

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y
BIOTECNOLOGICAS

PROGRAMA PROFESIONAL DE INGENIERIA BIOTECNOLÓGICA



“DEPURACIÓN BIOLÓGICA DE EFLUENTES DE FÁBRICAS PRODUCTORAS DE COLÁGENO HIDROLIZADO A TRAVÉS DE BIOPELÍCULAS BACTERIANAS UTILIZANDO UN BIOREACTOR ANAEROBIO TIPO RAFA”

Tesis Presentada por la Bachiller:
Pilar Milagros Chávez Linares

Para optar por el título profesional de:
Ingeniero Biotecnólogo

Asesor:
Ing. Francisco Javier Roque Rodríguez

**Arequipa - Perú
2013**

PRESENTACIÓN

Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas.

Señor Director del Programa Profesional de Ingeniería Biotecnológica.

Señores Miembros del Jurado Dictaminador de la Tesis

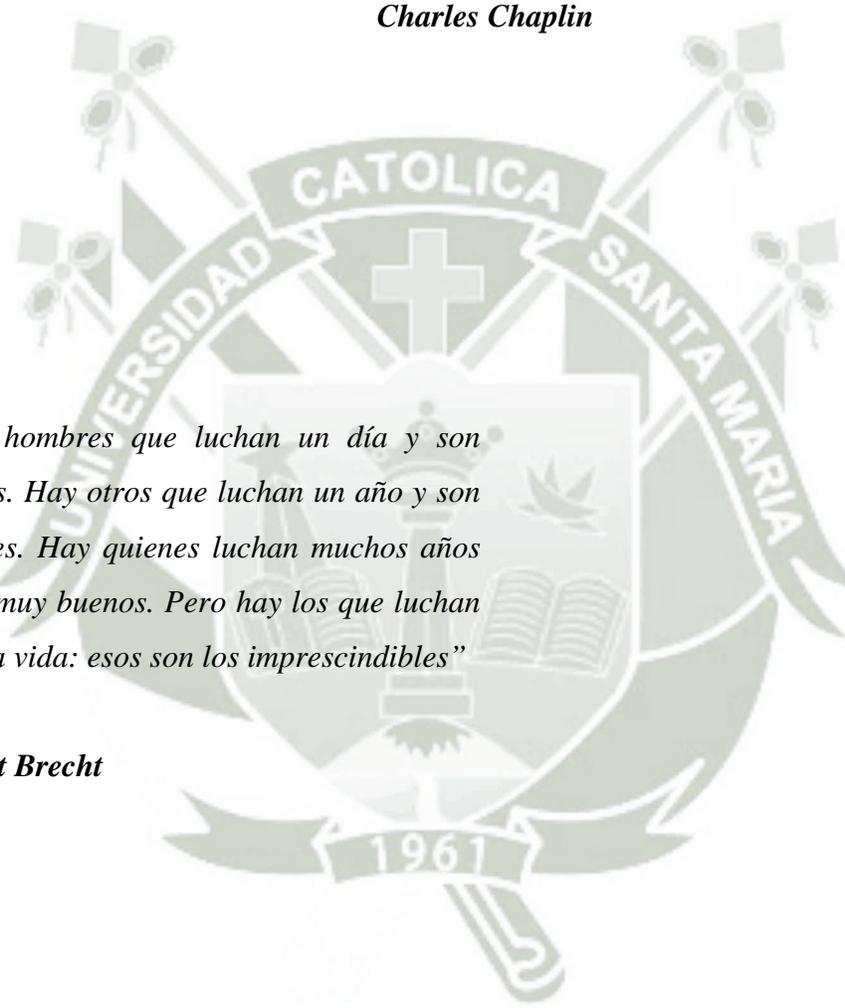
De conformidad con las disposiciones del Reglamento de Grados y Títulos del Programa Profesional de Ingeniería Biotecnológica, pongo a vuestra consideración el presente trabajo de investigación titulado:

DEPURACIÓN BIOLÓGICA DE EFLUENTES DE FÁBRICAS PRODUCTORAS DE COLÁGENO HIDROLIZADO A TRAVÉS DE BIOPELÍCULAS BACTERIANAS UTILIZANDO UN BIOREACTOR ANAEROBIO TIPO RAFA”

El trabajo de investigación fue realizado aplicando los conocimientos adquiridos durante mi formación universitaria, el mismo que al ser aprobado me permitirá optar por el Título Profesional de Ingeniero Biotecnólogo.

“Hay que tener fe en uno mismo. Ahí reside el secreto. Aun cuando estaba en el orfanato y recorría las calles buscando que comer para vivir, incluso entonces, me consideraba el actor más grande del mundo. Sin la absoluta confianza en sí mismo, uno está destinado al fracaso.”

Charles Chaplin



“Hay hombres que luchan un día y son buenos. Hay otros que luchan un año y son mejores. Hay quienes luchan muchos años y son muy buenos. Pero hay los que luchan toda la vida: esos son los imprescindibles”

Bertolt Brecht

DEDICATORIA

A Dios y a la Virgen Inmaculada, por darme la oportunidad de vivir, y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio, sobre todo a esa persona que me acompañó, esa persona tan especial que ahora está en el extranjero y que muy pronto lograrás muchos éxitos porque eres capaz de muchas cosas, gracias Pedro Alonso Titi Benavente.

A mis padres Leonor y Hernán, por darme la vida, por creer en mí y porque siempre me apoyaron. Papá gracias por darme una carrera para mi futuro, y a mi hermano Fernando, todos quienes siempre me apoyaron.

Agradecer a todos mis compañeros con quienes trabajábamos en laboratorio; a mis amigos y amigas que me apoyaron en todo momento. A todos los profesores que influyeron con sus lecciones y experiencias en formarme como una persona de bien y preparada para los retos que pone la vida, a todos y cada uno de ellos les dedico cada una de estas páginas.

Gracias.

Contenido

RESUMEN.....	xii
CAPÍTULO I: GENERALIDADES	1
1.1 INTRODUCCIÓN.....	2
1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	4
1.3 HIPÓTESIS	4
1.4 OBJETIVOS	5
1.4.1 Objetivo General	5
1.4.2 Objetivos Específicos.....	5
1.5 VARIABLES.....	5
1.5.1 Variables Independientes.....	6
1.5.2 Variables Dependientes.....	6
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	7
2.1 UBICACIÓN DE LA FÁBRICA PRODUCTORA DE COLÁGENO	8
2.2 NORMATIVAS GENERALES.....	9
2.3 COMPOSICIÓN DE LAS AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES.....	13
2.3.1 Calidad de las Aguas Residuales Domésticas (ARD) e Industriales	18
2.3.2. Proceso de depuración	23
2.4 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO EN LA FÁBRICA DE COLÁGENO – PARQUE INDUSTRIAL, RIO SECO- AREQUIPA	25
2.5 REACTOR ANAEROBIO DE FLUJO ASCENDENTE (R.A.F.A.).....	29
2.5.1 Factores que afectan el rendimiento y el diseño de reactores anaerobios de flujo ascendente con soportes.	33
2.5.2 Ventajas y desventajas del reactor anaerobio de flujo ascendente:.....	35
2.6 BIOPELÍCULAS.....	37
2.6.1 Las biopelículas en el tratamiento de aguas residuales.....	39
2.6.2 Formación y desarrollo de biopelículas.....	42
2.7 SOPORTES PARA BIOPELÍCULAS	47
2.8 IDENTIFICACIÓN BACTERIANA.....	48

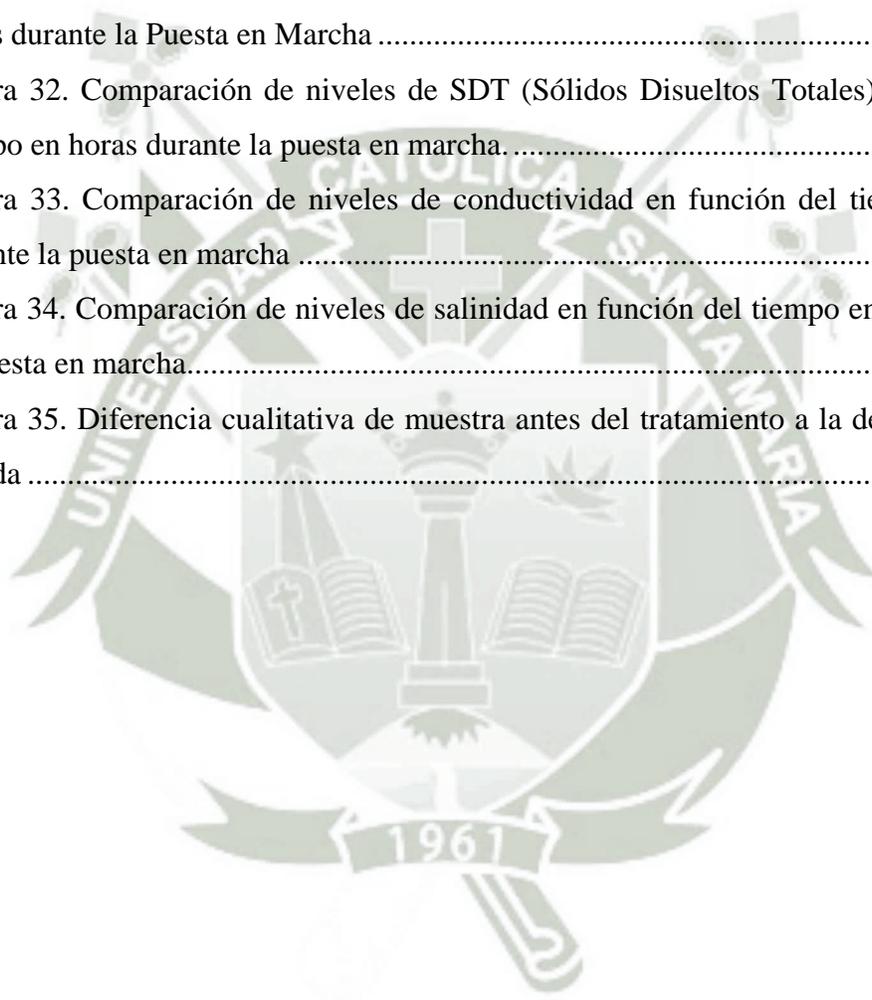
2.8.1 Coliformes Totales y Coliformes Fecales	48
2.8.2 Crecimiento de bacterias aerobias- anaerobias facultativas	50
2.8.3 El método de Número más Probable (NMP).....	51
2.9 PARÁMETROS DE EVALUACIÓN EN UN SISTEMA ANAEROBIO TIPO RAFA.....	53
CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS.....	58
3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN.....	59
3.2 MATERIALES	59
3.3 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	62
3.4 METODOLOGÍA DEL REACTOR RAFA	62
3.5 METODOLOGÍA ESTADÍSTICA	76
3.6 FLUJOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	76
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	78
4.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	79
4.1.1. Caracterización fisicoquímica de los efluentes a tratar.	79
4.1.2. Ensamblaje y acondicionamiento del sistema anaerobio tipo RAFA con soportes. 81	
4.1.3 Caracterización de la población microbiana.	84
4.1.4 Determinación de anaerobiosis.	90
4.1.5 Determinación de la formación de biopelículas en soportes.....	91
4.1.6 Caracterización morfológica cualitativa de biopelículas	91
4.1.7 Análisis de parámetros fisicoquímicos en estado Batch.....	97
4.1.8 Análisis de parámetros fisicoquímicos en puesta en marcha.....	106
4.1.9 Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO ₅):.....	115
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	118
5.1 CONCLUSIONES	119
5.2 RECOMENDACIONES	121
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	122
ANEXOS	¡Error! Marcador no definido.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de producción- Fábrica de Colas	28
Figura 2. Representación de un reactor tipo RAFA con sus diferentes partes	31
Figura 3. Presentación esquemática de los principales pasos en la digestión anaerobia.	32
Figura 4. Esquema general de las configuraciones comunes para el tratamiento de aguas residuales con biopelículas.	41
Figura 5. Representación esquemática de los pasos involucrados en la formación de biopelículas. 1. Formación de acondicionamiento de las células planctónicas en la superficie, 2.Adhesión reversible inicial de las células bacterianas, 3. Unión irreversible de bacterias, y formación de microcolonias 4. Maduración de la biopelícula, 5. Desprendimiento.....	45
Figura 6. Biopelícula madura donde coexisten diferentes especies microbianas en diferentes nichos ambientales.....	47
Figura 7. Medios soportes de plástico poroso tipo Kaldnes®.....	48
Figura 8. Método para la determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y <i>Escherichia coli</i> por la técnica de diluciones en tubo múltiple o número más probable – NMP.	52
Figura 9. Esquema del Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente (RAFA).....	65
Figura 10. Flujograma de actividades para el tratamiento de depuración de aguas de efluentes de una Fábrica que produce colágeno, Parque Industrial Rio Seco – Arequipa	77
Figura 11 . En las imágenes se observa, A. Recolección de muestra de la fábrica de Colágeno- parque industrial Rio Seco, B. Muestra recolectada del efluente a tratar.	79
Figura 12. Acondicionamiento de la unidad de bombeo A. Bomba centrífuga alimentadora de las aguas a tratar. B. Dimmer, dispositivo utilizado para el control de flujo.....	82
Figura 13. Sistema de anaerobiosis, Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente (configuración final).....	83

Figura 14. A. Se muestra la introducción de soportes al reactor antes del inicio de la etapa Batch, B. Esquema de soporte con sus dimensiones 0.8 x 0.5 cm y 0.1 cm de crestas.	84
Figura 15. Colonias de bacterias presentes el sistema de tratamiento.....	85
Figura 16. Observación al microscopio resolución 100x, bacterias Gram (-).....	85
Figura 17. Reacciones bioquímicas de bacterias identificadas, a) identificación de <i>Proteus</i> , b) <i>E.coli</i> , c) <i>Citrobacter</i> y d) <i>Enterobacter</i>	87
Figura 18. Prueba del Número más Probable (NMP) en Caldo Lactosado Bilis Verde Brillante	89
Figura 19. Crecimiento de bacterias anaerobias facultativas en caldo Tioglicolato	90
Figura 20. Observación al microscopio con tinción de Gram, bacterias anaerobias facultativas, bacilos Gram (-)	90
Figura 21. Imágenes de microscopía electrónica de la formación de Biopelículas en la superficie de soportes, A) Microfotografía de la superficie lisa del soporte poroso, B) Microfotografía panorámica de la biopelícula en el soporte, C) Microfotografía de la biopelícula a 500 μm en la parte superior del soporte, D) Microfotografía de la biopelícula a 200 μm resolución de 167x.....	93
Figura 22. Imagen de Microscopía Electrónica de la formación de biopelícula en soportes. A) Microfotografía parte interna del soporte a 333x, B) Microfotografía de biopelícula formada sobre la superficie externa del soporte a 42x, se observa la biopelícula lisa sobre el soporte.	94
Figura 23. Comparación de los niveles de temperatura en función al tiempo en Batch. 98	
Figura 24. Comparación de niveles de pH en función del tiempo (días) en Batch	101
Figura 25. Comparación de niveles de Oxígeno Disuelto (OD) en función del tiempo en días en estado Batch.	102
Figura 26. Comparación de niveles de Sólidos Disueltos Totales (SDT) en función al tiempo en días en Batch.....	103
Figura 27. Comparación de niveles de Conductividad en función al tiempo en días para el estado en Batch.....	104

Figura 28. Comparación de niveles de Salinidad en función del tiempo (días) en Batch.	106
Figura 29. Comparación de niveles de temperatura (°C) en función al tiempo en horas durante puesta en marcha	107
Figura 30. Comparación de niveles de pH en función al tiempo en horas durante la Puesta en Marcha.....	110
Figura 31. Comparación de niveles de OD (Oxígeno Disuelto) en función al tiempo en horas durante la Puesta en Marcha	111
Figura 32. Comparación de niveles de SDT (Sólidos Disueltos Totales) en función al tiempo en horas durante la puesta en marcha.....	112
Figura 33. Comparación de niveles de conductividad en función del tiempo en horas durante la puesta en marcha	113
Figura 34. Comparación de niveles de salinidad en función del tiempo en horas durante la puesta en marcha.....	115
Figura 35. Diferencia cualitativa de muestra antes del tratamiento a la derecha muestra tratada	116

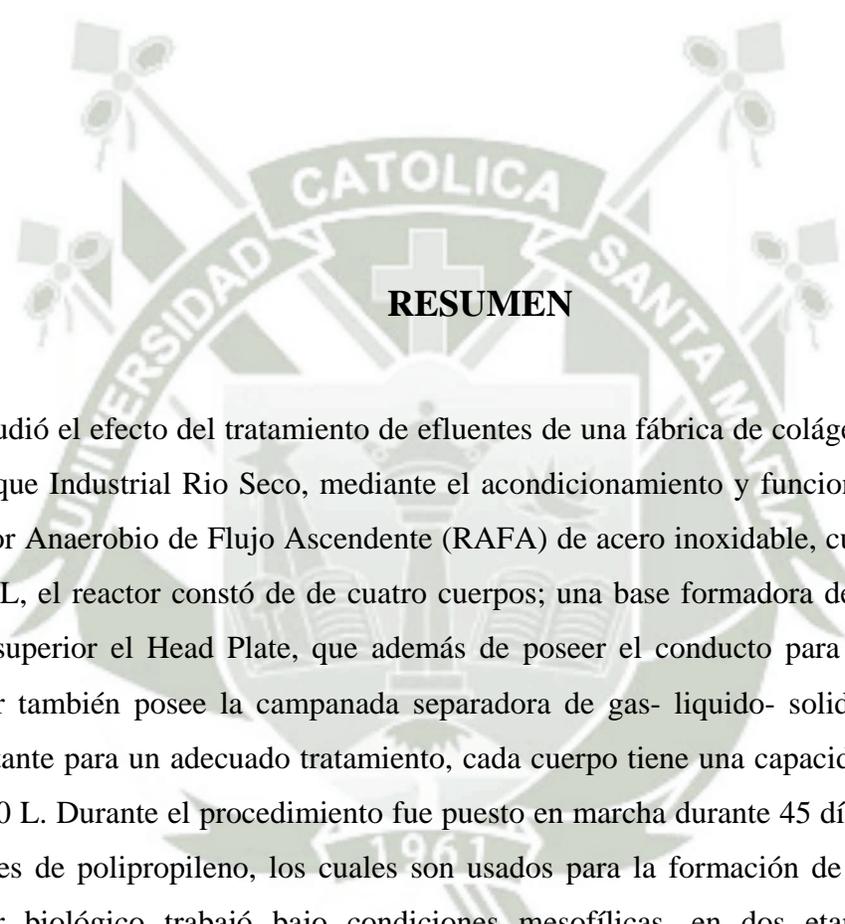


ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Variables Independientes del R.A.F.A.	6
Tabla 2. Variables dependientes del R.A.F.A.	6
Tabla 3. Valores Límite para Cuerpos de Agua según la R.J. N° 291-2009-ANA	11
Tabla 4. Límites Máximos Permisibles y Valores Referenciales de Efluentes para alcantarillado de las actividades de Curtiembre.	12
Tabla 5. Características Físicas, Químicas y Biológicas del Agua Residual y su Procedencia.....	14
Tabla 6. Características de Coliformes y <i>E.coli</i>	49
Tabla 7. Características del esquema de trabajo en el Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente (RAFA)	63
Tabla 8. Descripción de los tanques de almacenamiento.	63
Tabla 9. Descripción del sistema de bombeo utilizado en el proceso.	64
Tabla 10. Descripción de los elementos constitutivos del reactor RAFA.	64
Tabla 11. Medición de parámetros fisicoquímicos de efluentes de la fábrica productora de colágeno	80
Tabla 12. Reacciones bioquímicas y caracterización de bacterias en TSI, LIA e Indol	87
Tabla 13. Resultados de la determinación del Numero más Probable (NMP)	88
Tabla 14. Pesos de biopelículas, después de la puesta en marcha del reactor (t= 50 días)	91
Tabla 15. Datos de los parámetros a analizar en el periodo de 45 días, estado Batch.	100
Tabla 16. Matriz de parámetros de puesta en marcha, con Tiempo de Retención Hidráulica de 12 horas, con flujo de 25 mL/min.....	109
Tabla 17. Tabla de comparación de parámetros en los tres estados del tratamiento	116

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo I. Protocolo de Monitoreo de la calidad sanitaria de los recursos hídricos.	¡Error! Marcador no definido.
Anexo II. Planos de ubicación de fábrica productora de Colágeno- Parque Industrial Rios Seco- Arequipa.	¡Error! Marcador no definido.
Anexo III. Tablas de NMP por g. o mL, utilizando tres series de cinco tubos cada una conteniendo 10 mL de medio líquido y sembrando 1 mL de la dilución 1:10; 1 mL de la dilución 1:100 y 1 mL de la dilución 1:1000.	¡Error! Marcador no definido.
Anexo IV. Reacciones bioquímicas para la familia de Enterobacterias en TSI-LIA-Indol.....	¡Error! Marcador no definido.
Anexo V. Análisis de varianza simple para parámetros en estado BATCH	¡Error! Marcador no definido.
Anexo VI. Gráficos de dispersión y gráficos de error estándar para el análisis de parámetros en Batch.	¡Error! Marcador no definido.
Anexo VII. Normativas Ambientales D.S. 002-2008 MINAM y Ley General del Agua Decreto Ley N° 17752.....	¡Error! Marcador no definido.



RESUMEN

Se estudió el efecto del tratamiento de efluentes de una fábrica de colágeno, ubicado en el Parque Industrial Rio Seco, mediante el acondicionamiento y funcionamiento de un Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente (RAFA) de acero inoxidable, cuyo volumen es de 18 L, el reactor constó de de cuatro cuerpos; una base formadora de lodos, y en la parte superior el Head Plate, que además de poseer el conducto para el efluente del reactor también posee la campanada separadora de gas- liquido- solido, que es muy importante para un adecuado tratamiento, cada cuerpo tiene una capacidad volumétrica de 4.60 L. Durante el procedimiento fue puesto en marcha durante 45 días, conteniendo soportes de polipropileno, los cuales son usados para la formación de biopelícula. El reactor biológico trabajó bajo condiciones mesofílicas, en dos etapas claramente definidas, la primera etapa Batch, en la cual se inoculó las bacterias provenientes de lodos activados en el reactor, las cuales fueron identificadas como Enterobacterias, tales como *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus* y *E.coli.*, al término de los 45 días se estimó la concentración de bacterias coliformes totales que suelen expresarse como Número más Probable (NMP), y la identificación de formación de biopelículas sobre los soportes usando Microscopía Electrónica de barrido (SEM). Luego de este periodo se comenzó

la segunda etapa, es decir la puesta en marcha del reactor y el comienzo de la circulación del efluente a tratar; etapa en la cual el flujo de entrada fue de 25 mL/min y un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 12 horas, pasado este periodo de circulación los parámetros redujeron notablemente, lográndose una reducción de pH en un 25.5%, temperatura en un 10%, salinidad, conductividad como sólidos disueltos totales en un 30 % aproximadamente, en caso del oxígeno disuelto hubo un aumento de 50 % .

Palabras claves: Soportes, RAFA, Biopelículas, Tiempo de Retención Hidráulica.



ABSTRACT

We studied the effect of an effluent treatment plant collagen, located in the Industrial Park Rio Seco, through the preparation and operation of an Upflow Anaerobic Sludge Blanket of stainless steel, whose volume is 18 liters, the reactor consisted of four bodies , a sludge -forming base , and on top the Head Plate, which besides possessing the conduit to the reactor effluent separator also holds the stroke gas -liquid-solid , which is very important for proper treatment, each body having a volumetric capacity of 4.60 L. During the procedure was put in place for 45 days, media containing polypropylene, which are used for biofilm formation. The biological reactor worked under mesophilic conditions in two clearly defined stages, the first stage batch, which was inoculated bacteria from activated sludge in the reactor, which were identified as Enterobacteriaceae, such as *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus* and *E. coli.*, after 45 days was estimated concentration of total coliform bacteria are usually expressed as most Probable Number (MPN), and identification of biofilm formation on brackets using the scanning electron microscopy (SEM). After this period, the second stage, ie the implementation of the reactor and the start of the flow of effluent to be treated, stage in which the inlet flow was 25 mL / min and an hydraulic retention time (TRH) 12 hours, after this period of movement parameters significantly reduced, achieving a reduction in pH by 30%, temperature by 10%, salinity, conductivity and total dissolved solids by 30 % approximately and 50% an increase was achieved 50% of the dissolved oxygen.

Key words: Supports, RAFA, Biofilms, Hydraulic Retention Time

ABREVIATURAS

°C:	Grados centígrados
μs:	Micro Siemens
ANOVA:	Análisis de Varianza
aprox.:	Aproximadamente
DBO:	Demanda Bioquímica de Oxígeno
EE:	Error estándar de la media
g:	Gramo
mg.	Miligramo
Kg:	Kilogramo
L:	Litro
min.:	Minuto
mL:	Mililitro
OD:	Oxígeno Disuelto
pH:	Potencial de Hidrogeniones
cm.:	Centímetros
ME:	Microscopía Electrónica.
SDT:	Sólidos Disueltos Totales
AGV:	Ácidos Grasos Volátiles.
RAFA.:	Reactor Anaeróbico de Flujo Ascendente
ARD:	Aguas Residuales Domésticas.
TRH:	Tiempo de Retención Hidráulica
EPS:	Exopolisacáridos
PIRS	Parque Industrial Rio Seco



CAPÍTULO I: GENERALIDADES

1.1 INTRODUCCIÓN

En la actualidad es de conocimiento el gran problema ambiental producido por el vertido de aguas emitidas por las fábricas del Parque Industrial Rio Seco (PIRS), que son principalmente curtiembres y fábricas productoras de colágeno de grado industrial, estas aguas terminan finalmente en quebradas aledañas o lagunas de oxidación que no brindan tratamiento, afectando a las poblaciones vecinas y además que amenazan con invadir campos de cultivo aledaños por el colapso de dichas pozas y lagunas de oxidación.

De otra parte, se requiere restaurar la calidad del agua usada y descargada por las industrias, para la protección del medio ambiente, ya que las aguas emitidas contienen una gran carga orgánica, un alto nivel de salinidad, pH elevado, etc. superando los niveles máximos permisibles que son establecidos por la Ley General de aguas, Ley N° 17752 (ANEXO VII).

Los procesos anaerobios han sido aplicados con éxito en el tratamiento de efluentes industriales destacándose la factibilidad del reactor anaerobio de flujo ascendente (RAFA) para tratar aguas residuales de alta carga como los efluentes producidos por la industria alimentaria, (Lettinga G., 1995). Durante el tratamiento anaeróbico, los contaminantes orgánicos se convierten en un gas que contiene metano, dióxido de carbono (CO_2), amoníaco, y sulfuro de hidrógeno (H_2S) por microorganismos aerobios.

El tratamiento anaeróbico de aguas residuales tiene varias ventajas en comparación con el tratamiento aeróbico de aguas residuales. En comparación con otros procesos anaeróbicos, un reactor RAFA es relativamente simple, económico y fácil de operar. No requiere material de embalaje para apoyar biomasa, clarificador, y la mezcla mecánica. Por otra parte, no es necesaria la recirculación del efluente como en los reactores fluidizados, (Sibel, *et al.*, 2008).

Cabe resaltar que las tecnologías del tratamiento anaerobio como el reactor anaerobio de flujo ascendente, están siendo rápidamente aceptadas para tratamiento industrial de aguas residuales que no cumplen con las regulaciones ambientales. Este proceso anaeróbico está siendo operado en condiciones mesofílicas en un rango de temperatura entre 35°C – 37°C, (Gomec, 2010). La implementación de este tipo de reactor va en un material de cubierta de soporte, cuyo propósito es mantener la biomasa en el interior del sistema; ser pegados a la superficie del material, en la forma de una biopelícula, (Fia, C, *et al.*, 2010).

La importancia de la presente investigación tiene relevancia en distintos aspectos, ya que las aguas vertidas a los alcantarillados finalmente son dirigidas a las quebradas aledañas, y de acuerdo a la evaluación de los diferentes parámetros involucrados se observó que las aguas superan los límites máximos permisibles, aplicando el tratamiento de los efluentes con un RAFA y soportes para biopelículas se disminuiría el impacto ambiental de los efluentes sin tratamiento alguno. Por otra parte, la presentación como alternativa de tratamiento de este sistema anaerobio es de gran importancia, ya que no necesita de grandes costos como lo son otro tipo de tratamiento. Finalmente un aspecto importante es, al no presentarse en la actualidad alternativas de tratamiento para este tipo de empresas, la implementación de este tipo de sistemas de tratamiento es recomendable, ya que la mayoría de estas empresas son de pequeña área, presentándose entonces como una de las mejores alternativas al necesitar de poco espacio útil de instalación y de trabajo.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

En la actualidad el Parque Industrial de Rio Seco es un polo de producción importante en la ciudad de Arequipa, en donde se ubican fábricas industriales dedicadas a distintos rubros de producción, las cuales vierten sus efluentes al alcantarillado que son dirigidas a una laguna de oxidación común, la cual se encuentra en colapso, entre estas fábricas hay las dedicadas a la producción de colágeno de grado alimenticio a partir de pieles de ganado vacuno, la cual produce efluentes como; aguas ácidas, alcalinas y aguas con un alto contenido orgánico, principalmente tejido conectivo no hidrolizado, entre otros, que son vertidas sin un tratamiento previo y con valores ambientales que superan los límites de dichos parámetros.

1.3 HIPÓTESIS

Ya que los procesos anaeróbicos son aplicados en el tratamiento de efluentes industriales es posible conseguir la depuración completa o parcial y la reducción de sus indicadores ambientales a límites por debajo de los máximos permisibles de los efluentes procedentes de la fábrica productora de colágeno hidrolizado por medio de la formación de biopelículas bacterianas en un Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente (R.A.F.A).

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo General

Depurar biológicamente efluentes de fábricas productoras de colágeno hidrolizado a través de biopelículas bacterianas utilizando un bioreactor anaerobio tipo RAFA.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar la composición fisicoquímica de los efluentes a tratar provenientes de la Fábrica productora de colágeno hidrolizado del Parque Industrial- Rio Seco – Arequipa.
- Rediseñar e implementar el sistema anaerobio en el Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente (RAFA) con soportes para el tratamiento de aguas residuales producidas por la fábrica productora de colágeno.
- Identificar la población microbiana presente en el sistema de depuración.
- Determinar la presencia de biopelículas en los soportes del sistema de depuración anaerobio haciendo uso de microscopía electrónica.
- Evaluar la depuración biológica de los efluentes en el Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente (RAFA).

1.5 VARIABLES

Las variables las podemos clasificar en variables independientes y variables dependientes, tal como se presenta en la Tabla 1 y Tabla 2.

1.5.1 Variables Independientes

Tabla 1. Variables Independientes del R.A.F.A.

Variables independientes	
Variable	Indicador
Sistema de depuración	Flujo de ingreso
Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente	Tiempo de Retención Hidráulica

1.5.2 Variables Dependientes

Tabla 2. Variables dependientes del R.A.F.A.

Variables Dependientes	
Variable	Indicador
Composición Microbiológica del Sistema Anaerobio	Cepas de bacterias
Formación de Biopelículas	Distribución
	Cantidad de Biopelículas
Composición Fisicoquímica de las Aguas tratadas	pH
	Oxígeno Disuelto (OD)
	Conductividad
	Salinidad
	Sólidos Disueltos totales
	Temperatura



CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 UBICACIÓN DE LA FÁBRICA PRODUCTORA DE COLÁGENO

La fábrica productora de colágeno se ubica en el Parque Industrial Río Seco, distrito de Cerro Colorado, provincia y departamento de Arequipa (ANEXO II). El acceso al Parque Industrial Río Seco se realiza de dos formas: por vía aérea desde Lima hasta Arequipa en un tiempo de una hora 15 minutos o por vía terrestre desde Lima hasta Arequipa a través de la Panamericana Sur en un viaje de 16 horas aproximadamente. En ambos casos, la distancia desde la ciudad de Arequipa hacia la planta es de aproximadamente 4.5 km y el acceso se realiza a través de una red vial asfaltada.

El PIRS se formó hace casi 30 años, la idea original era que allí operen sólo curtiembres, previamente instaladas en las riberas del río Chili, que recibía todas sus descargas. Luego se abrió a todo tipo de industria. A fines de los 90, la mayor parte de curtiembres, que conformaron la asociación Apymeco, se trasladaron a estos terrenos. Actualmente en el PIRS operan grandes fábricas de medicamentos, textiles, insumos alimenticios plantas experimentales entre otras, el 90% de las industrias en el PIRS están formadas por curtiembre. Algunas de las empresas que conforman el PIRS son las mencionadas, entre otras:

- A y B Inversiones Comerciales E.I.R.L.
- TEXTILON S.A.
- SAZONADORES BATAN
- INKABOR S.A.C.
- LABORATORIOS PORTUGAL S.A.
- Planta Industrial UNSA.
- Curtiembre La Unión S.R.L.
- Curtiembre Los Angeles.
- Curtiembre Maqui Leather S.A.C.
- Curtiembre Pacheco S.R.L.
- Curtiembre Vanu S.A.C.
- Curtiembre Global S.A.C.

- Disercur S.A.C.
- MAXSEIN E.I.R.L.
- INCOGEL.
- Procinsur S.R.L.
- Kero Ppx Grupo Inca-
- Postes Arequipa S.A.
- Curtiembre Austral S.R.L.
- Perú Leder Export S.A.C.

La lista nombrada anteriormente son algunas de las fábricas que se encuentran registradas entre otras, cabe resaltar que hay curtiembres clandestinas y nuevas fábricas en funcionamiento.

2.2 **NORMATIVAS GENERALES**

La Ley General de Aguas vigente, promulgada por Decreto Ley N° 17752, del 24 de junio de 1969, y sus reglamentos y modificaciones legislan sobre la materia dentro del ámbito nacional, (ANEXO VII), estableciendo que las aguas sin excepción alguna son de propiedad del Estado y que su dominio es inalienable e imprescriptible, por lo que el uso racional y justificado del agua sólo puede ser otorgado en armonía con el interés social y el desarrollo del país (Art. 1), formulando el Estado la política que rige su utilización y preservación (Art. 2°). También indica que “Ningún vertimiento de residuos sólidos, líquidos o gaseosos podrá ser efectuado en las aguas marítimas o terrestres del país sin la previa autorización de la Autoridad Sanitaria” (D.S. N° 261-69-AP, Art. 57°)

Clasificación de aguas residuales tratadas, R.J. N° 0291-2009-ANA

La calidad de los cuerpos de agua en general, ya sean terrestres o marítimas se clasifica respecto a sus usos de la siguiente manera:

- Clase I: aguas de abastecimiento doméstico con simple desinfección;

- Clase II: aguas de abastecimientos domésticos con tratamiento equivalente a procesos combinados de mezcla y coagulación, sedimentación, filtración y cloración aprobados por el Ministerio de Salud;
- Clase III: aguas para riego de vegetales de consumo crudo y bebida de animales;
- Clase IV: aguas de zonas de pesca de mariscos bivalvos;
- Clase V: aguas de zonas recreativas de contacto primario (baños y similares).
- Clase VI: aguas de zonas de preservación de fauna acuática y pesca recreativa y comercial.

Asimismo, el artículo 5° de la R.J. N° 0291-2009-ANA señala los valores límite para los diferentes cuerpos de agua, como se puede observar en la Tabla 4, según la R.J. N° 291-2009-ANA y que son similares a los establecidos por la Ley General de Aguas derogada (ANEXO VII).

Límites Máximos Permisibles y Valores Referenciales para las Actividades Industriales de Cemento, Cerveza, Curtiembre y Papel, D.S. N° 003-2002-PRODUCE

Los Límites Máximos Permisibles y Valores Referenciales para las Actividades Industriales de Curtiembre, se presentan en la Tabla 5.

Reglamento de Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua (D.S. N° 002-2008-MINAM)

El presente reglamento establece los estándares nacionales de calidad ambiental para el agua (ANEXO VII) Además, indica los planes de acción para mejorar la calidad del aire con el fin de establecer las estrategias, políticas y medidas necesarias para alcanzar los estándares primarios de calidad del aire en un plazo determinado.

Tabla 3. Valores Límite para Cuerpos de Agua según la R.J. N° 291-2009-ANA

Parámetros	Unidades	Uso de Cursos de Agua					
		I	II	III	IV	V	VI
Límites Bacteriológicos							
Coliformes Totales (1)	NMP/100ml	8,8	20 000	5 000	5 000	1 000	20 000
Coliformes Fecales (1)	NMP/100ml	0	4 000	1 000	1 000	200	4 000
Límites de Demanda Bioquímica de Oxígeno y de Oxígeno Disuelto							
Oxígeno Disuelto	mg/l	5	5	15	10	10	10
DBO (2)	mg/l	3	3	3	3	5	4
Límites de Sustancias Potencialmente Peligrosas							
Selenio	mg/l	0,01	0,01	0,05	-	0,005	0,01
Mercurio	mg/l	0,002	0,002	0,01	-	0,0001	0,0002
PCB	mg/l	0,001	0,001	(3)	-	0,002	0,002
Esteres estalatos	mg/l	0,0003	0,0003	0,0003	-	0,0003	0,0003
Cadmio	mg/l	0,01	0,01	0,05	-	0,0002	0,004
Cromo	mg/l	0,05	0,05	1	-	0,05	0,05
Níquel	mg/l	0,002	0,002	(3)	-	0,002	(4)
Cobre	mg/l	1	1	0,5	-	0,01	(5)
Plomo	mg/l	0,05	0,05	0,1	-	0,01	0,03
Zinc	mg/l	5	5	25	-	0,02	(4)
Cianuro WAD	mg/l	0,080	0,080	0,100	-	-	-
Cianuro Libre	mg/l	-	-	-	-	0,022	0,022
Fenoles	mg/l	0,0005	0,001	(3)	-	0,001	0,1
Sulfuros	mg/l	0,001	0,002	(3)	-	0,002	0,002
Arsénico	mg/l	0,1	0,1	0,2	-	0,01	0,05
Nitratos	mg/l	0,01	0,01	0,1	-	NA	NA
Límites de Sustancias o Parámetros Potencialmente Perjudiciales							
MEH (8)	mg/l	1,5	1,5	0,5	0,2	-	-
SAAM (9)	mg/l	0,5	0,5	1	0,5	-	-
CAE (10)	mg/l	1,5	1,5	5	5	-	-
CCE(11)	mg/l	0,3	0,3	1	1	-	-

Fuente: R.J. N° 0291-2009-ANA.

Notas:

- (1) Entendidos como valor máximo en 80% de 5 o más muestras mensuales
- (2) Demanda bioquímica de oxígeno, 5 días, 20°C
- (3) Valores a ser determinados. En caso de sospechar su presencia se aplicará los valores de columna V provisionalmente.
- (4) Pruebas de 96 horas multiplicadas por 0.02
- (5) Pruebas de 96 horas LC50 multiplicadas por 0.1
- (6) Los análisis a considerarse serán: para Usos I, II, III, CN Wad y para Usos V y VI, CN Libre.
- (7) Para cada uso se aplicará como límite de criterios de calidad de aguas establecidas por el EPA - EEUU.
- (8) Material Extractable en Hexano (grasa principalmente)
- (9) Sustancias activas de azul de Metileno (detergente principalmente)
- (10) Extracto de columna de carbón activo por alcohol (según método de flujo lento)
- (11) Extracto de columna de carbón activo por cloroformo (según método de flujo lento)

Tabla 4. Límites Máximos Permisibles (LMP) y Valores Referenciales (V.R.) de efluentes para alcantarillado de las actividades de curtiembre.

Parámetros	Unidades	L.M.P.		V.R.
		En curso	Nueva	
pH	Unidad		6.0-9.0	6.5-9.5
Temperatura	°C	35	35	
Sólidos Susp. Tot.	mg/l		500	1000
Oxígeno Disuelto*	mg/l			
Aceites y Grasas	mg/l	100	50	
DBO5	mg/l		500	1000
DQO	mg/l		1500	2500
Sulfuros	mg/l		3	10
Cromo VI	mg/l		0.4	0.5
Cromo Total	mg/l		2	5
N-NH4	mg/l		30	50
Coliformes Fecales	NMP/100 ml			
Aluminio	mg/L			
Arsénico	mg/L			
Boro	mg/L			
Cadmio	mg/L			
Cianuro	mg/L			
Cobre	mg/L			
Manganeso	mg/L			
Mercurio	mg/L			
Níquel	mg/L			
Plomo	mg/L			
Sulfatos	mg/L			
Sulfuros	mg/L			
Zinc	mg/L			
Sólidos Sedimentables *	MI/hr			

Fuente: D.S. N° 003-2002-PRODUCE

2.3 COMPOSICIÓN DE LAS AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES

El agua residual contiene materias contaminadoras solubles, coloidales e insolubles. Tales materias representan gran carga contaminante para el medio receptor y pueden modificarlo si no se trata el agua que allí se vierte.

Cuando la proporción de agua residual industrial no predomina y está exenta de materias tóxicas, la depuración biológica de esta agua mixta no plantea problemas. A menudo, el agua residual industrial presenta polución unilateral; así es que hay que mezclarla primeramente con el agua doméstica para poder proceder a una depuración biológica, pues el agua residual doméstica contiene sustancias nutritivas necesarias a los microorganismos.

