



**UNIVERSIDAD NACIONAL
“PEDRO RUIZ GALLO”**



ESCUELA DE POSTGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS

**“EFICIENCIA DE LA REMOCIÓN DE COLIFORMES TOTALES,
TERMOTOLERANTES, DEMANDA BIOQUÍMICA Y QUÍMICA DE
OXÍGENO EN LA LAGUNA DE ESTABILIZACIÓN DEL DISTRITO
LA FLORIDA, SAN MIGUEL, CAJAMARCA. NOVIEMBRE –
DICIEMBRE DE 2013”**

TESIS

PRESENTADA PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO EN

**CIENCIAS CON MENCIÓN EN
INGENIERÍA AMBIENTAL**

AUTORA:

BACH. LUCINDA VIDAURRE DAMIAN

ASESORA:

DRA. CARMEN ROSA CARREÑO FARFÁN

LAMABAYEQUE – PERÚ

2018

**“EFICIENCIA DE LA REMOCIÓN DE COLIFORMES TOTALES,
TERMOTOLERANTES, DEMANDA BIOQUÍMICA Y QUÍMICA DE OXÍGENO EN LA
LAGUNA DE ESTABILIZACIÓN DEL DISTRITO LA FLORIDA, SAN MIGUEL,
CAJAMARCA. NOVIEMBRE – DICIEMBRE DE 2013”**

Lucinda Vidaurre Damian

AUTOR

Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán

ASESORA

**Presentada a la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional Pedro
Ruíz Gallo para optar el grado de MAESTRO EN CIENCIAS, CON
MENCIÓN EN INGENIERÍA AMBIENTAL**

APROBADO POR:

**Dr. César García Espinoza
PRESIDENTE**

**Dr. Oscar Saavedra Tafur
SECRETARIO**

**Dr. César Estela Campos
VOCAL**

ABRIL – 2018

DEDICATORIA

A Dios:

Por ser mi guía, mi fortaleza y permitirme

llegar a este momento tan especial en mi vida.

Por los triunfos y los momentos difíciles que me

han enseñado a valorarlo cada día más.

*Mi eterna gratitud a mi **padre Lorenzo** por sus sabios consejos, por sus grandes bendiciones que desde el cielo siempre está guiando mis pasos dándome la fortaleza necesaria para seguir adelante.*

A mi Madre:

***Zoila** por su inagotable amor, apoyo y dedicación*

incondicional brindada en el transcurso de mi

vida y haber hecho realidad este gran sueño.

A mis hermanos:

***Jaime, Rosario, Luciano, María Estela y Demetrio** por su inagotable apoyo moral, espiritual e incentivarme a seguir luchando por mis sueños.*

AGRADECIMIENTO

De manera especial agradezco al Todo Poderoso dador de la vida, por la familia que tengo y compartir gratos y malos momentos, por mantenernos siempre unidos y superar cada obstáculo que se presenta en el transcurso de nuestras vidas. Por permitir la culminación de este trabajo de investigación y hacer realidad el objetivo trazado.

Mi más sincero agradecimiento a mi Patrocinadora Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán, por su amistad, confianza, apoyo desinteresado que brinda a la investigación, por sus consejos acertados, su comprensión y tiempo valioso brindado en la realización de esta investigación.

Al Dr. Jorge Chanamé Céspedes, por su amistad, apoyo incondicional y enseñanzas en el presente trabajo de tesis.

A todos mis amigos y aquellos que en algún momento prestaron su ayuda para la realización de esta investigación, quienes recuerdo siempre con gratitud y cariño.

ÍNDICE

CONTENIDO	Pág.
RESUMEN.....	x
ABSTRACT.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I. ANÁLISIS DEL OBJETO DE ESTUDIO	
1.1 Diseño metodológico.....	4
1.2 Población y muestra.....	4
1.3 Técnica de recolección de datos.....	4
1.3.1 Localización del área de estudio.....	4
1.3.2 Condiciones de operación y mantenimiento de la Laguna de Estabilización.....	7
1.3.3 Muestreo y análisis de laboratorio.....	7
1.3.3.1 Registro de temperatura y pH.....	11
1.3.3.2 Determinación de la demanda química de oxígeno, demanda bioquímica de oxígeno, coliformes totales y termotolerantes.....	11
1.3.3.3 Comparación de valores de los parámetros en la laguna de estabilización de la Florida y los máximos permisibles establecidos.....	16
1.4 Análisis de datos.....	16
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	
2.1 Antecedentes bibliográficos.....	17
2.2 Base teórica.....	21
2.2.1 Normatividad vigente.....	23
2.3 Definiciones conceptuales.....	26
CAPÍTULO III. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	
3.1 Temperatura y pH registrados en el afluente y efluente de La Laguna de Estabilización del distrito La Florida.....	28

3.2 Eficiencia de la remoción de la demanda química, bioquímica de oxígeno, coliformes totales y termotolerantes.....	28
3.3 Comparación de los valores de los parámetros investigados en los máximos permisibles establecidos.....	32
3.4 Discusión de los resultados.....	37
CONCLUSIONES.....	41
RECOMENDACIONES.....	42
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
ANEXOS.....	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Coordenadas de puntos de muestreo de La Laguna de Estabilización del distrito La Florida en Cajamarca 2013.....	7
Tabla 2. Límites Máximos Permisibles para los Efluentes de PTAR....	25
Tabla 3. Valores de temperatura en el afluente y efluente de La Laguna de Estabilización del distrito La Florida, San Miguel, región de Cajamarca durante noviembre a diciembre de 2013.....	30
Tabla 4. Valores de pH en el afluente y efluente de La Laguna de Estabilización del distrito La Florida, San Miguel, región de Cajamarca durante noviembre a diciembre de 2013.....	30
Tabla 5. Valores de la DQO en el afluente y efluente de la Laguna de Estabilización del distrito La Florida, San Miguel, región Cajamarca durante noviembre a diciembre de 2013.....	31
Tabla 6. Valores de la DBO ₅ en el afluente y efluente de la Laguna de Estabilización del distrito La Florida, San Miguel, región Cajamarca, durante noviembre a diciembre de 2013.....	34
Tabla 7. Valores de coliformes totales en el afluente y efluente de la Laguna de Estabilización del distrito La Florida, San Miguel, región Cajamarca, durante noviembre a diciembre de 2013...	35
Tabla 8. Valores de coliformes termotolerantes en el afluente y efluente de la Laguna de Estabilización del distrito La Florida, San Miguel, región Cajamarca, durante noviembre a diciembre de 2013.....	35
Tabla 9. Demanda química y bioquímica de oxígeno y eficiencia de la Laguna de Estabilización del distrito La Florida del distrito La Florida, San Miguel, región Cajamarca durante noviembre a diciembre de 2013.....	36

Tabla 10. Parámetros evaluados en las aguas residuales de la Laguna de Estabilización comparados con los límites máximos permisibles.....	36
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación geográfica de la zona de muestreo del distrito la Florida.....	6
Figura 2. Laguna de Estabilización del distrito La Florida, San Miguel, Región Cajamarca, 2017.....	8
Figura 3. Línea de conducción domiciliaría de aguas residuales.....	8
Figura 4. Buzón de interrupción del sistema de alcantarillado.....	9
Figura 5. Uso de agua residual sin tratamiento para el riego de Guadua angustifolia.....	9
Figura 6. Efluente de la Laguna de Estabilización vertido en el río.....	10
Figura 7. Incubación de tubos con caldo bilis verde brillante a 35°C...	15
Figura 8. Incubación de tubos con caldo EC a 44,5°C.....	15
Figura 9. Variación de la DQO en el afluente y efluente de la Laguna de Estabilización del distrito La Florida, San Miguel, región Cajamarca, durante noviembre a diciembre de 2013.....	31
Figura 10. Variación de la DBO ₅ en el afluente y efluente de la Laguna de Estabilización del distrito La Florida, San Miguel, región Cajamarca, durante noviembre a diciembre de 2013.....	34

RESUMEN

Se investigó la eficiencia de remoción de coliformes totales, termotolerantes, demanda bioquímica, (DBO_5) y demanda química de oxígeno (DQO) en la laguna de estabilización del distrito La Florida, San Miguel, Cajamarca, noviembre a diciembre, de 2013. Se seleccionaron dos puntos de muestreo, obteniéndose muestras del afluente y efluente semanalmente durante dos meses en un total de 9 muestreos y los valores se compararon con los máximos permisibles por el DS N° 003-2010-MINAM. La temperatura de las aguas residuales fue en promedio 27,4 °C en el afluente y 26,4 °C en el efluente; el pH fue 7,3 en el afluente y 6,8 en el efluente. La DQO fue en promedio 625,89 mg/L en el afluente y 371,56 mg/L en el efluente, y la DBO_5 fue en promedio 390,89 mg/L en el afluente y 288,00 mg/L en el efluente. Los coliformes totales fueron en promedio 49×10^6 NMP/100 mL en el afluente y 23×10^6 NMP/100 mL en el efluente y los termotolerantes $42,8 \times 10^6$ NMP/100 mL en el afluente y $20,3 \times 10^6$ NMP/100 mL en el efluente. Los valores de los parámetros investigados: DQO, DBO_5 y coliformes termotolerantes superaron los límites máximos permisibles, indicando que no se cumple con la normativa vigente establecida por el DS N° 003-2010-MINAM para vertidos a cuerpos de agua.

Palabras clave: Aguas residuales, laguna de Estabilización, demanda bioquímica de oxígeno, demanda química de oxígeno, coliformes termotolerantes.

ABSTRACT

The removal efficiency of total coliform, thermotolerant, biochemical demand (DBO_5) and chemical demand (DQO) in the lagoon of the district of La Florida, San Miguel, Cajamarca, November to December 2013 was investigated. Two sampling points were selected, obtaining samples of the influent and effluent weekly for two months in a total of 18 samplings and the values were compared with the maximum allowable by DS N 003-2010-MINAN. The temperature of the wastewater was on average of $27,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ in the influent and $26,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ in the effluent; the pH was 7.3 in the influent and 6.8 in the effluent. The DQO was on average $625,89\text{ mg / L}$ in the influent and $371,56\text{ mg / L}$ in the effluent and the DBO_5 was in the middle of $390,89\text{ mg / L}$ in the influent and $288,00\text{ mg / L}$ in the effluent. The coliforms total were on average $49 \times 10^6\text{ NMP / 100 mL}$ in the influent and $23 \times 10^6\text{ NMP / 100 mL}$ in the effluent and the thermotolerant $42,8 \times 10^6\text{ NMP/100 mL}$ in the influent and $20,3 \times 10^6\text{ NMP / 100 mL}$ in the effluent. The values of the investigated parameters: DQO, DBO_5 and thermotolerant coliforms exceed the maximum permissible limits, indicating that the current regulations established by DS N 003-2010-MINAN for discharges to bodies of water are not complied with.

Keywords: Wastewater, Stabilization lagoon, biochemical oxygen demand, chemical demand for oxygen, thermotolerant coliforms.

INTRODUCCIÓN

El agua es esencial para toda forma de vida. Es un recurso escaso, vulnerable, estratégico e indivisible, que sostiene el desarrollo y el ambiente. El planeta tierra está compuesto por 97% de agua salada y 3% de agua dulce distribuida en ríos, lagos, acuíferos subterráneos y en la lluvia, pero principalmente se encuentra congelada en los picos de montañas muy altas y en los polos. De esta manera, solo 1% de esa cantidad de agua “dulce” es útil para el consumo de los seres vivos (Barboza, 2011, p.4).

La disposición final de las aguas residuales producidas por las actividades humanas domésticas e industriales representa un problema cuya magnitud se incrementa y agrava día a día. En el Perú, en el 2007, los sistemas de alcantarillado recolectaron aproximadamente 743,7 millones de metros cúbicos de aguas residuales, producto de las descargas de los usuarios conectados al servicio de alcantarillado. De ese volumen, sólo 29,1 % ingresó a un sistema de tratamiento de aguas residuales, algunos de los cuales presentan deficiencias operativas y de mantenimiento y el resto se descargó directamente a un cuerpo de agua de mar, río o lagos, se infiltró en el suelo o se usó clandestinamente para fines agrícola (Méndez y Marchán, 2008, p.5).

En el 2009 los sistemas de alcantarillado administrados por las empresas de saneamiento en el Perú, recolectaron aproximadamente 786,4 millones de m³ de aguas residuales provenientes de conexiones domiciliarias, de los cuales 401,9 millones de m³ fueron generados en las ciudades de Lima y Callao (SEDAPAL); sin embargo, debido a la inexistencia de una adecuada infraestructura a nivel nacional, solamente 35 % de este volumen recibió algún tipo de tratamiento previo a su descarga en un cuerpo receptor; es decir, 275,0 millones de m³ de aguas residuales se estarían volcando directamente a un cuerpo receptor sin un tratamiento previo (Rossi, 2010, p.32)

El inventario tecnológico del sector saneamiento indica que en el Perú existen 143 plantas de tratamiento de aguas residuales, PTAR: 132 lagunas (111 facultativas, diez aireadas mecánicamente, once anaerobias), cinco Filtros Percoladores, tres Lodos Activados, dos Tanques Imhoff y una unidad anaerobia de flujo ascendente, UASB o RAFA (Rossi, 2010, p.32); sin embargo, pocos son los proyectos que puedan llamarse exitosos. Ello se debe, a la visión sesgada de las Empresas Prestadoras de Saneamiento, EPS, que no valora el potencial socio económico de las aguas residuales tratadas, a la ausencia de una cultura de protección del ambiente como parte de la misión de las EPS y al ingreso de efluentes industriales a los sistemas de alcantarillado, cuya carga orgánica y otros elementos como metales pesados, ácidos y bases generan sobrecarga en las unidades de tratamiento y afectan negativamente los procesos biológicos de los vertimientos de aguas residuales crudas provenientes de los sistemas de alcantarillado (Méndez y Marchán, 2008, p.6).

El distrito de La Florida se encuentra en la provincia de San Miguel, región de Cajamarca, a 1200 msnm. Fue creada el 25 de marzo de 1965 mediante Ley N° 15477, tiene una población de 600 habitantes, con 269 viviendas, de las cuales 40% cuenta con una conexión a la red para el sistema de alcantarillado, 50% tiene letrinas y 10% de éstas desembocan al río aledaño del distrito La Florida. Hace 20 años en el distrito La Florida se construyó una laguna de Estabilización de 30 x 30 x 1,5 m que se encuentra en estado de abandono. El sistema de alcantarillado es interrumpido para el riego de cultivos de *Guadua angustifolia* “guayaquil”, una parte de sus efluentes son vertidos a campo abierto y la otra parte desemboca al río, sin verificarse la calidad física, química y microbiológica de las aguas residuales; sin embargo, se desconoce la problemática que ocasiona para la salud pública y el ambiente.

Formulación del problema

En este contexto, se desarrolló la presente investigación, cuyo problema fue: ¿Cuáles son los valores de eficiencia de la remoción de

coliformes totales, termotolerantes, demanda bioquímica y química de oxígeno en la laguna de estabilización del distrito La Florida, San Miguel, Cajamarca durante noviembre a diciembre de 2013?

Objetivo general

Determinar la eficiencia de la remoción de coliformes totales, termotolerantes, demanda bioquímica de oxígeno y demanda química de oxígeno de la laguna de estabilización del distrito La Florida, San Miguel, Cajamarca durante noviembre a diciembre de 2013.

Objetivos específicos

Registrar la temperatura y pH durante noviembre a diciembre de 2013; determinar los valores de demanda química de oxígeno(DQO), demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅), coliformes totales y termotolerantes, de los afluentes y efluentes en la laguna de estabilización del distrito La Florida; calcular la eficiencia de la remoción de la DQO, DBO₅, coliformes totales y termotolerantes, así como también comparar los valores de los parámetros investigados con los máximos permisibles establecidos para efluentes de plantas de tratamiento de aguas domésticas o municipales referidas en el DS N° 003-2010-MINAM.

Formulación de la hipótesis

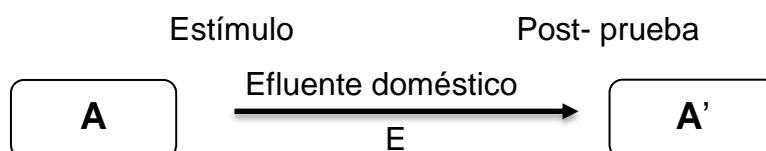
El tratamiento de aguas residuales en la laguna de estabilización del distrito La Florida, San Miguel, Cajamarca durante noviembre a diciembre de 2013 disminuye la DQO y DBO₅, los coliformes totales, termotolerantes, pero la eficiencia es menor de 90% y no se cumple con los valores máximos permisibles establecidos por la norma peruana.

CAPÍTULO I

ANÁLISIS DEL OBJETO DE ESTUDIO

La Investigación se realizó en el Laboratorio Referencial de Cajamarca, Provincia San Miguel, Región Cajamarca.

1.1 Diseño metodológico: Para contrastar la hipótesis se utilizó diseño Preexperimental: Diseño Post Prueba con un solo grupo, donde:



A: Muestra control

E: Estímulo: Efluente doméstico que no es manipulado por el investigador

A': Calidad del agua del efluente

1.2 Población y muestra

Población: Afluente y efluente de la laguna de estabilización de La Florida.

Muestra: Muestras simples tomadas semanalmente del afluente y efluente de la Laguna de Estabilización de aguas residuales del distrito La Florida, durante 2 meses, la cuales fueron procesadas en el Laboratorio Referencial de Cajamarca.

Variables cuantitativas: Demanda química de oxígeno (DQO), demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅), coliformes totales, termotolerantes.

1.3 Técnicas de recolección de datos

1.3.1 Localización de la zona de estudio

La Laguna de Estabilización de aguas residuales, se encuentra ubicada a 2500 metros del distrito La Florida (Figura 1), perteneciente a la provincia de San Miguel, región Cajamarca. Limita al sur con el distrito de Niepos, al norte con el distrito de Catache, al este con de Calquis y al oeste con Oyotún. Fue creado el 25 de marzo de 1965 mediante Ley N° 15477, tiene una población de 600 habitantes, con 269

viviendas de las cuales 40% cuenta con una conexión a la red para el sistema de alcantarillado, 50% tiene letrinas y 10% de éstas desembocan al río aledaño del distrito (Municipalidad distrital La Florida, 1993).

