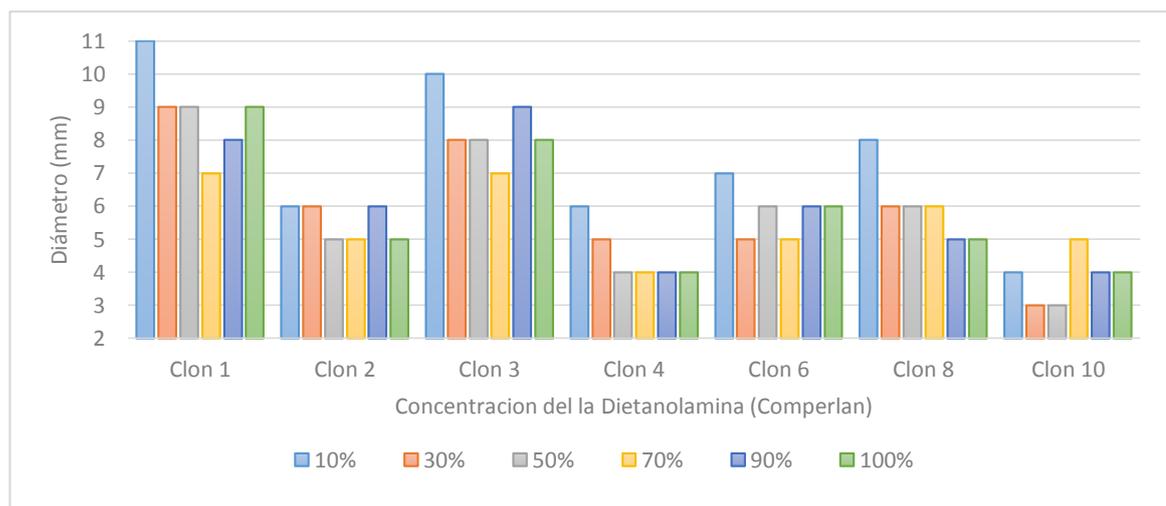


Gráfico 8-3: Efecto de la Dietanolamina y la temperatura de 17°C en el crecimiento bacteriano
Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

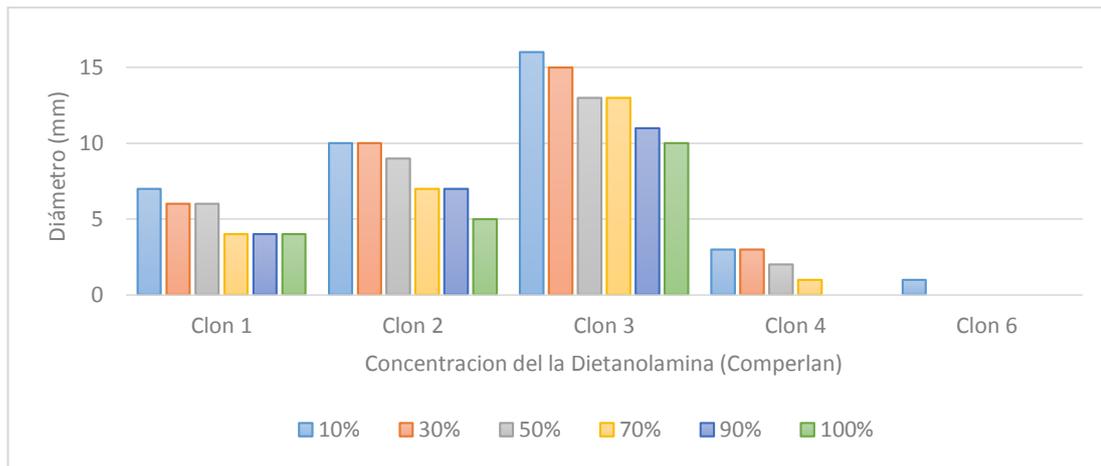


Gráfico 9-3: Efecto de la Dietanolamina y la temperatura de 35°C en el crecimiento bacteriano
Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

En el Gráfico 8-3 se observa el crecimiento de 7 clones, los cuales llegaron a crecer hasta el 100% de concentración de la Dietanolamina, obteniendo diámetros de crecimiento mayores como los presentados en los clones 1 y 3, cada una de las colonias se han desarrollado de forma variada, desde una forma descendente, ascendente o llegando a mantenerse de forma lineal; al contrario de los clones a 35°C, cuyo crecimiento es descendente y solo 5 clones presenta crecimiento, dentro de estos solo el clon 3 soporta el 100% de concentración de la Dietanolamina. Los clones que no han crecido fueron evidentemente influenciados por la temperatura y la Dietanolamina, provocando que los clones 8 y 2 no se desarrollen. Estos resultados positivos se cotejaron con los obtenidos por Gannon, Adams y Bennett, en cuanto a la degradación microbiana de la dietanolamina usando una bacteria aislada de un fluido industrial y una población de aguas residuales; demostrando que la degradación microbiana de este componente es efectiva, además que es adecuado el uso de bacterias que han estado en contacto con tensioactivos para su degradación.

3.5.3. *Evaluación de la tolerancia de los clones aislados en presencia del Lauril sulfato de Sodio (Texapon)*

La evaluación del efecto del tensioactivo nonil fenol etoxilato sobre los clones aislados, mostró un comportamiento variable como se reflejan en los Gráficos 10-3 y 11-3

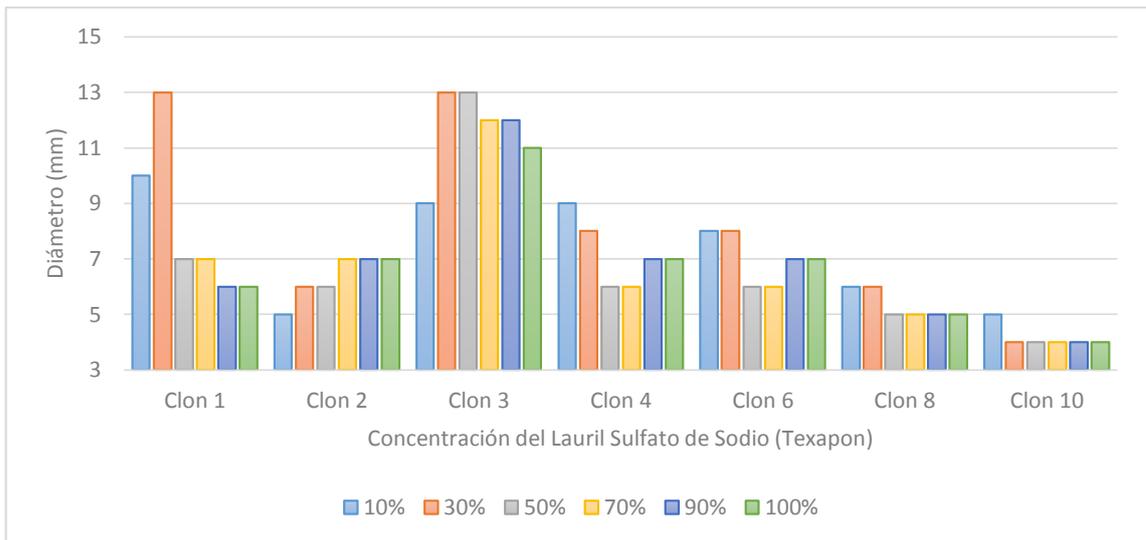


Gráfico 10-3: Efecto del Lauril sulfato de Sodio y la temperatura de 17°C en el crecimiento bacteriano

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

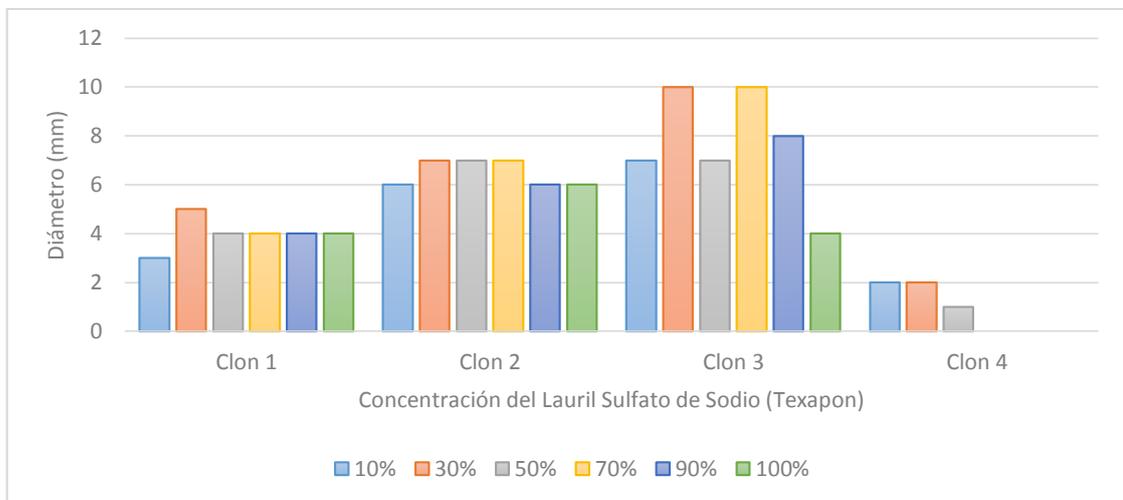


Gráfico 11-3: Efecto del Lauril Sulfato de Sodio (Texapon) y la temperatura de 35°C en el crecimiento bacteriano

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

En el Gráfico 10-3 se observa, el crecimiento de 7 clones que soportaron hasta el 100% de concentración de texapon, con diámetros favorables en los clones 1 y 3, y un bajo crecimiento en el clon 10. Los clones desarrollados a 35°C fueron apenas 4 clones, los clones 6, 8 y 10 fueron inhibidos por la temperatura, parámetro que solo llegó a permitir el desarrollo de 3 clones al 100% de concentración de texapon. El crecimiento de los clones fue variado pues no llegaron a manifestar alguna tendencia. La biodegradabilidad presente a este tensioactivo aniónico y los diámetros presentados de los clones indican la facilidad de los microorganismos para tolerar las concentraciones del tensioactivo en prueba, estos resultados se puede comparar con los encontrados por Herrera (2017) donde la biodegradabilidad final del tensioactivo aniónico es casi

al 100%, además de su ascenso exponencial, una biodegradación uniforme y un sistema estable demuestran la facilidad de los microorganismos para biodegradar el LSS.

