



*Tendencias en el tratamiento
Integral de Aguas Residuales*

Congreso Internacional Ambiental Manizales

*“Tendencias en el tratamiento integral de
aguas residuales”*

Manizales, septiembre 18 - 21 de 2017



Instituto de Estudios Ambientales IDEA
Sede Manizales



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA



Universidad[®]
Católica
de Manizales



Actividad Enzimática Extracelular Variación Espacio – Temporal en la cuenca del río Chinchiná, Caldas - Colombia

Marco Tulio Jaramillo Salazar, *M. Sc.*
Grupo GEAAS – Universidad de Caldas

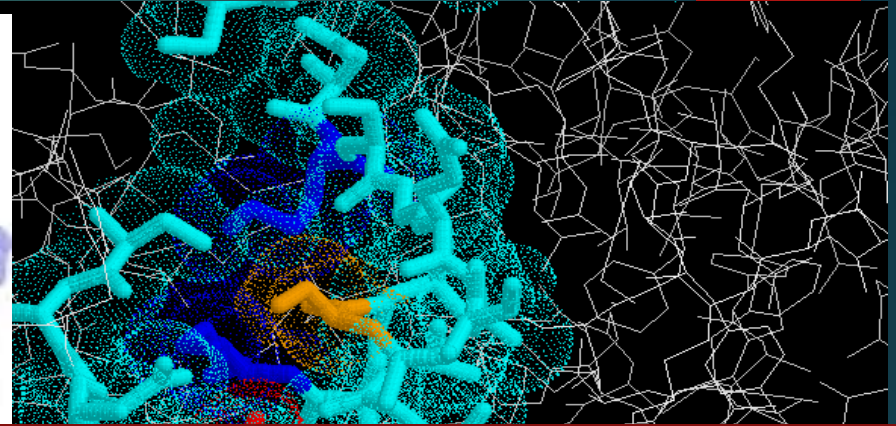
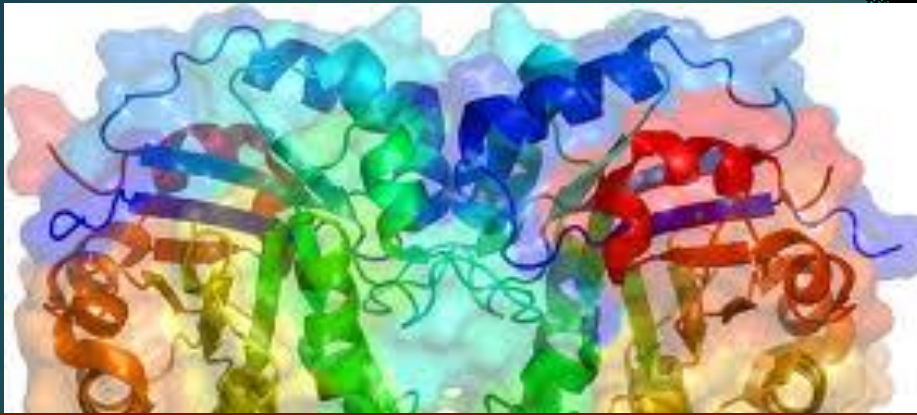
Néstor Jaime Aguirre Ramírez, *dr. Rer. Nat.*
Grupo GEOLIMNA – Universidad de Antioquia

Jhon Henry Galvis García, *M. Sc.*
ALKAMEDICA – Investigación y Desarrollo

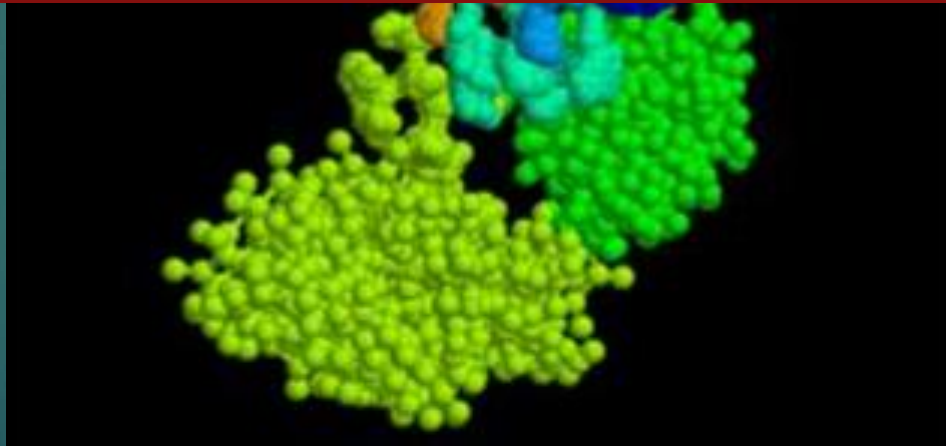


GeLimna





INTRODUCCIÓN



INTRODUCCIÓN

Ecosistemas Lénticos/Lóticos Colombianos Materia Orgánica (Procesos Industriales y Domésticos)

Nitrógeno ← Proceso complejo Mineralización → Fósforo

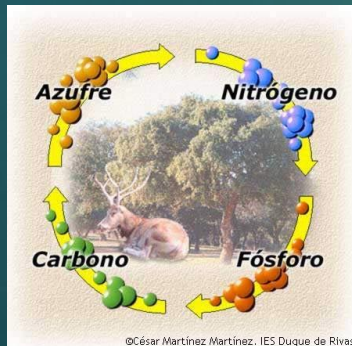
Bacterias

Hongos

Invertebrados

Procesos
Fisicoquímicos

Propiedades químicas y físicas del
material en descomposición



Tomado de
www.extraterrestresracionalmente.com

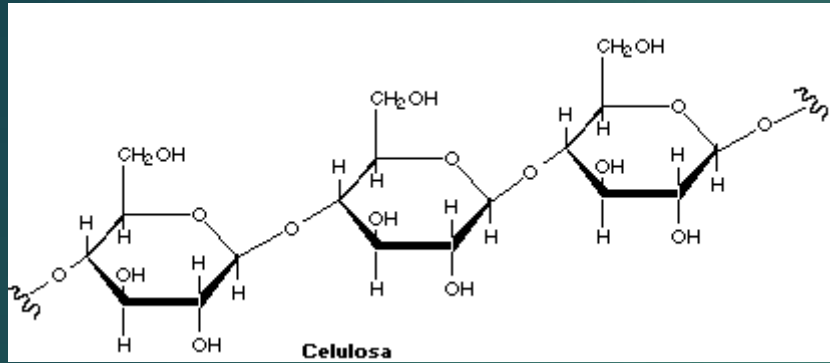


Tomado de inglescatolico-tics.blogspot.com



Tomado de www.cdrtcampes.es

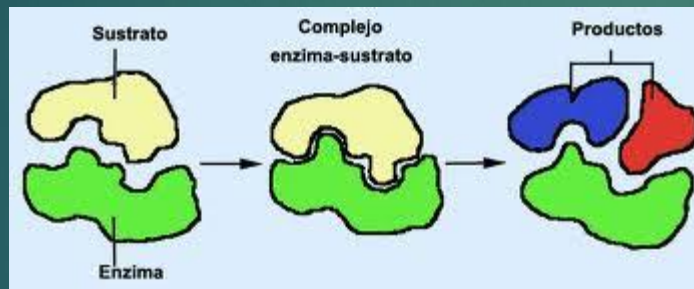
INTRODUCCIÓN



Tomado y modificado de www.efn.uncor.edu

Polímeros

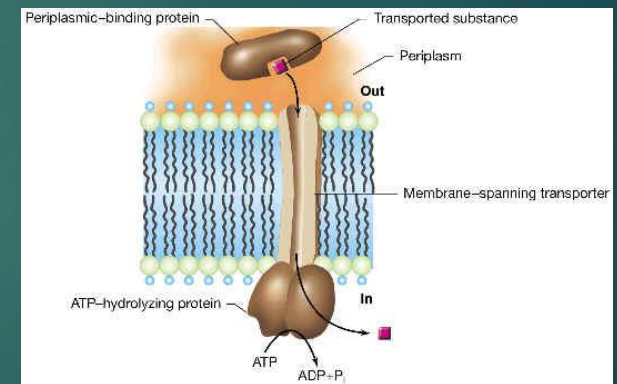
Moléculas de mayor tamaño



Tomado de corinto.pucp.edu.pe

Actividad Enzimática Extracelular

Bacterias
Hongos



Tomado de www.ugr.es

INTRODUCCIÓN



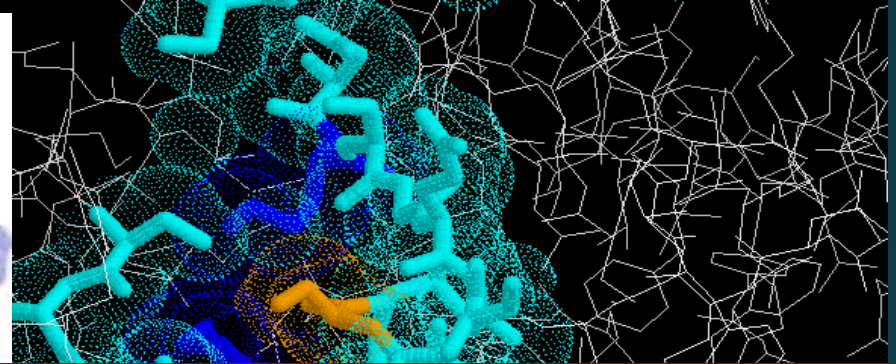
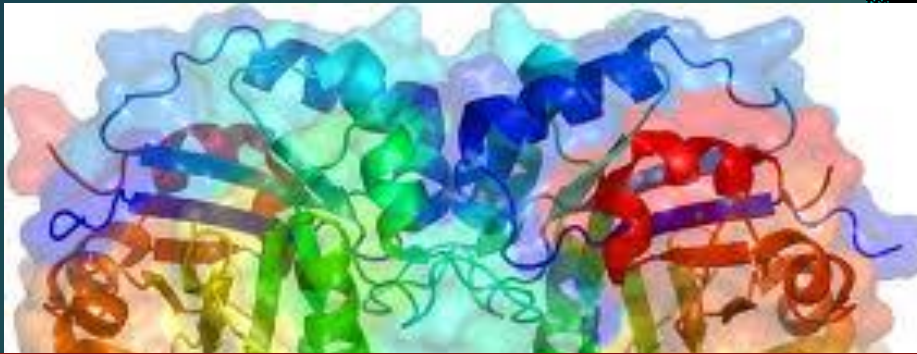
Doctorado
Ingeniería Ambiental

Linea Base
Modelación
Carbono – Nitrógeno – Fósforo
Correlación con Contaminación
Actividad Enzimática Extracelular



Maestría en Química

Pregrado en Biología



PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

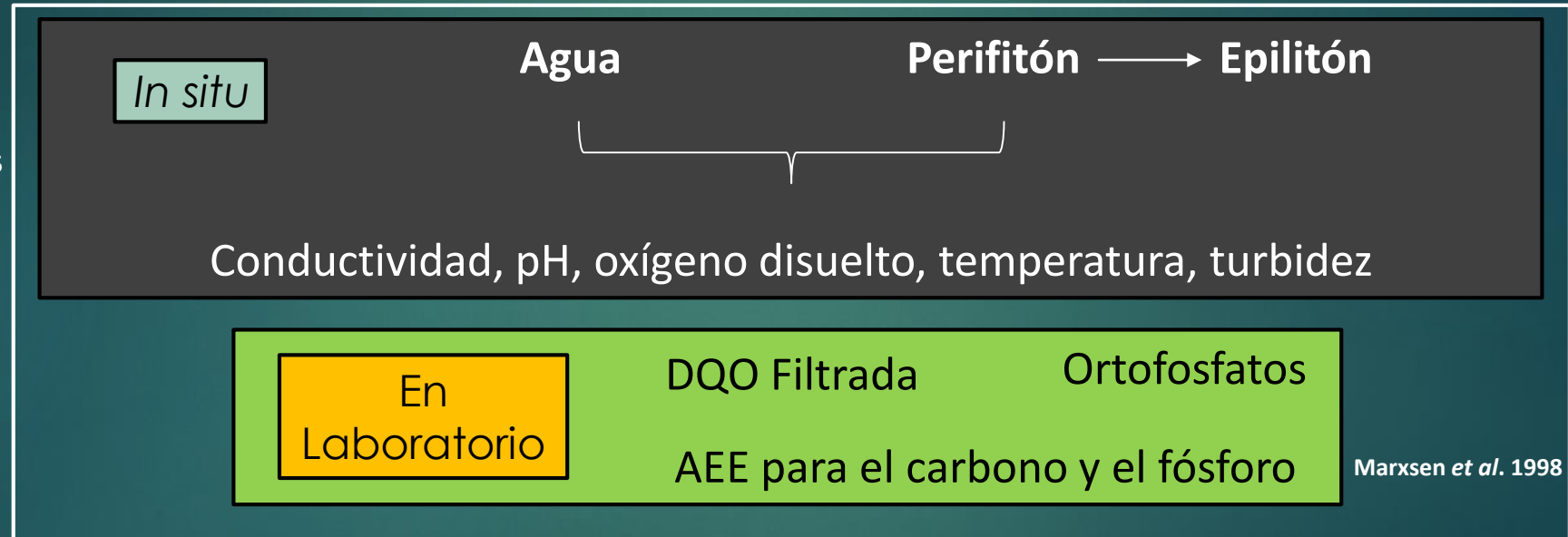


PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Existe actividad enzimática extracelular (AEE) en el perifiton (episammon y epilíton) y el cuerpo de agua, asociada a la concentración de carbono orgánico disuelto y fósforo en las estaciones del río Chinchiná en tres periodos climáticos?

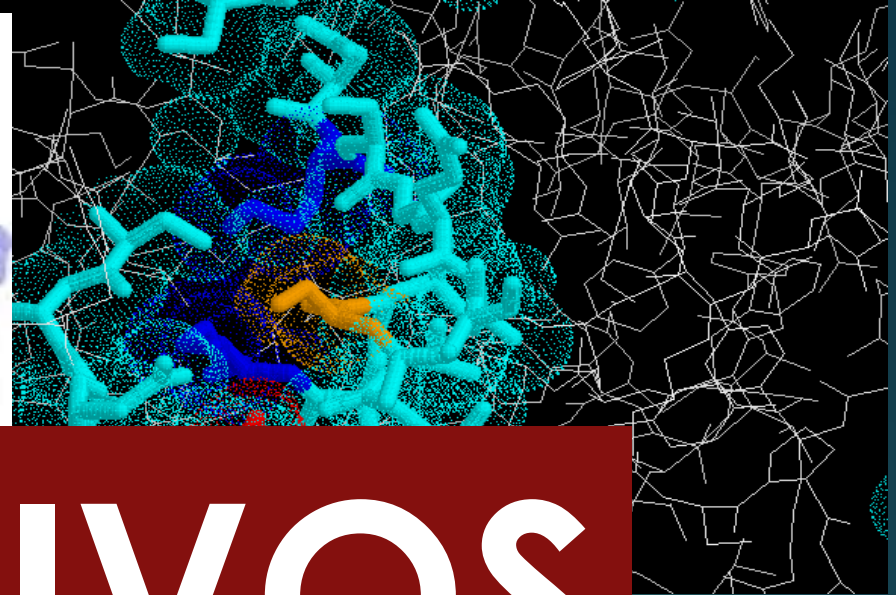
¿El pH y la temperatura se relacionan con la AEE en términos de activación o inhibición?

APHA *et al.*, 2005

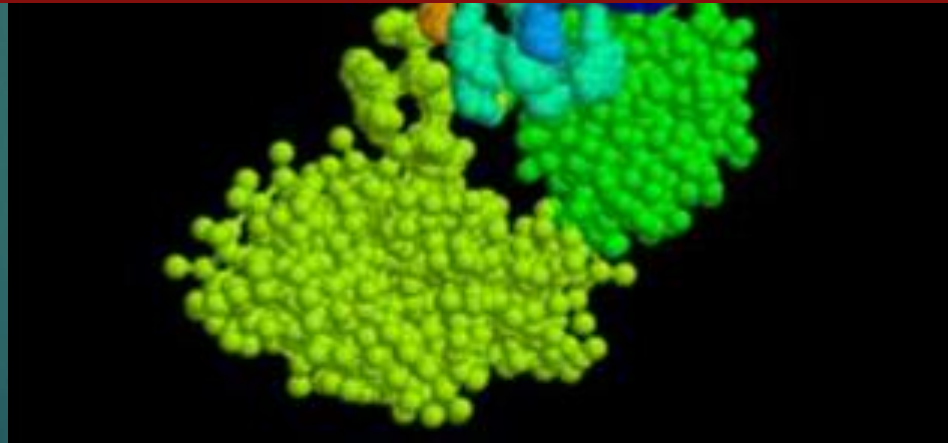


5 estaciones; 3 épocas

- Transición
- Seco
- Lluvias



OBJETIVOS



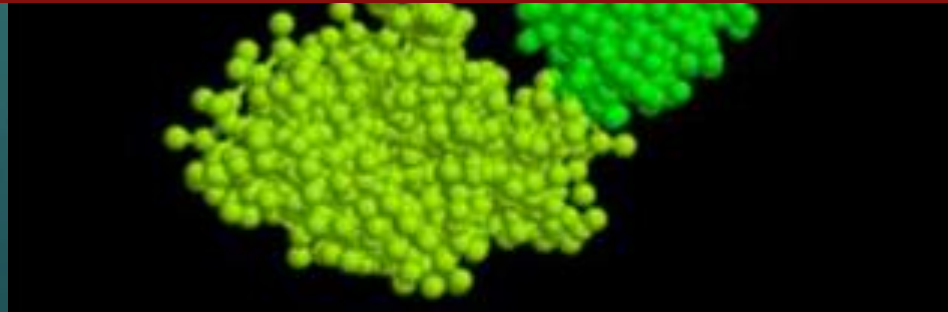
OBJETIVO GENERAL

Relacionar la actividad enzimática extracelular en el agua y en el perifiton en las cinco estaciones y en tres épocas climáticas en el río Chinchiná con sus niveles de contaminación por carbono orgánico disuelto y fósforo.

