



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA
UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD
CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA
TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE INGENIERO QUÍMICO

TEMA:

APLICACIÓN DE *Trichoderma spp* EN LA PURIFICACIÓN DE
AGUAS RESIDUALES, UTILIZANDO BIORREACTORES DE
BIOPELICULA, EN LA UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS
QUÍMICAS Y DE LA SALUD DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE
MACHALA, 2014

Autor:

Jonatán Fabián Quiñonez León

Tutor

Ing. Byron Gonzalo Lapo Calderón, Mg. Sc

MACHALA EL ORO ECUADOR

2015

CERTIFICACIÓN

El presente trabajo de Titulación “**APLICACIÓN DE *Trichoderma spp* EN LA PURIFICACIÓN DE AGUAS RESIDUALES, UTILIZANDO BIORREACTORES DE BIOPELICULA, EN LA UNIDAD ACADEMICA DE CIENCIAS QUIMICAS Y DE LA SALUD DE LA UNIVERSIDAD TECNICA DE MACHALA, 2014**”, realizado por el autor Jonathan Fabián Quiñonez León, egresado de la carrera de ingeniería Química, ha sido prolijamente dirigido y revisado, por lo tanto autorizo su presentación previo a la obtención del título de Ingeniero Químico.

Ing. Byron Gonzalo Lapo Calderón, Mg. Sc.

TUTOR

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTORIA

Yo Jonatán Fabián Quiñonez León, con cédula de identidad 0704321066, egresado de la carrera de Ingeniería Química de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud, de la Universidad Técnica de Machala, responsable del Presente Trabajo de Titulación titulado “**APLICACIÓN DE *Trichoderma spp* EN LA PURIFICACIÓN DE AGUAS RESIDUALES, UTILIZANDO BIORREACTORES DE BIOPELICULA, EN LA UNIDAD ACADEMICA DE CIENCIAS QUIMICAS Y DE LA SALUD DE LA UNIVERSIDAD TECNICA DE MACHALA, 2014**”, Certifico que la responsabilidad de la investigación, resultados y conclusiones del presente trabajo pertenecen exclusivamente a mi autoría; una vez que ha sido aprobada por mi Tribunal de Sustentación autorizando su presentación. Deslindo a la Universidad Técnica de Machala de cualquier delito de plagio y cedo mis derechos de Autor a la Universidad Técnica de Machala para ella proceda a darle el uso que crea conveniente.

Jonatán Fabián Quiñonez León

C.I. 0704321066

AUTOR

RESPONSABILIDAD

El presente trabajo de Titulación: resultados, conclusiones y recomendaciones son de responsabilidad única y exclusiva del autor.

Jonatán Fabián Quiñonez León

C.I. 0704321066

DEDICATORIA

A Dios por haberme permitido la culminación de mi carrera profesional con éxito.

Con todo cariño por el apoyo incondicional de mis padres, a mis hermanos, hermanas, porque en ellos encontré paciencia apoyo constante, comprensión, para así poder alcanzar una de mis mayores metas trazadas durante mi vida estudiantil.

Jonatán Fabián Quiñonez León

AGRADECIMIENTOS

Agradezco principalmente a Dios, a mis padres y a toda mi querida familia, por haberme permitido y ayudado a desarrollar el presente trabajo de investigación.

Mi sincero agradecimiento a la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud que me ha formado como profesional, a mis compañeros de aula por su apoyo incondicional durante todos los periodos lectivos, a nuestros profesores por entregarnos sus conocimientos, paciencia y comprensión que forjaron un espíritu de esfuerzo motivándome a alcanzar la meta propuesta.

EL AUTOR

ÍNDICE GENERAL

CERTIFICACIÓN.....	ii
CESIÓN DE DERECHOS DE AUTORIA.....	iii
RESPONSABILIDAD.....	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTOS.....	vi
RESUMEN.....	x
INTRODUCCIÓN.....	1
PROBLEMA.....	2
OBJETIVOS.....	3
Objetivo General.....	3
Objetivos específicos.....	3
PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	4
HIPÓTESIS.....	4
1. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
1.1. AGUA RESIDUAL.....	5
1.1.1. Demanda Bioquímica de Oxígeno.....	5
1.2. AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS.....	6
1.2.1. Características de las Aguas Residuales Doméstica.....	6
1.2.1.1. <i>Características Físicas</i>	6
1.2.1.2. <i>Características Químicas</i>	8
1.2.1. Composición de las Aguas Residuales Domésticas.....	13
1.3. CANTIDAD DE AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS.....	15
1.4. SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.....	16
1.4.1. La Depuración de las Aguas Residuales.....	16
1.4.1.1. Según el Medio de Eliminación de los Contaminantes.....	17
2.2. TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.....	18
2.2.1. Procesos Biológicos Unitarios.....	18
2.2.1.1. <i>Digestión Aerobia</i>	19
2.2.1.2. Función de los Microorganismos.....	20

1.5.	<i>Trichoderma spp</i>	21
1.5.1.	Taxonomía	22
2.2.2.	Morfología	24
2.2.3.	Factores que influyen en el crecimiento	25
2.2.3.1.	Temperatura	25
2.	METODOLOGÍA	28
2.1.	LOCALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	28
2.1.1.	Tipo de Investigación	29
2.1.1.1.	<i>Descriptiva</i>	29
2.1.1.2.	<i>Experimental</i>	29
2.2.	UNIVERSO Y MUESTRA	30
2.3.	MEDIO DE FERMENTACIÓN Y CONDICIONES DE CULTIVO	30
2.3.1.	Obtención de Inóculo	30
2.3.	TIEMPO Y CARACTERÍSTICAS DE OPERACIÓN DE LOS REACTORES ..	31
2.4.	AGUA RESIDUAL	32
2.5.	REACTORES	32
2.6.	EFICIENCIA EN LA REMOCIÓN DE DQO _s	33
2.7.	MÉTODOS ANALÍTICOS UTILIZADOS	33
2.7.1.	Determinación del pH	33
2.7.2.	Determinación del Oxígeno Disuelto	33
2.7.3.	DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO SOLUBLE (DQO _s)	34
2.7.4.	NITRÓGENO TOTAL	34
2.7.5.	FÓSFORO TOTAL	35
2.7.6.	SOLIDOS SUSPENDIDOS VOLÁTILES (SSV)	36
2.8.	RECURSOS EMPLEADOS	37
2.8.1.	Recursos Humanos	37
2.8.2.	Recursos Físicos	37
2.8.3.	Equipos	37
2.8.4.	Materiales de Laboratorio	37
2.8.5.	Reactivos	38
2.8.6.	Varios	38

3. RESULTADOS.....	39
3.1. REMOCIÓN DE DQO VS. TIEMPO	39
3.1.1. FORMACIÓN DE SSV	40
3.1.2. RELACION SUSTRATO/BIOMASA (A/M) VS. TIEMPO	41
3.2. GRUPO F2.....	42
3.2.1. REMOCIÓN DE DQO VS. TIEMPO.....	42
3.3. GRUPO F3.....	44
3.3.1. REMOCIÓN DE DQO VS. TIEMPO.....	44
3.3.2. FORMACIÓN DE SSV	45
3.3.3. RELACION SUSTRATO/BIOMASA (A/M) VS. TIEMPO	46
6. BIBLIOGRAFÍA.....	50

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue aplicar *Trichoderma spp* en la purificación de aguas residuales, utilizando biorreactores de biopelícula. El diseño de la investigación fue de carácter descriptivo (describió situaciones y condiciones y definimos el tratamiento que resultó estadísticamente significativo en la disminución del DQO de las aguas residuales, experimental (Se realizó cuatro (4) experimentos, correspondientes a un diseño experimental completamente al azar, resultantes de considerar el factor [concentración del inóculo y cuatro niveles para este factor]). Es posible el uso de *Trichoderma spp.* para el tratamiento de aguas residuales en los inóculos experimentados en F1, F2, F3 correspondiente a 0,25, 0,5 y 0,75 g/L., obteniendo cinéticas de remoción alrededor del 70% en la remoción de DQO proveniente del canal el Macho de la ciudad de Machala. Así los resultados obtenidos no muestran diferencia significativa en los tratamientos aplicados.

Palabras claves: *Trichoderma spp*, biopelícula , inóculo, aguas residuales, DQO

SUMMARY

The objective of this research was to apply *Trichoderma* spp in the purification of waste water using bioreactors biofilm. The research design was descriptive (describing situations and conditions and define the treatment that was statistically significant in reducing the COD of the waste, experimental water (four experiments were carried out (4), corresponding to an experimental design completely randomized resulting considering the factor [inoculum concentration and four levels for this factor]). It is possible using *Trichoderma* spp. to treat wastewater inocula experienced in F1, F2, F3 corresponding to 0.25, 0 , 5 and 0.75 g / L., obtaining kinetic removal about 70% in COD removal channel from the Male City Machala. So the results show no significant difference in the treatments applied.

Keywords: *Trichoderma* spp biofilm inoculum, wastewater, COD

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el principal uso de la biotecnología es descontaminar o paliar la contaminación. Uno de los primeros usos fue la depuración de aguas residuales, seguida de la depuración de aire y efluentes gaseosos. Sin embargo, la biorehabilitación está pasando a concentrarse cada vez más en la depuración de los suelos y los desechos sólidos. La utilización de microorganismos ya es, hoy en día, la tecnología por excelencia para el tratamiento de las aguas residuales: el tratamiento biológico puede procesar distintos efluentes de manera más eficaz que con métodos químicos o físicos, y se adecua especialmente bien al tratamiento de las aguas residuales contaminadas por los agentes orgánicos más comunes. De hecho, ya hace más de 100 años que se utilizó por primera vez la biotecnología para el tratamiento de las aguas residuales. Desde entonces se han inventado procesos aerobios y anaerobios. El tratamiento aerobio ha pasado a ser la tecnología más comúnmente utilizada para los desechos de baja y media contaminación, así como para las moléculas tóxicas y persistentes. Los procesos anaerobios se adaptan mejor a los desechos con gran proporción de materia orgánica, como las aguas residuales del procesamiento de alimentos, los fangos urbanos y las lamas de la cría de animales, y en el correr de los últimos diez años, han venido reemplazando a los sistemas aerobios en muchos usos. Las plantas de tratamiento anaerobio de aguas residuales son más pequeñas, fraccionan los compuestos orgánicos y producen un gas combustible (metano), y pueden lograr tasas de recuperación de más del 80%. En la actualidad ya está muy extendida la aplicación de métodos biotecnológicos para eliminar nitratos, fosfatos, iones de metales pesados, compuestos orgánicos clorados y sustancias tóxicas (Hurtado, 2000).

El principal objetivo del tratamiento del agua solía ser reducir la materia orgánica en general, pero hoy en día, con la importancia que ha cobrado la depuración de agentes contaminantes industriales, se están desarrollando procesos biológicos para eliminar agentes contaminantes concretos.

PROBLEMA

Las aguas residuales de origen doméstico e industrial en la ciudad de Machala, se recolectan en una única red de drenajes que desemboca en el mar. Machala aguas servidas las cuales no son tratadas y van directamente al mar, siendo fuente de contaminación de áreas de cultivo, de los ecosistemas acuáticos ribereños y el litoral. La purificación de las aguas residuales son una problemática ambiental local, nacional y mundial, según diagnósticos municipales, son pocas las ciudades del país que cuentan con un sistema de tratamiento de aguas. Sin embargo, los desechos sólidos entre ellos basura plástica, metálica, excretas y heces de animales, llegan a los ríos y quebradas, que cada vez está más contaminada. En este sentido, la importancia de generar un sistema de biopurificación de agua residuales domésticas utilizando microorganismo degradadores de la materia orgánica resulta una propuesta amigable con el medio ambiente, ya que está prescindiendo de la utilización de sustancias químicas nocivas para la salud. El agua ha sido siempre el principal vehículo empleado por el hombre para la eliminación de los residuos generados por su actividad. El desarrollo económico descontrolado y el aumento de la población han incrementado de tal manera el impacto del hombre sobre la hidrosfera que ha superado ampliamente su capacidad de autodepuración y ha traído como consecuencia la pérdida de calidad y, por lo tanto, la disminución del agua como recurso vital.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Aplicar *Trichoderma spp* en la purificación de aguas residuales, utilizando biorreactores de biopelícula, en la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud de la Universidad Técnica de Machala, 2014.

Objetivos específicos

- Cuantificar la carga de materia orgánica que ingresa al proceso de purificación
- Determinar la concentración óptima de hongo (*Trichoderma spp*) para la purificación del agua residual doméstica
- Determinar las condiciones óptimas para el crecimiento del hongo (pH, Oxígeno disuelto, temperatura y conductividad)
- Evaluar la cinética de degradación de la materia orgánica presente en el agua residual doméstica

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son las concentraciones de materia orgánica promedio de las aguas residuales del cantón Machala?

¿Cuál es el sustrato específico del hongo *Trichoderma spp*?

¿Qué parámetros se consideran para medir la degradación de la materia orgánica presente en las aguas residuales?

¿Qué influencia tiene la agitación mecánica en la degradación de la materia orgánica presente en las aguas residuales?

¿Qué influencia tiene el pH en la degradación de la materia orgánica presente en las aguas residuales?

HIPÓTESIS

H_0 = Mediante la aplicación del hongo *Trichoderma spp* en aguas residuales domésticas, *No* es posible alcanzar un porcentaje significativo de degradación de la materia orgánica presente.