Cuando el agua industrial contiene materias susceptibles de dañar la canalización puede interferir con la depuración es preciso proceder a un tratamiento previo apropiado. Los nutrientes aceleran el crecimiento de organismos y pueden producir la eutrofización; la degradación de la materia orgánica puede consumir el suministro de oxígeno disuelto vital en el agua (DBO, DQO). Como sustancias indeseables se catalogan aquellas que producen color en las aguas, aumentan su turbiedad, o cubren su superficie, sedimentos y orillas. Finalmente existen químicos que son específicamente dañinos para la vida acuática y otros organismos, incluyendo el hombre que puede llegar a estar en contacto con ellos o ingerirlos. Los contaminantes también pueden alterar el pH de las aguas e impartirle olores y sabores indeseables. Debido a que no puede ser cuantificado, algunos científicos niegan la calidad estética del agua y otras formas de daño ambiental, ya que este es el aspecto de deterioro ambiental más obvio para el público en general, (Barba Ho, 2002).

Además de ser contaminada químicamente el agua puede ser térmicamente afectada y esta forma de contaminación puede traer consecuencias químicas desastrosas tales como la reducción de oxígeno disuelto. Las aguas residuales se

caracterizan por su composición física, química y biológica, tal como se puede observar en la Tabla 5. Las principales propiedades físicas del agua residual así como sus principales constituyentes químicos y biológicos y su procedencia.

Las aguas residuales domésticas y las agroindustriales contienen diversos compuestos potencialmente dañinos, (Madera, *et al.*, 2005). La descarga de aguas residuales crudas en el ambiente acuático causa daños considerables a muchas formas de vida presentes en los ecosistemas.

Tabla 5. Características Físicas, Químicas y Biológicas del Agua Residual y su Procedencia.

Características	Procedencia
<i>Propiedades físicas</i>	
Color	– Agua residual doméstica e industrial, desintegración natural de materiales orgánicos
Olor	– Agua residual en descomposición, vertidos industriales
Sólidos	– Agua de suministro, agua residual doméstica e industrial, erosión del suelo, infiltración y conexiones incontroladas
Temperatura	– Aguas residuales domésticas e industriales
<i>Constituyentes Químicos</i>	
<i>Orgánicos</i>	
Carbohidratos	– Aguas residuales, comerciales e industriales
Grasas animal aceites y grasas	– Agua residual doméstica, comercial e industriales
Pesticidas	– Residuos agrícolas
Fenoles	– vertidos industriales
Proteínas	– Aguas residuales domésticas y comerciales
Agentes Tenso activos	– Aguas residuales domésticas e industriales, – Desintegración natural de materiales orgánicos

Fuente: (Barba Ho, 2002).

Tabla 5. (CONT). Características Físicas, Químicas y Biológicas del Agua Residual y su Procedencia.

Características	Procedencia
<i>Constituyentes Químicos</i>	
<i>Inorgánicos</i>	
Alcalinidad	<ul style="list-style-type: none"> – Aguas residuales doméstica, agua de suministro, infiltración de agua subterránea
Cloruros	<ul style="list-style-type: none"> – Agua de suministro, aguas residuales domésticas, infiltración del agua subterránea, ablandadores de agua
Metales pesados	<ul style="list-style-type: none"> – Vertidos industriales
Nitrógeno	<ul style="list-style-type: none"> – Aguas residuales domésticas y residuos agrícolas
pH	<ul style="list-style-type: none"> – Vertidos industriales
Fósforo	<ul style="list-style-type: none"> – Aguas residuales domésticas e industriales, excurrentía residual.
Azufre	<ul style="list-style-type: none"> – Aguas de suministro, aguas residuales domésticas e industriales
Compuestos tóxicos	<ul style="list-style-type: none"> – Vertidos industriales
<i>Gases</i>	
Sulfuro de Hidrógeno	<ul style="list-style-type: none"> – Descomposición de aguas residuales domésticas
Metano	<ul style="list-style-type: none"> – Descomposición de aguas residuales domésticas
Oxígeno	<ul style="list-style-type: none"> – Aguas de suministro, infiltración del agua superficial
<i>Constituyentes Biológicos</i>	
Animales	<ul style="list-style-type: none"> – Cursos de agua y plantas de tratamiento
Plantas	<ul style="list-style-type: none"> – Cursos de agua y plantas de tratamiento
Protistas	<ul style="list-style-type: none"> – Aguas residuales domésticas, plantas de tratamiento
Virus	<ul style="list-style-type: none"> – Aguas residuales domésticas –

Fuente: (Barba Ho, 2002).

Igualmente, esta situación generó un riesgo potencial para la salud asociado a un gran número de enfermedades que son responsables del 80% de la morbilidad y mortalidad en los países del Tercer Mundo, (Madera ,*et al.*,2005).

Hay un gran número de contaminantes del agua que se pueden clasificar de diferentes maneras, (Barba Ho, 2002). Una posibilidad bastante usada es agruparlos en siete grupos:

a. Microorganismos patógenos: Son los diferentes tipos de bacterias, virus, protozoos y otros organismos que transmiten enfermedades como el cólera, tífus, gastroenteritis diversas, hepatitis, etc. En los países en vías de desarrollo las enfermedades producidas por estos patógenos son uno de los motivos más importantes de muerte prematura, sobre todo de niños. Normalmente estos microbios llegan al agua en las heces y otros restos orgánicos que producen las personas infectadas. Por esto, un buen índice para medir la salubridad de las aguas, en lo que se refiere a estos microorganismos, es el número de bacterias coliformes presentes en el agua. La OMS (Organización Mundial de la Salud) recomienda que en el agua para beber haya cero colonias de coliformes por 100 mL de agua, (Barba Ho, 2002).

b. Desechos orgánicos: Son el conjunto de residuos orgánicos producidos por los seres humanos, ganado, etc. Incluyen heces y otros materiales que pueden ser descompuestos por bacterias aeróbicas, es decir en procesos con consumo de oxígeno. Cuando este tipo de desechos se encuentran en exceso, la proliferación de bacterias agota el oxígeno, y ya no pueden vivir en esta agua los peces y otros seres vivos que necesitan oxígeno. Buenos índices para medir la contaminación por desechos orgánicos son la cantidad de oxígeno disuelto (OD) en agua, o la DBO (Demanda Bioquímica de oxígeno).

c. Sustancias químicas inorgánicas: En este grupo están incluidos ácidos, sales y metales tóxicos como el mercurio y el plomo. Si están en cantidades altas pueden

causar graves daños a los seres vivos, disminuir los rendimientos agrícolas y corroer los equipos que se usan para trabajar con el agua.

d. Nutrientes vegetales inorgánicos: Nitratos y fosfatos son sustancias solubles en agua que las plantas necesitan para su desarrollo, pero si se encuentran en cantidad excesiva inducen el crecimiento desmesurado de algas y otros organismos provocando la eutrofización de las aguas. Cuando estas algas y otros vegetales mueren, al ser descompuestos por los microorganismos, se agota el oxígeno y se hace imposible la vida de otros seres vivos. El resultado es un agua maloliente e inutilizable.

e. Compuestos orgánicos: Muchas moléculas orgánicas como petróleo, gasolina, plásticos, plaguicidas, disolventes, detergentes, etc. acaban en el agua y permanecen, en algunos casos, largos períodos de tiempo, porque, al ser productos fabricados por el hombre, tienen estructuras moleculares complejas difíciles de degradar por los microorganismos.

f. Sedimentos y materiales suspendidos: Muchas partículas arrancadas del suelo y arrastradas a las aguas, junto con otros materiales que hay en suspensión en las aguas, son, en términos de masa total, la mayor fuente de contaminación del agua. La turbidez que provocan en el agua dificulta la vida de algunos organismos, y los sedimentos que se van acumulando destruyen sitios de alimentación o desove de los peces, rellenan lagos o pantanos y obstruyen canales, ríos y puertos.

g. Agentes tensoactivos: Los agentes tensoactivos están formados por moléculas de gran tamaño, ligeramente solubles en agua, y que son responsables de la aparición de espumas en las plantas de tratamiento y en la superficie de los cuerpos de agua receptores de los vertidos de agua residual. Tienden a concentrarse en la interfase aire-agua, (Cajigas, 1995). La determinación de la presencia de elementos tensoactivos se realiza analizando el cambio de color de una muestra normalizada de azul de metileno, (Cajigas, 1995).

h. Contaminación térmica: El agua caliente liberada por centrales de energía o procesos industriales eleva, en ocasiones, la temperatura de ríos o embalses con lo que disminuye su capacidad de contener oxígeno y afecta a la vida de los organismos.

2.3.1 Calidad de las Aguas Residuales Domésticas (ARD) e Industriales

Olor: La determinación del olor se ha convertido en cada vez más importante, ya que el público en general se ha convertido en más preocupado por el buen funcionamiento de las instalaciones de tratamiento de aguas residuales. El olor de las aguas residuales fresco no es por lo general ofensiva, pero una variedad de compuestos olorosos se libera cuando aguas residuales se descomponen biológicamente bajo condiciones anaeróbicas. Normalmente, los olores son debido a los gases liberados durante el proceso de descomposición de la materia orgánica. El agua residual reciente tiene un olor peculiar, algo desagradable, que resulta más tolerable que el del agua residual séptica. El olor más característico del agua residual séptica es el debido a la presencia del sulfuro de hidrógeno que se produce al reducirse los sulfatos a sulfitos por acción de microorganismos anaerobios. Las aguas residuales industriales pueden contener compuestos olorosos en sí mismos, o compuestos con tendencia a producir olores durante los diferentes procesos de tratamiento, (Cajigas, 1995).

La problemática de los olores está considerada como la principal causa de rechazo a la implantación de instalaciones de tratamiento de aguas residuales, (Cajigas, 1995).

Temperatura: La temperatura del agua residual suele ser siempre más elevada que la del agua de suministro, hecho principalmente debido a la incorporación de agua caliente procedente de las casas y los diferentes usos industriales. Dado que el calor específico del agua es mucho mayor que el del aire, las temperaturas registradas de las aguas residuales son más altas que la temperatura del aire durante la mayor parte del año, y sólo son menores durante los meses calurosos del verano. En función de la situación geográfica, la temperatura media anual del agua residual varía entre 10 y

21°C, (Cajigas, 1995). La temperatura del agua es un parámetro muy importante dada su influencia, tanto sobre el desarrollo de la vida acuática como sobre las reacciones químicas y velocidades de reacción, así como sobre la aptitud del agua para ciertos usos útiles. Por otro lado, el oxígeno es menos soluble en agua caliente que en agua fría. El aumento en las velocidades de las reacciones químicas que produce un aumento de la temperatura, combinado con la reducción del oxígeno presente en las aguas superficiales, es causa frecuente de agotamiento de las concentraciones de oxígeno disuelto durante los meses de verano. Estos efectos se ven amplificados cuando se vierten cantidades considerables de agua caliente a las aguas naturales receptoras. Es preciso tener en cuenta que un cambio brusco de temperatura puede conducir a un fuerte aumento en la mortalidad de la vida acuática. Además, las temperaturas anormalmente elevadas pueden dar lugar a una indeseada proliferación de plantas acuáticas y hongos, (Cajigas, 1995).

La temperatura óptima para el desarrollo de la actividad bacteriana se sitúa entre los 25° y 35°C. Los procesos de digestión aerobia y de nitrificación se detienen cuando se alcanzan los 50°C. A temperaturas de alrededor de 15°C, las bacterias productoras de metano cesan su actividad, mientras que las bacterias nitrificantes autótrofas dejan de actuar cuando la temperatura alcanza valores cercanos a los 5°C. Si se alcanzan temperaturas del orden de 2°C, incluso las bacterias quimioheterótrofas que actúan sobre la materia carbonosa dejan de actuar, (Cajigas, 1995).

Materias orgánicas: El 75% de los sólidos en suspensión y el 40% de los sólidos filtrables de un agua residual de concentración media son de naturaleza orgánica. Son sólidos que provienen de los reinos animal y vegetal, así como de las actividades humanas relacionadas con la síntesis de compuestos orgánicos. Los compuestos orgánicos están formados normalmente por combinaciones de carbono, hidrogeno y oxígeno, con la presencia en determinados casos, de nitrógeno. También pueden estar presentes otros elementos como azufre, fosforo o hierro. Los principales grupos de sustancias orgánicas presentes en el agua residual son las proteínas (40%-60%),

hidratos de carbono (25%-50%), y grasas y aceites (10%). Otro compuesto orgánico con importante presencia en el agua residual es la urea, principal constituyente de la orina. No obstante, debido a la velocidad del proceso de descomposición de la urea, raramente está presente en aguas residuales que no sean muy recientes.

Junto con las proteínas, los hidratos de carbono, las grasas y los aceites y la urea, el agua residual también contiene pequeñas cantidades de gran número de moléculas orgánicas sintéticas cuya estructura puede ser desde muy simple a extremadamente compleja, (Cajigas, 1995). Por otro lado, dado el incremento en la síntesis de moléculas orgánicas, el número de ellas presentes en las aguas residuales va en aumento cada año. En los últimos años este hecho ha complicado notablemente los procesos de tratamiento de aguas debido a la imposibilidad o a la extremada lentitud de los procesos de descomposición biológica de dichos compuestos, (Cajigas, 1995).

Las materias orgánicas son degradadas por las bacterias en el curso del tratamiento biológico. En cambio, las combinaciones inorgánicas disueltas no son modificadas en el curso del proceso de tratamiento. Las materias inorgánicas no disueltas, tales como la arena, la cal, los lodos, hidróxidos de hierro o de aluminio son eliminados del agua residual al mismo tiempo que las materias orgánicas, por una depuración mecánica en cuyo transcurso se intenta separar, lo más posible, las materias orgánicas de las inorgánicas.

Proteínas; las proteínas son los principales componentes del organismo animal, mientras que su presencia es menos relevante en el caso de organismos vegetales. Están presentes en todos los alimentos de origen animal o vegetal cuando están crudos. El contenido en proteínas varía mucho entre los pequeños porcentajes presentes en fruta con altos contenido de agua como los tomates o en los tejidos grasos de las carnes y los porcentajes elevados que se dan en alubias o carnes magras.

La composición química de las proteínas es muy compleja e inestable, pudiendo adoptar muchos mecanismos de descomposición diferentes. Algunas son solubles en agua mientras que otras no son solubles.

Todas las proteínas contienen carbono, común a todas las sustancias orgánicas, oxígeno e hidrógeno. Además, como característica distintiva, contienen una elevada cantidad de nitrógeno, entorno al 16%. En muchos casos, también contienen azufre, fósforo y hierro. La urea y las proteínas son los principales responsables de la presencia de nitrógeno en las aguas residuales. La existencia de grandes cantidades de proteínas en un agua residual puede ser origen de olores fuertemente desagradables debido a los procesos de descomposición.

Hidratos de carbono: Ampliamente distributivos por la naturaleza, los hidratos de carbono incluyen azúcares, almidones, celulosa y fibra de madera, compuestos todos ellos presentes en el agua residual. Los hidratos de carbono contienen carbono, oxígeno e hidrogeno. Los hidratos de carbono comunes contienen seis átomos de carbono por molécula, (Cajigas, 1995).

Algunos hidratos de carbono son solubles en agua principalmente los azúcares, mientras que otros como los almidones, son insolubles. Los azúcares tienen tendencia a descomponerse; las enzimas de determinadas bacterias y fermentos dan lugar a un proceso de fermentación que incluye la producción de alcohol y dióxido de carbono. Los azúcares tienen tendencia a descomponerse; las enzimas de determinadas bacterias y fermentos dan lugar un proceso de fermentación que incluye la producción de alcohol y dióxidos de carbono. Los almidones por otro lado, son más estables, pero se convierten en azúcares por la actividad bacteriana así como por la acción de ácidos minerales diluidos, (Cajigas, 1995).

Desde el punto de vista del volumen y la resistencia a la descomposición, la celulosa es el hidrato de carbono cuya presencia en el agua residual es más importante. La destrucción de la celulosa es un proceso que se desarrolla sin dificultad en el terreno,

principalmente gracias a la actividad de diversos hongos, cuya acción es especialmente notable en condiciones ácida, (Cajigas, 1995).

Materias inorgánicas: Son varios los componentes inorgánicos de las aguas residuales y naturales que tienen importancia para la determinación y control de la calidad del agua. Las concentraciones de las sustancias inorgánicas en el agua aumentan tanto por el contacto del agua con las diferentes formaciones geológicas, como por las aguas residuales, tratadas o sin tratar, que a ella se descargan. Las aguas naturales disuelven parte de las rocas y minerales con los que entran en contacto. Las aguas residuales, salvo el caso de determinados residuos industriales, no se suelen tratar con el objetivo específico de eliminar los constituyentes inorgánicos que se incorporan durante el ciclo de uso. Las concentraciones de constituyentes inorgánicos aumentan, igualmente, debido al proceso natural de evaporación que elimina parte del agua superficial y deja las sustancias inorgánicas en el agua. Puesto que las concentraciones de los diferentes constituyentes inorgánicos pueden afectar mucho a los usos del agua, conviene examinar la naturaleza de algunos de ellos, (Cajigas, 1995).

Materias solubles: Se entiende por materias solubles, todas las materias que en la evaporación de una muestra filtrada de agua residual, quedan en forma de residuo seco. Se trata principalmente de sales inorgánicas y de numerosas combinaciones orgánicas, solubles en el agua.

Mientras las sales, como por ejemplo, los cloruros y los sulfatos, no son modificadas durante el tratamiento del agua residual, las combinaciones orgánicas disueltas sufren una importante degradación bacteriana.

Aceites y Grasas: Las grasas animales y los aceites son el tercer componente, en importancia, de los alimentos. El término grasa, de uso extendido, engloba las grasas animales, aceites, ceras y otros constituyentes presentes en las aguas residuales. El contenido de grasa se determina por extracción de la muestra con triclorotetrafluoroetano,

debido a que la grasa es soluble en él. También es posible la extracción de otras sustancias, principalmente aceites minerales como el keroseno, aceites lubricantes y aceites de materiales bituminosos empleados en la construcción de firmes de carreteras.

Las grasas animales y los aceites son compuestos de alcohol (ésteres) o glicerol (glicerina) y ácidos grasos. Los glicéridos de ácidos grasos que se presentan en estado líquido a temperaturas normales se denominan aceites, mientras los que se presentan en estado sólido reciben el nombre de grasas. Químicamente son muy parecidos, y están compuestos por carbono, oxígeno e hidrógeno en diferentes proporciones (Cajigas, 1995).

Color: Históricamente, para la descripción de un agua residual, se empleaba el término condición junto con la composición y la concentración. Este término se refiere a la edad del agua residual, que puede ser determinada cualitativamente en función de su color y su olor. El agua residual reciente suele tener un color grisáceo. Sin embargo, al aumentar el tiempo de transporte en las redes de alcantarillado y al desarrollarse condiciones más próximas a las anaerobias, el color del agua residual cambia gradualmente de gris a gris oscuro, para finalmente adquirir color negro. Llegado este punto, suele clasificarse el agua residual como séptico. Algunas aguas residuales industriales pueden añadir color a las aguas residuales domésticas. En la mayoría de los casos, el color gris, gris oscuro o negro del agua residual es debido a la formación de sulfuros metálicos por reacción del sulfuro liberado en condiciones anaerobias con los metales presentes en el agua residual, (Cajigas, 1995).

2.3.2. Proceso de depuración

La depuración consistirá en la eliminación de la contaminación e impurezas incorporadas en las aguas residuales, (Hernández Muñoz, 2001). Los procesos

utilizables para la depuración de las aguas dependen del tipo de afluente, pudiéndose clasificar en:

– Procesos físicos

Los métodos de tratamiento en los que predomina la acción de fuerzas físicas se conocen como proceso físico. Puesto que la mayoría de estos métodos han evolucionado directamente a partir de las primeras observaciones de la naturaleza por parte del hombre, fueron los primeros en ser aplicados al tratamiento de las aguas residuales. El desbaste, mezclado, floculación, sedimentación, floculación, transferencia de gases y filtración son operaciones unitarias típicas, (Cajigas, 1995).

– Procesos químicos

Los métodos de tratamiento en los cuales la eliminación o conversión de los contaminantes se consigue con la adición de productos químicos o gracias al desarrollo de ciertas reacciones químicas, se conocen como procesos químicos unitarios. Fenómenos como la precipitación, adsorción y la desinfección son ejemplos de los procesos de aplicación más común en el tratamiento de las aguas residuales. En la precipitación química, el tratamiento se lleva a cabo produciendo un precipitado que se recoge por sedimentación. En la mayoría de los casos, el precipitado sedimentado no sólo contendrá los constituyentes que puedan haber reaccionado con los productos químicos añadidos, sino que también estará compuesto por algunas sustancias arrastradas en el fondo durante la sedimentación de precipitado, (Cajigas, 1995).

– Procesos biológicos

Los procesos de tratamiento en los que la eliminación de los contaminantes se lleva a cabo gracias a la actividad biológica se conocen como procesos biológicos unitarios. La principal aplicación de los procesos biológicos es la eliminación de las sustancias orgánicas biodegradables presentes en el agua residual en forma, tanto coloidal, como en disolución. Básicamente, estas sustancias se convierten en

gases que se liberan a la atmósfera y en tejido celular biológico eliminable por sedimentación. Los tratamientos biológicos también se emplean para eliminar el nitrógeno contenido en el agua residual. Mediante un adecuado control del medio, el agua residual se puede tratar biológicamente en la mayoría de los casos (Cajigas, 1995).

2.4 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO EN LA FÁBRICA DE COLÁGENO – PARQUE INDUSTRIAL, RIO SECO- AREQUIPA

El proceso para la producción de colágeno por la fábrica productora de colágeno hidrolizado sigue las siguientes etapas.

Recepción y Selección: La materia prima es acopiada de diferentes curtiembres y trasladada a las instalaciones de la planta. Se separan los retazos a ser recortados de las patas y cachetes, esto según la calidad de colágeno a producir.

Recortado y Pesado: El recortado se efectúa de forma manual con cuchillos artesanales, la materia prima es extendida sobre caballetes de madera para realizar el recorte, cada pieza recortada tiene el tamaño promedio de un pie². La finalidad del recortado es la obtención de piezas de carnaza en tamaños pequeños de modo que sea manejable en su traslado y procesado. Luego se pesa un total de 720 Kg materia prima, este es un lote de materia prima que ingresa al proceso de producción.

Pre - lavado: La materia prima ya recortada y pesada es cargada en las piletas de lavado donde se hace el lavado solo con agua fría por un tiempo de ½ hora, luego de este tiempo se purga el agua residual de lavado y se descargan las piletas llevando la materia prima lavada hacia el área de caleo.

Caleo: Se prepara un baño de cal que consiste en una solución de agua (165 L) con cal (18 Kg.). La materia prima es bañada en esta solución y dispuesta en pozos de caleo

por un tiempo de 3 a 4 semanas.

Desencalado: El desencalado se realiza en botales, consiste en realizar un primer lavado de materia prima (03 partidas por día 1080 Kg. de materia prima o carnaza) solo con agua fría (1 m^3), una vez purgada el agua residual de lavado se continua con un segundo lavado.

Neutralizado : Consiste en recargar agua fría (1 m^3) al botal y adicionar ácido sulfúrico (10 Kg) a pH 7, contando con que los botales existentes se encuentren cargados cada uno con 1690 Kg de materia prima.

El tiempo de neutralizado se encuentra en función de las variaciones de pH, para lo cual se hacen mediciones por cada hora de agitación.

Enjuague: Después de haber purgado el agua residual de neutralizado, se realiza el enjuague en dos etapas; la primera etapa del enjuague consiste en recargar nuevamente el botal con agua fría (1 m^3) y una pisca de sulfato de aluminio (5 g).

Luego de purgar el agua del primer enjuague se procede con la segunda etapa del enjuague el cual consiste en un lavado solo con agua fría (1 m^3).

Cocinado: El cocinado es la etapa en la cual se obtiene el colágeno disuelto o más conocido como gelatina. La materia prima desencalada proveniente del último enjuague es colocada en las pailas, se adiciona agua fría. Las cocinas permanecen encendidas a fuego alto por espacio de 6 horas., luego se baja el fuego al mínimo por 3 horas más Las pailas deben alcanzar una temperatura máxima de 75°C o menor de 70 a 75°C .

Luego de 6 horas de cocción se realiza la purga del primer caldo que es filtrado y posteriormente envasado.

Envasado en caliente y Coagulación: El envasado de los caldos filtrados se realiza de forma manual en bandejas metálicas y plásticas, es aquí donde se mantienen en reposo

para su coagulación natural a temperatura ambiente bajo sombra. El tiempo de coagulación más usual es de 12 horas.

Desmolde y Corte: Cada una de las bandejas con el caldo coagulado, pasan por un baño de agua tibia lo que ayudara a retirar el molde y pasar a la máquina de corte o tableteado. La máquina de corte es graduada en grosor antes de realizar el corte de los moldes, es así que se obtienen las tabletas de gelatina coagulada que regresarán a la bandeja de moldeo para ser trasladadas al área de extendido.

El grosor de las tabletas es definido según las condiciones de humedad de la estación en curso.

Extendido: El extendido de las tabletas de gelatina se realiza sobre bastidores, a la exposición del aire y el sol por el tiempo que sea necesario para su secado siendo el más usual un tiempo de secado promedio de 3 a 4 días.

Molienda o Refinado: Luego de realizar el chancado de las tabletas secas, el producto triturado es refinado con la molienda, después de la molienda se obtendrá el colágeno de primera, segunda y tercera calidad, todos estos listos para su envasado.

Como se observa en la Figura 1 el diagrama de flujo del proceso de producción de la Fábrica de colágeno, se observa que las etapas son múltiples al igual que los residuos emitidos.

En la Figura 1, se observa el diagrama de flujo del proceso de producción de colágeno hidrolizado.

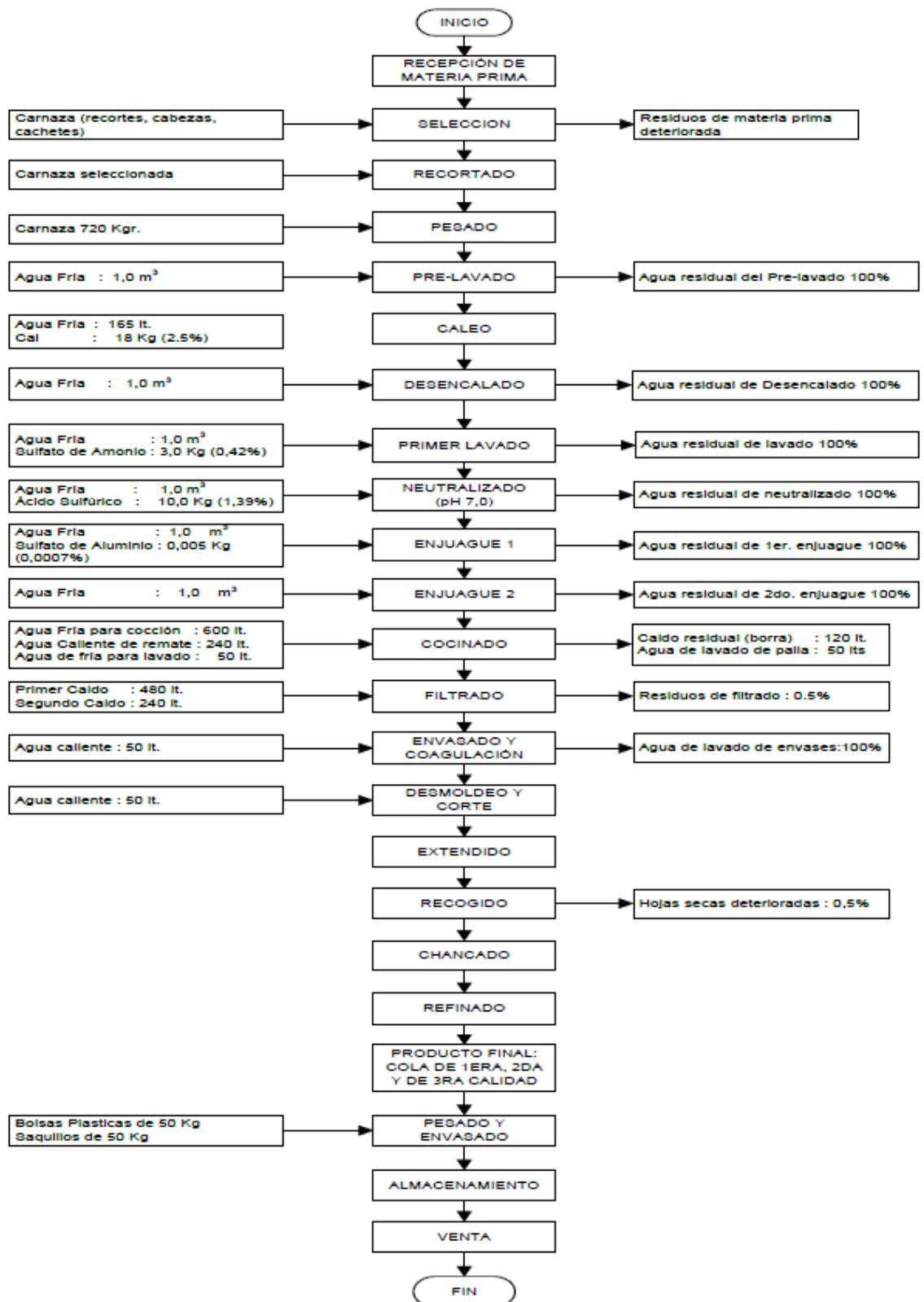


Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de producción- Fábrica de Colas

Fuente: Fábrica productora de colágeno - PIRS

2.5 REACTOR ANAEROBIO DE FLUJO ASCENDENTE (R.A.F.A.)

Los reactores RAFA (Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente) fueron desarrollados para el tratamiento de aguas residuales industriales con una concentración de materia orgánica media y elevada.

En este proceso, el residuo que se quiere tratar se introduce por la parte inferior del reactor. El agua residual fluye en sentido ascendente a través de un manto de lodos constituido por gránulos o partículas formadas biológicamente. El tratamiento se produce al entrar en contacto el agua residual y el lodo microbiológico. Los gases producidos en condiciones anaeróbicas (principalmente metano y dióxido de carbono) provocan una circulación interior que colabora en la formación y mantenimiento de los gránulos. Parte del gas generado dentro del manto de lodos se adhiere a las partículas biológicas.

Tanto el gas libre como las partículas a las que se ha adherido el gas, ascienden hacia la parte superior del reactor. Allí se produce la liberación del gas adherido a las partículas, al entrar éstas en contacto con unos deflectores desgasificadores. Las partículas desgasificadas suelen volver a caer hasta la superficie del manto de lodo. El gas libre y el gas liberado de las partículas de la superficie del manto de lodo son capturados en una bóveda de recogida de gases, instalada en la parte superior del reactor, (Huishoff , *et al.*, 1983).

El líquido, que contiene algunos sólidos residuales y algunos de los gránulos biológicos, conduce a una cámara de sedimentación, donde se separan los sólidos residuales, (Fang,*et al.*, 1995). Los sólidos separados se conducen a la superficie del manto de lodo a través del sistema de deflectores. Para mantener el manto de lodo en suspensión, es necesario que la velocidad de flujo ascendente tenga un valor entre 0,6 y 0,9 m/h. La idea básica de este proceso es que el lodo anaerobio tenga buenas características de sedimentación y si les son favorables las condiciones físicas y químicas del proceso de floculación, (Lorenzo, *et al.*, 2006). Si se logran estas

condiciones, la retención del lodo, o sea, los microorganismos, dependerán principalmente de una separación efectiva del gas producido en el proceso (especialmente de las burbujas de gas atrapadas en el lodo). Después de la separación del gas la sedimentación del lodo procede favorablemente. En el RAFA estos objetivos se cumplen equipando el reactor en la parte superior con un separador sólido - gas y manteniendo un mezclado mecánico y/o la recirculación del lodo a niveles mínimos, (Lorenzo,*et al.*, 2006).

En resumen, el reactor RAFA es un tanque en el cual las aguas residuales son introducidas en la parte inferior y salen por la parte superior, estableciendo un flujo ascendente, siendo la mezcla del sistema promovida por el flujo ascensional del fluido y por las burbujas de gas, (Arango Bedoya ,*et al.*, 2009). Un reactor RAFA, consiste básicamente de 3 zonas:

- Zona de entrada: donde el efluente a ser tratado es uniformemente distribuido en la base del reactor y encaminado ascensionalmente a la zona de digestión.
- Zona de digestión: el efluente pasa a través de un lecho de bacterias anaerobias donde los contaminantes son degradados y transformados en gas.
- Zona de sedimentación: está localizada en la parte superior del reactor, allí sucede la separación del gas, sólido y líquido.

Se puede observar en la Figura 2, un esquema del RAFA, señalando sus partes principales.

El diseño más común es el Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente (RAFA), el cual está siendo extensamente aplicado al tratamiento de aguas residuales de la industria agroalimentaria, (Korsak, 2008). Es el diseño más simple de entre los sistemas con retención de biomasa y el único limitante para su aplicación es que la biomasa activa granule, esto es, que forma agregados de alta densidad. Para ello es determinante la composición del agua a tratar y mantener una operación adecuada, (Arango Bedoya, *et al.*, 2009).

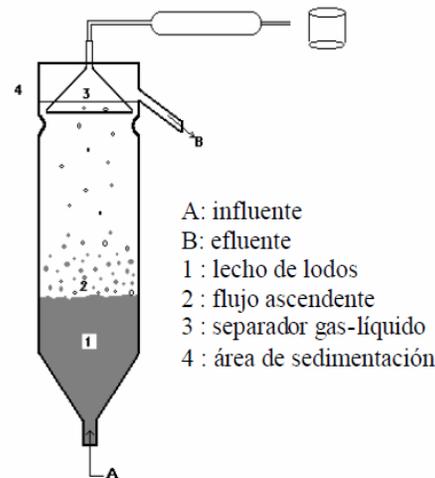


Figura 2. Representación de un reactor tipo RAFA con sus diferentes partes

Fuente: (Bermúdez Savón, *et al.*, 2003)

La digestión anaerobia es un proceso biológico complejo en el que la materia orgánica, en ausencia de oxígeno y mediante la acción de distintos grupos de microorganismos, es transformada por acción de microorganismos anaerobios y facultativos en gas carbónico y gas metano, (Cervantes Zepeda, *et al.*, 2011).

Debido al metabolismo anaerobio se tiene una baja producción de biomasa residual y alta retención de esta en el interior del reactor ya que los microorganismos se agrupan en forma de gránulos, (Zinder, 1993). Tales conformaciones constituyen consorcios microbianos, en los que se encuentran bacterias fermentativas, acidogénicas, acetogénicas, metanogénicas, sulfato reductoras. Las reacciones que suceden son complejas, aunque se pueden dividir en cuatro etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis, tal como se presenta en la Figura 3 los pasos de la digestión anaerobia.

En la etapa de hidrólisis las moléculas complejas (proteínas, carbohidratos y lípidos) se transforman en compuestos solubles (aminoácidos, azúcares, ácidos grasos) mediante la acción de enzimas extracelulares excretados por las bacterias. Esta primera fase es considerada muy lenta.

En la etapa de acidogénesis los productos solubles resultantes de la hidrólisis son convertidos en compuestos orgánicos simples con el auxilio de endoenzimas en el interior de las células bacterianas. Los productos fermentados son excretados por las células, entre ellos ácido propiónico, butírico, iso-butírico, valérico, acético, alcoholes, ácido láctico, dióxido de carbono e hidrógeno.

En la fase de acetogénesis los productos de la etapa anterior son convertidos en acetato, dióxido de carbono e hidrógeno y, finalmente, en la metanogénesis los productos anteriores son convertidos en gas metano.

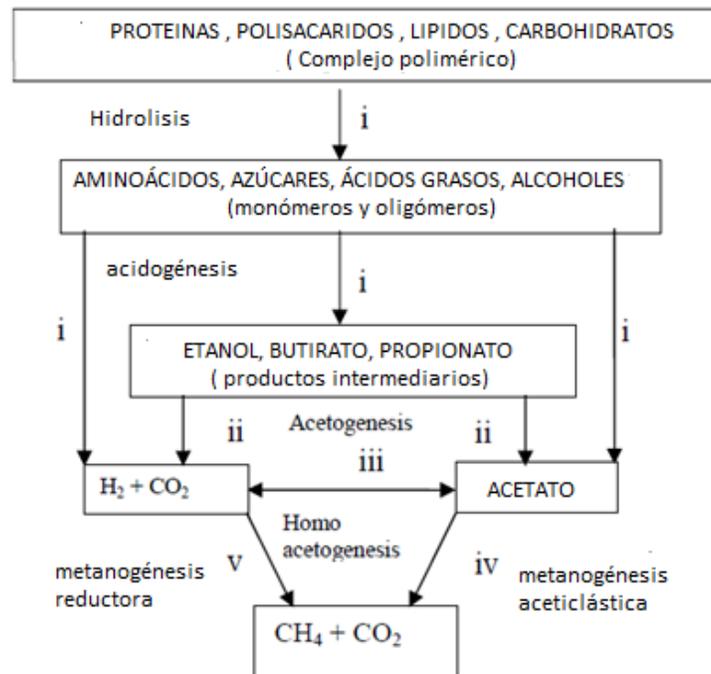


Figura 3. Presentación esquemática de los principales pasos en la digestión anaerobia.

Fuente: (Seghezzo, 2004)

En general las bacterias metanogénicas son más sensibles a las condiciones del medio y tienen una tasa de crecimiento más lenta, por eso esta última fase es la más delicada y limita la velocidad del proceso de digestión anaerobia, (Arango Bedoya, *et al.*, 2009). Estas bacterias son altamente sensibles a las perturbaciones del proceso como sobrecargas orgánicas e hidráulicas, así como presencia de sustancias tóxicas o

inhibidoras. El pH afecta especialmente a dichos microorganismos, el cual el pH óptimo debe estar en el rango de 6.5- 7.5, (Molina Pérez, 2007).

2.5.1 Factores que afectan el rendimiento y el diseño de reactores anaerobios de flujo ascendente con soportes.

Muchos son los factores que afectan las eficiencias de remoción de carga contaminante en este tipo de tratamiento, ya que la anaerobiosis es un proceso complejo sobre cuya naturaleza constantemente se hacen nuevos descubrimientos y se revalúan teorías. Entre estos factores podemos contar, (Young, 1991).

- El Tiempo de Residencia Hidráulico (TRH).
- El medio de soporte (área superficial, porosidad, altura del lecho).
- Configuración de los reactores.
- Temperatura, pH y nutrientes.

Tiempo de Residencia Hidráulico: El tiempo de residencia hidráulico, parece ser el principal factor que influye en el rendimiento de los filtros anaerobios de flujo ascendente. Tiempos de retención altos favorecen el contacto íntimo tanto con la película como del *floc* granular suspendido, lo que se refleja en una mayor producción de microorganismo y una mayor eficiencia de remoción de contaminantes, (Young, 1991).

El tiempo de retención hidráulica (TRH) en un digestor es uno de los factores más importantes para el control de los sistemas de digestión anaerobia, (Caldera M., *et al.*, 2003). Se ha reportado que la disminución de porcentaje de remoción de materia orgánica y la acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV) en reactores tipo (RAFA) podría deberse al bajo tiempo de contacto entre la biomasa y el sustrato producto de la disminución en el TRH, (Nadais, *et al.*, 2001).

El Tiempo de Retención Hidráulica (TRH) es uno de los parámetros más importantes en todo sistema de tratamiento de aguas residuales. En el caso de los líquidos cloacales, donde la presencia de sólidos en suspensión es considerable, existe un

tiempo de retención óptimo que permite una máxima remoción de sólidos y materia orgánica expresada como Demanda Química de Oxígeno (DQO), (Lorenzo,*et al.*, 2006).

La digestión anaerobia es un proceso microbiológico complejo que se realiza en ausencia de oxígeno, donde la materia orgánica es transformada a biomasa y compuestos orgánicos, la mayoría de ellos volátiles. Aunque es un proceso natural, sólo en los últimos veinticinco años ha llegado a ser una tecnología competitiva en comparación con otras alternativas. Esto ha sido posible gracias a la implementación de sistemas que separan el tiempo de retención hidráulico (TRH), los cuales han sido denominados reactores de alta tasa. Durante este proceso también se obtiene un gas combustible (biogás) y lodos con propiedades adecuadas para ser usados como bioabonos, (Bermúdez Savón, *et al.*, 2003).

Medio de Soporte: La superficie específica del medio parece tener cierto efecto en el rendimiento de los reactores anaerobios de flujo ascendente, este beneficio generalmente incrementa el área superficial un poco más allá de $100 \text{ m}^2/\text{m}^3$, (Young, 1991). Para el relleno de reactores anaerobios se han ensayado diferentes tipos de materiales entre los que podemos contar gravilla, materiales cerámicos, cilindros y esferas plásticas perforadas, módulos tubulares de flujo cruzado o de flujo vertical, bambú, etc.

El material de relleno más utilizado es la grava, debido esencialmente a su bajo costo y a su facilidad de adquisición. Sin embargo, estudios han demostrado que el empleo de materiales plásticos tubulares permite el tratamiento de aguas residuales con una mayor carga orgánica y con una más alta concentración de sólidos, ya que son materiales de una mayor porosidad y permiten una mejor distribución de flujo.

Temperatura, pH y nutrientes: Los reactores anaerobios generalmente operan satisfactoriamente en el rango de temperaturas mesofílicas, es decir, entre 25 y 38°C

(Young, 1991). En cuanto al control de pH, los reactores anaerobios presentan buena capacidad autorreguladora.

Los nutrientes deben ser adecuados para el desarrollo de las bacterias metanogénicas. Generalmente se acepta que el nitrógeno y el fósforo son los elementos que más tienen que ver con el desarrollo de los microorganismos dentro de un sistema anaerobio, (Parra Rodríguez, 2006).