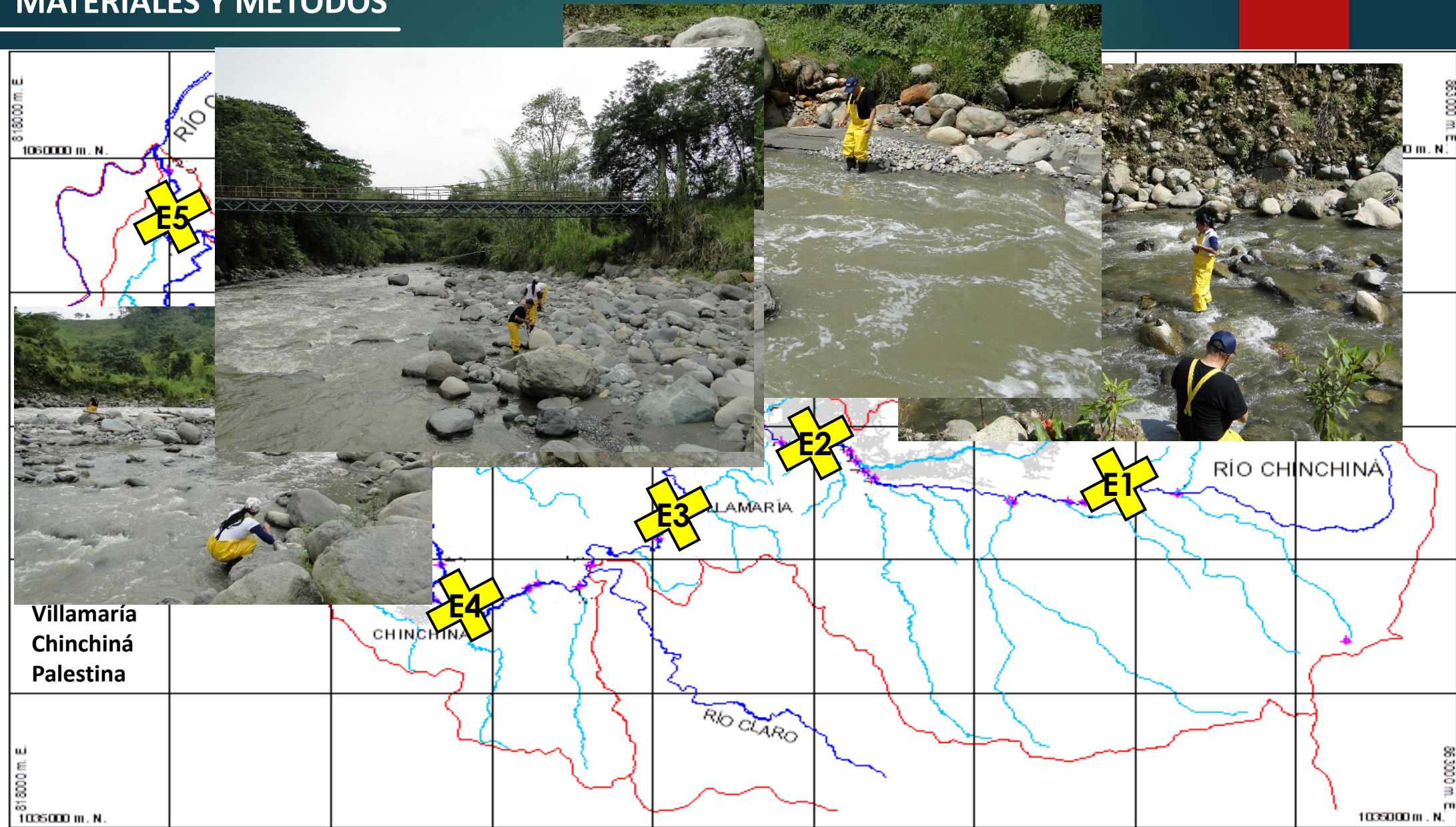
Determinar si existen diferencias significativas **entre los periodos de muestreo** para los parámetros pH, temperatura del agua DQO soluble-filtrada y ortofosfatos, y AEE para COD y fósforo en perifiton y muestras de agua en las cinco estaciones del río Chinchiná.



MATERIALES Y MÉTODOS



MATERIALES Y MÉTODOS





NANOCOLOR Orto Fosfato y
Fosfato total
(Ref. 985 080; test 0.80)





Reflujo Cerrado
(Método 5220 C. Método titulométrico)



Perifiton



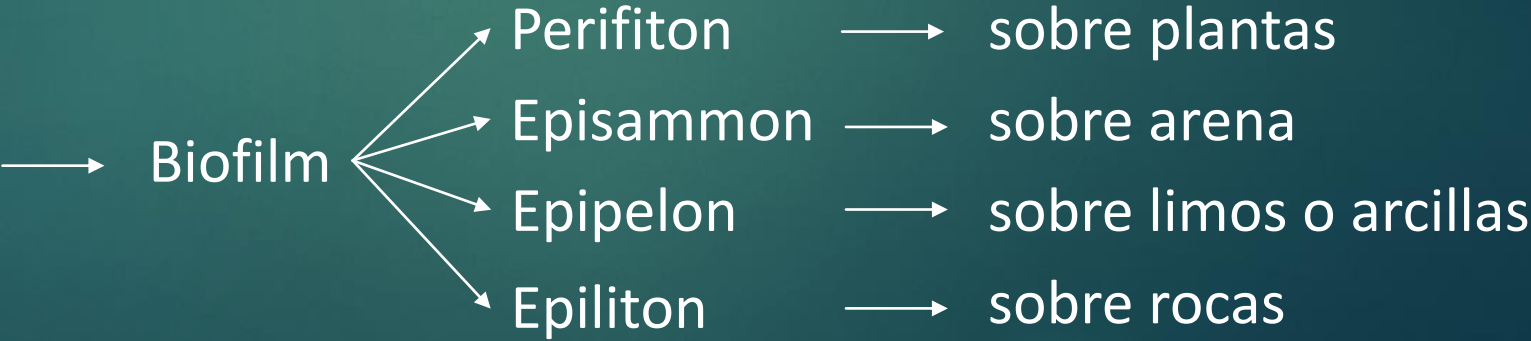
Conjunto de
algas y protozoos

vegetal
bacterias, hongos,
materia orgánica y polisacárida

Clasificación

dependiente de lo que está sobre

Sistemas
acuáticos



Principio analítico

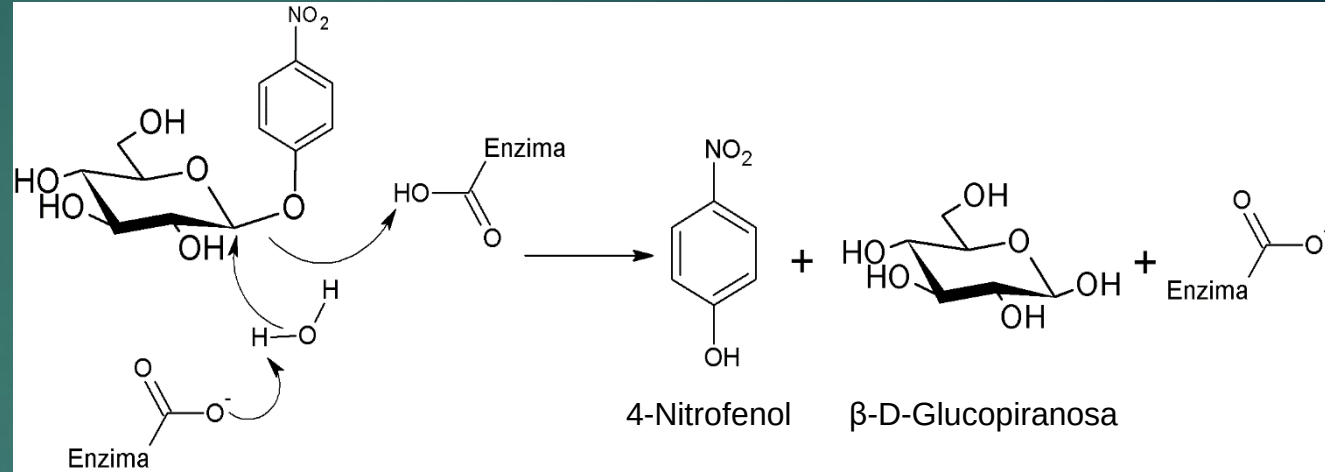
(Tomado y modificado de Marxsen *et al.* 1998)

Muestra problema

β -glucosidasa

4-Nitrofenil- β -D-Glucopiranososa

4-Nitrofenol detectado a 405 nm

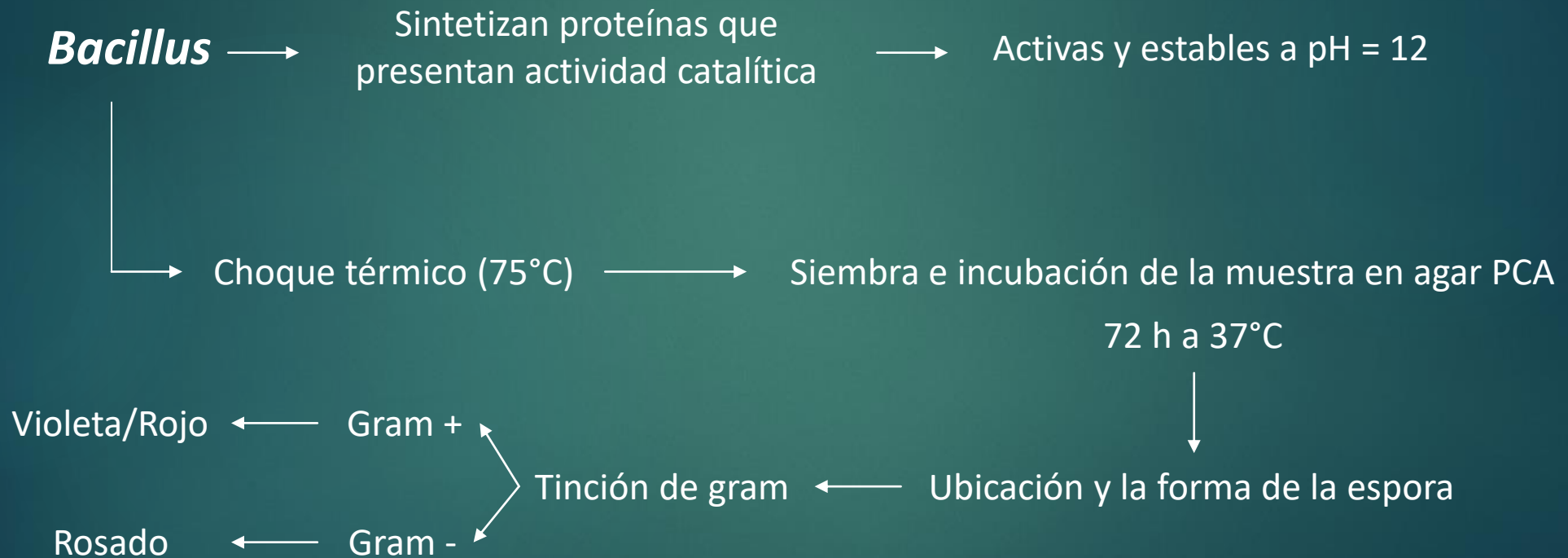


Sustratos

4-Nitrofenilfosfato ($C_6H_4NNa_2O_6P_6H_2O$). Conc. > 98%.
M=371,12. Cantidad = 2,5 g. Laboratorio: Carl Roth GmbH

4-Nitrofenil- β -D-Glucopiranososa ($C_{12}H_{15}NO_8$). Conc. > 99%.
M=301,26. Cantidad = 1 g. Laboratorio: Carl Roth GmbH

Identificación bacteriana en las muestras obtenidas del río Chinchiná



Notación y metodología propuesta por Madigan *et al.* (2003)

MATERIALES Y MÉTODOS

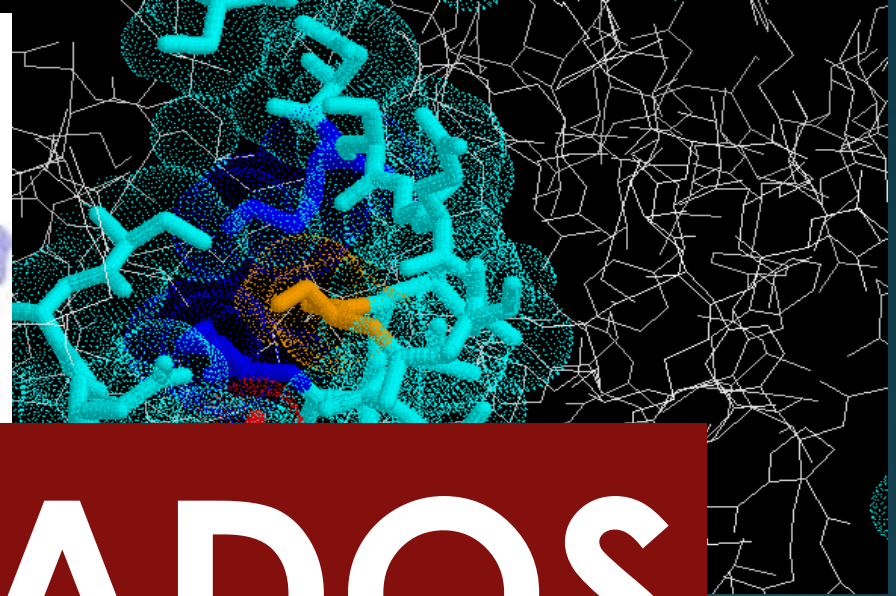
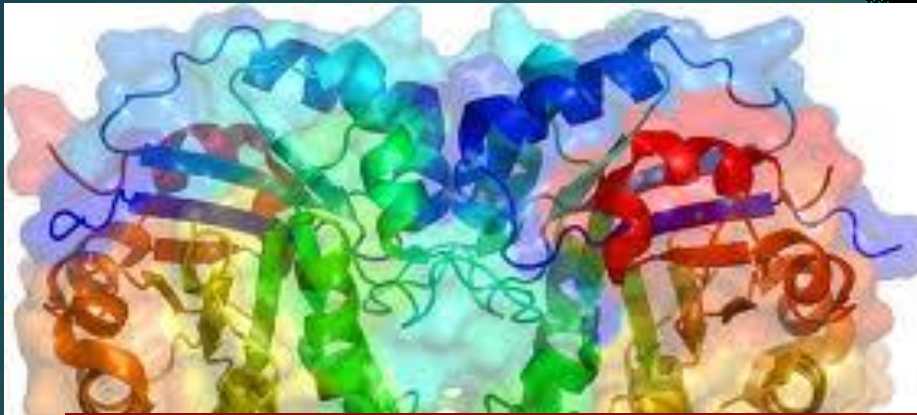




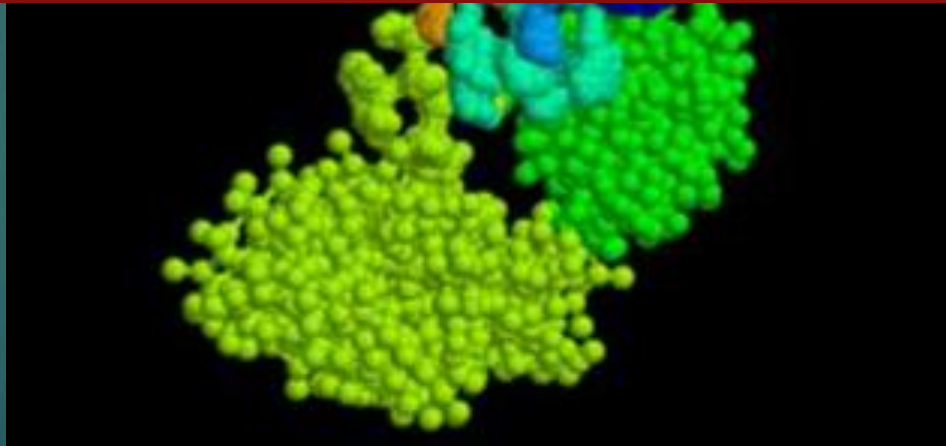
ESTACIÓN \ ÉPOCA	ÉPOCA		
	Seco	Lluvias	Transición
E1			
E2			
E3			
E4			
E5			



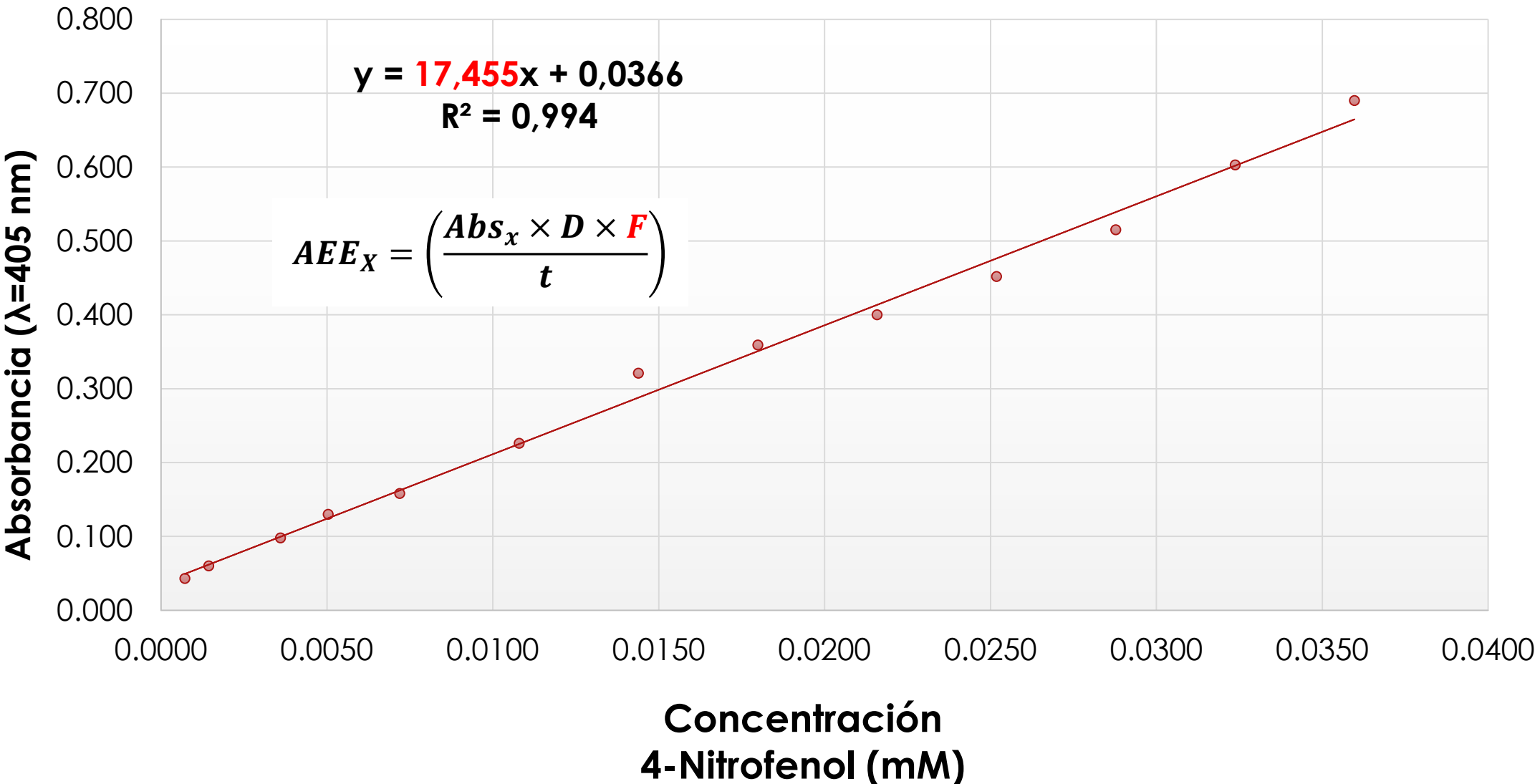
Análisis estadístico
ANOVA FACTORIAL
pos hoc Tukey
Kruskal-Wallis
Análisis de Componentes Principales
Normalidad: Shapiro-Wilk