3.5.4. Evaluación de la tolerancia de los clones aislados en presencia del Nonil fenol etoxilato 10 moles

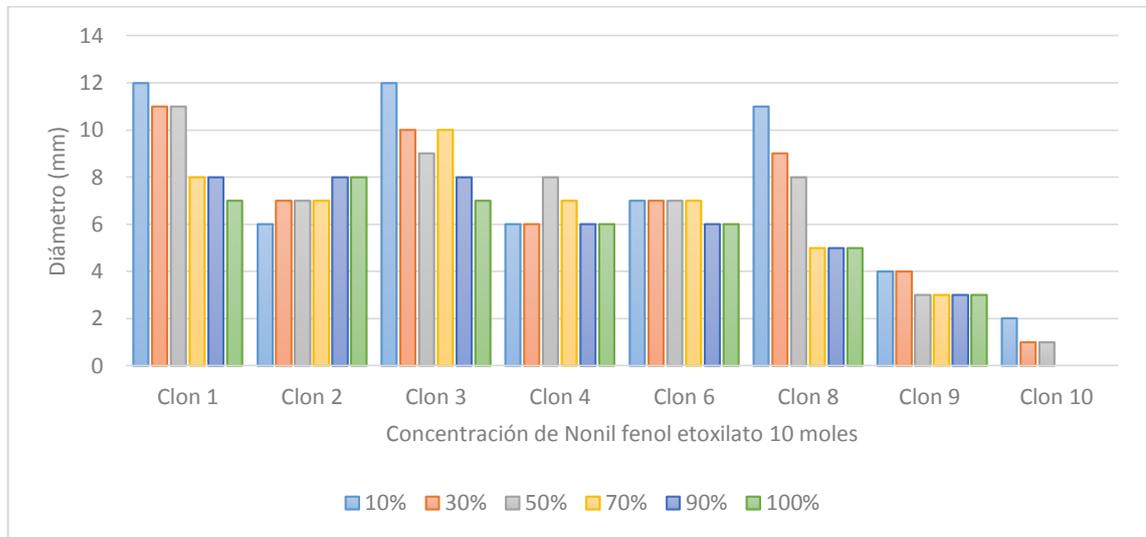


Gráfico 12-3: Efecto del nonil fenol y la temperatura de 17°C en el crecimiento bacteriano

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

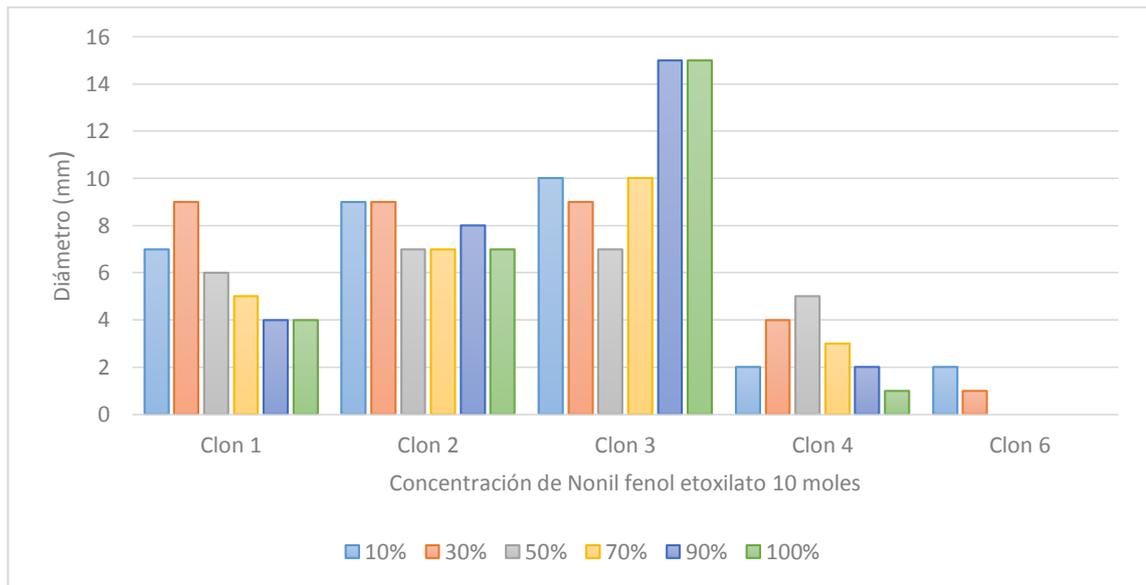


Gráfico 13-3: Efecto del Nonil Fenol etoxilato 10 moles y la temperatura de 35°C en el crecimiento bacteriano

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

En el Gráfico 12-3, se observa que 8 clones presentaron crecimiento, de los cuales 8 soportaron hasta una concentración del 100% de Nonil Fenol, el clon 7 con 3 concentraciones, lo opuesto al clon 10 que solo soportó la concentración del 50% de NF.

En el Gráfico 13-3, se muestra la presencia de 5 clones, 4 clones se desarrollaron hasta la concentración del 100% de NF, y el clon 6 hasta una concentración del 50%; el desarrollo de clones no siguió ninguna tendencia en común, pues cada colonia se desarrolló de forma variable. Los resultados obtenidos en el crecimiento de las bacterias en este medio, se deben por su composición orgánica del tensioactivo, cuya estructura ha permitido el desarrollo de los clones. Estos resultados se puede cotejar con el estudio realizado por Sun et al. (2014) mediante el empleo del alga *Chlorella vulgaris* obteniendo un 95.7% de degradación; el resto de permanencia en la fase acuosa con el 1.1% y en las células del alga con un 3.2%, logrando una degradación del NF de forma eficiente

3.5.5. Evaluación comparativa del crecimiento de los clones bacterianos; en los medios suplementados y el medio PCA (sin presión selectiva)

Tabla 9-3: Diámetros máximos obtenidos en los medios suplementados con tensioactivos

Temp.	# Clon	PCA (SPS)	AC		DAE		LSS		NF	
			Diámetro (mm)	Concent. (%)						
17°C	1	12	1	10	11	10	13	30	12	10
	2	18	1	50	6	90	7	100	8	100
	3	5	1	50	10	10	13	50	12	10
	4	2	-	-	6	10	9	10	8	50
	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-
	6	6	-	-	7	10	8	30	7	70
	7	2	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	3	1	10	8	10	6	30	11	10
	9	3	-	-	-	-	-	-	4	30
	10	3	1	10	5	50	5	10	2	10
	TOTAL		5	50	7	90	7	100	8	100
35° C	1	15	1	10	7	10	5	30	9	30
	2	13	-	-	10	30	7	70	9	30
	3	4	-	-	16	10	3	70	15	100
	4	2	1	10	3	30	2	30	5	50
	5	3	-	-	-	-	-	-	-	-
	6	13	-	-	1	10	-	-	2	10
	7	5	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	3	1	10	-	-	-	-	-	-
	9	3	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	7	-	-	-	-	-	-	-	-
	TOTAL		3	10	5	30	4	70	5	100

- : No hay crecimiento

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

En la Tabla 9-3 se observa que los clones con mayor tolerancia son los clones 1, 2, 3 y 4, mientras que los clones 5 y 7 no presentaron ningún crecimiento frente a los diferentes tensioactivos y a las dos temperaturas.

El medio suplementado con amonio cuaternario es el que presenta mayor inhibición en el crecimiento, por lo cual se ha obtenido diámetros de crecimiento que no sobrepasan un milímetro, además que los clones que presentaron crecimiento lo hacen en concentraciones bajas de AC. Tras la acción de la dietanolamina (DEA), el lauril sulfato de sodio y el nonil fenol, se puede destacar que los diámetros de crecimiento registrados se asemejaron a los presentados en el medio PCA e incluso llegaron a ser superiores; con el total de colonias desarrolladas en los medios suplementados, se determinó que, el nonil fenol es el menos perjudicial para los clones bacterianos, pues registra el crecimiento de 8 clones a temperatura ambiente y un total de 5 clones a 35°C; en cuanto a diámetros, el lauril sulfato de sodio registró diámetros mayores a los obtenidos en los medios suplementados; las concentraciones en que se han desarrollado los clones han sido altas, como la obtenida en la DAE a un 90 %, y en un 100% los tensioactivos LSS y el NF.

La temperatura también fue un factor que influyó en el crecimiento los clones haciendo que no se inhiba su desarrollo; o su diámetro de crecimiento se reduzca o aumente. Los clones sembrados a 17°C presentaron mayor crecimiento, mientras que a 35°C se desarrollaron un menor número de colonias, ya que su hábitat natural se encuentra a una temperatura promedio de 17°C clasificándolas dentro de los microorganismos psicrófilos facultativos, los cuales se desarrollan a una temperatura máxima de 20°C. En el caso de la evaluación de clones desarrollados a 35°C se trabajó con esta temperatura debido a que se quería comprobar si existen microorganismos mesófilos asociados a temperaturas mayores 20°C y evaluar la influencia de la temperatura en la eficiencia de degradación de los tensioactivos, por lo que se determinó que la alta temperatura influyó en el descenso de la tasa de crecimiento, ya que una temperatura máxima se produce una desnaturalización e inactivación de proteínas enzimáticas, el colapsamiento de la membrana citoplásmica y a veces lisis de la bacteria (Yáñez 2013), consecuencias que no permiten el desarrollo bacteriano. Mientras que las colonias sembradas a 35°C reducen su crecimiento a la mitad esto coinciden con el estudio desarrollado por Macas y Tipantasig 2019, pp. 35, evidenciando la influencia de la alta temperatura, pues el crecimiento de bacterias a 16°C es el doble a los sembrados a 35°C. Estos resultados también se pueden contrastar con los posibles géneros encontrados en esta investigación, donde su temperatura de crecimiento es versátil teniendo así a los géneros: *Staphylococcus* con una temperatura mínima de 6,5° C y máxima de 46° C; en el género *Micrococcus* con una temperatura óptima de 10°C, y una temperatura mínima de -4°C y máxima de 24°C (Prescott 2004, pp. 134), el género *Streptococcus* con un crecimiento óptimo a los 37°C, y una temperatura mínima de 10° C y máxima de 45° C (Basualdo 2018, pp. 2), el género *Pseudomonas* soportan una temperatura máxima de 40° C y mínima de 4° C con un rango óptimo de temperatura de 25 y 30° C (Prescott 2004, pp. 134), el género *Acinetobacter* posee una temperatura de crecimiento 20 a 44°C, y su temperatura óptima es de 30-35°C (Salazar, y Nieves 2005, pp. 2).