En un reactor RAFA, la biomasa bacteriana está presente en forma de granos o glomérulos compactos de hasta 1- 4 mm, que se desarrollan bajo condiciones de flujo ascendente continuo mediante mecanismos no bien conocidos, (Pette, *et al.*, 1980).

Las tecnologías del tratamiento anaerobio como el reactor de flujo ascendente anaerobio de lecho de lodos (RAFA) y el filtro anaerobio, están siendo rápidamente aceptados para tratamiento industrial de aguas residuales, que no cumplen con las regulaciones ambientales para descarga directa a cuerpos receptores por su elevada DQO/DBO, bajo pH y presencia de sólidos en suspensión, además de sus grandes volúmenes, (Bermúdez Savón, *et al.*, 2003).

2.5.2 Ventajas y desventajas del reactor anaerobio de flujo ascendente:

Las ventajas y desventajas atribuidas a los reactores anaerobios de flujo ascendente son:

Ventajas: Entre las ventajas de los reactores RAFA se tiene que; son sistemas compactos, con baja demanda de área, sin necesidad de utilización de un material de soporte, se obtienen niveles de remoción de DBO/DQO superiores al 80%, bajo costo de operación, elevada concentración del lodo excedente, no necesitando de una unidad de espesamiento de lodo, bajo consumo de energía, (Arango Bedoya, *et al.* 2009).

- Producción de metano, gas combustible utilizado como fuente de energía
- Menor consumo de energía comparado con los tratamientos aeróbicos, resultando en costos operacionales más reducidos.

- La fracción de materia orgánica convertida en células bacterianas es relativamente baja (cerca de 10%) en relación al tratamiento aerobio (cerca de 50%). Esto significa que la cantidad de fango biológico formado es menor, resultando en menores problemas de disposición de los mismos.
- Las unidades de tratamiento son cerradas evitando la generación de olores
- Tolerancia a elevadas cargas orgánicas.

Desventajas: La desventaja que presenta este tipo de reactores se debe a que en los efluentes queda remanente una pequeña fracción de materia orgánica y nutrientes como amonio y fósforo, por lo que algunos reportes coinciden en que los efluentes de este tipo requieren de un post-tratamiento, (Seghezzo, 2004), particularmente aquellos que van a ser empleados para riego agrícola, uso para el cual la calidad microbiológica es relevante. En este caso los humedales artificiales se han utilizado como sistemas de post-tratamiento que brindan una mejora en la calidad del agua, (Zepeda Cervantes, *et al.*, 2011).

Una de las desventajas principales de los procesos anaerobios es su larga etapa de adaptación, aspecto que se agudiza más en los procesos termófilos por la sensibilidad de los mismos a las variaciones de temperatura, interrupciones de la alimentación, entre otros, (Lorenzo, *et al.*, 2006).

- El comienzo del proceso es lento y requiere de un período de 8 a 12 semanas.
- El proceso es sensible a la presencia de compuestos tóxicos.
- La reducción de bacterias patógenas es relativamente baja.
- Son numerosos los estudios desarrollados en los que se ha reportado el uso del tratamiento anaerobio y de los reactores RAFA para aguas de origen municipal, en los que se ha evaluado el efecto en el desempeño del reactor bajo diferentes condiciones de operación tales como cortos tiempos de retención hidráulica, temperaturas bajas, granulación de los lodos, etc.

Entre las principales aplicaciones del RAFA se encuentran en la bebida, cerveza, alimentos y las industrias de curtiduría, (Fang,*et al.*, 2001), las aguas residuales industriales contribuyen a una parte total de contaminación. Por otro lado, el tratamiento de las aguas residuales en reactores RAFA es conveniente para el tratamiento de una amplia gama de diversos tipos de aguas residuales, como las industriales (alta concentración) y las aguas domésticas (menor concentración), siendo útil para industrias de sectores alimenticios, fábricas de papel, industrias farmacéuticas, producciones azucareras, cafetales entre otros, (Ruiz I.,*et al.* , 2002).

2.6 BIOPELÍCULAS

Las biopelículas son comunidades microscópicas que consisten esencialmente de agregados que forman capas finas en diversas superficies; estos complejos no sólo están conformados por células microbianas, sino también, por un biopolímero extracelular que producen los microorganismos, (Fuentes García, *et al.*, 2008). En el caso de las bacterias, éstas se adhieren a la superficie por apéndices proteicos caracterizados por una estructura filiforme que se enlaza en la superficie donde van a permanecer. Ya fijos, comienzan a producir material polimérico que consiste básicamente de polisacáridos y agua. La cantidad producida puede exceder la masa de las células bacterianas por un factor de 100 veces o más. De tal forma, la estructura de la biopelícula ofrece protección para la supervivencia de los microorganismos, (Fuentes García, *et al.*, 2008).

Los microorganismos se adhieren a la superficie del medio en forma de fina biopelícula, o bien se agrupan en forma de una masa de lodo floculado o granulado dentro de los intersticios del medio. La materia orgánica soluble que pasa a través del filtro, se difunde dentro de las superficies de los sólidos adheridos o floculados, donde se realiza el proceso de degradación anaerobia, (Young, 1991). De acuerdo a la anterior descripción se puede inferir que los reactores anaerobios pueden considerarse alternativamente como reactores de cultivo fijo o en suspensión.

Los microorganismos en las biopelículas producen sustancias poliméricas extracelulares (EPS) que mantienen los agregados de células unidos y forman la estructura de la matriz de la biopelícula, (Stewart,*et al.*, 2008). El hecho de que el EPS se produce incluso en condiciones limitantes de crecimiento a pesar del alto consumo de energía que requiere hace hincapié en las ventajas de las células bacterianas en la biopelícula, (Cantonguay, *et al.*, 2006). La membrana de las biopelículas protege a las células bacterianas de los agentes antimicrobianos y el estrés ambiental, actuando como una barrera física.

Otra ventaja ecológica de las biopelículas son la cooperación metabólica la presencia de microhábitats y la mejora en la tasa de transferencia de genes. Cooperación metabólica eficiente o dependencia mutua con frecuencia se desarrollan dentro de las biopelículas entre especies debido a intercambios de sustratos facilitados por la proximidad espacial de las células. La existencia de microhábitats con diversas concentraciones de oxígeno y de nutrientes dentro de las biopelículas, crean condiciones favorables para determinadas especies microbianas, estableciendo condiciones fisiológicas diferenciadas. A menudo se detecta en las comunidades de la biopelícula una mejora de la tasa de transferencia de genes, lo que garantiza una evolución progresiva y la diversidad genética aumenta la competitividad de las células bacterianas, (Wimpenny, *et al.*, 2004).

Las biopelículas se consideran inicialmente como sistema homogéneos de células atrapadas en una membrana, pero investigaciones recientes apuntan en la dirección opuesta. Hoy en día la percepción de la heterogeneidad fisiológica y genética en las biopelículas es generalmente aceptada, (Stoodley,*et al.*, 2002). Las biopelículas naturales suelen albergar un gran número de especies microbianas que forman complejas comunidades diferenciadas capaces de desarrollar estructuras a menudo separadas por una red de canales de agua, (Kolter, *et al.*, 2006). Esto requiere de una organización sofisticada, que en algunos organismos es controlada por un sistema de comunicación intercelular, conocido como percepción de quórum o “quórum sensin”.

La estructura de la biopelícula también se ve afectada por muchas otras condiciones tales como propiedades de la superficie y de la interfase, disponibilidad de nutrientes, composición de la comunidad microbiana, (Davey,*et al.*, 2000).

En la naturaleza, las bacterias han formado agrupaciones con cualidades que les permiten adaptarse y sobrevivir a agentes como desinfectantes y depredadores, que de forma individual no lograría resistir. Una de esas agrupaciones son las biopelículas, que fueron descritas por primera vez en 1978. Es tan diverso el lugar donde se pueden formar las biopelículas, que se han encontrado en hojas de perejil, rocas, dientes e incluso en recipientes de aluminio para el almacenamiento de combustible nuclear (Andersson, 2009).

La formación de biopelículas consta básicamente de tres etapas: adsorción reversible, adsorción irreversible y crecimiento. Pueden llegar a ser tan grandes que se vuelven visibles, principalmente en rocas sumergidas en ambientes marinos, lagos, ríos, etc.

2.6.1 Las biopelículas en el tratamiento de aguas residuales

El tratamiento de aguas residuales con los sistemas de biopelículas tiene varias ventajas en comparación con sistemas suspendidos de crecimiento. La flexibilidad operativa, requiere poco espacio, reduce el tiempo de retención hidráulico (TRH), la resistencia a los cambios en el medio ambiente, el aumento de tiempo de residencia de biomasa, alta actividad de concentración de biomasa, mayor capacidad para degradar compuestos recalcitrantes, así como una lenta tasa de crecimiento microbiano que resulta en la producción de lodos, son algunos de los beneficios con procesos de biopelícula en tratamientos. Los sistemas de biopelículas también permiten un mejor control de las velocidades de reacción y dinámica de la población, (Andersson, 2009).

Las configuraciones de las biopelículas en el reactor se aplican en el tratamiento de aguas residuales incluyen filtros de goteo, filtros de plástico de alta velocidad de comunicación, contactores biológicos rotatorios, reactores de lecho

fluidizado por biopelículas, reactores aireados, filtros granulares y reactores de membrana inmovilizada. Como se puede observar en la Figura 4. Una división general entre los procesos de lecho fijo y en movimiento basado en el estado del material de apoyo que se hace generalmente. Los sistemas de lecho fijo incluyen todos los sistemas en los que la biopelícula es formada en medios estáticos, tales como rocas, perfiles de plástico, esponjas, portadores granulares o membranas. El flujo de líquido a través de los medios de comunicación estáticos suministra los microorganismos con nutrientes y oxígeno. Los sistemas de lecho en movimiento comprenden todos los procesos de biopelículas con los medios de comunicación móviles de forma continua, mantenido por la alta velocidad del aire o agua o agitación mecánica. El material de soporte de biopelículas (medios de comunicación) se selecciona basándose en el tamaño, la porosidad, la densidad y la resistencia a la erosión. Mediante el uso de un material con un área de superficie específica grande (m^2/m^3) alta actividad biológica se puede mantener el uso de un volumen relativamente pequeño del reactor. El espesor de las biopelículas en los reactores es generalmente controlado mediante la aplicación de fuerza de cizallamiento, que se consigue mediante la alteración de la intensidad de la agitación, el flujo de velocidad o por lavado a contracorriente. Además del tratamiento de aguas residuales primaria, secundaria y terciaria, en los sistemas de biopelículas se ha utilizado con éxito para el tratamiento de las aguas residuales industriales. (Andersson, 2009).

Las biopelículas utilizadas en el tratamiento de aguas residuales toman ventaja en una serie de mecanismos de eliminación, tales como la degradación biológica, biosorción, bioacumulación y biomineralización, (Andersson, 2009).

La biosorción eficiente de metales pesados por componentes de la matriz de biopelículas se ha encontrado disolventes orgánicos. Reactores con flora microbiana naturales o cepas específicas con la capacidad de eliminar por ejemplo, clorofenoles, pireno y fenantreno, n-alcanos, tetracloruro de carbono y el efluente mixto de la industria farmacéutica se han descrito en la literatura.

El uso de cepas bacterianas específicas para mejorar el rendimiento de las aguas residuales tratamiento se denomina bioaumentación. Stephenson (1992), define como bioaumentación a un proceso que trata de mejorar el tratamiento mediante el aumento de la diversidad y/o de la actividad a través de la introducción directa de cualquier seleccionada de origen natural o microorganismos alterados genéticamente al sistema (Stephenson, *et al.*, 1992). Para lograr una bioaumentación exitosa la supervivencia, la actividad y la retención de los microorganismos inoculados deben ser garantizadas en el nuevo medio ambiente. Por lo tanto, bioaumentación mediada que ofrece la protección de los microorganismos seleccionados contra los compuestos tóxicos, y deslaves de protozoos dentro de la matriz de la biopelícula protegida, es una técnica con uso potencial en el tratamiento de aguas residuales. En la Figura 4 se observa el esquema general de las configuraciones comunes de biopelículas en el tratamiento de aguas residuales.

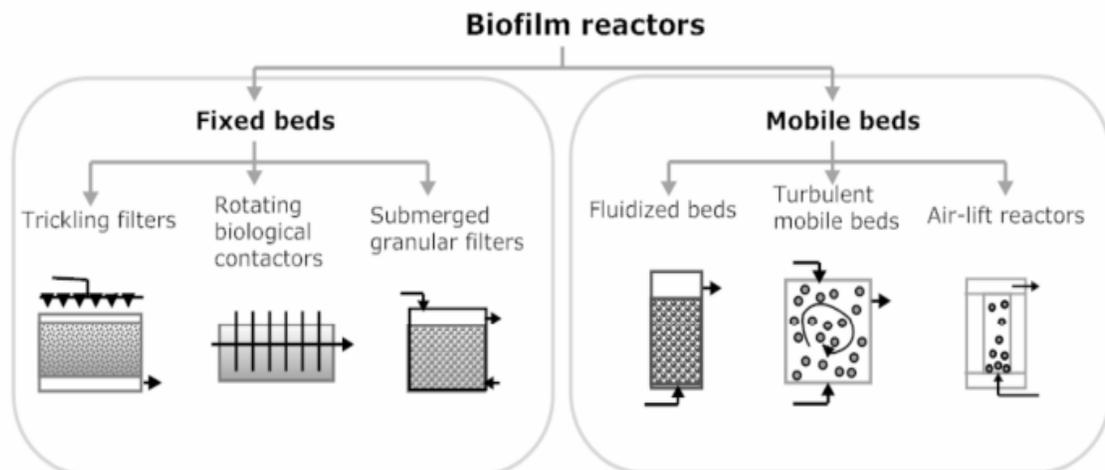


Figura 4. Esquema general de las configuraciones comunes para el tratamiento de aguas residuales con biopelículas.

Fuente: (Cortés Lorenzo, 2012).

2.6.2 Formación y desarrollo de biopelículas

La formación de biopelículas y el desarrollo es un proceso complejo, que implica la alteración del genotipo expresión genética, la fisiología y la comunicación inducida por una molécula de señal. Las biopelículas pueden formar en cualquier tipo de superficies, bióticos o abióticos, en la mayoría de los ambientes húmedo, (Cortés Lorenzo, 2012).

Las bacterias se agrupan en colonias con el objeto de buscar protección ante posibles condiciones adversas del medio, (Characklis, *et al.*, 1990). Las biopelículas están formadas por microorganismos asociados a una superficie atrapados en una matriz altamente hidratada formada por sustancias poliméricas extracelulares (EPS), es decir polisacáridos, proteínas, lípidos y ADN extracelular, (Flemming, *et al.*, 2007). La producción de una matriz extracelular es un requisito previo para la formación de las biopelículas. La matriz de la biopelícula generalmente está compuesta de hasta un 97% de agua, un 2.5 % de biomasa celular, un 3.6 % de EPS y de iones, (Sutherland , 2001).

Los microorganismos formadores de biopelículas poseen algunas ventajas sobre los microorganismos suspendidos: 1) mayor persistencia dentro del sistema; 2) mayores tasas de crecimiento; 3) mayor incremento en la actividad metabólica; y 4) mayor resistencia a la toxicidad, (Characklis, *et al.*, 1990).

Existen distintos pasos esenciales en el proceso de la formación de biopelículas que se han identificado y un esbozo simplificado de las más cruciales, las cuales se pueden observar en la Figura 5. Las superficies en ambientes acuáticos por lo general alcanzan una película acondicionada de solutos inorgánicos adsorbidos y moléculas orgánicas, el inicio de este proceso se da con las células planctónicas que emiten radialmente señales moleculares, que difunden a través del medio. El aumento de la concentración de estas señales en la zona próxima a la superficie tal como se observa en la Figura 5-1, (Costerton, 1999). Tras el acondicionamiento de la superficie tiene

lugar la deposición y adhesión reversible de las células bacterianas. Este fenómeno ocurre pasivamente por movimiento browniano y simple sedimentación o por movimiento activo de bacterias flageladas, lo que permite el establecimiento de interacciones físicas y electrostáticas entre las bacterias y la superficie, (Lindsay,*et al.*, 2008), como se observa en la Figura 5-2. En esta adhesión reversible hay un continuo intercambio entre células libres, las cuales se incorporan a la biopelícula y células fijadas, que sufren un proceso de desorción, desprendiéndose. (Ridgway, 1988). Es por ello que, Ridgway, (1988), observó que solo ciertas bacterias pueden adherirse a esta etapa de desarrollo de la biopelícula y que hay un número limitado de sitios de unión. Parece ser, que las propiedades del agua de alimentación (ej. pH, concentración de nutrientes, temperatura, fuerza iónica, presencia de cationes multivalentes, velocidad de flujo, etc), así como las propiedades de la superficie pueden promover o desalentar la adhesión microbiana, (Scheneides,*et al.*, 2005). La hidrofobicidad de la superficie celular es importante en la adhesión debido a que las interacciones hidrofóbicas tienden a aumentar con un aumento de la naturaleza no polar de una o ambas superficies implicadas, es decir la célula microbiana y la superficie de adherencia, (Simoes, *et al.*, 2010).

De acuerdo a Drenkard y Ausubel (2002), la capacidad de las bacterias para unirse entre sí y a las superficies depende en parte de la interacción de dominios hidrofóbicos. (Drenkard,*et al.*, 2002).

Inmediatamente después de la adhesión reversible y el crecimiento inicial, las bacterias comienzan a producir sustancias poliméricas extracelulares (EPS), lo que lleva a la colonización irreversible de la superficie, (Donlan, *et al.*, 2002). La producción de EPS juega un papel clave en la unión de las células (Figura 5-3), una vez que se inicia la producción de EPS, la biopelícula crece a través de una combinación de la división celular y el reclutamiento de otros microorganismos integrados dentro de la matriz de exopolisacáridos, dando lugar a la formación de microcolonias. En esta fase de adhesión irreversible, las bacterias emplean flagelos y

pilis para moverse a lo largo de la superficie hasta que contactan con otras bacterias, formando una microcolonia o aumentando la ya existente.

Durante la formación de la biopelícula, las células sufren una diferenciación en el patrón de expresión génica en comparación con las células planctónicas. Para que las bacterias puedan ser miembros de una biopelícula ha de reprimir la síntesis de flagelos que desestabilizarían la estructura, y activarían la síntesis de exopolisacáridos que la refuerzan, (Watnick, *et al.*, 2000). Esto evidencia la expresión de determinados genes únicamente está regulada por mecanismos de comunicación célula – célula, tales como el mecanismo denominado percepción de quórum. Cuando se alcanza un nivel umbral de concentración la molécula señal interacciona con proteínas activadoras de la transcripción y se induce la expresión de genes en respuesta a la densidad celular, mecanismo que influye en actividades de enzimas extracelulares, (Decho, 2000).

El paso de la unión reversible a irreversible es relativamente rápido. Varios estudios reportan una firme adhesión en pocos minutos o menos. Tras la adsorción irreversible se produce la maduración de la biopelícula (Figura 5- 4), corresponde con un incremento en el número de células de la biopelícula a expensas del sustrato sin descartar que a su vez las células puedan también producir o formar cantidades importantes de productos como el EPS. En esta etapa, cuando las biopelículas alcanzan su madurez y máximo grosor, se puede considerar que el crecimiento neto de la microbiota es cero. En estas circunstancias las bacterias no se dividen pero son viables y cultivables. Así, en las biopelículas maduras la división celular es infrecuente (al contrario que en las células planctónicas, que consumen nutrientes para su multiplicación) utilizando esa energía en exceso para producir EPS que podría ser digerido por las células en momentos de carencia, (Watnick, *et al.*, 2000).

Durante el crecimiento de biopelículas la diferenciación del patrón de expresión génica se puede ver en comparación con las células planctónicas. La producción de apéndices superficiales que participan en la motilidad bacteriana es

regulada debido a la celda de inmovilidad en la matriz de la biopelícula mientras que la producción de EPS y de las proteínas de transporte de membrana como porinas está regulada. La subida y la baja regulación de los genes dependen principalmente de la densidad de población y es controlado por un sistema de comunicación impulsada por molécula de señal conocida como detección de quórum. Las biopelículas maduras son, comunidades heterogéneas, espacial y temporalmente dinámicas que pueden adoptar diversas estructuras dependiendo de características de los alrededores, medio ambiente (disponibilidad de nutrientes, pH, temperatura, fuerzas de cizallamiento, osmolaridad), así como la composición de los consorcios microbianos, (De Lancey Pulcini, 2001). Se trata de estructuras complejas rodeadas por canales de agua de alta permeabilidad, lo que facilita el transporte de nutrientes y oxígeno al interior de la biopelícula, (Kolter,*et al.*, 2006).

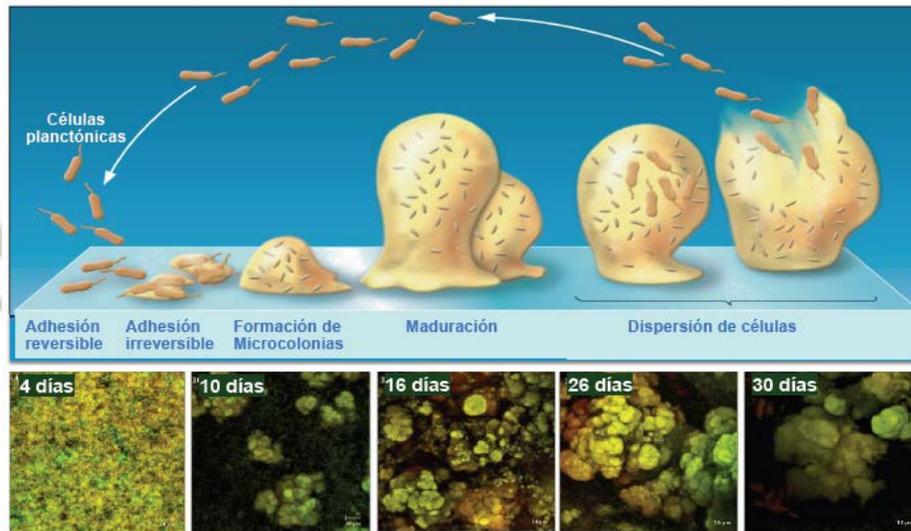


Figura 5. Representación esquemática de los pasos involucrados en la formación de biopelículas. 1. Formación de acondicionamiento de las células planctónicas en la superficie, 2. Adhesión reversible inicial de las células bacterianas, 3. Unión irreversible de bacterias, y formación de microcolonias 4. Maduración de la biopelícula, 5. Desprendimiento.

Fuente: (Glimore,*et al.*, 2003)

El proceso de desarrollo de una biopelícula es bastante lento, a menudo se requiere de varios días para alcanzar la madurez estructural. Una biopelícula madura es una construcción dinámica, con una organización avanzada que se adapta continuamente con el entorno, lo que significa que bajo condiciones adversas las bacterias pueden dejar su existencia protegida dentro de la comunidad de la biopelícula en la búsqueda de un nuevo y mayor hábitat favorable para establecerse.

Este paso se conoce como desprendimiento o dispersión (Figura 5-5), la dispersión de células mediante la evacuación coordinada por parte de puntos de ruptura, (Purevdorj-Gage, *et al.*, 2005), el cual lleva el vaciamiento característico de microcolonias de la biopelícula, (McDougald, *et al.*, 2011). En la dispersión de células genes que codifican las características de la biopelícula, tales como exopolisacáridos y fimbrias, están poco regulados, mientras que los genes que codifican factores que son importantes para un estilo de vida móvil o planctónico, incluyendo flagelos y proteínas implicadas en la quimiotaxis, están altamente regulados, (McDougald, *et al.*, 2011).

Debido a la naturaleza heterogénea de las células en la biopelícula madura, solo una subpoblación de células se someterá a lisis. Estas células muertas proporcionan nutrientes a las bacterias que se convertirán en las células de dispersión. En contraste con la dispersión pasiva, resultante de desprendimiento de las células y la erosión de la biopelícula es una respuesta activa y altamente regulada que conduce a la producción de células de dispersión.

Estas células especializadas pueden colonizar nuevas superficies para iniciar las fases asociadas a la formación de una nueva biopelícula, (McDougald, *et al.*, 2011). Por otro lado se presenta en la Figura 6, una biopelícula madura donde se puede observar la existencia de diferentes especies microbianas.

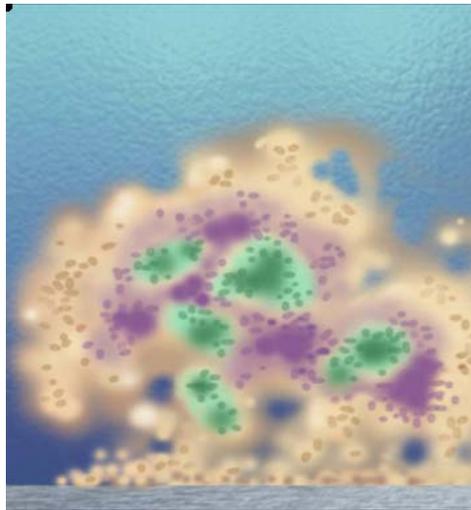


Figura 6. Biopelícula madura donde coexisten diferentes especies microbianas en diferentes nichos ambientales.

Fuente: Center for Biofilm Engineering, Montana State University-Bozeman.

La degradación de las sustancias poliméricas extracelulares, la ausencia de suficientes nutrientes u oxígeno, la detección de quórum, cizalla hidráulica y normal fuerzas, descamación y erosión son factores que influyen en el desprendimiento de biopelículas. El desprendimiento activo implica una regulación al alza de los genes que codifican las enzimas degradantes de carbohidratos resultantes en cohesiva debilitado fuerzas dentro de la biopelícula y la posterior separación de las células individuales o unidades de biopelículas.

2.7 SOPORTES PARA BIOPELÍCULAS

Para el relleno de filtros anaerobios se han ensayado diferentes tipos de materiales entre los que podemos contar gravilla, materiales cerámicos, cilindros y esferas plásticas perforadas, módulos tubulares de flujo cruzado o de flujo vertical, bambú, etc. Algunas investigaciones sobre la remoción conjunta o individual de nutrientes sugieren el uso de diferentes medio de soporte. Dentro de estos materiales se

incluyen Linpory Kaldnes, biodiscos, pellets de polipropileno, fibras de carbón, espumas de poliuretano, entre otros, (Gonzales, *et al.*, 2008).

Las biopelículas que se desarrollan sobre materiales porosos son más estables y resistentes, (Cunningham, *et al.*, 1990).



Figura 7. Medios soportes de plástico poroso tipo Kaldnes®

Fuente: (Gonzales,*et al.*, 2008)

2.8 IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

2.8.1 Coliformes Totales y Coliformes Fecales

El grupo coliforme constituyen un grupo heterogéneo con hábitat primordialmente intestinal para la mayoría de las especies que involucra, es constante, abundante y casi exclusivo de la materia fecal, su capacidad de sobrevivencia y multiplicación fuera del intestino también se observan en aguas potables, por lo que este grupo se utiliza como indicador de contaminación fecal en agua; encontrándose que mientras mayor sea el número de coliformes en agua, mayor será la probabilidad de estar frente a una contaminación reciente.

En la Tabla 6 se puede observar las características diferenciales entre coliformes Totales y *E. coli* Cuando los coliformes llegan a los alimentos, no sólo sobreviven, sino que se multiplican, por lo que en los alimentos el grupo coliforme adquiere un significado distinto al que recibe en el agua. Cuando los productos alimenticios han recibido un tratamiento térmico (pasteurización, horneado, cocción, etc.), estos microorganismos se utilizan como indicadores de malas prácticas sanitarias.

Tabla 6.Características de Coliformes y *E.coli*.

Coliformes totales	<i>E.coli</i>
Bacterias Gram negativas	Bacterias Gram negativas
No esporulados	No esporulados
Anaerobios facultativos	Anaerobios facultativos
Fermentadores de la lactosa con producción de ácido y gas a 36 +/- 1°C en 24 – 48 horas.	Fermentadores de la lactosa con producción de ácido y gas a 36 +/- 1°C en 24 – 48 horas y 44.5°C +/- 0.2°C en 24 horas.
Hábitat: tracto gastrointestinal de animales de sangre caliente (bacterias entéricas) son comunes en otros ambientes (suelos, vegetales, agua).	Características de heces de animales homeotermos.

Fuente: (Carrillo Zapata,*et al.*, 2008).

Para su estudio, se dividen en dos grupos: El grupo de bacterias coliformes totales comprende a todos los bacilos Gram-negativos aerobios o anaerobios facultativos, no esporulados, que fermentan la lactosa con producción de gas en un lapso máximo de 48 h. a 35°C ± 1°C. Este grupo está conformado por 4 géneros principalmente: *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter* y *Klebsiella* estos organismos pueden fermentar la lactosa entre 44 – 45 °C. La demostración y el recuento de organismos

coliformes, puede realizarse mediante el empleo de medios de cultivo líquidos y sólidos con características selectivas y diferenciales.

Los estreptococos fecales están constituidos por especie del genero *Streptococcus* como *S.Faecalis*, *S. Faecium*, *S. Avium*, *S. Bovis*, *S. Equim* y *S. Gallinarum*. Todos dan reacción positiva con los anticuerpos para el grupo D de Lancefield. Los enterococos se diferencian de los estreptococos por su capacidad para crecer en CINa al 6,5% y pH 9,6 a 45°C.

2.8.2 Crecimiento de bacterias aerobias- anaerobias facultativas

Los microorganismos pueden ser clasificados de acuerdo a su crecimiento en presencia de oxígeno en: Aerobios estrictos, anaerobios estrictos y anaerobios facultativos. El manual Bergey's, aplica las relaciones con el oxígeno a las bacterias heterótrofas y define como aerobio, al organismo capaz de utilizar el oxígeno como aceptor final de electrones, pueden tolerar un nivel de oxígeno equivalente o mayor al presente en el aire (21%), y tiene un metabolismo respirador. Algunos aerobios pueden ser capaces de crecer con otros aceptores de electrones distintos al oxígeno (ej. Respiración anaerobia con nitrato).

Los microorganismos anaerobio facultativos, son organismos capaces de crecer bien, tanto en ausencia como en presencia de una concentración de oxígeno similar a la del aire. Algunos crecen en aerobiosis respirando con oxígeno y en anaerobiosis por fermentación. Otros tienen un metabolismo capaces de crecer en presencia de oxígeno pero en concentraciones menores a las tensiones del aire (la respiración aerobia se da en concentraciones bajas de oxígeno iguales a 5%); algunos microaerófilos pueden respirar anaeróticamente utilizando otros aceptores de electrones distintos al oxígeno. Los microorganismos anaerobios, son incapaces de crecer en presencia de oxígeno a niveles atmosféricos o bajos. Algunos tienen metabolismo fermentativo y otros respiran anaeróticamente, (Rojas Triviño, 2011).

Para determinar las relaciones con el oxígeno se puede utilizar el caldo Tioglicolato; este medio, permite el crecimiento de muchas bacterias heterótrofas no exigentes (no de todas), y de acuerdo al tipo de crecimiento se determinará si el microorganismo puede respirar y/o fermentar. No se puede determinar si el microorganismo puede crecer anaeróbicamente con aceptores electrónicos alternativos (NO_3^-), o con luz.

De acuerdo a la relación con microorganismos- oxígeno presente en el medio, aquellos que son indiferentes al oxígeno y tienen un metabolismo estrictamente fermentativo, crecerán a lo largo de todo el tubo, los anaerobios facultativos, crecerán a lo largo de todo el tubo pero habrá mayor crecimiento en la superficie del tubo; los aerobios estrictos crecerán solo en la superficie del tubo (no fermentan), los microaerófilos, no crecerán en la superficie pero si en la zona aerobia (rosada), donde haya una concentración de oxígeno inferior a la atmosférica, y los anaerobios estrictos que puedan crecer en este medio solo se desarrollaran en el fondo del tubo, (Rojas Triviño, 2011).

2.8. 3 El método de Número más Probable (NMP)

La prueba estándar para el grupo coliforme, puede realizarse mediante una técnica de fermentación en tubos múltiples que es la más efectiva. Este método también es conocido como el método de tubos múltiples, porque está basado en una evaluación indirecta de la densidad microbiana de la muestra de agua, con referencia a los cuadros estadísticos, para determinar el número más probable de microorganismos presentes en la muestra original.

Este método es indispensable para el análisis de las muestras muy turbias que no pueden analizarse con otros métodos.

El método del número más probable se basa en la inoculación de alícuotas de la muestras, diluido o sin diluir, en una serie de tubos de un método de cultivo líquido conteniendo lactosa. Mediante tablas estadísticas se lleva a cabo el cálculo del número más probable de organismos coliformes termorreguladores y *E. coli* que pueden estar presente en 100 centímetros cúbicos de muestra, a parte de los números de los tubos que dan resultados confirmativos positivos.

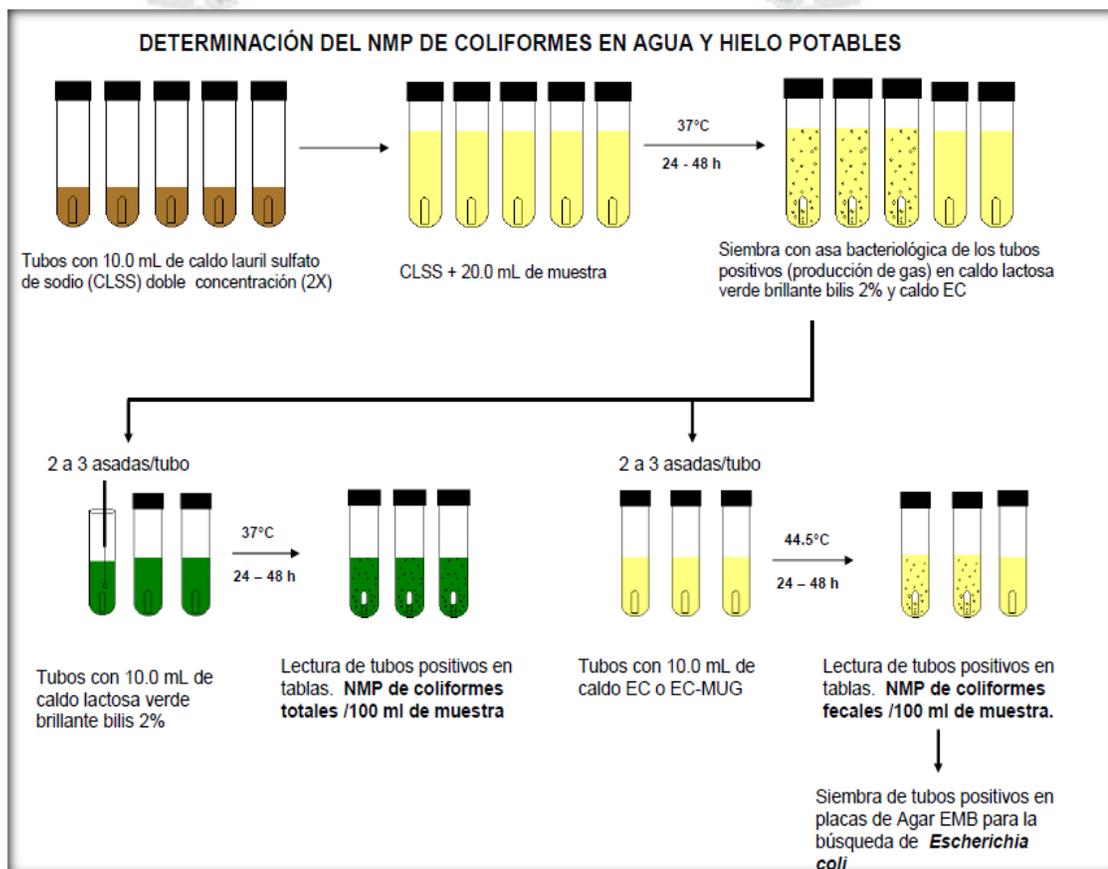


Figura 8. Método para la determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y *Escherichia coli* por la técnica de diluciones en tubo múltiple o número más probable – NMP.

Fuente: (CCAYAC-M-004, 2006)

2.9 PARÁMETROS DE EVALUACIÓN EN UN SISTEMA ANAEROBIO TIPO RAFA.

pH: El valor de pH dependerá de la actividad del ión H^+ a una determinada temperatura, razón por la cual este parámetro dependerá directamente de la temperatura. En un reactor anaeróbico el pH oscila en el rango de 6.3 a 7.8 que parece ser más favorable para la metanogénesis. Mientras tratamiento de aguas residuales domésticas, el pH se mantiene en este rango sin la adición de cualquier producto químico, debido a la capacidad de tamponamiento del sistema de base de ácido en un digestor anaerobio. El pH óptimo para todas las bacterias metanogénicas es de 6,0 a 8,0, pero el pH más adecuado para el grupo en general está cerca de 7,0. Por otro lado, las bacterias ácido génicas son menos sensibles. Así mismo, las enzimas son activas alrededor de un pH determinado y que, normalmente no puede ser muy diferente a pH igual a 7, (Hernández Muñoz, 2001).

A las variaciones de pH por lo que en la fermentación de ácido menor pH puede predominar sobre la actividad metanogénicas. Por otra parte, en pH más bajo metanogénesis (<6) de acetato también se inhibe, lo que resulta en la degradación de los ácidos grasos (especialmente propionato). Por lo tanto, para los efluentes industriales del sistema debe contener capacidad de tamponamiento adecuada para neutralizar la producción de ácidos volátiles y dióxido de carbono, (Yasar, *et al.*, 2010).

Temperatura: La eficiencia del proceso anaeróbico es altamente dependiente en la temperatura del reactor. De acuerdo con la expresión de Arrhenius, la temperatura no sólo influye en la tasa del proceso, pero también la medida de degradación de la tasa de degradación de los compuestos orgánicos se mejora a temperaturas elevadas (condiciones mesófilas). La temperatura mesófila varía entre 30-40 ° C. Sin embargo, el efecto de la temperatura se rige principalmente por diversas características físicas,

químicas, y los procesos biológicos que tienen lugar en el reactor, presentan una disminución del 78% en la producción de gas, cuando baja la temperatura de 27 ° C a 10 ° C. Una fuerte caída en la generación de metano aparece cuando la temperatura del reactor excede de 45 ° C a causa de las bacterias, decae la temperatura más elevada que va desde 45°C hasta 65°C. El efecto de la temperatura sobre la eficacia del proceso anaeróbico se rige por el tipo de reactor.

La disminución de la eficiencia del RAFA a baja temperatura se explica debido a la disminución de la actividad biológica. El efecto de la temperatura de forma marginal en el caso del reactor RAFA porque además de la actividad biológica, la filtración y procesos de adsorción también contribuyen al tratamiento. En consecuencia, su rendimiento parece ser menos sensible a bajas temperaturas, (Yasar, *et al.*, 2010).

Por otro lado, en el proceso de depuración biológica, el efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática es doble, como en muchas reacciones químicas, la velocidad de reacción se incrementa con la elevación de temperatura, pero por otra parte, la elevación de temperatura hace a las enzimas menos estables. Es decir, la depuración biológica se desarrolla de forma adecuada entre dos límites de temperatura 12°C y 38°C, zona mesofílica, (Hernández Muñoz, 2001).

Oxígeno Disuelto (OD): La determinación de oxígeno disuelto (OD) es muy importante por ser el factor que determina la existencia de condiciones aerobias o anaerobias en un medio particular.

Es el oxígeno que está disuelto en el agua, esto se logra por la aireación y como un producto de desecho de la fotosíntesis. La solubilidad del oxígeno en agua depende, además de su presión parcial, de la temperatura. La concentración de oxígeno disuelto en las aguas naturales es crucial para los animales acuáticos que lo utilizan en la respiración. (DIGESA) Los valores de Oxígeno Disuelto (OD) en aguas son bajos y disminuyen con la temperatura. El oxígeno libre de solución, especialmente cuando está acompañado de CO₂ es un agente de corrosión importante del hierro y el acero. La

demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5) es una prueba usada para la determinación de los requerimiento de oxígeno para la degradación bioquímica de la materia orgánica en las aguas municipales, industriales y en general aguas residuales; su aplicación permite calcular los efectos de las descargas de los efluentes domésticos e industriales sobre la calidad de las aguas de los cuerpos receptores.

Conductividad Eléctrica: La conductividad nos indica el grado de mineralización de un agua. Determina la capacidad del agua para conducir la corriente eléctrica y su valor depende de la concentración y tipos de iones presentes en el agua, así como de la temperatura, (Gomez,*et al.*, 2003).

Dicha capacidad depende de la presencia de iones; de su concentración, movilidad y valencia, y de la temperatura ambiental. Las soluciones de la mayoría de los compuestos inorgánicos (ej. aniones de cloruro, nitrato, sulfato y fosfato) son relativamente buenos conductores. Por el contrario, moléculas de compuestos orgánicos que no se disocian en soluciones acuosas (ej. aceites, fenoles, alcoholes y azúcares) son pobres conductores de una corriente eléctrica.

La conductividad del agua potable en los Estados Unidos oscila entre 50 y 1500 $\mu\text{mhos/cm}$. La conductividad de aguas usadas de origen doméstico puede tener valores muy cerca de los valores que presentan las fuentes de aguas locales. No obstante, algunas descargas industriales tienen valores de conductividad de alrededor de 10,000 μmhos .