H_1 = Mediante la aplicación del hongo *Trichoderma spp* en aguas residuales domésticas, es posible alcanzar un porcentaje significativo de degradación de la materia orgánica presente.

1. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. AGUA RESIDUAL

Se denomina aguas servidas a aquellas que resultan del uso doméstico o industrial del agua. Se les llama también aguas residuales, aguas negras o aguas cloacales. Son residuales pues, habiendo sido usada el agua, constituyen un residuo, algo que no sirve para el usuario directo; son negras por el color que habitualmente tienen. Algunos autores hacen una diferencia entre aguas servidas y aguas residuales en el sentido que las primeras solo provendrían del uso doméstico y las segundas corresponderían a la mezcla de aguas domésticas e industriales. En todo caso, están constituidas por todas aquellas aguas que son conducidas por el alcantarillado e incluyen, a veces, las aguas de lluvia y las infiltraciones de agua del terreno.

Son desechos líquidos provenientes de la actividad doméstica en residencias, edificios e instituciones; principalmente por el metabolismo humano, llegan a las redes de alcantarillado por medio de descargas de instalaciones hidráulicas; por lo tanto, las aguas residuales contienen diversas sustancias de origen natural o artificial que pueden ser más o menos dañinas para el hombre, los animales y el ambiente.

Es así que emergen como un líquido turbio, de color gris o amarillento, color séptico, en el cual van suspendidas partículas desedimentos, heces, residuos vegetales, tiras de papel y materiales sintéticos. Cuanto más largo sea el colector que los conduce y más turbulento el flujo en la alcantarilla, más pequeñas serán las partículas presentes en el agua residual.

Para cuantificar el grado de contaminación y poder establecer el sistema de tratamiento más adecuado, se utilizan varios parámetros expresados en la Normativa Oficial Mexicana .oficial:

1.1.1. Demanda Bioquímica de Oxígeno

Para medir la concentración de contaminantes orgánicos, en las aguas que resultan del uso doméstico el parámetro más utilizado es la Demanda biológica de oxígeno o (DBO), esta se define como la concentración de oxígeno disuelto consumido por los microorganismos,

presentes en el agua o añadidos a ella para efectuar la medida la medición, en la oxidación de toda la materia orgánica presente en la muestra de agua. Su valor debe ser inferior a 8 MG/l. Para ser considerada como potable. Generalmente en las aguas de origen domestico este valor fluctúa entre los 200 a 300 mg/L (Diaz, 2000) .

1.2. AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS

Su inicio data de fines de 1800 y principios del actual siglo y coincide con la época de la higiene. Esto se desarrolló como consecuencia de la relación entre contaminación de los cursos y cuerpos de agua y las enfermedades de origen hídrico. Los diversos usos que da el hombre al agua generan aguas residuales que se presentan en forma aislada o mezcladas en diferentes concentraciones. Se originan en las viviendas familiares por:

2. La preparación de alimentos, el lavado de platos, la limpieza de la casa, el lavado de la ropa e higiene personal.
3. El uso del inodoro.
4. El lavado de las superficies pavimentadas externas y de automóviles; en los edificios públicos por:
5. La limpieza del edificio, la higiene personal, la preparación de alimentos y el lavado de vajilla en la cafetería (cuando existe).
6. El uso de baños públicos.
7. El lavado de superficies pavimentadas externas automóviles; en los pequeños establecimientos comerciales por:

1.2.1. Características de las Aguas Residuales Doméstica

1.2.1.1. Características Físicas

Se dice que el agua residual domestica fresca y aeróbica tiene el olor delqueroseno o de tierra recién revuelta. Las aguas residuales envejecidas ysépticas son bastante más ofensivas al sentido del olfato.

Las frescas tienen un color gris características. Las sépticas son negras. Este color se debe a la precipitación de sulfuro de hierro. Las temperaturas de las aguas residuales oscilan, normalmente, entre 10 y 20°. En general, la temperatura del agua residual será mayor que la del suministro de agua, debido a la adición de agua tibia de los hogares y al calentamiento dentro del sistema de drenaje de la estructura.

Sólidos Totales

Analíticamente, se define el contenido de sólidos totales como la materia que se obtiene como residuo después de someter al agua a un proceso de evaporación entre 103 y 105 °C. No se define como sólida aquella materia que se pierde durante la evaporación debido a su alta presión de vapor. Los sólidos sedimentables se definen como aquellos que se sedimentan en el fondo de un recipiente de forma cónica (cono de Imhoff) en el transcurso de un periodo de 60 minutos, los sólidos sedimentables expresados en unidades de ml/l, constituyen una medida aproximada de la cantidad de fango que se obtendrá en la decantación primaria del agua residual (Levine, Tchobanoglous, & Asano, 1985).

Temperatura.

La temperatura del agua es un parámetro muy importante dada su influencia, tanto sobre el desarrollo de la vida acuática como sobre las reacciones químicas y velocidades de reacción, así como sobre la aptitud del agua para ciertos usos útiles. Por ejemplo, el aumento de la temperatura del agua puede provocar cambios en las especies piscícolas. También es importante para industrias que emplean el agua para refrigeración, donde es fundamental la captación del agua.

Por otro lado, el oxígeno es menos soluble en agua caliente que en el agua fría. La temperatura óptima para el desarrollo de la actividad bacteriana se sitúa entre los 25 y los 35°C. Los procesos de digestión aerobia y de nitrificación se detienen cuando el agua alcanza los 50°C. A temperaturas de alrededor de 15°C, las bacterias productoras de metano cesan su actividad, mientras que las bacterias nitrificantes autótrofas dejan de actuar cuando la temperatura alcanza valores cercanos a los 5°C (Metcalf & Eddy, 1981).

Turbiedad.

La turbiedad, como medida de las propiedades de transmisión de la luz de un agua, es otro parámetro que se emplea para indicar la calidad de las aguas vertidas o de las aguas naturales en relación con la materia coloidal y residual en suspensión. La medición de la turbiedad se lleva a cabo mediante la comparación entre la intensidad de la luz dispersada en la muestra y la intensidad registrada en una suspensión de referencia en las mismas condiciones (Standard Methods , 1985).

1.2.1.2. Características Químicas

Como la cantidad de sustancia químicas presentes en las aguas residuales es así ilimitada, normalmente se limitara la descripción a unas cuantos tipos generales. Con frecuencia, estos tipos de sustancias se conocen mejor por el nombre de la prueba que se usa para medirlos que por lo que incluyen.

Medida del Contenido Orgánico

A lo largo de los años, se han ido desarrollando diferentes ensayos para la determinación del contenido orgánico de las aguas residuales. En general, los diferentes métodos pueden clasificarse en dos grupos, los empleados para determinar altas concentraciones de contenido orgánico y los empleados para determinar las concentraciones a nivel traza.

El primer grupo incluye los siguientes ensayos de laboratorio: demanda bioquímica de oxígeno (DBO), demanda química de oxígeno (DQO), y carbono orgánico total (COT). En el pasado, se empleaban otros ensayos, entre los que destacaban nitrógeno total y albuminoide, nitrógeno orgánico y amoniacal, y oxígeno consumido. Estas determinaciones aun figuran en los análisis completos de aguas residuales, excepción hecha de las determinaciones relativas al nitrógeno albuminoide y al oxígeno consumido.

Sin embargo, su importancia ya no es la misma. Mientras que antes se empleaban casi exclusivamente como indicadores de la materia orgánica, actualmente se emplean para determinar la disponibilidad de nitrógeno para mantener la actividad biológica en los procesos de tratamiento de aguas residuales industriales y para evitar indeseables proliferaciones de algas en las aguas receptora (Standard Methods , 1985).

Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)

La DBO es el método usado con mayor frecuencia en el campo de tratamiento de las aguas residuales. Si existe suficiente oxígeno disponible, la descomposición biológica aerobia de un desecho orgánico continuará hasta que el desecho se haya consumido. El período de incubación estándar es de 5 días a 20°C, pero se pueden usar tiempos mayores y otras temperaturas, la oxidación bioquímica es un proceso lento, cuya duración es, en teoría, infinita. En un período de 20 días se completa la oxidación del 95 a 99% de la materia carbonosa, y en los 5 días que dura el ensayo de la DBO se llega a oxidar entre el 60 y 70%. Se asume la temperatura de 20°C como un valor medio representativo de temperatura que se da en los cursos de agua que circulan a baja velocidad en climas suaves, y es fácilmente duplicada en un incubador (Thomas, 1885).

Demanda Química de Oxígeno (DQO)

El ensayo de la DQO se emplea para medir el contenido de materia orgánica tanto de las aguas naturales como de las residuales. En el ensayo, se emplea un agente químico fuertemente oxidante en medio ácido para la determinación del equivalente de oxígeno de la materia orgánica que puede oxidarse. El dicromato de potasio proporciona excelentes resultados en este sentido. El ensayo debe hacerse a altas temperaturas. Para facilitar la oxidación de determinados tipos de compuestos orgánicos es preciso emplear un catalizador (sulfato de plata).

El ensayo de la DQO también se emplea para la medición de la materia orgánica presente en aguas residuales industriales y municipales que contengan compuestos tóxicos para la vida biológica. En muchos tipos de aguas residuales es posible establecer una relación entre DBO y DQO.

Ello puede ser de gran utilidad puesto que la primera necesita 5 días para ser determinado frente a las tres horas que necesita la DQO para ser determinada. Una vez establecida la correlación entre ambos parámetros, pueden emplearse las medidas de la DQO para el funcionamiento y control de las plantas de tratamiento (Thomas, 1885).

Carbono Orgánico Total (COT)

Es una cantidad analítica exacta. Se determina mediante la oxidación térmica de sustancias inorgánicas, a través de la combustión a elevada temperatura y la posterior medición de la cantidad de CO₂ formado. Teóricamente, la cantidad de carbono orgánico puede variar entre aproximadamente 8% (para CCl₄) y 94% para C₁₀H₈-naftalina). La variación es mucho menor en el caso de las mezclas encontradas en agua y aguas residuales. Sin embargo, el contenido del carbono orgánico en aguas residuales representa solo una parte de la contaminación. Mediante el análisis de DQO se determina el equivalente en oxígeno de la materia orgánica que puede oxidar un oxidante químico energético (dicromato de potasio) en un medio ácido. La DQO de un desecho, en general, será mayor que la DBO₅, ya que hay compuesto susceptibles de oxidarse más química que biológicamente (Mackenzie, 2005).

La DBO₅ normalmente es menor que la DBO total, y esta es menor que la DQO, excepto cuando el residuo es totalmente biodegradable. El análisis de DQO requiere aproximadamente una hora. Si se puede correlacionarla con la DBO₅ podrá servir de apoyo en el control de operación de la planta de tratamiento de aguas residuales.

Materia orgánica.

Son varios los componentes inorgánicos de las aguas residuales y naturales que tienen importancia para la determinación y control de la calidad del agua. Las concentraciones de las sustancias inorgánicas en el agua aumentan tanto por el contacto del agua con las diferentes formaciones geológicas, como por las aguas residuales, tratadas o sin tratar, que a ella se descargan (Snoeyink & Jenkins, 1988).

Alcalinidad.

La alcalinidad de un agua residual está provocada por la presencia de hidróxidos, carbonatos y bicarbonatos de elementos como el calcio, el magnesio, el sodio, el potasio o el amoníaco. De entre todos ellos, los más comunes son el bicarbonato de calcio y el bicarbonato de

magnesio. La alcalinidad ayuda a regular los cambios del pH producido por la adición de ácidos. Normalmente el agua residual es alcalina, propiedad que adquiere de las aguas de tratamiento, el agua subterránea, y los materiales añadidos en los usos domésticos (Sawyer, Mc Carty, & Parkin, 1994).

Nitrógeno.

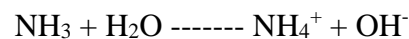
Los elementos nitrógeno y fósforo son esenciales para el crecimiento de protistas y plantas, razón por la cual reciben el nombre de nutrientes o bioestimuladores.

Trazas de otros elementos, tales como el hierro, son necesarias para el crecimiento biológico. No obstante, el nitrógeno y el fósforo son, en la mayoría de los casos, los principales elementos nutritivos. Puesto que el nitrógeno es absolutamente básico para la síntesis de proteínas, será preciso conocer datos sobre la presencia del mismo en las aguas, y en qué cantidades, para valorar la posibilidad de tratamiento de las aguas residuales domésticas e industriales, mediante procesos biológicos (EPA, 1985).

Formas del nitrógeno.

El contenido total en nitrógeno está compuesto por nitrógeno orgánico, amoníaco, nitrito y nitrato. El contenido en nitrógeno orgánico se determina con el método Kjendahl. El nitrógeno Kjendahl total se determina del mismo modo que el nitrógeno orgánico, con la diferencia de que no se elimina el amoníaco presente antes del proceso de digestión.

Por lo tanto, el nitrógeno Kjendahl total incluye ambas formas de nitrógeno, el orgánico y el amoniacal. El nitrógeno amoniacal se encuentra en solución acuosa, bien en forma de ion amonio o como amoníaco, en función del pH de la solución, de acuerdo con la siguiente ecuación de equilibrio: (EPA, 1985).



Fósforo.

El fósforo también es esencial para el crecimiento de algas y otros organismos biológicos.

Debido a que en aguas superficiales tienen lugar nocivas proliferaciones incontroladas de algas, actualmente existe mucho interés en limitar la cantidad de compuestos de fósforo que alcanzan las aguas superficiales por medio de vertidos de aguas residuales domésticas, industriales, y a través de las escorrentías naturales.