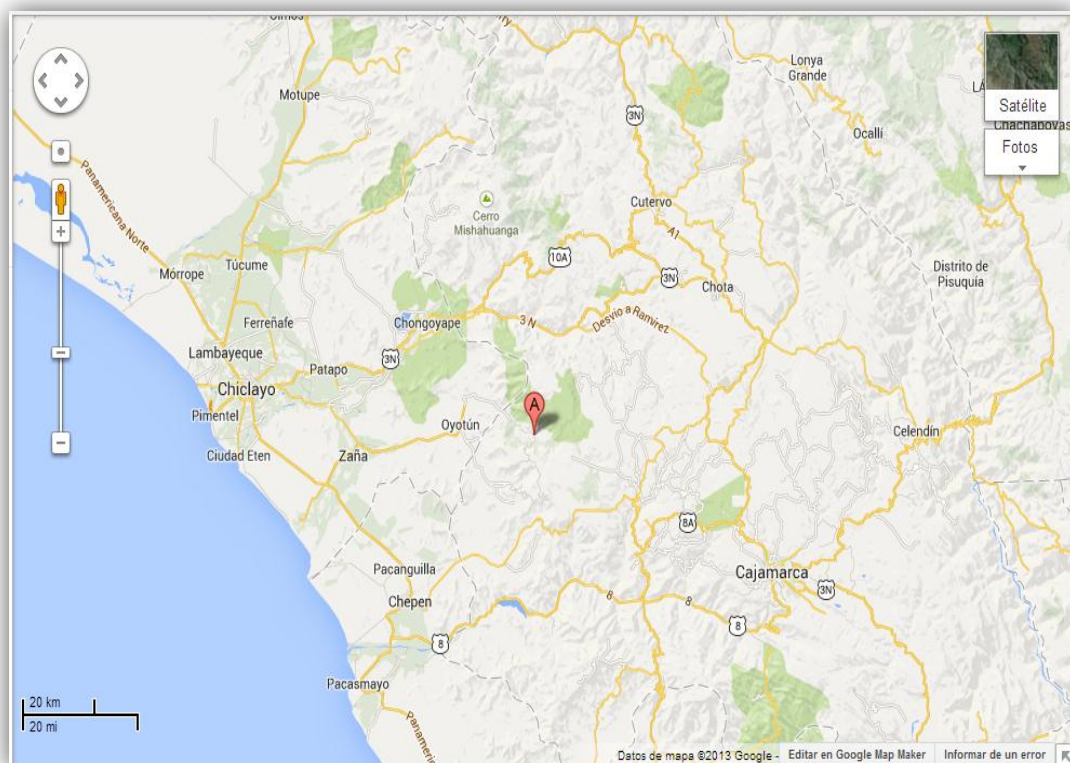


Figura 1. Ubicación geográfica de la zona de muestreo del distrito La Florida, provincia de San Miguel, Cajamarca, noviembre a diciembre de 2013.
Fuente: (<https://maps.google.com.pe/>)

1.3.2 Condiciones de operación y mantenimiento de la laguna de estabilización

La laguna de estabilización de aguas residuales domésticas del distrito La Florida está conformada por una sola laguna facultativa de 30 x 30m y una profundidad de 1,50 m (Figura 2, anexo 1). Funciona desde hace 20 años sin algún tipo de mantenimiento. La línea de conducción domiciliaria hasta la laguna está constituida por tubos de concreto, algunos de las cuales están deteriorados, observándose filtraciones, con malos olores y producción de vectores cerca a los domicilios del distrito (Figura 3).

La laguna de estabilización no cuenta con sistema de rejillas como un tratamiento preliminar, permitiendo el ingreso total de todo desecho u objetos grandes y la vegetación circundante no permite el ingreso de los rayos solares, fundamentales para este tipo de sistema. El sistema de alcantarillado es interrumpido para el riego de cultivos de *Guadua angustifolia* “guayaquil”, una parte de sus efluentes son vertidos a campo abierto y la otra parte desemboca al río (Figuras 4 a 6), sin verificarse la calidad física, química y microbiológica de las aguas residuales, constituyendo un riesgo para la salud pública y el ambiente.

1.3.3 Muestreos y análisis de laboratorio

El material de estudio correspondió el afluente y efluente de la Laguna de Estabilización de la Florida. Se seleccionaron dos puntos de muestreo (Tabla 2) bajo el criterio de evaluar antes y después de las descargas, realizando un muestreo semanal por 2 meses (9 muestreos).

Tabla 1. Coordenadas de puntos de muestreo de la Laguna de Estabilización del distrito La Florida en Cajamarca, 2013

Punto de Muestreo	Posición			
	UTM	Norte	Este	Altitud
1	15S	9867573	965248	925 m
2	15S	9866367	965142	905 m

Fuente: Elaboración Propia



Figura 2. Laguna de Estabilización del distrito La Florida, en San Miguel, Región Cajamarca, 2013.

Fuente: Elaboración Propia



Figura 3. Línea de conducción domiciliaria de aguas residuales.

Fuente: Elaboración Propia



Figura 4. Buzón de interrupción del sistema de alcantarillado.

Fuente: Elaboración Propia



Figura 5. Uso de agua residual sin tratamiento para el riego de *Guadua angustifolia*.

Fuente: Elaboración Propia



Figura 6. Efluente de laguna de estabilización vertido en el río.

Fuente: Elaboración Propia

La toma de muestras de aguas residuales se realizó según el Protocolo Nacional de Monitoreo de la Calidad en Cuerpos Naturales de Agua Superficial de la Autoridad Nacional del Agua, (ANA, 2011, pp.13 a 18). Se utilizaron frascos de vidrio estéril y polietileno debidamente codificados y etiquetados con una capacidad de 500 mL para coliformes y 1 litro para DQO y DBO₅ respectivamente. En los puntos de muestreo a las 9 am se introdujeron los frascos, 20 cm por debajo de la superficie, con el extremo superior hacia abajo y se llenaron con agua hasta un tercio de su capacidad (coliformes) o totalmente (DQO y DBO₅). Los frascos conteniendo las muestras de agua residual se depositaron en una caja conservadora, a 4°C y se transportaron al laboratorio referencial de Cajamarca.

1.3.3.1 Registro de temperatura y pH

Una vez ubicado el punto de muestreo se colectó una muestra en un frasco de boca ancha para registrar la temperatura *in situ* con termómetro ambiental y el pH utilizando cinta indicadora de pH – MERK – rango de 5,0 – 10,0.

1.3.3.2 Determinación de la demanda química de oxígeno, demanda bioquímica de oxígeno, coliformes totales y termotolerantes

La DQO, DBO₅, el NMP de coliformes totales y termotolerantes se determinaron según los métodos de American Public Health Association, APHA: Standard Methods For the examination of water and wastewater, 2012a, 2012b (Anexos 2, 3,4).

a. Demanda química de oxígeno, DQO

El oxígeno molecular requerido para la oxidación química de la materia orgánica se determinó usando el ión dicromato como agente oxidante. Éste cambia de cromo hexavalente (VI) a trivalente (III). Ambas especies se colorean y absorben en la región visible del espectro, el ión dicromato a 400 nm y el ión crómico a 600nm (APHA, 2012a; anexo 2, pp. 48 a 45).

En tres tubos o viales de digestión de 16 x 100 nm se depositaron 2,5 mL de muestra, BK y patrón, respectivamente y en cada uno se vertieron 1,5 mL de solución de digestión y 3,5 mL de ácido sulfúrico, hasta alcanzar un volumen de 7,5 mL. Los tres viales se calentaron en el reactor a $150\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 2 horas y después se dejaron enfriar a temperatura ambiente.

El contenido de los viales se mezcló por inversión y se dejó sedimentar. En el espectrofotómetro de luz visible a 600 nm, se introdujo el blanco y luego se leyó la absorbancia de la muestra digerida, registrándola en la hoja de trabajo para colorimetría RT1.PEQ11-5.4-01.

La DQO se calculó dividiendo los miligramos de oxígeno en volumen final entre los mL de muestra y el resultado se multiplicó por 1000.

$$\text{DQO mg O}_2/\text{L} = \frac{\text{mg O}_2 \text{ en volumen final} \times 1000}{\text{mL de muestra}}$$

b. Demanda bioquímica de oxígeno, DBO₅

El oxígeno molecular utilizado para la oxidación de materia orgánica de las muestras de agua se determinó durante un periodo de incubación en la oscuridad a $20\pm 10^{\circ}\text{C}$ por 5 días (APHA, 2012; anexo 3, pp. 62 a 66). En un matraz se preparó el agua de dilución (agua destilada) y 1 mL de solución tampón fosfato, MgSO_4 , CaCl_2 , y FeCl_3 . La muestra se estandarizó a una temperatura a $20\pm 3^{\circ}\text{C}$ previo a su uso, siendo la concentración de oxígeno disuelto de 7,5 mg/L y un pH de 6,5 a 7,5.

Se prepararon diluciones en tres frascos con la finalidad de obtener 1 lectura inicial y 2 finales de oxígeno disuelto, OD. En tres probetas se vertieron por paredes, las dos terceras partes de agua de dilución más 5 mL de muestra sin airear y se completó con agua de dilución, mezclando por completo y evitando la entrada de aire. La dilución mezclada se vertió a botellas de DBO sin dejar de sedimentar los

sólidos y llenando por completo las botellas, se sellaron con parafilm y se incubaron a $20\pm1^{\circ}\text{C}$ por 5 días en la oscuridad.

La DBO_5 se calculó mediante la diferencia de las lecturas de oxígeno disuelto inicial y oxígeno disuelto final menos el consumo de oxígeno utilizado en la adición de las semillas (si lo requirió) por el volumen de semilla utilizada en la botella, mL dividida por el factor de dilución.

$$\text{DBO}_5, \text{ mg/L} = \frac{(\text{D1}-\text{D2}) - (\text{S}) \text{ Vs}}{\text{P}}$$

c. Coliformes totales y termotolerantes

Los coliformes se determinaron según el método de APHA (Anexo 3) con una fase presuntiva (Part 9221B2, p.73) y fase confirmativa (Part 9221B 3, 4, p.73) para los coliformes totales y una fase confirmativa para coliformes termotolerantes (Part 9221E1, p.74). En la fase presuntiva, la muestra de agua se homogenizó 25 veces, con movimientos inversos, volúmenes de 1mL se colocaron en tubos con 10 mL de caldo Lauril sulfato triptosa (CLST) con campanas Durham y se incubaron a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$, durante 24-48±3h.

En la fase confirmativa para coliformes totales, una alícuota (dos o tres asadas) de los tubos de CLST positivos, con presencia de gas, se sembraron en tubos con caldo lactosado bilis-verde brillante (CLBVB) con campanas Durham y se incubaron a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48±3h (Figura 7). La producción de gas y turbidez se consideró como prueba confirmativa para los coliformes totales y los resultados se expresaron como NMP/100 mL de agua.

En la fase confirmativa para coliformes termotolerantes una alícuota (dos o tres asadas) de los tubos CLST positivos, con presencia de gas se sembraron en tubos con caldo Ec medium (EC) con campanas Durham y 30 minutos después se incubaron a $44,5\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ por 24±2h en baño de agua (Figura 8). La producción de gas y turbidez se consideró como prueba confirmativa y los resultados se expresaron como NMP/100

mL de agua. En los tubos en los que se observó abundante turbidez, pero ausencia de gas se tomaron alícuotas y se sembraron en agar m-FC, en el que se evaluó el crecimiento típico a $44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ en baño de agua.

La eficiencia de la remoción de los coliformes totales y termotolerantes se calculó según la fórmula utilizada por (Bernis y Gonzales, 2000, p.12).

$$\% \text{ Eficiencia} = \frac{AP - DP}{AP} \times 100$$

Donde:

AP= valor del parámetro en el afluente

DP= valor del parámetro en el efluente



Figura 7. Incubación de tubos con caldo lactosado bilis verde brillante a 35 °C.

Fuente: Elaboración Propia



Figura 8. Incubación de tubos con caldo EC medium, a 44,5.

Fuente: Elaboración Propia

1.3.3.3 Comparación entre los valores de los parámetros en la laguna de estabilización de La Florida y los máximos permisibles establecidos

Los valores obtenidos en la DQO, DBO y coliformes termotolerantes se compararon con los límites máximos permisibles para los efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas o municipales establecidos en el Decreto Supremo N° 003-2010-MINAM (Anexo 5).

1.4 Análisis de datos

Los valores de los coliformes totales, termotolerantes, DBO₅ y DQO, se registraron en tablas y figuras que permitieron analizar la eficiencia de la laguna de estabilización de aguas residuales domésticas del distrito La Florida, San Miguel, Cajamarca. La prueba de T de Student se utilizó para determinar las diferencias significativas en los valores de los parámetros entre el afluente y efluente (Hernández, Fernández y Baptista, 2014, p.5).

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes bibliográficos

El tratamiento de aguas residuales, mediante lagunas de estabilización permite una adecuada remoción de microorganismos patógenos y el posterior reuso de estas aguas, pero es necesario determinar si dicha remoción es eficiente para que los efluentes no constituyan un peligro para la salud pública. Se evaluó la eficiencia de remoción y la constante de mortalidad de Coliformes totales y fecales de las Lagunas de Estabilización en San José. Se analizaron 112 muestras de las aguas crudas y tratadas mediante la técnica NMP, encontrándose que el efluente total de las lagunas alcanzó valores de $3,38 \times 10^4$ CT/100mL y 1.37×10^4 CF/100 mL, con niveles de remoción de 99,875 y 99,899% respectivamente. A su vez los niveles de eficiencia de remoción de Coliformes totales y fecales de las lagunas anaerobia y facultativas fue similar (Bernis y Gonzales, 2000, p.1).

El uso de aguas residuales en la agricultura es una alternativa para incrementar la producción agrícola y controlar la contaminación ambiental, pero constituye un problema sanitario debido a los numerosos patógenos que pueden estar presentes en ellas. Por este motivo, se investigó la calidad del agua residual para uso agrícola en las lagunas de estabilización de la Universidad de Zulia. Venezuela. Se evaluaron Coliformes fecales, enterobacterias (EB), estreptococos fecales (EF), enterococos (EC), heterótrofos (Het), colifagos de *E.coli* C y hongos, siguiendo las técnicas descritas en el Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. En el efluente final las medias geométricas determinadas fueron: CT $1,2 \times 10^4$ NMP/100 mL, CTT $8,0 \times 10^3$ NMP/100mL, EF $8,1 \times 10^1$ NMP/100mL, EC $5,3 \times 10^1$ NMP/100mL, Het $1,1 \times 10^4$ UFC/mL, *E. coli* C $5,7 \times 10^2$ UFC/mL y Hongos $6,2 \times 10^2$ UFC/mL. Se demostró que el 90% de las muestras no cumplían con el requisito establecido por la Organización Mundial de la Salud (OMS), para aguas

residuales a ser empleadas con fines de irrigación (Botero, Zambrano, Oliveros, León, Sarcos y Martínez, 2002, p.1).

Para el tratamiento apropiado de las aguas residuales domésticas se utilizan diferentes tipos de métodos, entre los cuales está el sistema de lagunas de estabilización; que constituye un sistema natural que ofrece costos mínimos de operación y mantenimiento. Se investigaron cuatro sistemas lagunares de áreas militares, determinando la eficiencia de remoción teórica de la DBO, sólidos suspendidos y remoción de patógenos. Se registró 82,07%, 52,51 % y 79,9% de remoción de DBO; 30,56%, 16,67% y 79,91% de remoción de sólidos suspendidos y 70%, 50% y 80% de remoción de patógenos. La escuela Politécnica fue la que mejor tratamiento da a las aguas residuales a pesar de no contar con sistemas de operación y mantenimiento (Martínez y Guzmán 2003, p.26).

En la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) “La Totorá” – Ayacucho, se determinó la capacidad de remoción de bacterias coliformes fecales (BCF) y la demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5). Se analizaron 70 muestras de agua tomadas cada 15 días durante marzo a julio. Para la cuantificación de la población de BCF, se aplicó la técnica de Tubos Múltiples de Fermentación (NMP) y el método respirométrico para determinar la DBO_5 . Con los resultados obtenidos, se calculó el porcentaje de remoción de BCF y DBO_5 aplicando la siguiente fórmula: $\% \text{ Remoción} = [(C \text{ afluente} - C \text{ efluente}) / C \text{ afluente}] \times 100$. La capacidad de remoción de BCF fue del 99,99%, evacuando efluentes con una cantidad en promedio de $1,29 \times 10^5$ NMP/100 mL, en tanto que la remoción de la DBO_5 fue de 86,2%, evacuando efluentes con 46,35 mg/L. Ambos procesos fueron deficientes en relación a lo estipulado por la Ley General de Aguas D.L. 17752 para aguas de clase III. Se concluyó que las aguas de los efluentes de la PTAR “La Totorá” aún no pueden ser consideradas como agua de Clase III para riego de vegetales de consumo crudo y bebida de animales (Chuchón y Aybar, 2008, p.1).

La remoción de organismos coliformes se investigó en un sistema piloto de lagunas de estabilización con tres lagunas en serie en las inmediaciones del municipio de Soacha, Colombia. Se evaluó el rendimiento del sistema operando con alimentación semicontinua y tiempos de retención hidráulica total (TRH) de 17, 11 y 7 días. Se determinaron parámetros físico-químicos y microbiológicos del agua cruda y de los efluentes de las lagunas, por un periodo continuo de 7 meses. Con el TRH de 11 y 17 días se determinó remoción efectiva de microorganismo fecales como *E. coli* hasta valores inferiores a los requeridos por la norma, debido al efecto sinérgico de la acción de las algas, radiación solar de la zona y la misma calidad del agua del afluente. Para coliformes totales pocas muestras alcanzaron el límite exigido. El tiempo de retención hidráulico recomendado para operar las lagunas fue de 10 - 11 días, con el que se tendría un caudal disponible de 100 - 110 m³/semana (14 - 15 m³/d), lo cual es suficiente para regar 1200 m²/día de cultivos de hortalizas (Duran, Arguello y Collazos, 2009, p.2).

La calidad del agua se utilizó en las lagunas de oxidación de la ciudad de Mérida, Yucatán - México, a través de los análisis realizados de 2002 a 2008 por diferentes laboratorios. Los parámetros considerados fueron físico-químicos y microbiológicos. Se obtuvo el porcentaje de remoción, considerando los datos en la laguna de inicialización y en la de finalización, además de comparar los resultados con los límites máximos permisibles. Se registraron altos porcentajes de remoción de contaminantes menores del 80% y negativos, pero concentraciones en el efluente superiores a los límites establecidos en la norma; siendo para coliformes fecales de 3000 - 93000 UFC/100mL, DBO₅ 368,8 y 106,81 mg/L, nitrógeno total de 375 a 36,88 mg/L, fósforo total 15,78 a 13,74 mg/L, grasas y aceites de 200 a 56,27 mg/L, sólidos sedimentables con 55 a 57,5 mg/L, sólidos suspendidos totales 224,3 a 224,9 mg/L. Se concluyó que las lagunas de oxidación no están funcionando adecuadamente y representan una fuente de contaminación al ambiente (Febles y Hoogesteijn, 2010, pp.130 a 132).