Demanda Bioquímica en oxígeno (DBO): La demanda bioquímica en oxígeno (DBO) es el parámetro que indica el contenido en materia orgánica biológicamente degradable. Los microorganismos consumen oxígeno durante la degradación de la materia orgánica. El consumo de oxígeno depende por consiguiente de la cantidad de materia orgánica contenida en el agua residual. Pero si hay presencia de sustancias tóxicas en el agua residual, ya no corresponde a dicha cantidad. En este caso el valor de DBO es demasiado débil, pues la acción tóxica interfiere con la actividad de las bacterias. La DBO se basa en las reacciones bioquímicas y depende entonces como

ellas, de la duración de la temperatura, de la acción de la luz de la clase de microorganismos y sustancias nutritivas. (DIGESA).

Mide la cantidad de oxígeno consumido en la eliminación de la materia orgánica del agua, mediante procesos biológicos aerobios. En general se refiere al oxígeno consumido en 5 días (DBO_5) y se mide en ppm de O_2 . Las aguas subterráneas suelen contener menos de 1 ppm. Un contenido superior es indicativo de contaminación. En las aguas superficiales su contenido es muy variable. En las aguas residuales doméstico se sitúa entre 100 y 350 ppm. En las aguas residuales industriales su concentración es totalmente dependiente del proceso de fabricación pudiendo alcanzar varios miles de ppm. Su eliminación se realiza por proceso fisicoquímicos y biológicos aerobios o anaerobios, (Rigola Lapeña, 1990).

La degradación de las sustancias orgánicas es realizada por los microorganismos a través de los procesos bioquímicos de oxidación o reducción. Para que dichos procesos ocurran, se necesita de oxígeno; de allí surge el parámetro: DBO, el cual mida la cantidad de oxígeno que requieren los elementos orgánicos para ser degradados. Las sustancias no biodegradables son, entre otras, los ácidos tánico y lignico, la celulosa, el benceno y los polisacáridos. (Campos Gomez , 2003).

Sólidos Disueltos Totales (SDT): Sustancias orgánicas e inorgánicas solubles en agua. Son todos los sólidos, que están en solución ionizados. No incluyen los sólidos en suspensión, coloides ni gases disueltos. (DIGESA).

El término SDT describe la cantidad total de sólidos disueltos en el agua. Los SDT y la conductividad eléctrica están estrechamente relacionadas. Cuanto mayor sea la cantidad de sales disueltas en el agua, mayor será el valor de la conductividad eléctrica. La mayoría de los sólidos que permanecen en el agua tras una filtración de arena, son iones disueltos. El cloruro de sodio por ejemplo se encuentra en el agua como Na^+ y Cl^- . El agua de alta pureza que en el caso ideal contiene solo H_2O sin sales o minerales tiene una conductividad eléctrica muy baja. La temperatura del agua

afecta a la conductividad eléctrica de forma que su valor aumenta de un 2 a un 3 % por grado Celsius.

Salinidad: Los efluentes salinos se generan en diferentes áreas del mundo. Como cuestión de hecho, varias industrias, tales como las empresas de producción lechera, de procesamiento de pescado, derivados del petróleo y de cuero generan aguas residuales altamente salina. Aguas residuales urbanas también pueden verse afectado por estas aguas residuales industriales salinos y otras fuentes. La contaminación por sal también se convierte en parte del flujo de las aguas residuales urbanas, cuando se utiliza sal común en las ciudades como medio de descongelación de la nieve y el hielo de las calles. Todas estas fuentes de aguas residuales se caracterizan por la alta carga de la salinidad.

Las aguas residuales orgánicas altamente salinas son a menudo mal biodegradables en plantas de tratamiento de aguas residuales convencionales, debido al efecto tóxico de su contenido de sodio de la biomasa que no ha sido previamente adaptado a las condiciones salinas. Las altas concentraciones de sal pueden causar plasmólisis celular y la muerte celular debido al espectacular aumento de la presión osmótica y cambios en el metabolismo microbiano. Hay dos estrategias fundamentales en las células para sobrevivir bajo estrés osmótico, (Cortés Lorenzo, 2012).

a) Las células aumentan la concentración intracelular de iones (principalmente de potasio) con el fin de equilibrar la presión osmótica externa, y todas las enzimas intracelulares que adaptarse a las nuevas condiciones.

b) Muchos microorganismos acumulan solutos orgánicos llamados "solutos compatibles". La presión osmótica alta externa está equilibrada dentro del citoplasma por estos solutos orgánicos compatibles sin la necesidad de adaptación especial de las enzimas intracelulares.



CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

La presente investigación se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad Católica de Santa María.

3.2. MATERIALES

Materia prima: Se utilizó como materia prima a los efluentes emitidos por la fábrica de colágeno, estas aguas son ricas en material orgánico como en sales y otros insumos y reactivos utilizados en el proceso de producción, además se utilizaron lodos activados de la planta de tratamiento de Chilpina- Arequipa (SEDAPAR).

Material para Monitoreo: Para la toma de muestra se utilizaron frascos con tapa hermética de 250 mL, probetas de 50 mL, y beakers.

Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente (RAFA): El reactor utilizado fue un reactor anaerobio ya diseñado anteriormente, de acero inoxidable de 3/16 pulgadas de espesor, cuya altura efectiva fue de 1 m y un diámetro interno de 15.3 cm, el cual estaba conformado por 4 cuerpos que presentan características propias.

En el primer cuerpo se conecta a una tubería de ½ pulgada de acero inoxidable en la parte inferior, a 2.0 cm de altura; esta sirve para el ingreso de fluido constante, el segundo y Tercer cuerpo presentan las mismas dimensiones.

Cada cuerpo estaba unido por bridas de acero inoxidable y nitrilo, a la mitad de su longitud total de 25 cm, se colocó un colector de muestra constituida por una tubería de ¼ de pulgada unida a una válvula de cierre tipo bola de ¼ de pulgada.

Finalmente el cuarto cuerpo es una columna cerrada ya que no cuenta con ningún punto de muestreo pero en la parte superior se encontró unido a un Head Plate el cual contó con una tapa de acero inoxidable de 19.1 cm. de diámetro, una tubería roscada de ½ pulgada como salida de gas con una válvula de cierre que es acoplada y a un lado

de la misma se ubicó otra tubería de ½ pulgada para la salida de los efluentes de aguas residuales industriales tratadas.

Tuberías de conexión del sistema anaerobio: Se utilizaron mangueras de polipropileno de 5/8 de pulgada, niples de PVC de ½ de pulgada, codos y abrazaderas según sea la tubería.

Soportes para la formación de biopelículas: Los soportes de biopelícula se obtuvieron a partir de tarugos de polipropileno los cuales tuvieron medidas de 0.8 cm de diámetro x 0.5 cm de altura, con 12 dientes externos de 0.1 cm de espesor x 0.5 cm de altura, y 6 dientes internos de las mismas dimensiones que los externos.

Recipiente de almacenamiento de las Aguas Residuales Industriales (ARI): El recipiente de almacenamiento de 20 L, constó de una salida en la parte inferior donde se instaló una manguera de ½ de pulgada que se conectó el fluido hacia el sistema de bombeo, el recipiente de almacenamiento se mantiene cerrado durante el proceso para evitar el ingreso de otros contaminantes.

Unidad de bombeo de las Aguas Residuales Industriales (ARI): El equipo de bombeo que se utilizó para alimentar las aguas residuales fue una bomba centrífuga convencional de 35 Watts, esta se conectó a un Dimmer Eléctrico con el cual se aumentó o disminuyó la potencia para el control del fluido que ingresa al reactor.

Para la ejecución del trabajo se utilizó material biológico, químico, equipos, etc., que a continuación se describe:

Equipos de monitoreo: Los parámetros evaluados fueron analizados con equipos mencionados a continuación. Para el pH se utilizó un potenciómetro marca HANNA modelo pH213, para medir los parámetros (EC/SDT/Salinidad) se utilizó un equipo multiparámetro marca HANNA modelo HI 9828. La medición de OD se realizó con el sensor de oxígeno disuelto (OD) portátil marca MILWAUKEE modelo MW600, Buffer para calibración de sensor de OD de otra parte se utilizaron (buffer solución

cero, solución para llenado del electrolito MA9071), agua destilada, agua desionizada, hipoclorito de sodio.

Material para la determinación de DBO: Se utilizaron frascos de 250 mL color transparente sellados herméticamente ya cubiertos con papel aluminio, sensor de oxígeno disuelto (OD) portátil marca MILWAUKEE modelo MW600. Generadores de aire y agua destilada.

Medios de Cultivo: Para la identificación y caracterización de bacterias se hizo uso de medios de cultivo como son:

- **Medio de cultivo Agar EMB** (peptona 10.0 g, lactosa 5.0 g, sacarosa 5.0 g, fosfato dipotásico 2.0 g, agar 13.5 g, eosina 0.4 g, azul de metileno 0.065 g.
- **Medio de cultivo Agar Mc.Conkey:** Digerido pancreático de gelatina 17.0 g, digerido péptico de Tejido Animal 1.5 g, digerido pancreático de caseína 1.5g, Lactosa 10.0 g, Rojo neutro 0.03 g, sales biliares 1.5g, cloruro de sodio 5.0 g, Cristal violeta 0.001 g, Agar bacteriológico 13.5 g,
- **Medio de cultivo caldo Lactosa Verde Bilis Brillante:** Bilis de buey deshidratada (20.0 g.), lactosa (10.0 g.), peptona (100.0 g.), verde brillante (0.0133 g.).
- **Medio de cultivo caldo Tioglicolato** (peptona de caseína 15.0 g, extracto de levadura 5.0 g, Tioglicolato de sodio 0.5 g, cloruro de sodio 2.5 g, L-cistina 0.25 g, agar bacteriológico 0.75 gr. Todos estos medios se esterilizan en autoclave durante 15 minutos a 120°C. y son repartidos en placas Petri o tubos de ensayo, según el tipo de medio

Para el preparado de los medios de cultivo se utilizó material de vidrio básico (matraces, probetas, beakers, baguetes, pipetas, tubos de ensayo) y equipos como estufa, autoclave, balanza analítica, cocina típicos de un ensayo microbiológico.

Software: El software utilizado para el análisis estadístico de los datos obtenidos fue Statgraphics Centurion 16.1 y Microsoft Office 2010.

3.3 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Recolección de las muestras :La obtención de las muestras del efluente de la fábrica productora de colágeno ubicada en el Parque Industrial - Rio Seco, fue de la misma planta como unidad principal de muestreo, ya que esta no contaba con un sistema de tratamiento convencional, el efluente se deposita en pozas de sedimentación de donde se extrajo las muestras.

La muestra fue tomada en frascos de vidrio con boca ancha de 2 L. de capacidad debidamente esterilizados, esta muestra permitió la determinación de parámetros fisicoquímicos tales como el pH, temperatura, conductividad, sólidos totales disueltos, oxígeno disuelto. En tanto que, para la identificación microbiológica la muestra tomada fue diluida en suero fisiológico, para luego sembrar en un medio general como Agar Nutritivo.

3.4 METODOLOGÍA DEL REACTOR RAFA

El RAFA se montó en el laboratorio H - 101, el cual consto de cuatro cuerpos; una base formadora de lodos, y en la parte superior el Head Plate, que además de poseer el conducto para el efluente del reactor también posee la campana separadora de gas-líquido- sólido, que es muy importante para un adecuado tratamiento.

Se ensambló también un medidor de presión sobre la tubería de salida de gas. Este medidor de presión fue muy importante para determinar la puesta en marcha y el fin de la etapa aerobia.

El reactor ensamblado fue llenado con un volumen de 12 L de aguas a tratar, con un millar de los soportes de polipropileno además de 1 litro (L) de caldo nutritivo

inoculado con bacterias procedentes de lodos activados de la planta de tratamiento de Chilpina, es decir 3 cuerpos de los 4 totales que conforman el RAFA, este se mantuvo en estado Batch por un periodo de 45 días donde se espera el término de la fase de aerobiosis, pasado este lapso de tiempo y después de 5 días se procedió a la puesta en marcha es decir el funcionamiento total del sistema de anaerobiosis . Sistema que es mostrado en el esquema del sistema.

Esquema del Sistema Anaerobio

Se observa en la Tabla 7, la descripción de las entradas y salidas en el proceso de tratamiento de aguas.

Tabla 7. Características del esquema de trabajo en el Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente (RAFA)

FLUJO	TIPO DE FLUJO	TIPO DE FLUIDO
1	Entrada	Aguas a tratar
2	Salida	Agua tratada
3	Salida	Gas
4	Salida	Lodos

Del mismo modo, en la Tabla 8 se describe los tanques que se usaron como almacenamiento de las aguas tanto antes del proceso como después del proceso, al igual que el uso de un tanque de gas, durante el proceso se observó el aumento de presión que llegó hasta 10 bar.

Tabla 8. Descripción de los tanques de almacenamiento.

CÓDIGO	FUNCIÓN	CARACTERÍSTICAS
TK-001	Tanque de almacenamiento del agua a tratar	Capacidad volumétrica: 20 L.
TK-002	Tanque de almacenamiento del agua tratada	Capacidad volumétrica : 20L
TK-003	Tanque de almacenamiento de gases	Capacidad volumétrica: 25 L. Diámetro: 36,26 cm
TK-004	Tanque de almacenamiento de lodos	Capacidad volumétrica: 20L.

En la Tabla 9, se describe de igual manera un sistema de bombeo para el proceso de alimentación del reactor RAFA, la capacidad de voltaje de la bomba fue de 12v.

Tabla 9. Descripción del sistema de bombeo utilizado en el proceso.

CÓDIGO	FUNCIÓN	CARACTERÍSTICAS
P-001	Bomba centrífuga 1	Voltaje de: 12v corriente continua (CC)
P-002	Bomba centrífuga 2	Voltaje de: 12v corriente continua (CC)

En la Tabla 10, se detalla las partes del reactor RAFA, que son 4 cuerpos, en forma de cilindro y de material de acero inoxidable, cada cuerpo presenta la misma longitud de 15,3 cm de diámetro interno y una longitud de 25 cm. La capacidad volumétrica de almacenamiento del reactor es de 18,40 L.

Tabla 10. Descripción de los elementos constitutivos del reactor RAFA.

CÓDIGO	FUNCIÓN	CARACTERÍSTICA
R	Reactor	Cuenta con tres cuerpos de reacción, con un volumen de almacenamiento de 18,38 L.
C1	Primer cuerpo	Longitud de: 15,3 cm de diámetro interno. Longitud de: 25 cm Capacidad volumétrica por cuerpo: 4,5963 L.
C2	Segundo cuerpo	Longitud de: 15,3 cm de diámetro interno. Longitud de: 25 cm. Capacidad volumétrica por cuerpo: 4,5963 L.
C3	Tercer cuerpo	Longitud de: 15,3 cm de diámetro interno. Longitud de: 25 cm. Capacidad volumétrica por cuerpo: 4,5963 L.
C4	Cuarto cuerpo	Longitud de: 15,3 cm de diámetro interno. Longitud de: 25 cm. Capacidad volumétrica por cuerpo: 4,5963 L.

En la Figura 9, se presenta el esquema del sistema de tratamiento de la depuración de agua en el reactor tipo RAFA.

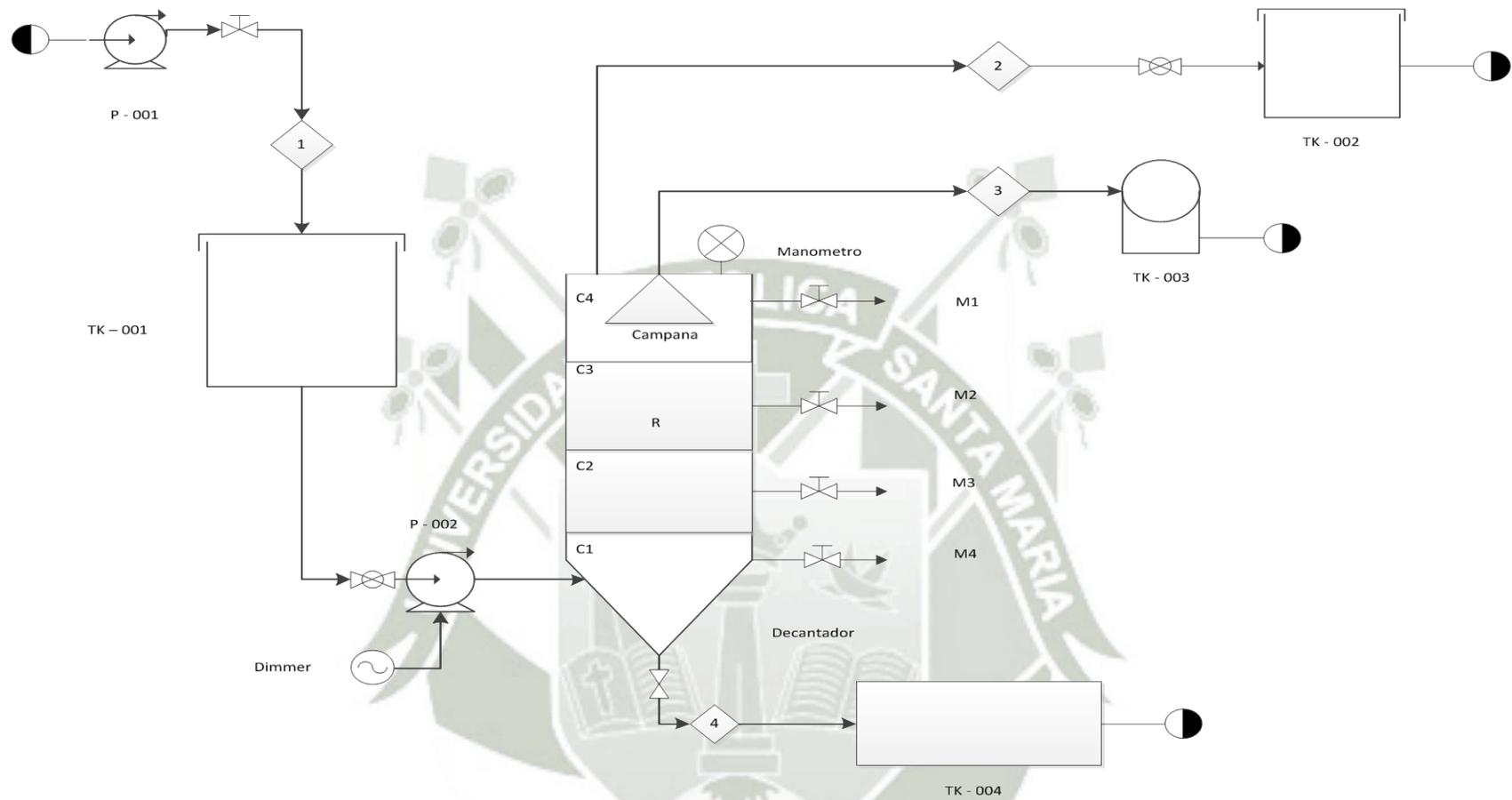


Figura 9. Esquema del Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente (RAFA)

Fuente: Microsoft Visio 2010

Fin de la etapa de aerobiosis

La etapa de aerobiosis se da mientras las bacterias anaerobias se adaptan en cantidad y calidad a las condiciones del agua a tratar, el cual tomó un periodo de 45 días, este proceso es notorio una vez que los parámetros a medir son cada vez más estables y la formación de gas es cada vez más rápida llegando a ser diaria a partir del día 40.

Inicio de la etapa de anaerobiosis

El inicio de la etapa de anaerobiosis se da una vez que los parámetros muestran ser estables, y la formación de flóculos es notoria, de otra parte la formación de gas es marcada y constante, además de notarse menos turbidez en las aguas.

Durante esta etapa se controla básicamente la presión constante y los parámetros observándose la estabilidad de estos.

Determinación de Parámetros Físicoquímicos

Determinación de pH

Fundamento:

La determinación del pH es una de las pruebas más importantes utilizadas en el análisis físicoquímico de aguas, tanto en el tratamiento de aguas residuales como en el de agua potable. El valor del pH dependerá de la actividad del ión H^+ a una determinada temperatura, razón por la cual este parámetro dependerá directamente de la temperatura. (Gomez, *et al.*, 2003).

La concentración del ion hidrógeno es un parámetro de calidad de gran importante tanto para el caso de aguas naturales como residuales. El agua residual con concentraciones de ion hidrógeno inadecuadas presenta dificultades de tratamiento con procesos biológicos, y el efluente puede modificar la concentración de ion hidrógeno en las aguas naturales. (Cajigas, 1995). El pH de un reactor anaeróbico en el rango de 6.3 a 7.8 parece ser más favorable para la metanogénesis. Mientras que el tratamiento de las aguas residuales domésticas, el pH permanece en este rango sin la adición de cualquier

producto químico, debido a la capacidad de amortiguación del sistema de base de ácido en un digestor anaerobio. Por otro lado, las bacterias acidogénicas son menos sensibles a las variaciones de pH por lo que en la fermentación de ácido de pH inferior puede predominar sobre la actividad metanogénicas. (Yasar,*et al.*, 2010).

Para la determinación del pH se utilizó el Ph-metro marca HANNA modelo pH 213, el cual fue calibrado previa medición siguiendo los pasos siguientes; examinar el electrodo para comprobar que no existe defecto alguno en caso que hubiera se limpió bien el electrodo con abundante agua destilada. Luego se sumerge el electrodo en la solución tampón a temperatura controlada. La solución utilizada debe ser la de pH más próximo al pH interno del electrodo, que suele ser pH 7. Esperar hasta que se estabilice durante aproximadamente 1 minuto. Una vez estabilizada la lectura, accionar el mando de punto neutro calibración-estandarización-asimetría hasta conseguir una indicación del pH de la solución tampón. Retirar el electrodo de la disolución y lavarlo con abundante agua destilada o con la solución tampón que será utilizada a continuación. Sumergir el electrodo en otro vaso que contenga otra disolución tampón de pH 4, y de la misma manera esperar hasta que se estabilice.

Posteriormente, se realizó tres tomas y medición de cada muestra del reactor en Batch por día de monitoreo, y de la puesta en marcha. Se tomó una vez que la medición se estabilizara.

Determinación de temperatura

Fundamento:

La temperatura del agua es un parámetro muy importante dada su influencia, tanto sobre el desarrollo de la vida acuática como sobre las reacciones químicas y velocidades de reacción. Por otro lado el oxígeno es menos soluble en agua caliente que en agua fría. La temperatura óptima para el desarrollo de la actividad bacteriana se sitúa entre los 25 y los 35°C. A temperaturas de alrededor de 15°C, las bacterias productoras de metano cesan su actividad. (Cajigas, 1995). La temperatura mesófila varía entre 30-40 ° C. Sin

embargo, el efecto de la temperatura se rige principalmente por diversas características físicas, químicas, y los procesos biológicos.

Para la determinación de temperatura se utilizó un termómetro convencional, con el que se realizó el seguimiento de temperatura tanto del muestreo en el reactor en Batch y para la muestra sin tratamiento.

Determinación de Conductividad/ SDT/ Salinidad

Fundamento de la determinación de la conductividad:

La conductividad nos indica el grado de mineralización de un agua. Determina la capacidad del agua para conducir la corriente eléctrica y su valor depende de la concentración y tipos de iones presentes en el agua, así como de la temperatura. (Gomez,*et al.*, 2003).

Fundamento de la determinación de la salinidad:

Cuando los procesos biológicos se aplican al tratamiento de aguas residuales salinas, las altas concentraciones de sales inorgánicas pueden afectar negativamente a la oxidación del carbono, nitrificación, desnitrificación y eliminación de fósforo, e incluso pueden causar que los sistemas de tratamiento de aguas residuales no produzcan los rendimientos deseados.

La sal puede ocasionar cambios en el metabolismo microbiano, en las propiedades de sedimentación del lodo y de los flóculos en sistemas de fangos activos, así como en la arquitectura de las biopelículas. También la salinidad puede alterar la composición de la biopelícula y/o sustancias poliméricas extracelulares (EPS) y afectar directamente la solubilidad máxima de oxígeno.

Fundamento de la determinación de SDT:

Son todos los sólidos, que están en solución ionizados. No incluyen los sólidos en suspensión, coloides ni gases disueltos. (DIGESA). El término SDT describe la cantidad

total de sólidos disueltos en el agua. Los SDT y la conductividad eléctrica están estrechamente relacionadas. Cuanto mayor sea la cantidad de sales disueltas en el agua, mayor será el valor de la conductividad eléctrica.

Para la determinación de conductividad, se utilizó el multiparámetro marca HANNA-HI9828 con rango automático impermeable, este multiparámetro registra también parámetros de sólidos disueltos totales (SDT), temperatura, salinidad y conductividad. Las muestras fueron medidas en el laboratorio H-101 de la UCSM, previa calibración de los sensores.

Determinación de Oxígeno Disuelto (OD)

Fundamento:

La determinación de oxígeno disuelto (OD) es muy importante por ser el factor que determina la existencia de condiciones aerobias o anaerobias en un medio particular.

Es el oxígeno que esta disuelto en el agua, esto se logra por la aireación y como un producto de desecho de la fotosíntesis. La solubilidad del oxígeno en agua depende, además de su presión parcial, de la temperatura. (DIGESA)

En la determinación de Oxígeno Disuelto (OD) se utilizó el sensor de OD marca MILWAUKEE modelo MW600, para la evaluación de las muestras tomadas de los tres puntos de muestreo, durante la etapa Batch y la puesta en marcha para el proceso de purificación. Para el monitoreo de este parámetro se calibró previamente el sensor para proceder a sumergir el sensor y esperar que se estabiliza para proceder a realizar la medición. La determinación de oxígeno disuelto (OD) es muy importante por ser el factor que determina la existencia de condiciones aerobias o anaerobias en un medio particular.

Identificación de Microorganismos de la Planta de Chilpinas-Sedapar.

Toma de Muestra: Para la toma de muestra se utilizó frascos de vidrios estériles de boca ancha con tapón protector y capacidad de 100 mL – 120 mL, posteriormente, se

preparó diluciones, 1:10, 1:100, 1:1000 y en determinadas ocasiones 1:10000 y 1:100000, esto haciendo diluciones seriadas es decir pipeteando 1 mL de la muestra en un tubo con 9 mL de suero fisiológico.

Aislamiento e identificación de microorganismos: Enterobacterias

Fundamento

Las enterobacterias son aerobias facultativas o anaerobias, fermentan gran variedad de carbohidratos, poseen una estructura antigénica compleja y producen diversas toxinas, estas bacterias también pueden llamarse coliformes. La familia incluye muchos géneros (*Escherichia coli*, *Shiguella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* y *Proteus*). La clasificación de las enterobacterias está basada principalmente en la determinación de la presencia o ausencia de diferentes enzimas codificadas por el material genético del cromosoma bacteriano. Estas enzimas guían el metabolismo de las bacterias a lo largo de una de las diversas vías que pueden detectarse a través de medios especiales utilizados en las técnicas de cultivo in vitro. Con el objetivo de efectuar selecciones racionales se debe conocer la composición de los medios de cultivo, tales como agares de aislamiento selectivo primario (agar EMB, agar Mc Conkey); agares de aislamiento selectivo (altamente selectivo).

Se preparó medio de cultivo de medio EMB, para luego sembrar por agotamiento con un asa de Khole a partir de la muestra diluida y luego se dejó incubar a 37°C de 24 a 48 horas.

Transcurridas 48 horas y tras la formación de diferentes colonias, se sembraron en medio EMB y en placas individuales para cada una de las cepas obtenidas. Se las conservo a temperatura ambiente para realizar una resiembra de las mismas colonias en otra placa. Para la conservación de las cepas se procedió a sembrar en placas con agar Mc Conkey, llevados a incubación a 37°C de 24 a 48 horas.

Siembra en medios diferenciales: Pruebas Bioquímicas

Fundamento:

Se trata de un conjunto de reacciones basadas en el metabolismo de los microorganismos. Entre otros aspectos se analiza la acción de la bacteria sobre hidratos de carbono (que fuente de carbono utiliza, que condiciones, como la utiliza, que productos se obtiene), la liberación de exoenzimas, metabolitos y toxinas al medio de cultivo, la motilidad, etc. A partir del conocimiento del metabolismo, las pruebas bioquímicas y fresco 18 a 24 horas. Las pruebas más utilizadas son: prueba de oxidasa, prueba de la catalasa, licuefacción de la gelatina, reducción de nitritos, TSI, LIA, INDOL, hidrólisis de almidón, etc.

Luego de la identificación de colonias se aislaron en diferentes placas, se caracterizó por tipo de colonia, según su morfología, logrando aislar cuatro tipos de colonias diferentes. Se prepararon baterías de tubos con medio TSI (inclinado), medio LIA (inclinado), y caldo Indol, los cuales fueron sembrados con una asada bacteriológica de cada colonia debidamente con material estéril, la siembra en medio TSI se realizó en pico y estría, la siembra en LIA se realizó con triple pico y estría, y la siembra en caldo indol fue agitando el asa bacteriológica. Luego de 24 horas se observa el cambio según el cambio del viraje de color.

Prueba del Número más Probable (NMP)

Fundamento:

Las concentraciones de bacterias coliformes totales suelen expresarse como Número Más Probable (NMP) por cada 100 mL. La determinación del NMP se basa en aplicar la distribución de Poisson para valores extremos al análisis del número de muestras positivas y negativas obtenidas al ensayar diferentes fracciones de muestra de volúmenes iguales y fracciones que formen series geométricas. Es importante poner énfasis en el hecho de que el NMP no es la concentración absoluta de organismos presentes en la muestra, sino tan sólo una estimación estadística de la concentración. El

NMP puede determinarse empleando directamente la distribución de Poisson, usando las tablas (ANEXO III) para la determinación del NMP. (Cajigas, 1995)

Se dispuso de 15 tubos de ensayo estériles con campana Durham con caldo Lactosa Verde Bilis Brillante (caldo brilla).

El tubo que contiene 9 mL de agua dilución más 1 mL de muestra (1:10), debe agitarse bien y con otra pipeta estéril se retira 1mL y se transfiere a cinco tubos de ensayo que contienen caldo brilla de simple concentración con la misma pipeta se extrae 1 mL de la dilución y se agrega a otro tubo de agua dilución y se continua con el mismo procedimiento ya descrito hasta que la dilución final muestre resultados negativos.

Luego de haber inoculado la muestra en el triplete de cinco tubos de ensayo se incuba a 37°C por 24-48 horas. Al cabo de las 24 horas de incubación los tubos deben ser examinados, si no se ha producido gas se vuelve a examinar a las 48 horas. Hasta esperar que en los tubos positivos se observe producción de gas, como resultado de la fermentación se enturbia el caldo y agitando suavemente y por movimientos de rotación se observa la aparición continúa de pequeñas burbujas de gas en el medio. Si no hubiera producción de gas, se deja incubar 24 horas más, y si persiste la ausencia de gas y acidez durante las 48 horas., entonces se registra como prueba negativa. (Huanca Huisa., 2000). Se calculó el NMP basándose en las combinaciones de tubos positivos y negativos, según las tablas (ANEXO III).

Determinación de anaerobiosis en el reactor

Fundamento:

Para la determinación de anaerobiosis se empleó el medio semi-sólido de Tioglicolato, el cual permite el crecimiento de microorganismos aerobios, microaerófilos y anaerobios por la adición de un agente reductor y pequeñas cantidades de agar. La dextrosa, el digerido pancreático de caseína, el extracto de levaduras proveen los factores necesarios para el crecimiento.

Por otro lado, el Tioglicolato de Sodio y la L-cistina actúan como agentes reductores y neutraliza el efecto tóxico del medio promoviendo la anaerobiosis.

Se preparó caldo semi-sólido de Tioglicolato para un volumen de 50 mL, se dispuso en tubos con tapones y se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Finalmente se enfriaron los tubos a temperatura ambiente y en oscuridad para luego inocular con un hisopo estéril con la muestra de agua residual según las diluciones de la muestra que fueron 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} .

Cuantificación de la formación de biopelícula

Fundamento:

La determinación de cuantificación de biopelícula, es necesaria para el conocimiento de la densidad de la formación de biopelícula en función a un lapso de tiempo.

Al finalizar el proceso de purificación en el reactor RAFA, se extrajo aleatoriamente 10 soportes del interior, los cuales contenían finas capas, estas fueron secadas a temperatura ambiente por 1 día. Luego se procedió a pesar cada uno de ellos, después de dicha pesada se raspo los soportes que contenían y se les lavo con suero fisiológico. Se secó por 1 día entero a temperatura ambiente, y se evaluó el peso sin películas.

Caracterización y microanálisis por microscopia electrónica de barrido (SEM) y análisis de rayos X por dispersión de energía (EDX)

Fundamento:

El microscopio electrónico de barrido es uno de los instrumentos más versátiles para investigar la microestructura de los materiales. Todos los microscopios electrónicos de barrido normalmente están equipados con detectores de electrones secundarios y de electrones retrodispersados. Al interaccionar la muestra con el haz de electrones incidente se genera diferentes señales que se pueden usar para la caracterización de materiales.

Se utilizó el microscópico electrónico de barrido Philips SEM XL 20 y el micro analizador de rayos X por dispersión de energía EDAX DX 4i, determinándose cualitativamente la morfología y la formación de la biopelícula. La muestra al ser de tipo no metálicas fueron metalizadas, es decir recubiertas por una capa metálica de oro de espesor aproximado de 100 Angstroms con un metalizador de vacío Denton Vacuum Desk II, esto con la finalidad que las muestras fuesen conductoras y pudiesen ser analizadas en el microscopio electrónico de barrido.

Análisis de los parámetros fisicoquímicos en el bioreactor RAFA: Puesta en marcha.

Fundamento de la determinación de pH.

El valor del pH dependerá de la actividad del ión H^+ a una determinada temperatura, razón por la cual este parámetro dependerá directamente de la temperatura. (Gomez, *et al.*, 2003).

Fundamento de la determinación de Temperatura

La temperatura del agua es un parámetro muy importante dada su influencia, tanto sobre el desarrollo de la vida acuática como sobre las reacciones químicas y velocidades de reacción.

Fundamento de la determinación de Conductividad:

Determina la capacidad del agua para conducir la corriente eléctrica y su valor depende de la concentración y tipos de iones presentes en el agua, así como de la temperatura.

Fundamento de la determinación de Salinidad

La sal puede ocasionar cambios en el metabolismo microbiano, en las propiedades de sedimentación del lodo y de los flóculos en sistemas de fangos activos, así como en la arquitectura de las biopelículas

Fundamento de la determinación de SDT

Son todos los sólidos, que están en solución ionizados. No incluyen los sólidos en suspensión, coloides ni gases disueltos. (DIGESA). El término SDT describe la cantidad total de sólidos disueltos en el agua.

Fundamento determinación OD:

La determinación de oxígeno disuelto (OD) es muy importante por ser el factor que determina la existencia de condiciones aerobias o anaerobias en un medio particular

Para la determinación del pH se utilizó el Ph-metro marca HANNA modelo pH 213 debidamente calibrado, en cuanto a la determinación de conductividad, salinidad y SDT se utilizó el multiparámetro marca HANNA - HI9828 con rango automático impermeable. En la determinación de Oxígeno Disuelto (OD) se utilizó el sensor de OD marca MILWAUKEE modelo MW600.

Finalmente para medir la temperatura, en esta etapa de puesta en marcha se midió con el mismo termómetro convencional como el termómetro acoplado al multiparámetro marca HANNA- HI9828. Cabe mencionar que solo se tomó una sola muestra cada 30 minutos.

Determinación de Demanda Bioquímica del Oxígeno (DBO)

Fundamento:

La demanda biológica de oxígeno podemos considerarla como una estimación de la cantidad de materia orgánica biodegradable presente en una muestra de agua. Este parámetro se basa en la capacidad de los microorganismos presentes en la muestra de consumir los compuestos orgánicos en un ambiente aeróbico, (Gomez,*et al.*, 2003). Atendiendo a esto podemos definir la DBO₅ como la cantidad de O₂ necesaria para la oxidación de toda la materia orgánica biodegradable por medio de microorganismos anaerobios, (Gomez, *et al.*, 2003).

Se diluyó un volumen de 10 mL de la muestra a tratar con 290 mL de agua previamente aireada registrando así la lectura de oxígeno disuelto inicial (OD_i) del volumen de la mezcla (V_{mezcla}). Se obtuvo también, el valor de oxígeno disuelto del agua mezclada y del agua cruda, estas mediciones se realizaron con el uso del sensor MILWAUKEE modelo MW600 este resultado sería $OD_{imezcla}$ (mg/L). Posteriormente se dejó incubar la mezcla obtenida a una temperatura de 20°C por un periodo de 5 días para obtener concluido el tiempo el registro de oxígeno disuelto final (OD_{final}) en mg/L.

Para comprobar los resultados se utilizó la siguiente fórmula:

$$DBO5 = (OD_i - OD_f) * P$$

Dónde:

OD_i es el oxígeno disuelto medido inmediatamente.

OD_f es el oxígeno disuelto medido a los cinco días.

P es la fracción volumétrica*1.

3.5 METODOLOGÍA ESTADÍSTICA

El análisis estadístico fue llevado a cabo usando el paquete estadístico Statgraphics Centurion XV versión 16.1. Los resultados son expresados con la media \pm error estándar de la media (EE) de muestras y por duplicado para cada caso. Las diferencias fueron consideradas significativas a $P < 0.05$.

3.6 FLUJOGRAMA DE ACTIVIDADES

El diagrama de actividades elaborado para este proyecto de investigación se puede observar en la figura 10.

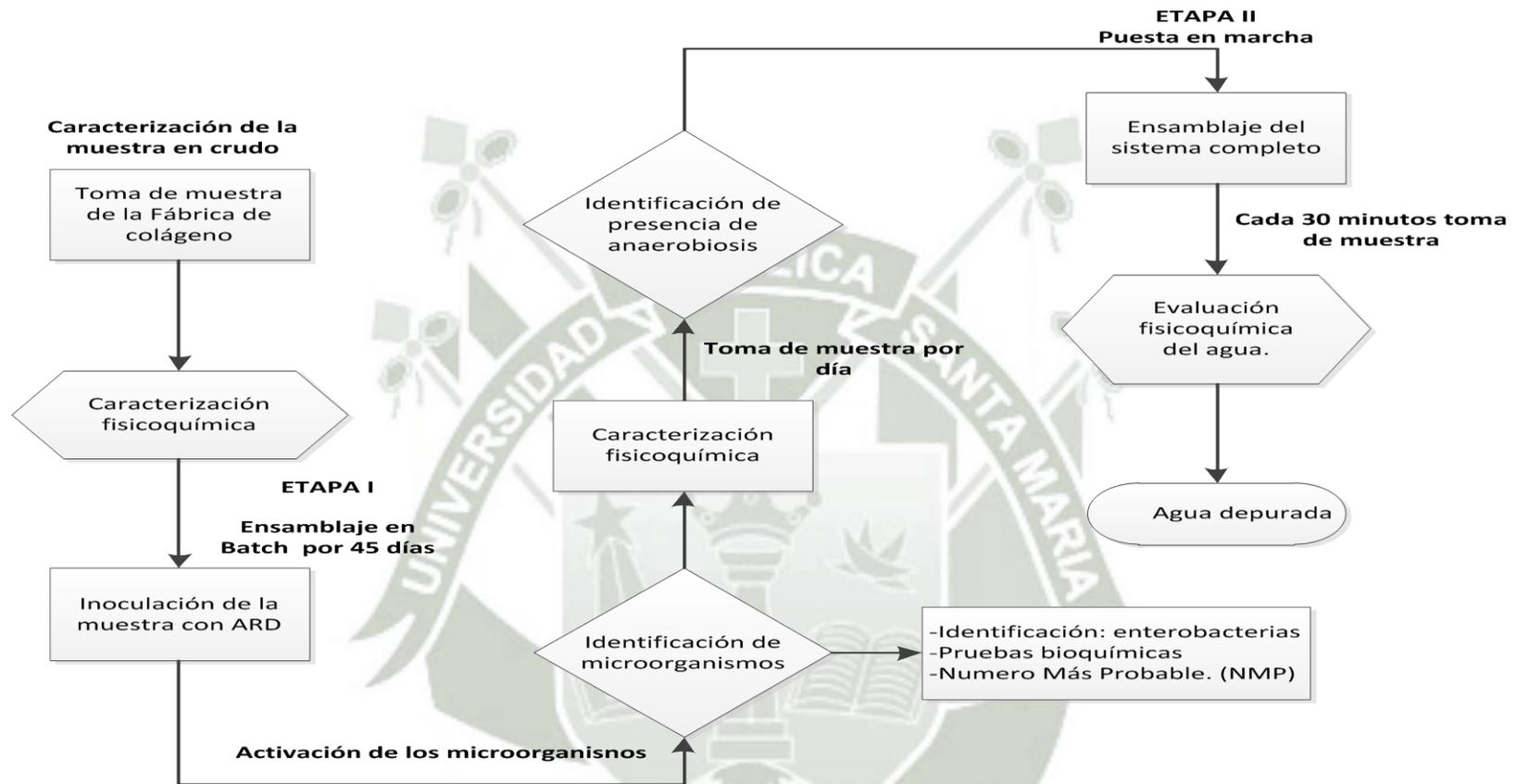


Figura 10. Flujograma de actividades para el tratamiento de depuración de aguas de efluentes de una Fábrica que produce colágeno, Parque Industrial Río Seco – Arequipa



CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.1. Caracterización fisicoquímica de los efluentes a tratar.