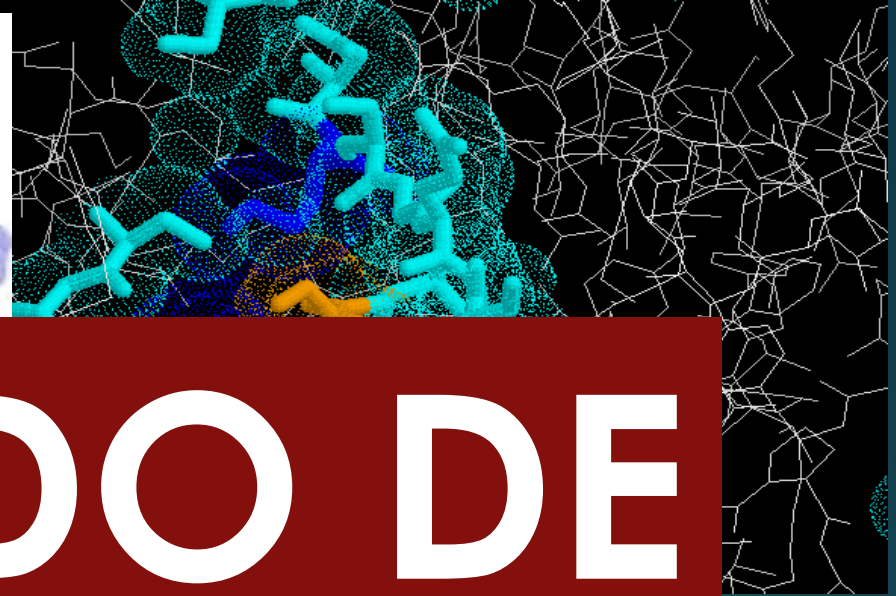
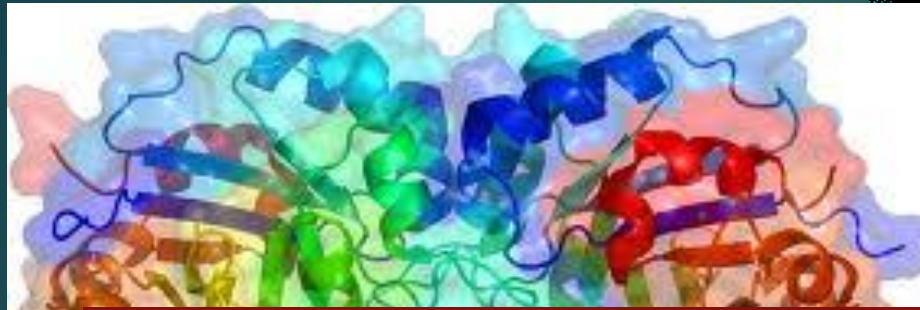


RESULTADOS



Curva de Calibración
Solución madre (4-Nitrofenol)





PERIODO DE TRANSICIÓN

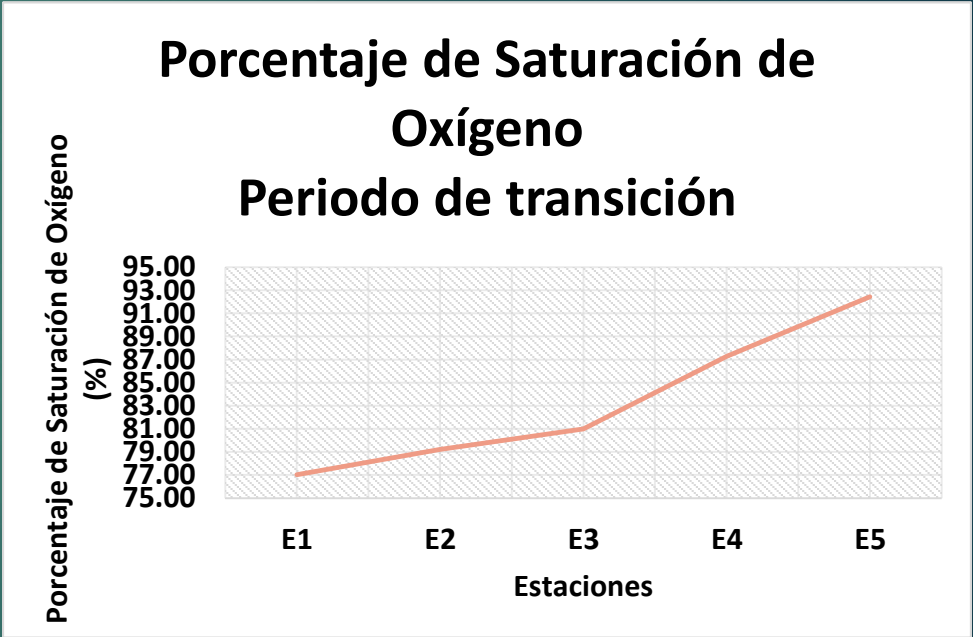


PERIODO DE TRANSICIÓN

(Abril 25/13)

Valores de los parámetros fisicoquímicos determinados *in situ* en las 5 estaciones del Río Chinchiná

Estación	pH	Conductividad Eléctrica (μS/m)	Turbidez (UNT)	% saturación
E1	7,66	141,00	5,91	77,03
E2	7,13	769,50	65,70	79,22
E3	7,93	802,00	51,55	80,98
E4	8,21	803,00	77,10	87,28
E5	8,15	628,00	24,51	92,43

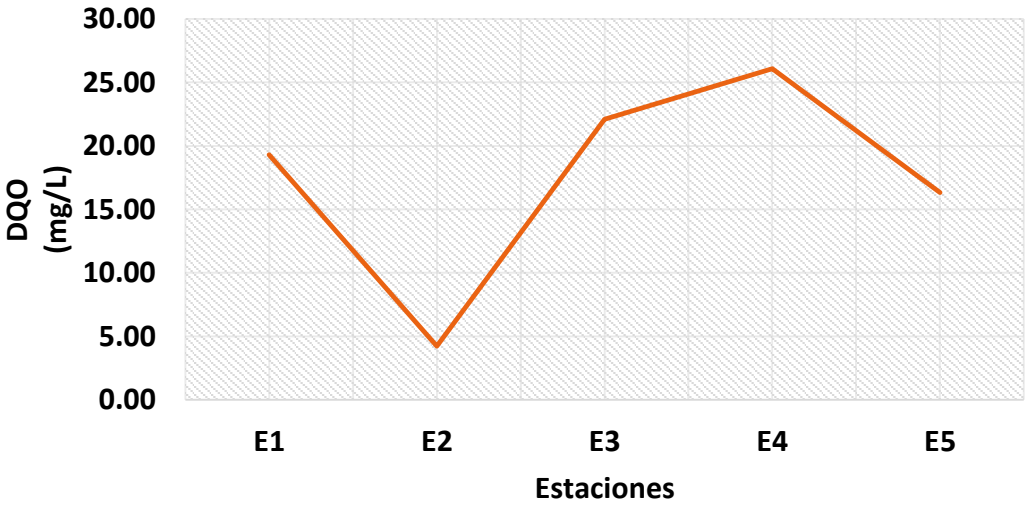


Determinación de la DQO para el agua en las 5 estaciones de muestreo ubicadas en el río Chinchiná. Transición



Estaciones	DQO (mg/L)
E1	19,29
E2	4,22
E3	22,09
E4	26,08
E5	16,32

Demanda Química de Oxígeno
Periodo de Transición



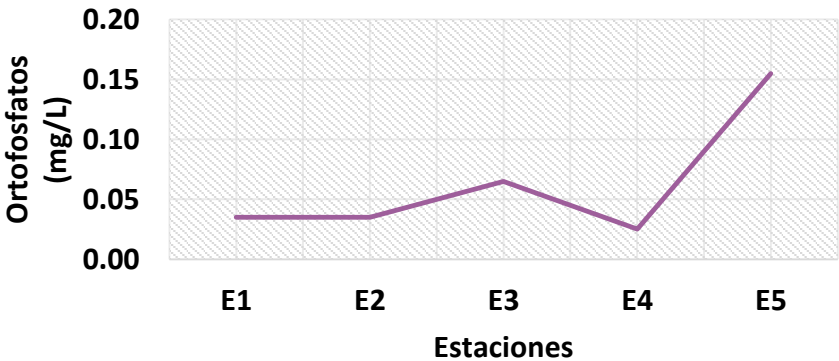
RESULTADOS

Concentración de ortofosfatos en el agua de las 5 estaciones de muestreo ubicadas en el río Chinchiná.

Estación	Ortofosfatos (mg/L)
E1	0,04
E2	0,04
E3	0,07
E4	0,03
E5	0,16

Tipos de ecosistemas	PO ₄ ³⁻ (mg/L)
Ríos	
Amazonas	0,001
Tributarios del amazonas	0,02
Medellín	2,0
Magdalena	0,55
Cauca	0,07
San Jorge	0,23
Sinú	0,8
Arroyos de la Región Andina	0,001

Ortofosfatos
Periodo de Transición



Tomado y modificado de
Roldán & Ramírez (2008)

Estación 5 presenta mayor concentración de ortofosfatos, debido a los aportes del río Guacaica, responsable del 81% de los ortofosfatos presentes en el río Chinchiná.

RESULTADOS

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EXTRACELULAR
(Transición)



		PERIODO DE TRANSICIÓN (25/04/2013)	
ESTACIÓN	MUESTRA	AEE Fosfatasa (AEE/10 ⁻³) (mM/g/h)	AEE Glucosidasa (AEE/10 ⁻³) (mM/g/h)
1	Agua	0,0000	0,0000
		0,0000	0,0000
2	Agua	0,9327	0,0000
		0,0000	0,0000
3	Agua	65,9685	0,0000
		49,9616	0,4285
4	Agua	52,9445	0,0000
		51,9362	0,0000
5	Agua	14,2928	0,0000
		12,5282	66,7247

		PERIODO DE TRANSICIÓN (25/04/2013)	
ESTACIÓN	MUESTRA	AEE Fosfatasa (AEE/10 ⁻³) (mM/g/h)	AEE Glucosidasa (AEE/10 ⁻³) (mM/g/h)
1	Perifiton	59,5405	0,0000
		0,0000	0,0000
2	Perifiton	46,1805	55,6333
		51,9782	34,2068
3	Perifiton	53,9528	0,0000
		44,6120	0,0000
4	Perifiton	6,2263	0,0000
		14,7969	0,0000
5	Perifiton	0,0000	0,0000
		0,0000	52,3563

COMPARACIÓN ENTRE ESTACIONES DE MUESTREO

AEE FOSFATASA Y GLUCOSIDASA EN AGUA vs PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS

PARÁMETRO	p-Valor	
	Enzima	
	Glucosidasa	Fosfatasa
pH	0,4642	0,0000
Temperatura	0,0000	0,0000
Ortofosfatos	N/A	0,0010
DQO	0,0592	N/A

Dado que el *p*-valor en la tabla ANOVA es superior a 0.05, no existe relación estadísticamente significativa entre el pH y la DQO en la catálisis realizada por la glucosidasa, para un nivel de confianza del 95%.

AEE FOSFATASA Y GLUCOSIDASA EN PERIFITON vs PARÁMETROS FISCOQUÍMICOS

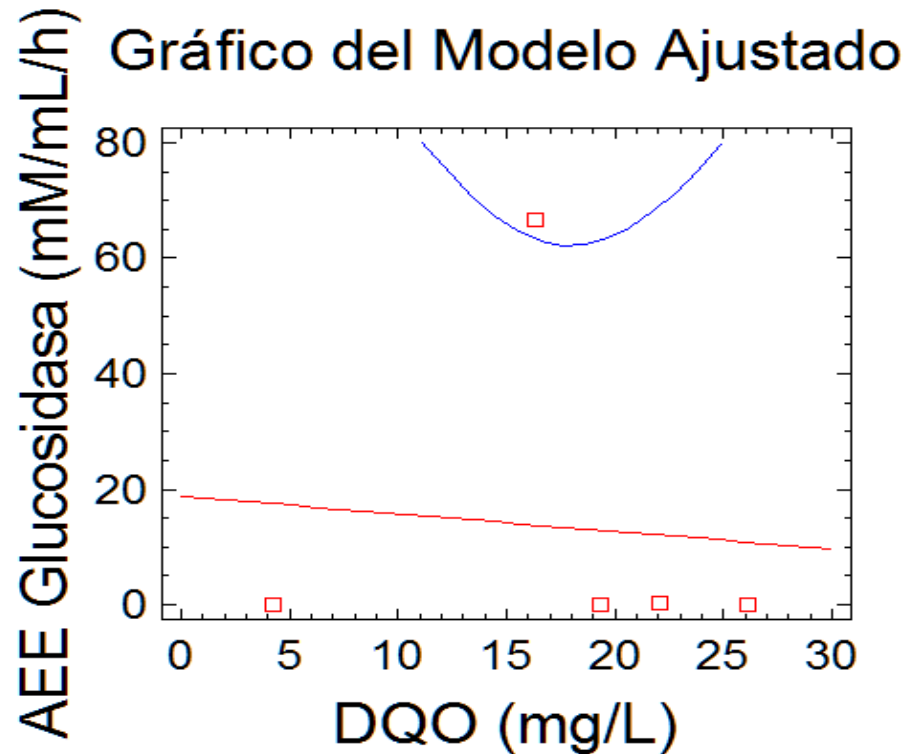
PARÁMETRO	p-Valor	
	Enzima	
	Glucosidasa	Fosfatasa
pH	0,0913	0,0895
Temperatura	0,0000	0,0000
Ortofosfatos	N/A	0,1644
DQO	SA	N/A

Dado que el *p*-valor en la tabla ANOVA es menor 0.05, existe relación estadísticamente significativa en la temperatura para la catálisis realizada por las dos enzimas para un nivel de confianza del 95% o superior.

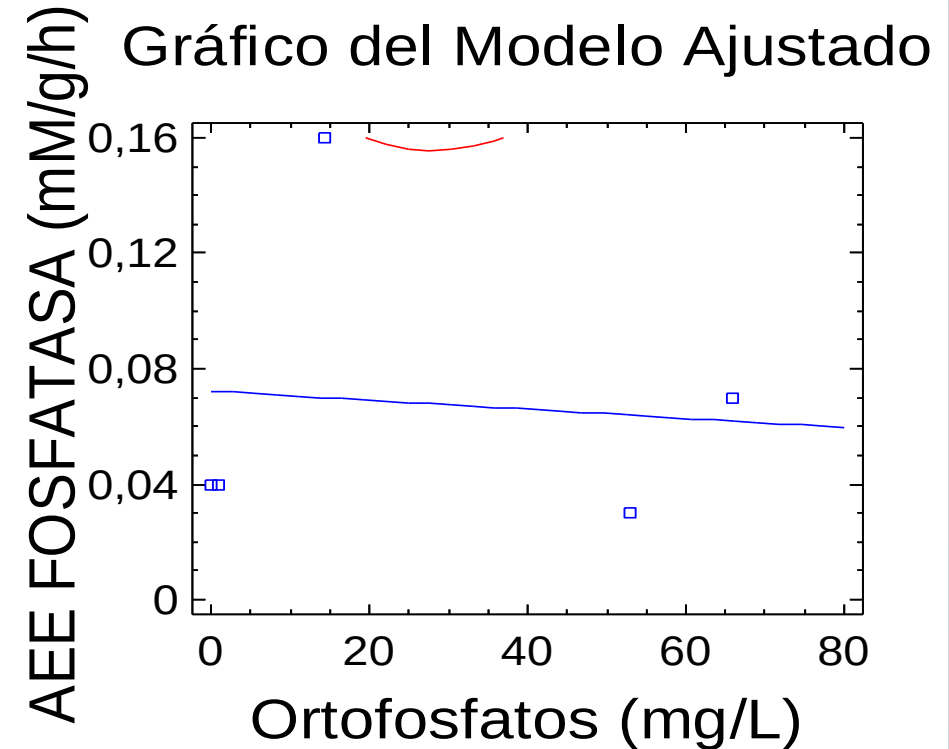
Prueba *pos hoc* de Tukey para la AEE de la fosfatasa y la concentración de ortofosfatos en agua entre estaciones de muestreo.