Como ejemplo podemos citar el caso de las aguas residuales municipales, cuyo contenido en fósforo puede variar entre 4 y 15mg/l. Las formas más frecuentes en las que se presenta el fósforo en soluciones acuosas incluyen el ortofosfato, el polifosfato y los fosfatos orgánicos (Levine, Tchobanoglous, & Asano, 1985).

1.2.1.3. Características Biológicas

Las aguas residuales contienen un gran número de microorganismos vivos cuya función es la de descomponer, transformar, y fermentar la materia orgánica utilizando o no el oxígeno disuelto por medio de procesos aerobios o anaerobios. Estos microorganismos pueden ser de origen vegetal: plantas, semillas, helechos; de origen animal: microorganismos vertebrados e invertebrados; o de origen protista: bacterias, hongos, protozoos y algas. También están presentes varios microorganismos patógenos como los coliformes los cuales mueren rápidamente al encontrarse en un hábitat extraño. Cada uno de estos grupos de microorganismos, constituyen un papel primordial como indicadores de la calidad del agua residual.

Microorganismos.

Los principales grupos de organismos presentes tanto en aguas residuales como superficiales se clasifican en organismos eucariotas, eubacterias y arqueobacterias (véase Tabla 2-6). Tal como se indica en la Tabla 2-6, la mayoría de los organismos pertenecen al grupo de las eubacterias. La categoría protista, dentro de los organismos eucariotas, incluye las algas, los hongos y los protozoos. Las plantas tales como los helechos, los musgos, las plantas hepáticas y las plantas de semilla están clasificadas como eucariotas multicelulares. Los vertebrados y los invertebrados están clasificados como animales eucariotas multicelulares (Stainer & Igraham, 1986).

Tabla 2: Clasificación de los microorganismos

Grupo	Estructura celular	Caracterización	Miembros representativos
Eucariotas	Eucariota	Multicelular, con gran diferenciación de las células y el tejido	Plantas (plantas de semilla, musgos, helechos). Animales (vertebrados e invertebrados).
		Unicelular o coenocítica o micelial; con escasa o nula diferenciación de tejidos.	Protistas (algas, hongos, protozoos)
Eubacterias	Procariota	Química celular parecida a las eucariotas.	La mayoría de las bacterias.
Arqueobacterias	Procariota	Química celular distintiva	Metanógenos, halófilos, termacidófilos.

Fuente: (Stainer & Igraham, 1986).

Coliformes Fecales:

Los microorganismos patógenos que existen en las aguas residuales son pocos y difíciles de aislar e identificar, por esta razón se utiliza a los microorganismos coliformes como un organismo indicador de contaminación o presencia de organismos productores de alguna enfermedad.

Aunque no sean dañinos, se usan los coliformes como indicador debido a que el ser humano arroja diariamente en sus excrementos entre 10^9 y 4×10^{11} coliformes, por lo tanto su presencia puede detectarse con facilidad y utilizarse como norma de control sanitario.

El exceso de coliformes fecales en un cuerpo de agua, hacen que el agua sea no apta para el consumo humano, e insegura para la recreación (Romero, 2008).

1.2.1. Composición de las Aguas Residuales Domésticas

Las aguas residuales domésticas son peligrosas debido a la posible presencia de una alta población de microorganismos patógenos.

Contienen, sobretodo, bacterias *Escherichia coli*, las que generalmente son inocuas y suelen estar presentes en los intestinos del hombre y de los animales de sangre caliente, agrupándose

en colonias. Estas sirven como indicadores de contaminación fecal. Aproximadamente entre 10^{11} y 10^{13} bacterias *E coli* son evacuadas en las aguas residuales diariamente por una persona. El número total de bacterias, incluidos los grupos que se consideran inofensivos, es casi 103 veces mayor. Los microorganismos están presentes en las aguas residuales en forma de virus y bacterias (como las salmonellas causantes de la tifoidea o paratifoideas) Y en forma de parásitos como por ejemplo huevos de helmintos. Estos microorganismos provienen de hospitales, de viviendas de personas infectadas, portadores de enfermedades, etc. El agua residual tratada no es bacteriológicamente pura y, en algunos casos, es necesario esterilizarla, además de aplicarle un tratamiento mecánico-biológico.

Aparte de organismos patógenos, en las aguas residuales domésticas están presentes bacterias no patógenas que descomponen la materia orgánica mediante procesos de hidrólisis, reducción y oxidación.

En esta descomposición también participan fermentadores y enzimas. Finalmente, esta agua contiene también hormonas, estimulantes y vitaminas provenientes de las excretas de personas y animales. Los valores de carga de las aguas residuales domésticas no suelen ser utilizadas al diseñar las plantas de tratamiento de aguas residuales. Su cálculo puede ser necesario sólo en casos específicos como el de edificaciones aisladas o plantas de tratamiento muy pequeñas.

Tabla1: Composición típica de las aguas residuales domésticas.

Constituyente	Concentración mg/l		
	Fuerte	Media	Débil
Demanda Bioquímica de Oxígeno, 5 días,20°C (DBO)	350	200	100
Demanda Química de Oxígeno	1000	500	250
pH	7,5	7	6,5
Sólidos Totales	1.200	700	350
Sólidos Disueltos	850	500	250
Fijos	525	300	145
Volátiles	325	200	105
Totales Suspendidos	350	200	100
Fijos	75	50	30
Volátiles	275	150	70
Sólidos Sedimentables	20	10	5
Carbono Orgánico Total (COT)	300	200	100
Nitrógeno Total (como N)	60	40	20
Orgánico	35	15	8
Amoníaco Libre	50	25	12
Nitritos	0	0	0
Nitratos	0	0	0
Fósforo Total	20	10	6
Orgánico	5	3	2
Inorgánico	15	7	4
Cloruros	150	50	30
Alcalinidad (como CaCO ₃)	350	100	50
Grasas	150	100	50

Fuente: Gutiérrez, 2010.

1.3. CANTIDAD DE AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS

Es igual al agua consumida del sistema de abastecimiento menos el agua utilizada para cocinar, beber, regar el césped y el jardín. Las heces y otros productos de desecho que se añaden a las aguas residuales llegan aproximadamente a solo 1.4kg por persona al día. Puede decirse que la cantidad de aguas residuales domésticas es casi un 80% del consumo de agua. Puesto que el consumo de agua depende esencialmente de los hábitos y de las condiciones de vida, al mejorar éstos, la cantidad de aguas residuales también aumenta.

El volumen de aguas residuales sufre variaciones horarias, diarias y anuales. Puede apreciarse claramente un incremento de desagües residuales al comienzo de la semana, debido al lavado de ropa, y al final de la semana, debido a la limpieza de la casa.

1.4. SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

Las diversas actividades agrícolas, ganaderas, industriales y recreacionales del ser humano han traído como consecuencia la contaminación de las aguas superficiales con sustancias químicas y microbiológicas, además del deterioro de sus características estéticas. Para hacer frente a este problema, es necesario someter al agua a una serie de operaciones o procesos unitarios, a fin de purificarla o potabilizarla para que pueda ser consumida por los seres humanos. Una operación unitaria es un proceso químico, físico o biológico mediante el cual las sustancias objetables que contiene el agua son removidas o transformadas en sustancias inocuas. La mayor parte de los procesos originan cambios en la concentración o en el estado de una sustancia, la cual es desplazada o incorporada en la masa de agua. Este fenómeno recibe el nombre de transferencia de fase. Son ejemplos de ello la introducción de oxígeno al agua (transferencia de la fase gaseosa a la líquida) y la liberación de anhídrido carbónico contenido en el agua (transferencia de la fase líquida a la gaseosa) mediante el proceso de aereación. El objetivo de estos tratamientos es, en general, reducir la carga de contaminantes del vertido y convertirlo en inocuo para el medio ambiente. Para cumplir estos fines se usan distintos tipos de tratamiento dependiendo de los contaminantes que arrastre el agua y de otros factores más generales, como localización de la planta depuradora, clima, ecosistemas afectados, etc.

1.4.1. La Depuración de las Aguas Residuales

Existen distintos tipos de tratamiento de las aguas residuales para lograr remover los contaminantes. Se pueden usar desde sencillos procesos físicos como la sedimentación, en la que se deja que los contaminantes se depositen en el fondo por gravedad, hasta complicados procesos químicos, biológicos o térmicos. Ellos se pueden clasificar según el medio de eliminación de los contaminantes, según la fase de depuración y según el costo de la explotación.

1.4.1.1. Según el Medio de Eliminación de los Contaminantes

A.) Físicos

Son aquellos en los cuales predomina la aplicación de fuerzas físicas, en la eliminación de los contaminantes.

Desbaste (por rejas, tamices)

Desengrasado

Sedimentación.

Flotación.- Natural o provocada con aire.

Filtración.- Con arena, carbón, cerámicas, etc.

Evaporación. Adsorción.- Con carbón activo, zeolitas, etc.

Desorción (Stripping). Se transfiere el contaminante al aire (ej. amoníaco).

Extracción.- Con líquido disolvente que no se mezcla con el agua.

B.) Químicos

Son aquellos en los cuales la eliminación de los contaminantes es dada por la adición de un producto químico o por otras reacciones químicas.

Coagulación-floculación.- Agregación de pequeñas partículas usando coagulantes y floculantes (sales de hierro, aluminio, polielectrolitos, etc.)

Precipitación química.- Eliminación de metales pesados haciéndolos insolubles con la adición de lechada de cal, hidróxido sódico u otros que suben el pH.

Oxidación-reducción.- Con oxidantes como el peróxido de hidrógeno, ozono, cloro, permanganato potásico o reductor como el sulfito sódico.

Reducción electrolítica.- Provocando la deposición en el electrodo del contaminante. Se usa para recuperar elementos valiosos.

Intercambio iónico.- Con resinas que intercambian iones. Se usa para quitar dureza al agua.

Osmosis inversa.- Haciendo pasar al agua a través de membranas semipermeables que retienen los contaminantes disueltos.

C.) Biológicos: Son los métodos de tratamiento en los cuales la eliminación de contaminantes es provocada por una actividad biológica.

Lodos activos.- Se añade agua con microorganismos a las aguas residuales en condiciones aerobias (burbujeo de aire o agitación de las aguas).

Filtros bacterianos.- Los microorganismos están fijos en un soporte sobre el que fluyen las aguas a depurar. Se introduce oxígeno suficiente para asegurar que el proceso es aerobio.

Biodiscos.- Intermedio entre los dos anteriores. Grandes discos dentro de una mezcla de agua residual con microorganismos facilitan la fijación y el trabajo de los microorganismos.

Lagunas aireadas.- Se realiza el proceso biológico en lagunas de grandes extensiones.

Sistemas de aplicación al suelo. –

Degradación anaerobia.- Procesos con microorganismos que no necesitan oxígeno para su metabolismo (CIMAD, 2002).

2.2. TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

Los tratamientos a los que se deben someter los efluentes tienen que garantizar la eliminación o recuperación del compuesto orgánico en el grado requerido por la legislación que regula el vertido del efluente. La aplicación de cualquier tipo de método depende fundamentalmente de la concentración del contaminante y del caudal del efluente (Rodríguez, 2006).

2.2.1. Procesos Biológicos Unitarios

Constituyen una serie de importantes procesos de tratamiento que tienen en común la utilización de microorganismos (especialmente las bacterias), para llevar a cabo la eliminación de componentes indeseables del agua aprovechando la actividad metabólica de

los mismos. Es uno de los métodos más usados para el tratamiento de aguas residuales urbanas y aguas industriales.

La aplicación de un proceso biológico consiste en la eliminación de la materia orgánica biodegradable tanto soluble como coloidal, ya que ésta constituye la fuente de energía: de carbono, oxígeno disuelto y nutrientes: Nitrógeno y Fósforo, necesarios para el crecimiento de los microorganismos. En el metabolismo bacteriano juega un papel fundamental el elemento aceptor de electrones en los procesos de oxidación de la materia orgánica. Este aspecto tiene una importante incidencia en las posibilidades de aplicación al tratamiento de aguas (Rodríguez, 2006). En función del elemento aceptor de electrones se distinguen tres casos de sistemas biológicos: Sistema Aerobios, Sistemas Anaerobios y Sistemas Anóxicos.

Tabla 1: Procesos Biológicos Unitarios.

TIPO DE SISTEMA	ELEMENTO ACEPTOR	FUNDAMENTO
Sistemas aerobios	Oxígeno disuelto.	Este compuesto hace que el rendimiento energético del tratamiento sea elevado provocando una generación de fangos debido al alto crecimiento de bacterias aerobias. Su aplicación a aguas residuales puede estar muy condicionada por la baja solubilidad del oxígeno en el agua.
Sistemas anaerobios	CO ₂ o parte de la propia materia orgánica, obteniéndose como producto de esta reducción el carbono es su estado más reducido, el metano (CH ₄).	Este sistema tiene como ventaja la obtención de un gas combustible. Posee un bajo consumo de energía, produce poca cantidad de fangos y por tanto un menor requerimiento de nutrientes, y permite la posibilidad de períodos de parada en el proceso sin alterar la población bacteriana.
Sistemas anóxicos	Presencia de nitratos (NO ₃ ⁻)	La ausencia de oxígeno disuelto (O ₂) y la presencia de nitratos (NO ₃ ⁻) hacen que este último elemento sea el aceptor de electrones transformándose en nitrógeno (N ₂), por tanto es posible que en ciertas condiciones se consiga una eliminación biológica de nitratos (desnitrificación).