3.5.6. Evaluación de la capacidad de tolerancia de los clones aislados ante los tensioactivos

A través del crecimiento de los clones se determinó el porcentaje de tolerancia, resultados que se detallan a continuación en la Tabla 10-3.

Tabla 10-3: Porcentajes de tolerancia de los clones hacia la presencia de tensioactivos

Temperatura	AC	DAE	LSS	NF
	Tolerancia (%)			
17°C	2	58	56	62
35°C	1,06	27,45	22,55	29,41
Promedio	1,53	42,73	39,28	45,71

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

La tabla 10-3 muestra los porcentajes de tolerancia de los clones ante los tensioactivos, logrando el amonio cuaternario tener un bajo porcentaje de tolerancia; los resultados obtenidos a 17°C reflejaron una mejor respuesta con el 58% en la dietanolamina, 56% en lauril sulfato de sodio y en el nonil fenol un 62% de tolerancia; al contrario de los porcentajes reflejados a 35°C, los cuales llegaron a ser menores siendo estos 27.45% dietanolamina (comperlan), 22.45% en lauril sulfato de sodio y en el nonil fenol un 29.41% de tolerancia

En el gráfico 14-3 se observa el diagrama de cajas que fue utilizado para presentar los efectos de los tensioactivos sobre los clones bacterianos aislados.

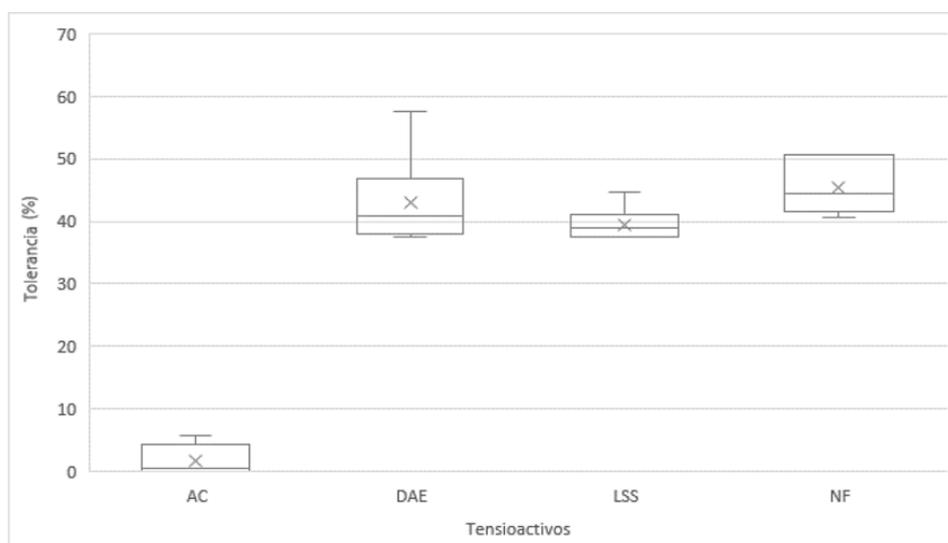


Gráfico 14-3: Diagrama de cajas de la tolerancia de los clones a los tensioactivos

Realizado por: Juntamay Lilian, 2020

En el diagrama de cajas se puede observar que los clones bacterianos tienen mayor tolerancia al tensioactivo nonil fenol etoxilato con el 45.71%, mientras que ante el tensioactivo dietanolamina se produce el 42.73% de resistencia, seguida por el lauril sulfato de sodio con un 39.28%, por último el amonio cuaternario con el 1.53% de tolerancia.

A través de los resultados, se puede decir que existe la capacidad de tolerancia de los clones bacterianos hacia la presencia de los tensioactivos, los cuales han producido diferentes efectos sobre los clones, en este caso el NF produce mayor tolerancia por parte de los clones y el AC es el que produce menor tolerancia.

En base a los niveles de tolerancia ante los tensioactivos, se puede deducir que el amonio cuaternario es un tensioactivo catiónico altamente tóxico y de alta acción, también considerado un biocida, esto se atribuye a las cadenas de cloruros como el cloruro de benzalconio y el cloruro de alquil dimetil bencil amonio (McKeen 2012, pp. 30), habitualmente considerados como desinfectantes a concentraciones de 0.25% a 1.6% (Vallejos 2009, pp. 21). Su mecanismo de acción principal se da mediante la adsorción y penetración de amonio cuaternario en la pared celular, seguida de una reacción y desorganización en la membrana citoplásmica; permitiendo la fuga de material intracelular de menor peso, la degradación de proteínas y ácidos nucleicos, y lisis de la pared celular (Gerba 2015). Por lo cual el amonio cuaternario inhibe casi en su totalidad los clones sembrados, siendo incapaces de desarrollarse ante la presencia del compuesto.

Los tensioactivos no iónicos como la Dietanolamina (Comperlan) y Nonil fenol etoxilato 10 moles poseen una baja toxicidad en comparación con los tensioactivos catiónicos y aniónicos. (Ríos 2014, pp. 55), razones por las que los clones aislados se desarrollan a altas concentraciones. La Dietanolamina (Comperlan) se encuentra en la formulación de cosméticos y champús, de fácil degradación ante el calor, la luz y el aire, provocando una oxidación (Lastra 2016). De acuerdo a Williams y Callely la dietanolamina es usada como fuente de carbono y energía, degradándose en etanolamina y glicolaldehído, la etanolamina, se acumuló durante las primeras etapas de crecimiento bacteriano y luego desaparece progresivamente en forma de acetilo, el género *Pseudomonas spp* se destaca por cumplir esta degradación; además sugieren un sistema responsable de una aclimatación de las células a este compuesto para que sean potencialmente biodegradables. El Nonil fenol etoxilato de 10 moles es frecuentemente usado en formulaciones de detergentes y en la industria textil (PRTR España 2019), por su solubilidad en el agua, el cual aumenta conforme se incrementa su número de etoxilados, es decir, el nonil fenol etoxilado 10 moles es más soluble que el nonil fenol etoxilado 6 moles; su toxicidad se ve incrementada al disminuir la longitud de la cadena etoxiladas. (Ríos 2014, pp. 55). En cuanto a la degradación no existe una ruta específica, por lo cual Bai et al. plantea una hipótesis de la vía de degradación que se inicia mediante la oxidación del anillo de benceno, seguida de una biodegradación de la cadena

lateral, encontrando mejores resultados en condiciones aerobias, y propone candidatos prometedores para la biorremediación de NF entre estos se encuentran los géneros *Sphingomonas spp.*, y *Pseudomonas spp.*

El tensioactivo aniónico Lauril sulfato de Sodio (Texapon), al ser de cadena lineal tiene mayor biodegradabilidad que los tensioactivos aniónicos de cadena ramificada (Ríos 2014, pp. 55), su biodegradación se beneficiada por condiciones aeróbicas y anaeróbicas, la ruta de biodegradación ocurre a través una hidrólisis en el enlace éster formando alcoholes grasos que se oxidan en ácidos grasos, degradándose por β -oxidación y mineralizándose por completo e incorporándose a la biomasa, los subproductos formados son benignos para el medio ambiente, permitiendo así confirmar que LSS es un surfactante aceptable para su uso desde aspectos toxicológicas y de sostenibilidad con el ambiente (Bondi et al. 2015) Ibrahim, Zahran y Youssef proponen el uso de consorcios bacterianos como los géneros *Pseudomonas spp.*, *Enterobacter spp.* y *Bacillus spp.* pues han demostrado un alta eficiencia en la degradación del Lauril Sulfato de Sodio.

La tolerancia hacia los tensioactivos ha sido favorecida por el permanente contacto de las aguas residuales con estos compuestos permitiendo que se desarrolle una capacidad de resistencia, esto se contrasta con Hegstad et al., demostrando que al mantenerse una exposición a un compuesto, se puede promover la selección de nuevos elementos genéticos que ayudarán a la propagación de la resistencia entre bacterias.

CONCLUSIONES

El afluente registró una temperatura media de 17.2°C y un pH de 8.14, mientras que el efluente presentó una temperatura media de 17.3°C y un pH de 7.67; concluyendo que en la PTAR Villa La Unión se desarrollan microorganismos psicrofilos facultativos y cumple con los rangos permisibles de la normativa ambiental.

Se seleccionaron un total de 10 clones bacterianos de acuerdo a la caracterización macro y microscópica, obteniéndose un 60 % de clones Gram positivos de morfología cocos, 40% de bacterias Gram negativas, 30% de bacilos y 10% de cocos; estos datos junto con los resultados de las pruebas bioquímicas permitieron la presunción de los posibles géneros bacterianos: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* y *Acinetobacter*

La evaluación de la tolerancia a tensioactivos demostró que las cepas bacterias poseen una baja resistencia al amonio cuaternario (1.53%), observándose un marcado efecto tóxico en el crecimiento de los clones; por el contrario, se evidenciaron resultados favorables con respecto a los demás tensioactivos al observarse una mayor tolerancia por parte de los clones bacterianos: 39.2% de tolerancia hacia el tensioactivo lauril sulfato de sodio, 42.73% de tolerancia frente al tensioactivo dietanolamina, y 45.71% de tolerancia al nonil fenol etoxilato de 10 moles.

RECOMENDACIONES

Adoptar todas las medidas de seguridad e higiene para evitar algún riesgo de contagio, pues se desconoce la capacidad patógena que poseen las muestras.

Se recomienda la secuenciación del material genético para la obtención de resultados precisos, con el fin de obtener el género y especie, además de parámetros exclusivos que permitan potenciar el crecimiento de los microorganismos.