El objetivo de la investigación fue demostrar la eficiencia de remoción de microorganismos y materia orgánica del Sistema de la planta de tratamiento de aguas residuales cabinas –Venezuela. En el período de lluvia, se tomaron muestras de entrada y salida de la planta, diariamente y a diferentes horas del día durante 3 meses, se determinaron parámetros físicos, químicos y microbiológicos: pH, oxígeno disuelto, temperatura y caudal se midieron *in situ* la DBO y DQO (total y soluble), Nitrógeno Total Kjeldhal, Nitrógeno amoniacal, Nitritos, Nitratos, Fósforo Total, coliformes totales y fecales siguiendo la metodología del *Standard Methods*. Las remociones de la DBO y DQO fueron 69 y 49 % respectivamente, los aportes de las algas a la DBO Y DQO del efluente fueron 23 y 17 % respectivamente. La remoción del Fósforo Total fue de 2,56 %; la del Nitrógeno Amoniacal de 27 % y un 26 % para Nitrógeno Total Kjeldhal. Los resultados obtenidos indican que la planta de tratamiento de aguas residuales Cabimas removió los parámetros estudiados, generando un efluente cuyas concentraciones están en límites de la normativa venezolana vigente, excepto para organismos coliformes (Yabroudi, Perruolo, Cárdenas, García, Gutiérrez, Trujillo, Araujo y Montiel, 2010, p.331).

Se investigaron 14 muestras de efluente secundario de la PTAR anaerobia de origen pecuario del Centro de Investigaciones en Bioalimento-Cuba durante 3 meses. La planta estaba compuesta fundamentalmente por un digestor de primera generación del tipo de cúpula fija de 60 m³ de volumen operacional y tiempo de retención hidráulico de 30-40 días, con tratamiento secundario para los efluentes, a través de lechos de secado y laguna de estabilización. Se determinó la composición físico – química, DQO, pH, N total, P total y la conductividad eléctrica; contenido total de metales (Pb, Zn, Cu, Co, B, Mn, Cr y, Cd) y la composición microbiológica (coliformes fecales, *Salmonella* spp. y huevos de helmintos viables). Se determinó que el efluente evaluado disponía de nutrientes esenciales: 13,75 mg/L de N total y 3,7 mg/L de P total, para el desarrollo de los cultivos. El contenido de metales pesados estaba por debajo de los límites máximos permisibles establecidos y su calidad

sanitaria cumplía con las recomendadas por la Organización Mundial de la Salud (Jiménez, Valdés, Marrero, Pérez, Vidal y Negrín, 2012, p.206).

2.2 Base teórica

El tratamiento de aguas residuales consiste en una serie de procesos físicos, químicos y biológicos que tienen como fin eliminar los contaminantes físicos, químicos y biológicos presentes en el agua efluente del uso humano. El objetivo del tratamiento es producir agua limpia (o efluente tratado) o reutilizable en el ambiente y un residuo sólido o fango, también llamado biosólido o lodo, convenientes para su disposición o reúso. Es muy común llamarlo depuración de aguas residuales para distinguirlo del tratamiento de aguas potables (Pérez y Camacho, 2011, p.15).

Laguna de estabilización de aguas residuales es una estructura simple para embalsar agua, de poca profundidad de 1 a 4 m y con períodos de retención de 1 a 40 días. Las lagunas de estabilización tienen como propósito explícito conseguir que las aguas acumuladas en ellas lleguen a cumplir un conjunto de parámetros cuantitativos, fijados por ley. Cuando las aguas residuales son descargadas en lagunas de estabilización, se realiza un proceso conocido con el nombre de autodepuración, o estabilización natural, en el que ocurren fenómenos de tipo físico, químico, bioquímico y biológico (Martínez y Guzmán, 2003, pp.37 a 38).

Las lagunas que reciben el agua residual cruda se les llama lagunas primarias. El sistema debe contar por lo menos con dos lagunas primarias en paralelo, con el objeto que una se mantenga en operación, mientras se hace la limpieza de lodos de la otra. Las lagunas que reciben el efluente de una laguna primaria se denominan secundarias y dependiendo la calidad del efluente que uno desea evacuar pueden llegar a terciarias, cuaternarias, etc. A éstas también se les llama de maduración. Existen dos procesos de funcionamiento: 1) Aerobio: Se caracteriza por la descomposición de la materia orgánica, en una masa de agua que

contiene oxígeno disuelto, con participación de bacterias aerobias o facultativas, las cuales originan compuestos inorgánicos que sirven de nutrientes a las algas. Éstos a su vez producen el oxígeno que facilita la actividad de las mismas bacterias; 2) Anaerobio: El proceso es más lento y puede originar malos olores. Las condiciones anaerobias se establecen cuando el consumo de oxígeno disuelto es mayor que su incorporación a la masa de agua por la fotosíntesis de las algas y la laguna se torna de color gris oscuro (Reynolds, 2002, p.5).

El tratamiento de las aguas residuales domésticas e industriales mediante lagunas de estabilización constituye una alternativa viable donde existan terrenos disponibles de bajo costo y este método más económico que otros métodos como lodos activados, digestión anaerobia, biodiscos, filtros biológicos, digestión anaerobia o la unidad anaerobia de flujo ascendente (UASB ó RAFA) y pantanos artificiales. Los modelos existentes permiten estimar la eficiencia de las lagunas en la remoción de DBO, DQO, Coliformes, calcular área, volumen, período de retención y estimar la DBO y NMP en los efluentes. Las investigaciones se orientan al reúso y sostenibilidad en las diferentes etapas. Con el reúso se aprovecha el contenido de materia orgánica y fertilizantes en el efluente tratado en riego de cultivos, piscicultura y producción de forraje para animales, disminuyendo el vertido de éstos a cuerpos de agua, protegiendo el ambiente y aumentando la producción de alimentos para una población cada vez más numerosa (Donaires, 2005, p.1).

El tratamiento de aguas residuales mediante las lagunas de estabilización se ha propuesto para América Latina, no solo por el alto grado de eliminación de patógenos sino también por su bajo costo. Asimismo, siempre y cuando exista un diseño apropiado de las lagunas de estabilización junto con adecuados niveles de operación y mantenimiento, los efluentes cumplen con los requisitos físico- químicos y bacteriológicos establecidos según la norma para su reúso sin ocasionar riesgos para la salud (Sorrequieta, 2004, p.28). Los parámetros de control incluyen temperatura, pH, oxígeno disuelto, OD, Demanda Bioquímica de

oxígeno, DQO, sólidos suspendido, SS, coliformes fecales, coliformes totales, nitrógeno en todas sus formas, fosfatos y contenido de algas (solo en el efluente). Éstos se usan para determinar el buen desempeño progresivo en el tratamiento, predecir cambios operacionales y evaluar los resultados del tratamiento (Escobar, 2011, p.76).

2.2.1 Normatividad vigente

Las normas que regulan el recurso hídrico y el control y fiscalización del tratamiento de aguas residuales, a nivel nacional son:

La Constitución Política del Perú, p.20

La Constitución Política del Perú de 1993, que su artículo 66 establece que: “Los Recursos naturales renovables y no renovables, son patrimonio de la nación, El Estado es soberano en su aprovechamiento”. Por ley orgánica se fijan las condiciones de su utilización y de su otorgamiento a sus particulares. La concesión otorga a su titular un derecho real, sujeto a dicha norma legal”. Los recursos naturales son patrimonio de la nación, es por esto que no pueden ser de propiedad privada y exclusiva de los particulares, Sin embargo su uso y aprovechamiento pueden ser usados según lo establecido por la legislación vigente, mediante la concesión, permiso o licencia.

Ley de Recursos Hídricos: Ley N° 29338, pp.21 a 22

Artículo 75°. Protección del agua

“La Autoridad Nacional, con opinión del Consejo de Cuenca, debe velar por la protección del agua, que incluye la conservación y protección de sus fuentes, de los ecosistemas y de los bienes naturales asociados a ésta en el marco de la Ley y demás normas aplicables. Para dicho fin, puede coordinar con las instituciones públicas competentes y los diferentes usuarios. La Autoridad Nacional, a través del Consejo de Cuenca correspondiente, ejerce funciones de vigilancia y fiscalización con el fin de prevenir y combatir los efectos de la contaminación del mar, ríos y lagos en lo que le corresponda. Puede coordinar, para tal efecto, con los sectores de la administración pública, los gobiernos regionales y los gobiernos locales”.

Artículo 79°. Vertimiento de agua residual

“La Autoridad Nacional autoriza el vertimiento del agua residual tratada a un cuerpo natural de agua continental o marina, previa opinión técnica favorable de las Autoridades Ambiental y de Salud sobre el cumplimiento de los Estándares de Calidad Ambiental del Agua (ECA-Agua) y Límites Máximos Permisibles (LMP). Queda prohibido el vertimiento directo o indirecto de agua residual sin dicha autorización. En caso de que el vertimiento del agua residual tratada pueda afectar la calidad del cuerpo receptor, la vida acuática asociada a este o sus bienes asociados, según los estándares de calidad establecidos o estudios específicos realizados y sustentados científicamente, la Autoridad Nacional debe disponer las medidas adicionales que hagan desaparecer o disminuyan el riesgo de la calidad del agua, que puedan incluir tecnologías superiores, pudiendo inclusive suspender las autorizaciones que se hubieran otorgado al efecto. En caso de que el vertimiento afecte la salud o modo de vida de la población local, la Autoridad Nacional suspende inmediatamente las autorizaciones otorgadas”

La Ley del Ambiente: Ley 28611, pp.54 y 62

Artículo 90.- “El Estado promueve y controla el aprovechamiento sostenible de las aguas continentales a través de la gestión integrada del recurso hídrico, previniendo la afectación de su calidad ambiental y de las condiciones naturales de su entorno, como parte del ecosistema donde se encuentran, regula su asignación en función de objetivos sociales, ambientales, económicos, y promueve la inversión y participación del sector privado en el aprovechamiento del recurso.”

Artículo 120.1.- “El Estado a través de sus entidades señaladas en la Ley, está a cargo de la protección de la calidad del recurso hídrico del país”.

Artículo 120.2.- “El Estado promueve el tratamiento de las aguas residuales con fines de reutilización, considerando como premisa la obtención de la calidad necesaria para su reuso, sin afectar la salud humana”.

Ley General de Servicios de Saneamiento: Ley N. 26338, p.16

La Ley N 26338 “Ley de Servicios de Saneamiento” en su artículo 10 se establecen los sistemas que integran los servicios de saneamiento son: a) Servicios de agua potable, que incluyen a los sistemas de producción (captación, almacenamiento, conducción de agua cruda y tratamiento). b) Alcantarillado sanitario y pluvial, que incluye al sistema de recolección y tratamiento y disposición de las aguas servida. c) Disposición sanitaria de excretas: sistemas de letrinas y fosas sépticas.

Decreto Supremo N° 003-2010-MINAM: Límite Máximos Permisibles para los efluentes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Domesticas o Municipales, p.12

Artículo 1.- Aprobación de Límite Máximos Permisibles (LMP) para los efluentes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Domesticas o Municipales (PTAR). Aprobar los Límites Máximos Permisibles para los efluentes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas o Municipales, los que en anexo forman parte integrante del presente Decreto Supremo y que son aplicables en el ámbito nacional.

Tabla 2. Límites Máximos Permisibles para los Efluentes de PTAR

Parámetro	Unidad	LMP de efluentes para Vertidos a cuerpos de agua
Aceites y grasas	mg/L	20
Coliformes termotolerantes	NMP/100L	10 000
Demanda bioquímica de oxígeno, DBO	mg/L	100
Demanda química de oxígeno, DQO	mg/L	200
pH	Unidad	6.5 – 8.5
Sólidos Totales en Suspensión (SST)	mg/L	150
Temperatura	°C	< 35

Fuente: Decreto Supremo N° 003-2010-MINAM

Norma Técnica OS.090 del Reglamento Nacional de Edificaciones, Norma el desarrollo de proyectos de tratamiento de aguas residuales, p.18

En el artículo 4.3.11 establece que en ningún caso se permitirá la descarga de aguas residuales sin tratamiento a un cuerpo receptor, aun cuando los estudios del cuerpo receptor indiquen que no es necesario el tratamiento. Señala que el tratamiento mínimo que deberán recibir las aguas residuales antes de su descarga deberá ser el tratamiento primario. Es decir, un nivel de tratamiento capaz de remover la materia orgánica sedimentable, entre los que se encuentra el tanque Imhoff, el tanque séptico, el tanque o laguna de sedimentación y las lagunas en general, aunque estas últimas se encuentren dentro de los procesos de tratamiento secundario, que es un objetivo adicional al alcanzado mediante el tratamiento primario.

2.3 Definiciones conceptuales

1.3.1 Eficiencia: Término que se refiere a que una planta de aguas residuales está operando en perfectas condiciones en un 100%, junto con adecuados niveles de operación y mantenimiento, los efluentes tratados por las mismas tendrán calidades físico- químicas y bacteriológicas que lo convertirán según la norma en aptos para el reúso sin ocasionar riesgos para la salud (Sorrequieta, 2004, p.5).

1.3.3 Remoción: Eliminación de cualquier contaminante que se encuentre en cuerpo, o si se encuentra que esté presente en valores bajos permitidos y aceptados por la norma. Depende mucho de los factores físicos como temperatura, pH mayor de 9, tiempo y alta intensidad de luz (Donaires, 2005, p.5).

1.3.4 Laguna de estabilización: Estanque en el que se descargan aguas residuales y donde se produce la estabilización de materia orgánica y reducción bacteriana de poca profundidad de 1 a 4 m y con magnitud de retención considerable de 1 a 40 días (Norma Técnica OS.0.90, p. 10; Silva, 2004, pp.17 a 18).

1.3.5 Demanda química de oxígeno (DQO): Cantidad de oxígeno necesaria para la oxidación química (destrucción) de la materia orgánica. Esta prueba proporciona un medio indirecto de la concentración de materia orgánica en el agua residual (Rojas, 2002, p.7).

1.3.6 Demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅): Cantidad de materia orgánica fácilmente biodegradable durante 5 días y a 20°C y corresponde a la cantidad de oxígeno necesaria para oxidar biológicamente la materia orgánica. La relación DQO/DBO₅ proporciona una indicación de la biodegradabilidad de las aguas residuales (Rojas, 2002, p.7).

1.3.7 Coliformes totales: Grupo de microorganismos que comprenden varios géneros de la familias Enterobacteriaceae, se caracterizan por estar ampliamente difundidas en el agua y el suelo; son de morfología bacilar y pueden ser aerobias o anaerobias facultativas, oxidasas negativas no esporuladas capaces de fermentar la lactosa con producción de ácido y gas a 37 °C por un máximo de 48 horas (Soler, 2006, p.30).

1.3.8 Coliformes termotolerantes: Bacterias que soportan temperaturas de hasta 45 °C. Conforman un grupo muy reducido de microorganismos que son indicadores de calidad, de origen fecal. En su mayoría están representados por E. coli entre otras, son patógenas y se diferencian porque fermentan la lactosa y se encuentran en mayoría en las heces de origen humano (Soler, 2006, p.30)

CAPITULO III

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

3.1 Temperatura y pH registrados en el efluente y afluente de La Laguna de Estabilización del distrito La Florida

La temperatura de las aguas residuales (Tabla 3) fue en promedio 27,4 °C en el afluente y 26,4 °C en el efluente. En el afluente los valores fueron de 27,2 a 27,6 °C en noviembre y diciembre. En el efluente los valores fueron 26,2 a 26,7 °C en noviembre y 26,2 a 26,5 °C en diciembre. La Prueba de T de Student, fue $T_c = 1.7 < T_t = 13.3$, existiendo diferencias significativas para el afluente y efluente suponiendo varianzas desiguales

El pH de las aguas residuales (Tabla 4) en La Laguna de Estabilización del distrito La Florida fue en promedio 7,3 en el afluente y 6,8 en el efluente. En el afluente los valores fueron 7,0 a 7,5 en noviembre y diciembre. En el efluente los valores fueron 6,5 a 7, en noviembre y diciembre. Utilizando la Prueba de T de Student, se encontró $T_c = 1.7 < T_t = 4.02$, existiendo diferencias significativas entre los valores obtenidos para pH del afluente y efluente suponiendo varianzas desiguales

3.2 Eficiencia de la remoción de la demanda química, bioquímica de oxígeno, coliformes totales y termotolerantes

El tratamiento de las aguas residuales en la Laguna de Estabilización del distrito La Florida disminuyó 40,63% la DQO y 26,32% la DBO₅ alcanzándose valores de eficiencia de 53,16 y 52,27% en la remoción de coliformes totales y termotolerantes, respectivamente (Tablas 5 a 9).

La demanda química de oxígeno, DQO (Tabla 5) fue en promedio 625,89 mg/L en el afluente y 371,56 mg/L en el efluente observándose que los valores de la DQO en efluente fueron menores que en el afluente (Figura 9). En el afluente los valores fueron 799 a 910 mg/L en noviembre y 391 a 571 mg/L en diciembre. En el efluente los valores fueron 399 a 485 mg/L en noviembre y 290 a 352 mg/L en diciembre. La Prueba de T

de Student, demostró diferencias significativas en los valores de DQO para el afluente y efluente suponiendo varianzas desiguales ($T_c = 1,8 < T_t = 3,1$).