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey				
Estación	Recuento	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	2	1,2174	4,27013	XX
2	2	1,68375	4,27013	XX
5	2	9,41047	7,23288	X
4	2	54,0925	4,60031	X
3	2	57,8781	3,84353	X

RESULTADOS

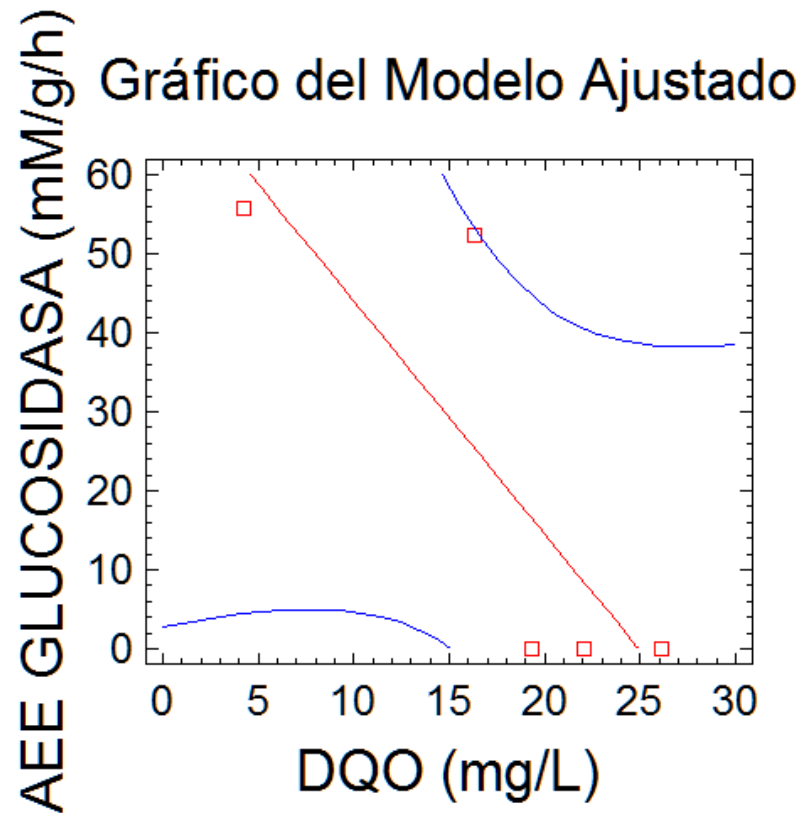


Relación de la AEE de la glucosidasa y la DQO en muestras de agua

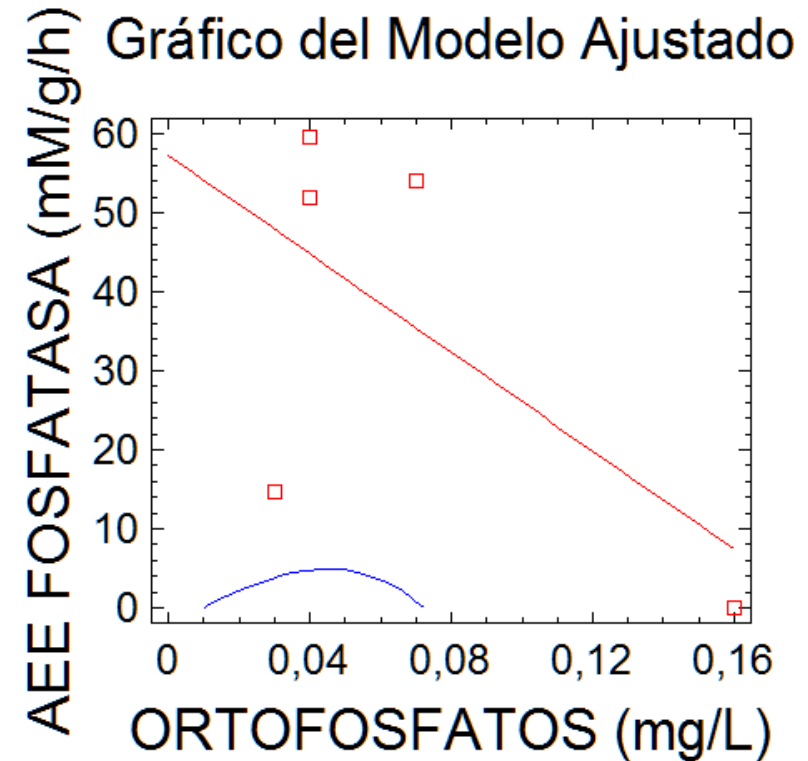


Relación de la AEE de la fosfatasa y la concentración de ortofosfatos en muestras de agua

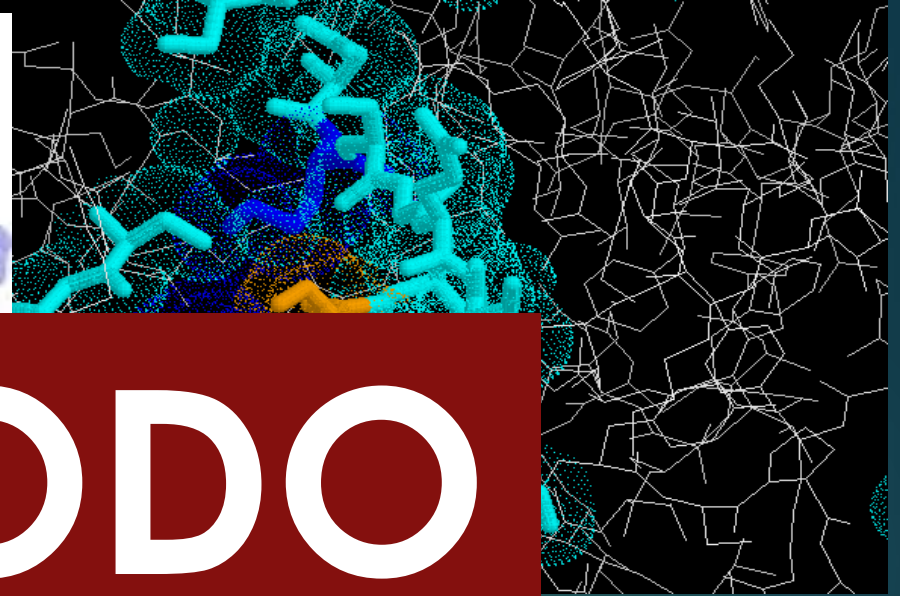
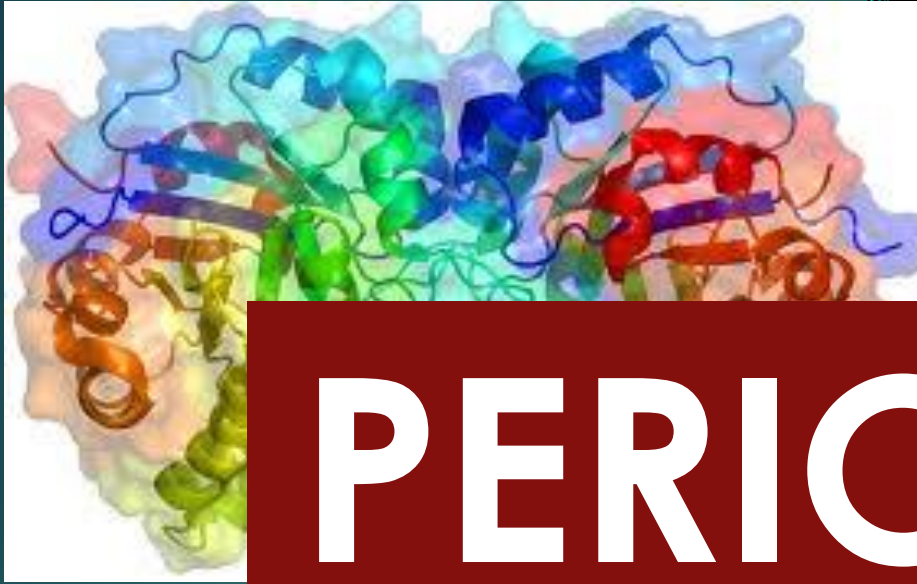
RESULTADOS



Relación de la AEE de la glucosidasa y la DQO en muestras de perifiton



Relación de la AEE de la fosfatasa y la concentración de ortofosfatos en muestras de perifiton



PERIODO SECO

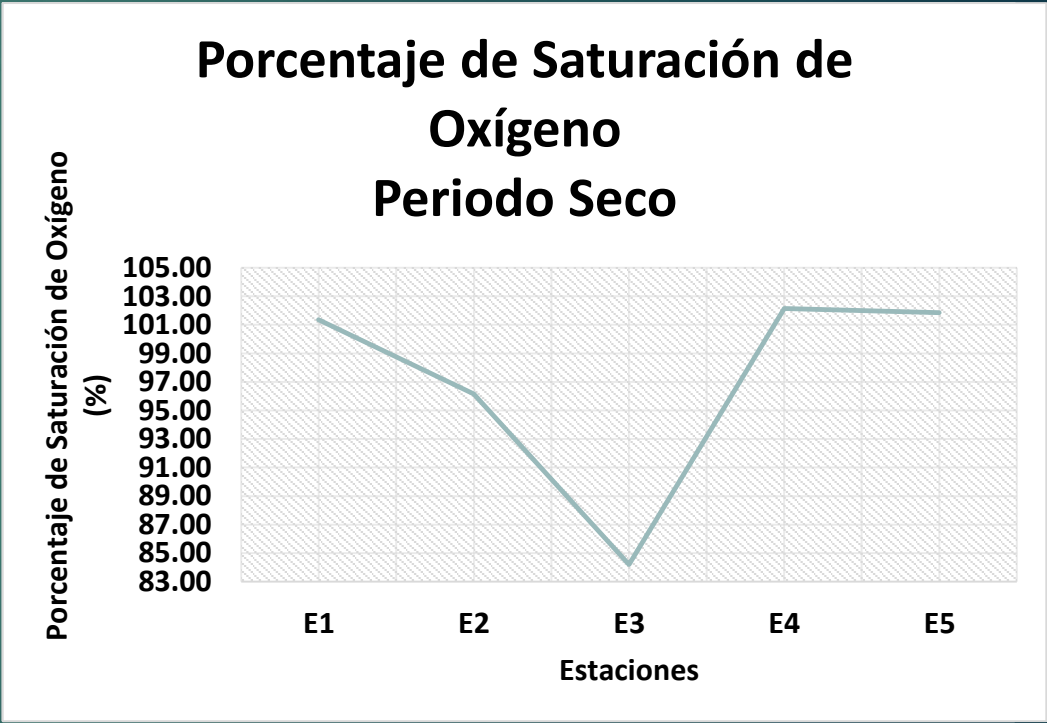


PERIODO SECO

(Julio 31/13)

Valores de los parámetros fisicoquímicos determinados *in situ* en las 5 estaciones del Río Chinchiná

Estación	pH	Conductividad Eléctrica (μS/m)	Turbidez (UNT)	% Saturación Oxígeno
E1	7,27	160,00	6,87	101,35
E2	6,78	350,50	58,07	96,15
E3	7,90	1.152,00	59,54	84,20
E4	8,10	1.033,00	84,55	102,15
E5	8,45	639,50	37,76	101,85

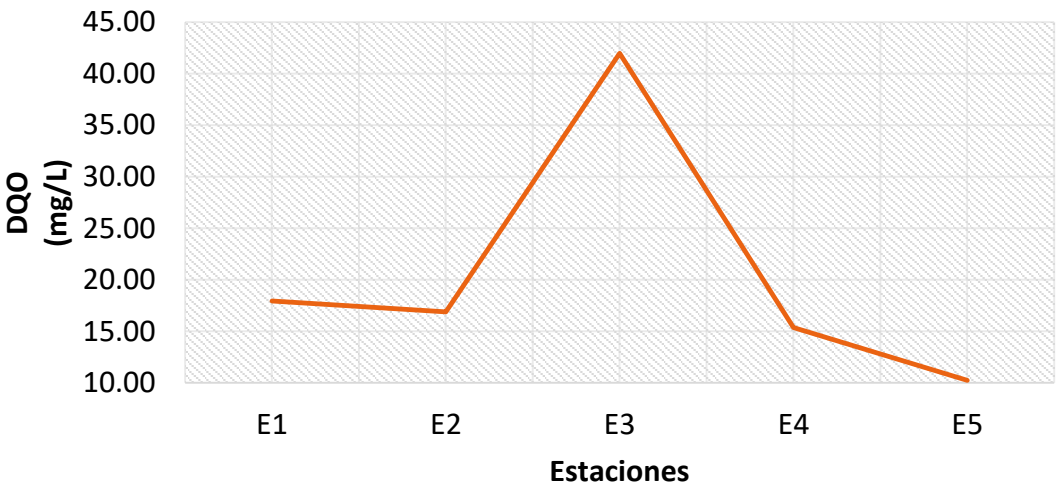


Determinación de la DQO para el agua en las 5 estaciones de muestreo ubicadas en el río Chinchiná. Seco



Estaciones	DQO (mg/L)
E1	17,92
E2	16,89
E3	41,98
E4	15,36
E5	10,24

Demanda Química de Oxígeno
Periodo Seco

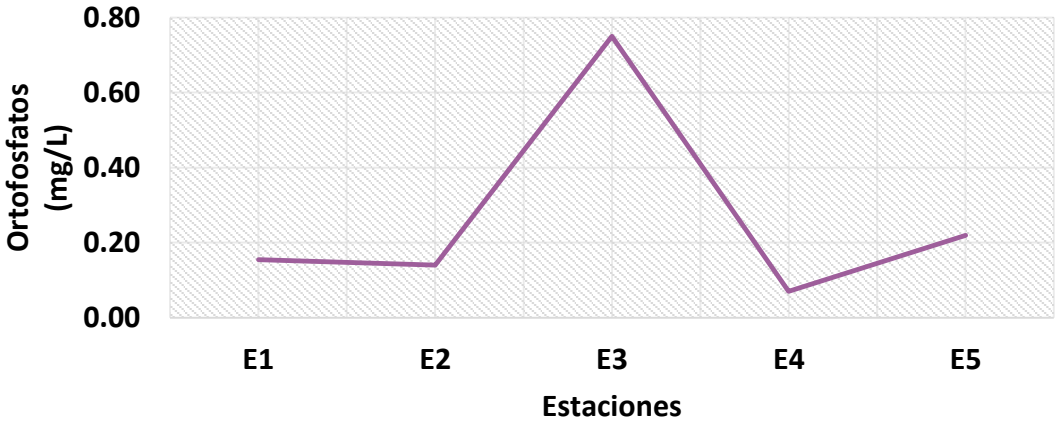


Concentración de ortofosfatos en el agua de las 5 estaciones de muestreo ubicadas en el río Chinchiná. Seco.

Estación	Ortofosfatos (mg/L)
E1	0,16
E2	0,14
E3	0,75
E4	0,07
E5	0,22

Tipos de ecosistemas	PO ₄ ³⁻ (mg/L)
Ríos	
Amazonas	0,001
Tributarios del amazonas	0,02
Medellín	2,0
Magdalena	0,55
Cauca	0,07
San Jorge	0,23
Sinú	0,8
Arroyos de la Región Andina	0,001

Ortofosfatos
Periodo Seco



Tomado y modificado de
Roldán & Ramírez (2008)

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EXTRACELULAR
(Seco)



		PERIODO SECO (31/07/2013)	
ESTACIÓN	MUESTRA	AEE Fosfatasa (AEE/10 ⁻³) (mM/g/h)	AEE Glucosidasa (AEE/10 ⁻³) (mM/g/h)
1	Agua	0,0000	0,0000
		0,0000	0,0000
2	Agua	15,1750	14,4188
		42,1472	0,0000
3	Agua	64,7081	5,3440
		59,2885	3,5795
4	Agua	0,0000	0,0000
		0,0000	0,0000
5	Agua	0,0000	0,0000
		0,0000	0,0000

		PERIODO SECO (31/07/2013)	
ESTACIÓN	MUESTRA	AEE Fosfatasa (AEE/10 ⁻³) (mM/g/h)	AEE Glucosidasa (AEE/10 ⁻³) (mM/g/h)
1	Perifiton	431,7319	0,0000
		0,0000	5,2180
2	Perifiton	225,1550	33,7027
		229,9444	141,3394
3	Perifiton	176,6302	150,1621
		191,3767	165,9169
4	Perifiton	0,0000	252,8834
		261,8321	272,9235
5	Perifiton	224,7769	227,4237
		211,7949	224,0206

COMPARACIÓN ENTRE ESTACIONES DE MUESTREO

AEE FOSFATASA Y GLUCOSIDASA EN AGUA vs PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS

PARÁMETRO	p-Valor	
	Enzima	
	Glucosidasa	Fosfatasa
pH	0,3140	0,0001
Temperatura	0,0000	0,0000
Ortofosfatos	N/A	0,0010
DQO	SA	N/A

Dado que el *p*-valor en la tabla ANOVA es menor 0.05, existe relación estadísticamente significativa en el pH, temperatura y concentración de ortofosfatos para la catálisis realizada por la fosfatasa para un nivel de confianza del 95% o superior.

AEE FOSFATASA Y GLUCOSIDASA EN PERIFITON vs PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS

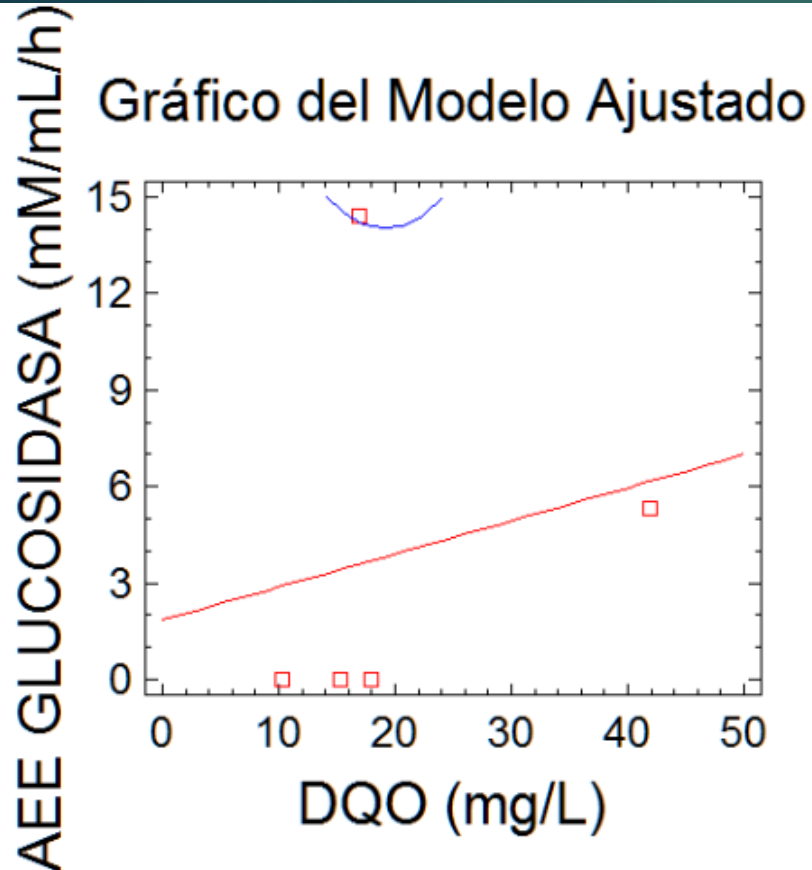
PARÁMETRO	<i>p</i> -Valor	
	Enzima	
	Glucosidasa	Fosfatasa
pH	0,0002	0,9702
Temperatura	0,0000	0,0000
Ortofosfatos	N/A	0,7405
DQO	SA	N/A

Dado que el *p*-valor en la tabla ANOVA es superior 0.05, no existe relación estadísticamente significativa entre el pH y concentración de ortofosfatos para la catálisis realizada por la fosfatasa para un nivel de confianza del 95% o superior.

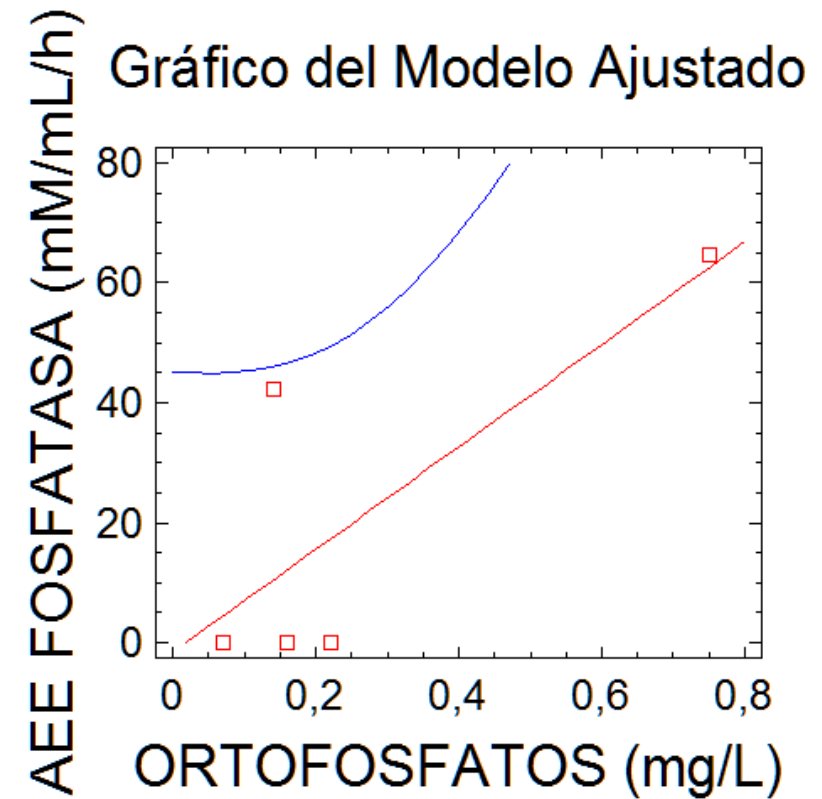
Prueba *pos hoc* de Tukey para la AEE de la fosfatasa y la concentración de ortofosfatos en agua entre estaciones de muestreo.