Realizar un nuevo estudio de los microorganismos tolerantes a otros contaminantes de la PTAR, con el fin de ser usados en procesos de biorremediación.

BIBLIOGRAFÍA

ACOFARMA. Lauril éter sulfato sódico [en línea], 2018. [Consulta: 28 abril 2020]. Disponible en: <https://formulasmagistrales.acofarma.com/idb/descarga/3/f0a1511329418eb6.pdf>.

ALTMAJER VAZ, D., et al. Universidad de Granada, Departamento de Ingeniería Química. *Formulaciones detergentes biodegradables ensayos de lavado*. Granada: Universidad de Granada [en línea], 2004. pp. 22 [Consulta: 12 febrero 2020]. Disponible en: <https://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/856/15847093.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ARBELI, Z. Biodegradation Of Persistent Organic Pollutants (POPs): I The Case Of Polychlorinated Biphenyls (PCB) [en línea] 2009, vol. 14, no. 1, pp. 58. [Consulta: 26 febrero 2020]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-548X2009000100004

ARNÁIZ, C., LSAC, L. y LEBRATO, J. *Tratamiento biológico de aguas residuales* [en línea]. S.l.: Revista Tecnología del Agua. 2000. Disponible en: http://cidta.usal.es/residuales/libros/logo/pdf/Tratamiento_biologico_edar.pdf.

BAI, N., et al. Nonylphenol biodegradation characterizations and bacterial composition analysis of an effective consortium NP-M2. *Environmental Pollution* [en línea] 2017, vol. 220, pp. 95-104. [Consulta: 12 enero 2020] ISSN 0269-7491. DOI 10.1016/j.envpol.2016.09.027. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749116312568>

BARRENECHEA, A. Capítulo 4 Coagulación - partículas coloidales, [en línea], 2004. pp. 73 [Consulta: 21 mayo 2020]. Disponible en: <http://www.ingenieroambiental.com/4014/cuatro.pdf>

BASF. Texapon® N 701 S por BASF Latin America - Cuidado Personal y Cosméticos. [en línea], 2019. [Consulta: 28 abril 2020]. Disponible en: <https://www.ulprospector.com/es/la/PersonalCare/Detail/1960/318076/Texapon-N-701-S>.

BASUALDO, W. Estreptococos. [en línea], 2018, pp2. [Consulta: 22 mayo 2020]. Disponible en: https://www.cure4kids.org/private/courses_documents/m_149/Cure4Kids-04-Estreptococos.pdf.

BONDI, C.A., et al. Human and Environmental Toxicity of Sodium Lauryl Sulfate (SLS): Evidence for Safe Use in Household Cleaning Products. *Environmental Health Insights* [en línea] 2015, vol. 9, pp. 27-32. [Consulta: 26 junio 2020] ISSN 1178-6302. DOI 10.4137/EHI.S31765. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4651417/>

BOTANICAL. Efectos de los detergentes. *Botanical-online* [en línea], 2019. [Consulta: 4 marzo 2020]. Disponible en: <https://www.botanical-online.com/productos-naturales/detergentes-inconvenientes>.

BOU, G., et al. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* [en línea] 2011, vol. 29, no. 8, pp. 601-608. [Consulta: 9 junio 2020] ISSN 0213005X. DOI 10.1016/j.eimc.2011.03.012. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0213005X11001571>

BRAND, D. Efectos de los tensoactivos en el medio ambiente: Efectos ambientales de los tensoactivos [en línea], 2019, pp. 8-9. [Consulta: 4 marzo 2020]. Disponible en: <https://repository.usc.edu.co/bitstream/handle/20.500.12421/623/EFFECTOS%20DE%20LOS%20TENSOACTIVOS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

BRITANIA. Christensen Medio Urea Base. [en línea], 2015a. [Consulta: 19 abril 2020]. Disponible en: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5af086c156e97.pdf.

BRITANIA. Simmons Citrate Agar. [en línea], 2015 b [Consulta: 15 abril 2020]. Disponible en: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a29779bd2be8.pdf.

EDSER. *Focus on Surfactants* [en línea], 2006, pp. 1-8. [Consulta: 29 febrero 2020]. ISBN 1351-4210. Disponible en: <https://www.journals.elsevier.com/focus-on-surfactants>.

CALONGE, M.C.P. Detección y caracterización de *Staphylococcus aureus* procedentes de animales y aguas [en línea], 2014, pp. 152. [Consulta: 13 junio 2020]. Disponible en: <https://www.visavet.es/data/tesis/deteccion-caracterizacion-staphylococcus-aureus-animales-aguas.pdf>

CASTIGLIONI, M. y COLLINS, P. Efecto de un detergente biodegradable en agua en la reproducción de *daphnia magna*. *The Biologist* [en línea], 2010, vol. 8, no. 1, pp. 43-53. [Consulta: 29 febrero 2020]. ISSN 1816-0719. Disponible en: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/101235>

CIDTA. Caracterización del agua residual - Características Biológicas [en línea], 2018, pp [Consulta: 27 febrero 2020]. Disponible en: http://aulavirtual.usal.es/aulavirtual/demos/simulacion/modulos/curso/uni_03/U3C3S7.htm.

CONQUIMICA. Cocoamida - DAE [en línea], 2020. [Consulta: 28 abril 2020]. Disponible en: <https://www.conquimica.com/productos/cocoamida-dea/>.

DÍAZ, G. Características de las colonias: Fundamentos y técnicas de análisis microbiológicos [en línea], 2010, pp. 9. [Consulta: 21 abril 2020]. Disponible en: https://www.academia.edu/9745816/Fundamentos_y_t%C3%A9cnicas_de_an%C3%A1lisis_microbiol%C3%B3gicos_Manual_Bergeys_1_Laboratorio_de_Diagn%C3%B3stico_Clinico_2o_curso_U_T_12_0_Bloque_tem%C3%A1tico_III_Manual_de_Bergey

EPA. Nonylphenol (NP) and Nonylphenol Ethoxylates (NPEs) [en línea], 2010, pp. 13. [Consulta: 30 abril 2020]. Disponible en: <https://www.epa.gov/assessing-and-managing-chemicals-under-tsca/nonylphenol-np-and-nonylphenol-ethoxylates-npes>

GANNON, J.E. ADAMS, M.C. y BENNETT, E.O., Microbial degradation of diethanolamine and related compounds. *Microbios* [en línea], 1978, vol. 23, no. 91, pp. 7-18. [Consulta: 29 junio 2020] ISSN 0026-2633. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/756949/>

GARCÍA, J. *Tensioactivos y detergencia*. Madrid: Dossat S.A. [en línea], 1986. [Consulta: 8 marzo 2020] ISBN 978-84-237-0687-7.

GARCÍA, J.L. Aislamiento de bacterias que degradan celulosa [en línea], 2016. [Consulta: 28 febrero 2020]. Disponible en: https://www.academia.edu/29786464/Aislamiento_de_bacterias_que_degradan_celulosa.

GERBA, C.P. Quaternary Ammonium Biocides: Efficacy in Application. En: V. MÜLLER (ed.), *Applied and Environmental Microbiology* [en línea], 2015, vol. 81, no. 2, pp. 464-469. [Consulta: 27 abril 2020] ISSN 0099-2240, 1098-5336. DOI 10.1128/AEM.02633-14. Disponible en: <http://aem.asm.org/lookup/doi/10.1128/AEM.02633-14>

GIL, A. Análisis y caracterización de agentes tensioactivos, polímeros y Química Fina en un laboratorio de control [en línea], 2014, pp. 82. [Consulta: 3 marzo 2020] Disponible en: https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/13628/GilMuino_Ana_TFM_2014.pdf?sequence=2&isAllowed=y

GIL, M. Agar MacConkey: fundamento, preparación y usos. *Lifeder* [en línea], 2019. [Consulta: 12 mayo 2020]. Disponible en: <https://www.lifeder.com/agar-macconkey/>.

GIL, M., et al. Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos [en línea], 2012, vol. 7, no. 2, pp. 52-73. [Consulta: 3 marzo 2020]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/pml/v7n2/v7n2a05.pdf>

HEGSTAD, K., et al. Does the wide use of quaternary ammonium compounds enhance the selection and spread of antimicrobial resistance and thus threaten our health? *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)* [en línea], 2010, vol. 16, no. 2, pp. 91-104. [Consulta: 16 junio 2020]. ISSN 1931-8448. DOI 10.1089/mdr.2009.0120. Disponible en: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/mdr.2009.0120>

HERNÁNDEZ, R. y MENDOZA, C. *Metodología de la investigación: las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta*. Ciudad de México: McGraw-Hill Interamericana. 2018. [Consulta: 23 diciembre 2020] ISBN 978-1-4562-6096-5.

HERRERA, X. Determinación y Evaluación Comparativa de la Cinética de Biodegradación de los Tensioactivos Lauril Éter Sulfato de Sodio (Aniónico), Alcohol Etoxilado (No Iónico) y Cocoamido Propil Betaína (Anfótero) En Condiciones Ambientales [en línea], 2017, pp. 161. [Consulta: 22 junio 2020]. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/2401>

HERRERO, S. Elaboración práctica y técnica de cosméticos, productos de limpieza y afinez [en línea], 2016. [Consulta: 28 abril 2020]. Disponible en: <https://docplayer.es/3713639-Elaboracion-practica-y-tecnica-de-cosmeticos-productos-de-limpieza-y-afinez.html>.