Realizada la recolección de la muestra del agua a tratar de la poza de sedimentación de la planta productora, se procedió a realizar la caracterización de algunos parámetros fisicoquímicos de los efluentes sin tratamiento previo, como se muestra en la Figura 11, con imágenes de recolección de la muestra, donde se observa en A) la recolección de muestras que se llevó a cabo en las instalaciones de la fábrica productora de colágeno, Parque Industrial Rio Seco, específicamente de las pozas de sedimentación, la toma de muestra se realizó con los equipos necesarios de seguridad y con el uso de frascos herméticos y esterilizados, en la Figura B) se observa que la muestra es turbia debido a la composición de los efluentes emitidos durante ciertas etapas del proceso de producción siendo, principalmente rica en colágeno no hidrolizado, y otros sólidos que no han sido procesados además de sales y otros ciertos reactivos que son parte del proceso de transformación.



Figura 11 . En las imágenes se observa, A. Recolección de muestra de la fábrica de Colágeno- parque industrial Rio Seco, B. Muestra recolectada del efluente a tratar.

Luego se procedió a hacer el análisis de los parámetros fisicoquímicos de la muestra en crudo. En la Tabla 11, se detallan los resultados obtenidos de los parámetros fisicoquímicos analizados.

Tabla 11. Medición de parámetros fisicoquímicos de efluentes de la fábrica productora de colágeno

PARÁMETROS	VALOR	UNIDADES
Temperatura Ambiente	18±0.2	°C
Temperatura del Agua	20.82±0.3	°C
pH	10.25±0.1	
Salinidad	1.44±0.1	psu
SDT	1121±9.2	mg/L
Conductividad	2243±21	µS/cm
OD	0.8±1.5	mg/L
Volumen Total	2000	mL

Se reportan los resultados como las medias \pm el error estándar de la media (n=2). Los datos obtenidos muestran que los parámetros medidos en los efluentes escapan claramente a los límites establecidos por la Ley General de aguas, Ley N° 17752 (2006). (ANEXO VII).

Como se observa en la Tabla 11, la temperatura ambiente registra un valor de 18°C y una temperatura de 20.82 °C para el agua a tratar, esto debido a que la temperatura del agua emitida en cada uno de los procesos es superior a la temperatura ambiental especialmente los efluentes emitidos en el proceso de cocción ya que esta alcanza una temperatura de 35°C al final del mismo. El pH de 10.25 como se muestra en la tabla es muy alcalino explicándose, por el uso de Hidróxido de Calcio en el proceso de caleo, ya que este no es reutilizado mezclándose en el efluente final.

La salinidad de 1.44 psu se explica por la producción del sulfato de calcio producto de la etapa de neutralización entre el hidróxido de calcio y el ácido sulfúrico (utilizado para dicho fin, como los menciona Carmen Cortés Lorenzo, por lo general, los efluentes

salinos se encuentran asociados a procesos industriales de fabricación de productos y manufacturas de la industria alimentaria, conservas de productos marinos y vegetales, (Cortés Lorenzo, 2012).

Como se puede observar, en la tabla los SDT en la medición realizada, registra un valor de 1121 mg/L siendo este superior a los ECA establecidos por D.S. -002-2008- MINAM (ANEXO VII) al igual que el resto de parámetros analizados. Los SDT están comprendidos en la muestra por la carga orgánica propia del efluente es decir colágeno no hidrolizado así como sales y algunas grasas. Un valor de conductividad de 2243 uS/cm muestra que este valor esta fuera de los límites máximos permisibles como está asociado a los Sólidos Disueltos Totales, es la presencia de sustancias orgánicas, mismo que el sulfato de calcio, tal como se ha reportado en otros reactores RAFA (Zepeda Cervantes, 2011), en el cual se presentan carbonatos como sales solubles en el efluente.

Finalmente se observó un valor de Oxígeno Disuelto (OD) de 0.8 mg/L, lo que nos indica que es un valor mínimo para los límites máximos permisibles, este valor se le atribuye a las altas temperaturas con las que son emitidas del proceso de producción y como es sabido el oxígeno tiende a estar menos disuelto a altas temperaturas, E. Awuah, (2008), menciona que la pobre cantidad de oxígeno disuelto en un reactor se debe a que los conductos de drenaje son cerrados y permiten un pobre aireado de las aguas, caso análogo al de la fábrica de colágeno, (E. Awuah,*et al.*, 2008).

4.1.2. Ensamblaje y acondicionamiento del sistema anaerobio tipo RAFA con soportes.

Como producto del acondicionamiento del reactor para la depuración de los efluentes se obtuvo que el sistema de alimentación fue realizado por una bomba centrífuga de 35 Watts, que además produjo un flujo de 25 mL/min, determinando de este modo que el TRH fuese de 12 horas. Se observa en la Figura 12, imágenes para el ensamblaje del sistema anaerobio tipo RAFA.

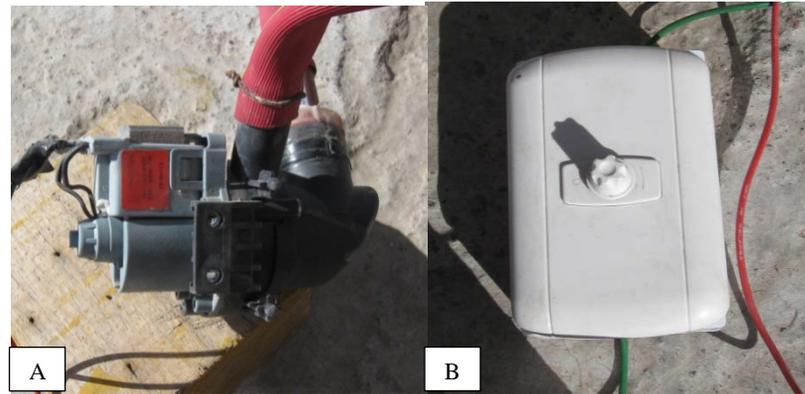


Figura 12. Acondicionamiento de la unidad de bombeo A. Bomba centrífuga alimentadora de las aguas a tratar. B. Dimmer, dispositivo utilizado para el control de flujo.

Este sistema de bombeo, permitió alimentar al reactor las aguas a tratar de una manera constante durante todo el periodo de circulación no presentando problema alguno a la hora del desplazamiento; ni por la presión ejercida por los gases formados ni por las aguas dentro conducidas dentro del reactor.

Al mismo tiempo se ensambló el Reactor Anaerobio de flujo Ascendente (RAFA), el cual consto de cuatro cuerpos; una base formadora de lodos, y en la parte superior el Head Plate, que además de poseer el conducto para el efluente del reactor también posee la campanada separadora de gas- liquido- solido, que es muy importante para un adecuado tratamiento. Se ensambló también un medidor de presión sobre la tubería de salida de gas. Este medidor de presión fue muy importante para determinar la puesta en marcha. En la Figura 13, se observa la configuración final del sistema de tratamiento tipo RAFA.

Como se aprecia en la Figura 13, el sistema de tratamiento anaerobio de flujo ascendente está conformado de una unidad de almacenamiento de las aguas a tratar de 20 L de capacidad, enseguida se conecta por una tubería al motor de tipo centrífuga, el cual es controlado por un dimmer, impulsando los influentes al reactor compuesta de cuatro

cuerpos que tiene dos salidas una al tanque de almacenamiento y el otro a la unidad de recepción del efluente el cual tiene una capacidad de 20 L. Además de contar con tres puntos de muestreo.



Figura 13. Sistema de anaerobiosis, Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente (configuración final).

La forma del reactor puede ser muy importante, Este diseño puede hacerse en forma rectangular o cilíndrica. Se escogió la cilíndrica en virtud de las obvias ventajas hidrodinámicas como por ejemplo, la menor posibilidad de formación de zonas muertas, además del tamaño, volumen, carga y caudal. (Seghezzeo, 2004)

Otra parte importante del sistema, es el depósito de gas producido que era controlado con una llave de tipo bola, una alternativa interesante es la propuesta por, (Arango, Oscar, 2009), que trabaja con un sistema de poleas que al estar la campana llena de gas esta se desplazaba permitiendo su fuga hacia el depósito de almacén.

Así mismo se resalta en el proyecto la introducción de los soportes para la formación de biopelículas, como se observa en la Figura 14-A; estos soportes de polipropileno con medidas de 0,1 cm de longitud en las crestas internas como externas, un diámetro de 0,8 cm y altura de 0,5 cm, antes de ser introducidas se generó porosidad en estos soportes con papel lija de madera, se detalla en la Figura 14-B.

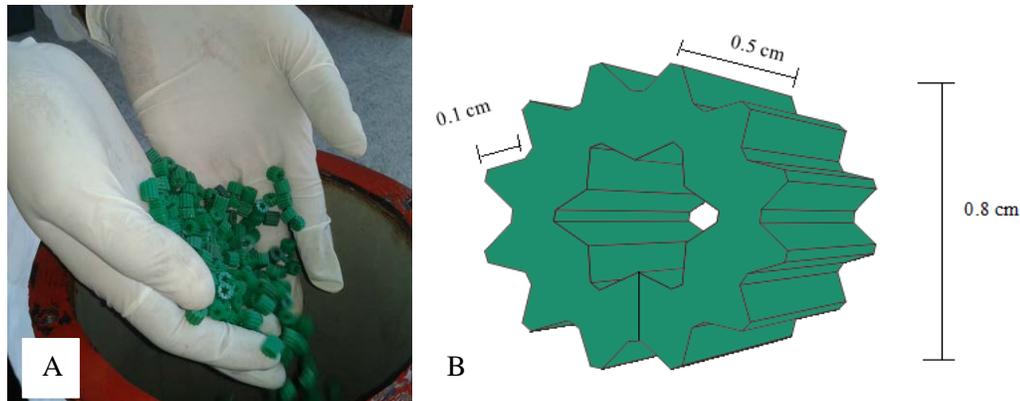


Figura 14. A. Se muestra la introducción de soportes al reactor antes del inicio de la etapa Batch, B. Esquema de soporte con sus dimensiones 0.8 x 0.5 cm y 0.1 cm de crestas.

4.1.3 Caracterización de la población microbiana.

Se realizaron pruebas para la determinación de que cepas bacterianas estaban presentes en el reactor una vez inoculado con bacterias aisladas de lodos activados de la planta de tratamiento de Chilpina, obteniéndose resultado.

Aislamiento e identificación de microorganismos: Enterobacterias

Para determinar las bacterias presentes en el reactor y que se encontraban formando el sistema biológico de depuración, se realizaron siembras en medio de cultivo general como específicos, así como pruebas bioquímicas, probando la presencia de *Proteus*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *E. Coli*. En la Figura 15, se observa el crecimiento de

diferentes colonias en un Agar específico (EMB) Eosina Azul de Metileno, este medio es específico para el crecimiento de enterobacterias.



Figura 15. Colonias de bacterias presentes el sistema de tratamiento

Se observa en la Figura 15, crecimiento de cuatro colonias distintas en agar EMB, estas colonias fueron resemebradas en otra placa con medio EMB para comprobar la diferencia entre las colonias. Luego del aislamiento e identificación de la morfología de las colonias, se realizaron resiembras en nuevas placas Petri, con el fin de aislar las colonias completamente y para la conservación de las cepas en medio agar Mc Conkey. Luego se procedió a realizar las pruebas bioquímicas, caracterizando de este modo las bacterias presentes.

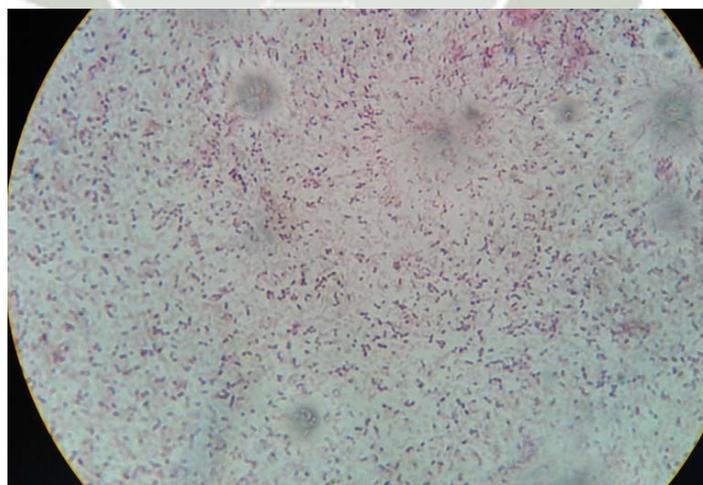


Figura 16. Observación al microscopio resolución 100x, bacterias Gram (-)

En la Figura 16, se puede observar mediante tinción Gram, el resultado de organismos en bastoncillo impregnados con una coloración roja dando prueba que son Gram (-), presumiendo enterobacterias.

Medios diferenciales: Pruebas Bioquímicas

Una vez realizado el aislamiento se procedió a identificar con pruebas bioquímicas, el resultado de estas pruebas se pueden observar en la Figura 17, de las reacciones en medio TSI, LIA, e Indol.

Tal como se observa en la Figura 17, para la identificación del género a) *Proteus* que es un bacilo Gram negativo; anaerobio facultativo, prefiere pH alcalino, presenta un olor característico desagradable, este microorganismo es Lisina negativo, ya que en la parte inclinada superior varía del color rojo vino y fondo se torna de color amarillo, mientras que en la prueba de TSI es un microorganismo no fermentador de lactosa, sin embargo, este género contiene dos especies de importancia médica que se puede distinguir mediante la prueba del indol; *P. mirabilis* indol negativo, *P. vulgaris* indol positivo.

En el caso de la Figura 17-b) *Escherichia. coli* que no presenta gas, es un bacilo Gram negativo, móvil, anaerobio facultativo y es capaz de crecer a 44°C es un microorganismo fermentador de lactosa A/A, lisina positiva y prueba de indol positivo, el cual presenta movilidad; en este caso no presenta formación de H₂S.

Para la identificación de c) del género *Citrobacter*, microorganismo bacilo Gram negativo, el cual presenta en la prueba de LIA que en el fondo del tubo el pH del medio ha disminuido hasta activar la descarboxilasa, habiendo también producción de H₂S en gran cantidad, mientras que en la parte superior mantiene el color púrpura, por otro lado, presenta fermentación de lactosa A/A y la prueba de indol puede ser positivo o negativo.

Finalmente en d) del género *Enterobacter*, que es un bacilo Gram negativo capaces de respiración aerobia y anaerobia, fermentadores de lactosa A/A, lisina positiva y prueba de indol negativo.

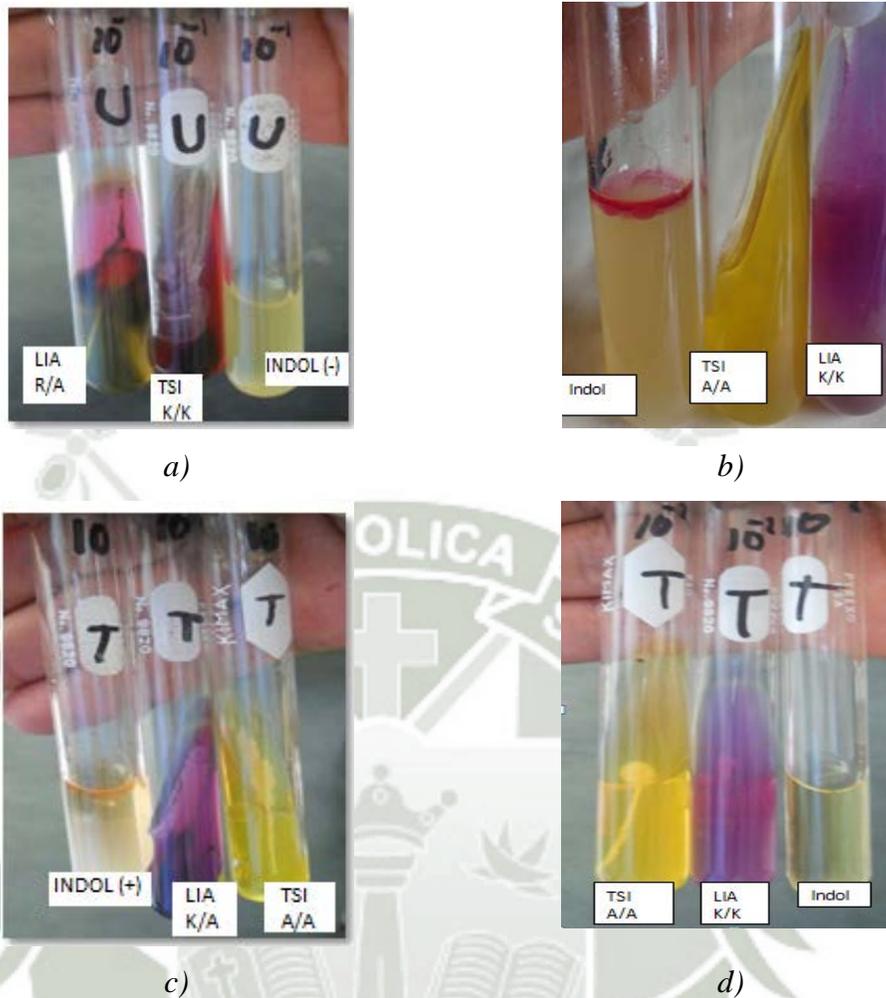


Figura 17. Reacciones bioquímicas de bacterias identificadas, a) identificación de *Proteus*, b) *E.coli*, c) *Citrobacter* y d) *Enterobacter*.

Como se observa en los resultados de la Tabla 12, se realizaron pruebas bioquímicas de TSI (Triple azúcar hierro) contiene glucosa, sacarosa, lactosa.

Tabla 12. Reacciones bioquímicas y caracterización de bacterias en TSI, LIA e Indol

TUBO	TSI	Gas	H ₂ S	LIA	INDOL	BACTERIA
10 ⁻³	A/A	2+	+	R/A	-	<i>Proteus</i>
10 ⁻³	A/A	+	4+	K/A	+	<i>Citrobacter</i>
10 ⁻³	A/A	-	-	K/K	+	<i>E.coli</i>
10 ⁻³	A/A	+	-	K/K	-	<i>Enterobacter</i>

La degradación del azúcar con formación de ácido se manifiesta por un cambio de color del indicador rojo de fenol que vira de anaranjado a amarillo (A/A) o por un viraje a rojo intenso en caso de alcalinidad.(K/K) en caso de presencia de ácido sulfhídrico (H₂S), el cual produce un color negro, en la lectura del agar LIA es descarboxilada por microorganismos que transforman en amina, cadaverina, esto produce un viraje al violeta del indicador de pH púrpura de bromocresol, la descarboxilación tiene lugar en medio ácido y es debido a la fermentación de glucosa (K/K), y la prueba de indol, el cual al añadir en el cultivo en caldo de peptona el reactivo de Kovac's la reacción será positiva si se observa un anillo rojo, y será negativo con la formación de un anillo amarillo.

Determinación del Número más Probable (NMP)

Transcurrido un tiempo de 48 horas se puede observar la formación de gas y consumo de lactosa, en caldo Lactosado Verde Bilis Brillante.

El Número Más Probable para las aguas efluentes del reactor después del tratamiento, se encontró que según las tablas del Número más Probable (NMP) para tres series de cinco tubos (ANEXO III); el NMP de Coliformes Totales presentes por g o mL de agua. Es de 800 NMP/100 mL, siendo mínimo en comparación al valor máximo permisible por el ministerio de ambiente que es de 5000 NMP/100 mL.

Tabla 13. Resultados de la determinación del Numero más Probable (NMP)

DILUCIONES	TUBOS (+)	TUBOS (-)
10 ⁻¹	1	4
10 ⁻²	2	3
10 ⁻³	1	4

En la prueba del Número más Probable (NMP) en Caldo Lactosado Verde Bilis Brillante con tres grupos de cinco tubos en diluciones de 1:10, 1:100 y 1:1000, se observa que en 1:10 hay producción y consumo de lactosa en solo un tubo al igual que en la dilución

1:1000, mientras en el grupo de dilución 1:100 se observa la producción de gas y el consumo de lactosa en dos tubos. Tal como se observa en la Figura 18, se realizó un batería de 15 tubos, el cual se separaron en tres grupos de diluciones el primero de 10^{-1} , el segundo con 10^{-2} y el último grupo de 10^{-3} .

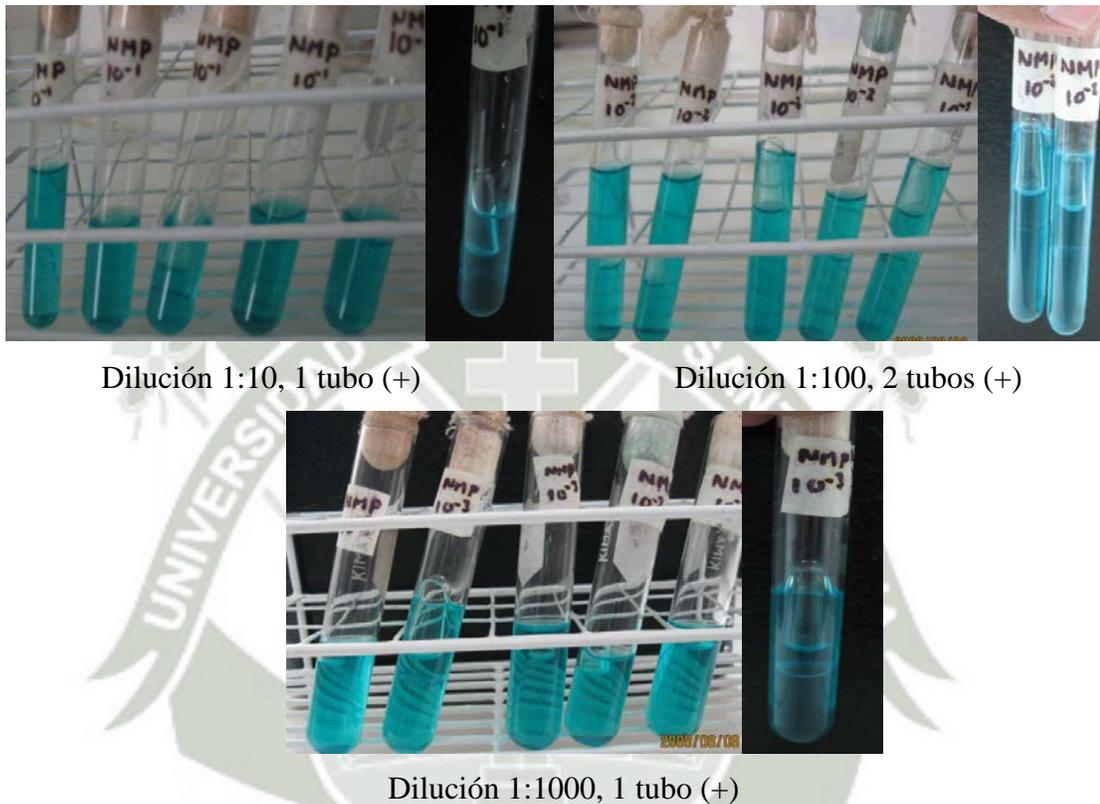


Figura 18. Prueba del Número más Probable (NMP) en Caldo Lactosado Bilis Verde Brillante

El método consiste en sembrar según las diluciones y las pruebas se asumen de acuerdo a la formación de gas usando la campana de Durham, los tubos fueron incubados a 37°C por 24 horas o 48 horas, donde los resultados fueron que en la dilución de 1:10, se observó 1 tubo positivo de 5, con la dilución de 1:100 se observó 2 tubos positivos de 5 y finalmente con la dilución de 1:1000, se obtuvo 1 tubo positivo de 5. Estos resultados fueron comparados con tablas anexadas (ANEXO III) de los cuales los resultados se muestran en la Tabla 13.

4.1.4 Determinación de anaerobiosis.

Tras el inóculo de las bacterias presentes en el RAFA en el medio semi-sólido Tioglicolato, donde se demostró la presencia de bacterias anaerobias ya que se puede observar que las bacterias crecen en la parte inferior del caldo y en pequeñas cantidades en la parte superior, como se muestra la Figura 19.

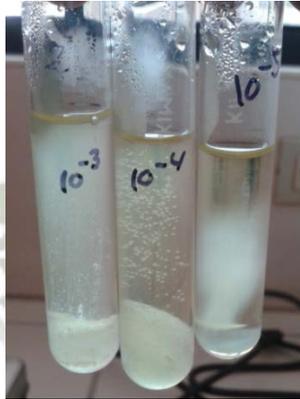


Figura 19. Crecimiento de bacterias anaerobias facultativas en caldo Tioglicolato

Como se puede observar en la Figura 19, existe un mayor crecimiento en el fondo de los tubos, el sembrado de los tubos se realizó por triplicado demostrando la presencia de anaerobios facultativos, de otra parte se hizo una tinción de Gram de las bacterias anaerobias, observándose crecimiento de bacilos Gram negativos como muestra la Figura 20.

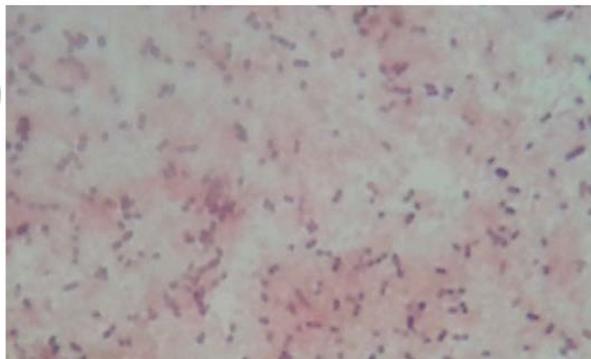


Figura 20. Observación al microscopio con tinción de Gram, bacterias anaerobias facultativas, bacilos Gram (-)

En la Figura 20, se observa la presencia de bacilos Gram negativos de tamaño regular, esto evidencia la prueba ya que son anaerobias facultativas.

4.1.5 Determinación de la formación de biopelículas en soportes.

Una vez desmantelado el reactor se aislaron los soportes y se procedió a secar 10 muestras a temperatura ambiente y pesar los soportes una vez registrado los pesos se rasparon obteniéndose el peso neto de los soportes siendo la diferencia el peso de la biopelícula. Los resultados obtenidos se puede observar en la Tabla 14.

Tabla 14. Pesos de biopelículas, después de la puesta en marcha del reactor (t= 50 días)

Peso(S+Bp) mg.	Peso(S*)mg.	Peso(Bp**)mg.
135.2	134.5	0.7
146.2	144.1	2.1
122.2	120.2	2.0
121.3	120.2	1.1
136.2	134.5	1.7
143.1	142.1	1.0
141.9	141.5	0.4
162.3	160.2	2.1
166.7	164.4	2.3
116.8	116.1	0.7
Promedio		1.41

* S= Soportes al interior del RAFA

**Bp= Biopelícula formada sobre los soporte

4.1.6 Caracterización morfológica cualitativa de biopelículas

La muestra al ser observada al microscopio electrónico mostró nódulos o incrustaciones de forma redonda, formaciones alargadas y venosas, su morfología de superficie lisa según las microfotografías adjuntas muestran la presencia de biopelículas además las imágenes varían con el aumento al cual se observe. De otra parte se observó una mayor formación de biopelículas en el centro del soporte, siendo esta de forma irregular, en su mayoría de formas alargadas y venosas, siendo más lisas en la superficie exterior.

Con respecto a la formación de biopelículas, se llevó a cabo al término del proceso de depuración de las aguas, se asume debido a la previa identificación microbiológica de las aguas a tratar que la mayor parte de población microbiana fueron bacterias Gram negativas, identificando así *Citrobacter*, *Enterobacter*, *E.coli* y *Proteus*, especies que pertenecen a la familia de Enterobacterias. En la Figura 21-A, se observa la microfotografía de la superficie lisa del soporte observando la porosidad, para facilitar la formación de biopelículas, en la Figura 21-B, se observa una microfotografía panorámica de 1mm, y sólo se aprecia una ligera formación sobre el soporte.

Las biopelículas son comunidades complejas y estructuradas de organismo autoproducidos por una membrana de agua y sustancias de polímeros extracelulares los que incluyen exopolisacáridos, enzimas, proteínas, lipopolisacáridos, biosurfactantes y DNA extracelular, (Parra Ruiz,*et al.*, 2012). Cada uno de estos componentes son esenciales para la formación y mantenimiento de estructura de la membrana, (Parra Ruiz,*et al.*, 2012). La adhesión de la membrana a una superficie inerte es facilitada por los polisacáridos, proteínas, cDNA. Los compuestos orgánicos complejos, como las proteínas, carbohidratos, lípidos y sus conjugados o derivados en las aguas residuales, son inicialmente hidrolizados por enzimas extracelulares producidas por las diferentes poblaciones microbianas, (Cortés Lorenzo, 2012).

Como se puede observar en la Figura 21-C, la formación de los polímeros extracelulares se aprecia en el interior del soporte, en la microfotografía, a 500 μm se puede observar la formación de biopelícula, en esta Figura también se puede observar unos pequeños granulos blancos que indican la formación de colonias bacterianas. Es claro considerar que las sustancias extracelulares poliméricas (EPS) juegan un rol importante en la formación y actividad de biopelículas para el tratamiento de aguas residuales, (Dalhammar,*et al.*, 2009).

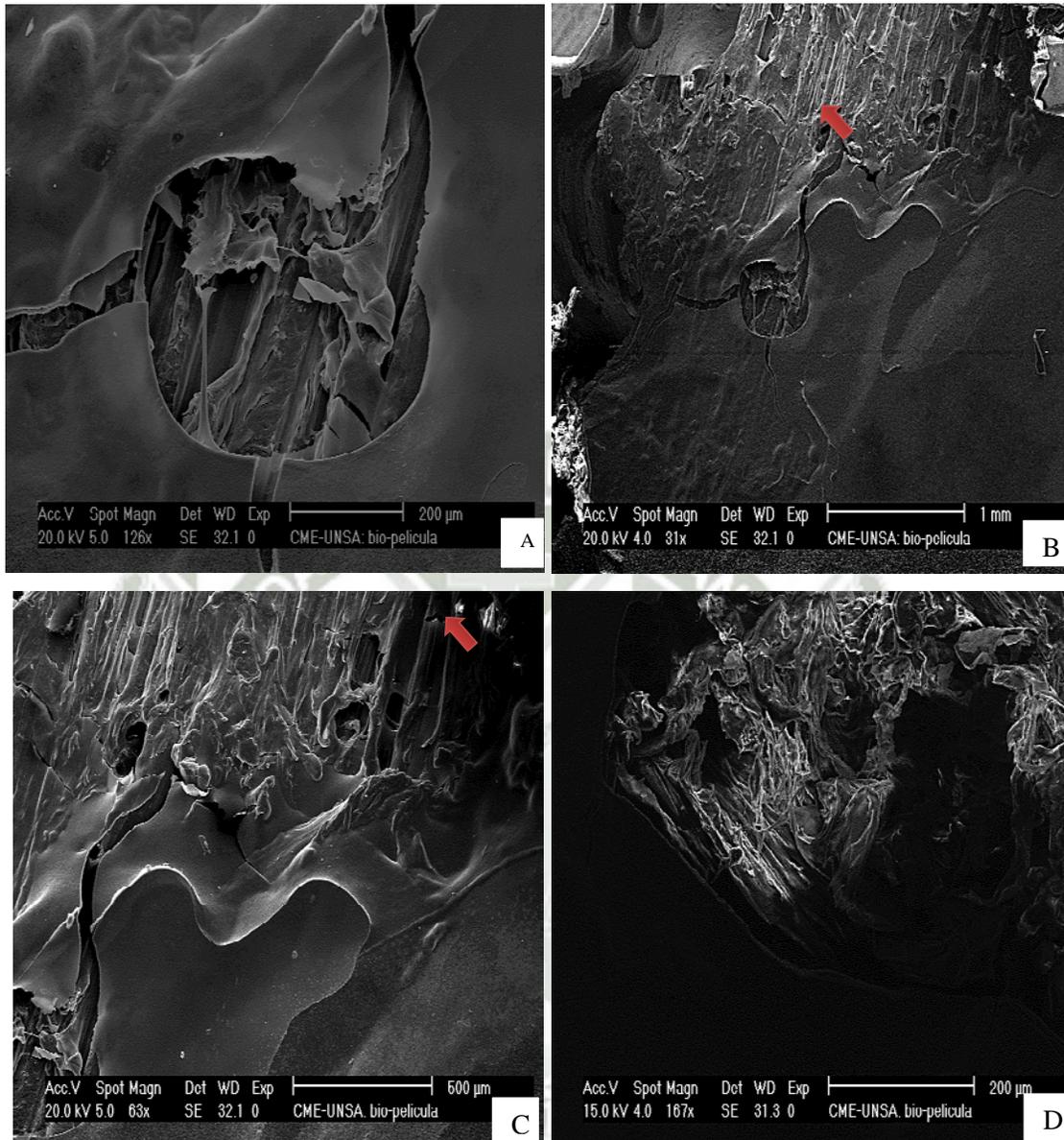


Figura 21. Imágenes de microscopía electrónica de la formación de Biopelículas en la superficie de soportes, A) Microfotografía de la superficie lisa del soporte poroso, B) Microfotografía panorámica de la biopelícula en el soporte, C) Microfotografía de la biopelícula a 500 µm en la parte superior del soporte, D) Microfotografía de la biopelícula a 200 µm resolución de 167x.

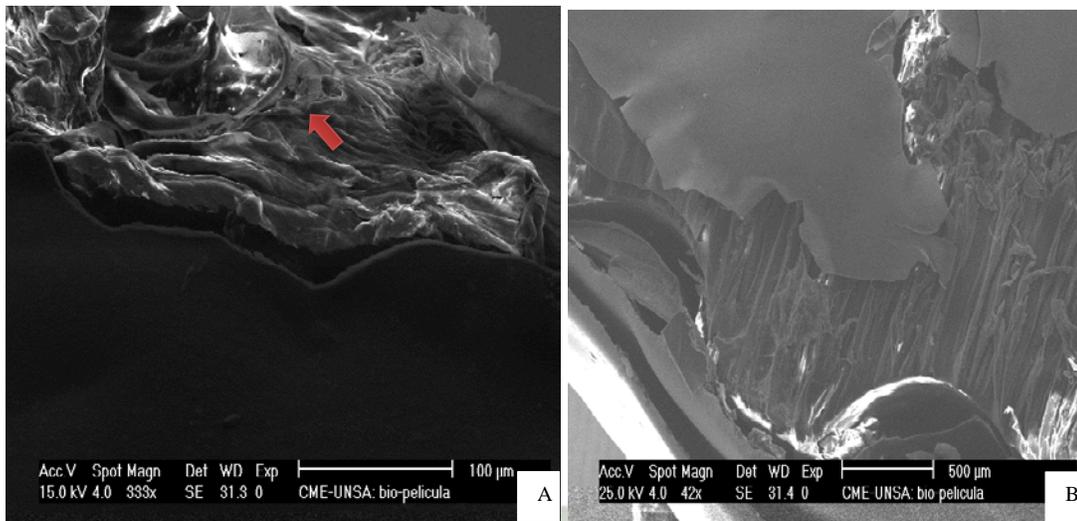


Figura 22. Imagen de Microscopía Electrónica de la formación de biopelícula en soportes. A) Microfotografía parte interna del soporte a 333x, B) Microfotografía de biopelícula formada sobre la superficie externa del soporte a 42x, se observa la biopelícula lisa sobre el soporte.

En la Figura 21-D se aprecia la formación de EPS o de una fina membrana, se observa la microfotografía a 200 μm y con una resolución de 167x. Las muestras fueron tomadas pasados los 45 días que concluyó el proceso en Batch aproximadamente a los 53 días. Del mismo modo en la Figura 22-A, se observa la formación de EPS en la pared superior del soporte, esta microfotografía se realizó a 100 μm y se nota claramente las micro y/o macroporos.

Como detalla Dalhammar (2009), en un estudio donde realizaron la visualización por Microscopía Electrónica el desarrollo de la biopelícula sobre un periodo de 20 días, donde la primer muestra fue a las 24 horas donde se observó escasa formación de EPS, la siguiente muestra fue a los 7 días, aquí se observó una ligera formación de EPS en una morfología tri dimensional, luego tomaron otra muestra a los 12 días donde observaron la estructura de EPS mas sofisticada con filamentos extracelulares, finalmente tomaron una muestra a los 20 días y observaron una formación de EPS madura y se noto claramente las micro y macroporos. (Dalhammar, *et al.*, 2009).

Por otro lado, se realizó un estudio usando biopelículas de *Bacillus subtilis* por, Dogsa (2013), donde indican que la composición de EPS de *B.subtilis* fue determinada con formación de una biopelícula madura en tres medios diferentes de sacarosa. La biopelícula madura fue definida como una biopelícula que se ha desarrolla con mayores propiedades fenotípicas, por otro lado las biopelículas con formación de 24 horas fue asociado con un gen de expresión *epsA-O*, (Dogsa,*et al.*, 2013).

Las biopelículas se consideran inicialmente como sistema homogéneos de células atrapadas en una membrana, pero investigaciones recientes apuntan en la dirección opuesta. Hoy en día la percepción de la heterogeneidad fisiológica y genética en las biopelículas es generalmente aceptada, (Stoodley,*et al.*, 2002). Las biopelículas naturales suelen albergar un gran número de especies microbianas que forman complejas comunidades diferenciadas capaces de desarrollar estructuras a menudo separadas por una red de canales de agua, (Kolter, *et al.*, 2006). Esto requiere de una organización sofisticada, que en algunos organismos es controlada por un sistema de comunicación intercelular, conocido como percepción de quórum o “quórum sensin”. La estructura de la biopelícula también se ve afectada por muchas otras condiciones tales como propiedades de la superficie y de la interfase, disponibilidad de nutrientes, composición de la comunidad microbiana, (Davey,*et al.*, 2000).

Por otro lado, Qureshi y demás, indican que la producción común de EPS por células bacterianas en biopelículas es el exopolisacárido *alginato*, que está asociado en biopelículas con células de *Pseudomona aeruginosa*, con la transcripción de *algC*, el gen implicado en la producción de alginato es cuatro veces la de las células planctónicas.

Sin embargo, los EPS, proporcionan protección a las células de la biopelícula una con una barrera difusiva a cualquier compuesto tóxico que puedan dañar las células, así como una barrera para los fagocitos y bactericidas, (Qureshi, *et al.*, 2005). Los EPS pueden también representar una barrera a los nutrientes necesarios para el crecimiento de la célula. Las células en el interior de una biopelícula a menudo muestra una tasa de crecimiento mucho mas reducida y la tasa de división celular puede ser cerca a cero. La

tasa de crecimiento es, en si misma protectora porque también se reduce la absorción de sustancias tóxicas. La presencia de la membrana de EPS puede ser también un limitador espacial del crecimiento y división celular.

En la formación de biopelículas para el tratamiento de aguas, influye, la comprensión de las enzimas hidrolíticas en el tratamiento de aguas residuales, donde estas aportan información adicional sobre la biodegradación de compuestos orgánicos y de este modo pueden mejorar el rendimiento de los actuales procesos de tratamiento biológico de aguas residuales. Las biopelículas están formadas dependiendo de los cambios en las condiciones ambientales que pueden responder a un mecanismo de regulación bacteriana, como la cantidad de sustrato, el pH, la temperatura, (Cortés Lorenzo, 2012).

Un factor importante para las actividades enzimáticas es la presencia de oxígeno disuelto en el agua, la transferencia de oxígeno disminuye cuando hay una alta concentración de sólidos totales, al igual que la salinidad que puede alterar la composición de las sustancias poliméricas extracelulares (EPS), (Cortés Lorenzo, 2012). Sin embargo con los resultados obtenidos, observamos que los valores de salinidad disminuyen progresivamente debido al tiempo de residencia hidráulica, al igual que los valores de pH iniciales se encontraron en un rango alcalino, y que también fueron disminuyendo hasta un pH neutro donde se mantuvo estable.

Las funciones que ejerce el EPS son consecuencia de su naturaleza biológica y de sus características químicas y físicas, que lo hacen ser el principal agente estructural de las biopelículas, (Decho, 2000), entre sus características se encuentran tales como: el de permitir, establecer y mantener asociaciones entre microorganismos, y entre estos y su medio ambiente. (Decho, 2000), por otro lado, juega un papel crucial en la floculación de fangos activos y en la estructura de los flóculas que lo forman, (Schmidt, *et al.*, 1996). Capacidad quelante de metales tóxicos y otros contaminantes, (Decho, 2000).

Sin embargo, además del contenido nutricional, otras señales ambientales como la temperatura, pH y la disponibilidad de oxígeno también van a influir en la formación de biopelículas, (Gottenbos, *et al.*, 1999). Aunque algunos organismos como *Pseudomonas fluorescens* son capaces de formar biopelículas en la mayoría de condiciones que favorecen el crecimiento bacteriano, (Wilderer, *et al.*, 2004).

Finalmente en la figura 22-B, se observa la formación de EPS entre las superficies de porosidad del soporte, en esta Figura se aprecia la formación de biopelículas con una resolución de 42x, a diferencia de las biopelículas observadas en la superficie interna del soporte, esta es menor ya que como explica, Cortés Lorenzo (2012), la formación de biopelículas está estrechamente ligado a las condiciones ambientales en las que se encuentran las bacterias, explica también que factores como la salinidad y oxígeno tienen mucho que ver con la formación de estas; ya que, como la salinidad afecta directamente al metabolismo de las bacterias al impedir la formaciones de enzimas y exoenzimas, en este caso, la salinidad es baja a comparación del estudio realizado por (Cortés Lorenzo, 2012), en la cual la formación de biopelículas fue menor en comparación con nuestro estudio.