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey				
Estación	Recuento	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
4	2	-17,465	2,57488	X
1	2	-9,92933	1,95055	X
5	2	-4,16677	1,64101	X
2	2	17,402	2,04702	X
3	2	104,819	5,24884	X

RESULTADOS

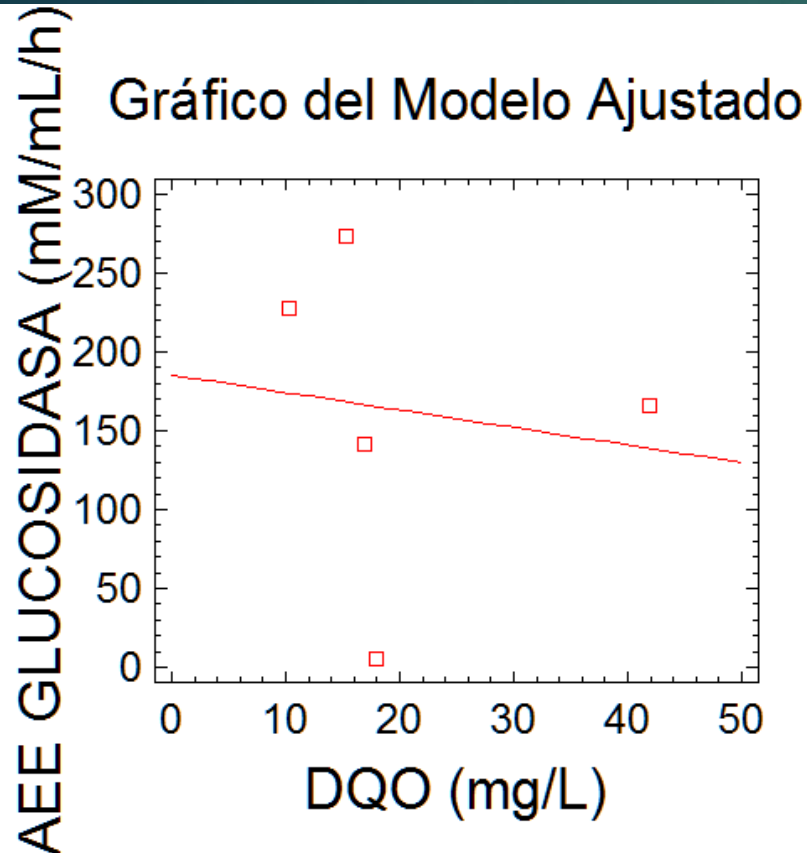


Relación de la AEE de la glucosidasa y la DQO en muestras de agua

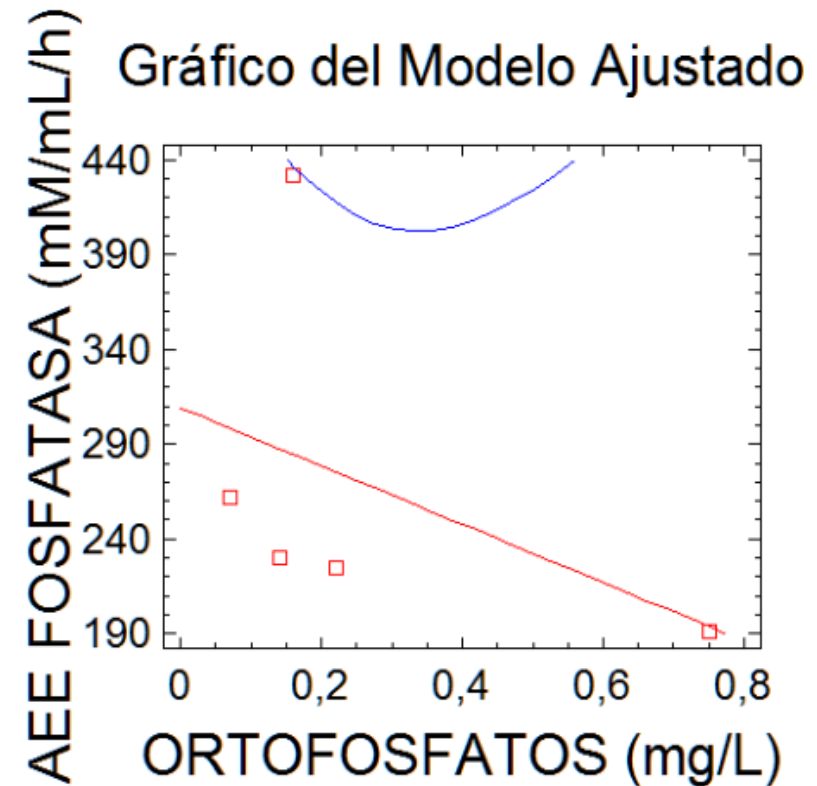


Relación de la AEE de la fosfatasa y la concentración de ortofosfatos en muestras de agua

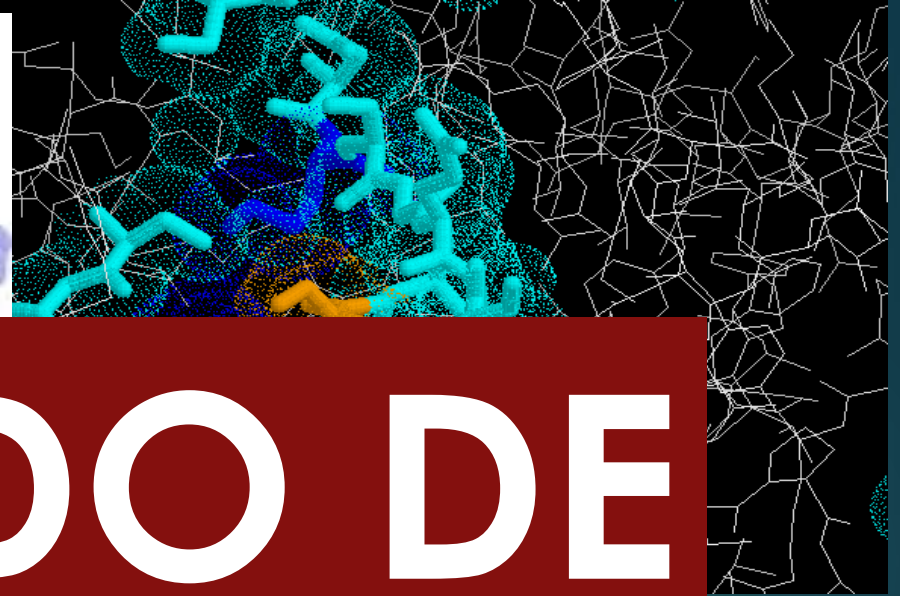
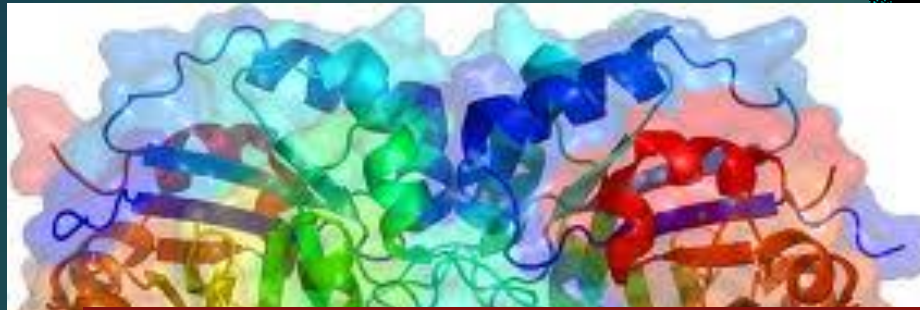
RESULTADOS



Relación de la AEE de la glucosidasa y la DQO en muestras de perifiton



Relación de la AEE de la fosfatasa y la concentración de ortofosfatos en muestras de perifiton



PERIODO DE LLUVIAS

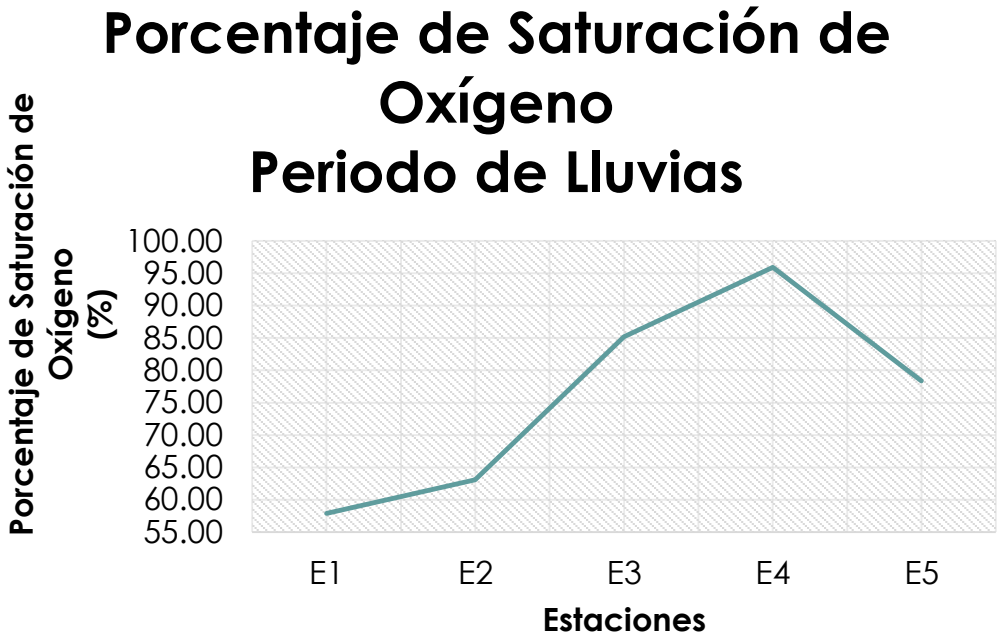


PERIODO DE LLUVIAS

(Diciembre 18/2013)

Valores de los parámetros fisicoquímicos determinados *in situ* en las 5 estaciones del río Chinchiná

Estación	pH	Conductividad Eléctrica (μS/m)	Turbidez (UNT)	% Saturación de Oxígeno
E1	7,58	65,30	47,21	57,90
E2	6,99	623,00	35,70	63,10
E3	7,67	882,50	58,12	85,20
E4	7,91	861,50	38,54	95,90
E5	7,58	691,50	202,19	78,35



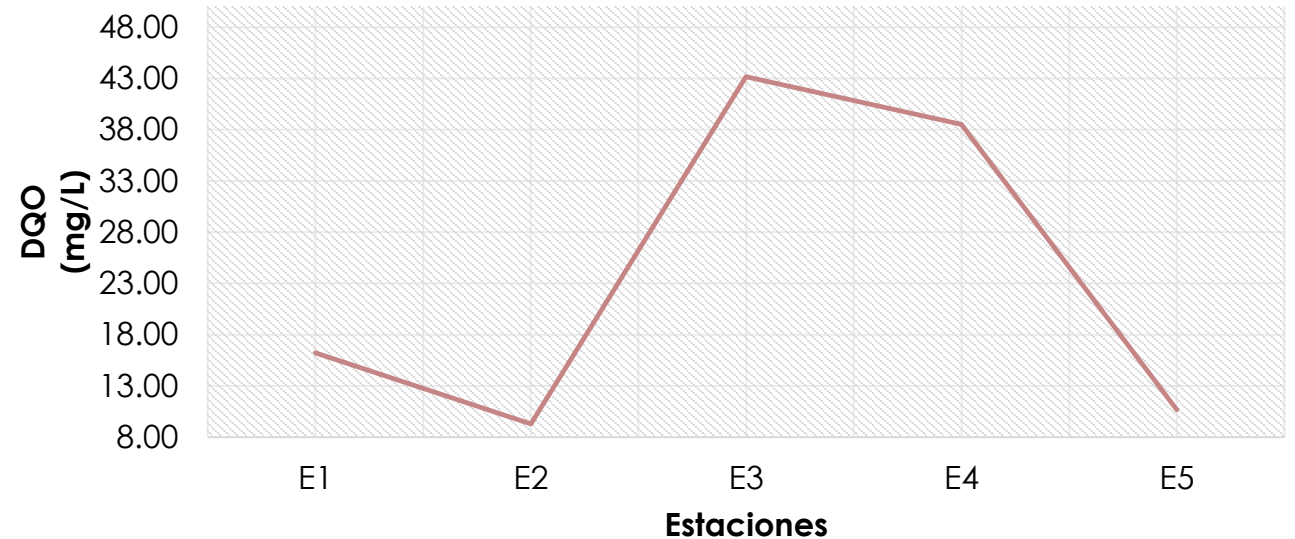
RESULTADOS

Determinación de la DQO para el agua en las 5 estaciones de muestreo ubicadas en el río Chinchiná. Lluvias.



Estación	DQO (mg/L)
E1	16,24
E2	9,28
E3	43,15
E4	38,51
E5	10,67

Demanda Química de Oxígeno Periodo de Lluvias

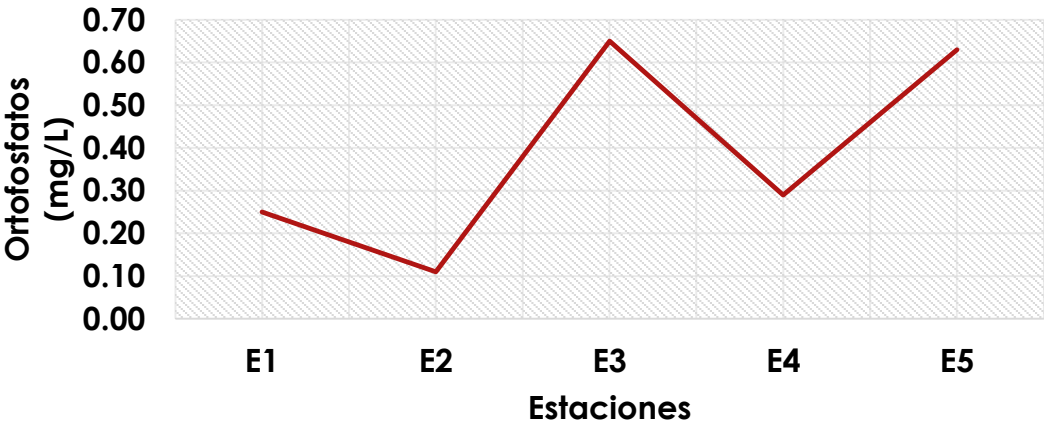


Concentración de ortofosfatos en el agua de las 5 estaciones de muestreo ubicadas en el río Chinchiná. Lluvias.

Estación	Ortofosfatos (mg/L)
E1	0,25
E2	0,11
E3	0,65
E4	0,29
E5	0,63

Tipos de ecosistemas	PO ₄ ³⁻ (mg/L)
Ríos	
Amazonas	0,001
Tributarios del amazonas	0,02
Medellín	2,0
Magdalena	0,55
Cauca	0,07
San Jorge	0,23
Sinú	0,8
Arroyos de la Región Andina	0,001

Ortofosfatos
Periodo de Lluvias



Tomado y modificado de
Roldán & Ramírez (2008)

Valores *p* indicativos de la interacción entre los parámetros fisicoquímicos y la actividad catalítica de la glucosidasa y la fosfatasa en muestras de agua.

PARÁMETRO	<i>p</i> -Valor	
	Enzima	
	Glucosidasa	Fosfatasa
pH	0,0000	0,4569
Temperatura	0,0000	0,0000
Ortofosfatos	N/A	0,6494
DQO	SA	N/A

Diferencias significativas entre glucosidasa y la fosfatasa con la temperatura

COMPARACIÓN ENTRE ESTACIONES DE MUESTREO

Valores *p* indicativos de la interacción entre los parámetros fisicoquímicos y la actividad catalítica de la glucosidasa y la fosfatasa en muestras de perifiton.