IANNACONE, J., SALAZAR, N. y ALVARIÑO, L. Variabilidad del ensayo ecotoxicológico con *Chironomus calligraphus* Goeldi (Diptera: Chironomidae) para evaluar cadmio, mercurio y Plomo. *Ecología Aplicada* [en línea], 2016, vol. 2, no. 1-2, pp. 103. [Consulta: 28 febrero 2020]. ISSN 1993-9507, 1726-2216. DOI 10.21704/rea.v2i1-2.256. Disponible en: <http://revistas.lamolina.edu.pe/index.php/eau/article/view/256>

IBRAHIM, H.A.H., ZAHARAN, H.F. y YOUSSEF, M. Microbial degradation of sodium lauryl sulfate (SLS) using bacterial consortium isolated from coastline of Alexandria city. [en línea], 2012, pp. 23. [Consulta: 27 de septiembre 2020]. Disponible en: https://jhiphalexu.journals.ekb.eg/article_20132_1f583aff965eb74b9e90a46858be04f.pdf

JIMÉNEZ, D., MEDINA, S. y GRACIDA, J. Propiedades, aplicaciones y producción de biotensioactivos: una revisión. *Revista internacional de contaminación ambiental* [en línea], 2010, vol. 26, no. 1, pp. 65-84. [Consulta: 5 de marzo 2020]. ISSN 0188-4999. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0188992010000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es

KARRAY, F., et al. Scale-down studies of membrane bioreactor degrading anionic surfactants wastewater: Isolation of new anionic-surfactant degrading bacteria. *International Biodeterioration & Biodegradation* [en línea], 2016, vol. 114, pp. 14-23. [Consulta: 5 de marzo 2020]. ISSN 0964-8305. DOI 10.1016/j.ibiod.2016.05.020. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0964830516301688>

LASTRA, S. Centro de Información de Medicamentos y Tóxicos, Diethanolamine de coco [en línea], 2016. [Consulta: 22 junio 2020]. Disponible en: https://ciemto.medicinaudea.co/system/comfy/cms/files/files/000/000/481/original/DIETANOL_AMIDA_DE_COCO.pdf.

LAXMAN SHASTTRI & ONKAR SUMANT. Surfactants Market Size | Global Industry Trend Analysis 2018-2025. *Allied Market Research* [en línea], 2018. [Consulta: 5 marzo 2020]. Disponible en: <https://www.alliedmarketresearch.com/surfactanmarket>.

LECHUGA, M. *Biodegradación y toxicidad de tensioactivos comerciales* [en línea], 2005. [Consulta: 5 marzo 2020]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=72491>

LÓPEZ, L. y TORRES, C. *Trabajo Práctico N° 6* [en línea]. 2006. S.l.: Universidad Nacional del Nordeste. [Consulta: 20 marzo 2020]. Disponible en: <http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp6.pdf>.

LÓPEZ, M. Caracterización físicoquímica y bacteriológica de aguas de la laguna de colta de la zona central del Ecuador [en línea], 2018, pp. 136. [Consulta: 12 octubre 2020]. Disponible en: <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/29155/2/D%c3%adaz%20Erriaz%2c%20Andrea%20del%20Pilar.pdf>

LORES, S. y ÁNGEL, M. *Evaluación de la biodegradabilidad y ecotoxicidad de tensioactivos en el medio acuático marino* [en línea], 2008. S.l.: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Cádiz. [Consulta: 29 febrero 2020]. ISBN 978-84-692-3372-6. Disponible en: <https://rodin.uca.es/xmlui/handle/10498/15738>.

LUNA, J. *Manual de prácticas de laboratorio: microbiología general y aplicada*. 2012. S.l.: Editorial Unimagdalena. ISBN 978-958-746-045-2.

LUNA, J. *Métodos analíticos de microbiología general y aplicada* [en línea], 2020. S.l.: Editorial Unimagdalena. ISBN 978-958-746-249-4. Disponible en: Luna Fontalvo, J. A. (2020). Métodos analíticos de microbiología general y aplicada. Editorial Unimagdalena. <https://elibro.net/es/ereader/epoch/128443?page=63>.

MACAS, C. y TIPANTASIG, K. *Evaluación de la tolerancia al pesticida glifosato de la microbiota de la Laguna de Colta* [en línea], 2019. Ecuador: s.n. [Consulta: 1 junio 2020]. Disponible en: <http://dspace.epoch.edu.ec/bitstream/123456789/11162/1/236T0446.pdf>.

MAE. *Acuerdo N° 97/A - Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes al recurso agua (Anexo 1, Libro VI de la Calidad Ambiental, del Texto Unificado de la Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente)* [en línea]. 2015. Disponible en: http://quitoambiente.gob.ec/ambiente/images/Secretaria_Ambiente/Documentos/calidad_ambiental/normativas/acuerdo_ministerial_97a.pdf.

MARÍN, R. *Microbiología de las aguas* [en línea], 2014. [Consulta: 2020]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=130557>

MCDONNELL, G. Compuestos de amonio cuaternario: una visión general | Esterilización y desinfección | Temas de ScienceDirect [en línea], 2009. [Consulta: 16 junio 2020]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/quaternary-ammonium-compounds>.

MCKEEN, L. Introduction to Food Irradiation and Medical Sterilization. En: L. MCKEEN (ed.), *The Effect of Sterilization on Plastics and Elastomers (Third Edition)* [en línea] 2012, Boston: William Andrew Publishing, Plastics Design Library, pp. 1-40. [Consulta: 26 junio 2020]. ISBN 978-1-4557-2598-4. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781455725984000010>.

MERRETTIG, U. y JELEN, E. Anaerobic Biodegradation of Detergent Surfactants. *Materials* [en línea], 2009, vol. 2, no. 1, pp. 181-206. [Consulta: 5 junio 2020]. ISSN 1996-1944. DOI 10.3390/ma2010181. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5445686/>

MOELLER, D.G. Microbiología de lodos activados [en línea], 2010, pp. 61. [en línea], 201. [Consulta: 2 febrero 2020]. Disponible en: <http://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/bvirtual/018834/MEMORIAS2004/CapituloII/5Microbiologiadelodosactivados.pdf>

MORDOR INTELLIGENCE. Surfactants Market | Growth, Trends, and Forecast (2019 - 2024). [en línea], 2018. [Consulta: 5 marzo 2020]. Disponible en: <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/surfactants-market>.

MOUKALLED, H. Efectos de los detergentes en el agua - GreenArea.me [en línea], 2015. [Consulta: 3 marzo 2020]. Disponible en: <http://greenarea.me/es/95583/efectos-de-los-detergentes-en-el-agua/>.

NTE INEN 1205. Agua. Determinación del número total de bacterias en placas [en línea]. 2013. [Consulta: 27 marzo 2020]. Disponible en: <http://www.trabajo.gob.ec/wp-content/uploads/2012/10/NTE-INEN-1205-1-AGUA.-DETERMINACION%20C3%93N-DEL%20N%20C3%9AMERO-TOTAL-DE-BACTERIAS-EN-PLACAS.pdf>.

NTE INEN 2176. Agua. Calidad del agua. Muestreo. Técnicas de muestreo [en línea], 2013. [Consulta: 9 marzo 2020]. Disponible en: <https://www.trabajo.gob.ec/wp-content/uploads/2012/10/NTE-INEN-2176-AGUA.-CALIDAD-DEL-AGUA.-MUESTREO.-T%20C3%89CNICAS-DE-MUESTREO.pdf?x42051>

OLIART, R., MANRESA, Á. y SÁNCHEZ, M. Utilización de microorganismos de ambientes extremos y sus productos en el desarrollo biotecnológico [en línea], 2016. [Consulta: 29 febrero 2020]. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-78582016000200079.

OSPINA, J. Diseño, Síntesis y Caracterización Fisicoquímica de Surfactantes derivados de γ -Aminoácidos preparados a partir de (-)- Verbenona. Bellaterra: Universidad de Autònoma de Barcelona [en línea], 2012. [Consulta: 1 junio 2020]. Disponible en: https://ddd.uab.cat/pub/trerecpro/2012/hdl_2072_218020/TFM_JimenaAndreaOspinaChavez.pdf

PÉREZ, J.E.P. Evaluación de microorganismos capaces de crecer en presencia de tensoactivos aislados a partir de efluentes de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales del Cantón Patate [en línea], 2019, pp. 104. [Consulta: 2020]. Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/10580/1/236T0424.pdf>

PÉREZ, L., PETRO, K. y VERONA, M. Biorremediación. *calameo.com* [en línea], 2015. [Consulta: 5 marzo 2020]. Disponible en: <https://www.calameo.com/read/00438871255a2eb9f4e2f>.

PRESCOTT, L.M. *Microbiología* [en línea], 2004, McGraw-Hill Interamericana. Disponible en: <https://elibro.net/es/ereader/epoch/101900?page=167>.

PROQUIMIA. Amonios cuaternarios | Limpieza y Desinfección de superficies. *Proquimia* [en línea], 2020. [Consulta: 27 abril 2020]. Disponible en: <https://www.proquimia.com/evolucion-y-caracteristicas-de-los-amonios-cuaternarios-para-desinfeccion-de-superficies/>.

PRTR ESPAÑA. Nonifenol y Etoxilatos de nonifenol (NP/NPE) | PRTR España [en línea], 2019. [Consulta: 29 junio 2020]. Disponible en: <http://www.prtr-es.es/Nonifenol-y-Etoxilatos-de-nonifenol,15651,11,2007.html>.

RAMÍREZ, N., SERRANO, J. y SANDOVAL, H. Microorganismos extremófilos. Actinomicetos halófilos en México. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* [en línea],

2006, vol. 37, no. 3, pp. 56-71. [Consulta: 26 mayo 2020]. ISSN 1870-0195. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57937307>

REUTELSHÖFER, T. y GUZMÁN, L. *Guía para la toma de muestras de agua residual* [en línea]. 2015. PERIAGUA. [Consulta: 24 agosto 2020]. Disponible en: https://www.bivica.org/files/5376_aguas-residuales-muestra.pdf.

RÍOS, F. *Comportamiento Ambiental de Tensioactivos Comerciales: Biodegradabilidad, Toxicidad y Ozonificación* [en línea]. 2014. [Consulta: 29 febrero 2020]. Disponible en: <https://hera.ugr.es/tesisugr/24452968.pdf>.

SALAZAR, E. y NIEVES, B. *Acinetobacter spp.: Aspectos microbiológicos, clínicos y epidemiológicos* [en línea], 2005. [Consulta: 11 junio 2020]. Disponible en: <https://medicina.ufm.edu/wp-content/uploads/2017/03/Acinetobacter.pdf>.