Fuente: Informe de Vigilancia Tecnológica - Tratamientos Avanzados de Aguas Residuales Industriales.

2.2.1.1. Digestión Aerobia

La digestión aerobia se efectúa cuando microorganismos aerobios o sea los que requieren oxígeno, descomponen la materia orgánica para la obtención de energía en su provecho.

Las rutas o pasos que son parte de este tipo de metabolismo, implican la oxidación de las proteínas, las grasas y los carbohidratos en una secuencia sumamente compleja, que producen como sustancias terminales: agua, bióxido de carbono, sulfatos y amoníaco. Si persisten las condiciones oxidantes, el amoníaco producido por los compuestos nitrogenados y que no escapa a la atmósfera en forma de gas, se oxida a nitritos y posteriormente a nitratos.

Esta ruta o forma de estabilización de la materia orgánica, no implica la formación de compuestos agresivos y desagradables al medio ambiente, o al menos no duran mucho tiempo y la degradación a óxidos y gases inoocuos ocurre en un corto tiempo.

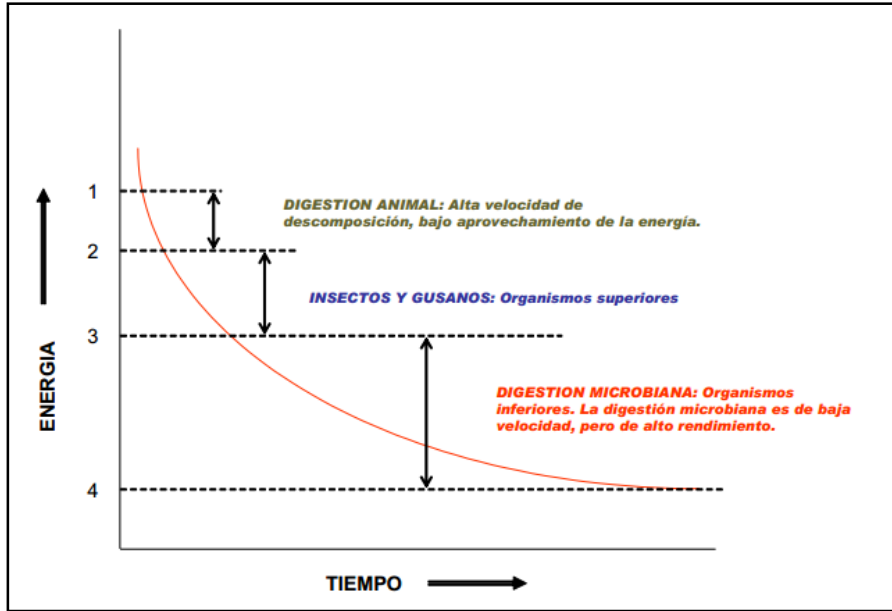
2.2.1.2. Función de los Microorganismos

La remoción de la DBO, la coagulación de sólidos coloidales no sedimentables y la estabilización de la materia orgánica, es posible por la acción de una variedad de microorganismos, principalmente bacterias.

Los microorganismos utilizan la materia carbonácea disuelta y en suspensión en forma coloidal, para sobrevivir en el ambiente en que se encuentran. Al consumir esta materia cuyo principal componente es el carbono, una parte de ella la convierten en tejido celular y otra parte es emitida al medio ambiente en forma de gases. Los gases producidos, en su mayor parte, pueden separarse en forma espontánea del agua tratada y el tejido celular formado, se separa también de la masa de agua por sedimentación, por lo que cuando esto ocurre se dice que la materia orgánica ha sido removida del agua tratada.

De la energía disponible en los alimentos o sustratos, los organismos superiores (en la escala de consumo de sustrato), como son los animales y el hombre, al consumir el alimento, solo una pequeña parte de la energía disponible es aprovechada y el resto se desecha al medio ambiente. Este proceso de obtención de energía es rápido pero ineficiente.

Figura 1. Aprovechamiento de la energía por diferentes cadenas alimenticias



Fuente: (Filtros & Equipos, 2014)

Otros organismos consumen nuestros desechos como son insectos, larvas y gusanos y lo hacen a una alta velocidad de digestión pero también de forma ineficiente ya que solo extraen una parte de la energía interna potencialmente contenida en el sustrato. Los microorganismos en sus diferentes variedades y cadenas alimenticias, consumen los restos de sustrato que no es digerido por los seres de escalas superiores, a una muy baja velocidad de digestión pero con una alta eficiencia en el aprovechamiento de la energía interna del sustrato, tal y como se muestra en la figura 1 (Filtros & Equipos, 2014).

1.5. *Trichoderma spp*

El género *Trichoderma* fue identificado en 1871 y ha sido ampliamente estudiado; es un hongo anaerobio facultativo microscópico, que se encuentra de manera natural en un número importante de suelos agrícolas y otros tipos de medios.

Integran el género más de 30 especies ampliamente distribuidas en el mundo, en diferentes zonas y hábitats, especialmente donde existe materia orgánica o desechos vegetales en descomposición, así como en residuos de cultivos, principalmente en aquellos que son

atacados por otros hongos. Su desarrollo se ve favorecido por la presencia de altas densidades de raíces, las cuales coloniza rápidamente.

Trichoderma muestra diversas ventajas como agente de control biológico, debido a su rápido crecimiento y desarrollo; también produce una gran cantidad de enzimas capaces de degradar a otros organismos, cuya secreción se induce con la presencia de hongos fitopatógenos. Puede desarrollarse en una amplia gama de sustratos, lo cual facilita su producción masiva para uso en la agricultura. Su gran tolerancia a condiciones ambientales extremas y hábitats donde otros hongos son causantes de diversas enfermedades, le permiten ser un eficiente agente de control; de igual forma puede sobrevivir en medios con contenidos significativos de pesticidas y otros químicos.

Además, su gran variabilidad se constituye en un reservorio de posibilidades de control biológico bajo diferentes sistemas de producción y cultivos.

La capacidad de producir diversos metabolitos y de adaptación a diversas condiciones ambientales y sustratos, confiere a *Trichoderma spp* la posibilidad de ser utilizado en la industria biotecnológica (Martínez, Infante, & Reyes, 2013).

1.5.1. Taxonomía

Trichoderma está entre los hongos saprophytic más comunes. Están dentro de la subdivisión Deuteromycotina que representa los hongos que faltan o tener un estado sexual desconocido (sin embargo mucho el *trichoderma* se considera asexual). Además, es parte de los hyphomycetes de la clase de la forma. Se saben cómo los invasores tempranos de raíces y ocupan rápidamente un lugar ecológico en las raíces.

Debido a su capacidad de utilizar los sustratos de los complejos, no dependen totalmente de la planta en su ciclo vital. También se consideran los ascomicetos celulolíticos y entre los organismos responsables de la destrucción de telas celulósicas.

Trichoderma se encuentra en casi todos los suelos agrícolas y en otros ambientes tales como madera que se decae. La mayoría de las especies crecen rápidamente, producen conidios abundantes, y tienen una amplia gama de enzimas incluyendo los cellulases.

Tienen los sellos de ruderals. Sin embargo, muchas especies siguen siendo altamente antagónicas a la otra especie de hongos por muchos procesos. Éstos incluyen la producción de los antibióticos solubles de los antibióticos (peptidos) volátiles y permanentes, o por parasitismo directo.

Se alcanza esto cuando arrollan alrededor de los hyphae de otros hongos en un mycoparasitism llamado de proceso que limite el crecimiento y la actividad de los hongos patógenos de la planta. El hongo tiene probablemente el sistema lo más pesadamente posible estudiado del cellulase mientras que excreta cantidades grandes de cellulases en media del crecimiento. Las varias tensiones tienen la capacidad de reducir el crecimiento de la raíz de la putrefacción y del aumento de la raíz de la planta.

Hay muchas especies del *Trichoderma* con muchas características que diferencian. Por ejemplo, el *harzianum* del *T.* es tolerante a la tensión impuesta por escasez nutriente. Son a menudo antagónicas hacia uno otro. En las altas temperaturas *T. el viride* y el *polysporum* del *T.* son desplazados por *Hamatum* del *T.* y *Koningii* del *T.*, mientras que en las bajas temperaturas el contrario es verdad. Las razones como éstos son porqué un ciertas especies son más prósperas durante meses más frescos mientras que otras son más persistentes durante meses más calientes. *Trichoderma* puede crecer en los suelos que tienen un rango del pH de 2,5 - 9,5, aunque la mayoría prefieren un leve al ambiente moderado ácido. Las especies que prefieren los suelos más ácidos se miran como teniendo un hábito tensionar-más tolerante del crecimiento y son generalmente menos agresivas. Toda la especie puede producir a las colonias que tienen cualquiera blanco amarillear para poner verde áreas fructíferas maduras.

Las colonias pueden tener los conidios floccose y elípticos, o conidios globosos no-non-floccose copetudos.

Trichoderma (subdivisión Deuteromicete) incluye más de 30 especies; todas con efectos benéficos para la agricultura. Es un hongo anaerobio facultativo que se encuentra de manera natural en un número importante de suelos agrícolas y otros tipos de medios. Se encuentra ampliamente distribuido en el mundo, y se presenta en diferentes de zonas y hábitat, especialmente en aquellos que contienen materia orgánica o desechos vegetales en

descomposición, así mismo en residuos de cultivos, especialmente en aquellos que son atacados por otros hongos.

Su desarrollo se ve favorecido por la presencia de altas densidades de raíces, las cuales son colonizadas rápidamente por estos microorganismos. Esta capacidad de adaptación a diversas condiciones medioambientales y sustratos confiere a *Trichoderma* la posibilidad de ser utilizado en diferentes suelos, cultivos, climas y procesos tecnológicos.

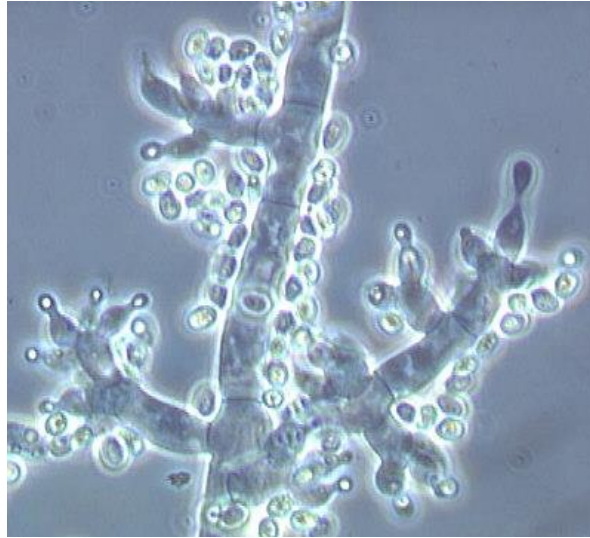
2.2.2. Morfología

- Características macroscópicas

Las colonias se reconocen fácilmente por su crecimiento rápido y su coloración, blancas - verdes, amarillo – verdosas; las áreas con conidias se presentan con anillos concéntricos (Arango, Ordoñez, Castañeda, & Restrepo, 1988).

El revés de las colonias es usualmente no coloreado, amarillo, ámbar o amarillo verde, y muchas especies producen grandes cantidades de clamidosporas en cultivos sumergido (Howell, 2003).

Figura 3: Conidios de *Trichoderma spp*



Fuente: The Goralaine Kaminski Medical Mycology Library

2.2.3. Factores que influyen en el crecimiento

2.2.3.1. Temperatura

La temperatura es un factor importante para determinar la cantidad y la tasa de crecimiento de estos organismos (Moore, 1996). Varios estudios han evaluado el efecto de la temperatura en la germinación de las esporas y el crecimiento del tubo germinal, crecimiento del micelio, habilidades competitivas y producción de metabolitos volátiles y no volátiles en las especies de *Trichoderma*, estableciendo que la temperatura óptima de crecimiento difiere entre las diferentes especies (Kredics, y otros, 2003); sin embargo al igual que la gran mayoría de hongos, estos se desarrollan en rangos de temperatura mesofílicos entre 10° y 40°C, pero en la mayoría de los casos, la temperatura óptima se encuentra entre 15 y 30°C (Nampoothiri, y otros, 2004).

De este modo, el efecto de la temperatura sobre las especies de *Trichoderma* sp., en el desarrollo de procesos biológicos es tal que esta puede generar denaturación de proteínas, inhibición de enzimas, promoción o supresión de la producción de un metabolito particular, viabilidad y muerte celular (Nampoothiri, y otros, 2004).

Disponibilidad de agua

Una de las limitaciones más importantes del uso de *Trichoderma* como biofungicida es su bajo nivel de tolerancia osmótica (0.5 M o menos). Las condiciones de agua afectan las actividades de este hongo, en especial la germinación de la espora y el crecimiento del tubo germinal, así como el crecimiento del micelio, y tiene un efecto crítico en la interacción con otros hongos y la producción de enzimas (Kredics, y otros, 2003; Moore, 1996).

Así, este hongo del suelo, crece mejor en humedades moderadas que en altas, lo cual es debido a que la aireación del suelo (y por ende el suministro de oxígeno) es limitada cuando el contenido de humedad es alto (Moore, 1996).

En la fermentación sólida un nivel de humedad mayor que el óptimo causa una disminución en la porosidad, alteración en la estructura de las partículas, menor transferencia de oxígeno e incrementa la formación de micelio aéreo.