Tabla 3. Valores de la temperatura en el afluente y efluente de La Laguna de Estabilización del distrito La Florida, San Miguel, región de Cajamarca durante noviembre a diciembre de 2013

Meses	Temperatura	
	Afluente	Efluente
Noviembre	27.5	26.4
	27.6	26.7
	27.2	26.2
	27.4	26.2
Diciembre	27.5	26.5
	27.6	26.2
	27.3	26.5
	27.2	26.2
	27.4	26.3
Promedio	27,4	26,4

$$T_c = 1,7 < T_t = 13,3$$

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4. Valores de pH en el afluente y efluente de La Laguna de Estabilización del distrito La Florida, San Miguel, región de Cajamarca durante noviembre a diciembre de 2013

Meses	pH	
	Afluente	Efluente
Noviembre	7.0	6.5
	7.5	7.0
	7.5	7.0
	7.0	6.5
Diciembre	7.5	7.0
	7.0	6.5
	7.5	7.0
	7.5	7.0
	7.0	6.5
Promedio	7,3	6,8

$$T_c = 1,7 < T_t = 4,02$$

Fuente: Elaboración propia

Tabla 5. Valores de la DQO en el afluente y efluente de La Laguna de Estabilización del distrito La Florida, San Miguel región de Cajamarca durante noviembre a diciembre de 2013

Meses	DQO (mg/L)	
	Afluente	Efluente
Noviembre	902	463
	825	420
	799	399
	910	485
Diciembre	571	310
	425	300
	400	325
	410	352
	391	290
Promedio	625,89	371,56

Tc= 2,01< Tt = 12,29

Fuente: Elaboración propia

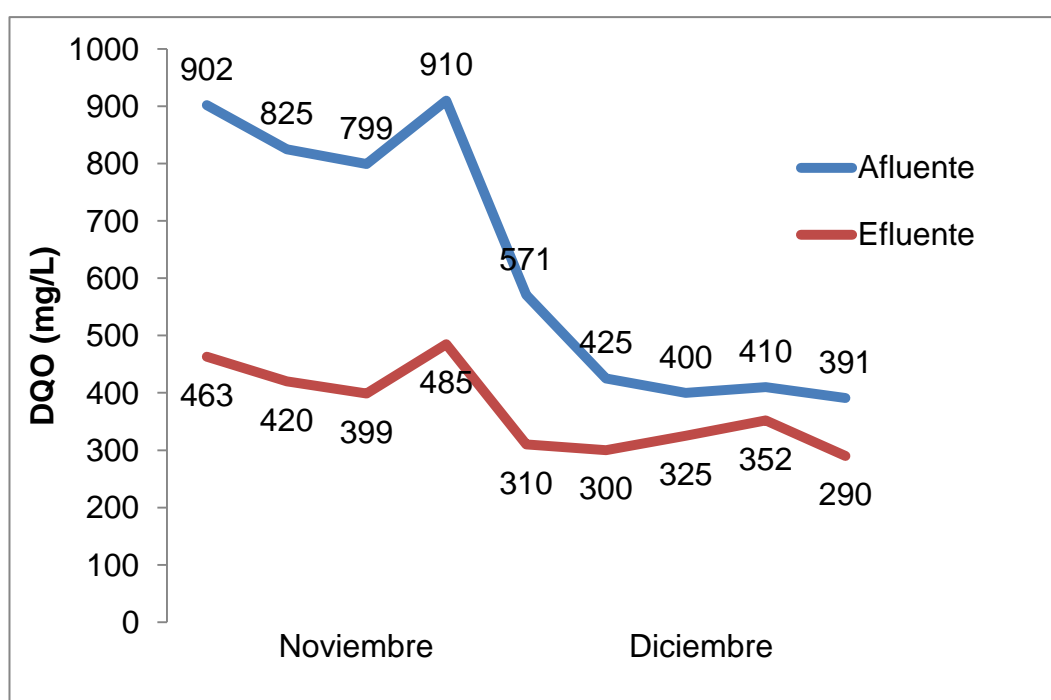


Figura 9. Variación de la DQO en el afluente y efluente de la Laguna de Estabilización del distrito La Florida, San Miguel, región de Cajamarca durante noviembre a diciembre de 2013

Fuente: Elaboración propia

La demanda bioquímica de oxígeno, DBO_5 (Tabla 6) fue en promedio 390,89 mg/L en el afluente y 288 mg/L en el efluente, observándose que los valores de la DBO_5 en el efluente fueron menores que el afluente (Figura 10). En el afluente los valores fueron 399 a 472 mg/L en noviembre y 300 a 420 mg/L en diciembre. En el efluente los valores fueron 237 a 391 mg/L en noviembre y 260 a 315 mg/L en diciembre. La Prueba de T de Student, encontró diferencias significativas para varianzas desiguales ($T_c = 1,75 < T_t = 4,13$).

Los coliformes totales (Tabla 7) fueron en promedio 49×10^6 NMP/100 mL en el afluente y 23×10^6 NMP/100 mL en el efluente observándose que los valores del efluente fueron menores que en el afluente. En el afluente los valores fueron 30×10^6 a 54×10^6 NMP/100 mL en noviembre y 33×10^6 a 92×10^6 NMP/100 mL en diciembre. En el efluente los valores fueron 22×10^6 a 33×10^6 NMP/100 mL en noviembre y 11×10^6 a 34×10^6 NMP/100 mL en diciembre. La Prueba de T de Student, encontró diferencias significativa para varianzas desiguales ($T_c = 1,75 < T_t = 4,13$).

Los coliformes termotolerantes (Tabla 8) fueron en promedio $42,8 \times 10^6$ NMP/100 mL en el afluente y $20,3 \times 10^6$ NMP/100 mL en el efluente observándose que los valores del efluente fueron menores que en el afluente. En el afluente los valores fueron 22×10^6 a 35×10^6 NMP/100 mL en noviembre y 24×10^6 a 94×10^6 NMP/100 mL en diciembre. En el efluente los valores fueron 13×10^6 a 24×10^6 NMP/100 mL en noviembre y 15×10^6 a 35×10^6 NMP/100 mL en diciembre. La T de Student, encontró diferencias significativas para varianzas desiguales ($T_c = 1,8 < T_t = 2,3$).

3.3 Comparación de los valores de los parámetros investigados en los máximos permisibles establecidos

Los valores de los parámetros investigados: DQO, DBO_5 y coliformes termotolerantes (Tabla 10), superaron los límites máximos permisibles, indicando que no se cumple con la normativa vigente

establecida por el DS N° 003-2010-MINAM para vertidos a cuerpos de agua.

Tabla 6. Valores de la DBO₅ en el afluente y efluente de la Laguna de Estabilización del distrito La Florida, San Miguel, región Cajamarca durante noviembre a diciembre de 2013

Meses	DBO ₅ (mg/L)	
	Afluente	Efluente
Noviembre	472	391
	402	291
	399	252
	465	237
Diciembre	390	289
	320	267
	300	260
	350	290
	420	315
Promedio	390,89	288,00

$$T_c = 1,75 < T_t = 4,13$$

Fuente: Elaboración propia

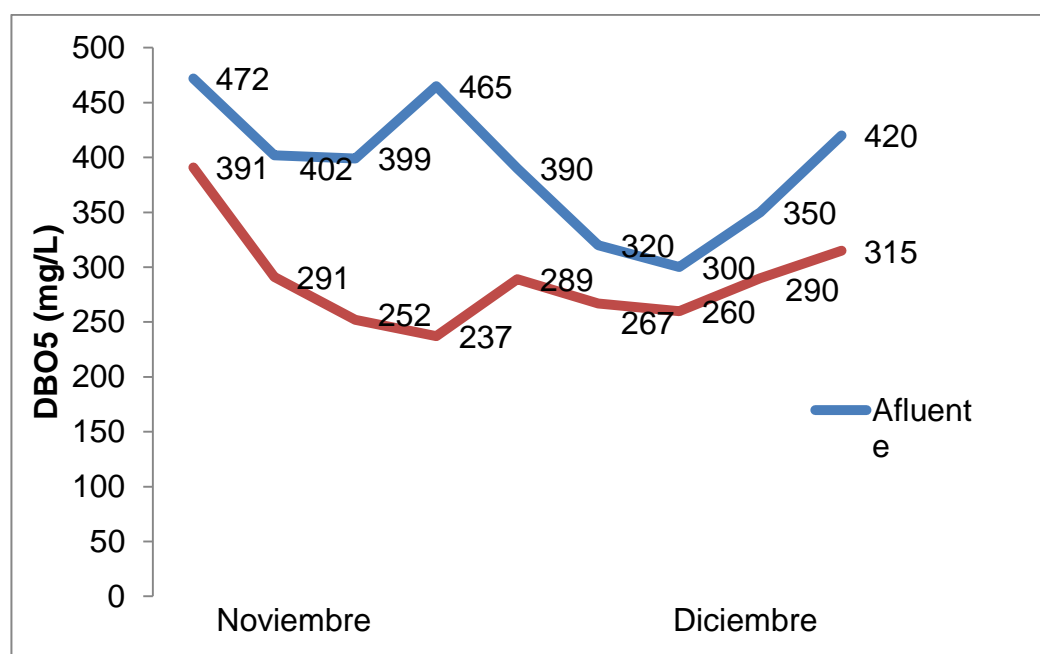


Figura 10. Variación de la DBO₅ en el afluente y efluente de la Laguna de Estabilización del distrito La Florida, San Miguel, región Cajamarca durante noviembre a diciembre de 2013

Fuente: Elaboración Propia

Tabla 7. Valores de coliformes totales en el afluente y efluente de la Laguna de Estabilización del distrito La Florida, San Miguel, región Cajamarca durante noviembre a diciembre de 2013

Meses	Coliformes totales (MNP/100ml)	
	Afluente	Efluente
Noviembre	34 x 10 ⁶	27 x 10 ⁶
	30 x 10 ⁶	22 x 10 ⁶
	50 x 10 ⁶	33 x 10 ⁶
	54 x 10 ⁶	24 x 10 ⁶
Diciembre	92 x 10 ⁶	11 x 10 ⁶
	54 x 10 ⁶	16 x 10 ⁶
	55 x 10 ⁶	14 x 10 ⁶
	40 x 10 ⁶	34 x 10 ⁶
	33 x 10 ⁶	26 x 10 ⁶
Promedio	49 x 10⁶	23 x 10⁶

$$T_c = 1,75 < T_t = 4,13$$

Fuente: Elaboración Propia

Tabla 8. Valores de coliformes termotolerantes en el afluente y efluente de La Laguna de Estabilización del distrito La Florida, San Miguel región Cajamarca durante noviembre a diciembre de 2013

Meses	Coliformes termotolerantes (MNP/100ml)	
	Afluente	Efluente
Noviembre	22 x 10 ⁶	17x10 ⁶
	26 x 10 ⁶	13 x 10 ⁶
	30 x 10 ⁶	23 x 10 ⁶
	35 x 10 ⁶	24 x 10 ⁶
Diciembre	90 x 10 ⁶	16 x 10 ⁶
	94 x 10 ⁶	35 x 10 ⁶
	32 x 10 ⁶	15 x 10 ⁶
	33 x 10 ⁶	22 x 10 ⁶
	24 x 10 ⁶	18 x 10 ⁶
Promedio	42,8 x 10⁶	20,3 x 10⁶

$$T_c = 1,8 < T_t = 2,3$$

Fuente: Elaboración Propia

Tabla 9. Demanda química y bioquímica de oxígeno y eficiencia de la remoción de coliformes totales y termotolerantes de la Laguna de Estabilización del distrito La Florida, San Miguel región Cajamarca durante noviembre a diciembre de 2013

Parámetro	Afluente	Efluente	Eficiencia %
DQO (mg/L)	625,89	371,56	40,63
DBO ₅ (mg/L)	390,89	288,00	26,32
Coliformes totales (NMP/100mL)	49 x 10 ⁶	23 x 10 ⁶	53,16
Coliformes termotolerantes (NMP/100mL)	42,8 x 10 ⁶	20,3 x 10 ⁶	52,57

Fuente: Elaboración Propia

Tabla 10 Parámetros evaluados en las aguas residuales de la Laguna de Estabilización del distrito La Florida comparados con los límites máximos permisibles

Parámetro	Efluentes de la Laguna de Estabilización de La Florida	LMP de efluentes para vertidos a cuerpo de agua DS DS N° 003-2010 MINAN
DBO ₅	288 mg/L	100 mg/L
DQO	371.56 mg/L	200 mg/L
coliformes Termotolerantes	20.3 x 10 ⁶ NMP/100 ml	10 000 NMP/ 100 ml

Fuente: Elaboración Propia

3.4 Discusión de los resultados

Una laguna de estabilización de aguas residuales es una estructura para embalsar agua, de poca profundidad (1 a 4 m) y con periodo de retención de 1 a 40 días (Silva, 2004, p.7). La Laguna de estabilización de La Florida es facultativa en la que la capa superficial es aerobia y la capa profunda anaerobia (Donaires, 2005, p.4). El oxígeno para la estabilización aerobia lo proporcionan las algas y la acción del viento y los lodos se descomponen en el fondo en anaerobiosis (Escobar, 2011, p.22). Asimismo, la laguna de estabilización de La Florida es única o primaria por que recibe agua residual cruda a diferencia de las secundarias, que reciben efluentes de otros procesos de tratamiento (Silva, 2004, p.20). Esta condición afecta negativamente el tratamiento de las aguas residuales, recomendándose por lo menos dos lagunas primarias en paralelo, con el objetivo que una se mantenga en operación, mientras se hace la limpieza de lodos de la otra (Reynolds, 2002, p.5).

La temperatura del sistema (26,2 a 27,6 °C) se mantuvo en el rango 26 a 28 °C registrado por Correa, Cuervo, Mejía y Aguirre, 2007, p.37 (28°C) y Febles y Hoogesteijn, 2010, p.136 (26,6-28,6 °C). La temperatura favorece o desfavorece los microorganismos. Cuando la temperatura es mayor de 30 °C la actividad de las algas disminuye y las bacterias consumen más oxígeno (Yabroudi *et al.*, 2010, p.337). De igual manera, la disminución de la temperatura afecta negativamente la degradación de la materia orgánica (Barboza, 2011, p. 121).

El pH promedio del sistema osciló entre 6,5 a 7,5 favorable para actividad y desarrollo de los microorganismos involucrados en la degradación de la materia orgánica (Yabroudi *et al.*, 2010, p.336; Jiménez *et al.*, 2012, p.208). En el efluente se registraron los valores más bajos de pH debido que los autótrofos disminuyen la actividad fotosintética durante la noche y en las primeras horas del día cuando se tomaron las muestras de agua residual, incremento en la concentración de dióxido de carbono

producido por la respiración de todos los organismos se traduce en una ligera acidificación (Yabroudi et al., 2010, p.337).

El objetivo del tratamiento de aguas residuales es la conversión del agua residual en un efluente aceptable a las condiciones del ambiente, por lo que inicialmente se deben determinar las características de las aguas residuales crudas y las que debe tener el efluente tratado para no afectar el ambiente (Rojas, 2002, p.4). En este contexto, se investigaron la DQO, DBO₅, coliformes totales y termotolerantes para evaluar el tratamiento de las aguas residuales, coincidiendo con Martínez y Guzmán (2003, p.26), Chuchón y Aybar (2008, p.1) e Hidalgo y Mejía (2010, p.2); no obstante, también se pueden considerar el nitrógeno y fósforo total conductibilidad eléctrica, contenido total de metales, *Salmonella* spp y huevos de helmintos viables (Jiménez et al., 2012, p.206), sólidos suspendidos, sólidos sedimentables, oxígeno disuelto (Correa et al., 2007, p.37) y grasas y aceites (Hidalgo y Mejía, 2010, p.2).

La Demanda Química de Oxígeno (DQO) es la cantidad de oxígeno necesario para la oxidación química de la materia orgánica y constituye una medida indirecta de la concentración de materia orgánica en el agua residual (Rojas, 2002, p.7). El valor de la DQO (625,89 mg O₂ /L) en el afluente fue muy superior al rango < 12 a 250 mg O₂/L registrados por Hidalgo y Mejía (2010, p.207) y Yabroudi et al. (2010, p.340).

La Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅) es la cantidad de materia orgánica fácilmente biodegradable durante 5 días, a 20 ° C, o la cantidad de oxígeno requerido para oxidar biológicamente la materia orgánica (Rojas, 2002, p.7). Este parámetro es el que más se utiliza para evaluar las condiciones de trabajo de las lagunas de estabilización (Silva, 2004, p.18). El valor promedio de la DBO₅ (390.89 mg O₂ /L) superó el rango <2 a 71 mg O₂ /L registrado por Hidalgo y Mejía (2010, p.44), Yabroudi et al. (2010, p.339) y Barboza (2011, p.121) y fue muy inferior a 6748 mg O₂/L reportado por Febles y Hoogesteijn (2010,

p.133). La DBO_5 junto a la concentración de coliformes termotolerantes son los indicadores de calidad más utilizados y determinan la contaminación del agua (Barboza, 2011, p.85).

El número más probable de coliformes totales se encontró en el rango de $0,5 \times 10^3$ a $1,6 \times 10^8$ registrado por Botero et al. (2012, p.5) e Hidalgo y Mejía (2010, p.44). En cuanto a los coliformes termotolerantes se encontró en el rango de $1,4 \times 10^5$ a 8×10^6 reportado por Botero et al (2012, p.5) y Barboza (2011, p.84). El principal problema identificado en las lagunas de estabilización es la contaminación de las aguas residuales con coliformes termotolerantes (Hidalgo y Mejía, 2010, p.2), antes denominados coliformes fecales (Botero et al., 2012, p.3). Éste es uno de los problemas más influyentes en el deterioro de los cuerpos de agua. Su presencia en los sistemas acuáticos es evidencia de contaminación fecal, de origen humano o animal (Soler, 2006, p.30) y su investigación permite (Barboza, 2011, p.121) o no determina (Botero et al, 2012, p.1) la presencia de organismos patógenos.

La DQO y la DBO_5 disminuyeron con el tratamiento de las aguas residuales, coincidiendo con los reportes de Yabroudi et al. (2010, p.381) y Barboza (2011, p.1). La disminución de la DQO fue de 40,63%, valor inferior a los obtenidos por Correa et al., 2007, p.48 (89%), Durant et al., 2009, p.1398 (55,7%), Jiménez et al., 2012, p.208 (60,6%) y Yabroudi et al., 2010, p.331 (49%). La disminución de la DBO_5 fue de 26,32%, valor inferior a los obtenidos por Correa et al., 2007, p.48 (92%), Febles y Hoogesteijn, 2010, p.133 (89,15%), Chuchón y Aybar, 2008, p.165 (86,2%), Duran et al., 2009, p.1398 (83,9%), Martínez y Guzmán, 2003, p.26 (82,07%), Yabroudi et al., 2010, p. 331 (69%) y Barboza, 2011, p. 121(41,8%).

Los valores de la remoción de coliformes totales (53,16 %) y termotolerantes (52,57%) fueron menores que 81 - 90% y 78 – 94% respectivamente, registrado por Botero et al, (2012, p.7) para lagunas facultativas y de maduración; no obstante estos investigadores

demonstraron que el 90% de las muestras analizadas no cumplían con el requisito establecido por la Organización Mundial de Salud (OMS) para aguas residuales a ser aplicadas en irrigación.

En las lagunas de estabilización utilizadas para el tratamiento de aguas residuales la eficiencia de la remoción teórica debe ser 60 a 70% en la DQO (Rojas, 2002, p.15), 70 a 95% en la DBO₅ y 90% en la remoción de patógenos (Martínez y Guzmán, 2003, p.26); no obstante, es necesario comparar los valores registrados con la normativa existente. En este contexto, Chuchón y Aybar, (2008, p.170), reportaron 99,8% de eficiencia en la remoción de coliformes termotolerantes; sin embargo, debido a que los efluentes presentaron $1,29 \times 10^5$ NMP/100 mL, el tratamiento fue considerado deficiente para obtener aguas de clase III que deben tener menos de 10^3 NMP/100 mL de coliformes termotolerantes.