SANTIAGO, M. *Manual de prácticas de laboratorio microbiología Iy II*. 2006. [Consulta: 13 marzo 2020]. Disponible en: <https://microinmuno.files.wordpress.com/2013/07/manual-de-microbiologia-ii-medicina.pdf>

SANZ, A. *Química Orgánica Industrial* [en línea], 2010. [Consulta: 29 febrero 2020]. Disponible en: <https://www.eii.uva.es/organica/qoi/tema-10.php>.

SIDHU, M.S., SØRUM, H. y HOLCK, A. Resistance to quaternary ammonium compounds in food-related bacteria. *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)*[en línea], 2002. vol. 8, no. 4, pp. 393-399. [Consulta: 16 junio 2020] ISSN 1076-6294. DOI 10.1089/10766290260469679. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12523638/>

SOLE, A. Tensioactivos en la industria textil [en línea], 2014, vol. 3, no. 3. [Consulta: 3 marzo 2020]. ISSN 2254 – 4143. Disponible en: <https://www.3ciencias.com/wp-content/uploads/2014/09/TENSIOACTIVOS-EN-LA-IND%20C3%9ASTRIA-TEXTIL.pdf>

SORIA, F. *Plate Count Agar Placa PCA-propiedades* [en línea]. 2009, pp. 1-2. [Consulta: 1 febrero 2020]. Disponible en: http://f-soria.es/Inform_soria/Difco%20Fichas%20tecnicas/PLACAS%20DIFCO%20Y%20CROMOG ENICAS%20BD/FT%20PLATE%20COUNT%20AGAR.pdf.

STARK, A. Report on the Global Market for Surfactants [en línea], 2017. [Consulta: 5 marzo 2020]. Disponible en: <https://www.process-worldwide.com/report-on-the-global-market-for-surfactants-a-663256/>.

SUN, H.W., et al. The Bioconcentration and Degradation of Nonylphenol and Nonylphenol Polyethoxylates by *Chlorella vulgaris*. *International Journal of Molecular Sciences*, 2014 vol. 15, no. 1, pp. 1255-1270. ISSN 1422-0067. DOI 10.3390/ijms15011255.

TORRES, D. Caracterización microbiológico del agua residual de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR), ubicada en el campus de la Universidad Militar Nueva Granada – Sede Cajicá [en línea], 2012, pp. 39. [Consulta: 29 junio 2020]. Disponible en: <https://repository.unimilitar.edu.co/handle/10654/9344>

TORRES, Ó.D. La bioprospección en Colombia. *EXPEDITIO* [en línea], 2011, no. 7. [Consulta: 2 marzo 2020]. ISSN 2145-6836. Disponible en: <https://revistas.utadeo.edu.co/index.php/EXP/article/view/732>.

UNESCO. Hidrología (PHI). *UNESCO* [en línea], 2015. [Consulta: 29 febrero 2020]. Disponible en: <https://es.unesco.org/themes/garantizar-suministro-agua/hidrologia>.

VALLEJOS, Y. Valoración de la efectividad antimicrobiana de un desinfectante de amonio cuaternario de última generación [en línea], 2009 [Consulta: 26 junio 2020]. Disponible en: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/2940/1/214512.pdf>.

WILLIAMS, G.R. y CALLELY, A.G. The Biodegradation of Diethanolamine and Triethanolamine by a Yellow Gram-negative Rod. *Microbiology*, 1982, vol. 128, no. 6, pp. 1203-1209. ISSN 1350-0872,. DOI 10.1099/00221287-128-6-1203.

WU, Q., et al. Research progress of surfactant biodegradation. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2019, vol. 227, pp. 052023. ISSN 1755-1315. DOI 10.1088/1755-1315/227/5/052023.

YÁÑEZ. Agentes físicos [en línea], 2013. [Consulta: 27 diciembre 2020]. Disponible en: https://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/13agfisicos.htm#_Toc59451619.

YÉPEZ, C. *Remoción de Detergentes de Aguas Residuales Textiles Empleando Hongos Seleccionados Obtenidos a partir de Efluentes de Industria Textil Y evaluacion de su tolerancia A metales Pesados a nivel de Laboratorio* [en línea]. 2011. S.l.: s.n. Disponible en: <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/4949/2/T-ESPE-033018.pdf>.

YVES, J. Impacto Ambiental. El planeta herido. 2015, pp. 32.

ANEXOS

ANEXO A: Análisis del Agua de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Villa La Unión, Cantón Colta



ALS Ecuador
Rigoberto Heredia Oe6-157 y Huachi
Quito, Ecuador
T: +59 3 2341 4080

PROTOCOLO: 489696/2020-1.0	RU-49
SISTEMA INTEGRADO DE GESTIÓN	Revisión: 12
	Página 1 de 3

NOMBRE DEL CLIENTE:	GOBIERNO AUTÓNOMO DESCENTRALIZADO MUNICIPAL DEL CANTÓN COLTA
DIRIGIDO EN ATENCIÓN A:	INGENIERA ERIKA LLANGA
NOMBRE DEL PROYECTO:	ANÁLISIS DE AGUA DE CONSUMO HUMANO DE VILLA LA UNIÓN, AGUAS TRATADAS Y LODOS RESULTANTES DE PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA UNIÓN Y COLUMBE / CP-GADMCC-2020
DIRECCIÓN DEL PROYECTO:	PTAR VILLA LA UNIÓN, COLTA / CHIMBORAZO
MUESTREO REALIZADO POR:	CORPLABEC S.A. / QUÍMICO ALEX MINDA - INGENIERO MILTÓN ÁVILA
PROCEDIMIENTO MUESTREO:	POE-04.00 "MUESTREO DE AGUAS", SM 1060 A, B y C (*)
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS:	NOVIEMBRE 16 DEL 2020 / 09:34 / Nº CADENA DE CUSTODIA: 0012149 / Nº ESPECIFICACIÓN PLAN DE MUESTREO: NO APLICA
LUGAR DE ANÁLISIS:	CORPLABEC S.A. / QUITO - RIGOBERTO HEREDIA OE6-157 Y HUACHI
FECHA DE ANÁLISIS:	NOVIEMBRE 13 AL 14 DE DICIEMBRE DEL 2020
FECHA DE EMISIÓN DE INFORME:	14 DE DICIEMBRE DEL 2020

INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

MATRIZ	AGUA RESIDUAL					
CÓDIGO DE LABORATORIO	CÓDIGO DE MUESTREO	REFERENCIA	FECHA DE MUESTREO	HORA DE MUESTREO	COORDENADAS UTM WGS 84	OBSERVACIONES
57693-1	A1	Descarga PTAR Villa La Unión	13/11/2020	10:05	17M0747767 9812518 ± 5m	Ninguna Observación

REFERENCIAS Y OBSERVACIONES

Laboratorio de Ensayo ALS acreditado por el SAE con Acreditación Nº SAE LEN 05-005.

Los ensayos marcados con (*) no están incluidos en el alcance de acreditación del SAE.

SM - Standard Methods.

EPA - Environmental Protection Agency.

Los resultados solo se refieren a las muestras analizadas. ALS declina toda responsabilidad por el uso de los resultados aquí presentados.

"Si las condiciones de muestreo fueron controladas según los Procedimientos Correspondientes establecidos por ALS; éstas no inciden en los resultados que se describen en el presente informe".

Este informe no podrá ser reproducido parcialmente, sin la autorización escrita de ALS.

Sin la firma electrónica del Responsable Técnico, este informe no es válido.





PROTOCOLO: 489696/2020-1.0	RU-49
	Revisión: 12
	Página 2 de 3
SISTEMA INTEGRADO DE GESTIÓN	

RESULTADOS OBTENIDOS

PARÁMETROS ANALIZADOS	METODOLOGÍA DE REFERENCIA	MÉTODO INTERNO ALS	UNIDAD	57893-1	INCERTIDUMBRE (K=2)	⁽¹⁾ LÍMITE MÁXIMO PERMISIBLE	⁽²⁾ CRITERIO DE RESULTADOS
				A1			
POTENCIAL HIDRÓGENO	Standard Methods Ed. 23, 2017, 4500-H+ A y 4500-H+ B	POS - 25.00	U pH	7,35	± 0,08 U pH	6 - 9	CUMPLE
ACEITES Y GRASAS GRAVIMÉTRICO	Standard Methods Ed. 23, 2017, 5520 B	PA - 43.00	mg/l	<20,0	± 4,4 mg/l	30,0	CUMPLE
CLORO LIBRE	EPA 330.5, 1978 Standard Methods Ed. 23, 2017, 4500-CI G	POS - 24.00	mg/l	<0,50	± 0,06 mg/l	0,5	CUMPLE
COLIFORMES FECALES	Standard Methods Ed. 23, 2017, 9221 B, E y F	PA - 66.00	NMP/100ml	110,0	± 1,4 NMP/100ml	2000	CUMPLE
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO	Standard Methods Ed. 23, 2017, 5210 B	PA - 45.00	mg/l	30,57	± 2,53 mg/l	100	CUMPLE
DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO	Standard Methods Ed. 23, 2017, 5220 D	PA - 01.00	mg/l	72,8	± 4,0 mg/l	200	CUMPLE
NITRÓGENO TOTAL KJELDAHL	Standard Methods Ed. 23, 2017, 4500-Norg C	PA - 72.00	mg/l	20,31	± 0,45 mg/l	50,0	CUMPLE
NITRÓGENO AMONICAL	Standard Methods Ed. 23, 2017, 4500-NH3 F	PA - 30.00	mg/l	19,95	± 0,03 mg/l	30,0	CUMPLE
SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES	Standard Methods Ed. 23, 2017, 2540 A y 2540 D	PA - 16.00	mg/l	32,0	± 1,7 mg/l	130	CUMPLE
SÓLIDOS SEDIMENTABLES	Standard Methods Ed. 23, 2017, 2540 A y 2540 F	PA - 46.00	ml/l	<0,5	± 0,1 ml/l	NO APLICA	NO APLICA
SÓLIDOS TOTALES	Standard Methods Ed. 23, 2017, 2540 A y 2540 B	PA - 14.00	mg/l	422,0	± 3,2 mg/l	1600	CUMPLE
TENSOACTIVOS	Standard Methods Ed. 23, 2017, 5540 A y 5540 C	PA - 12.00	mg/l	3,9 ⁽³⁾	± 0,04 mg/l	0,5	NO CUMPLE
TEMPERATURA	Standard Methods Ed. 23, 2017, 2550 B	PA - 47.00	°C	15,9	± 0,2 °C	Condición natural ± 3	CUMPLE
COLOR REAL DILUCIÓN 1/20	Standard Methods Ed. 23, 2017, 2120 C	PA - 75.00	Pt-Co	0,00 ⁽⁴⁾	-	⁽²⁾ Inapreciable en dilución: 1/20	CUMPLE

REFERENCIAS Y OBSERVACIONES

La información (1), (2), (3) que se indican a continuación, están FUERA del alcance de acreditación del SAE.