Los hongos prefieren una humedad suficiente para su supervivencia de tal manera que esta no interfiera con su metabolismo. Del mismo modo un nivel de humedad menor que el óptimo lleva a una mayor tensión de agua y reduce la solubilidad de los nutrientes del sustrato sólido (Nampoothiri, y otros, 2004). Aunque el contenido de humedad es un factor crítico durante este proceso el nivel óptimo de la misma depende del microorganismo y de la matriz sólida empleada, sin embargo, el contenido de agua en el sustrato por lo general oscila entre el 30 y el 75% (Perez, Lopez, & Pastrana, 2003).

• pH

El pH juega un papel importante en la regulación de la producción de enzimas extracelulares. La mayoría de cepas de *Trichoderma* tienen la habilidad de crecer en un amplio rango de pH de 2 a 6 con un óptimo de 4; y se ha reportado que la producción óptima de biomasa ocurre en un rango de pH entre 4.6 y 6.8 (Kredics, y otros, 2003).

• Aireación

Dos componentes del aire son esenciales para los hongos: el oxígeno y el dióxido de carbono. Las especies de *Trichoderma*, como anaerobios facultativos, tienen la habilidad para crecer

en hábitats como suelos profundos donde el oxígeno es relativamente insuficiente (Moore, 1996).

Sin embargo en los cultivos de estos organismos es necesario tener en cuenta que altas concentraciones de dióxido de carbono resultado de la respiración celular se pueden acumular en ambientes cerrados y de esta forma inhibir el crecimiento de este microorganismo, los hongos usualmente son inhibidos en concentraciones de dióxido de carbono mayores de 10 a 15% (Moore, 1996).

• **Condiciones de Luz**

El crecimiento de la mayoría de hongos aparentemente no es afectado por la luz. El efecto más visible es la inhibición en una exposición de luz fuerte. La luz también puede afectar la formación de estructuras reproductivas o puede controlar la orientación de los movimientos fototrópicos de estas estructuras (Moore, 1996).

En algunos casos la luz puede afectar la esporulación de algunos hongos pudiendo ser inductora o inhibitoria en la formación de estructuras reproductivas y esporas. Los efectos de la luz en la reproducción de los hongos son muy complejos, ya que especies cercanas o diferentes aislamientos de la misma especie pueden diferir en su respuesta a la luz (Moore, 1996).

La mayoría de especies del género *Trichoderma* son fotosensibles, esporulando rápidamente sobre sustratos naturales o artificiales, en patrones anulares concéntricos en respuesta a la alternancia diaria de luz y oscuridad, con producción de conidios durante el período luminoso. La máxima actividad fotoinductiva se encuentra entre los 380nm y 440nm rango visible, no ocurriendo esporulación bajo los 245nm (Danielson, 1989).

Mecanismos de antagonismo

Varios modos de acción han sido propuestos para explicar la supresión de patógenos de plantas por *Trichoderma*; estos modos de acción incluyen producción de antibióticos, competencia por nutrientes, producción de enzimas degradadoras de la pared celular,

estimulación de mecanismos de defensa en la planta y una combinación de estas posibilidades (Vazquez, Leal, & Herrera, 1998).

Micoparasitismo

El micoparasitismo es esencialmente una interacción hospedero-parásito. La interacción comienza con el reconocimiento del hospedero o de moléculas liberadas por este, por acción enzimática del micoparásito. Tales señales pueden ser generadas por los diferentes polímeros componentes de la pared de distintas estructuras de hongos patógenos o, productos de degradación de la pared celular que son liberados durante el contacto o el acercamiento del hospedero (Mukherjee, Latha, Hadar, & Horwitz, 2004).

En este proceso, inicialmente el micoparásito crece directamente hacia su hospedero y usualmente se enrolla alrededor de este, o se une por la formación de estructuras similares a ganchos y apresorios. Seguido de esta interacción el micoparásito algunas veces penetra el micelio del hospedero, aparentemente por la degradación de su pared celular.

Finalmente se asume que este utiliza el contenido intracelular del hospedero (Carsolio, y otros, 1999). Para que el micoparasitismo ocurra en el suelo, las hifas del antagonista deben crecer hacia el contacto con los propágulos (esclerocios o hifas del fitopatógeno) y parasitarlos (Knudsen, Eschen, Dandurand, & Z, 1991).

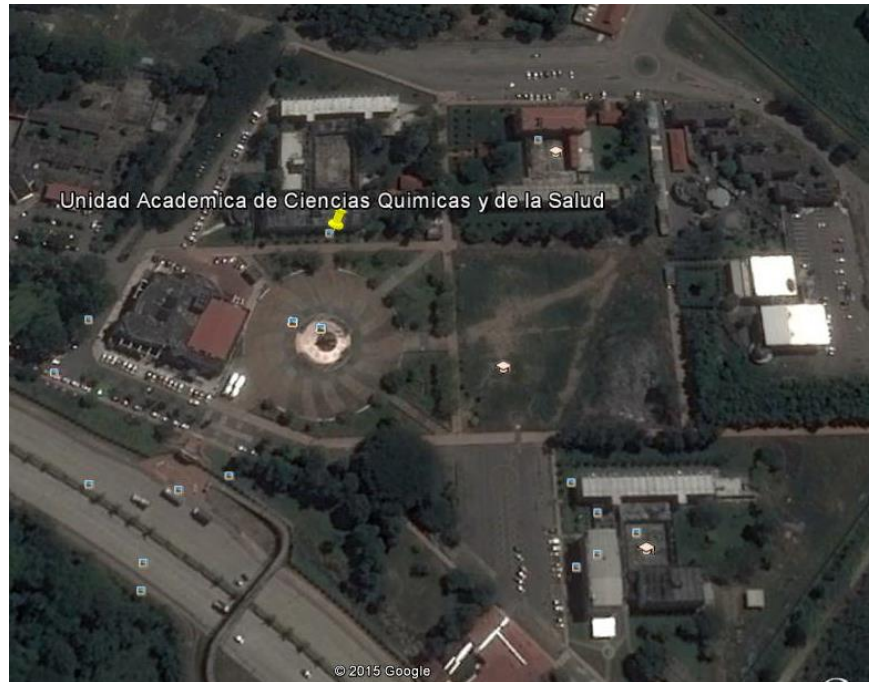
2. METODOLOGÍA

2.1. LOCALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación se desarrolló en los laboratorios de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud de la Universidad Técnica de Machala con coordenadas:
Latitud 3°17'07.19"

Longitud 79°54'46.17"

Figura 2. Fotografía satelital de la Universidad Técnica de Machala



Fuente: Google Earth, 2015.

2.1.1. Tipo de Investigación

2.1.1.1.Descriptiva

Al conocer las características de las aguas residuales y del hongo *Trichoderma spp* se describió todas las etapas del proceso, sus características, parámetros y metabolitos secundarios formados.

2.1.1.2.Experimental

Se manipulo la variable del proceso (concentración de inóculo) con la finalidad de determinar la influencia de la concentración del inoculo en la reducción del DQO, el pH, solidos suspendidos volátiles.

2.2. UNIVERSO Y MUESTRA

El universo de la presente investigación fue constituido por las aguas residuales de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud, de ellas se recolecto las muestras objeto de estudio. El tipo de muestreo realizado fue aleatorio simple, se tomó 4 litros por muestra.

2.3. MEDIO DE FERMENTACIÓN Y CONDICIONES DE CULTIVO

El diseño de la investigación fue de carácter descriptivo (describió situaciones y condiciones y definimos el tratamiento que resulto estadísticamente significativo en la disminución del DQO de las aguas residuales, experimental (Se realizó tres (3) experimentos, correspondientes a un diseño experimental completamente al azar, resultantes de considerar el factor [concentración del inoculo y tres niveles para este factor]). A continuación en la tabla 1 se muestra el diseño del experimento realizado.

Tabla 1. Combinación factorial del experimento.

Muestra de agua residual (800 DQO)	Concentración de Inóculo (g/L)		
	C ₁ = 0,25g/L	C ₂ = 0,5 g/L	C ₃ = 1 g/L
M1= (800 mg O ₂ /L			

Fuente: Quiñonez, 2015.

Este proceso se lo realiza en un bioreactores aerobio a temperatura ambiente, se midió la concentración de oxígeno disuelto (%).

2.3.1. Obtención de Inóculo

TRICHOEB® 5 WP es el hongo producido por Ecuabiologica, la cual es empresa biotecnológica que produce *Trichoderma spp*, el cual es un hongo, aerobio facultativo capaz de producir enzimas celulasas.

Figura 3. Recipiente que contiene el hongo *Trichoderma spp*



Fuente: Quiñonez, 2015.

2.3. TIEMPO Y CARACTERÍSTICAS DE OPERACIÓN DE LOS REACTORES

Fueron llevados a cabo experimentos durante 160 días en reactores en flujo continuo, en los que se midió paulatinamente la formación o adherencia del hongo *trichoderma sp.* tanto al medio de soporte como en el licor mixto.

Además se evaluó la eficiencia de remoción de DQO al variar la carga orgánica volumétrica y superficial entre valores de 0,8 a 2,4 kg DQO/día*m³ y 1,33 a 4,0 g DQO/ día*m² respectivamente, lo que se logra variando el TRH en valores fijos de 30, 20 y 10 horas, para lo que se ajusta el caudal adecuado para cada grupo de experimentos.

Los reactores operaron bajo los siguientes parámetros:

Tabla 2. Parámetros de operación de los reactores

Características físicas	Simbología	Grupo F1	Grupo F2	Grupo F3
Volumen total del reactor	V_T	3500 cm ³	3617.5 cm ³	3617.5 cm ³
Volumen útil del reactor	V_u	2500 cm ³	2500 cm ³	2500 cm ³
Caudal (ml/min)	Q	1,38	2,08	4,16
Tiempo de retención hidráulica (h)	TRH	30	20	10
Carga orgánica volumétrica kgDQO/día*m ³	COV	0,8	1,2	2,4
Carga orgánica superficial gDQO/ día*m ²	COS	1,33	2,0	4,0
Concentración DQO influente mg/L	C_i	1000	1000	1000
Concentración SSV en el influente	SSVi	230	230	230
Concentración inicial SSV en el reactor inoculado (mg/L)	SSVLM	2000	2000	2000
Relación C:N	C:N	100:20	100:20	100:20

Elaborado por: El autor

2.4. AGUA RESIDUAL

El agua que se uso fue agua residual domestica proveniente del canal “El Macho” de DQOs promedio de 200 mg/L, la cual fue fortificada con melaza hasta alcanzar un DQOs de 1000 mg/L

Se realizaron valoraciones iniciales de: DQO, ST, SSV, Nitrógeno total, y Fosforo total. Para de esta forma ajustar los valores a los óptimos 100:20:1 reportados por la bibliografía para el crecimiento de bacterias.

2.5. REACTORES

Se montaron los ensayos por triplicado para poder realizar análisis estadístico, así fueron montados tres grupos de Reactores F1, F2, F3, manteniendo la carga de *Trichoderma spp*, pero variando el sustrato acorde a la tabla 1.

Figura 4. Reactores aerobios de lecho fijo



2.6. EFICIENCIA EN LA REMOCIÓN DE DQO_s

Los reactores aerobios de cama móvil, estaban conectados a través de mangueras a un reservorio de agua el cual servía como medio de almacenamiento del agua residual para los reactores y así poder mantenerlos en funcionamiento por 4 meses, de tal manera que se pueda evaluar la eficiencia del tiempo de retención hidráulica (TRH) en los reactores.

2.7. MÉTODOS ANALÍTICOS UTILIZADOS

2.7.1. Determinación del pH

La determinación del pH se la realizó filtrando 100 ml del hidrolizado e introduciendo el electrodo del equipo Multiparametro (pH/ISE/CONDUCTIVIDAD/DO) TIPO ORION STAR A329 digital (A.O.A.C. 32.016).

2.7.2. Determinación del Oxígeno Disuelto

La determinación del oxígeno disuelto se la realizó tomando una alícuota de 100 ml de hidrolizado e introduciendo el electrodo del equipo Multiparametro (pH/ISE/CONDUCTIVIDAD/DO) TIPO ORION STAR A329 digital (A.O.A.C. 20.013).

2.7.3. DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO SOLUBLE (DQOs)

Es un parámetro que mide la cantidad de sustancias susceptibles de ser oxidadas por medios químicos que hay disueltas o en suspensión en una muestra líquida. Fue utilizado el método espectrofotométrico de oxidación fuerte con dicromato de potasio, para ello se utilizaron reactivos previamente preparados por HACH y se usó el espectrofotómetro HACH DRB200 previamente cargadas las curvas de calibración.