PARÁMETRO	<i>p</i> Valor	
	Enzima	
	Glucosidasa	Fosfatasa
pH	0,2094	0,3339
Temperatura	0,0000	0,0000
Ortofosfatos	N/A	0,4445
DQO	0,6261	N/A

Diferencias significativas entre glucosidasa y la fosfatasa con la temperatura

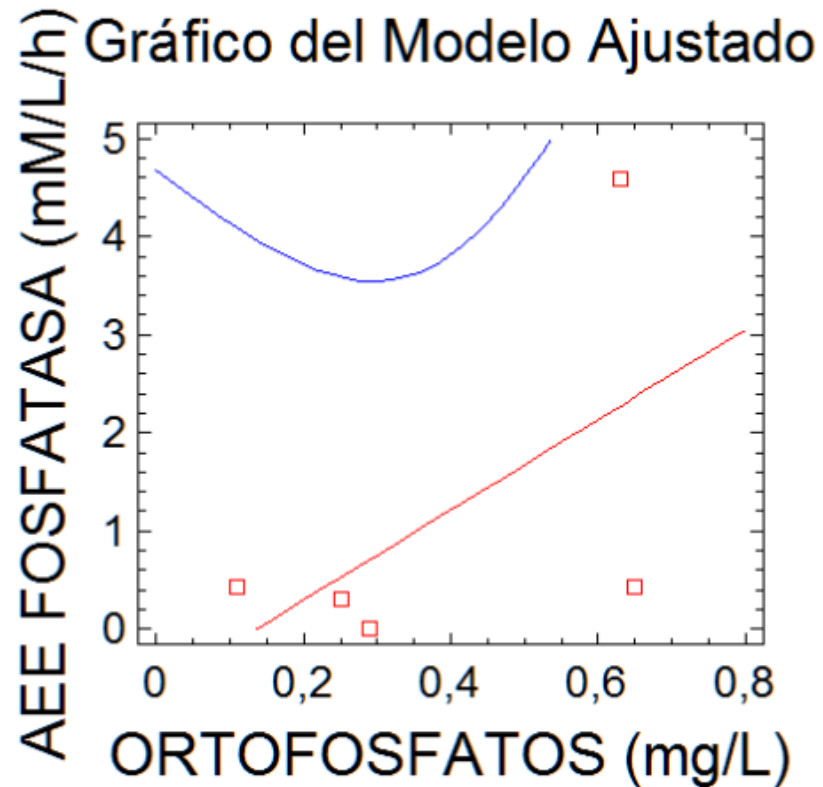
ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EXTRACELULAR
(Lluvias)



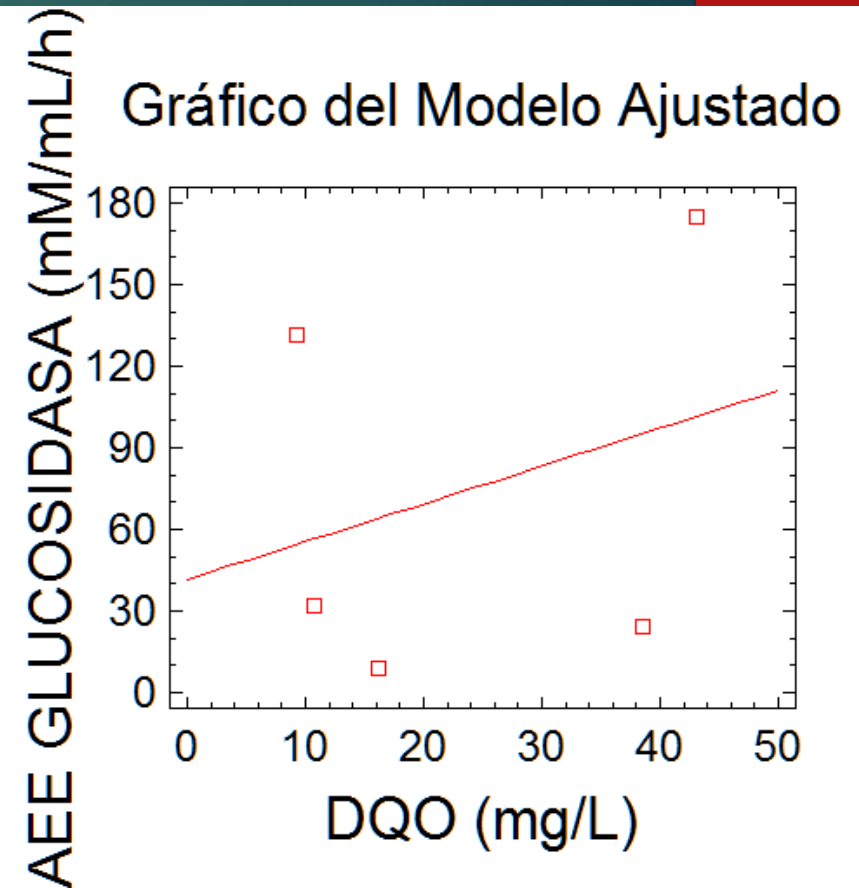
		PERIODO DE LLUVIAS (18/12/2013)	
ESTACIÓN	MUESTRA	AEE Fosfatasa (AEE/10 ⁻³) (mM/g/h)	AEE Glucosidasa (AEE/10 ⁻³) (mM/g/h)
1	Agua	0,0000	0,0000
		0,3025	0,0000
2	Agua	0,1765	0,0000
		0,4285	0,0000
3	Agua	0,0000	0,0000
		0,4285	0,0000
4	Agua	0,0000	0,0000
		0,0000	0,0000
5	Agua	0,0000	0,0000
		4,5878	0,0000

		PERIODO DE LLUVIAS (18/12/2013)	
ESTACIÓN	MUESTRA	AEE Fosfatasa (AEE/10 ⁻³) (mM/g/h)	AEE Glucosidasa (AEE/10 ⁻³) (mM/g/h)
1	Perifiton	16,9396	9,2512
		16,9396	3,9576
2	Perifiton	89,0335	131,3824
		327,3721	56,7677
3	Perifiton	294,3500	35,9714
		117,2661	174,8657
4	Perifiton	18,3260	24,5019
		196,1661	0,0000
5	Perifiton	40,5087	7,8648
		54,8771	31,6860

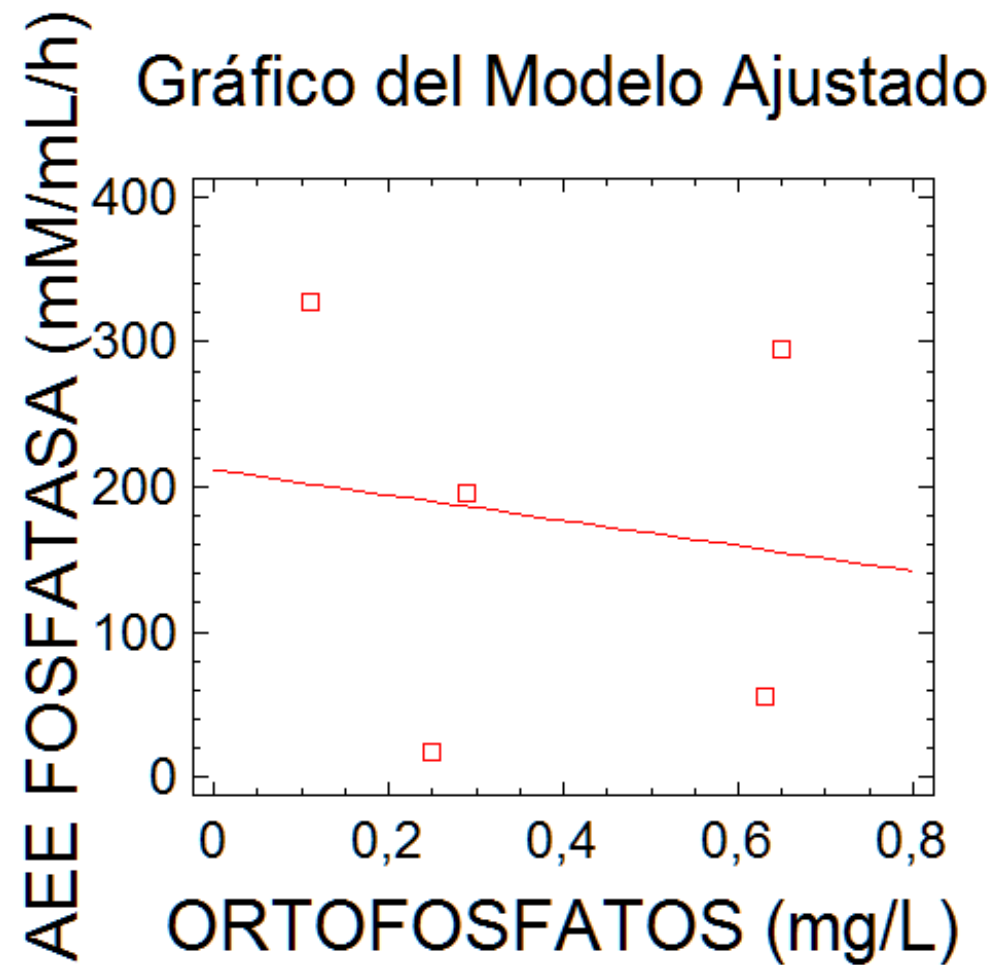
RESULTADOS



Relación de la AEE de la fosfatasa y la concentración de ortofosfatos en muestras de agua



Relación de la AEE de la glucosidasa y la DQO en muestras de perifiton

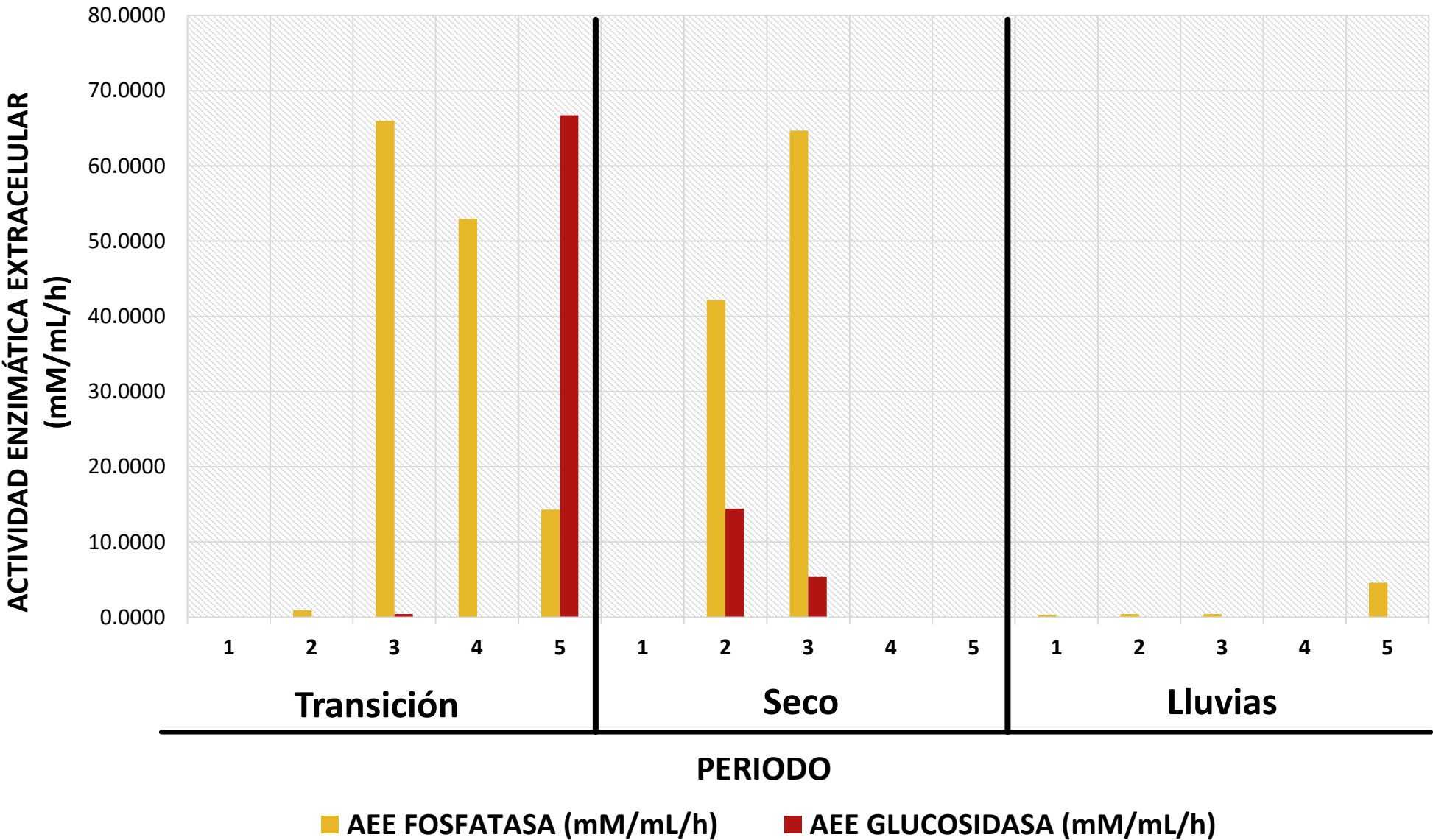


Relación de la AEE de la fosfatasa y la concentración de ortofosfatos en muestras de perifiton

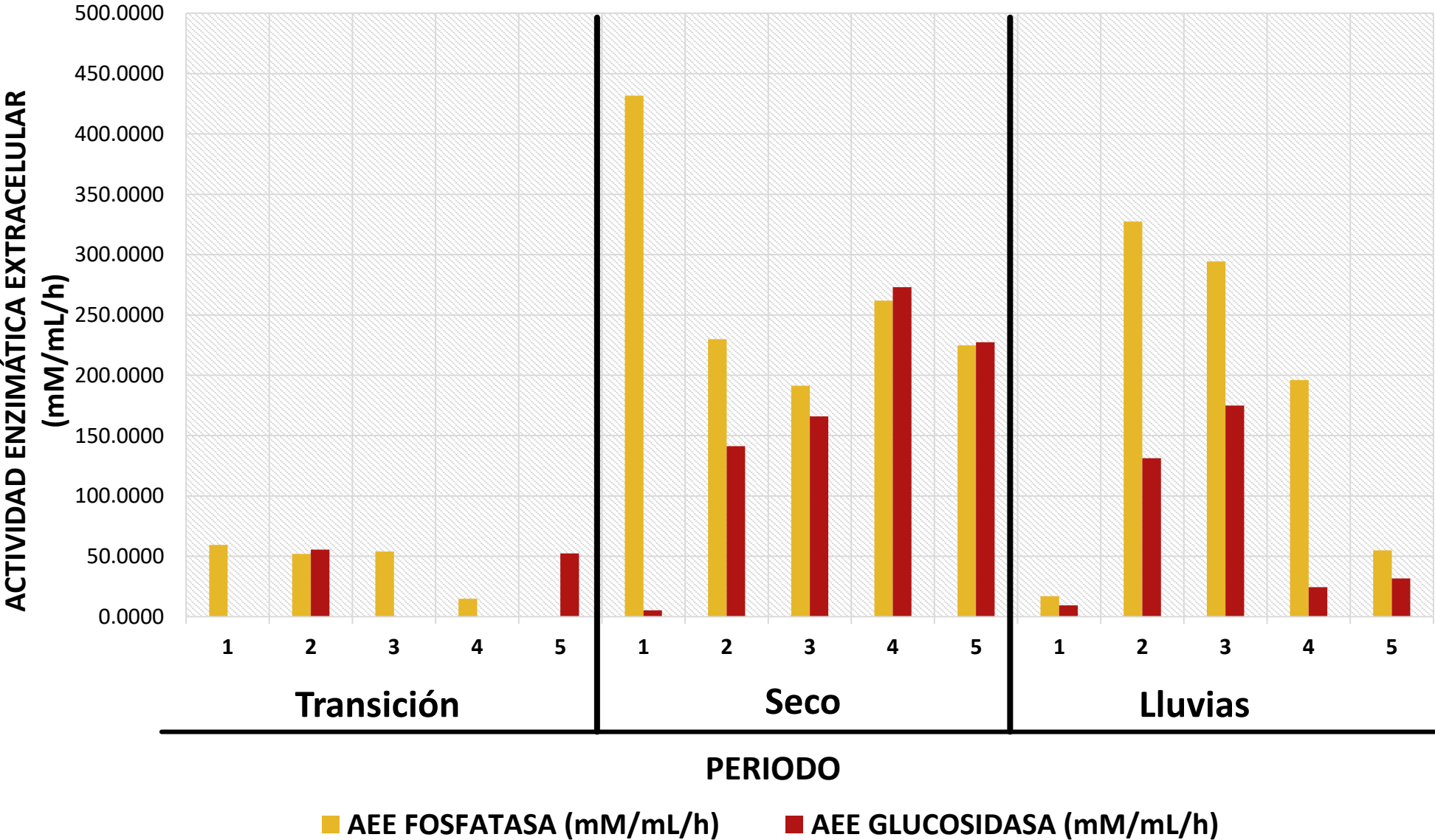
Comparación DQO y Ortofosfatos entre los periodos de Transición, Seco y Lluvias

PERIODO	TRANSICIÓN		SECO		LLUVIAS	
ESTACIÓN/ PARÁMETRO	Ortofosfatos (mg/L)	DQO (mg/L)	Ortofosfatos (mg/L)	DQO (mg/L)	Ortofosfatos (mg/L)	DQO (mg/L)
E1	0,04	19,29	0,16	17,92	0,25	16,24
E2	0,04	4,22	0,14	16,89	0,11	9,28
E3	0,07	22,09	0,75	41,98	0,65	43,15
E4	0,03	26,08	0,07	15,36	0,29	38,51
E5	0,16	16,32	0,22	10,24	0,63	10,67

COMPARACIÓN AEE AGUA



COMPARACIÓN AEE PERIFITON



RESULTADOS**COMPARACIÓN ENTRE PERIODOS DE
MUESTREO (PERIFITON)**

Prueba *pos hoc* de Tukey para la fosfatasa en perifiton entre periodos de muestreo.

Contraste	Diferencias	+/-	Límites
18/12/2013 - 25/04/2013	89,4492	110,56	
18/12/2013 - 31/07/2013	-78,1463	110,56	
25/04/2013 - 31/07/2013	*-167,595	110,56	
* indica una diferencia significativa.			

Prueba *pos hoc* de Tukey para la glucosidasa en perifiton entre periodos de muestreo.

Contraste	Diferencias	+/-	Límites
18/12/2013 - 25/04/2013	33,4052	77,2097	
18/12/2013 - 31/07/2013	*-99,7342	77,2097	
25/04/2013 - 31/07/2013	*-133,139	77,2097	
* indica una diferencia significativa.			

RESULTADOS

COMPARACIÓN ENTRE PERIODOS DE MUESTREO (AGUA)

Prueba *pos hoc* de Tukey para la fosfatasa en agua entre periodos de muestreo.

Contraste	Diferencias	+/-	Límites
18/12/2013 - 25/04/2013	-24,2641	24,3106	
18/12/2013 - 31/07/2013	-17,5395	24,3106	
25/04/2013 - 31/07/2013	6,72457	24,3106	

* indica una diferencia significativa.

Prueba *pos hoc* de Tukey para la glucosidasa en agua entre periodos de muestreo.

Contraste	Diferencias	+/-	Límites
18/12/2013 - 25/04/2013	-6,71532	13,827	
18/12/2013 - 31/07/2013	-2,33423	13,827	
25/04/2013 - 31/07/2013	4,38109	13,827	

* indica una diferencia significativa.