⁽¹⁾ Acuerdo Ministerial N° 097-A, TULSMA, Libro VI, Anexo 1, Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes al recurso agua. Tabla 9: Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce.

⁽²⁾ La apreciación del color se estima sobre 10 cm de muestra diluida.

⁽³⁾ Criterio de resultados.

⁽⁴⁾ Los valores reportados se encuentran fuera del rango de acreditación del SAE para Tensoactivos de 0,1 a 1,0 mg/l, Color de 5,51 a 153 Pt-Co.

ANEXO B: Evaluación del crecimiento de los clones en el afluente

Día	Dilución	Repetición	17°C		Total UFC/ml	35°C		Total UFC/ml
			Tiempo (H)			Tiempo (H)		
			48	72		48	72	
Lunes	10 ⁻³	R1	223	249	2.3x10 ⁶	184	205	1.81x10 ⁶
		R2	218	233		146	172	
		R3	187	221		133	165	
	10 ⁻⁴	R1	40	46	4.3x10 ⁶	16	27	2.6x10 ⁶
		R2	37	41		14	25	
		R3	38	42		20	26	
Martes	10 ⁻³	R1	239	254	2.42x10 ⁶	146	159	1.63x10 ⁶
		R2	223	230		145	178	
		R3	337	242		135	153	
	10 ⁻⁴	R1	37	50	4.77x10 ⁶	23	26	2.7x10 ⁶
		R2	36	46		12	28	
		R3	38	47		19	27	
Miércoles	10 ⁻³	R1	237	251	2.55x10 ⁶	163	184	1.75x10 ⁶
		R2	246	260		151	170	
		R3	237	253		157	171	
	10 ⁻⁴	R1	42	51	4.87x10 ⁶	18	38	3.2x10 ⁶
		R2	39	43		20	33	
		R3	43	52		17	25	
Jueves	10 ⁻³	R1	265	286	2.54x10 ⁶	150	171	1.64x10 ⁶
		R2	221	237		139	168	
		R3	229	240		128	152	
	10 ⁻⁴	R1	33	43	3.93x10 ⁶	15	22	2.5x10 ⁶
		R2	27	36		14	23	
		R3	30	39		17	30	
Viernes	10 ⁻³	R1	262	247	2.58x10 ⁶	167	191	1.7x10 ⁶
		R2	222	241		136	148	
		R3	262	286		149	170	
	10 ⁻⁴	R1	34	37	3.87x10 ⁶	26	31	2.9x10 ⁶
		R2	31	36		21	34	
		R3	37	43		16	22	

ANEXO C: Evaluación del crecimiento de los clones en el efluente

Día	Repetición	17°C		Total UFC/ml	35°C		Total UFC/ml
		Tiempo (H)			Tiempo (H)		
		48	72		48	72	
Lunes	R1	255	267	2.69x10 ⁵	181	221	2.26x10 ⁵
	R2	248	263		192	232	
	R3	253	278		178	225	
Martes	R1	241	253	2.66x10 ⁵	180	223	2.20x10 ⁵
	R2	267	277		191	223	
	R3	254	267		177	214	
Miércoles	R1	248	259	2.56x10 ⁵	186	225	2.33x10 ⁵
	R2	248	262		176	218	
	R3	234	246		193	234	
Jueves	R1	248	259	2.66x10 ⁵	189	218	2.21x10 ⁵
	R2	244	260		188	226	
	R3	270	280		170	220	
Viernes	R1	265	269	2.55x10 ⁵	189	234	2.31x10 ⁵
	R2	244	251		190	226	
	R3	240	246		184	232	

ANEXO D: Evaluación de tolerancia hacia el Amonio cuaternario

Temperatura	Clon	Concentraciones					
		10%	30%	50%	70%	90%	100%
17°C		Diámetros (mm)					
	Clon 1	1,33	1	1	0,33	0	0
	Clon 2	0,33	0,33	1	0,67	0	0
	Clon 3	0,33	0,67	1,33	1,00	0,67	0,33
	Clon 8	1,33	0,33	0	0	0	0
	Clon 10	1,67	0,33	0	0	0	0
35°C	Clon 1	1	0,33	0	0	0	0
	Clon 4	1,33	1	0,67	0	0	0
	Clon 10	1	0	0	0	0	0

ANEXO E: Evaluación de tolerancia hacia la Dietanolamina

Temperatura	Clon	Concentraciones					
		10%	30%	50%	70%	90%	100%
17°C		Diámetros (mm)					
	Clon 1	11	9	9	7	8	9
	Clon 2	6	6	5	5	6	5
	Clon 3	10	8	8	7	9	8
	Clon 4	6	5	4	4	4	4
	Clon 6	7	5	6	5	6	6
	Clon 8	8	6	6	6	5	5
35°C	Clon 10	4	3	3	5	4	4
	Clon 1	7	6	6	4	4	4
	Clon 2	10	10	9	7	7	5
	Clon 3	16	15	13	13	11	10
	Clon 4	3	3	2	1	0	0
Clon 6	1	0	0	0	0	0	

ANEXO F: Evaluación de tolerancia hacia el Lauril Sulfato de Sodio (Texapon)

Temperatura	Clon	Concentraciones					
		10%	30%	50%	70%	90%	100%
17°C		Diámetros (mm)					
	Clon 1	10	13	7	7	6	6
	Clon 2	5	6	6	7	7	7
	Clon 3	9	13	13	12	12	11
	Clon 4	9	8	6	6	7	7
	Clon 6	8	8	6	6	7	7
	Clon 8	6	6	5	5	5	5
35°C	Clon 10	5	4	4	4	4	4
	Clon 1	3	5	4	4	4	4
	Clon 2	6	7	7	7	6	6
	Clon 3	7	10	7	10	8	4
Clon 4	2	2	1	0	0	0	

ANEXO G: Evaluación de tolerancia hacia el Nonil Fenol Etoxilato 10 moles

Temperatura	Clon	Concentraciones						
		10%	30%	50%	70%	90%	100%	
		Diámetros (mm)						
17°C	Clon 1	12	11	11	8	8	7	
	Clon 2	6	7	7	7	8	8	
	Clon 3	12	10	9	10	8	7	
	Clon 4	6	6	8	7	6	6	
	Clon 6	7	7	7	7	6	6	
	Clon 8	11	9	8	5	5	5	
	Clon 9	4	4	3	3	3	3	
	Clon 10	2	1	1	0	0	0	
	35°C	Clon 1	7	9	6	5	4	4
		Clon 2	9	9	7	7	8	7
Clon 3		10	9	7	10	15	15	
Clon 4		2	4	5	3	2	1	
Clon 6		2	1	0	0	0	0	

ANEXO H: Recolección de muestras y medición de temperatura y pH

c.



b.



a.



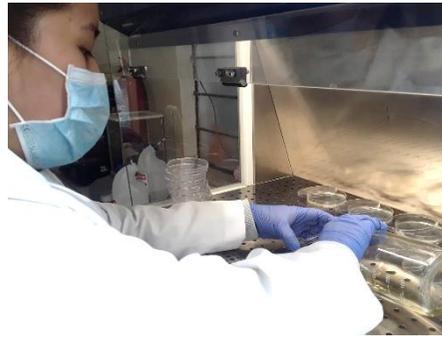
NOTAS	CATEGORIA DEL DIAGRAMA:	<p align="center"> ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL </p> <p align="center"> Elaborado por: Lilian Elizabeth Juntamay Tenezaca </p>	Recolección de muestras y medición de temperatura y pH		
			LAMINA	ESCALA	FECHA
a. Sitio 1: Afluente de la PTAR b. Sitio 2: Efluente de la PTAR c. Medición de temperatura y pH	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input checked="" type="checkbox"/> Información <input type="checkbox"/> Por calificar		1	1:1	25/11/2019

ANEXO I: Siembra de las muestras de agua residual

a.



b.



c.



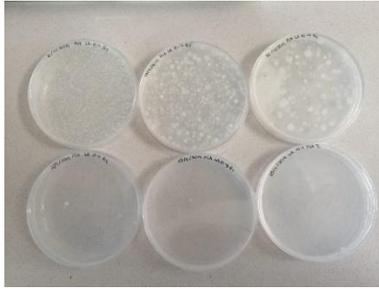
d.



NOTAS	CATEGORIA DEL DIAGRAMA:	<p style="text-align: center;">ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL</p> <p style="text-align: center;">Elaborado por: Lilian Elizabeth Juntamay Tenezaca</p>	Recolección de muestras y medición de temperatura y pH		
			LAMINA	ESCALA	FECHA
<p>a. Medio de cultivo PCA</p> <p>b. Distribución de medio de cultivo Cajas Petri</p> <p>c. Diluciones de las muestras de agua residual</p> <p>d. Incubación a 35° C</p>	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input checked="" type="checkbox"/> Información <input type="checkbox"/> Por calificar		2	1:1	29/11/2019

ANEXO J: Crecimiento bacteriano y conteo de colonias

a.



b.



c.



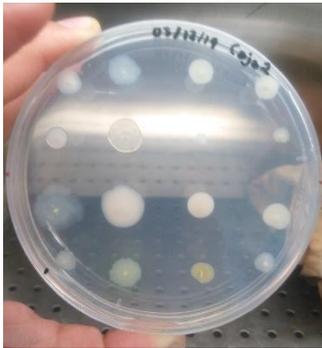
d.