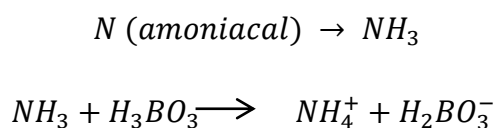
El procedimiento fue el siguiente:

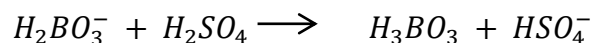
- Encender el reactor DRB200 y precalentar a 150°C.
- Filtrar un volumen apropiado de muestra en papel filtro 2,0 um, previamente homogenización de la muestra.
- Colocar 2 ml de muestra en la cubeta.
- Realizar el mismo procedimiento en otro vial con agua desionizada para preparar el blanco.
- Sujetar la cubeta por la tapa, voltearla varias veces para mezclar.
- Colocar la cubeta en el reactor y calentar por 2 horas, enfriar a temperatura ambiente.
- Limpiar el exterior de la cubeta y proceder a realizar la lectura en mg/Lt de DQOs

2.7.4. NITRÓGENO TOTAL

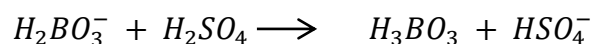
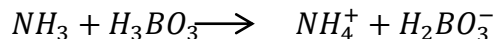
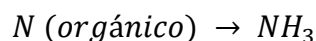
Para determinar la cantidad inicial de nitrógeno total en el agua, a la muestra se la analizó en la Empresa NemaLab en donde se utilizó el método Kjeldhal que consiste:

Con la primera destilación se pasa el nitrógeno amoniacal a NH_3 , que se recoge en presencia de ácido bórico. Después se valora con H_2SO_4 . Las reacciones son:





Se sigue con la digestión (365-380°C), donde el nitrógeno amino de materiales orgánicos en presencia de H₂SO₄, K₂SO₄, Hg(SO₄), forman (NH₄)₂SO₄. Si no se realiza la primera destilación el amoníaco libre y el nitrógeno amoniacal, también se convierten en (NH₄)₂SO₄. Durante la digestión, se forma un complejo de mercurio amonio. Se continúa con la segunda destilación, donde el tiosulfato sódico se encarga de transformar el nitrógeno orgánico en amoniaco (rotura del complejo por el tiosulfato).



Si no se realiza la primera destilación, el resultado de la digestión y la última destilación es lo que se denomina Nitrógeno kjeldahl (nitrógeno amoniacal + Nitrógeno orgánico) en mg/L NTK.

2.7.5. FÓSFORO TOTAL

Fue determinado mediante el método espectrofotométrico, mediante uso de kit de reactivos, para lo cual se utilizó el test 490 Preact. PV, el cual consiste en:

- Se selecciona el test 490 Preact. PV
- Llenar una cubeta cuadrada de una pulgada de 10 ml hasta la marca de 10 ml con muestra.
- Preparación de la muestra: añadir el contenido de un sobre de reactivo PhosVer 3 en polvo. Tapar la cubeta inmediatamente y agitar por 30 segundos para mezclar.

- Seleccionar el temporizador, luego OK. Comienza un periodo de reacción de 2 minutos.
- Preparación del blanco: llenar otra cubeta con 10 ml de agua destilada, una vez que suene el temporizador limpiar el exterior de la cubeta (blanco) y colocarlo en el soporte porta-cubetas. En la pantalla aparecerá 0.00 mg/Lt PO⁻³₄
- Limpiar el exterior de la cubeta con muestra, colocarla en el soporte porta-cubetas y proceder con la lectura en mg/Lt PO⁻³₄

2.7.6. SÓLIDOS SUSPENDIDOS VOLÁTILES (SSV)

La concentración de SSV fue realizada gravimétricamente, para lo cual se sometió a peso constante la capsula de porcelana a una temperatura de 550°C por el lapso de 1 hora, después se la enfrió en la estufa a una temperatura de 105°C, se la coloco en el desecador y se procedió a pesarla.

Luego se procede a filtrar las muestras con papel filtro teniendo en cuenta la lectura del volumen de cada muestra, para luego secarla en la estufa por 24 horas a una temperatura de 105°C. Después se la coloco en un desecador para enfriarla y proceder con el pesaje, por último se llevó el residuo seco para incinerarlo en la mufla durante 15 minutos a una temperatura de 550°C para después colocarlo en un desecador para su enfriamiento y proceder a realizar el pesaje.

$$SST, \frac{mg}{Lt} = \frac{(P_2 - P_1) \times 1000}{V}$$

$$SSF, \frac{mg}{Lt} = \frac{(P_3 - P_1) \times 1000}{V}$$

$$SSV, \frac{mg}{Lt} = SST - SSF$$

Dónde:

SST = sólidos suspendidos totales en mg/L.

SSF = sólidos suspendidos fijos en mg/L.

SSV = sólidos suspendidos volátiles en mg/L.

2.8. RECURSOS EMPLEADOS

2.8.1. Recursos Humanos

Investigador

Ayudantes

Tutora

2.8.2. Recursos Físicos

Para la purificación biológica del agua residual se utilizaron los siguientes materiales: agua residuales domésticas, hongo *Trichoderma* spp, de la marca comercial TRICHOEB® 5 WP.

2.8.3. Equipos

- Espectrofotómetro HACH DR 3900
- Multiparametro (pH/ISE/CONDUCTIVIDAD/DO) TIPO ORION STAR A329 digital.
- Balanza Analítica marca ZHIMADZU
- Cubetas o blísteres 10 ml
- Micro pipetas 1000 µl
- Matraces aforados de 100 ml
- Balanza semi analítica marca ZHIMADZU
- Estufa marca Boeco
- Mufla marca Boeco
- Agitador magnético marca Boeco
- Bioreactores experimentales de 4000 ml.

2.8.4. Materiales de Laboratorio

- Reactores de 3.5 Litros
- Material de soporte basado en plástico de botellas
- Difusores
- Aireadores de pecera

- Agua residual doméstica
- Tubos de ensayo
- Cisoles
- Vasos de precipitación
- Papel filtro y membranas de celulosa 0,45 μm .
- Desecador
- Mufla
- Balanza Analítica
- Espectrofotómetro UV-visible

2.8.5. Reactivos

- TRICHOEB[®] 5 WP
- Muestras de agua residual
- Solución de ácido nítrico (HNO_3)
- Solución de hidróxido de sodio (NaOH) (10% en peso)
- Agua des ionizada
- Kit de reactivos de DQO
- Kit de reactivos de nitrógeno amoniacal

2.8.6. Varios

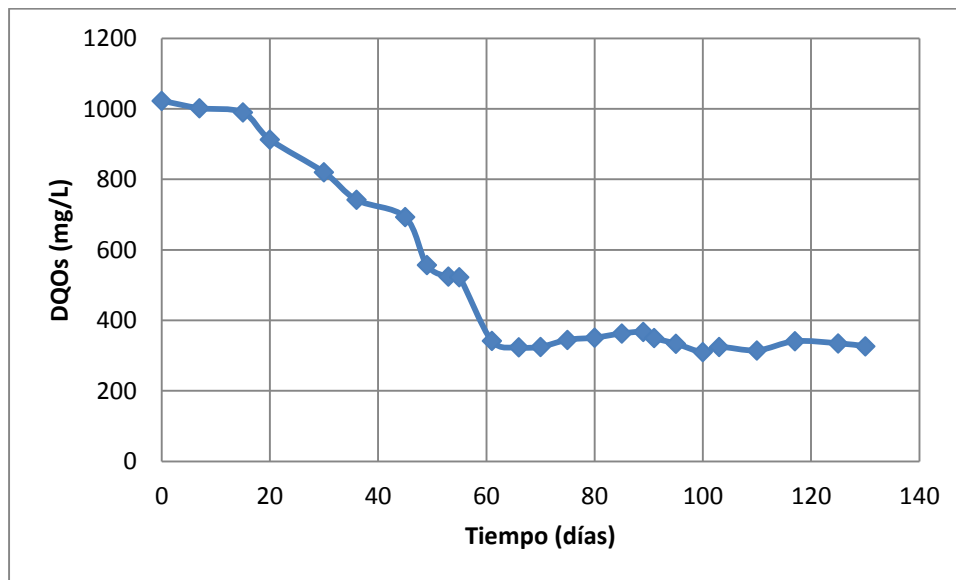
- Hojas de papel bond
- Computador Pentium III
- Impresora LX – 300
- Hojas de papel bond
- Bolígrafos

3. RESULTADOS

3.1. REMOCIÓN DE DQO VS. TIEMPO

El Gráfico 1 siguiente muestra la degradación de la materia orgánica medida como mg/L de DQOs en el tiempo que se realizó los experimentos, para la variable TRH que fue de 30 horas.

Gráfico 1. DQO vs. Tiempo – F1

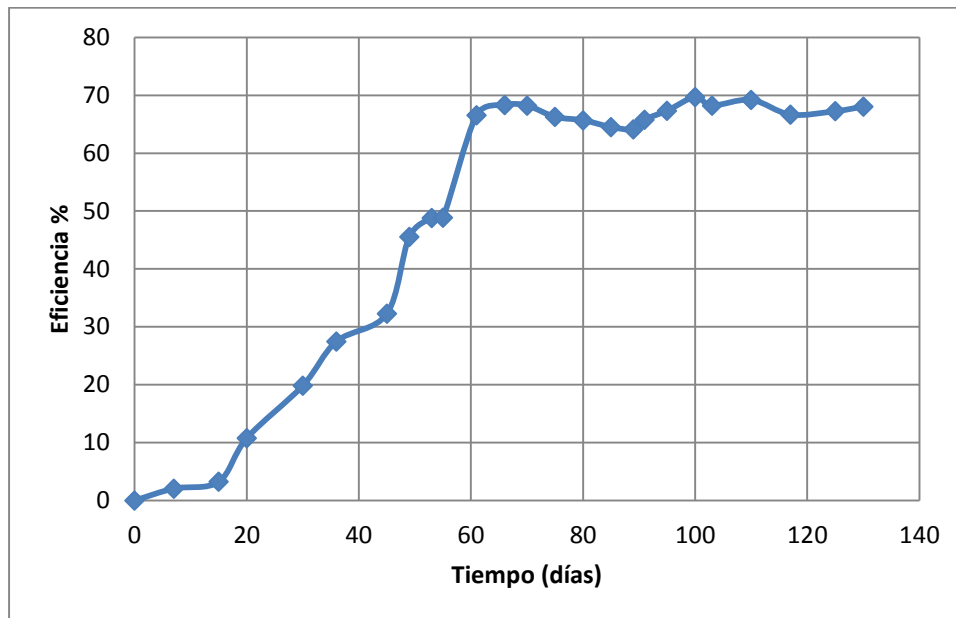


Fuente: Quiñonez, 2015.

El Gráfico 1 representa la degradación de DQOs, así durante los primeros 60 días de experimentación se logró la estabilización de la degradación de DQOs, esto desde 1000 mg/L de DQOs, ajustada a este valor inicial, luego de éste tiempo se mantuvo la DQOs en valores de 300 mg/L aproximadamente.

Por otra parte, el Gráfico 2, muestra la eficiencia de Remoción vs. El tiempo, en este caso, la eficiencia luego del día 60 no supero el 70% de eficiencia.

Gráfico 2. Eficiencia de Remoción vs. Tiempo – F1



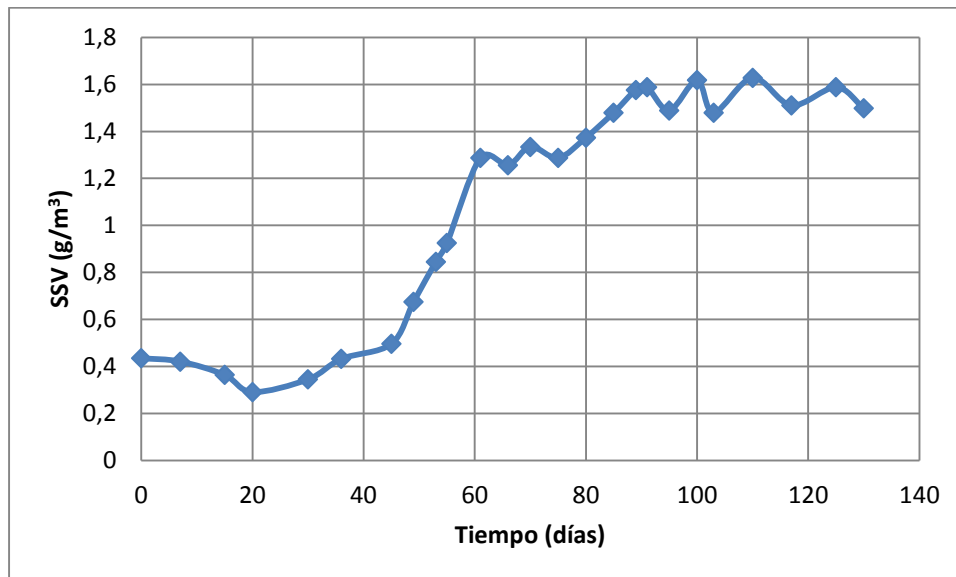
Fuente: Quiñonez, 2015.

El sistema funciona a esta relativamente alta carga orgánica volumétrica con un porcentaje de eficiencia que se puede comparar con otros sistemas similares, pudiendo estar su principal limitación en el tipo de biomasa utilizada.

3.1.1. FORMACIÓN DE SSV

El Gráfico 3 muestra la variación de la concentración de Sólidos Suspendidos Volátiles totales versus el tiempo. Al referirse a SSV_t, da cuenta de la suma de los SSV en el licor mixto SSVLM y SSV inmovilizados en los medios de soporte, todo expresado en unidad de volumen.