La capacidad de remoción de bacterias coliformes y la disminución de la DBO₅ por las plantas de tratamiento de aguas residuales se ve afectada por el crecimiento demográfico y mal uso del sistema de alcantarillado por los ciudadanos (Barboza, 2011, p.1), por un caudal mayor al de su capacidad de diseño (Chuchón y Aybar, 2008, p.166), por el deterioro de las estructuras hidráulicas y aspecto general de la planta y falta de mantenimiento (Donaires, 2005, pp.32 a 33).

Las lagunas de estabilización se construyen con los objetivos de protección epidemiológica a través de la disminución de los organismos patógenos, protección ecológica mediante la disminución de la DBO₅ y reuso directo del agua servida sin riesgo alguno (Silva, 2004, p.18). En este contexto y con base a la normatividad existente en el Perú, la laguna de estabilización en el distrito La Florida no cumple con los objetivos y las aguas residuales tratadas no pueden ser reutilizadas.

CONCLUSIONES

- La temperatura de las aguas residuales fue en promedio 27,4 °C en el afluente y 26,4 °C en el efluente. El pH fue en promedio 7,3 en el afluente y 6,8 en el efluente
- La demanda química de oxígeno, DQO fue en promedio 625,89 mg/L en el afluente y 371,56 mg/L en el efluente. La demanda bioquímica de oxígeno, DBO₅ fue en promedio 390,89 mg/L en el afluente y 288 mg/L en el efluente. Los coliformes totales fueron en promedio 49×10^6 NMP/100 mL en el afluente y 23×10^6 NMP/100 mL en el efluente. Los coliformes termotolerantes fueron en promedio $42,8 \times 10^6$ NMP/100 mL en el afluente y $20,3 \times 10^6$ NMP/100 mL en el efluente.
- La eficiencia de la remoción fue de 40,63% en la DQO; 26,32 % en la DBO₅; 53,16 % en los coliformes totales y 52,57% en los coliformes termotolerantes.
- Los valores de los parámetros investigados en el efluente: DQO, DBO₅ y coliformes termotolerantes superaron los límites máximos permisibles, indicando que no se cumple con la normativa vigente establecida por el DS N° 003-2010-MINAM para vertidos a cuerpos de agua.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda el mantenimiento y operación urgente de la Laguna de Estabilización con la finalidad de mejorar el funcionamiento de la misma y dejar de ser un peligro para la salud de la población y del medio ambiente.
- Implementar la construcción de una nueva laguna de estabilización, que funcione en paralelo para las operaciones de mantenimiento.
- Realizar estudios similares en la Laguna de Estabilización de La Florida en otras estaciones del año.
- Implementar programas de capacitación a la población con la finalidad de concientizar y explicar el peligro de las aguas servidas que son utilizadas sin algún tratamiento para el regadillo de *Guadua angustifolia* “Guayaquil” y pastizales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- American Public Health Association, APHA (2012a). Standard Methods for the examination of water and wastewater 22nd ed. 5220 Chemical oxygen demand (COD). Part 5220D. Closed Reflux, Colorimetric Method.*
- American Public Health Association, APHA (2012b). Standard Method for the examination of water and wastewater. 22nd. Ed. 5210 B. Método Demanda Bioquímica de Oxígeno 5 (DBO₅).*
- Autoridad Nacional del Agua, ANA (2011). Protocolo Nacional de Monitoreo de la Calidad en Cuerpos Naturales de Agua Superficial. Lima, Perú.*
- Barboza, G. (2011). Reducción de la carga de contaminantes de las aguas residuales de la Planta de Tratamiento de Totorá –Ayacucho empleando la técnica de Electrocoagulación. (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de Ingeniería, Lima, Perú*
- Bernis, J. y Gonzales, C. (2000). Eficiencia de remoción de coliformes totales y fecales en laguna. Setiembre-Noviembre.1999. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional ‘Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú*
- Botero, L., Zambrano, J., Oliveros, C., León, D., Sarcos, M. y Martínez, M. (2012). Calidad microbiológica del agua de un Sistema de Lagunas de Estabilización a ser empleada en irrigación. Revista de la Facultad de Agronomía, 19 (4), 312-323.*
- Correa, G; Cuervo, H., Mejía, R. y Aguirre, N. (2007). Monitoreo del Sistema de Lagunas de Estabilización del municipio de Santa Fé de Antioquia. Producción + Limpia. Colombia, 7(2), 36 -51.*
- Chuchón, S. y Aybar, C. (2008). Evaluación de la capacidad de remoción de bacterias coliformes fecales y demanda bioquímica de oxígeno de la planta de tratamiento de aguas residuales “La totora”, Ayacucho, Perú. Ecología Aplicada, 7 (1 - 2), 165-171.*
- Donaires, T. (2005). Un nuevo enfoque en el estado del arte en el diseño de Lagunas de Estabilización. XXI Congreso Interamericano de Ingeniería Química. Lima, Perú. Abril 24 al 27, 2005.*

- Duran, Z; Arguello, H. y Collazos, C. (2009). Evaluación de un sistema de lagunas para el tratamiento y reuso de aguas residuales en el riego de hortalizas. *Revista Brasileira de Agroecología*, 4 (2), 124-136.
- Escobar, O. (2011). *Planta De Tratamiento De Aguas Residuales De Minatitlán Veracruz*. (Tesis de Pregrado). Universidad Veracruzana, Veracruz, México.
- Febles, J. y Hoogesteijn, A. (2010). Evaluación preliminar de la eficiencia en las lagunas de oxidación de la ciudad de Mérida, Yucatán. *Ingeniería*, 14(2), 127-137.
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2014). *Metodología de la Investigación* (6^{ta} ed.) México: Mc Graw, Hill Interamericana Editores S.A.
- Hidalgo, M y Mejía, E. (2010). *Diagnóstico de la contaminación por aguas residuales domésticas, Cuenca Baja de la Quebrada La Macana, San Antonio de Prado. Municipio de Medellín*. (Tesis de Maestría). Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
- Jiménez, Y., Valdés, L., Marrero, M., Pérez, Y., Vidal, V. y Negrín, A. (2012) Caracterización del efluente de origen pecuario generado en una planta de tratamiento por digestión anaerobia para su posible uso como fertirriego. *Revista Computarizada de Producción Porcina*, 19(3), 206-209.
- Martínez, A. y Guzmán, N. (2003). *Estudio y Evaluación De Las Lagunas De Estabilización Como Tratamiento De Las Aguas Residuales Domésticas En La Base Militar No. 10 De Jutiapa, Colonia Militar De Jutiapa, Base Aérea Del Sur En Retalhuleu Y Escuela Politécnica En San Juan Sacatepéquez*. (Tesis de Pregrado). Universidad San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Méndez, J. y Marchán, J. (2008). *Diagnóstico Situacional de los Sistemas de Tratamiento de Aguas Residuales en las EPS del Perú y Propuestas de Solución*. Depósito Legal en la Biblioteca Nacional del Perú N° 2008 – 1463.
- Municipalidad distrital La Florida (1993). *Expediente Técnico de la Laguna de Estabilización La Florida*, San Miguel, Cajamarca, Perú.

- Pérez, F. y Camacho, K. (2011). *Tecnologías para el tratamiento de aguas servidas*. (Tesis de Maestría). Universidad Veracruzana, Veracruz, México.
- Reynolds, K. (2002). Tratamiento de Aguas Residuales en Latinoamérica. Identificación del Problema. Disponible en: www.agualatinoamerica.com/docs/pdf/DeLaLaveSepOct02.pdf
- Rojas, R. (2002). *Sistemas de Tratamiento de aguas residuales*. Curso Internacional "Gestión Integral de tratamiento de aguas residuales, 25 al 27 de setiembre. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente, Organización Panamericano de la Salud, Organización Mundial de la Salud, CEPIS/OPS-OMS.
- Rossi, M. (2010). *Oportunidades de mejoras ambientales por el tratamiento de aguas residuales en el Perú*. Pregrado de: Fondo Nacional del Ambiente, Perú.
- Silva, J. (2004). *Evaluación y rediseño del sistema de lagunas de estabilización de la Universidad de Piura*. (Tesis de Pregrado). Universidad de Piura, Piura, Perú.
- Soler, Y. (2006). *Validación Secundaria del Método de Número más Probable y Recuento en Placa profunda para Coliformes totales y fecales en muestras de alimentos basadas en la Norma ISO NTC 17025*. (Tesis de Pregrado) Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Sorrequeta, A. (2004). *Aguas residuales: Reuso y tratamiento. Lagunas de estabilización: Una opción para Latinoamérica*. 30 pp disponible: http://www.fbioyf.unr.edu.arenvirtualpluginfile.php2784mod_resourcecontent02_Aguas_residuales_protegido_.pdf
- Yabroudi, S., Perruolo, T., Cárdenas, C., García, M., Gutiérrez, A., Trujillo, A., et al. (2010). Remoción de microorganismos y materia orgánica en la planta de tratamiento de aguas residuales Cabimas. *Boletín Del Centro De Investigaciones Biológicas Venezuela*, 44(3), 331-352.

NORMATIVIDAD NACIONAL

- **Ley N° 29338, Ley de Recursos Hídricos.** Publicada el 31 de marzo de 2009.
- **Ley N° 28611, Ley General del Ambiente,** Publicada el 23 de junio del 2005.
- **Ley N° 26338, Ley General de Servicios de Saneamiento.** Publicada 24 de julio de 1994.
- **Decreto Supremo N° 001-2010-AG. Reglamento de la Ley N° 29338, Ley de Recursos Hídricos.** Publicado el 24 de marzo de 2010.
- **Decreto Supremo N° 003-2010-MINAM.** Aprueba Límites Máximos Permisibles (LMP) para los efluentes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas o Municipales. Publicado el 17 de marzo de 2010 y actualizada Mayo del 2010.
- **Decreto Supremo N° 011-2006-VIVIENDA, REGLAMENTO NACIONAL DE EDIFICACIONES. NORMA OS.090** Plantas de tratamiento de aguas residuales.

ANEXOS

ANEXO 1

Características consideradas para la construcción de la planta de tratamiento de aguas residuales en el distrito La Florida en 1993

Características de laguna	Valores
Población actual	600
Caudal de aguas residuales	301,52 m ³ /día
Periodo de retención sin lodos asumidos	10 días
Volumen de aguas residuales a tratar	3010,24 m ³
Carga orgánica per cápita	70gr DBO/hab/día
Carga orgánica total	90,02 kg DBO/día
Periodo de limpieza	1 año
Volumen de lodos (m ³)	222,50
Profundidad asumida en el proyecto (metros)	1,5
Temperatura prom. del mes a mas frio	16

Fuente: Municipalidad distrital La Florida - Expediente Técnico (1993).

ANEXO 2

DETERMINACIÓN DE DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO) EN AGUAS

1. REFERENCIA DOCUMENTALES

Standard Methods For the examination of water and wastewater. 22nd. Edition. 2012. 5220 Chemical oxygen demand (COD). Part 5220D. Closed Reflux, Colorimetric Method.

2. DESARROLLO

2.1. Principio del Método. Parte 5220D Closed Reflux, Colorimetric Method.

Cuando se digiere una muestra, el ion dicromato oxida material de DQO en la muestra. Esto resulta en el cambio de cromo hexavalente del estado (VI) al estado trivalente (III). Ambas especies de cromo se colorea y absorber en la región visible del espectro. Los ion dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) absorbe fuertemente en la región de 400 nm, donde la absorción de iones de cromo (Cr^{3+}) es mucho menor. El ion crómico absorbe fuertemente en la región de 600 nm, donde el dicromato tiene casi cero absorción.

2.2 Selección del Método

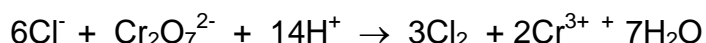
La métodos reflujo cerrado (C y D) son más económicos en el uso de reactivos de sal metálica y generan pequeñas cantidades de residuos peligrosos, sin embargo requieren la homogeneización de las muestras que contienen sólidos en suspensión para obtener resultados reproducible.

2.3 Interferencias

La oxidación de la mayoría de los compuestos orgánicos es de 95 a 100% del valor teórico. Compuestos alifáticos de cadena lineal se oxidan más eficazmente en presencia de un catalizador de sulfato de plata.

El interferente más común son los Haluros, cloruro reacciona con iones de plata para precipitar en Cloruro de plata, y por lo tanto inhibe la actividad catalítica de la plata. Bromuro, yoduro, y cualquier otro reactivo que inactiva el ión de plata puede interferir de manera similar. Tales interferencias son negativas en que tienden a restringir la acción oxidante del ion dicromato de sí mismo.

Haluros, los cuales interfieren en la oxidación de la materia orgánica, si hay cloruros presentes pueden interferir, ya que son oxidados por el dicromato según la siguiente reacción:



Los haluros (cloruros, bromuros, yoduros) pueden eliminarse, aunque no completamente, por la formación de un complejo con el Sulfato de Mercurio (HgSO_4) antes del procedimiento de reflujo (formando un haluro mercuríco muy poco soluble en medio acuoso).

La interferencia se inhibe adicionando sulfato de mercurio (HgSO_4), en Hg^{2+} reacciona con los cloruros precipitando cloruro de mercurio (HgCl_2), según la siguiente reacción:



Aunque 1 g HgSO_4 en 50 ml de muestra, o una cantidad menor puede usarse cuando la concentración de cloruro es menos de 2000 mg/L, mientras una proporción de 10: 1 de HgSO_4 : Cl^- se mantiene. No utilizar la prueba para muestras que contienen más de 2000 mg Cl^- /L.

El amoníaco y sus derivados, en los residuos o generada a partir de la materia orgánica que contiene nitrógeno, no se oxidan. Sin embargo, el cloro elemental reacciona con estos compuestos. Por lo tanto, las correcciones de interferencias de cloruro son difíciles.

El nitrito (a NO_2^-) ejerce una DQO de 1,1 mg O_2 /mg a NO_2^- -N.

Dado que las concentraciones de a NO_2^- en aguas rara vez superan los 1 o 2mg a NO_2^- -N/L, la interferencia se considera insignificante y por lo general se ignora. Para eliminar una interferencia significativa debido a NO_2^- , añadir 10 mg de ácido sulfámico para cada mg de NO_2^- -N presente

en el volumen de la muestra utilizada; añadir la misma cantidad de ácido sulfámico al reflujo recipiente que contiene el blanco de agua destilada.

El peróxido de hidrógeno (H₂O₂), esta interferencia se elimina con óxido de manganeso.

2.4. Toma de Muestras y Conservación

Recoger las muestras en frascos de vidrio borosilicato o plástico (polietileno) en un volumen mínimo de 100 mL.

En caso de que el lugar de muestreo esté alejado del laboratorio, se debe conservar la muestra por acidificación a un pH ≤ 2 utilizando ácido sulfúrico concentrado, conservar ≤6°C. Antes del ensayo se debe homogenizar las muestras que contengan sólidos suspendidos. Hacer diluciones preliminares de las muestras de aguas residuales que contengan un DQO alto para reducir el error inherente a la determinación de volúmenes pequeños de muestra.

2.5. Materiales y Equipos

a. *Digestor DQO*: Capaz de mantener temperatura de funcionamiento es **150 ± 2°C**.

b. *Bloque de calentamiento*: De aluminio, con agujeros ajustados al tamaño de los tubos de digestión.

c. *Tubos de Digestión*: Tubos de borosilicato con tapa rosca, resistentes al calor y contratapa de teflón, de **16x100mm**, 20x150mm ó 25x150mm.

d. *Microburetas* de 10, 25, **50mL**, pipetas volumétricas.

e. *Espectrofotómetro*: Cuya fuente de luz está dada por una lámpara de tungsteno con filtro de banda estrecha y opera en las regiones comprendidas de 420 a 610 nm. La exactitud del equipo a 25°C es de ±5mg/L o ±5%, ±15mg/L o ±4%, para datos de DQO bajo, medio respectivamente.

2.6 Reactivos

a. ***Solución de digestión, rango alto***: Añadir a 500mL de agua destilada 10.216 g de K₂Cr₂O₇, estándar de grado primario, previamente secado a 150°C por 2 horas, 167 mL de H₂SO₄ cc y 33.3g de HgSO₄. Disolver, enfriar a temperatura ambiente y diluir a 1000mL.

- b. Solución de digestión, rango bajo:** Añadir a 500mL de agua destilada 1.022 g de $K_2Cr_2O_7$, estándar de grado primario, previamente secado a $150^\circ C$ por 2 horas, 167 mL de H_2SO_4 cc y 33.3g de $HgSO_4$. Disolver, enfriar a temperatura ambiente y diluir a 1000mL.
- d. Ácido Sulfúrico:** Añadir Ag_2SO_4 de grado reactivo, en cristales o polvo, al H_2SO_4 cc en una proporción de 5.5 g Ag_2SO_4 /kg H_2SO_4 . Deje reposar de 1 a 2 días para disolver Ag_2SO_4 . Mezclar.
- e. Ácido Sulfámico:** Se usa solo si se va a eliminar la interferencia de nitritos.
- f. Estándar de Phftalato ácido de potasio:** Triturar ligeramente y luego secar a peso constante a $110^\circ C$. Disolver 0.425g en agua destilada y diluir a 1L. El FHP tiene un DQO teórico de 1.176g O_2 /g y ésta solución tiene un DQO teórico de 500 mgO_2 /L. Ésta solución es estable cuando se refrigera, pero se puede alterar si hay desarrollo biológico visible. Preparar y transferir la solución bajo condiciones estériles.

2.7. Procedimiento de Análisis

a. Tratamiento de las muestras:

Medir el volumen adecuado de muestra y los reactivos en los tubos como se indica en la Tabla 1. Preparar, digerir y enfriar las muestras, el blanco y uno o más estándares como se indica en el procedimiento.

b. Medición de muestras

- Escoger una muestra homogénea. Las muestras que contengan sólidos sedimentables necesitan ser homogenizadas con un agitador.
- Precalentar el reactor a $150^\circ C$. No usar un horno u horno microondas, debido a que las muestras pueden dispersarse y generar una atmósfera corrosiva y posiblemente explosiva.
- Remover la tapa de los viales.
- Agregar a cada tubo (preferiblemente de 16 x 100 mm) un volumen de muestra, blanco, patrones y los reactivos según la siguiente tabla.