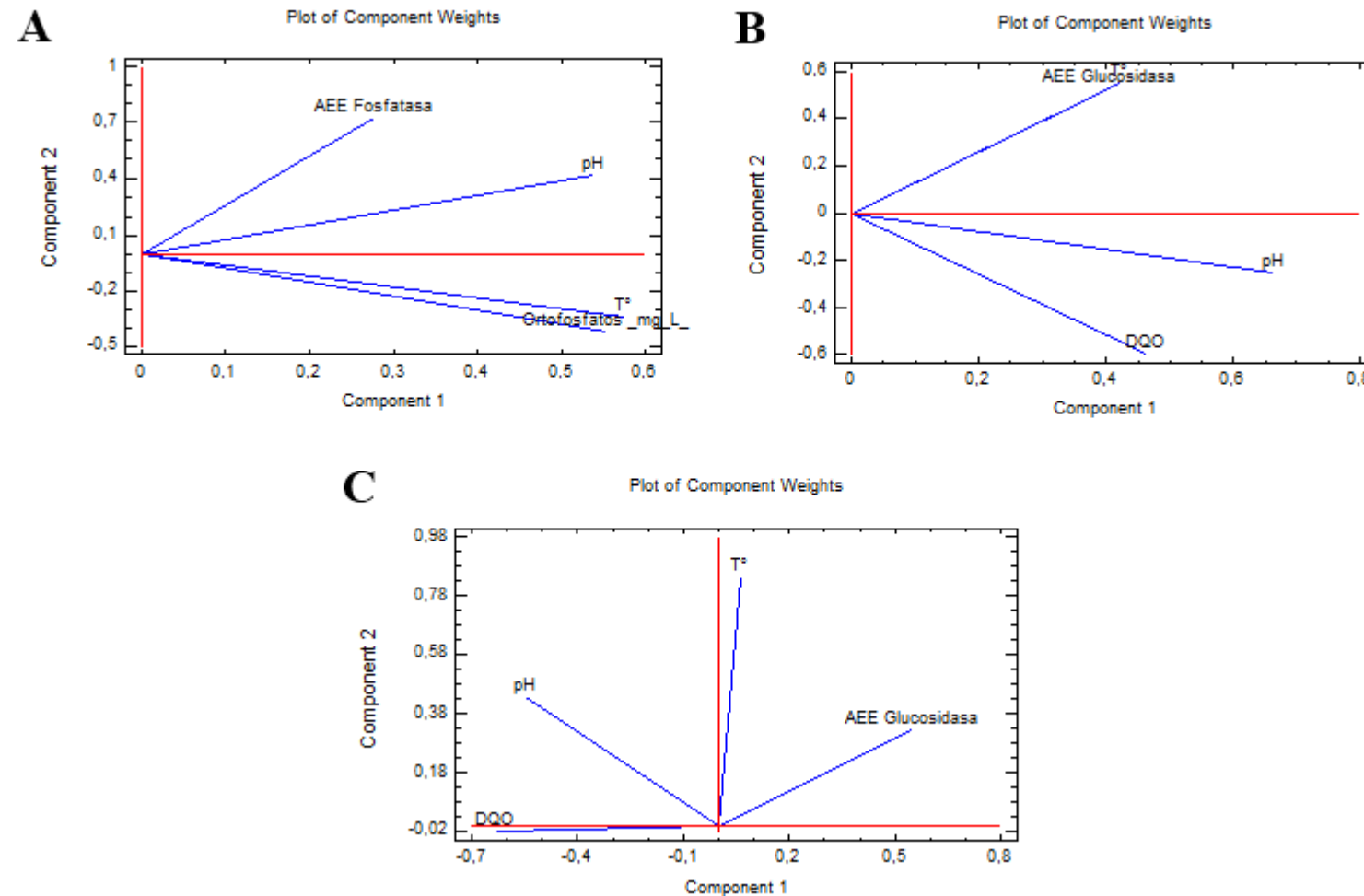
TEST DE NORMALIDAD (SHAPIRO-WILKS)

Valores p determinados por medio del test de normalidad.

AEE	<i>p</i> -Valor	
	Perifiton	Agua
Glucosidasa	0,0545	0,0000
Fosfatasa	0,0438	0,0017

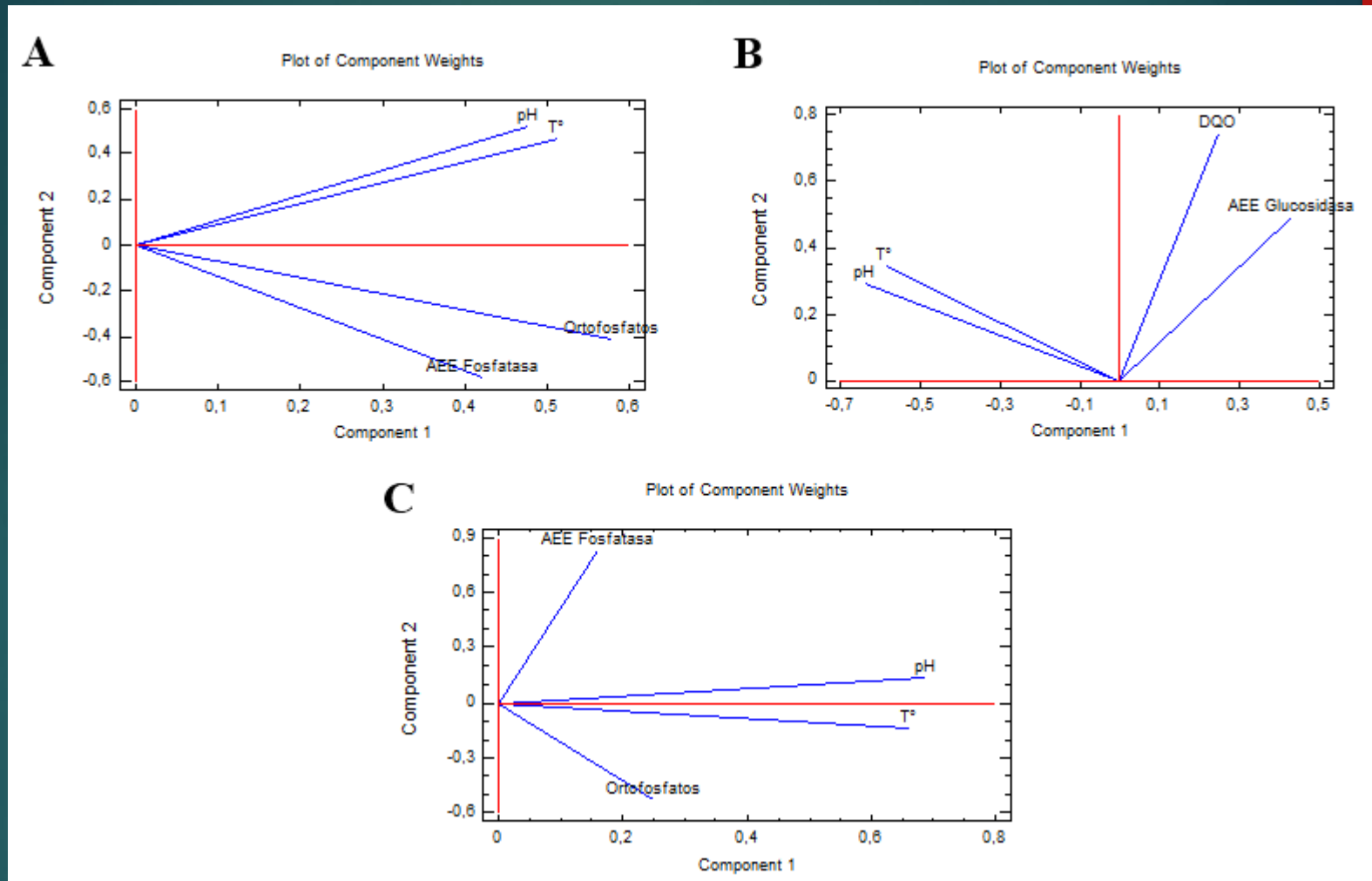
Datos de la actividad enzimática de la glucosidasa en las muestras de perifiton provienen de una distribución normal, al presentar $p > 0,05$ con un nivel de significancia del 95%

ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES



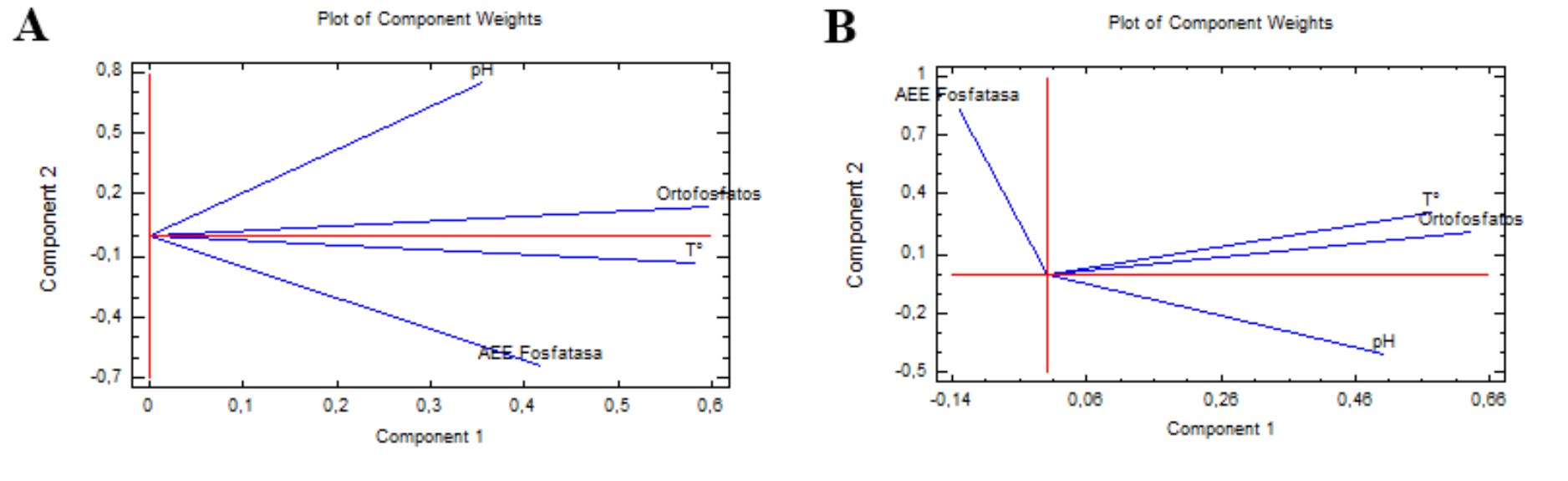
Análisis de Componentes Principales. **A.** AEE fosfatasa y parámetros fisicoquímicos de control en muestras de agua. **B.** AEE glucosidasa y parámetros fisicoquímicos de control en muestras de agua. **C.** AEE glucosidasa y parámetros fisicoquímicos de control en muestras de biofilm en el *periodo de transición*.

ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES



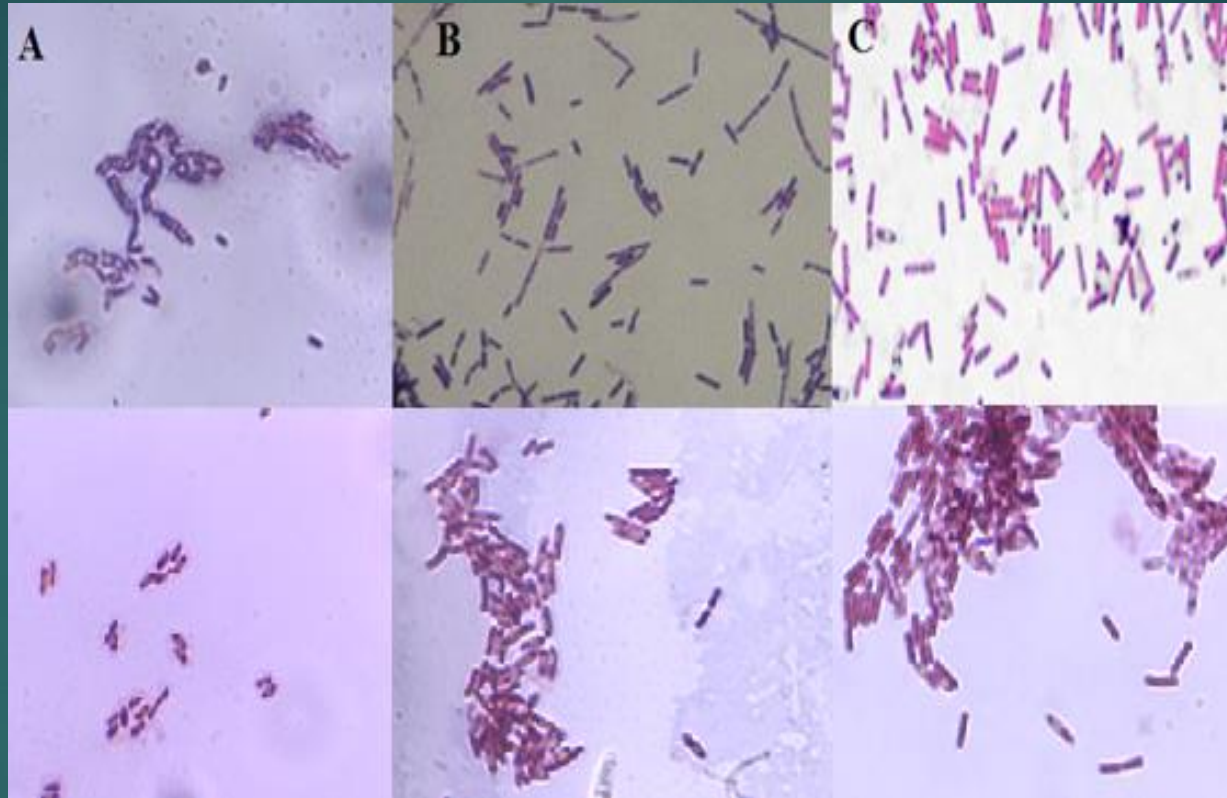
Análisis de Componentes Principales. **A.** AEE fosfatasa y parámetros fisicoquímicos de control en muestras de agua. **B.** AEE glucosidasa y parámetros fisicoquímicos de control en muestras de agua. **C.** AEE glucosidasa y parámetros fisicoquímicos de control en muestras de biofilm en el *periodo seco*.

ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES



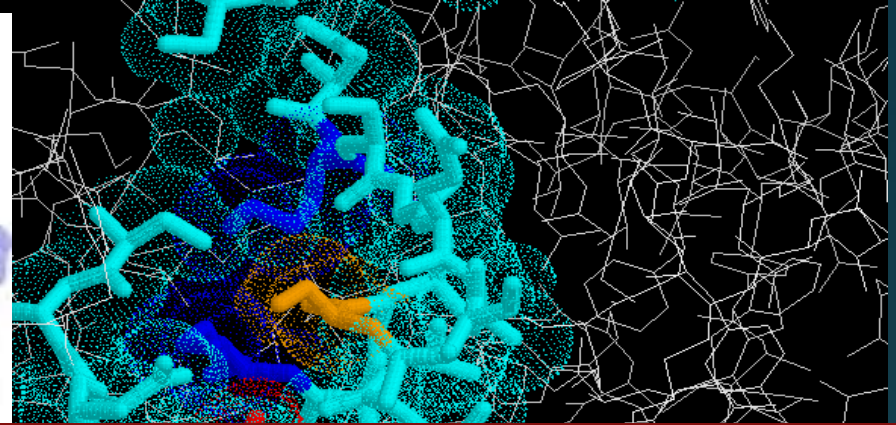
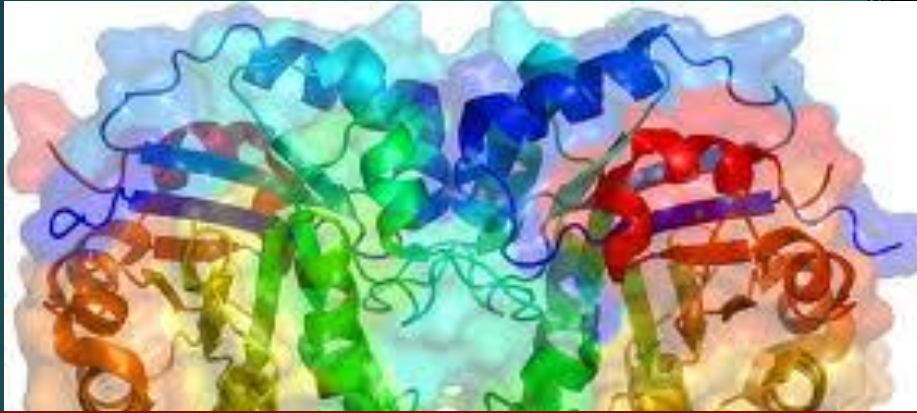
Análisis de Componentes Principales. **A.** AEE fosfatasa y parámetros fisicoquímicos de control en muestras de agua. **B.** AEE fosfatasa y parámetros fisicoquímicos de control en muestras de biofilm en el **periodo de lluvias**.

RESULTADOS

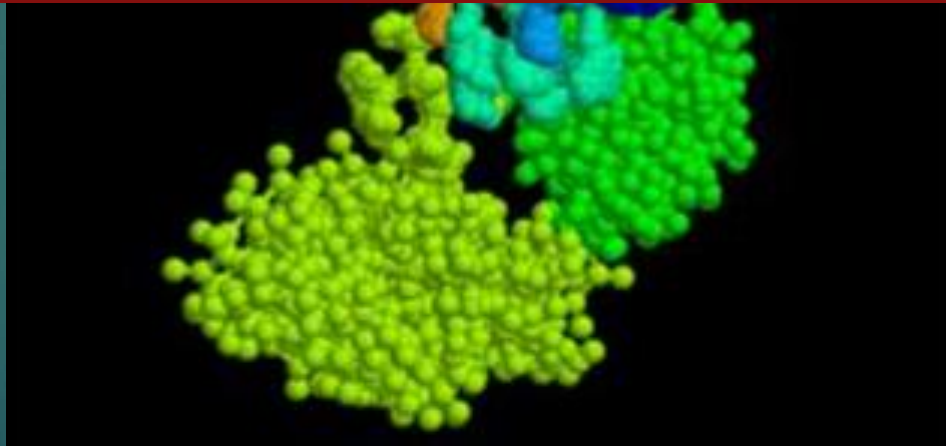


Identificación de *Bacillus* tinción de gram. **A.** Estación 2 (Horno crematorio), **B.** Estación 3 (Bocatoma Municipal CHEC) y **C.** Estación 5 (Hacienda El Retiro).