Gráfico 3. Sólidos Suspendidos Volátiles vs. Tiempo - F1



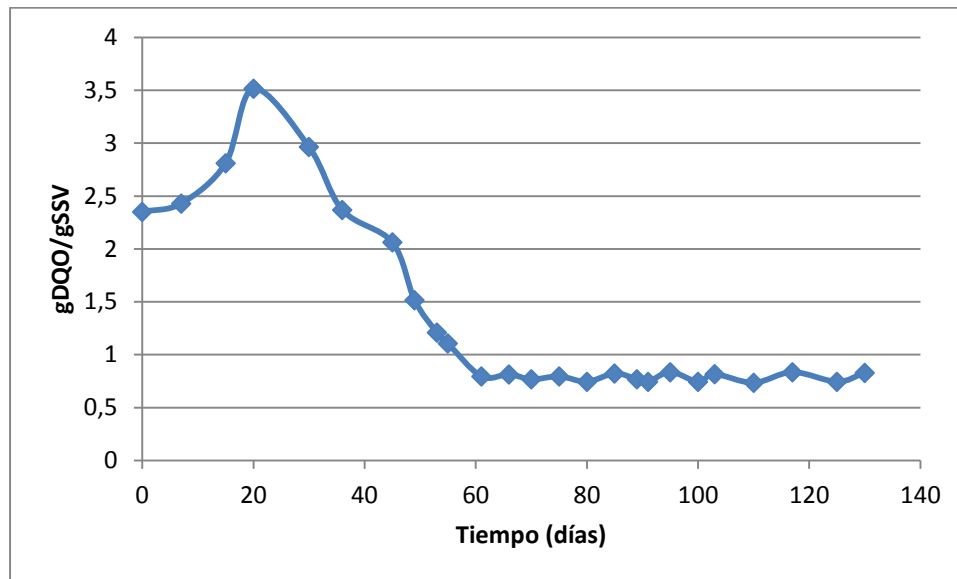
Fuente: Quiñonez, 2015.

Así, durante los primeros 20 días se experimentó una leve disminución en la cantidad de SSV, desde 0,4 a 0,291 g/m³, para luego empezar su ascenso hasta el día 60 donde fue estabilizándose hasta valores que oscilaron entre 1,28 y 1,62 g/m³.

3.1.2. RELACION SUSTRATO/BIOMASA (A/M) VS. TIEMPO

El gráfico 4 muestra la variación de la relación sustrato/biomasa versus el tiempo.

Gráfico 4. Relación A/M vs. Tiempo – F1



Fuente: Quiñonez, 2015.

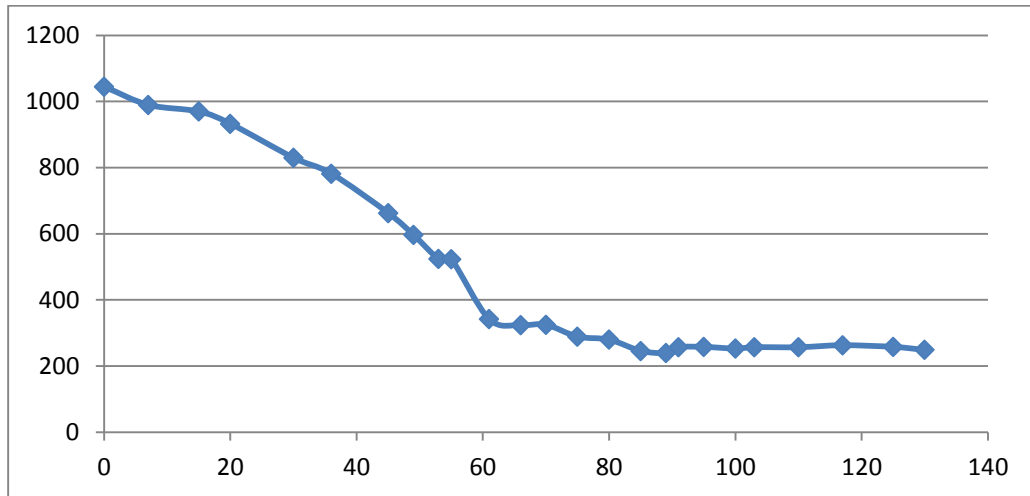
La relación A/M se refiere a la relación materia orgánica o sustrato medida en gramos sobre la masa de Sólidos Suspendidos Volátiles, que representa la biomasa activa capaz de oxidar la materia orgánica. En el caso de los experimentos F1, es notorio que esta se estabilizó luego de los primeros 60 días, en valores entre 0,5 y 1 gDQO/gSSV, lo que corrobora los resultados anteriores, quedando sentado que los primeros dos meses fueron utilizados para estabilizar la materia orgánica.

3.2.GRUPO F2

3.2.1. REMOCIÓN DE DQO VS. TIEMPO

El grupo F2 de reactores corresponde a aquellos alimentados con inoculo inicial de 0,5 g/L de *Trichoderma spp.*

Gráfico 5. Degradación de DQO vs Tiempo – F2

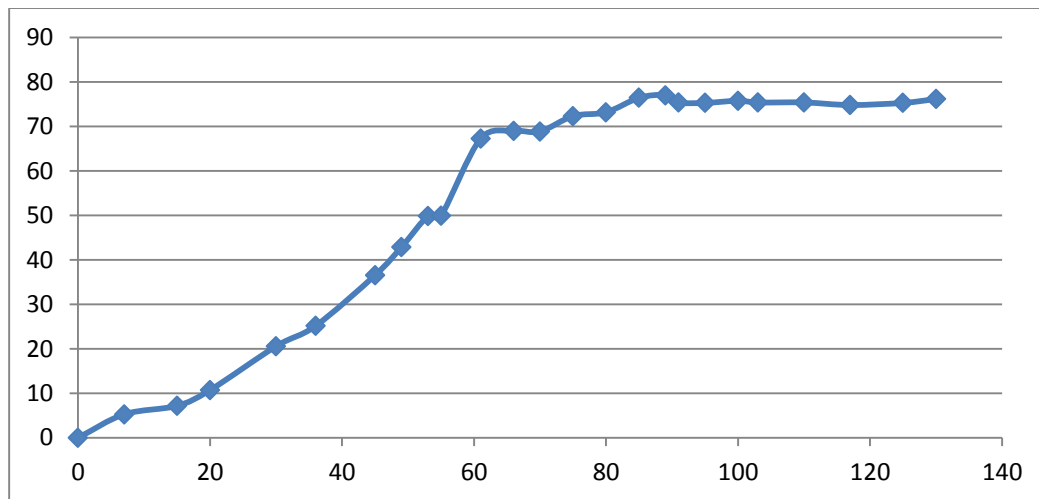


Fuente: Quiñonez, 2015.

El gráfico 5 muestra el comportamiento de la DQO en los días de experimentación, llegando a su valor más estable y más bajo luego de los 60 días, siendo el valor más bajo alrededor de los 200 mg/L.

En el mismo sentido el Gráfico 6 muestra la eficiencia lograda por este grupo de reactores, que fue de 76%, así es mejor este valor que para los anteriores.

Gráfico 6. Eficiencia de degradación de DQO vs Tiempo – F2



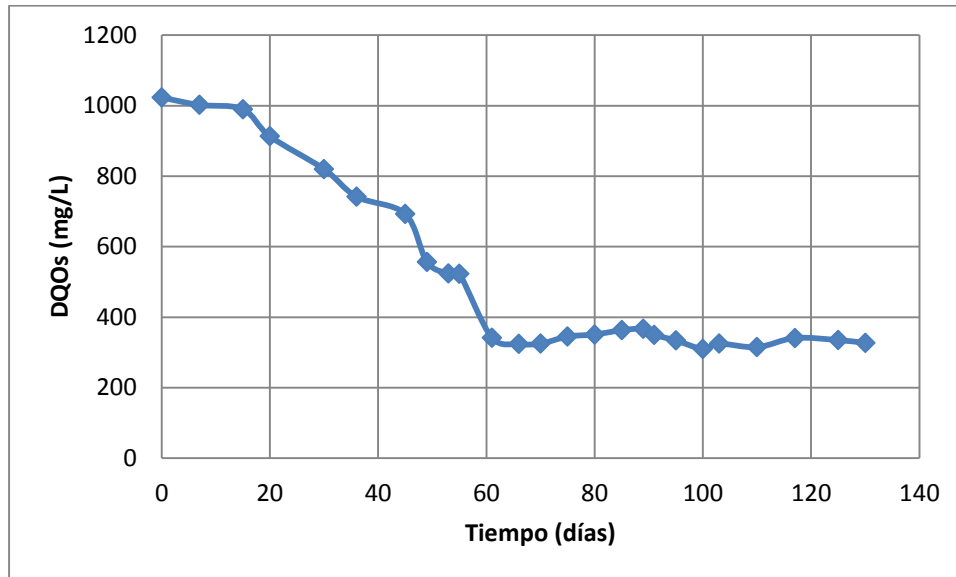
Fuente: Quiñonez, 2015.

3.3. GRUPO F3

3.3.1. REMOCIÓN DE DQO VS. TIEMPO

El Gráfico 1 siguiente muestra la degradación de la materia orgánica medida como mg/L de DQOs en el tiempo que se realizó los experimentos, para la variable TRH que fue de 30 horas.

Gráfico 7. DQO vs. Tiempo – F3

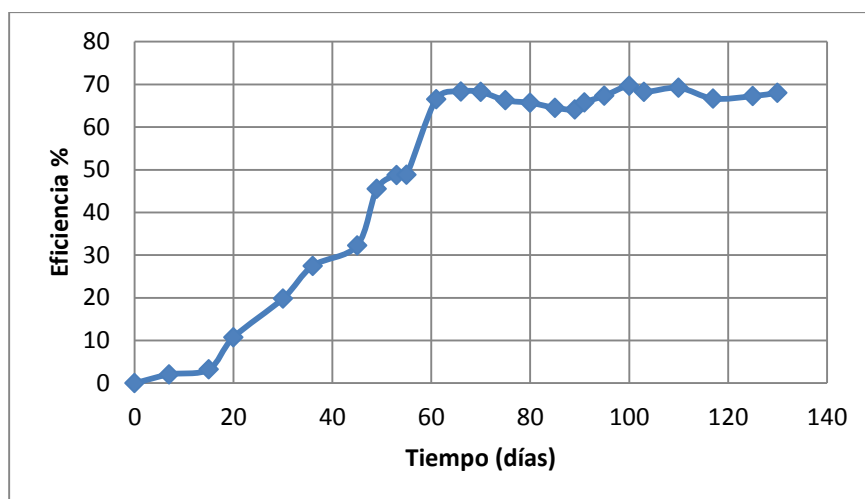


Fuente: Quiñonez, 2015.

El Gráfico 7 representa la degradación de DQOs, así durante los primeros 50 días de experimentación se logró la estabilización de la degradación de DQOs, esto desde 1000 mg/L de DQOs, ajustada a este valor inicial, luego de éste tiempo se mantuvo la DQOs en valores de 200 mg/L aproximadamente.

Por otra parte, el Gráfico 8, muestra la eficiencia de Remoción vs. El tiempo, en este caso, la eficiencia luego del día 60 no supero el 70% de eficiencia.

Gráfico 8. Eficiencia de Remoción vs. Tiempo – F3



Fuente: Quiñonez, 2015.

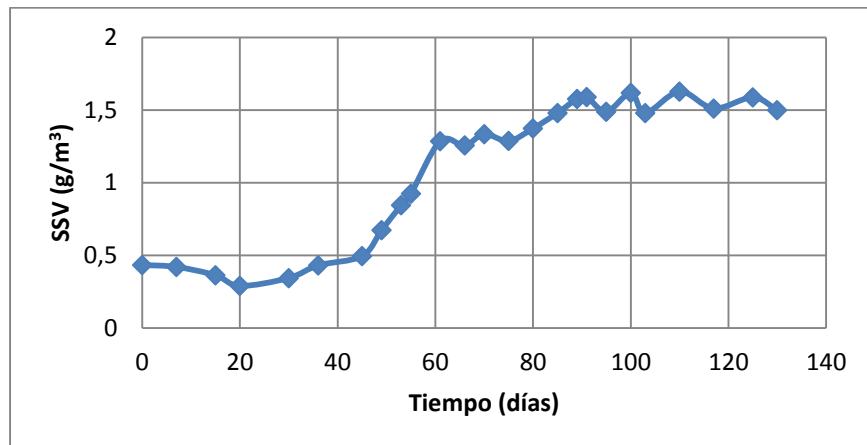
El sistema funciona a esta relativamente alta carga orgánica volumétrica con un porcentaje de eficiencia que se puede comparar con otros sistemas similares, pudiendo estar su principal limitación en el tipo de biomasa utilizada.

3.3.2. FORMACIÓN DE SSV

El Gráfico 9 muestra la variación de la concentración de Sólidos Suspendidos Volátiles totales versus el tiempo.

Al referirse a SSV_t, da cuenta de la suma de los SSV en el licor mixto SSVLM y SSV inmovilizados en los medios de soporte, todo expresado en unidad de volumen.