Tabla 1: Cantidad de muestra y reactivos para distintos tubos de digestión

Tubos de digestión	Muestra, Bk, Patrones (mL)	Solución de Digestión (mL)	Ácido Sulfúrico (mL)	Volumen final total (mL)
16 x 100 mm	2.5	1.5	3.5	7.5
20 x 150 mm	5	3	7	15
25 x 150 mm	10	6	14	30

- Insertar los viales en el reactor y calentarlas a $150\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 2 horas.
- Al final del período de digestión cortar el fluido eléctrico del reactor. Llevar la muestra a temperatura ambiente lentamente para evitar la formación de precipitado. Una vez las muestras se temperan destapar levemente la tapa de los tubos si es necesario, para disipar cualquier presión generada durante la digestión. Mezcle el contenido de los recipientes de reacción invirtiendo (suavemente) varias veces los tubos para combinar el agua condensada y disolver la materia insoluble. Dejar que la materia en suspensión se asiente.
- Seleccionar la longitud de onda requerida (420 nm para curva baja o 600 nm para curva alta)
- Colocar el vial que contiene el blanco en el equipo e introducirlo completamente.
- Presionar Zero y esperar la identificación del vial. Si eso se hiciese exitosamente, el instrumento realizará una secuencia de cero y después de algunos segundos se mostrará en la pantalla "- 0.0 -". Ahora la medida está en cero y listo para las mediciones.
- Remover y verter una cantidad apropiada de solución digerida (muestra + reactivos) a la celda de lectura. Comenzar con el blanco.
- Colocar el vial que contiene la muestra en el equipo e introducirla completamente.
- Presionar leer y esperar la identificación del vial. Si fue realizado correctamente, el instrumento realizará la lectura. Las lecturas se realizan por duplicado

- Registrar las absorbancias dadas por el equipo para cada lectura en el registro **RT1.PEQ11-5.4-01: Hoja de Trabajo para Colorimetría**

c. Preparación de la curva de calibración

Prepare al menos **cinco estándares** (para cada curva: baja y alta) de solución de ftalato de hidrógeno de potasio (a partir de una solución de FHP de 500 mg/L de DQO para la curva baja y a partir de una solución de FHP de 2000 mg/L de DQO para la curva alta) con los equivalentes de DQO para cubrir cada intervalo de concentración. Utilizar los mismos volúmenes de reactivos, tubos y el

Estándares de curva	
Baja (mg/L)	Alta (mg/L)
5	100
20	250
50	500
100	1000
-	2000

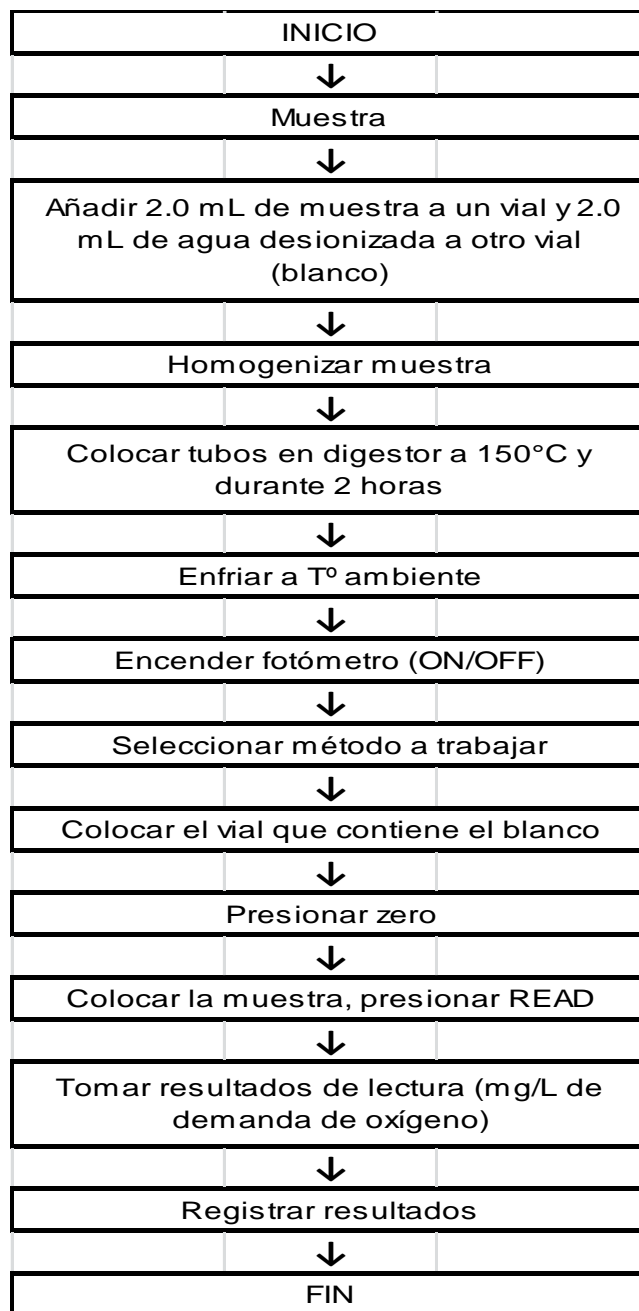
procedimiento de digestión como para las muestras. Preparar curva de calibración cuando los estándares elaborados como se mencionaron anteriormente difieren en $\geq 5\%$ a partir de la curva de calibración. Las curvas deben ser lineales. Sin embargo, puede ocurrir un poco de no linealidad, según el instrumento utilizado.

d. Cálculos de demanda química de oxígeno mediante método colorimétrico

Si las muestras, estándares y blancos se ejecutan en las mismas condiciones de volumen y la longitud del camino óptico, el cálculo de DQO es de la siguiente manera:

$$DQO \text{ mg O}_2/\text{L} = \frac{\text{mg O}_2 \text{ en volumen final} \times 1000}{\text{mL de muestra}}$$

3. DIAGRAMA DE FLUJO DE DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO



ANEXO 3

DETERMINACIÓN DE DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (DBO₅) EN AGUAS

1. OBJETIVO

Describir los pasos a seguir para la Determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅) en muestras de agua.

2. ALCANCE

Este método se aplica en aguas naturales y aguas residuales por el Método 5210 B. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 22 Ed.

3. POLÍTICA

No aplica.

4. DEFINICIONES Y ABREVIATURA

***DBO:** Demanda Bioquímica de Oxígeno, es la medida del oxígeno molecular utilizado durante un período de incubación especificado para oxidar la materia orgánica de una muestra de agua.

***Semilla o inóculo:** Población de microorganismos capaces de oxidar la materia orgánica biodegradable de la muestra.

***Agua de dilución:** Agua destilada con nutrientes para diluir las muestras.

***Incubación:** Proceso llevado a cabo a condiciones de tiempo y temperatura fija (5 días a 20±10°C), bajo las cuales los microorganismos llevan a cabo el proceso de oxidación de la materia orgánica.

5. REFERENCIAS DOCUMENTALES

- STANDAR METHODS. For the examination of water and wastewater. 22ND. Edition. 2012. Part 5210 B. Método Demanda Bioquímica de Oxígeno 5 (DBO₅).

- Oxygen Demand, Biochemical. Dilution Method. Method 8043. Adapted from Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater and from Klein, R.L.; Gibbs, C. Journal of Water Pollution. Control Federation, 1979, 51(9), 2257

6. DESARROLLO

6.1 Principio

El principio básico es la medición de oxígeno utilizado durante un período de incubación especificado para la degradación bioquímica de materia orgánica. Las condiciones estándar del análisis incluyen incubación en la oscuridad a $20 \pm 10^{\circ}\text{C}$ por 5 días.

El método consiste en el llenado con muestra diluida y sembrada, hasta rebosar, en un frasco hermético, e incubarlo a $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 5 días. La DBO se calcula mediante la diferencia entre el OD inicial y final. El OD inicial se determina rápidamente después de hecha la dilución.

6.2 Toma de Muestras y Conservación.

Muestras Puntuales

Si el análisis se realiza dentro de 2 horas de realizada la colección, el almacenamiento en frío es innecesario. Si el análisis no se inicia en este tiempo, conservar la muestra $\leq 6^{\circ}\text{C}$ desde que fue colectada e iniciar el análisis dentro de las 6 horas de colección. Cuando esto no es posible debido a distancias grandes entre el lugar de colección y el laboratorio de ensayo, conservar la muestra bajo $\leq 6^{\circ}\text{C}$, reportar tiempos y temperatura de almacenamiento con los resultados, no realizándose el análisis con más de 24 horas de colectada la muestra.

6.3 Muestras Compuestas

Conservar las muestras $\leq 6^{\circ}\text{C}$ durante la mezcla, limitando el período de mezcla a 24 horas. Utilizar los mismos criterios de almacenaje que en muestras puntuales, iniciando el tiempo de almacenaje a partir del tiempo final de mezcla. Informar el tiempo y condiciones de almacenamiento en el informe de resultados.

6.4 Interferencias

La relación de la materia orgánica soluble a la materia orgánica suspendida, los sólidos sedimentables, los flotables, la presencia de hierro en su forma oxidada o reducida, la presencia de compuestos azufrados y las aguas no bien mezcladas, pueden afectar la exactitud y la precisión de medidas de DBO.

6.4.1 Las muestras que contienen componentes de cloro residual, sustancias tóxicas, muestras sobresaturadas con OD o muestras que contienen peróxido de hidrógeno, no permiten el desarrollo de las bacterias que degradan la materia orgánica.

6.4.2 DBO carbonácea contra nitrogenácea: La oxidación de las formas reducidas del nitrógeno como amoníaco y nitrógeno orgánico, mediada por los microorganismos, ejercen una demanda nitrogenácea, que ha sido considerada como una interferencia en la prueba.

6.4.3 Si el agua de dilución es de baja calidad, su DBO₅ aparecerá como de la muestra, efecto que será amplificado por el factor de dilución, y el resultado tendrá una desviación positiva. El método de análisis debe incluir el procesamiento como muestra del agua de dilución para verificar su calidad.

6.5 Equipos y Materiales

6.5.1 **Multiparámetro - Electrodo de membrana** : Para lectura de OD

6.5.2 **Incubadora de DBO**: Equipo con magnitudes de trabajo $20 \pm 1^\circ\text{C}$, eliminar toda la luz para evitar la posibilidad de producción fotosintética de OD.

6.5.3 **Botellas de incubación**: Usar botellas de 300 mL que posean tapón de vidrio esmerilado y boca acampanada, limpiar los frascos con un detergente, enjuagar a fondo y secar

drásticamente antes de usarlos. Como precaución contra la entrada de aire en la botella durante la incubación, utilizar un sello de agua, añadiendo agua a la boca acampanada de las botellas de DBO especiales y cubrir la boca con un plástico o papel aluminio para reducir la evaporación del sello de agua durante la incubación.

6.5.4 **Pipetas volumétricas**, 10, 20, 50 y 100mL.

6.5.5 **Microburetas**, de 50mL.

6.5.6 **Probetas** de 1000 ml clase A.

6.5.7 **Fiolas** de 25, 50, 100, 200, 500, 1000 mL.

6.5.8 Agitador Magnético

6.6 Reactivos

Preparar los reactivos por anticipado, haciendo uso de reactivos químicos de grado reactivo o de mejor calidad. Usar agua destilada u otro equivalente, preferiblemente estéril para la preparación de soluciones. Desechar cualquier reactivo en stock si hay algún signo de precipitación o crecimiento biológico.

a. Solución de Tampón Fosfato: Disolver 8.5 g de KH_2PO_4 ; 21.75 g de K_2HPO_4 ; 33.4 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 1.7g de NH_4Cl en 500 mL de agua destilada y diluir a 1 L. El pH de la solución debe ser 7.2 sin ajustes adicionales. **Alternativamente** disolver 42.5 g de KH_2PO_4 y 1.7 g de NH_4Cl en aproximadamente 700mL de agua destilada y ajustar el a pH 7.2 con NaOH al 30% y diluir a 1L.

b. Solución de Sulfato de magnesio: Disolver 22.5 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en agua destilada y diluir a 1L.

c. Solución de Cloruro de calcio: Disolver 27.5 g de CaCl_2 en agua destilada y diluir a 1L.

d. Solución de Cloruro férrico: Disolver 0.25 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en agua destilada y diluir a 1 L.

e. Soluciones ácida y alcalina: Para neutralización de muestras alcalinas o ácidas se utilizan soluciones 1N.

- **Solución Ácida 1N:** poco a poco y lentamente, añadir 28 ml de H_2SO_4 (cc) al agua destilada. Diluir hasta 1 L.

- **Solución Alcalina:** Disolver 40 g de NaOH en agua destilada y diluir a 1L.

f. Solución de sulfito de sodio: Disolver 1.575g de Na_2SO_3 en 1L de agua destilada. Ésta solución no es estable, preparar diariamente.

g. Fuente de Agua para la preparación de agua de dilución, usar agua desmineralizada, destilada, ultrapura o agua de grifo para la preparación de muestras diluidas siempre que cumpla con los criterios exigidos.

h. Solución Glucosa- ácido glutámico (BFL): Disolver 150 mg glucosa anhidra y 150 mg de ácido glutámico a agua destilada y se diluye hasta 1 L (produce un DBO_5 de 198 ± 30.5 mg/L). Preparar inmediatamente antes de su uso a menos que la solución es mantenido en una condición estéril y mantenido a $\leq 4^\circ\text{C}$. Adicionalmente esta solución se puede preparar en otras concentraciones para ser utilizado como BFL a diferentes niveles.

6.7 Consideraciones Previas al Proceso Analítico

6.7.1 pH de la Muestra: Verificar que el pH de todas las muestras estén entre 6 a 8, caso contrario ajustar el pH entre 7.0 a 7.2 una vez temperada la muestra, usando una solución de H_2SO_4 ó NaOH 1N, evitando la dilución de la muestra en más de 0.5%. . El pH del agua de dilución no debe ser afectado por la dilución mínima de la muestra.

6.7.2 Análisis de cloro: Si es posible evitar muestras que contengan cloro residual (tratar de recolectarlas antes de la cloración). Realizar el análisis de cloro en muestras donde se presume cloración (aguas residuales tratadas).

Para muestras con presencia de cloro, eliminarlo por adición de Na_2SO_3 .

Determinar el volumen requerido de solución de Na_2SO_3 (0.1575g/100ml) para neutralizar el cloro en una porción de 100 mL de muestra cómo sigue.

a. añadir 1 mL ácido acético (1:1) o H_2SO_4 (1:50) + 1mL de solución de yoduro potásico (10%), y titular con solución de Na_2SO_3 determinando el punto final con la solución de almidón.

b. Añadir a la muestra neutralizada el volumen relativo de solución de Na_2SO_3 determinada por la prueba anterior (Ej. si en 100 ml de muestra hubo un gasto de 1 ml de Na_2SO_3 , agregar 10 ml para el litro de muestra), mezclar y después de 10 a 20 minutos comprobar el cloro residual de la muestra siguiendo el mismo proceso anterior.

Nota: Si el volumen de Na_2SO_3 agregado diluye en más de 0.5% a la muestra agregar éste en forma sólida. Un excedente de Na_2SO_3 en la muestra, consume oxígeno y reacciona con ciertas cloraminas orgánicas que pueden estar presentes en muestras tratadas.

6.7.3 Muestras que contienen otras sustancias tóxicas: Ciertas muestras de residuos industriales, como los residuos del laminado contienen metales tóxicos, tales pruebas a menudo requieren estudios y tratamientos especiales.

6.7.4 Muestras sobresaturadas con OD: Las muestras que contienen concentraciones de OD por encima de la saturación a 20°C pueden ser encontradas en aguas frías o en aguas donde ocurre fotosíntesis. Para prevenir pérdidas de oxígeno durante la incubación de tales muestras, reducir el OD hasta la saturación a $20 \pm 3^\circ\text{C}$, agitando la muestra vigorosamente en frascos parcialmente llenos o inyectando aire comprimido limpio y filtrado.

6.7.5 Muestras que contienen peróxido de hidrógeno:

Remanentes de peróxido de hidrógeno en muestras de algunas industrias en el proceso del blanqueo usadas por fábricas textiles y de papel, pueden provocar niveles supersaturados de oxígeno en muestras tomadas para ensayos de DBO.

Mezclar tales muestras vigorosamente en recipientes abiertos por suficiente tiempo para permitir que el peróxido de hidrógeno se disipe antes de realizar la prueba de DBO.

Chequear la remoción de peróxido observando las concentraciones de oxígeno disuelto con el paso del tiempo durante mezclas o usando tiras de peróxido. Los tiempos de mezclas pueden variar de 1 a 2 horas dependiendo de la cantidad de peróxido de hidrógeno presente.

La reacción de peróxido puede ser considerada completa cuando el OD no incrementa 30 minutos después de haber realizado la mezcla vigorosa.

6.7.6 Preparación de suspensión de semillas

La suspensión de semilla se prepara si hay muestras que necesitan inoculación (por ejemplo algunos residuos industriales no tratados, residuos desinfectados, residuos con alta temperatura, residuos que tienen valores de pH menos que 6 o más que 8, o muestras almacenados más de 6 horas de haber sido recolectados.

Usar una capsula de semilla sintética Polyseed en 500ml de agua de dilución, Agitar con magneto por una hora. Dejar decantar 10 – 15 min. y trabajar con el sobrenadante (el cual ha sido trasvasado con una pipeta estéril si es posible hacia un beaker limpio). Al tomar la alícuota de la semilla ésta debe estar en agitación magnética lenta y tomar un volumen de inoculo que rinda un consumo al quinto día de 0.6 – 1 mg/L como máximo (usar al 0.4% o más). Este consumo requerido por el inoculo se verifica en el Blanco Semilla. Usar este

porcentaje de dilución (0.4% o más) tanto para el control inóculo (blanco semilla), como para las muestras. La semilla se prepara en cada uso.

6.8 Procedimiento de Análisis.

6.8.1 Preparación del agua de dilución

6.8.1.1 Tomar el volumen deseado de la fuente de agua, según la cantidad de muestras a trabajar. La concentración de oxígeno disuelto debe ser al menos 7.5 mg/L (o hasta la saturación de $20\pm 3^{\circ}\text{C}$ de acuerdo a la altitud del lugar) antes de usar agua para la prueba de DBO, sino añadir OD agitando las botellas vigorosamente o aireando (30 min. a 1h) libre de compuestos orgánicos, idealmente pH 6.5 – 7.5.

6.8.1.2 Añadir 1 mL de cada una de las siguientes soluciones: Tampón fosfato, MgSO_4 , CaCl_2 , y FeCl_3 por Litro de agua de dilución a preparar. Mezclar completamente y llevar a temperatura de $20\pm 3^{\circ}\text{C}$.