4.1.7 Análisis de parámetros fisicoquímicos en estado Batch.

El análisis de los parámetros fisicoquímicos se presenta en la Tabla 15, donde, se muestra el resultado de los promedios de datos obtenidos durante la etapa de Batch en 45 días, en este cuadro se evalúan básicamente seis parámetros que son, pH, temperatura, oxígeno disuelto (OD), conductividad, sólidos disueltos totales (SDT) y salinidad; es a partir de este cuadro que se obtuvieron las gráficas mostradas.

Se puede observar la comparación con un control inicial (CI), el cual es tomado directamente de las aguas emitidas del efluente de la Fábrica productora de colágeno, se sabe que la materia prima de la producción es diferente cada día por lo que la medición de los parámetros es diferente. La muestra del agua emitida fue tomada directamente

antes de poner al sistema en Batch. Por otro lado, se compara también con un control final (CF), el cual viene a ser los valores establecidos según el D.S. 002-2008- MINAM. Para estos parámetros se observa que no existe diferencia estadística significativa en el muestreo, los datos recolectados son expresados en gráficas que muestran la evolución de cada uno de los parámetros.

Temperatura

Los reactores anaerobios son operados típicamente bajo condiciones mesofílicas o condiciones termófilas. Los lodos termófilos son susceptibles a bajas temperaturas es por eso que a un mínimo cambio de temperatura se observa fases de aclimatación. En la Figura 23, se presenta la comparación del parámetro de temperatura en reactor Batch en función al tiempo en días.

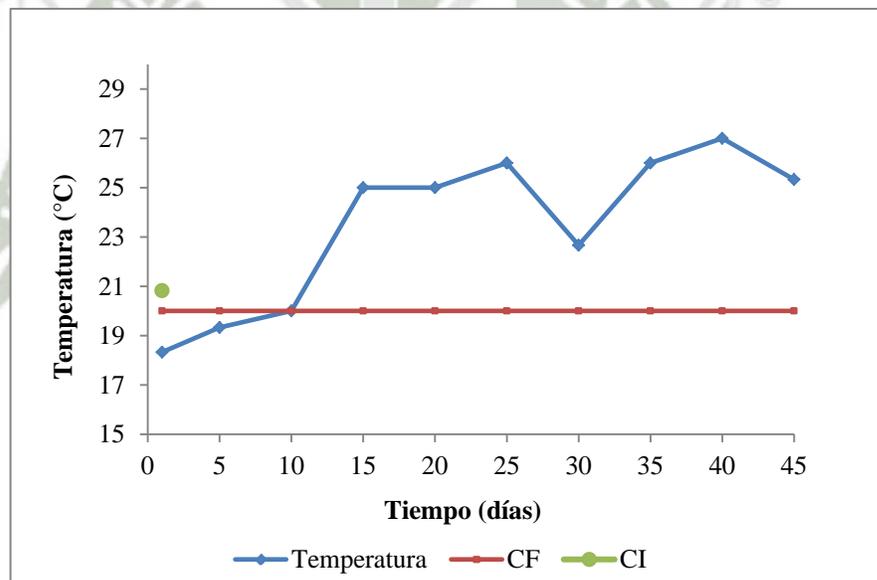


Figura 23. Comparación de los niveles de temperatura en función al tiempo en Batch.

***CI:** Control inicial, **CF:** Control según Estándares Nacionales para la Calidad Ambiental (D.S. N° 002-2008-MINAM).

En la Figura 23, se nota que empieza con una temperatura menor a la registrada en las aguas tomadas del proceso, esto se explica por la estabilización a la temperatura

ambiente, ya que la temperatura elevada que presentaba el efluente se debía netamente a la temperatura a la cual se llevaba el proceso de producción de colágeno la cual fue de 20,82 °C, luego se nota un incremento relativamente de la temperatura. (Yasar, *et al.*, 2010).

En un estudio realizado por, Yasar (2010), explica este aumento por eventos fisicoquímicos y esencialmente durante este proceso Batch, por los procesos biológicos ya que la degradación de los elementos orgánicos presentes en las aguas libera energía, elevando de esta manera la temperatura. De otra parte, la disminución de temperatura al día 26 se puede explicar por la disminución de la temperatura ambiente ya que es en este día que se alcanzó una temperatura de 22°C, luego se observa el cese de la temperatura, indicando la degradación de los elementos orgánicos (Yasar, *et al.*, 2010).

pH:

El pH del ambiente es un factor clave en el crecimiento de los organismos. La mayoría de bacterias no pueden tolerar pH cerca de los 9.5 grados o por debajo de 4. Por lo general los valores óptimos oscilan entre 6.5 y 7.5, (Korsak, 2008).

En la Figura 24, se puede observar el gráfico comparativo del parámetro de pH en reactor Batch.

Como se puede ver en la Figura 24, al inicio del proceso se observa que el pH dentro del reactor es demasiado alcalino esto debido a la presencia de aguas ricas en hidróxido de calcio (cal apagada) luego va disminuyendo con etapas estables logrando disminuir por debajo de los establecidos por el DS N° 002-2008-MINAM categoría IV y alcanzar un pH de 7.39 el cual es ligeramente alcalino ese incremento en parte se explica por carbonatos en el proceso de digestión anaerobia de la materia orgánica, lo que indica que el reactor convierte de manera eficiente la materia orgánica carbonada a ácidos grasos volátiles y a carbonato, aunque no es capaz de mineralizarla completamente a CH₄, (Zepeda Cervantes, 2011).

Tabla 15. Datos de los parámetros a analizar en el periodo de 45 días, estado Batch.

		TEMPERATURAS	PH	OD	SDT	CONDUCTIVIDAD	SALINIDAD
CONTROL	CI	20.82±0.00 ^C	10.25±0.00 ^L	0.80±0.00 ^C	1121.00±0.00 ^H	2243.00±0.00 ^I	1.44±0.00 ^F
	CF	20.00±0.00 ^{BC}	8.50±0.00 ^H	5.00±0.00 ^H	500.00±0.00 ^A	2000.00±0.00 ^H	N.D.
DÍAS	1	18.33±0.33 ^A	10.06±0.05 ^K	0.73±0.07 ^C	878.33±7.96 ^B	1755.00±18.33 ^A	1.15±0.01 ^{AB}
	10	19.33±0.33 ^{AB}	8.73±0.03 ^J	0.53±0.03 ^{AB}	954.67±5.36 ^G	1909.67±10.73 ^G	1.22±0.01 ^E
	13	20.00±0.58 ^{BC}	8.52±0.01 ^H	0.43±0.03 ^A	906.00±5.29 ^{CD}	1813.00±11.15 ^{BC}	1.16±0.01 ^{ABC}
	16	25.00±0.58 ^E	8.65±0.01 ^I	1.10±0.06 ^{DE}	915.00±2.89 ^D	1843.67±4.37 ^{CDE}	1.18±0.00 ^{BCD}
	19	25.00±0.00 ^E	8.34±0.01 ^F	0.73±0.03 ^C	940.33±9.24 ^{FG}	1886.33±18.27 ^{FG}	1.20±0.01 ^D
	24	26.00±0.58 ^{EF}	8.40±0.01 ^G	0.63±0.03 ^{BC}	907.67±5.78 ^{CD}	1817.67±14.72 ^{BCD}	1.16±0.01 ^{ABC}
	26	22.67±0.67 ^D	7.81±0.01 ^D	0.63±0.03 ^{BC}	893.00±4.93 ^{BC}	1791.67±8.76 ^B	1.15±0.01 ^A
	30	26.00±0.58 ^{EF}	7.95±0.00 ^E	0.97±0.12 ^D	918.00±8.14 ^{DE}	1836.00±12.16 ^{CDE}	1.17±0.01 ^{ABC}
	32	27.00±0.00 ^F	7.54±0.01 ^C	1.16±0.03 ^{EF}	918.33±3.76 ^{DE}	1840.00±7.81 ^{CDE}	1.18±0.00 ^{BCD}
	37	25.33±0.33 ^E	7.20±0.02 ^A	1.27±0.03 ^{FG}	924.00±2.89 ^{DEF}	1851.67±6.96 ^{DEF}	1.18±0.00 ^{CD}
	42	20.33±0.33 ^{BC}	7.21±0.02 ^A	1.37±0.03 ^G	934.67±3.18 ^{EF}	1869.33±9.53 ^{EF}	1.19±0.01 ^{CD}
	45	19.67±0.33 ^{BC}	7.39±0.01 ^B	1.37±0.08 ^G	936.33±8.09 ^F	1872.67±17.74 ^{EF}	1.19±0.00 ^{CD}

Se reportan los resultados como las medias ± el error estándar de la media (n=3)

Las medias dentro de una misma columna con el mismo superíndice en letras mayúscula no presentan diferencia estadística significativa ($p>0.05$) cuando se someten a la prueba de múltiples rangos de Duncan

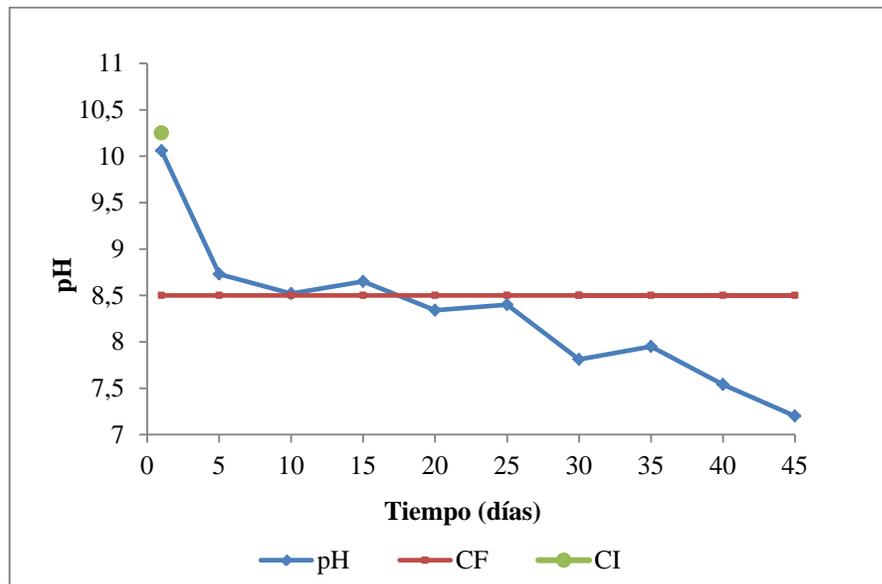


Figura 24. Comparación de niveles de pH en función del tiempo (días) en Batch

***CI:** Control inicial, **CF:** Control según Estándares Nacionales para la Calidad Ambiental (D.S. N° 002-2008-MINAM).

Por otro lado los valores alcalinos obtenidos favorecen el crecimiento bacteriano y además para el pos tratamiento del reactor, (E. Awuah, *et al.*, 2008).

Oxígeno Disuelto (OD)

En el caso de los sistemas aerobios, la eliminación de sustrato viene acompañada por la oxidación biológica del mismo, siendo el aceptor final de electrones el oxígeno disuelto (OD) en el medio. Por ello, la velocidad de asimilación de OD por los microorganismos ha sido utilizada por gran cantidad de investigadores como medida para la determinación de la actividad del fango activo.

En la Figura 25, se muestra que las dos primeras semanas hay un descenso del Oxígeno Disuelto, debido al incremento de temperatura interna principalmente, y el consumo de

elementos orgánicos ya que como sabemos la biodegradación de la materia orgánica por las bacterias está íntimamente ligado al consumo de oxígeno. (Yasar, *et al.*, 2010).

Por otra parte, se puede observar que en las primeras semanas el OD en Batch es menor al OD de la muestra cruda, pero después del día treinta este incrementa llegando a estabilizarse, este incremento está aún lejos del límite propuesto por los Estándares nacionales para la Calidad Ambiental.(ECA).

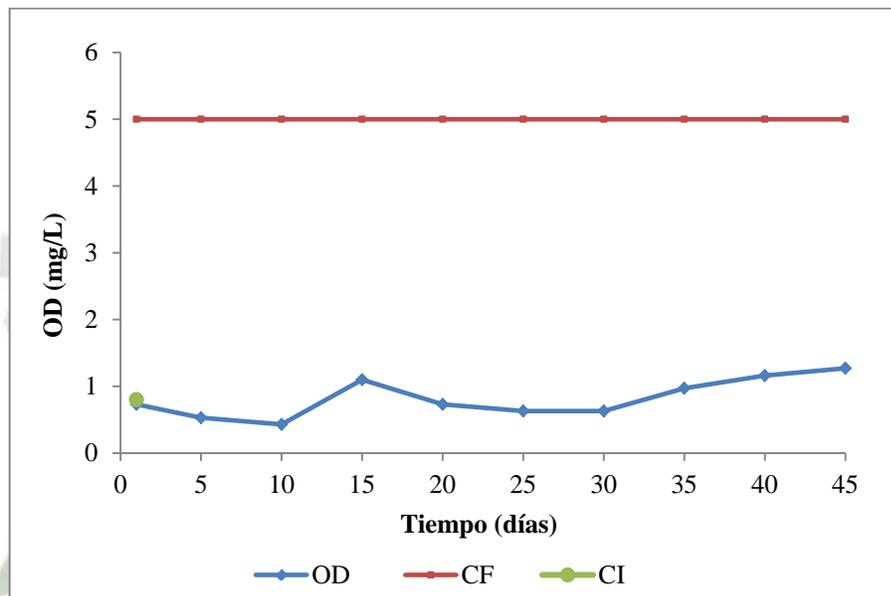


Figura 25. Comparación de niveles de Oxígeno Disuelto (OD) en función del tiempo en días en estado Batch.

***CI:** Control inicial, **CF:** Control según Estándares Nacionales para la Calidad Ambiental (D.S. N° 002-2008-MINAM).

La actividad enzimática está ligada a la presencia de oxígeno disuelto (OD), además otro factor importante es la viscosidad del medio líquido a tratar ya que a mayor viscosidad el oxígeno disuelto tiende a ser menos fácil transferido, otro factor ligado al oxígeno disuelto es la salinidad que como veremos posteriormente disminuye, por lo tanto facilita la solubilidad y transferencia del oxígeno al líquido, (Zepeda Cervantes, 2011).

Sólidos Disueltos Totales (SDT)

Los sólidos disueltos totales se deben básicamente a la presencia de sales, microorganismo y elementos orgánicos presentes en las aguas a tratar. (E. Awuah, *et al.*,2008).

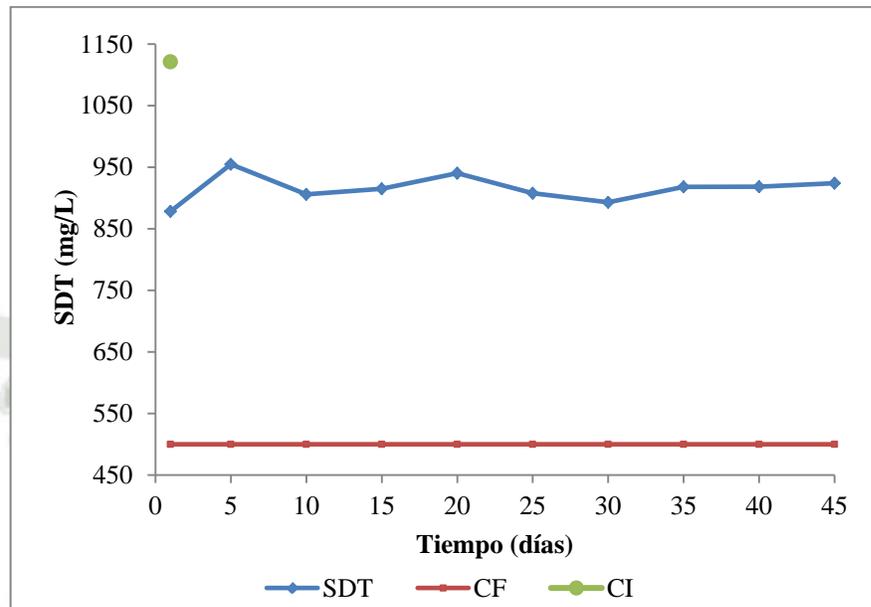


Figura 26. Comparación de niveles de Sólidos Disueltos Totales (SDT) en función al tiempo en días en Batch.

***CI:** Control inicial, **CF:** Control según Estándares Nacionales para la Calidad Ambiental (D.S. N° 002-2008-MINAM).

Como se puede observar en la Figura 26, se muestra la evolución de sólidos disueltos totales (SDT), presentes en las aguas del reactor en Batch, se puede observar que la primera semana hay un incremento notable de SDT, esto debido al incremento de biomasa que a partir del décimo día se estabiliza en un promedio de 930 mg/L. El valor al final de los 45 días es menor al valor mostrado por el agua sin tratamiento previo, el cual muestra un valor de 1121 mg/L. Sin embargo, a pesar de ser menor al valor inicial este no deja de estar lejos al valor máximo permitido por el ECA el cual es de 500 mg/L.

Sin embargo, las mediciones fisicoquímicas registradas en estado Batch, en relación con el control inicial, se observa que en los primeros días hubo una reducción notable, debido a la diferente concentración de sales de acuerdo a la materia prima que ingresa para el proceso de producción en la Fábrica, ya que para cada día de producción varía la cantidad de materia prima.

Conductividad

Se sabe que la conductividad indica el grado de mineralización de un agua. Determina la capacidad del agua para conducir la corriente eléctrica y su valor depende de la concentración y tipos de iones presentes en el agua, así como de la temperatura.

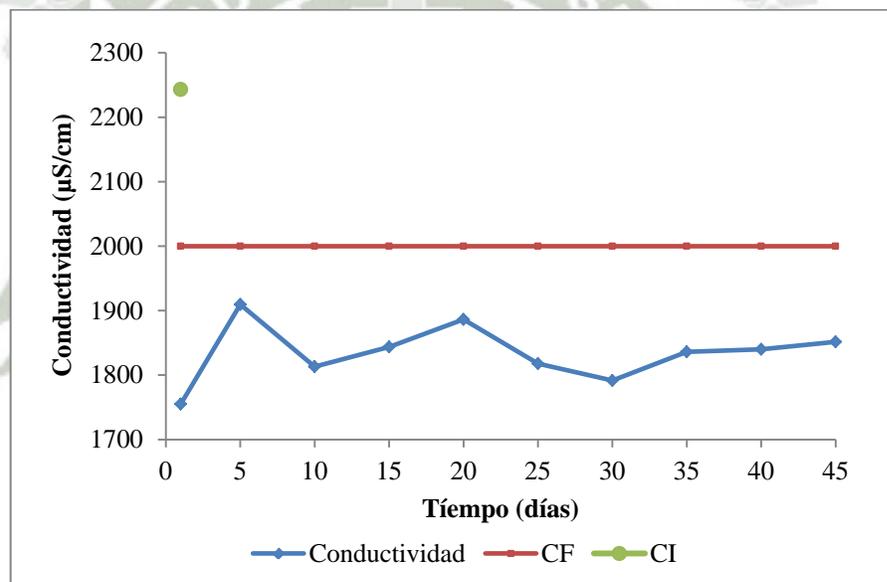


Figura 27. Comparación de niveles de Conductividad en función al tiempo en días para el estado en Batch

***CI:** Control inicial, **CF:** Control según Estándares Nacionales para la Calidad Ambiental (D.S. N° 002-2008-MINAM).

En la Figura 27, se observa la disminución notable de conductividad, esto debido por diferentes causas, como el aumento de biomasa y por la producción de aminoácidos

liberados por la hidrólisis de las proteínas. Por otro lado, debido a la relación directa que guarda la conductividad y la cantidad de sales disueltas, se presume la concentración de sólidos disueltos totales de la muestra del agua sin tratar con la muestra del estado en Batch provenientes con diferentes concentraciones de insumos en el proceso de producción de colágeno hidrolizado, ya que por día utilizan diferente materia prima, haciendo variar así las mediciones. De otro lado, observamos que hay una estabilización de los valores a partir del día 30.

Los valores de conductividad en Batch son menores al valor registrado en las aguas sin tratar, cuyo valor es de 2243 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y también son menores al valor máximo permisible pero para la categoría de riego, cuyo límite es de 2000 $\mu\text{S}/\text{cm}$, según el D.S.-002-2008 MINAM (ANEXO VII)

Como se sabe, hay una estrecha relación entre los parámetros de sólidos disueltos totales y conductividad, en un comienzo se encuentran presente las sales presentes en los efluentes a tratar y en pasos posteriores por la formación de carbonatos, producto de la biotransformación por las bacterias, luego estabilizándose, producto de la disminución de elementos orgánicos a transformar y por el acople de los elementos orgánicos a la formación de biopelículas, (Cortés Lorenzo, 2012).

Salinidad

Las aguas residuales altamente salinas son a menudo mal biodegradadas en las plantas convencionales de tratamiento de aguas residuales, debido a los efectos tóxicos de su contenido en sodio (Na) en la biomasa, que no ha sido previamente adaptada a las condiciones salinas. La salinidad ha sido descrita como un factor importante que regula la diversidad bacteriana a través de muchos hábitats diferentes. Tal como se puede ver en la Figura 28, la comparación de salinidad con respecto al tiempo en días, y el control inicial se observa una reducción notable ya que las muestras tomadas fueron variadas de acuerdo a la materia prima utilizada en el proceso de producción, ya que influye con las concentraciones de los componentes químicos utilizados, finalmente nos muestra una tendencia estable y uniforme a partir del día 30

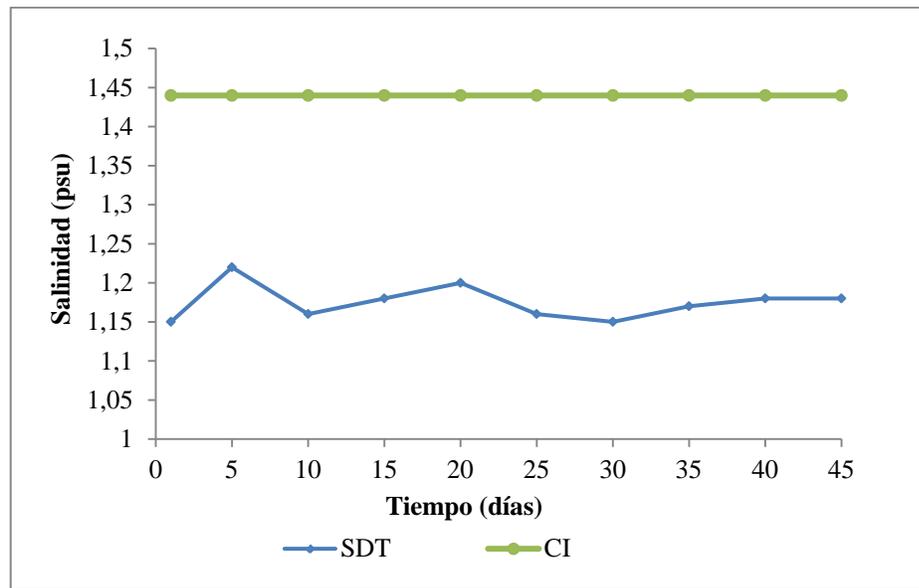


Figura 28. Comparación de niveles de Salinidad en función del tiempo (días) en Batch.

*CI: Control inicial

En comparación al valor registrado en las aguas sin tratamiento, se ve que el valor de salinidad en Batch es mucho menor.

El valor de la salinidad disminuye ligeramente a su valor de inicio en la etapa de puesta en marcha, además se mantiene con valores por debajo del valor de aguas sin tratar.

4.1.8 Análisis de parámetros fisicoquímicos en puesta en marcha.

El análisis de los parámetros fisicoquímicos se presenta en la Tabla 16, donde, se muestra el resultado de los promedios de datos obtenidos durante la etapa de puesta en marcha, en este cuadro se evalúan básicamente seis parámetros que son, pH, temperatura, oxígeno disuelto (OD), conductividad, sólidos disueltos totales (SDT) y salinidad; es a partir de este cuadro que se obtuvieron las gráficas mostradas. El proceso en el sistema fue inmediatamente después de haber pasado por Batch haciendo pasar la muestra del agua del efluente de la Fábrica por medio de bombeo por el reactor, donde se mezcla con otros componentes ya formados haciendo variar las mediciones de los parámetros fisicoquímicos.

Los datos recolectados a la puesta en marcha, durante un tiempo de residencia de 12 horas, y alimentado con un flujo de 25 mL/min. Los datos reportados fueron tomados cada 30 minutos. Se noto una mayor disminucion de los parámetros y un acercamiento e incluso un cumplimiento dentro de los limites máximos permisibles, de los parámetros evaluados tal como se muestra en la temperatura, pH y conductividad, estando el resto de parámetros cerca a los valores esperados.

Temperatura

La variación de la temperatura influye notablemente en la calidad del efluente de los filtros sumergidos, ya que afecta a las propiedades físicas del agua, así como a la capacidad e intensidad de las acciones biológicas, químicas y bioquímicas. En la Figura 29, se observa un incremento en la temperatura pero se mantiene menor a la temperatura de ingreso, o temperatura del control inicial, además a partir de las 8 horas de tiempo de residencia se observa que la temperatura tiende a estar estable. El incremento de temperatura se da por el incremento de biomasa en el reactor.

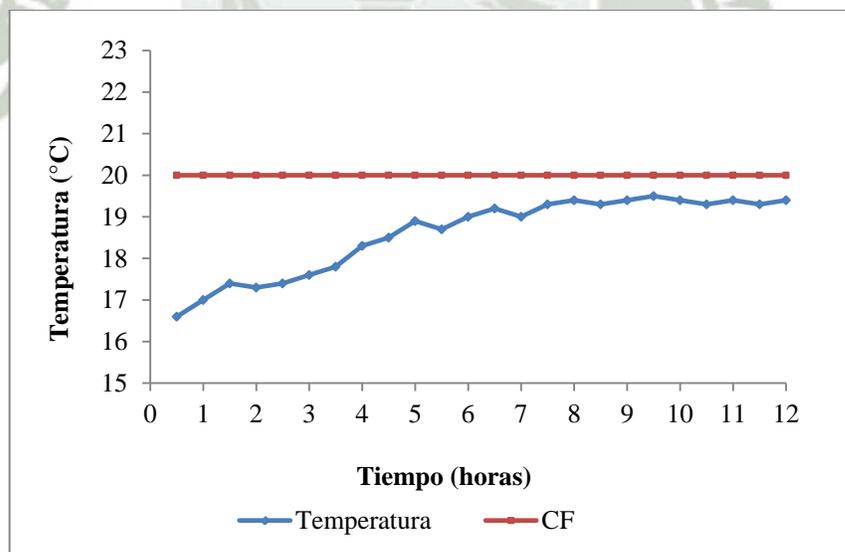


Figura 29. Comparación de niveles de temperatura (°C) en función al tiempo en horas durante puesta en marcha

*CF: Control final

La eficiencia del proceso anaeróbico depende netamente de la temperatura, afectando así la velocidad del proceso también en el proceso de degradación, por ejemplo la degradación de elementos orgánicos aumenta a temperaturas mesofílicas, tal como muestra la tendencia de temperaturas es decir a temperaturas mesofílicas (25°C–35 °C). Sin embargo, el efecto de la temperatura está gobernado por otros parámetros y variables que se dan al interior del reactor, (Yasar, *et al.*, 2010), encontró que la producción de gas disminuye en un 70 % cuando esta varía hasta una temperatura menor a 25 °C.

pH

El pH de un reactor anaerobio debe estar en el rango de 6.3 a 7.8 y parece ser el más favorable para el proceso de metanogénesis. Al igual que en el tratamiento de aguas domésticas estos valores permanecen en este rango gracias al efecto buffer que se genera en el sistema anaerobio, (Young, 1991).

El pH óptimo para la supervivencia de bacterias metanogénicas es un pH alrededor de 7 el cual se presenta en los resultados y dicho de paso no excede los valores establecidos por los Estándares de Calidad Ambiental. (ECA). De otro lado, las bacterias acidogénicas son menos sensibles a los cambios de pH sin embargo, las bacterias metanogénicas son inhibidas a pH menores resultando una degradación de ácidos grasos. De este modo en sistemas de tratamiento industrial se debe añadir un sistema de buffer. Pero cómo evoluciona la curva en el gráfico se demuestra que se mantiene en un pH óptimo para el crecimiento de ambos tipos de bacterias.

Tabla 16. Matriz de parámetros de puesta en marcha, con Tiempo de Retención Hidráulica de 12 horas, con flujo de 25 mL/min.

Tiempo (h)	pH	Temperatura (°C)	Salinidad	SDT (mg/L)	Conductividad (uS/cm)	OD (mg/L)
0.5	7.86	17	1.05	821	1646	1.4
1	7.68	17	1.02	793	1591	1.5
1.5	7.72	17	1.01	785	1575	1.4
2	7.71	17	1.01	789	1582	1.5
2.5	7.69	17	1.01	794	1590	1.6
3	7.73	18	1.01	787	1577	1.6
3.5	7.72	18	1.01	790	1583	1.5
4	7.69	18	1.02	802	1606	1.6
4.5	7.68	19	1.02	795	1591	1.7
5	7.65	19	1.01	788	1578	1.6
5.5	7.67	19	1.01	783	1567	1.6
6	7.67	19	1.01	786	1574	1.5
6.5	7.64	19	1.01	783	1569	1.5
7	7.65	19	1.01	784	1571	1.6
7.5	7.63	19	1.01	787	1576	1.6
8	7.64	19	1.01	785	1572	1.7
8.5	7.61	19	1.01	788	1579	1.6
9	7.56	19	1.01	787	1575	1.6
9.5	7.53	20	1.01	785	1573	1.7
10	7.54	19	1	783	1566	1.7
10.5	7.51	19	1	781	1565	1.8
11	7.52	19	1	782	1569	1.7
11.5	7.48	19	1	783	1568	1.8
12	7.47	19	1	781	1562	1.8

Se puede observar en la Figura 30, que el pH disminuye muy poco y se estabiliza siendo ligeramente básica, el pH se mantiene por debajo del valor registrado antes de ser tratado y del valor establecido por las leyes peruanas. Como se ha explicado esta estabilidad de los valores se debe prácticamente al efecto tampón que ofrece el mismo reactor, por la producción de ácidos grasos y CO₂ por las bacterias acidogénicas, y a la vez por las bacterias metanogénicas.

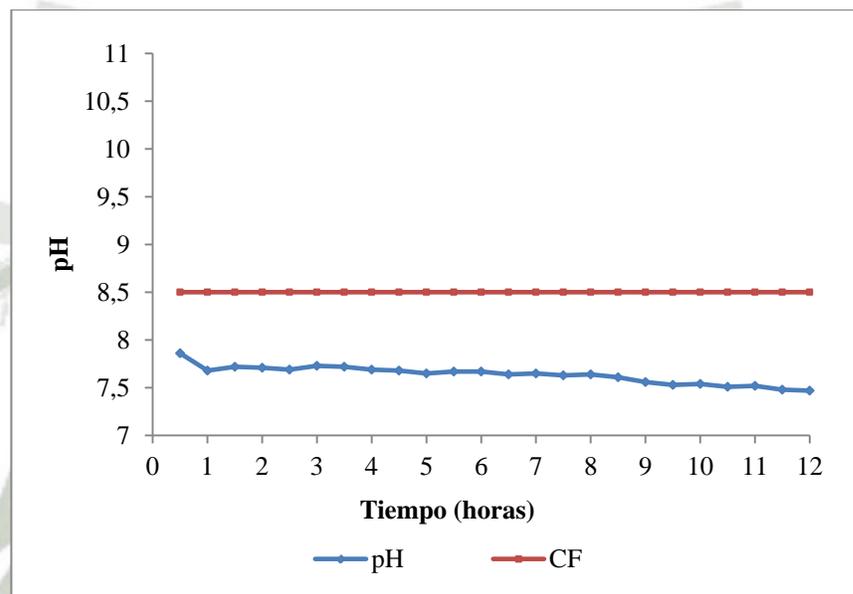


Figura 30. Comparación de niveles de pH en función al tiempo en horas durante la Puesta en Marcha

*CF: Control según Estándares Nacionales para la Calidad Ambiental (D.S. N° 002-2008-MINAM).

Oxígeno Disuelto (OD)

En la Figura 31, se observa que el Oxígeno Disuelto tiende a estar estable con un ligero incremento hasta llegar a 1.8 mg/L, pero sin alcanzar los límites requeridos para ser vertidos, o utilizados para riego o de bebida para animales que es de 5 mg/L.

La salinidad es un factor que puede afectar directamente a la solubilidad máxima de oxígeno y su velocidad de transferencia en la fase líquida, (Zepeda Cervantes, 2011). Por tanto la causa de las actividades enzimáticas reducidas cuando son disminuidas en el reactor, el incremento del oxígeno disuelto se explica a la entrada de aguas para su tratamiento, es decir aguas previas mezcladas con oxígeno, pero que a la vez son tratadas desde su ingreso y su TRH estando aún más relacionado con la velocidad de ingreso ya que a menor velocidad menor ingreso de oxígeno, un factor muy cierto en otros tipos de reactores como propone, (E. Awuah, *et al.*, 2008), es la presencia de organismos quimiosintéticos, que producen oxígeno a partir de otros elementos donadores de electrones.

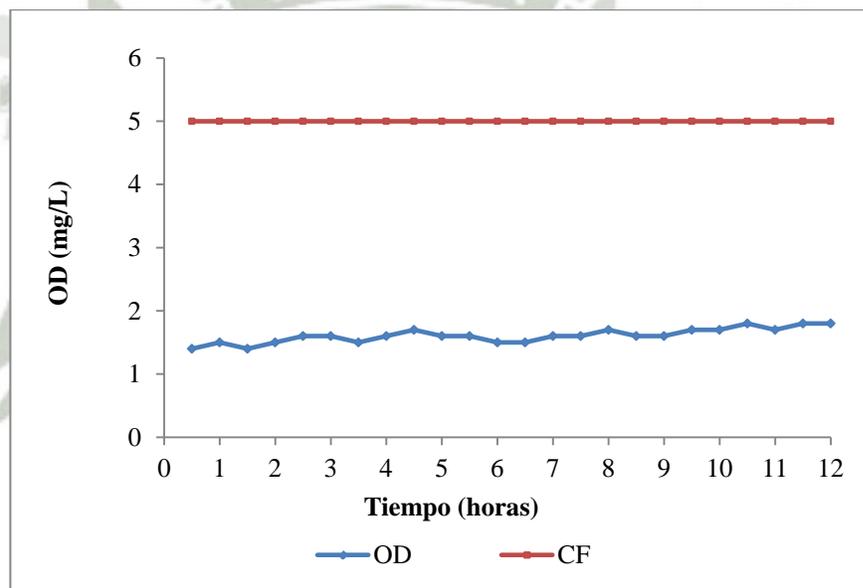


Figura 31. Comparación de niveles de OD (Oxígeno Disuelto) en función al tiempo en horas durante la Puesta en Marcha

*CF: Control según Estándares Nacionales para la Calidad Ambiental (D.S. N° 002-2008-MINAM).

El oxígeno disuelto (OD) es un factor muy importante para las actividades enzimáticas especialmente su presencia en el agua.

En sistemas de anaerobiosis, la transferencia de oxígeno decrece cuando hay una alta concentración de SDT, porque afecta directamente la viscosidad del fango y cambiando sus propiedades reológicas.

Sólidos Disueltos Totales (SDT)

En la Figura 32, se puede observar los niveles de sólidos disueltos totales por encima de los niveles máximos permisibles que es 500 mg/L, y por debajo de 1121 mg/L además los niveles de sólidos totales son constantes alrededor de los 780 mg/L.

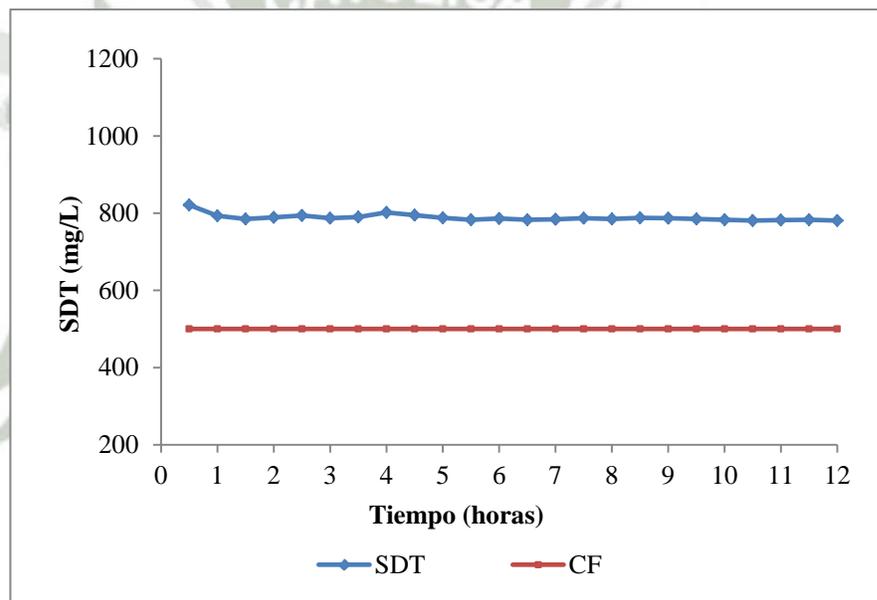


Figura 32. Comparación de niveles de SDT (Sólidos Disueltos Totales) en función al tiempo en horas durante la puesta en marcha.

*CF: Control según Estándares Nacionales para la Calidad Ambiental (D.S. N° 002-2008-MINAM).

Los sólidos suspendidos, se encontró un contenido de 800 mg/L en el influente de los cuales al menos el 30% corresponde al material mineral como arenas y arcilla, que puede quedarse en el lecho de lodos del reactor. El material volátil u orgánico

representa el 70% restante, y es removido por el reactor ya que en el efluente se encontraron en promedio, para una eficiencia de remoción de sólidos disueltos totales de 30 %, con proporciones similares en contenido de material mineral y orgánico al del influente.

Un factor importante para la retención de sólidos es también el TRH ya que a medida que el TRH sea menor habrá menor retención de sólidos, esto debido a que la velocidad ascensional aumenta y con esta el desprendimiento de sólidos sedimentados, (Zepeda Cervantes, 2011).

Conductividad :

La conductividad está directamente relacionada a los sólidos disueltos totales (SDT), pero en la Figura 33, muestra que el valor de conductividad está muy por debajo del valor máximo permisible (2000 $\mu\text{S}/\text{cm}$) y de los valores iniciales de (2243 $\mu\text{S}/\text{cm}$).

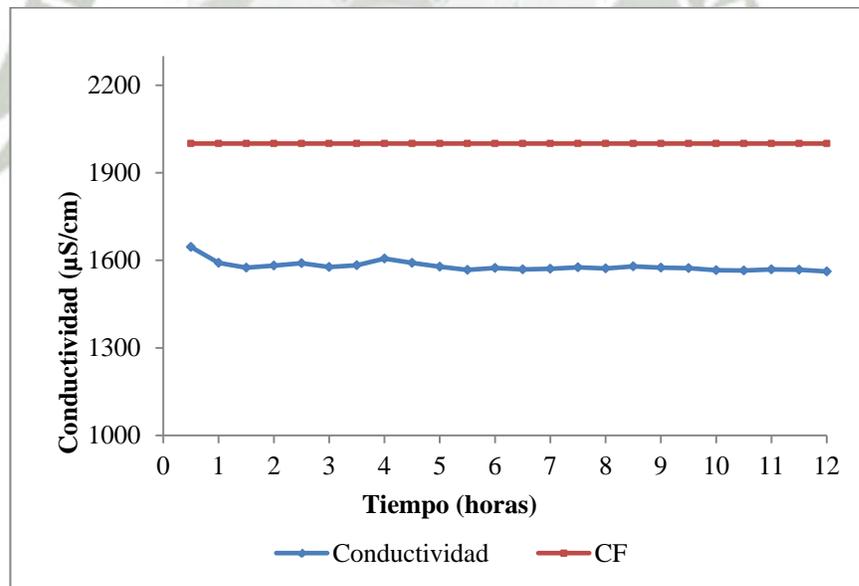


Figura 33. Comparación de niveles de conductividad en función del tiempo en horas durante la puesta en marcha

*CF: Control según Estándares Nacionales para la Calidad Ambiental (D.S. N° 002-2008-MINAM).

Como se observa en la Figura 33, la conductividad se encuentra aunada a la remoción de materia orgánica, se encontró reducción en la conductividad del efluente, en promedio se encontró que en el efluente del reactor la conductividad fue de 1600 uS/cm. Esto debido a que el reactor se encuentra normalmente con un nivel de pH ligeramente alcalino, con un alto contenido de carbonatos, lo que contribuye a la conductividad además de las sales formadas en el proceso de producción de colágeno. Otro factor importante que podría ayudar a que la conductividad no disminuya es la calidad del agua en Arequipa, (CONAGUA, 2001), ya que esta es baja pero durante el tratamiento se disminuyó dicho valor siendo el máximo permisible de 2000 uS/cm.

Salinidad:

El valor de la salinidad disminuye ligeramente de su valor de inicio en la etapa de puesta en marcha, además se mantiene con valores por debajo del valor de aguas sin tratar. Como se puede observar en la Figura 34, la comparación de los niveles de salinidad durante la puesta en marcha del reactor y con un control inicial.

Estudios previos han puesto de manifiesto que la salinidad tiene un efecto negativo sobre la actividad celular y que concentraciones de NaCl superiores al 1% originan plasmólisis celular. Esta podría ser la causa de la disminución de la capacidad del sistema para eliminar de forma eficaz la DBO₅.

Además, como hemos comprobado que cuando el agua residual salina disminuye significativamente las actividades enzimáticas hidrolíticas (fosfatasas, glucosidasa, esterasa y proteasa) en la biopelícula, responsables de la despolimerización de los compuestos orgánicos macromoleculares presentes en el agua residual.