Gráfico 9. Sólidos Suspendidos Volátiles vs. Tiempo - F3



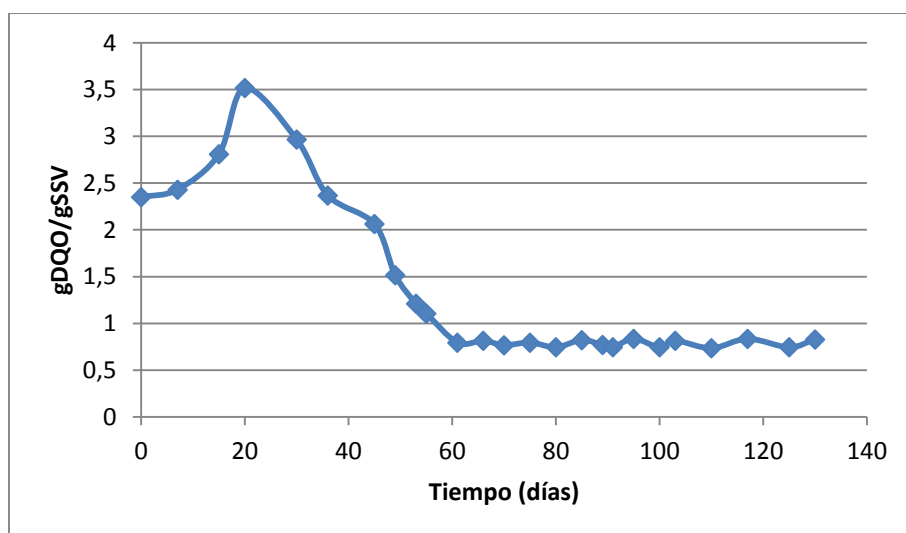
Fuente: Quiñonez, 2015.

Así, durante los primeros 20 días se experimentó una leve disminución en la cantidad de SSV, desde 0,4 a 0,291 g/m³, para luego empezar su ascenso hasta el día 60 donde fue estabilizándose hasta valores que oscilaron entre 1,28 y 1,62 g/m³.

3.3.3. RELACION SUSTRATO/BIOMASA (A/M) VS. TIEMPO

El gráfico 10 muestra la variación de la relación sustrato/biomasa versus el tiempo.

Gráfico 10. Relación A/M vs. Tiempo – F3



Fuente: Quiñonez, 2015.

La relación A/M se refiere a la relación materia orgánica o sustrato medida en gramos sobre la masa de Sólidos Suspendidos Volátiles, que representa la biomasa activa capaz de oxidar la materia orgánica. En el caso de los experimentos F1, es notorio que esta se estabilizó luego de los primeros 60 días, en valores entre 0,5 y 1 gDQO/gSSV, lo que corrobora los resultados anteriores, quedando sentado que los primeros dos meses fueron utilizados para estabilizar la materia orgánica.

4. CONCLUSIONES

- Es posible el uso de *Trichoderma spp.* para el tratamiento de aguas residuales en los inóculos experimentados en F1, F2, F3 correspondiente a 0,25, 0,5 y 0,75 g/L., obteniendo cinéticas de remoción alrededor del 70% en la remoción de DQO proveniente del canal el Macho de la ciudad de Machala. Así los resultados obtenidos no muestran diferencia significativa en los tratamientos aplicados.
- La eficiencia de degradación encontrada estuvo sobre el 70% de remoción medida como DQO, así, los resultados fueron 71%, 76% y 78% para los tratamientos F1, F2 Y F3 respectivamente,
- La máxima biomasa estabilizada medida como SSV fluctuó entre 1,28 y 1,90 gSSV/m³, valor normal para este tipo de sistemas basados en biopelícula fija.
- El tiempo de estabilización adecuado es de 60 días, esto para el arranque de los reactores, en los tres casos estudiados se vió este tiempo como el óptimo para la estabilización de la concentración de SSV así como donde se logró el estado estacionario de los reactores.
- La relación Sustrato/Biomasa óptima fue entre 0,5 y 1 gDQO/gSSV, para trabajar con eficiencias superiores al 70%.

5. RECOMENDACIONES

- Probar otros tipos de reactores donde se pueda alcanzar mayor eficiencia de remoción.
- El uso de este hongo debe tener consideraciones especiales de seguridad industrial y salud ocupacional, ya que es un hongo fuerte que fácilmente llega al ambiente y puede hacer contacto con la piel de los trabajadores.
- Usar este hongo con otro tipo de sustratos, ya sea agua residual de lixiviados de relleno sanitario u otros sustratos sólidos.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. A.O.A.C. (2005). Official Methods of Analysis of A.O.A.C International 18th ed. *A.O.A.C International, Gaithers-burg, MD, USA* .
2. Brusasco, C. (2014). Uso de la conductividad para valorar los solidos totales en agua potable. *Ministerio de salud de la provincia de Buenosaires*, Pág.2. Obtenido de http://www.ms.gba.gov.ar/sitios/laboratorio/files/2012/05/Uso_conductividad_valorar_solidos_disueltos_agua.pdf
3. Caessens, P. R., Daamen, W., Gruppen, H., Visser, S., & Voragen, A. J. (1999). b-Lactoglobulin hydrolysis. II. Peptide identification, SH/SS exchange, and functional properties of hydrolysate fractions formed by the action of plasmin. *Journal Agric Food Chem*, Págs. 2980-90.
4. CIMAD. (2002). SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS . *Universidad de Manizales*, Págs. 1-4.
5. Dalev, P. G. (1994). Utilisation of waste feathers from poultry slaughter for production of a protein concentrate. *Bioresource Technol* , Págs. 265–267.
6. Diaz, A. V. (2000). TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES. *wordpress*.
7. Feedstuffs. (1992). The weekly newspaper for agribusiness. *Special Issue.*, Pág. 46.
8. Fogarty, W. M., Griffin, P. J., & Joyce, A. M. (1974). Enzymes of *Bacillus* species—Part 2. *Process Biochem*, Págs. 27–29, 31, 33, 35.
9. Frister, H., Michaelis, M., Schwerdtfeger, T., Folkenberg, D., & Sorensen, N. K. (2005). Evaluation of bitterness in Cheddar cheese. . *Milchwissenschaft*, Págs. 691-5.
10. Galvao, C., Silva, A., Custodio, M., Monti, R., & Giordano, R. (2001). Controlled hydrolysis of cheese whey proteins using trypsin and alpha-chymotrypsin. *Appl Biochem Biotechnol*, Págs. 761-76.

11. Gold, A. M., & Fahrney, D. (1964). Biochem. *Sulfonyl fluorides as inhibitors of esterases II. Formation and reactions of phenylmethanesulfonyl alpha chymotrypsin*, Págs. 783–91.
12. HACH COMPANY. (2005). Determinacion de Nitrogeno Total. *Manual de espectrofotometro*.
13. Haque, A., & Vandepopuleerej, M. L. (1991). Extrusion processing of broiler starter diets containing ground whole hens, poultry by-product meal, feather meal, or ground feathers. *Poultry Science, vol. 70*, Pág. 234.
14. Harvey, D. (1992). Changing waste protein from a waste disposal problem to a valuable feed protein source. A role for enzymes in processing offal, feathers and dead birds. *Biotechnology in the feed industry*, Págs. 109-115.
15. Heredia, O. H. (2008). Endoproteasas y exoproteasas. *monografias.com*, Pág. 6.
16. Hurtado, D. M. (2000). La biotecnología. *Fertiberia*.
17. Mackenzie, D. (2005). Ingeniería y Ciencias Ambientales. *Mac Grau-Hill*, Pág. 75.
18. Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). Trichoderma spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*, Pág. 2.
19. Paliwal, N., Singh, S. P., & Garg, S. K. (1994). Cation-induced thermal stability of an Alkaline protease from a Bacillus sp. *Bioresource Technol: 50*, Págs. 209–211.
20. Panasiuk, R., Amarowicz, R., Kostyra, H., & Sijtsma, L. (1998). Determination of alpha-amino nitrogen in pea protein hydrolysates: a comparison of three analytical methods. *Food Chem*, Págs. 363-7.
21. Papadoulus, M., El Boushy, A., & Ketelaars, E. (1985). Effect of different processing conditions on amino acid digestibility of feather meal determined by chicken assay. *Poult. Sci. 64*, Págs. 1729-1741.
22. Peña, H. A., & Rueda, H. M. (2005). Eliminación del nitrógeno amoniacal en aguas sanitarias residuales. *Tratamiento de Aguas Residuales*, Pág. 162.

23 varado Granados Alejandro R. (coord.), 2012: Experiencia en el Tratamiento de aguas residuales en el Estado de México. México, Universidad Autónoma del Estado de México.

24 Arango, M., Ordoñez, N., Castañeda, E., & Restrepo, A. (1988). Manual de hongos contaminantes del laboratorio. *Instituto Nacional de Salud. Corporación para Investigaciones Biológicas*, Pág.127.

25 Boffil, Sinaí y otros, 2009: “Desarrollo local Sostenible a partir del Manejo Integrado en el Parque Nacional Caguanes de Yaguajay” en revista Desarrollo Local Sostenible, Cuba: www.eumed.net/rev/delos/04/

1. Carsolio, C., Benhamou, N., Haran, S., Cortes, C., Gutierrez, A., Chet, I., & Herrera, E. A. (1999). Role of *Trichoderma harzianum* Endochitinase gene, ech42, in Mycoparasitism. *Applied and Environmental Microbiology*, Págs. 929 – 935.
2. CEPIS/OPS. 2002. Estudios generales del Proyecto Regional Sistemas Integrados de tratamiento y Uso de aguas residuales en América Latina. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente (CEPIS) de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo (IDRC) de Canadá. Lima. Perú.
3. Danielson, R. (1989). Non nutritional factors affecting the growth of *Trichoderma harzianum*. *Soil. Biol. Biochem*, P'ags.495 – 504.
4. Eguillor, P. 2007. Agricultura orgánica. [En línea] <<http://www.odepa.gob.cl/servlet/articulos.ServletMostrarDetalle;jsessionid=12EBDF263837BD74F700FBC971054B6E?idcla=2&idcat=99&idclase=2&idn=1978&volver=1>> [Consulta: febrero, 2008].
5. EPA. (1985). Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents to freshwater and marine Organisms. *Environmental Protection Agency*.
6. Filtros & Equipos. (09 de 10 de 2014). *Ingeniería de Tratamiento de Aguas Residuales* . Obtenido de MICROBIOLOGÍA EN LOS SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS : <http://filtrosyequipos.com/GUEST/residuales/microbiologia1.pdf>

7. Howell, C. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases. *The history and evolution of current concepts. Plant disease*, Págs. 4 – 10.
8. Knudsen, G., Eschen, D., Dandurand, L., & Z, W. (1991). Method to enhance growth and sporulation of pelletized biocontrol fungi. *Applied and Environmental Microbiology*., Págs.2864 – 2867.
9. Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Kevei, F., & Nagy, E. (2003). Influence of Environmental parameters on *Trichoderma* strains with biocontrol potential. . *Food Technology and Biotechnology*, Págs. 37 – 42.
10. Levine, A. G., Tchobanoglous, & Asano, T. (1985). Caracterización y Distribución Según el Tamaño de Contaminantes en Aguas Residuales. *Tratamiento y Reutilización*, Págs. 205-216.
11. Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*, Pág. 2.
12. Metcalf, & Eddy, I. (1981). *Redes de Alcantarillado y Bombeo de Aguas Residuales*. Nueva York: Mc Grw – Hill.
13. Moore, L. E. (1996). Fundamentals of the fungi. *Prentice Hall*., Pág.574.
14. Mukherjee, P., Latha, J., Hadar, R., & Horwitz, B. (2004). Role of two G - protein alpha subunits, TgaA and TgaB, in the antagonism of plant pathogens by *Trichoderma virens*. *Applied and Environmental Microbiology*, Págs.542- 549.
15. Nampoothiri, K., Baiju, T., Sandhya, C., Sabu, A., Szakacs, G., & Pandey, A. (2004). Process optimization for antifungal chitinase production by *Trichoderma harzianum*. *Process Biochemistry*, Págs. 1583 – 1590.
16. OMS. 1989. Directrices sanitarias sobre el uso de las aguas residuales en agricultura y acuicultura. Serie de Informes Técnicos 778. Organización Mundial de la Salud. Ginebra.
17. Perez, G. N., Lopez, M. C., & Pastrana, L. (2003). Main characteristics and applications of solid substrate fermentation. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, Págs. 343-350.
18. Rodriguez, A. (2006). Tratamientos avanzados de Aguas Residuales Industriales. *Informe de vigilancia tecnológica – VT MIOD*, Págs. 10 – 16.

19. Romero, J. (2008). Tratamiento de Aguas Residuales. *Teoría y Principios de Diseño*, Pág. 17 – 19.
20. Sawyer, C., Mc Carty, L., & Parkin, F. (1994). Química para la Ingeniería Ambiental. *Ed Mc Graw - Hil*.
21. Snoeyink, V., & Jenkins, D. (1988). Química del Agua. *Jhon Wiley & Sons -2da Edición*.
22. Stainer, R. Y., & Igraham, J. (1986). Mundo de la Microbiología . *Englewood Cliffs, N.J. .*
23. Standard Methods . (1985). Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water. *American Public Health Association*.
24. Thomas, H. A. (1885). Bacterial Desinties from Fermentation Tube Tests. *Journal American Water Works Association*, Págs. 572.
25. Vazquez, G. S., Leal, M. C., & Herrera, E. A. (1998). Analysis of the β -1,3-Glucanolytic System of the Biocontrol Agent *Trichoderma harzianum*. *Applied and Environmental Microbiology*, Págs. 1442 – 1446.
26. WHO/UNICEF. 2006. Join Monitoring Program - Progress Report 2004 for Water and Sanitation. World Health Organization and The United Nations Children's Fund. Washington. USA.

ANEXOS

Anexo 1. Digestión térmica de las muestras para análisis de DQO



Anexo 2. Análisis de DQO



Anexo 3. Conidios del hongo Trichoderma spp



Anexo 4. Medición del oxígeno disuelto en las aguas residuales



Anexo 5. Medición de pH de las soluciones