Espora oval o cilíndrica, aerobios facultativos; hidrolizan caseína y almidón; esporangio no distendido, pared de la espora delgada.		
Característica	Especie	Posición espora
Termófilos y acidófilos	<i>B. coagulans</i>	Central o Terminal
	<i>B. acidocaldarius</i>	Terminal
Mesófilos	<i>B. Licheniformis</i>	Central
	<i>B. cereus</i>	Central
	<i>B. anthracis</i>	Central
	<i>B. megaterium</i>	Central
	<i>B. subtilis</i>	Central
	<i>B. thuringensis</i>	Central



CONCLUSIONES



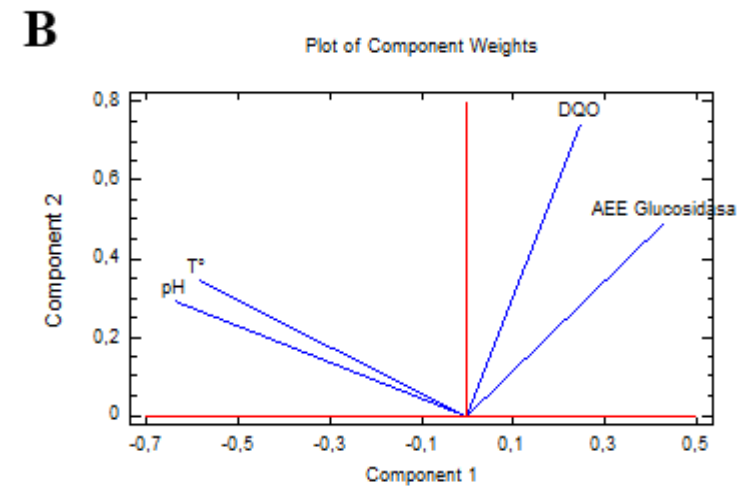
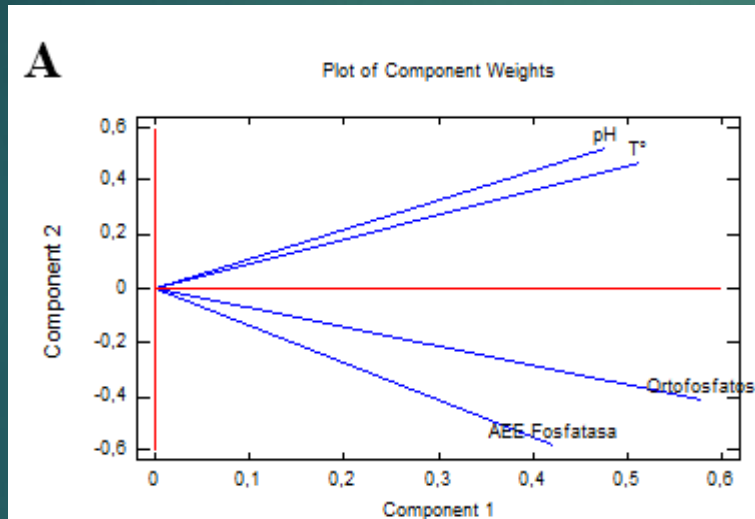
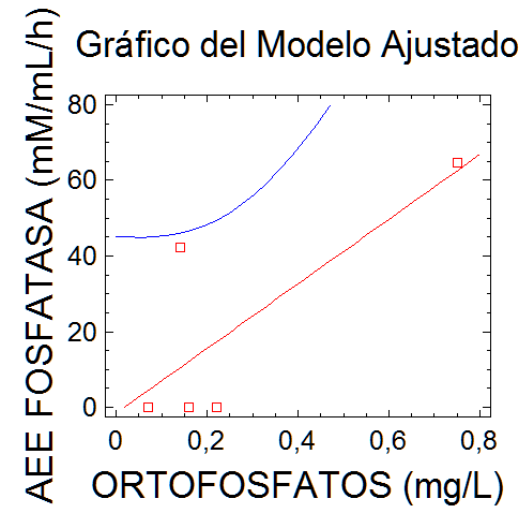
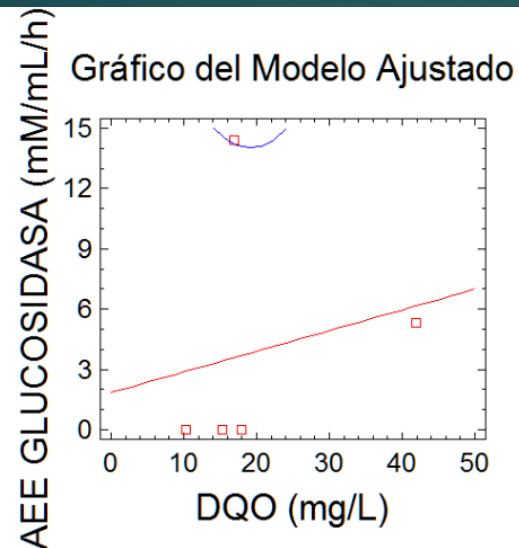
CONCLUSIONES

Se presentó mayor AEE en las muestras de perifiton que en las muestras de agua, sin embargo, la AEE de la glucosidasa fue menor comparada con la AEE de la fosfatasa, debido a que el Carbono Orgánico Disuelto (COD) se encuentra biodisponible en las aguas del río Chinchiná.

Durante los periodos seco y lluvias se presentó AEE para la fosfatasa y la glucosidasa en las muestras de perifiton en las 5 estaciones de muestreo en el río Chinchiná, indicando ello la baja disponibilidad de alimento rico en (COD) y fósforo.

De acuerdo con el análisis *pos hoc* de Tukey, se determinó que existen diferencias significativas en la catálisis realizada por la fosfatasa en las muestras de perifiton entre los periodos de transición y seco. Respecto a lo evaluado sobre la glucosidasa en perifiton, se presentaron diferencias entre los periodos de lluvias y seco y entre los periodos de transición y seco.

CONCLUSIONES



De acuerdo al ACP, en el **PERIODO SECO** se evidenció correlación entre la AEE de la fosfatasa y la glucosidasa en las muestras de agua con la contaminación referente a la concentración de Ortofosfatos y la DQO filtrada, respectivamente.

RECOMENDACIONES

Se recomienda la realización de nuevos muestreos en el río Chinchiná, con el fin de determinar tendencias de comportamiento entre AEE y contaminación por materia orgánica disuelta y fósforo. Además de la composición química de la materia orgánica presente en el río Chinchiná, con el fin de establecer la preferencia (Regio-especificidad) de las enzimas evaluadas.

Se recomienda la determinación de la composición y riqueza del biofilm, con el fin de identificar los microorganismos responsables de la AEE.

Referencias Bibliográficas

- ▶ Álvarez, S. 2005. La descomposición de materia orgánica en humedales: La importancia del componente microbiano. *Ecosistemas* 14: 17-29.
- ▶ Aguirre N., Pohlen E, & Marxsen J. 2010. Bacterial community structure and enzymatic activity in the rhizobial zone of *Eichhornia crassipes* Giessen Universitaet.
- ▶ Enríquez, S., Duarte, M., & Sand-Jensen, K. 1993. Patterns in decomposition rates among photosynthetic organisms: the importance of detritus C:N:P content. *Oecologia*, 94, 457-471.
- ▶ Flindt, M.R., Pardal, M.A., Lillebø, A.I., Martins, I. & Marques, J. C. 1999. Nutrient cycling and plant dynamics in estuaries: A brief review. *Acta Oecologica*, 20, 237-248.
- ▶ Gessner, M.O. 1991. Differences in processing dynamics of fresh and dried leaf litter in a stream ecosystem. *Freshwater Biology*, 26, 387-398.
- ▶ Hendel B. & Marxsen J. 2005. Fluorometric determination of the activity of B-Glucosidase and other extracellular hydrolytic enzymes. M.A.S. Graca F. Bärlocher & M.O. Gessner (eds.), *Methods to Study Litter Decomposition: A Practical Guide*, Chapter 35. 261-266. 2005 Springer, Printer in The Netherlands.
- ▶ Hendel B., Marxsen, J., Fiebig, D., & Preuß, G. 2001. Extracellular enzyme activities during slow sand filtration in a water recharge plant. *Wat. Res.* 35: 2484-2488.
- ▶ Hill, B.H. & Perrot Jr., W.T. 1995. Microbial colonisation, respiration, and breakdown of maple leaves along a stream-marsh continuum. *Hydrobiologia*, 312, 11-16
- ▶ Hoppe, H.-G. 1983. Significance of exoenzymatic activities in the ecology of brackish water: measurements by means of methylumbelliferyl-substrates. *Marine Ecology-Progress Series*, 11, 299-308.

Referencias Bibliográficas

- Marxsen J & Fiebig DM, 1993. Use of perfused cores for evaluating extracellular enzyme activity in stream-bed sediment. FEMS Microbiol. Ecol. 13: 1-11.
- Marxsen J. and Schmidt H.-H. 1993 Extracellular phosphatase activity in sediments of the Breitenbach, a Central European mountain stream. Hydrobiologia 253, 207–216.
- Marxsen J., Tippmann P., Heininger P., Preuss G & Rende A. 1998. Mikrobiologische Charakterisierung Aquatischer Sedimente-Methodensammlung. Enzymatikaktivität pg 87-114. Oldenburg. Germany.
- Ramírez, A. & G. Viña. 1998. Limnología colombiana: aportes a su conocimiento y estadísticas de análisis. 1st Ed. Editorial Panamericana. Bogotá, Colombia.
- Sterner, R.W. & Elser, J.J. 2002. Ecological Stoichiometry: The Biology of Elements from Molecules to the Biosphere. Princeton University Press. Princeton.
- Ramsar. 1992. La Convención de Ramsar. Oficina de la Convención Ramsar, UICN, Gland, Suiza. 22 p.
- Webster, J.R. & Benfield, E.F. 1986. Vascular plant breakdown in freshwater systems. Annual Review of Ecology and Systematics, 17, 567-594.
- Wrubleski, D.A., Murkin, H.R., van der Valk, A.G. & Nelson, J.W. 1997. Decomposition of emergent macrophyte roots and rhizomes in the northern prairie marsh. Aquatic Botany, 58, 121-134.

Preparación de reactivos

- ▶ Solución de cloruro de sodio (0,14 mol/L): 8,18 gr de cloruro de sodio se diluyen en 1 litro de agua desionizada.
- ▶ Solución del sustrato: Tomar 10 mg de 4-Nitrofenil- β -D-Glucopiranososa y disolver en 10 ml de la solución de cloruro de sodio, refrigerar a 4°C protegido de la luz. La solución sólo es viable durante 24 horas.
- ▶ Solución de carbonato de sodio (1 mol/L): 10,6 gr de carbonato de sodio se diluyen en 100 ml de agua desionizada.
- ▶ Solución madre de 4-Nitrofenol: 5 mg de 4-Nitrofenol se llevan a una solución de 1 litro, la cual consta de 2 partes de solución de cloruro de sodio y 1 parte de solución de carbonato de sodio. (Para 200 ml de solución madre tomar 1 mg de 4-Nitrofenol, 134 ml de solución de cloruro de sodio y 66 ml de solución de carbonato de sodio)

Gran importancia tanto en ambientes Lóticos como
Lénticos

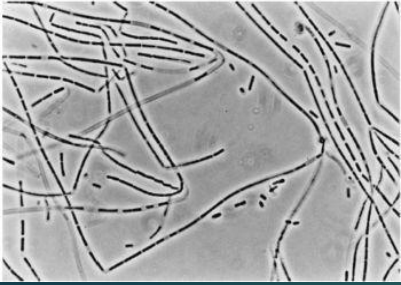
Aguas someras

Ocupan
grandes
extensiones

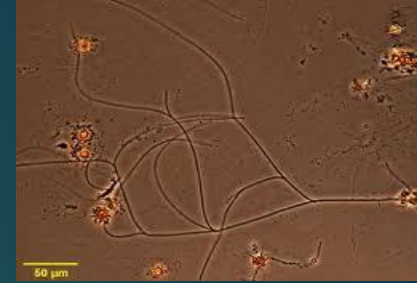
< Profundidad favorece el
crecimiento de plantas
acuáticas

Gran
superficie
colonizable

El aporte del perifiton a la
producción primaria total del
ecosistema supera a los aportes del
fitoplancton y de las macrofitas



A diferencia del plancton, que a menudo no responde completamente a la influencia de la contaminación en los ríos



Perifiton muestra respuestas marcadas cuando se somete a fuentes de contaminación

Sphaerotilus
Bacillus

Bacterias asociadas al perifiton, que se encuentran principalmente en aguas contaminadas

Perifiton evaluación de la calidad del agua



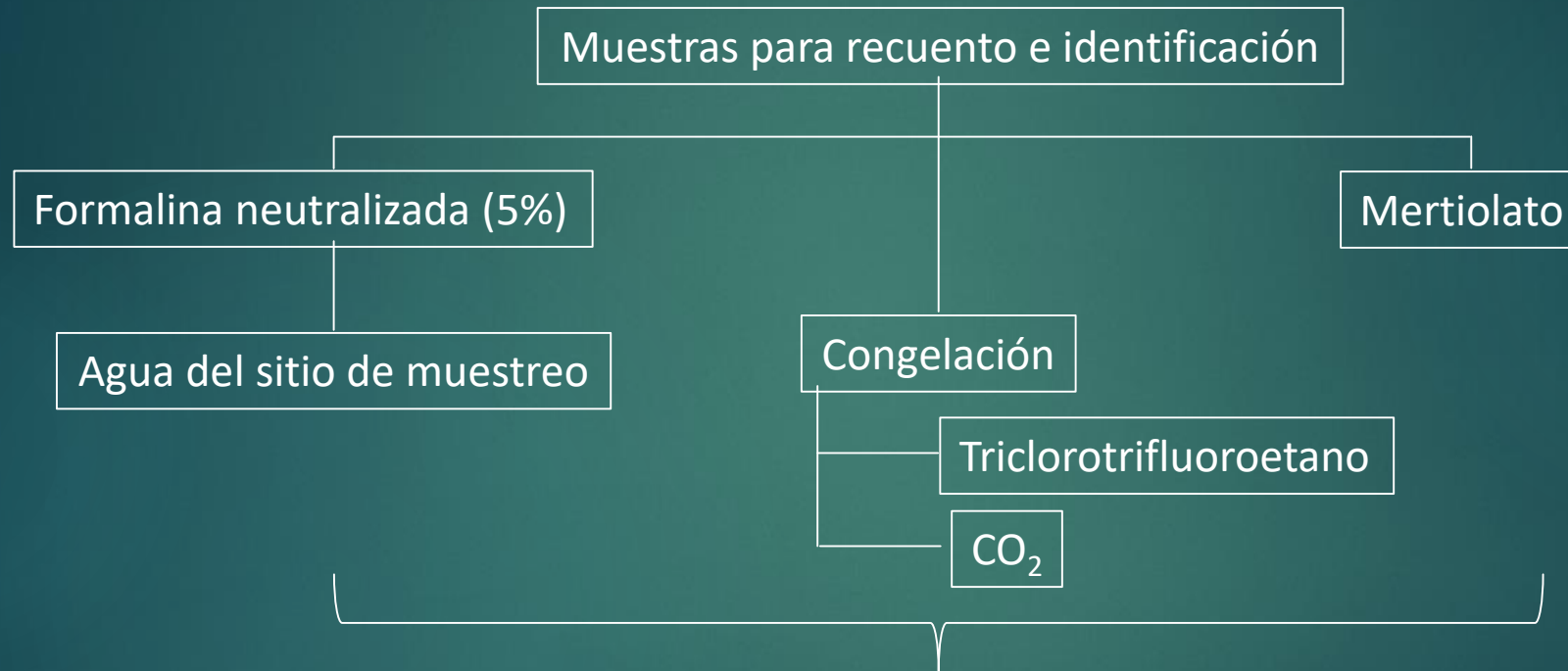
Obstaculizada por la falta de sustratos naturales óptimos

Difícil recolección de muestras cuantitativas de estas superficies



Utilización de sustratos artificiales

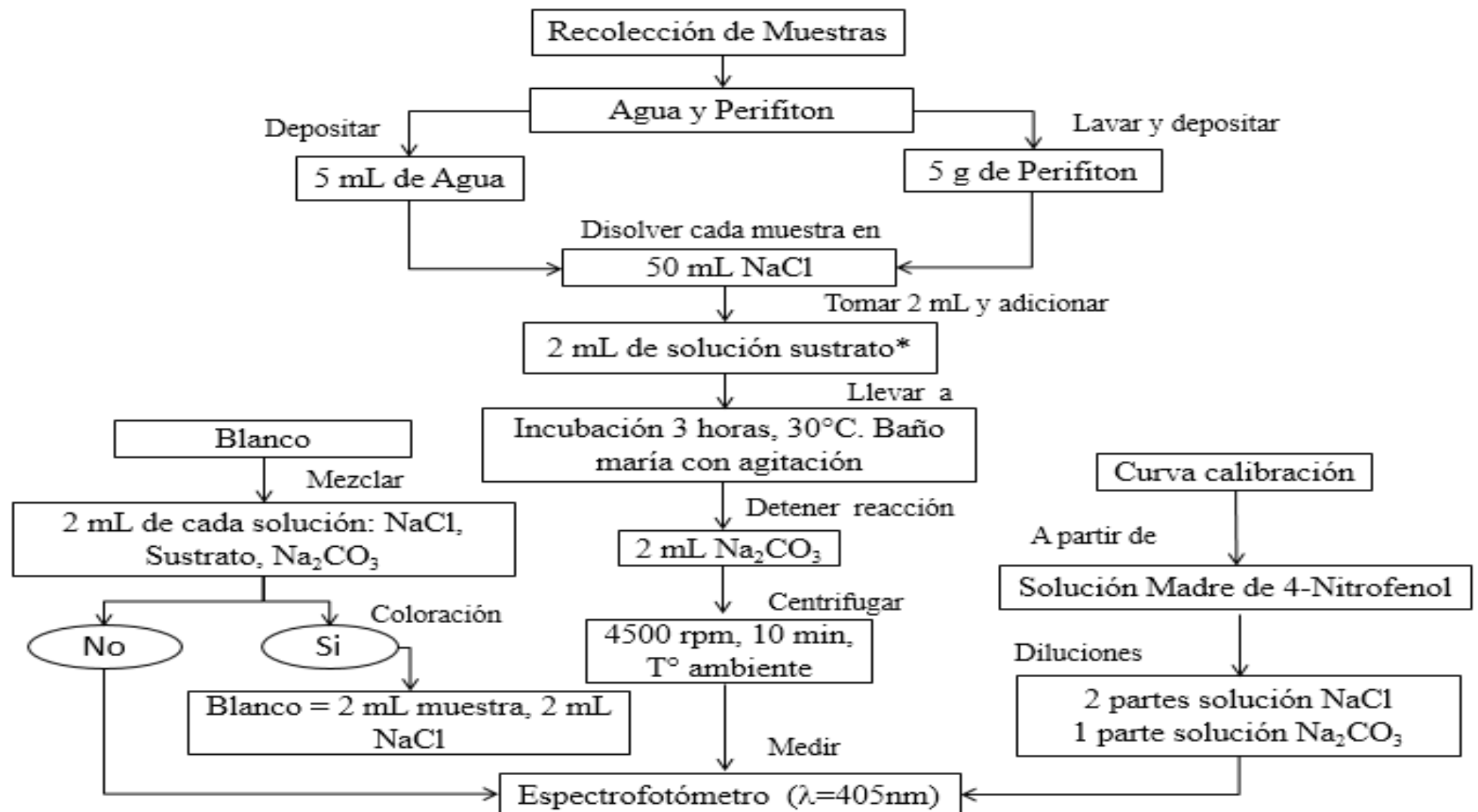
CONSERVACIÓN DE MUESTRAS



Almacenar muestras en oscuridad

POTENCIA DE LA PRUEBA

r	N	$Z = 0,5 * \ln(\text{Raíz}((1+r)/(1-r)))$	Grados de libertad (n-k)	α	r crítico	$Z\alpha$	$Z\beta = ((Z - Z\alpha) * (\text{Raíz}(n-3)))$	$P(Z \geq 3,05) = 1 - 0,9988$	$(1-\beta) * 100\%$
0,9970	13	1,62482085	11	0,05	0,632	0,744	2,328580892	0,0012 = β	99,88%



*Sustrato: 4-Nitrofenil-β-D-Glucopiranos, 4-Nitrofenilfosfato