En el estudio realizado se demuestra que al ocurrir disminución de salinidad hay menos mortalidad de bacterias y estas continúan con sus actividades hidrológicas, y de este modo también con el incremento de Oxígeno Disuelto.

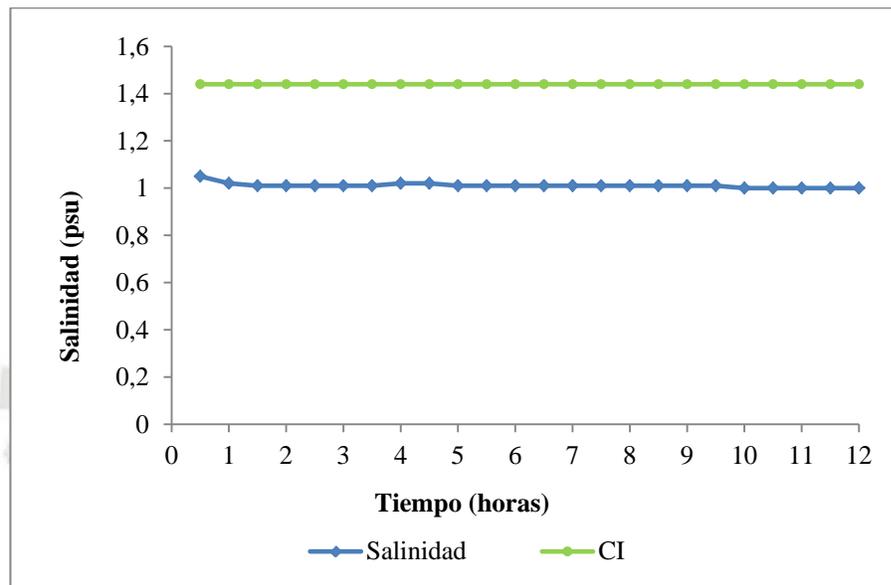


Figura 34. Comparación de niveles de salinidad en función del tiempo en horas durante la puesta en marcha

*CI: Control inicial

4.1.9 Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅):

En cuanto a la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅), se obtuvo como medida inicial de DBO₅ un valor de 153 mg/L y al finalizar la puesta en marcha obtuvimos un valor de 105 mg/L.

También se puede ver diferencia en el color y el grado de turbidez y esto es debido a la disminución de salinidad y sólidos totales disueltos así también la cantidad de carga orgánica.

Se puede observar en la Figura 35, que notablemente, hay un cambio significativo entre el antes y después del tratamiento, siendo la muestra tratada menos turbia y se observa además que hay menos sólidos suspendidos.



Figura 35. Diferencia cualitativa de muestra antes del tratamiento a la derecha muestra tratada

Como se puede observar en la Tabla 17, que existe una mejora evidente con respecto a los datos recolectados de la muestra sin tratamiento. Tal es así, que en los parámetros como salinidad reduce en 30%, sólidos disueltos totales y conductividad y salinidad hay una reducción de 30 %, en caso del oxígeno disuelto se observa un aumento de casi un 50%; mientras se logró neutralizar las aguas, disminuyendo en un 26 % aproximadamente.

Tabla 17. Tabla de comparación de parámetros en los tres estados del tratamiento

Parámetros	Agua sin tratamiento	Batch	Puesta en marcha	% de disminución
pH	10.25	8.15	7.64	25.51
Temperatura (°C)	20.82	22.89	18.60	10.66
Salinidad (psu)	1.44	1.18	1.01	29.80
SDT (mg/L)	1121.00	918.86	788.42	29.67
Conductividad (uS/cm)	2243.00	1840.56	1579.38	29.59
OD (mg/L)	0.80	0.91	1.61	49.74

Como explican los resultados expresados en las figuras de comparación entre parámetros en función del tiempo, se observa una relación de la salinidad con los demás parámetros, siendo la disminución de sus mediciones un parámetro que se involucra, con los otros parámetros medidos, por ejemplo la disminución de la salinidad nos indica que hay una mayor disolución de oxígeno, y al estar aunada a los sólidos disueltos se observa una disminución parcial de los sólidos disueltos, además del pH que se expresa por la disminución de sales, y elementos orgánicos presentes después del tratamiento.





CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

PRIMERA CONCLUSION: Se demostró la depuración biológica de efluentes de la fábrica productora de colágeno hidrolizado con el uso de soportes, los cuales presentaron formación de biopelículas sumergidas en el reactor tipo RAFA, donde se fue evaluando algunos parámetros fisicoquímicos, con el fin de disminuir estos y que no sobrepasen los ECA (Estándares de Calidad Ambiental para el agua) según la D.S.002- 2008 MINAM, tomando la categoría IV.

SEGUNDA CONCLUSION Se caracterizó los parámetros fisicoquímicos con valores iniciales del agua sin tratamiento, tales como el pH a 10.25, temperatura a 20.82°C, conductividad de 2243.00 $\mu\text{S}/\text{cm}$, salinidad de 1.44 psu, sólidos disueltos totales de 1121.00 mg/L y oxígeno disuelto (OD) con un valor inicial de 0.80 mg/L.

TERCERA CONCLUSION: Se logró la implementación del sistema anaerobio de tipo RAFA, con la introducción de pequeños soportes de material de polipropileno en el reactor, los cuales permitieron la formación de una membrana fina o biopelícula, al término de los 45 días de la etapa en Batch.

CUARTA CONCLUSION: Se identificó un tipo de población microbiana pertenecientes a la familia de Enterobacterias tales géneros como *Proteus*, *Citrobacter*, *E. coli* y *Enterobacter* ya que las enterobacterias son microorganismo aerobias anaerobias facultativas.

QUINTA CONCLUSION: Mediante el análisis cualitativo de microfotografías haciendo uso de microscopía electrónica de barrido (SEM), se observó la formación de biopelículas sobre los soportes introducidos dentro del RAFA caracterizadas por extensiones largas, y nódulos o incrustaciones de forma redonda, formaciones alargadas y venosas, y su morfología de la superficie es lisa.

SEXTA CONCLUSION: Se evaluó la depuración biológica en el tratamiento de aguas industriales para la fábrica de colágeno, logrando así, la disminución de la contaminación de la fábrica productora de colágeno, esta disminución es en comparación a los parámetros monitoreados en las aguas sin tratamiento, como lo demuestran los resultados en porcentajes siendo en un 30 % aproximadamente para los parámetros de salinidad, SDT, y conductividad, en 25 % para pH, y en casi un 50 % la mejora de OD.



5.2 RECOMENDACIONES

PRIMERO. Debido a que se alcanzó una gran disminución de los parámetros medidos, es importante realizar estudios del funcionamiento y de depuración en otras condiciones tales como temperatura, pH, salinidad, tiempo de retención Hidráulico, flujo; se sugiere realizar el estudio de depuración de aguas residuales en distinto tiempos de retención y con distintos flujos.

SEGUNDO: Se debe realizar estudios de tratamiento de aguas con diferentes tipos de soporte y comparar con el presente trabajo, además de la densidad de biomasa de las biopelículas formadas.

TERCERO: Se debe realizar un estudio para la identificación de las cepas bacterias que se encargan únicamente de la formación de biopelícula. Del mismo modo, el estudio de la formación de biopelícula de diferentes cepas bacterianas aisladas y observar el comportamiento según el tipo de efluente a tratar, a la vez, realizar un estudio sólo de la identificación microbiana de muestras de aguas industriales.

CUARTO: Se debe realizar estudios similares con este sistema de depuración biológica en aguas residuales emitidas por diferentes tipos de industrias para comparar con los parámetros fisicoquímicos, y analizar la eficiencia del reactor RAFA en cuanto a la depuración. Del mismo modo, realizar estudios para la evaluación del tipo de reactor, usando otro tipo de reactor anaerobio o aerobio y comparar.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andersson, S. (2009). Characterization of Bacterial biofilms for wastewater treatment. *Royal Institute of technology (KTH), School of Biotechnology*.
- Arango Bedoya, O., & Sanches e Sousa, L. (2009). Tratamiento de aguas residuales de la industria láctea en sistemas anaerobios tipo UASB. *Facultad de Ciencias agropecuarias*, 7(2), 25-27.
- Barba Ho, L. E. (2002). Conceptos Básicos de la Contaminación del Agua y Parámetros de medición. *Revista Academica del Area Sanitaria y Ambiental de la Universidad del Valle*, 20-23.
- Bermúdez Savón, R. C., Rodríguez Pérez, S., Martínez Abreu, M., & Terry Brown, A. I. (2003). Ventajas del empleo de reactores UASB en el tratamiento de residuales líquidos para la obtención de biogás. *Centro de Estudios de Biotecnología Industrial, Universidad de Oriente*, XXIII(2), 37-38.
- Cajigas, A. (1995). *INGENIERIA DE AGUAS RESIDUALES, TRATAMIENTO, VERTIDO Y REUTILIZACION* (Tercera edición ed., Vol. I). (A. García Brage, Ed., J. Trillo Montsoriu, & I. Trillo Fox, Trans.) McGraw-Hill.
- Caldera M., Y. A., Madueño M., P. I., Griborio D., A. G., Gutiérrez G., E. C., & Fernández A., N. M. (2003, Junio). Efecto del tiempo de retención hidráulica en el funcionamiento de un reactor UASB tratando efluentes cárnicos. *Muticiencias Universidad Zulia*, 3(001), 3.
- Campos Gomez, I. (2003). Saneamiento Ambiental.
- Cantonguay, M., Van der Schaaf, S., Koester, W., Krooneman, J., van der Meer, W., Harmsen, H., et al. (2006). Biofilm formation by *Escherichia coli* is stimulated by synergistic interactions and co-adhesion mechanisms with adherence-proficient bacteria. *Research of Microbiology*(157), 471-478.
- Carrillo Zapata, E. M., & Lozano Caicedo, A. M. (2008, Diciembre). Validación del Método de detección de coliformes totales y fecales en agua potable utilizando Agar Chromocult. *Facultad de Ciencias- Microbiología Industrial*, 9.
- CCAYAC-M-004. (2006). Estimación de la densidad microbiana por la técnica del número más probable, detección de Coliformes Totales, Coliformes Fecales y *E. Coli*. 6.
- centurion, S. (2013, 08 29). Statgraphic centurion 16.1. Arequipa, Perú.

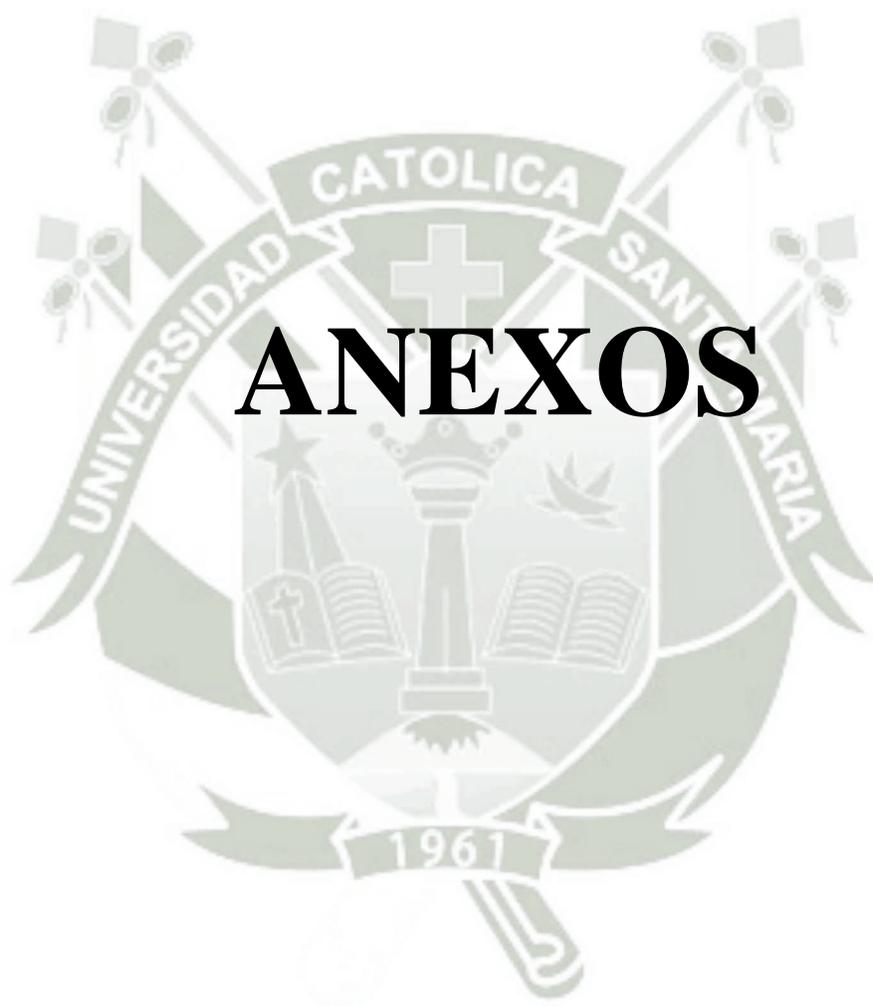
- Cervantes Zepeda, A., Cruz Colín, M., & Aguilar Corona, R. (2011). Caracterización fisicoquímica y microbiológica del agua tratada en un reactor UASB escala piloto. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 10(1), 67-77.
- Characklis, W. G., & Marshall, K. C. (1990). Biofilms: A basis for an interdisciplinary approach in Biofilms. *Wiley and sons*, 3-15.
- CONAGUA. (2001). Análisi de agua- Determinación de la Demando Bioquímica del Oxígeno en aguas naturales y residuales (DBO5) y residuales tratadas- Método de Prueba (Cancela a la NMX-AA-028-1981). 1-2.
- Cortés Lorenzo, C. (2012). Tratamiento de Agua Residual Urbana con Salinidad Variable. *TESIS DOCTORAL UNIVERSIDAD DE GRANADA*, 57.
- Costerton, J. (1999). Introduction to biofilm. *International journal of Antimicrobial Agents*(11), 217-221.
- Cunningham , A. B., & Bouwer, E. J. (1990). biofilms in porous media. *Wiley and sons*, 697-732.
- Dalhammar, G., Andersson, S., Land, C. J., & Kuttuva Rajarao, G. (2009, January 3). Characterization of extracellular polymeric substances from denitrifying organism Comamonas denitrificans. *Applied Microbial and Cell Physiology*, 535- 540.
- Davey , M., & O'Toole, G. (2000). Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*(64), 847-867.
- De Lancey Pulcini, E. (2001). Bacterial Biofilms: a review of current research. *Nephrologie*(22), 439-441.
- Decho, A. (2000). Microbial biofilms in intertidal systems: an overview. *Continental Shelf Research*(20), 1257-1273.
- DIGESA. (n.d.). www.digesa.sld.pe. Retrieved 08 29, 2013, from Google: http://www.digesa.sld.pe/DEPA/informes_tecnicos/GRUPO%20DE%20USO%203.pdf
- Dogsa , I., Brloznic, M., Stopar, D., & Mandic-Mulec, I. (2013, Abril 13). Exopolymer Diversity and the Role of Levan in Bacillus subtilis biofilm. *Departament of food Science and Technology, Biotechnical faculty*, 8(4), 1-11.
- Donlan , R., & Costerton, J. (2002). Biofilms survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 167-193.
- Drenkard , E., & Ausubel, F. (2002). Pseudomonas biofilm formation and antibiotic resistance are linked to phenotypic variation. *Nature*, 740-743.

- E. Awuah, & Abrodka, E. A. (2008). Performance evaluation of the UASB sewage treatment plant at James Town (Mudor) , Accra. *Journal of the 33rd WEDC International Conference*, 20 - 27.
- Fang, H.H.P., Chui, H.K., Li., & Y.Y. (1995). Anaerobic Degradation of Butyrate in UASB reactor. *Bioresource Technology*(51), 75-81.
- Fang, H.H.P., Liu., & Y. (2001). Anaerobic wastewater treatment in sub-tropical regions. *Water and Wastewater Technologies*.
- Fia, F., C. Borges, A., T. de Matos, A., C.S. Duarte, I., Fia, R., & C. de Campos, L. (2010). Development of biofilm in anaerobic reactors treating wastewater from coffee grain processing. *Revista Brasileira de Engenharia agrícola e ambiental*, 14(2), 210-217.
- Flemming, H.C., Neu , T., & Wozniak, D. (2007). The EPS Matrix: "The House of Biofilm Cells". *Journal of Bacteriology*, 189, 7945-7947.
- Fuentes García, G., Cedillo Ramirez , L., & Rivera Tapia , J. A. (2008). Formación de biopelículas por micoplasmas de importancia médica. *Escuela de Biología- Centro de Investigaciones microbiológicas del Instituto de Ciencias de la Universidad Autónoma de Puebla*, 13.
- Glimore, K., Srinivas, P., Akins, D., Hatter, K., & Gilmore, M. (2003). Growth development, and gene expression in a Persistent *Streptococcus gordonii* Biofilm. *Infection and Immunity*(71), 4759-4766.
- Gomec, C. Y. (2010). High- rate anaerobic treatment of domestic wastewater at ambient operating temperatures: A review on benefits and drawbacks. *Journal of Environmental Science and Health Parts*(45), 1195-1184.
- Gomez , M., & Hontoria , E. (2003). Técnicas analíticas en el control de la ingeniería ambiental.
- Gonzales , M., & Saldarriaga, J. (2008, Diciembre). Remoción biológica de materia orgánica, nitrógeno y fósforo en un sistema tipo Anaerobio- Anóxico-Aerobio. *Escuela de Ingeniería de Antioquia*, ISSN 1794-1237(10) , 45-53.
- Gottenbos, B., van der Mei, H., & Busscher, H. (1999). Models for studying initial adhesion and surface growth in biofilm formation on surface. *Methods in Enzymology*(310), 523-534.
- Hernández Muñoz, A. (2001). *DEPURACIÓN Y DESINFECCIÓN DE AGUAS RESIDUALES* (quinta ed.). (T. L. Paraninfo, Ed.) Madrid: Colección Senior.
- Huanca Huisa., B. (2000). Estudio de la calidad Bacteriológica del agua para consumo en urbanizaciones del cono norte de la ciudad de Arequipa durante 1998-1999. *Tesis para optar el título de Biólogo- UNSA*.

- Huishoff , P., L.W., de Zeeuw, W.J., Veizeboer, C.T.M., et al. (1983). Granulation in UASB reactors. *Water Science and Technology*, 8-9(15), 291-304.
- Javid Corpas, E., & Herrera A., O. F. (2012, Enero - Junio). Reducción de Coliformes y *E. coli* en un sistema residual Lácteo mediante microorganismos benéficos. *biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 10(1), 67-76.
- Kolter, R., & Greenberg, E. (2006). Microbial science: the superficial life of microbes. *Nature*(441), 300-302.
- Korsak, L. (2008). ANAEROBIC TREATMENT OF WASTEWATER IN A UASB REACTOR. *Tesis Doctoral Universidad de Stocolmo, Suecia*.
- Lettinga G., A. v. (1995). Anaerobic digestion and wastewater treatment systems. 3-28.
- Lindsay , D., & von Holy, A. (2008). Bacterial biofilms within the clinical setting: what healthcare professionals should know. *Hospital infection*(64), 313-325.
- Lorenzo, Y., & Obaya, M. C. (2006, Enero- abril). La digestión anaerobia y los reactores UASB, generalidades. *ICIDCA, sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, XL(1), 13-21.
- Madera , C., Silva, J., & Peña, M. (2005, Diciembre 15). Sistemas combinados para el tratamiento de aguas residuales basados en tanque séptico- filtro anaerobio y humedales subsuperficiales. *Ingeniería y Competitividad*, 7(2), 5-10.
- Marquez Lopez , J. L., Nevarez Moorillon, G. V., Dávila Sánchez, A., Rivera Chavira , E., & Gonzalez Rangel , O. (2008, Octubre - Diciembre). Efecto de la Formación de Biopelícula en la resistencia de bacterias aisladas de especímenes clínicos. *Facultad de Ciencias Químicas*, 1.
- McDougald, D., Rice , S.A., Barraud, N., Steinberg, P., & Kjelleberg, S. (2011). Should we stay or should we go: mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal. *Nature Reviews Microbiology*(10), 39-50.
- Medrano Vargas, W. (2001, Diciembre). Evaluación de la calidad de aguas residuales de la planta de tratamiento de Alba Rancho (SEMAPA) con fines de riego. *UMSS*, 5.
- Molina Pérez, F. (2007). Comportamiento dinámico de digestores anaerobios. *Universidad de Santiago de Compostela, Grupo de Ingeniería Ambiental y Bioprocesos*, 3-4.
- Nadais, H., Capela, I., Arroja, L., & Duarte, A. (2001). Effect of organic, hydraulic and fat shocks on the performance of UASB reactor with intermittent operation. *Wat. Science Technology*, 49-56.

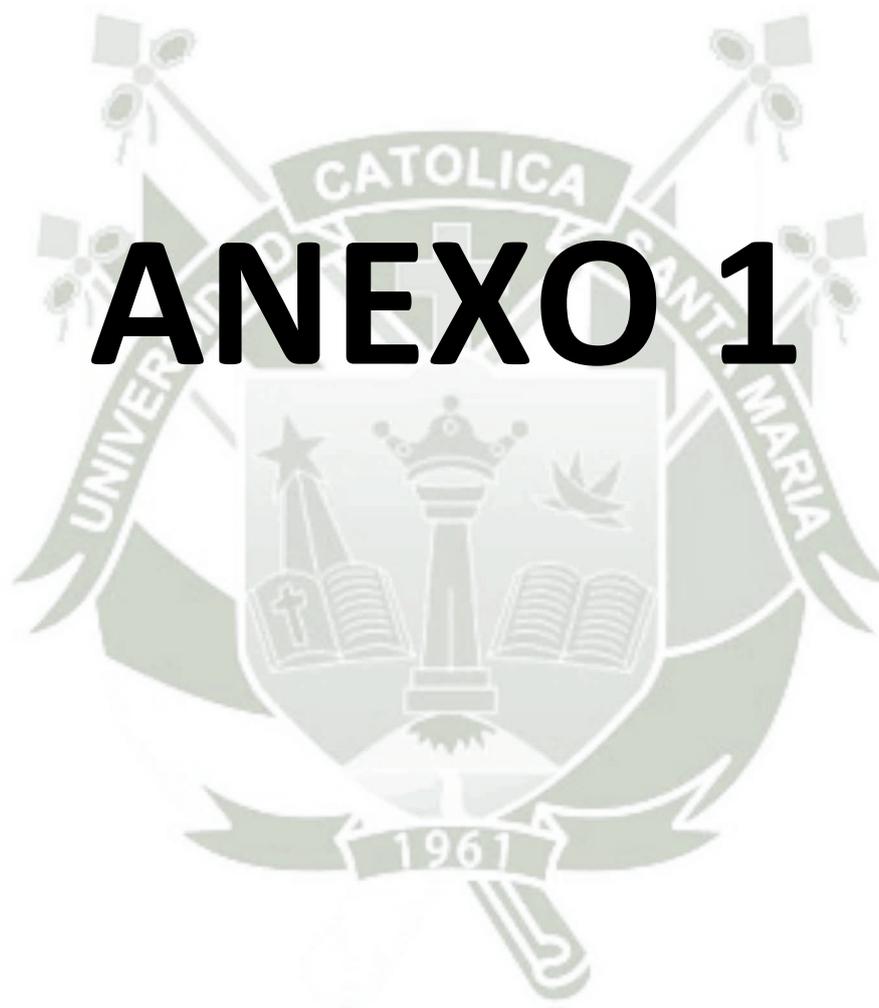
- Parra Rodriguez, L. M. (2006, Noviembre). Operación de un Filtro anaerobio de Flujo Ascendente (FAFA) hasta alcanzar el estado estable. *Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Ingeniería Química*, 7-8.
- Parra Ruiz , J., Vidailiac, C., & Rybak, M. J. (2012). Macrolides and staphylococcal biofilms. *Infectious Diseases Unit. Hospital Universitario San Cecilio*, 22-27.
- Pette, K., Vietter, R., Wind , E., & Gills, W. (1980). Full-scale anaerobic treatment of beet sugar wastewater. *35th Industrial Wastewater Conference*, 635-642.
- Purevdorj-Gage, B. Costerton, W.J. Stoodley, & P. (2005). Phenotypic differentiation and seeding dispersal in non-mucoid and mucoid *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Microbiology*(151), 1569-1576.
- Qureshi, N., Annous, B. A., C. Ezeji, T., Karcher , P., & Maddox, I. S. (2005, Agosto). Biofilm reactors for industrial bioconversion processes; employing potential of enhanced reaction rates. *Microbial cell Factories*, 1-21.
- Ridgway, H. (1988). Microbial adhesion and biofouling of reverse osmosis membranes. *Reverse Osmosis Technology: application for highpurity water production*, 429-481.
- Rigola Lapeña, M. (1990). Tratamiento de aguas Industriales: agua de proceso y residuales. (27), 37.
- Rojas Triviño, A. (2011). Manual de Microbiología Conceptos y práctica de Microbiología general. *Universidad Nacional de Colombia*(P-MV-OM-10.002.002), 88.
- Ruiz I., Álvarez, J., & Soto, M. (2002). Potencial de la digestión anaerobias en el tratamiento de aguas residuales urbanas y efluentes de baja carga orgánica. *Universidade da Coruña. Facultade de Ciencias - Campus da Zapateira* .
- Scheneides, R., Ferreira, L., Binder , P., Bejarano, E., Goes , K., Slongo, E., et al. (2005). Dynamics of organic carbon and of bacterial population in a conventional pretreatment train of a reverse osmosis unit experiencing severe biofouling. *Journal of Membrane Science.*, 18-29.
- Schmidt, J., & Ahring, B. (1996). Extracellular polymers in granular sludge from different upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Applied Microbiology and Biotechnology*(42), 457-462.
- Seghezzo, L. (2004). Anaerobic treatment of domestic wastewater in subtropical regions. (90-8504-029-9).
- Sibel, A., & Nusret, S. (2008). The performance of UASB reactors treating high- strength wastewaters. *Journal of Environmental Health*, 32-36.

- Simoës, M., L.C., S., L.C., V., & M.J. (2010). A review of current and emergent biofilm control strategies. *LWT-Food Science and Technology*, 573-583.
- Stephenson, D., & Stephenson, T. (1992). Bioaugmentation for enhancing biological wastewater treatment. *Biotechnological advances*, 10, 549-559.
- Stewart, P., & Franklin, M. (2008). Physiological heterogeneity in biofilms. *Nature Reviews Microbiology*(6), 199- 210.
- Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D., & Costerton, J. (2002). Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Review of Microbiology*(56), 187-209.
- Sutherland , I. (2001). The biofilm matrix- an immobilized but dynamic microbial environment. *Trends in Microbiology*(9), 222-227.
- Watnick, P., & Kolter, R. (2000). Biofilm, City of microbes. *Journal of Bacteriology*, 2675-2679.
- Wilderer , P., & McSwain, B. (2004). The SBR and its biofilm application potential. *Water Science and Technology*(50), 1-10.
- Wimpenny , P., & McSwain , B. (2004). The SBR and its biofilm application potential. *Water Science and Technology*(50), 1-10.
- Yasar , A., & Tabinda Bari, A. (2010). Anaerobic treatment of industrial Wastewater by UASB Reactor integrated with Chemical Oxidation Processes, an Overview. *Polish , Journal of Enviroment*, 19(5), 1051 - 1061.
- Young, J. C. (1991). Factors affecting the design and performance of upflow anaerobic filters. *Water Science and Technology*, 24(8), 133-155.
- Zepeda Cervantes, A. I. (2011, 02 7). Caracterización fisicoquímica y microbiológica del agua tratada en un reactor UASB escala piloto. *Ingeniería Química*, 10(1), 68.
- Zinder , S. (1993). Physiological ecology of methanogens. *Microbiology*(3), 529.



ANEXOS

ANEXO 1



**PROTOCOLO DE MONITOREO DE LA CALIDAD SANITARIA DE LOS
RECURSOS HÍDRICOS SUPERFICIALES DIRECCIÓN DE ECOLOGÍA Y
PROTECCIÓN DEL AMBIENTE ÁREA DE PROTECCIÓN DE LOS RECURSOS
HÍDRICOS
(Lima, 2007)**

1. INTRODUCCION

El Ministerio de Salud, a través de la Dirección General de Salud Ambiental – DIGESA, en calidad de Autoridad Sanitaria y en cumplimiento al mandato establecido por el Decreto Ley N° 17752 “Ley General de Aguas”, como responsable de la preservación, monitoreo y control de la Calidad Sanitaria de los Recursos Hídricos, viene ejecutando desde el año 1999 el Programa Nacional de Vigilancia de la Calidad de los Recursos Hídricos, cuyo objetivo fundamental es la preservación sanitaria y ambiental de la calidad de los recursos hídricos a fin de lograr la salud de la población, asegurar la calidad de las aguas en beneficio de las actividades productivas y mantener el equilibrio ecológico en los hábitat acuáticos.

El presente documento establece los criterios fundamentales para el desarrollo de los monitoreos considerando las pautas para identificar los parámetros, las estaciones de muestreo, procedimientos de toma de muestras, preservación, conservación, envío de muestras y documentos necesarios. Asimismo, permitirá incorporar el aseguramiento y control de calidad del monitoreo.

2. OBJETIVO

El presente Protocolo tiene como objetivo establecer procedimientos utilizados en la ejecución del Programa Nacional de Vigilancia de la Calidad de los Recursos Hídricos de la Autoridad Sanitaria – DIGESA para evaluar la calidad sanitaria. Asimismo, servirá de Instrumento Oficial de trabajo para el usuario en general.

3. PARÁMETROS ESTABLECIDOS EN EL MONITOREO

Los parámetros se seleccionaran en función a las actividades antropogénicas, fuentes contaminantes y teniendo en cuenta la Clasificación de los Recursos Hídricos del País.

3.1 Parámetros de medición en campo

- ✓ pH, Temperatura, Conductividad, Oxígeno Disuelto.

3.2 Parámetros determinados en laboratorio

- ✓ Físicos: Turbiedad, Sólidos totales y sólidos suspendidos.
- ✓ Iones principales: (Nitratos, Sulfato, Fosfatos, cianuro WAD y Libre, cloruros, nitritos, dureza total y cálcica, alcalinidad).
- ✓ Metales (Ba, Cd, Cr, Pb, Zn, Mn, Fe, Cu Hg y As).

3.3 Parámetros Biológicos

- ✓ Coliformes Totales.
- ✓ Coliformes Termotolerantes.
- ✓ Fitoplancton.
- ✓ Perifiton
- ✓ Parásitos

3.4 Parámetros Orgánicos (dependerá de las actividades y usos que tenga el cuerpo de agua)

- ✓ Aceites y grasas.
- ✓ Hidrocarburos totales de petróleo
- ✓ DBO5

A partir de estos parámetros se establecerán los indicadores que permitirán vigilar de manera permanente las variaciones de la calidad del agua, tanto en los aspectos sanitarios como ecológicos, permitiendo así tomar las acciones de control que se requieran.

4. UBICACIÓN DE PUNTOS DE MUESTREO Y REGISTRO DE DATOS DE CAMPO

Antes de aplicar el presente protocolo el personal de salud ambiental deberá realizar la caracterización general y detallada de la cuenca en evaluación , lo cual requiere una descripción de la cuenca, subcuenca o recurso hídrico a monitorear, describiendo las principales actividades que se desarrollan en torno a dicho recurso, no olvidando de remarcar prioritariamente si este sirve como fuente de abastecimiento para consumo humano de poblaciones (uso doméstico), en cuyo caso deberá localizar obligatoriamente un punto de muestreo en la toma o captación de agua, detallando la población servida.

5. MUESTREO, PRESERVACIÓN, CONSERVACIÓN Y ENVÍO DE LAS MUESTRAS AL LABORATORIO DE ANÁLISIS.

La etapa de recolección de muestras es de trascendental importancia. Los resultados de los mejores procedimientos analíticos serán inútiles si no se recolecta y manipula adecuadamente las muestras, para esto se seguirán las recomendaciones establecidos en los “Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales – American Public Heal Association, American Waer Works, Association Water Pollution Control Federation 20th Edition, 1998”.

5.1. Consideraciones Generales

- ✓ Los frascos requeridos deben ser de polietileno (preferencia primer uso) o vidrio, los cuales deben estar limpios y secos para evitar contaminación.
- ✓ Todo equipo deben esta debidamente calibrados.
- ✓ Las muestras requieren almacenamiento a baja temperatura y/o preservación con químicos para mantener su integridad durante el transporte y antes del análisis en el laboratorio.
- ✓ Los preservantes químicos más comunes son ácido clorhídrico, nítrico, sulfúrico e hidróxido de sodio. Tener cuidado en su manipulación.
- ✓ Las cajas térmicas usadas para el transporte de las muestras deberán ser apropiadas para almacenar las muestras tomadas, materiales de empaque y hielo.

- ✓ Llenar los registros de cada muestra recolectada (ficha de muestreo) e identifique cada frasco (etiquetado).

Indicadores Orgánicos

Respecto a la toma de muestra para Demanda Bioquímica de Oxígeno, utilizar frascos de plástico de boca ancha de un litro de capacidad, limpios, al tomar la muestra llenar completamente el frasco e inmediatamente tapar, mantener la muestra en cajas protectoras de plástico a 4 °C aproximadamente (no se debe de congelar la muestra), no requiere de preservantes.

Parámetros Físicos Químicos

- ✓ La toma de muestras para los parámetros Físicos y iones se utilizan frascos de plástico de boca ancha con cierre hermético, limpios y de 1 litro de capacidad, no requiriendo preservación y conservándose en cajas protectoras de plástico a 4 °C aproximadamente

Conservación y envío de las muestras de agua:

Las muestras recolectadas deberán conservarse en cajas térmicas (Coolers) a temperatura indicada disponiendo para ello con preservantes de temperatura (Ice pack, otros).

Los recipientes de vidrio deben ser embalados con cuidado para evitar roturas y derrames. En el caso de utilizar hielo, colocar este en bolsas herméticas para evitar fugas de la caja donde se transportan las muestras de agua.

Las muestras recolectadas para análisis físico químicos deberán entregarse al laboratorio en el menor tiempo posible, preferentemente dentro de las 24 horas de realizado el muestreo.

En el caso de las muestras para análisis microbiológico se recomienda entregar estas al laboratorio dentro de las 6 horas después del muestreo y conservadas (aguas superficiales y residuales), refrigerar a 4 °C.

Identificación de las muestras de agua:

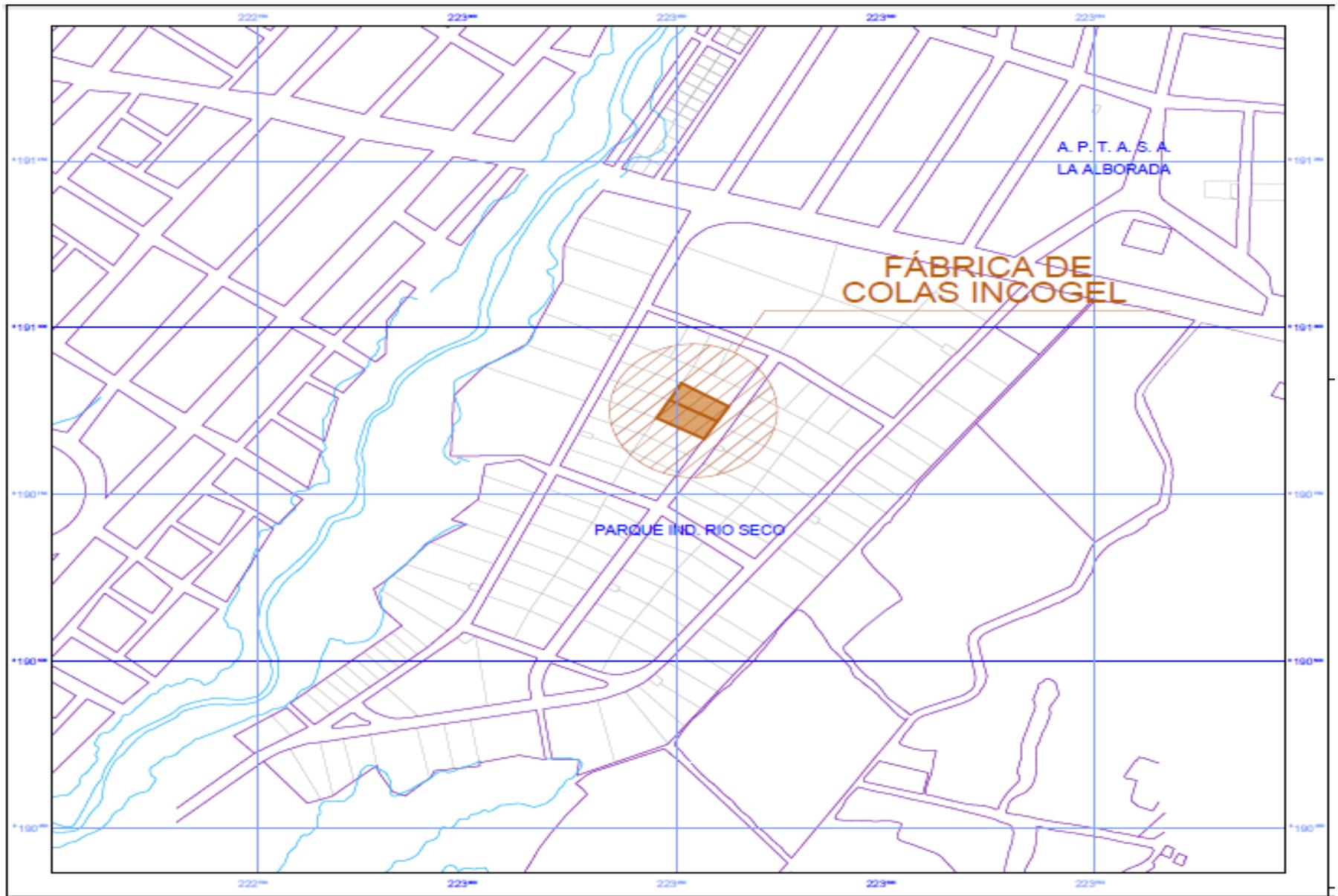
Los recipientes deben ser identificados antes de la toma de muestra con una etiqueta, escrita con letra clara y legible la cual debe ser protegida con cinta adhesiva transparente conteniendo la siguiente información:

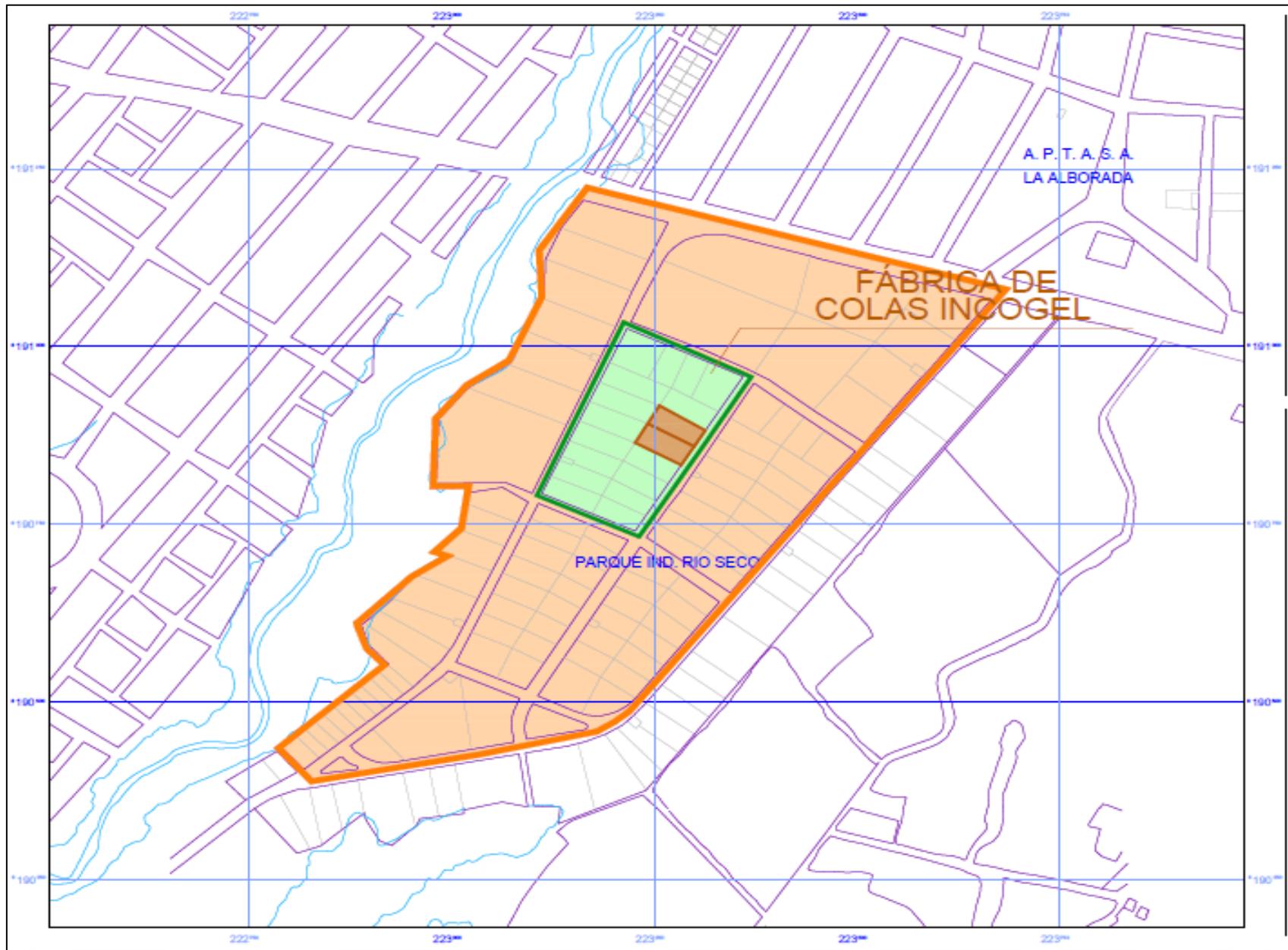
- 1.- Número de Muestra (referido al orden de toma de muestra).
- 2.- Código de identificación (punto y/o estación de muestreo).
- 3.- Origen de la fuente.
- 4.- Descripción del punto de muestreo.
- 5.- Fecha y hora de la toma de la muestra.
- 8.- Preservación realizada, tipo de preservante utilizado.
- 9.- Tipo de análisis requerido.
- 10.- Nombre del responsable del muestreo.