6.8.1.3 Preparar agua de dilución inmediatamente antes de usar.

6.8.1.4 Si los blancos de agua de dilución muestran una diferencia de oxígeno disuelto mayor de 0.20mg/L después de 5 d de incubación, obtener un agua adecuada para mejorar la purificación o usar agua de otra fuente.

6.8.1.5 No añadir agentes oxidantes o exponer el agua a luz ultravioleta el agua de dilución con el fin de obtener los rangos del blanco de dilución.

6.8.2 Ajuste de Temperatura de la muestra

Llevar muestras a $20\pm 3^{\circ}\text{C}$ antes de hacer las diluciones.

6.8.3 Preparación de diluciones

6.8.3.1 Hacer diversas diluciones preparadas a la muestra, al menos 3 diluciones para muestras residuales y dos diluciones para otra matrices, con el fin de obtener un OD final de al menos de 1.0mg/L y una diferencia de OD de al menos 2.0mg/L después de los 5 días de incubación.

6.8.3.2 Un análisis rápido de DQO puede relacionarse con el DBO y servir de guía en la selección de diluciones. A falta de conocimiento de datos previos o en el caso de muestras nuevas, utilizar los siguientes porcentajes para la preparación de diluciones:

0.01 a 1.0 %	Para residuos industriales fuertes
1 a 5%	Para aguas residuales crudas y estabilizadas
5 a 25%	Para efluentes tratados biológicamente
25 a 100%	Para aguas superficiales contaminadas

6.8.3.3 Para diluciones mayores de 1% hacer una dilución previa en una fiola antes de hacer la dilución final (ver anexo 01).

6.8.3.4 Trabajar con tres frascos por cada dilución (1 para lectura inicial y 2 para lectura final) para determinar el OD. La diferencia entre las 2 lecturas finales debe ser \leq 0.2 mg/L.

6.8.3.5 Preparar las diluciones en recipientes volumétricos (probetas) y luego transferir a las botellas de DBO. Utilizando una pipeta de boca ancha, agregar la cantidad deseada de muestra preparada a cada probeta. Mezclar bien la muestra antes de pipetear para evitar pérdida de sólidos por sedimentación.

6.8.3.6 Llenar probetas, a casi, dos terceras partes de total con agua de dilución + la muestra sin airear (por las

paredes). Añadir cantidades apropiadas de suspensión de semillas (si se requiere) y complete finalmente con agua de dilución. Mezclar bien evitando la entrada de aire, verter la dilución mezclada a las botellas sin dejar que sedimenten los sólidos durante la transferencia.

6.8.3.7 Para diluciones de la muestra menores a 70 % (ej. 80% 90% y 100%), los nutrientes pueden encontrarse limitados en la muestra diluida y subsecuentemente pueden reducir la actividad biológica. En tales casos añadir directamente a la dilución final las mismas sales utilizadas para el agua de dilución y en una proporción de 1mL/L.

6.8.4 Adición de suspensión de la semilla

6.8.4.1 Añadir la suspensión de semilla (si es requerida) al recipiente de dilución antes de la dilución final. No añadir las semillas directamente a las muestras de agua residual si éstas contienen sustancias tóxicas antes de la dilución.

6.8.4.2 Siempre registrar el volumen exacto de suspensión de semilla añadido a cada dilución (4 ml en semilla comercial). El consumo de oxígeno disuelto atribuible para la semilla adicionada por cada botella generalmente está entre 0.6 a 1.0 mg/L, por lo que la cantidad de semilla adicionada a cada botella de DBO deberá ser ajustada a este rango.

6.8.5 Sellado de botellas que serán incubadas.

6.8.5.1 Completar el llenado de cada botella, adicionando suficiente agua de dilución de tal manera que al insertar el tapón se desplace todo el aire, sin dejar burbujas en la botella.

6.8.5.2 Para prevenir la absorción de aire por la botella durante la incubación use un sello de agua, Colocar una capa de papel o parafilm o un capuchón metálico sobre la boca de la botella para reducir la evaporación del sello de agua durante la incubación.

6.8.6 Determinación de OD inicial

6.8.6.1 Después de preparar la dilución determinar el OD inicial dentro de los 30 minutos. Preparar una botella extra por cada dilución para la determinación del OD inicial. Realizar la lectura de OD inicial en agitación magnética a una velocidad de 400 rpm.

6.8.7 Incubación de las muestras

6.8.7.1 Incubar a $20 \pm 1^\circ\text{C}$ las botellas tapadas y selladas que contienen las diluciones deseadas, los controles de semilla, los blancos de agua de dilución y los patrones de glucosa-ácido glutámico. Evitar la luz para evitar el crecimiento de algas en las botellas durante la incubación.

6.8.8 Determinación del OD final

6.8.8.1 Después de 5 días \pm 6 horas de incubación, determinar el OD de todas las muestras diluidas, control de semilla, blancos de agua de dilución y el patrón de glucosa-ácido glutámico, usando el método de electrodo de membrana. Realizar la lectura de OD final en agitación magnética a una velocidad de 400 rpm.

6.8.9 Cálculos de demanda bioquímica de oxígeno

6.8.9.1 Para cada prueba de botella que tiene una reducción en OD de 2,0 mg/L y al menos 1,0 mg / L de OD final, calcular de la siguiente manera:

$$\text{DBO}_5, \text{ mg/L} = \frac{(\text{D}_1 - \text{D}_2) - (\text{S}) \text{ Vs}}{\text{P}}$$

Donde:

D_1 = OD inicial de la muestra diluida después de la preparación, mg/L

D_2 = OD final de la muestra después de 5 días de incubación a 20°C, mg/L

S = Consumo de oxígeno de las semillas, Δ OD / ml de suspensión de semilla añadida por botella. (S = 0 si la muestra no es sembrada)

Vs = Volumen de semilla en la respectiva botella, mL

P = Fracción volumétrica decimal de la muestra usada;

1/P = Factor de dilución

6.8.9.2 Si la reducción de OD es menor de 2.0mg/L y la concentración de la muestra es realizada al 100% (no se ha realizado dilución, excepto para las semillas, nutrientes, minerales y soluciones buffer), entonces realizar la corrección de semilla actual y el consumo de OD puede ser reportado como DBO aun si está menos de 2.0 mg/L.

6.8.9.3 Cuando todas las diluciones dan como resultado un OD final <1.0, seleccionar la botella con más baja concentración de OD consumido (máxima dilución) y reportar:

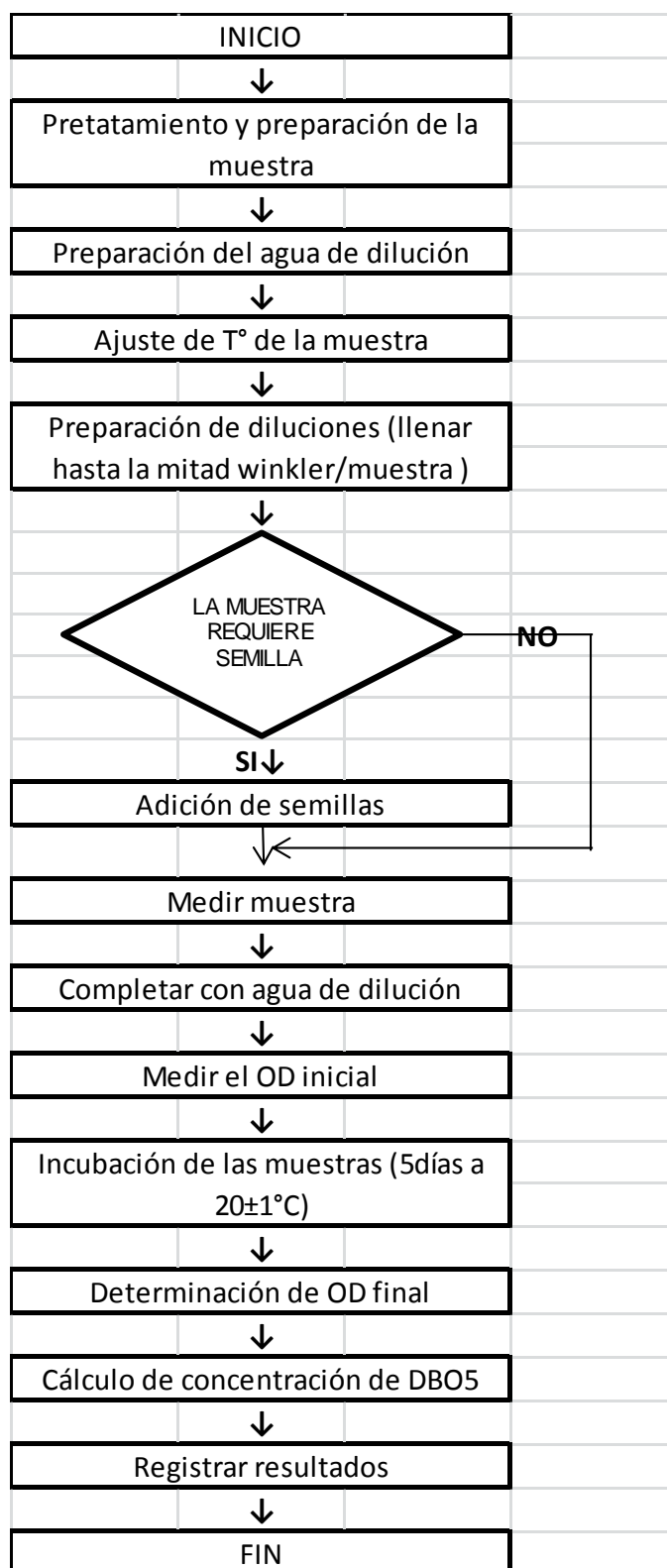
$$\text{DBO, mg/L} > \frac{(\text{D}_1 - \text{D}_2) - (\text{S}) \text{ Vs}}{\text{P}}$$

6.8.9.4 Las muestras que presentan grandes diferencias entre el DBO calculado para diferentes diluciones, por ejemplo, mayor que 30% pueden indicar la presencia de una sustancia tóxica o problemas analíticos. Cuando los efectos se vuelven repetitivos, investigar para identificar la causa. Identificar en las pruebas reportadas si no se

cumplen los siguientes criterios de control de calidad:

- . Blanco de agua de dilución es superior a 0.20mg/L.
- . Chequear si la solución ácido glutámico-glucosa está fuera de los límites aceptables.
- . Réplicas de las pruebas muestran diferencia más de 30% entre los valores altos y bajos.
- . Control de semilla no cumplen con los criterios anteriores establecidos en todas las diluciones.
- . OD final es menor de 1,0 mg/L.

7 DIAGRAMA DE FLUJO



ANEXO 4

COLIFORMES TOTALES, TERMOTOLERANTES Y *Escherichia coli* EN AGUA POR LA TECNICA DE NMP

1 REFERENCIAS DOCUMENTALES.

STANDAR METHODS. For the examination of water and wastewater. 22ND. Edition. 2012. Part 9221 B, C, E1, G2.

2. DEFINICIONES Y ABREVIATURA.

2.1 Coliformes Totales: Son bacterias Gram negativas en forma bacilar que fermentan la lactosa a temperatura de 35 a 37°C, produciendo ácido y gas (CO₂) en un plazo de 24 a 48h. Se clasifican como aerobias o anaerobias facultativas, son oxidasa negativa, no forman esporas y presentan actividad enzimática de la α -galactosidasa. Es un indicador de contaminación microbiológica del agua para consumo humano.

2.2 Coliforme Termotolerante: Son bacterias Gram negativas igual que los coliformes totales, la diferencia radica que los tolerantes tienen la capacidad de soportar temperaturas más elevadas. Su presencia en el agua es indicador de contaminación fecal.

2.3 Escherichia coli: Es una bacteria gram negativa de la familia de las enterobacteriacias que se encuentran en las heces; es habitual en el intestino del ser humano y de otros animales de sangre caliente.

2.4 Técnica de NMP: En esta técnica los resultados de la fermentación en tubos múltiples se expresan en términos de número más probable (NMP) de microorganismos existentes. El método del NMP por tubos múltiples se fundamenta en un modelo de cálculo de probabilidades. De acuerdo con la alternativa de siembra elegida, se selecciona la tabla de NMP correspondiente para obtener los recuentos de coliformes.

3 DESARROLLO.

3.1 MATERIALES MEDIOS DE CULTIVO EQUIPOS E INSTRUMENTOS.

3.1.1 Materiales:

- a. Adicionalmente a lo requerido en el Instructivo de preparación y esterilización de medios de cultivos y reactivos.
- b. Frascos con capacidad de 250 y 500mL autoclavables.
- c. Tubos de vidrio esterilizables de 16/150 mm, tubos de vidrio 20/150mm, con tapas a presión.
- d. Campanas Durham
- e. Asa bacteriológica de 3mm de diámetro (calibrada)
- f. Bolsas de cierre hermético

3.1.2 Medios de Cultivo:

- a. Caldo Lauril sulfato Triptosa (CLST).
- b. Caldo lactosado bilis-verde brillante – brilla (CLBVB)
- c. Caldo EC-Medium.
- d. Agar Endo.
- e. Agua de dilución.
- f. Tiosulfato de sodio
- g. EDTA.
- h. Kit de reactivos de coloración GRAM.
- i. Púrpura de bromocresol.

3.1.3 Equipos e Instrumentos:

- a. Incubadora de aire caliente a $35^{\circ} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$.
- b. Micropipetas de 10mL y 1mL, con tolerancia de $\pm 0.1\text{mL}$ y 0.01mL respectivamente.
- c. Baño de agua a $44.5 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$.

3.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA:

- 3.2.1** Seleccionar el tamaño (volumen) de la muestra, el cual dependerá de la densidad bacteriana que se desee esperar, se

recomienda recolectar un volumen mínimo de 100mL

- 3.2.2** Las muestras deben recolectarse en frascos estériles de 250 o 500mL, de boca ancha con tapa rosca. En el caso que es agua tratada y tiene cloro residual, los frascos deben contener Tiosulfato de sodio, como se describe en la tabla 9060.I
- 3.2.3** Los tubos de caldo CLST y los tubos de caldo BRILLA refrigerados, se tienen que incubar 10 horas antes de iniciarse el proceso de análisis, así mismo, marcar los tubo con el código de la muestra, fecha y dilución.

3.3 TOMA DE MUESTRA:

- 3.3.1** Para el ensayo se utilizan botellas plásticas pre-esterilizadas (121°C/15min), el volumen de muestra mínimo es 100ml; asegúrese de no llenar el frasco sólo tomar $\frac{3}{4}$ partes del volumen.
- 3.3.2** Para el muestreo de agua de grifo (metal o plástico), asegúrese de desinfectar con alcohol al 70% o solución de hipoclorito de sodio, luego deje escurrir el agua por 5min para luego tomar la muestra.
- 3.3.3** Para otras muestras (superficial, subterránea, manantiales, residual), no tomar la muestra cerca de la orilla y sumergir el frasco 10cm bajo la superficie.
- 3.3.4** Para muestras de aguas tratadas con cloro agregar a una botella de muestreo estéril 0.1ml de solución de tiosulfato de sodio por cada 120ml de muestra. ver tabla 9060.I
- 3.3.5** Colección de muestras de agua de alta en contenido de metales, como cobre o zinc (> 1 mg/L) y muestras de aguas residuales con altos niveles de metales pesados adicionar en botellas de muestreo un agente quelante para reducir la toxicidad del metal. Importante cuando las muestras demoran 4h o más hasta llegar al laboratorio, utilizar 0.3ml de EDTA al

15% por cada 120ml de muestra (EDTA 15%: pesar 372 mg/L de sal disódica de EDTA, ajustar a pH 6,5 antes de su uso).

3.3.6 Se puede añadir 0.3ml de solución de EDTA (15%) y 0.1 ml de tiosulfato de sodio en conjunto por cada 120 ml de muestra antes de la esterilización de los frascos de muestreo.

Tabla 1. (9060:I). Equivalencias de Tiosulfato de Sodio - Neutralización de cloro

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	Peso	Tipo agua	Volumen del reactivo/ frasco de 250ml (mL)	Cl- residual neutralizado
3% Anhidro	3g/100ml	Uso y consumo	0.2	5 ppm
3% pentahidratado	4.6g/100ml	Uso y consumo	0.2	5 ppm
10% anhidro	10g/100ml	Residual Tratada	0.6	15 ppm
10% pentahidratado	15.21g/100ml	Residual Tratada	0.6	15 ppm

3.4 DILUCIONES DE LA MUESTRAS.

3.4.1 La numeración de Coliformes por la Técnica NMP en una muestra se hace a partir del uso de tubos múltiples.

3.4.2 Los criterios de selección referido al tamaño de muestra y diluciones se describen en la siguiente tabla:

Tabla 02. Criterios para selección de diluciones en las muestras		
MATRIZ	N° Series de Tubos	Series (diluciones)
AGUA DE BEBIDA	1	10 Tubos doble concentrado (inocular 10 mL de muestra a cada tubo)
AGUAS NATURALES (superficiales y subterráneas)	Aguas limpias: 4	$10^1, 10^0, 10^{-1}, 10^{-2}$
	Aguas turbias: 5	$10^0, 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}$
AGUAS RESIDUALES DOMESTICAS	Tratadas: 5	$10^1, 10^0, 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$
	No tratadas: 5	$10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8}$
AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES	5	$10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}$
Nota:	La dilución 10^1 se hace en medio doble concentrado	

3.4.3 Para el proceso de agua de uso y consumo, se realizará en 1 serie de 10 tubos (medio doble concentración CLST) y se agregará a c/tubo 10ml de muestra.

3.4.4 Para el proceso de otras aguas, se realizan de acuerdo a la tabla 02.

3.5 TECNICA COLIFORMES TOTALES, TERMOTOLERANTES Y *Escherichia coli* POR TUBO MULTIPLE.

Llegada la muestra al laboratorio, proceder a homogenizar la muestra 25 veces realizando movimientos inversos.

3.5.1 FASE PRESUNTIVA (Part 9221B2)

- a. Se siembra volúmenes determinados de muestra en Caldo lauril sulfato triptosa (CLST) con campanas Durham invertidas o 0,01g/L de Púrpura de bromocresol.
- b. Se incuban a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$, durante 24-48 \pm 3h.
- c. La formación de gas, turbidez y viraje (cuando se utiliza púrpura de Bromocresol) a partir de lactosa es prueba presuntiva positiva de bacterias coliformes.

3.5.2 FASE CONFIRMATIVA PARA COLIFORMES TOTALES (Part 9221B 3,4)

- 3.5.2.1 Se traspasa una pequeña cantidad de cultivo de todos los tubos CLST positivos (2 a 3 asadas) a tubos con caldo lactosado bilis-verde brillante (CLBVB) con campanas Durham invertidas.
- 3.5.2.2 Se incuban a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 \pm 3h.
- 3.5.2.3 La producción de gas y turbidez se considera como prueba confirmativa y los resultados se expresan como NMP/100 mL de agua.