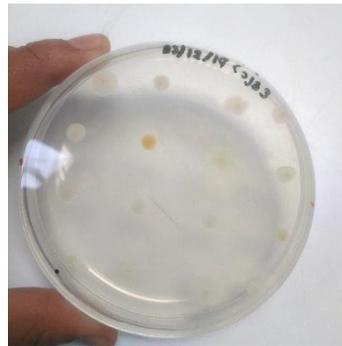
NOTAS	CATEGORIA DEL DIAGRAMA:	<p align="center"> ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL </p> <p align="center"> Elaborado por: Lilian Elizabeth Juntamay Tenezaca </p>	Recolección de muestras y medición de temperatura y pH		
			LAMINA	ESCALA	FECHA
a. Crecimiento de las diluciones 10^{-1} hasta 10^{-6} del afluente b. Crecimiento de las diluciones 10^{-1} hasta 10^{-5} del efluente c. Uso del contador de colonias d. Resultado del conteo	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input checked="" type="checkbox"/> Información <input type="checkbox"/> Por calificar	3	1:1	02/12/2019	

ANEXO K: Aislamiento de clones bacterianos

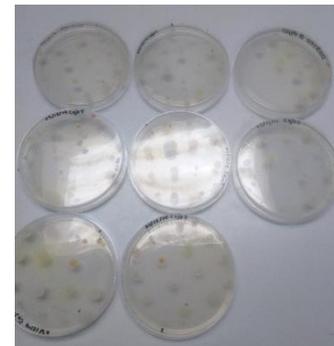
a.



b.



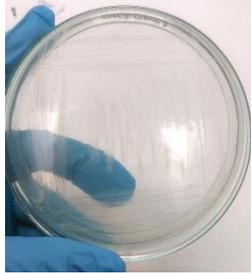
c.



NOTAS	CATEGORIA DEL DIAGRAMA:	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL Elaborado por: Lilian Elizabeth Juntamay Tenezaca	Recolección de muestras y medición de temperatura y pH		
			LAMINA	ESCALA	FECHA
a. Aislamiento de clones bacterianos caja 2 b. Aislamiento de clones bacterianos caja 3 c. Aislamiento de clones bacterianos y repiques con un total de 8 cajas	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input checked="" type="checkbox"/> Información <input type="checkbox"/> Por calificar		4	1:1	07/12/2019

ANEXO L: Aislamiento por agotamiento de las colonias 1 al 5

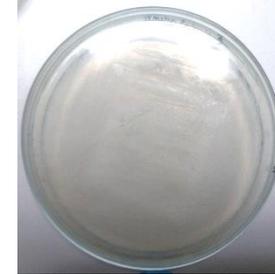
a.



b.



c.



e.

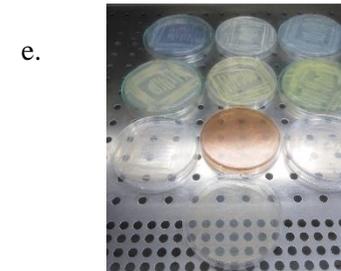
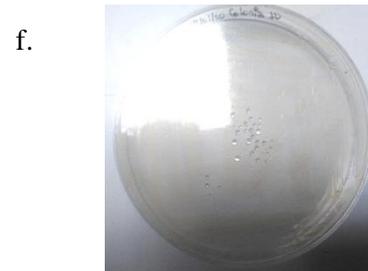
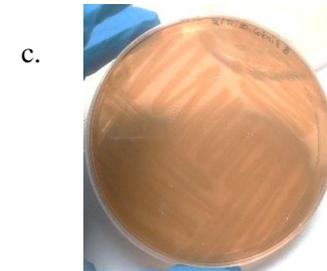
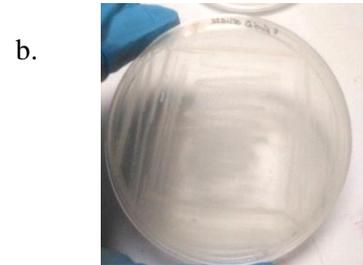
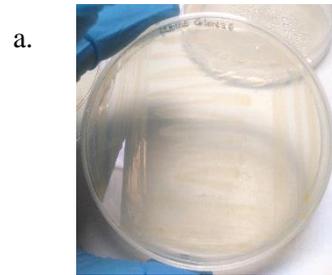


d.



NOTAS	CATEGORIA DEL DIAGRAMA:	<p align="center"> ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL </p> <p align="center"> Elaborado por: Lilian Elizabeth Juntamay Tenezaca </p>	Recolección de muestras y medición de temperatura y pH		
			LAMINA	ESCALA	FECHA
a. Colonia 1 b. Colonia 2 c. Colonia 3 d. Colonia 4 e. Colonia 5	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input checked="" type="checkbox"/> Información <input type="checkbox"/> Por calificar		5	1:1	22/01/2020

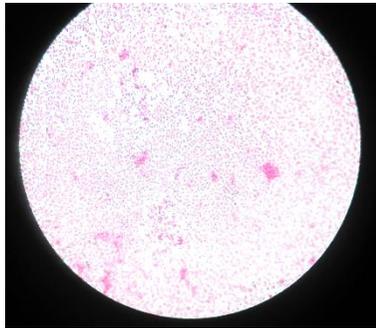
ANEXO M: Aislamiento por agotamiento de las colonias 6 al 10



NOTAS		CATEGORIA DEL DIAGRAMA:	Recolección de muestras y medición de temperatura y pH			
a.	Colonia 6	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input checked="" type="checkbox"/> Información <input type="checkbox"/> Por calificar	ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL Elaborado por: Lilian Elizabeth Juntamay Tenezaca	LAMINA	ESCALA	FECHA
b.	Colonia 7			6	1:1	22/01/2020
c.	Colonia 8					
d.	Colonia 9					
e.	Colonia 10					
f.	Colonias del 1 al 10					

ANEXO N: Tinción Gram

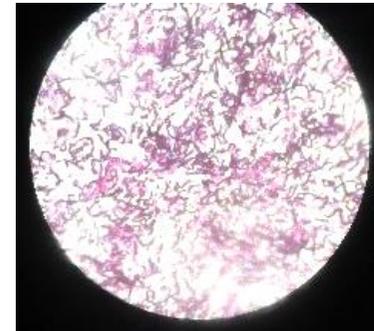
b.



a.

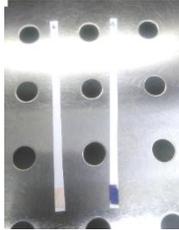


c.

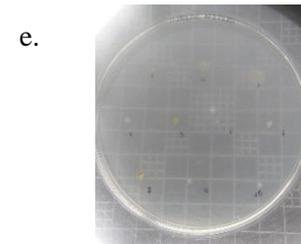
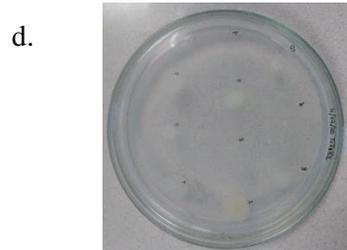
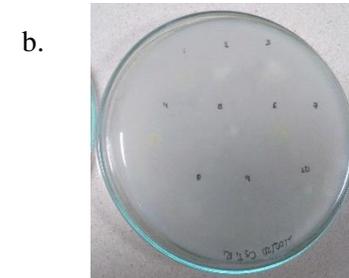


NOTAS	CATEGORIA DEL DIAGRAMA:	<p align="center"> ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL </p> <p align="center"> Elaborado por: Lilian Elizabeth Juntamay Tenezaca </p>	Recolección de muestras y medición de temperatura y pH		
			LAMINA	ESCALA	FECHA
a. Gram negativo cocos b. Gram positivos cocos c. Gram negativos bacilos	<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input checked="" type="checkbox"/> Información <input type="checkbox"/> Por calificar		7	1:1	24/01/2020

ANEXO O: Pruebas bioquímicas

d.		c.		b.		a.			
e.		f.		g.					
NOTAS		CATEGORIA DEL DIAGRAMA:		<p align="center">ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL</p> <p align="center">Elaborado por: Lilian Elizabeth Juntamay Tenezaca</p>			Recolección de muestras y medición de temperatura y pH		
<p>a. Preparación de medios para las pruebas bioquímicas</p> <p>b. Medios de cultivo ureasa, citrato y MacConkey</p> <p>c. Prueba catalasa positivo</p> <p>d. Prueba oxidasa positivo (azul), negativo (incolore)</p> <p>e. Prueba ureasa positivos (rosado), negativos (amarillo)</p> <p>f. Prueba de MacConkey positivo (rosado), negativo (rojo)</p>		<input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar <input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar <input checked="" type="checkbox"/> Información <input type="checkbox"/> Por calificar					LAMINA	ESCALA	FECHA
				8	1:1	23/01/2020			

ANEXO P: Evaluación de tolerancia a los tensioactivos



NOTAS	CATEGORIA DEL DIAGRAMA:	<p style="text-align: center;">ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL</p> <p style="text-align: center;">Elaborado por: Lilian Elizabeth Juntamay Tenezaca</p>	Recolección de muestras y medición de temperatura y pH		
			LAMINA	ESCALA	FECHA
<p>a. Preparación de medios de cultivo suplementados con tensioactivos</p> <p>b. Evaluación de tolerancia al Amonio Cuaternario</p> <p>c. Evaluación de tolerancia a la Dietanolamina</p> <p>d. Evaluación de la tolerancia al Lauril Sulfato de Sodio</p> <p>e. Evaluación de tolerancia de Nonil Fenol 10 moles</p>	<p><input type="checkbox"/> Aprobado <input type="checkbox"/> Preliminar</p> <p><input type="checkbox"/> Certificado <input type="checkbox"/> Por aprobar</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Información <input type="checkbox"/> Por calificar</p>	9	1:1	14/02/2020	



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE
CHIMBORAZO



DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS DEL
APRENDIZAJE

UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 25 / 06 / 2021

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: LILIAN ELIZABETH JUNTAMAY TENEZACA
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: CIENCIAS
Carrera: BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL
Título a optar: INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL
f. Analista de Biblioteca responsable: Lcdo. Holger Ramos, MSc.



Firmado electrónicamente por:
**HOLGER GERMAN
RAMOS UVIDIA**

0781-DBRA-UPT-2021