3.5.3 FASE CONFIRMATIVA PARA COLIFORMES TERMOTOLERANTES (Part 9221E1):

3.5.3.1 Se traspasa una pequeña cantidad de cultivo de todos los tubos positivos CLST (2 a 3 asadas) del punto 6.5.1 a tubos con caldo Ec medium (EC) con campanas Durham invertidas. Se incuban 30 minutos después de su inoculación a $44.5 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ por $24 \pm 2\text{h}$ en baño de agua.

3.5.3.2 La producción de gas y turbidez se considera como prueba confirmativa y los resultados se expresan como NMP/100 ml de agua.

3.5.3.3 Los tubos que presenten abundante turbidez pero sin gas serán verificados en **Agar m-FC**, donde se evaluará crecimiento típico a $44.5 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ en baño de agua.

3.5.4 FASE CONFIRMATIVA DE ESCHERICHIA COLI (Part. 9221 G2):

- a. De los tubos presuntivos positivos de CLST, traspasar una porción (2 a 3 asadas) de cultivo en caldo tripton; e incubar $44.5 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ por $24 \pm 2\text{h}$, luego agregar 0.2ml de reactivo de Kovacs.
- b. La prueba es positiva cuando se produce la formación del anillo rojo en la parte superficial del caldo de cultivo.

Tabla 3. Cepas para identificar Escherichia coli.

Bioquímica	E. coli	Klebsiella pneumoniae
Indol	+	-

3.5.5 FASE COMPLETA PARA COLIFORMES TOTALES

3.5.5.1 Trimestralmente verificar coliformes totales confirmados en al menos el 10 % de muestras positivas de agua no potables de un batch.

- 3.5.5.2 Transferir cada tubo positivo en Caldo BRILLA a agar Endo LES e incubar a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por $24 \pm 2\text{h}$.
- 3.5.5.3 Seleccionar colonias típica (rosadas a rojas oscuras con brillo metálico verde en la superficie) o atípicas (rosadas, rojas, blanquecinas o incoloras sin brillo).
- 3.5.5.4 Seleccionar una o más colonias típicas bien aisladas, en caso no existan colonias típicas seleccionar colonias atípicas que se presume sean coliformes y transferir a Caldo Lauryl Sulfato Triptosa de concentración simple y a tubos con agar Nutritivo inclinado.
- 3.5.5.5 Incubar el CLST durante $24 \pm 2\text{h}$ - $48 \pm 3\text{h}$ y el agar Nutritivo de 18 – 24 h a $35 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$.
- 3.5.5.6 La producción de gas en CLST y en Agar Nutritivo presentan las siguientes características: bastones Gram-negativos no esporulados se considera presencia de coliformes totales en fase completa.

3.6 CONTROL CALIDAD:

Se debe iniciar en paralelo con los análisis de las muestras y se debe proseguir durante todo el proceso de evaluación.

3.6.1 Cepas control: Se realiza el control cualitativo, se corre en paralelo con los ensayos. Debe realizarse con cada batch de muestras evaluadas.

Tabla 4. Cepas control para el control positivo y negativo del método de ensayo.

Cepas	COLIFORMES		
	Total	Termotolerantes	E. coli
Control Positivo	<i>E. coli</i> <i>E. aerogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
Control negativo	<i>S. aureus</i> o <i>P. aeruginosa</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

3.6.2 Blanco del Método: Verificación de esterilidad de las soluciones utilizadas en los ensayos. Debe realizarse con cada batch de muestras evaluadas; durante los ensayos se puede verificar cualquiera de estos controles.

- Sembrar 1ml de agua dilución en los medios utilizados
- Colocar un tips estéril en medio de cultivo.
- Incubar el medio de cultivo utilizado

3.6.3 Duplicado de Muestra: realizar al 10% de cada batch de muestras evaluadas; procurar hacer el replicado de muestra a la matriz más compleja. Evaluar conformidad de duplicado según los límites de confianza al 95%, descritos en la Tabla 9221: IV SMWW.

3.7 REPORTE DE RESULTADOS: (PART 9221C)

3.7.1 El reporte es NMP/100ml, considerar para el reporte el número de dígitos del resultado. Ejm

Valor ≤ 3 dígitos: Reporte tal cual es el resultado Ejm 1.1 NMP/100mL hasta 990NMP/100mL

Valor >3 dígitos: se considerará reportar un valor de 2 dígitos por un factor exponencial Ejm:

1600 se reportará **16×10^2 NMP/100mL**; **9200000000** se reportará **92×10^8 NMP/100mL**

3.7.2 Agua de bebida: El ensayo se realiza en una serie de 10 tubos, se identifica los tubos positivos y se calcula de acuerdo a la **tabla 9221 III**.

3.7.3 Otras aguas: Se realizan entre 3 a 6 series (5tubos c/u) ver tabla 02, identificar la combinación de tubos positivos, corregir la combinación correcta y calcular de acuerdo a las **tablas 9221 IV y V**.

3.7.4 La tabla 9221 IV, se usa de la siguiente manera:

- Se utilizan 10ml de muestra para la 1° dilución, se reporta el valor que corresponde a la combinación de la Tabla NMP, ejm: Combinación 5 - 3 - 1: Resultado final 110 NMP/100mL

- b. Se utiliza otros volúmenes diferentes de 10 en 1° dilución;
ejm Volumen de 1° serie es 0.1ml y la combinación 5 – 2 – 0.
Resultado de combinación en tabla: 49NMP/100ml

$$NMP / 100 mL = (TableNMP / 100 mL) \times \frac{10}{Vol.de \cdot muestra(1^{ra} .dil)}$$

- c. Si realiza más de 3 series, elija la combinación de acuerdo a la tabla 9221 V.
- d. En caso no encuentre la combinación de la tabla, realice el cálculo de acuerdo a la ecuación:

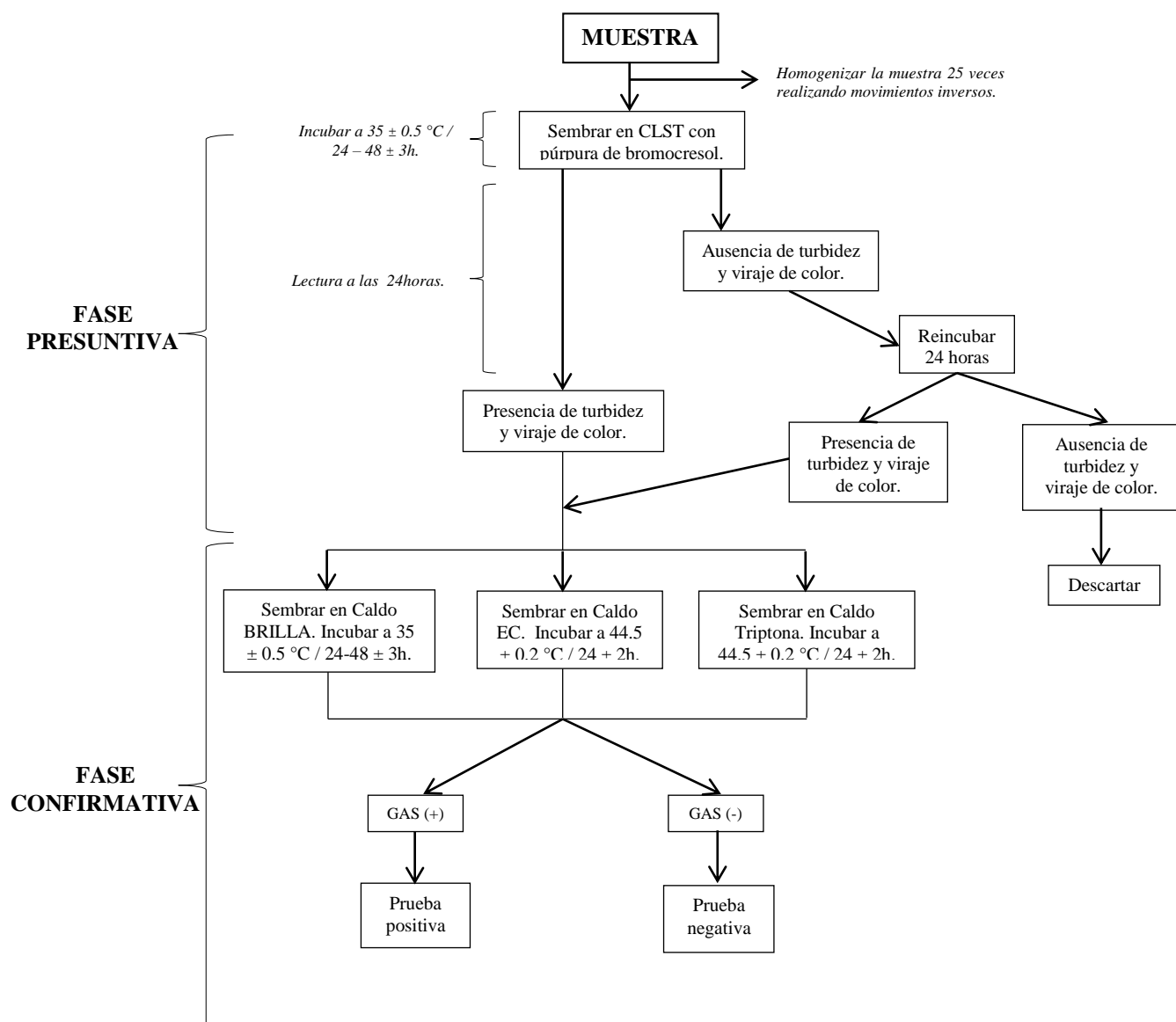
$$NMP / 100 mL_{(aprox)} = \frac{P \times 100}{\sqrt{(N \times T)}}$$

Dónde: P, son el N° de tubos positivos

N, volumen total de muestra en los tubos negativos.

T, volumen total de muestra agregada en todos los tubos

4 DIAGRAMA DE FLUJO.



Aprueba Límites Máximos Permisibles para los efluentes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas o Municipales

DECRETO SUPREMO Nº 003-2010-MINAM

EL PRESIDENTE DE LA REPÚBLICA

CONSIDERANDO:

Que, el artículo 3 de la Ley Nº 28611, Ley General del Ambiente, dispone que el Estado, a través de sus entidades y órganos correspondientes, diseña y aplica, las políticas, normas, instrumentos, incentivos y sanciones que sean necesarias para garantizar el efectivo ejercicio de los derechos y el cumplimiento de las obligaciones y responsabilidades contenidas en dicha ley;

Que, el numeral 32.1 del artículo 32 de la Ley General del Ambiente define al Límite Máximo Permissible - LMP, como la medida de concentración o grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, que caracterizan a un efluente o una emisión, que al ser excedida causa o puede causar daños a la salud, al bienestar humano y al ambiente. Su determinación corresponde al Ministerio del Ambiente. Su cumplimiento es exigible legalmente por el Ministerio del Ambiente y los organismos que conforman el Sistema Nacional de Gestión Ambiental. Los criterios para la determinación de la supervisión y sanción serán establecidos por dicho Ministerio;

Que, el numeral 33.4 del artículo 33 de la Ley Nº 28611 en mención dispone que, en el proceso de revisión de los parámetros de contaminación ambiental, con la finalidad de determinar nuevos niveles de calidad, se aplique el principio de la gradualidad, permitiendo ajustes progresivos a dichos niveles para las actividades en curso;

Que, el literal d) del artículo 7 del Decreto Legislativo Nº 1013, Ley de Creación, Organización y Funciones del Ministerio del Ambiente - MINAM, establece como función específica de dicho Ministerio, elaborar los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) y Límites Máximos Permisibles (LMP), de acuerdo con los planes respectivos. Deben contar con la opinión del sector correspondiente, debiendo ser aprobados mediante Decreto Supremo;

Que, mediante Resolución Ministerial Nº 121-2009-MINAM, se aprobó el Plan de Estándares de Calidad Ambiental (ECA) y Límites Máximos Permisibles (LMP) para el año fiscal 2009 que contiene dentro de su anexo la elaboración del

Límite Máximo Permissible para los efluentes de Plantas de Tratamiento de fuentes domésticas;

Que el artículo 14 del Reglamento de la Ley del Sistema Nacional de Evaluación de Impacto Ambiental (SEIA) aprobado mediante Decreto Supremo Nº 019-2009-MINAM, establece que el proceso de evaluación de impacto ambiental comprende medidas que aseguren, entre otros, el cumplimiento de los Estándares de Calidad Ambiental, los Límites Máximos Permisibles y otros parámetros y requerimientos aprobados de acuerdo a la legislación ambiental vigente; del mismo modo, en su artículo 28 el citado reglamento señala que, la modificación del estudio ambiental o la aprobación de instrumentos de gestión ambiental complementarios, implica necesariamente y según corresponda, la actualización de los planes originalmente aprobados al emitirse la Certificación Ambiental;

De conformidad con lo dispuesto en el numeral 8) del artículo 118 de la Constitución Política del Perú, y el numeral 3 del artículo 11 de la Ley Nº 29158, Ley Orgánica del Poder Ejecutivo;

DECRETA:

Artículo 1.- Aprobación de Límites Máximos Permisibles (LMP) para efluentes de Plantas de Tratamiento de Agua Residuales Domésticas o Municipales (PTAR)

Aprobar los Límites Máximos Permisibles para efluentes de las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas o Municipales, los que en Anexo forman parte integrante del presente Decreto Supremo y que son aplicables en el ámbito nacional.

Artículo 2.- Definiciones

Para la aplicación del presente Decreto Supremo se utilizarán los siguientes términos:

- Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas o Municipales (PTAR): Infraestructura y procesos que permiten la depuración de las aguas residuales Domésticas o Municipales.
- Límite Máximo Permissible (LMP).- Es la medida de la concentración o del grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, que caracterizan a una emisión, que al ser excedida causa o puede causar daños a la salud, al bienestar humano y al ambiente. Su cumplimiento es exigible legalmente por el MINAM y los organismos

que conforman el Sistema de Gestión Ambiental.

- Protocolo de Monitoreo.- Procedimientos y metodologías establecidas por el Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento en coordinación con el MINAM y que deben cumplirse en la ejecución de los Programas de Monitoreo.

Artículo 3.- Cumplimiento de los Límites Máximos Permisibles de Efluentes de PTAR

3.1 Los LMP de efluentes de PTAR que se establecen en la presente norma entran en vigencia y son de cumplimiento obligatorio a partir del día siguiente de su publicación en el Diario Oficial El Peruano.

3.2 Los LMP aprobados mediante el presente Decreto Supremo, no serán de aplicación a las PTAR con tratamiento preliminar avanzado o tratamiento primario que cuenten con disposición final mediante emisario submarino.

3.3. Los titulares de las PTAR que se encuentren en operación a la dación del presente Decreto Supremo y que no cuenten con certificación ambiental, tendrán un plazo no mayor de dos (02) años, contados a partir de la publicación del presente Decreto Supremo, para presentar ante el Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento su Programa de Adecuación y Manejo Ambiental; autoridad que definirá el respectivo plazo de adecuación.

3.4 Los titulares de las PTAR que se encuentren en operación a la dación del presente Decreto Supremo y que cuenten con certificación ambiental, tendrán un plazo no mayor de tres (03) años, contados a partir de la publicación del presente Decreto Supremo, para presentar ante el Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento, la actualización de los Planes de Manejo Ambiental de los Estudios Ambientales; autoridad que definirá el respectivo plazo de adecuación.

Artículo 4.- Programa de Monitoreo

4.1 Los titulares de las PTAR están obligados a realizar el monitoreo de sus efluentes, de conformidad con el Programa de Monitoreo aprobado por el Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento. El Programa de Monitoreo especificará la ubicación de los puntos de control, métodos y técnicas adecuadas; así como los parámetros y frecuencia de muestreo para cada uno de ellos.

4.2 El Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento podrá disponer el monitoreo de otros parámetros que no estén regulados en el presente Decreto Supremo, cuando existan indicios razonables de riesgo a la salud humana o al ambiente.

4.3 Sólo será considerado válido el monitoreo conforme al Protocolo de Monitoreo establecido por el Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento, realizado por Laboratorios acreditados ante el Instituto Nacional de Defensa del Consumidor y de la Propiedad Intelectual - INDECOPI.

Artículo 5.- Resultados de monitoreo

5.1 El Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento es responsable de la administración de la base de datos del monitoreo de los efluentes de las PTAR, por lo que los titulares de las actividades están obligados a reportar periódicamente los resultados del monitoreo de los parámetros regulados en el Anexo de la presente norma, de conformidad con los procedimientos establecidos en el Protocolo de Monitoreo aprobado por dicho Sector.

5.2 El Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento deberá elaborar y remitir al Ministerio del Ambiente dentro de los primeros noventa (90) días de cada año, un informe estadístico a partir de los datos de monitoreo presentados por los Titulares de las PTAR, durante el año anterior, lo cual será de acceso público a través del portal institucional de ambas entidades.

Artículo 6.- Fiscalización y Sanción

La fiscalización del cumplimiento de los LMP y otras disposiciones aprobadas en el presente Decreto Supremo estará a cargo de la autoridad competente de fiscalización, según corresponda.

Artículo 7.- Refrendo

El presente Decreto Supremo será refrendado por el Ministro del Ambiente y por el Ministro de Vivienda, Construcción y Saneamiento.

DISPOSICIÓN COMPLEMENTARIA FINAL

Única.- El Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento, en coordinación con el MINAM, aprobará el Protocolo de Monitoreo de Efluentes de PTAR en un plazo no mayor a doce (12) meses contados a partir de la vigencia del presente dispositivo.

Dado en la Casa de Gobierno, en Lima, a los dieciséis días del mes de marzo del año dos mil diez.

ALAN GARCÍA PÉREZ
Presidente Constitucional de la República

ANTONIO JOSÉ BRACK EGG
Ministro del Ambiente

JUAN SARMIENTO SOTO
Ministro de Vivienda, Construcción y Saneamiento

ANEXO

LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES PARA LOS EFLUENTES DE PTAR

PARÁMETRO	UNIDAD LMP DE EFLUENTES PARA VERTIDOS A CUERPOS DE AGUAS
Aceites y grasas	mg/L 20
Coliformes Termotolerantes	MP/10010,000mL
Demanda Bioquímica de Oxígeno	mg/L100
Demanda Química de Oxígeno	mg/L 200
PH	unidad 6.5-8.5
Sólidos Totales en Suspensión	mg/L150
Temperatura	°C<35