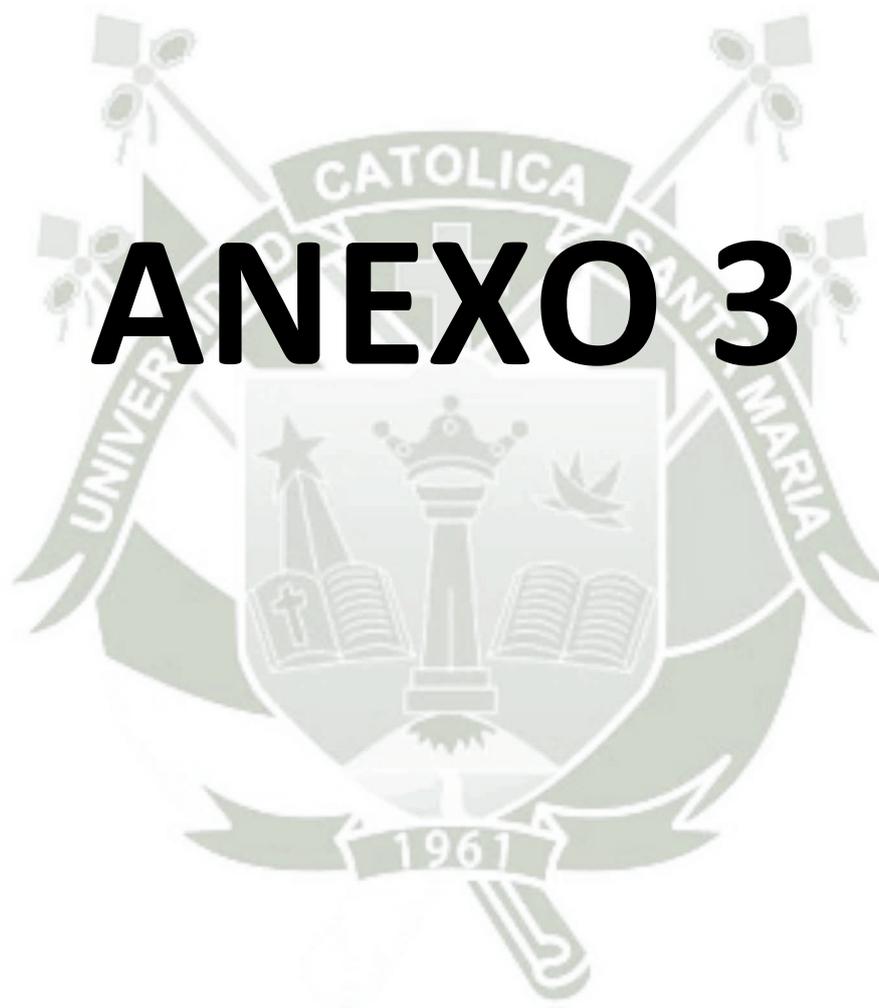
ANEXO 2







ANEXO 3

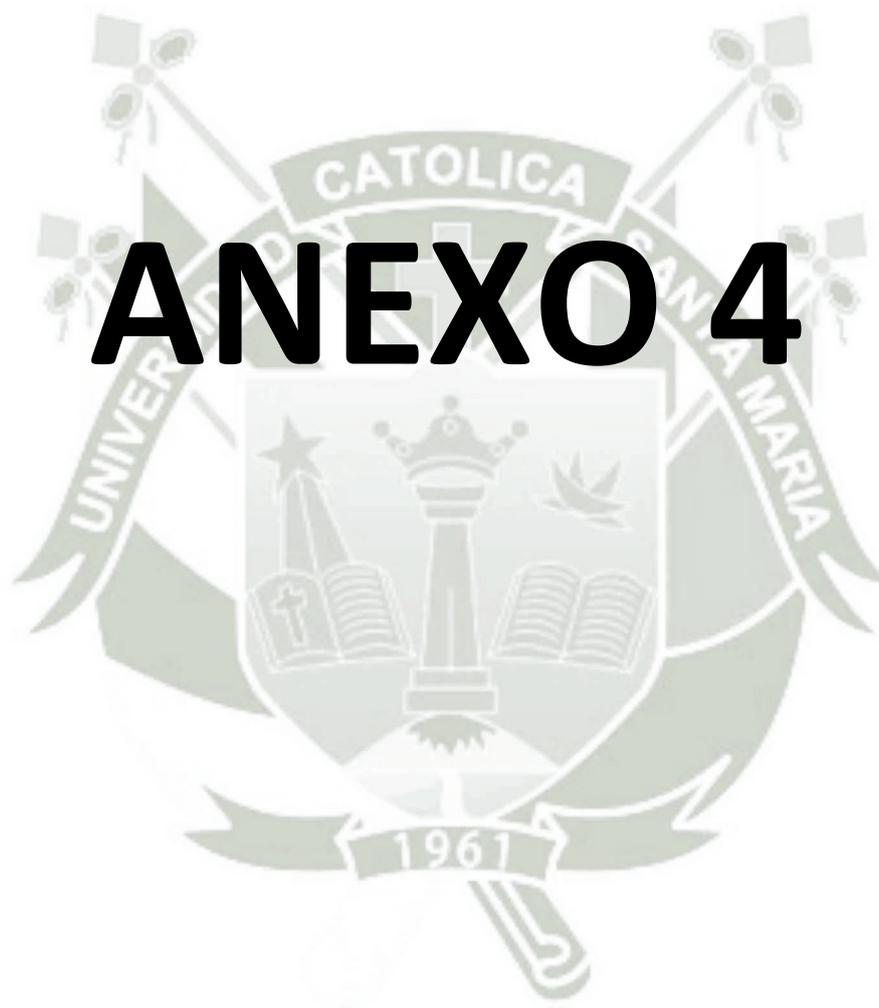


**Tablas de NMP por g. o mL, utilizando tres series de cinco tubos cada una
conteniendo 10 mL de medio líquido y sembrando 1 mL de la dilución 1:10; 1 mL de
la dilución 1:100 y 1 mL de la dilución 1:1000.**

5 tubos 1 ml. 1:10	5 tubos 1 ml. 1: 100	5 tubos 1 ml. 1:1000	NMP de gérmenes gr. o ml.
0	0	0	0
0	0	1	2
0	0	2	4
0	1	0	2
0	1	1	4
0	1	2	6
0	2	0	4
0	2	1	6
0	3	0	6
1	0	0	2
1	0	1	4
1	0	2	6
1	0	3	8
1	1	0	4
1	1	1	6
1	1	2	6
1	2	0	6
1	2	1	8
1	2	2	10
1	3	0	8
1	3	1	10
1	4	0	11
2	0	0	5
2	0	1	7
2	0	2	9
2	0	3	12
2	1	0	7
2	1	1	9
2	1	2	12
2	2	0	9
2	2	1	12
2	2	2	24
2	3	0	12
2	3	1	14
2	4	0	15
3	0	0	8
3	0	1	11
3	0	2	13
3	1	0	11
3	1	1	14
3	1	2	17
3	1	3	20
3	2	0	14
3	2	1	17
3	2	2	20
3	3	0	17
3	3	1	21
3	4	0	21
3	4	1	24
3	5	0	25
4	0	0	13
4	0	1	17
5 tubos	5 tubos	5 tubos	NMP de gérmenes

1 ml. 1:10	1 ml. 1: 100	1 ml. 1:1000	gr. o ml.
4	0	2	21
4	0	3	25
4	1	0	17
4	1	1	21
4	1	2	26
4	2	0	22
4	2	1	26
4	2	2	32
4	3	0	27
4	3	1	33
4	3	2	39
4	4	0	34
4	4	1	40
4	5	0	41
4	5	1	48
5	0	0	23
5	0	1	31
5	0	0	43
5	0	3	58
5	0	4	76
5	1	0	33
5	1	1	46
5	1	2	63
5	1	3	84
5	2	0	49
5	2	1	70
5	2	2	94
5	2	3	120
5	2	4	148
5	2	5	177
5	3	0	79
5	3	1	109
5	3	2	141
5	3	3	175
5	3	4	212
5	3	5	253
5	4	0	130
5	4	1	172
5	4	2	221
5	4	3	278
5	4	4	345
5	4	5	426
5	5	0	240
5	5	1	348
5	5	2	542
5	5	3	920
5	5	4	1.600
5	5	5	> 1.600

ANEXO 4



REACCIONES BIOQUÍMICAS DE ENTEROBACTERIÁCEAE EN TSI-LIA

GRUPO I HIDROGENO SULFURADO (H ₂ S) POSITIVOS						GRUPO II HIDROGENO SULFURADO (H ₂ S) NEGATIVOS					
ANAEROGENICOS (GAS NEGATIVO)						ANAEROGENICOS (GAS NEGATIVO)					
TSI	GAS	H ₂ S	LIA	INDOL	ENTEROBACTERIA	TSI	GAS	H ₂ S	LIA	INDOL	ENTEROBACTERIA
K/A	-	± ó +	K/K	-	Salmonella Typhi	K/A	-	-	K/A	- ó +	Shigella
AEROGENICOS (GAS POSITIVO)						A/A ó K/A	-	-	K/K ó K/N	+	Escherichia
TSI	GAS	H ₂ S	LIA	INDOL	ENTEROBACTERIA	A/A ó K/A	-	-	K/A	- ó +	Enterobacter (*)
K/A	2 + - 4 +		K/K	-	Salmonella	A/A	-	-	K/K	-	Serratia
K/A ó A/A	2 + - 4 +		K/K	-	Arizona	K/A	-	-	R/A	+	Proteus
K/A ó A/A	2 + - 4 +		K/A	+	Citrobacter	K/A	-	-	R/A	+	Providencia
K/A ó A/A	2 + - 4 +		R/A	- ó +	Proteus	A/A	-	-	A/A ó K/A	- ó +	Yersinia
K/A	2 + - 4 +		K/K	+	Edwardsiella	AEROGENICOS (GAS POSITIVO)					
					ENTEROBACTERIA	TSI	GAS	H ₂ S	LIA	INDOL	ENTEROBACTERIA
						A/A ó K/A	2 +	-	K/K ó K/A	+	Escherichia
						A/A	4 +	-	K/K	- ó +	Klebsiella
						A/A ó K/A	3 +	-	K/K ó K/A	-	Enterobacter
						K/A ó A/A	2 +	-	K/K	-	Serratia
						K/A	(+)	-	K/A ó R/A	+	Proteus (*)
						K/A	+	-	K/A ó A/A	-	Paratyphi A (*)

K = alcalino

A = ácido

R = rojo

N = neutro

* = enteropatógenos importantes.

(*) Ver texto

ANEXO 5

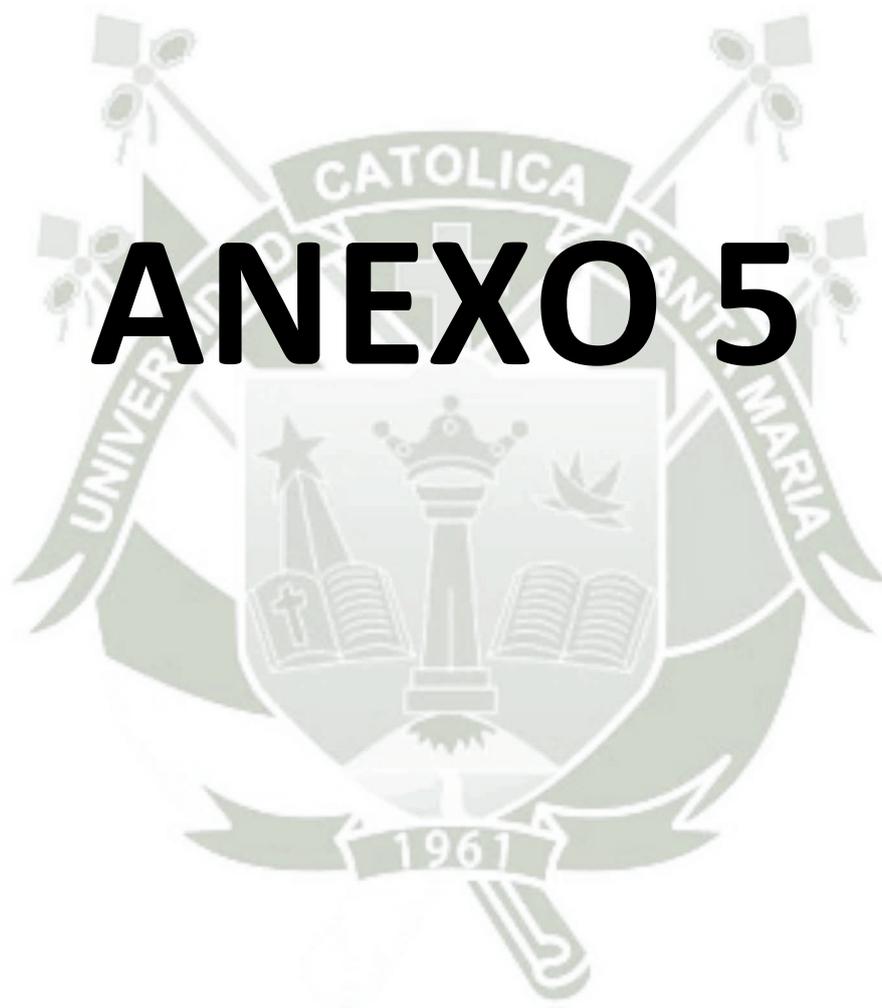


Tabla ANOVA para Temperatura

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	362.166	13	27.859	55.72	0.0000
Intra grupos	14.0	28	0.5		
Total (Corr.)	376.166	41			

Tabla ANOVA para pH

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	34.3155	13	2.63966	2431.26	0.0000
Intra grupos	0.0304	28	0.00108571		
Total (Corr.)	34.3459	41			

Tabla ANOVA para OD

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	50.5057	13	3.88505	466.21	0.0000
Intra grupos	0.233333	28	0.00833333		
Total (Corr.)	50.739	41			

Tabla ANOVA para SDT

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	653677.	13	50282.9	538.06	0.0000
Intra grupos	2616.67	28	93.4524		
Total (Corr.)	656294.	41			

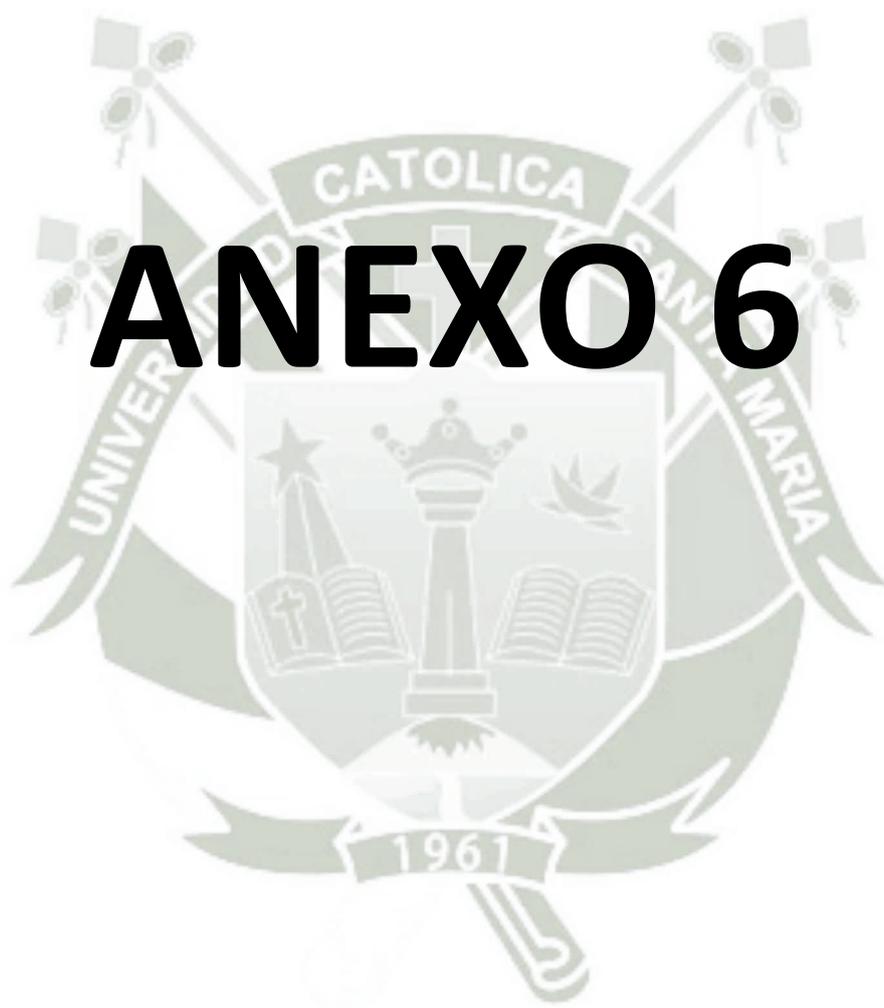
Tabla ANOVA para CONDUCTIVIDAD

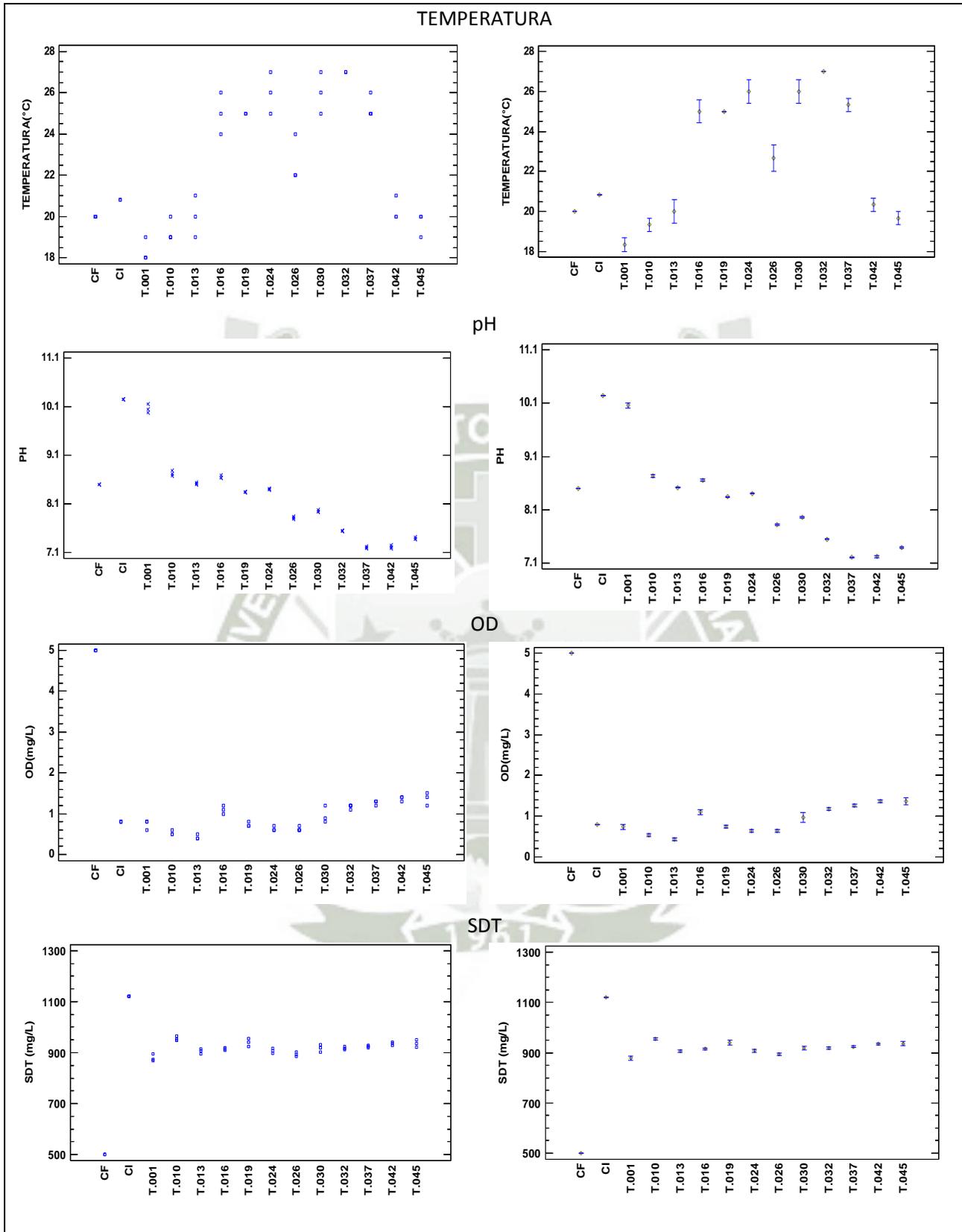
<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	554134.	13	42625.7	105.52	0.0000
Intra grupos	11311.3	28	403.976		
Total (Corr.)	565445.	41			

Tabla ANOVA para SALINIDAD

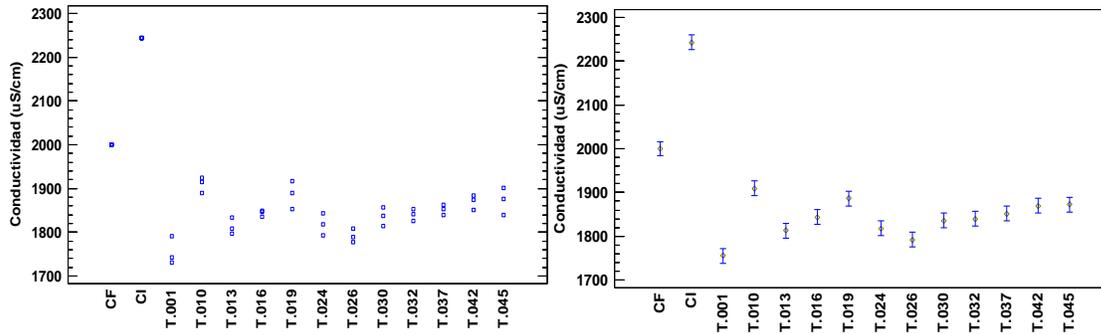
<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.203708	12	0.0169756	94.58	0.0000
Intra grupos	0.00466667	26	0.000179487		
Total (Corr.)	0.208374	38			

ANEXO 6

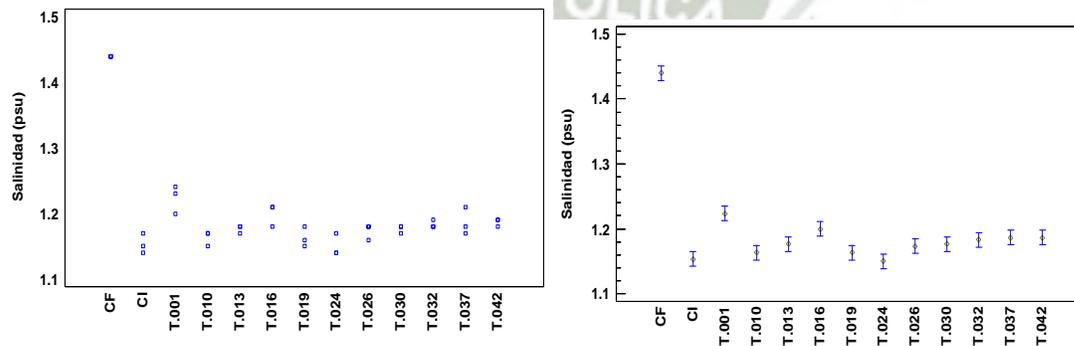




CONDUCTIVIDAD



SALINIDAD



ANEXO 7



Diagnóstico y el usuario esté dispuesto a proporcionarlos, el valor de dichos insumos será descontado del precio del servicio, previa presentación de la copia del comprobante de pago. Los insumos requeridos deberán ceñirse a las especificaciones técnicas exigidas por el SENASA.

Regístrese, comuníquese y publíquese.

OSCAR M. DOMINGUEZ FALCON
Jefe (e)
Servicio Nacional de Sanidad Agraria

232229-1

AMBIENTE

Aprueban los Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua

DECRETO SUPREMO N° 002-2008-MINAM

EL PRESIDENTE DE LA REPÚBLICA

CONSIDERANDO:

Que, en el inciso 22 del artículo 2° de la Constitución Política del Perú establece que toda persona tiene derecho a gozar de un ambiente equilibrado y adecuado al desarrollo de su vida; señalando en su artículo 67° que el Estado determina la Política Nacional del Ambiente;

Que, el artículo I del Título Preliminar de la Ley N° 28611-Ley General del Ambiente, establece que toda persona tiene el derecho irrenunciable a vivir en un ambiente saludable, equilibrado y adecuado para el pleno desarrollo de la vida, y el deber de contribuir a una efectiva gestión ambiental y de proteger el ambiente, así como sus componentes, asegurando particularmente la salud de las personas en forma individual y colectiva, la conservación de la diversidad biológica, el aprovechamiento sostenible de los recursos naturales y el desarrollo sostenible del país;

Que, el artículo 1° de la Ley N° 28817-Ley que establece los plazos para la elaboración y aprobación de los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) y de Límites Máximos Permisibles (LMP) de Contaminación Ambiental, dispuso que la Autoridad Ambiental Nacional culminaría la elaboración y revisión de los ECA y LMP en un plazo no mayor de dos (02) años, contados a partir de la vigencia de dicha Ley;

Que con fecha 16 de junio de 1999 se instaló el GESTA AGUA, cuya finalidad fue elaborar los Estándares de Calidad Ambiental para Agua - ECA para Agua, estando conformado dicho Grupo de Trabajo por 21 instituciones del sector público, privado y académico, actuando la Dirección General de Salud Ambiental – DIGESA como Secretaría Técnica;

Que, mediante Oficio N° 8262-2006/DG/DIGESA de fecha 28 de diciembre de 2006, la Dirección General de Salud Ambiental –DIGESA, en coordinación con el Instituto Nacional de Recursos Naturales -INRENA, en calidad de Secretaria Técnica Colegiada del GESTA

AGUA, remitió al CONAM, la propuesta de Estándares de Calidad Ambiental-ECA para Agua con la finalidad de tramitar su aprobación formal;

Que, por Acta del Grupo de Trabajo GESTA AGUA, de fecha 24 de octubre de 2007, se aprobó la propuesta de Estándares Nacionales de Calidad Ambiental (ECA) para Agua;

Que, mediante Decreto Legislativo N° 1013 se aprobó la Ley de Creación, Organización y Funciones del Ministerio del Ambiente, señalándose su ámbito de competencia sectorial y regulándose su estructura orgánica y funciones, siendo una de sus funciones específicas la de elaborar los Estándares de Calidad Ambiental y Límites Máximos Permisibles;

Que, contando con la propuesta de Estándares Nacionales de Calidad Ambiental (ECA) para agua, corresponde aprobarlos mediante Decreto Supremo, conforme a lo establecido en el artículo 7° del Decreto Legislativo N° 1013;

De conformidad con lo dispuesto en la Ley General del Ambiente, Ley N° 28611 y el Decreto Legislativo N° 1013; En uso de las facultades conferidas por el artículo 118° de la Constitución Política del Perú;

DECRETA:

Artículo 1°.- Aprobación de los Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua

Aprobar los Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para Agua, contenidos en el Anexo I del presente Decreto Supremo, con el objetivo de establecer el nivel de concentración o el grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos presentes en el agua, en su condición de cuerpo receptor y componente básico de los ecosistemas acuáticos, que no representa riesgo significativo para la salud de las personas ni para el ambiente. Los Estándares aprobados son aplicables a los cuerpos de agua del territorio nacional en su estado natural y son obligatorios en el diseño de las normas legales y las políticas públicas siendo un referente obligatorio en el diseño y aplicación de todos los instrumentos de gestión ambiental.

Artículo 2°.- Refrendo

El presente Decreto Supremo será refrendado por el Ministro del Ambiente.

DISPOSICIÓN COMPLEMENTARIA TRANSITORIA

Única.- El Ministerio del Ambiente dictará las normas para la implementación de los Estándares de Calidad Ambiental para Agua, como instrumentos para la gestión ambiental por los sectores y niveles de gobierno involucrados en la conservación y aprovechamiento sostenible del recurso agua.

Dado en la Casa de Gobierno, en Lima, a los treinta días del mes de julio del año dos mil ocho.

ALAN GARCÍA PÉREZ
Presidente Constitucional de la República

ANTONIO JOSÉ BRACK EGG
Ministro del Ambiente

El Peruano
DIARIO OFICIAL

REQUISITO PARA PUBLICACIÓN DE NORMAS LEGALES Y SENTENCIAS

Se comunica al Congreso de la República, Poder Judicial, Ministerios, Organismos Autónomos y Descentralizados, Gobiernos Regionales y Municipalidades que, para efecto de publicar sus dispositivos y sentencias en la Separata de Normas Legales y Separatas Especiales respectivamente, deberán además remitir estos documentos en disquete o al siguiente correo electrónico. normaslegales@editoraperu.com.pe

LA DIRECCIÓN



ANEXO I

ESTÁNDARES NACIONALES DE CALIDAD AMBIENTAL PARA AGUA

CATEGORÍA 1: POBLACIONAL Y RECREACIONAL

PARÁMETRO	UNIDAD	Aguas superficiales destinadas a la producción de agua potable			Aguas superficiales destinadas para recreación	
		A1	A2	A3	B1	B2
		Aguas que pueden ser potabilizadas con desinfección	Aguas que pueden ser potabilizadas con tratamiento convencional	Aguas que pueden ser potabilizadas con tratamiento avanzado	Contacto Primario	Contacto Secundario
		VALOR	VALOR	VALOR	VALOR	VALOR
FISICOS Y QUIMICOS						
Acetles y grasas (MEH)	mg/L	1	1,00	1,00	Ausencia de película visible	**
Cianuro Libre	mg/L	0,005	0,022	0,022	0,022	0,022
Cianuro Wad	mg/L	0,08	0,08	0,08	0,08	**
Cloruros	mg/L	250	250	250	**	**
Color	Color verdadero escala Pt/Co	15	100	200	sin cambio normal	sin cambio normal
Conductividad	us/cm ⁽²⁵⁾	1 500	1 600	**	**	**
D.B.O. ₅	mg/L	3	5	10	5	10
D.Q.O.	mg/L	10	20	30	30	50
Dureza	mg/L	500	**	**	**	**
Detergentes (SAAM)	mg/L	0,5	0,5	na	0,5	Ausencia de espuma persistente
Fenoles	mg/L	0,003	0,01	0,1	**	**
Fluoruros	mg/L	1	**	**	**	**
Fósforo Total	mg/L P	0,1	0,15	0,15	**	**
Materiales Flotantes		Ausencia de material flotante	**	**	Ausencia de material flotante	Ausencia de material flotante
Nitratos	mg/L N	10	10	10	10	**
Nitritos	mg/L N	1	1	1	1(5)	**
Nitrógeno amoniacal	mg/L N	1,5	2	3,7	**	**
Olor		Aceptable	**	**	Aceptable	**
Oxígeno Disuelto	mg/L	>= 6	>= 5	>= 4	>= 5	>= 4
pH	Unidad de pH	6,5 – 8,5	5,5 – 9,0	5,5 – 9,0	6-9 (2,5)	**
Sólidos Disueltos Totales	mg/L	1 000	1 000	1 500	**	**
Sulfatos	mg/L	250	**	**	**	**
Sulfuros	mg/L	0,05	**	**	0,05	**
Turbiedad	UNT ⁽²⁾	5	100	**	100	**
INORGÁNICOS						
Aluminio	mg/L	0,2	0,2	0,2	0,2	**
Antimonio	mg/L	0,006	0,006	0,006	0,006	**
Arsénico	mg/L	0,01	0,01	0,05	0,01	**
Bario	mg/L	0,7	0,7	1	0,7	**
Berilio	mg/L	0,004	0,04	0,04	0,04	**
Boro	mg/L	0,5	0,5	0,75	0,5	**
Cadmio	mg/L	0,003	0,003	0,01	0,01	**
Cobre	mg/L	2	2	2	2	**
Cromo Total	mg/L	0,05	0,05	0,05	0,05	**
Cromo VI	mg/L	0,05	0,05	0,05	0,05	**
Hierro	mg/L	0,3	1	1	0,3	**
Manganeso	mg/L	0,1	0,4	0,5	0,1	**
Mercurio	mg/L	0,001	0,002	0,002	0,001	**
Niquel	mg/L	0,02	0,025	0,025	0,02	**
Plata	mg/L	0,01	0,05	0,05	0,01	0,05
Plomo	mg/L	0,01	0,05	0,05	0,01	**
Selenio	mg/L	0,01	0,05	0,05	0,01	**
Uranio	mg/L	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Vanadio	mg/L	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Zinc	mg/L	3	5	5	3	**
ORGÁNICOS						
I. COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES						
Hidrocarburos totales de petróleo, HTTP	mg/L	0,05	0,2	0,2		
Trihalometanos	mg/L	0,1	0,1	0,1	**	**
Compuestos Orgánicos Volátiles, COVs						
1,1,1-Tricloroetano -- 71-55-6	mg/L	2	2	**	**	**
1,1-Dicloroetano -- 75-35-4	mg/L	0,03	0,03	**	**	**
1,2-Dicloroetano -- 107-06-2	mg/L	0,03	0,03	**	**	**
1,2-Diclorobenceno -- 95-50-1	mg/L	1	1	**	**	**
Hexaclorobutadieno -- 87-68-3	mg/L	0,0006	0,0006	**	**	**
Tetracloroetano -- 127-18-4	mg/L	0,04	0,04	**	**	**
Tetracloruro de Carbono -- 56-23-5	mg/L	0,002	0,002	**	**	**
Tricloroetano -- 79-01-6	mg/L	0,07	0,07	**	**	**
BETX						

Descargado desde www.elperuano.com.pe

PARÁMETRO	UNIDAD	Aguas superficiales destinadas a la producción de agua potable			Aguas superficiales destinadas para recreación	
		A1	A2	A3	B1	B2
		Aguas que pueden ser potabilizadas con desinfección	Aguas que pueden ser potabilizadas con tratamiento convencional	Aguas que pueden ser potabilizadas con tratamiento avanzado	Contacto Primario	Contacto Secundario
		VALOR	VALOR	VALOR	VALOR	VALOR
Benceno -- 71-43-2	mg/L	0,01	0,01	**	**	**
Etilbenceno -- 100-41-4	mg/L	0,3	0,3	**	**	**
Tolueno -- 108-88-3	mg/L	0,7	0,7	**	**	**
Xilenos -- 1330-20-7	mg/L	0,5	0,5	**	**	**
Hidrocarburos Aromáticos						
Benzo(a)pireno -- 50-32-8	mg/L	0,0007	0,0007	**	**	**
Pentaclorofenol (PCP)	mg/L	0,009	0,009	**	**	**
Triclorobencenos (Totales)	mg/L	0,02	0,02	**	**	**
Plaguicidas						
Organofosforados:						
Malatión	mg/L	0,0001	0,0001	**	**	**
Metamidofós (restringido)	mg/L	Ausencia	Ausencia	Ausencia	**	**
Paraquat (restringido)	mg/L	Ausencia	Ausencia	Ausencia	**	**
Paratión	mg/L	Ausencia	Ausencia	Ausencia	**	**
Organoclorados (COP)*:						
Aldrin -- 309-00-2	mg/L	Ausencia	Ausencia	Ausencia	**	**
Clordano	mg/L	Ausencia	Ausencia	Ausencia	**	**
DDT	mg/L	Ausencia	Ausencia	Ausencia	**	**
Dieldrin -- 60-57-1	mg/L	Ausencia	Ausencia	Ausencia	**	**
Endosulfán	mg/L	0,000056	0,000056	*	**	**
Endrin -- 72-20-8	mg/L	Ausencia	Ausencia	Ausencia	**	**
Heptacloro -- 76-44-8	mg/L	Ausencia	Ausencia	Ausencia	**	**
Heptacloro epóxido 1024-57-3	mg/L	0,00003	0,00003	*	**	**
Lindano	mg/L	Ausencia	Ausencia	Ausencia	**	**
Carbamatos:						
Aldicarb (restringido)	mg/L	Ausencia	Ausencia	Ausencia	**	**
Policloruros Bifenilos Totales						
(PCBs)	mg/L	0,000001	0,000001	**	**	**
Otros						
Asbesto	Millones de fibras/L	7	**	**	**	**
MICROBIOLÓGICO						
Coliformes Termotolerantes (44,5 °C)	NMP/100 mL	0	2 000	20 000	200	1 000
Coliformes Totales (35 - 37 °C)	NMP/100 mL	50	3 000	50 000	1 000	4 000
Enterococos fecales	NMP/100 mL	0	0		200	**
<i>Escherichia coli</i>	NMP/100 mL	0	0		Ausencia	Ausencia
Formas parasitarias	Organismo/Litro	0	0		0	
<i>Giardia duodenalis</i>	Organismo/Litro	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Salmonella</i>	Presencia/100 mL	Ausencia	Ausencia	Ausencia	0	0
<i>Vibrio Cholerae</i>	Presencia/100 mL	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

UNT Unidad Nefelométrica Turbiedad

NMP/ 100 mL Número más probable en 100 mL

* Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP)

** Se entenderá que para esta subcategoría, el parámetro no es relevante, salvo casos específicos que la Autoridad competente determine.

CATEGORÍA 2: ACTIVIDADES MARINO COSTERAS

PARÁMETRO	UNIDADES	AGUA DE MAR		
		Sub Categoría 1	Sub Categoría 2	Sub Categoría 3
		Extracción y Cultivo de Moluscos Bivalvos (C1)	Extracción y cultivo de otras especies hidrobiológicas (C2)	Otras Actividades (C3)
ORGANOLÉPTICOS				
Hidrocarburos de Petróleo		No Visible	No Visible	No Visible
FISICOQUÍMICOS.				
Aceites y grasas	mg/L	1,0	1,0	2,0
DBO ₅	mg/L	**	10,0	10,0
Oxígeno Disuelto	mg/L	>=4	>=3	>=2,5
pH	Unidad de pH	7 - 8,5	6,8 - 8,5	6,8 - 8,5
Sólidos Suspendedos Totales	mg/L	**	50,0	70,0
Sulfuro de Hidrógeno	mg/L	**	0,06	0,08
Temperatura	celsius	**delta 3 °C	**delta 3 °C	**delta 3 °C
INORGÁNICOS				
Amoniaco	mg/L	**	0,08	0,21
Arsénico total	mg/L	0,05	0,05	0,05
Cadmio total	mg/L	0,0093	0,0093	0,0093
Cobre total	mg/L	0,0031	0,05	0,05
Cromo VI	mg/L	0,05	0,05	0,05
Fosfatos (P-PO4)	mg/L	**	0,03 - 0,09	0,1

Descargado desde www.eiperuano.com.pe



PARÁMETRO	UNIDADES	AGUA DE MAR		
		Sub Categoría 1	Sub Categoría 2	Sub Categoría 3
		Extracción y Cultivo de Moluscos Bivalvos (C1)	Extracción y cultivo de otras especies hidrobiológicas (C2)	Otras Actividades (C3)
Mercurio total	mg/L	0,0094	0,0001	0,0001
Níquel total	mg/L	0,0082	0,1	0,1
Nitratos (N-NO3)	mg/L	**	0,07 - 0,28	0,3
Plomo total	mg/L	0,0081	0,0081	0,0081
Silicatos (Si-Si O3)	mg/L	**	0,14 - 0,70	**
Zinc total	mg/L	0,081	0,081	0,081
ORGÁNICOS				
Hidrocarburos de petróleo totales (fracción aromática)	mg/L	0,007	0,007	0,01
MICROBIOLÓGICOS				
Coliformes Termotolerantes	NMP/100mL	* ≤14 (área aprobada)	≤30	1000
Coliformes Termotolerantes	NMP/100mL	* ≤88 (área restringida)		

NMP/ 100 mL Número más probable en 100 mL

* **Área Aprobada** : Áreas de donde se extraen o cultivan moluscos bivalvos seguros para el comercio directo y consumo, libres de contaminación fecal humana o animal, de organismos patógenos o cualquier sustancia deletérea o venenosa y potencialmente peligrosa.

* **Área Restringida**: Áreas acuáticas impactadas por un grado de contaminación donde se extraen moluscos bivalvos seguros para consumo humano luego de ser depurados

** Se entenderá que para este uso, el parámetro no es relevante, salvo casos específicos que la Autoridad competente lo determine

*** La temperatura corresponde al promedio mensual multianual del área evaluada.

CATEGORÍA 3: RIEGO DE VEGETALES Y BEBIDAS DE ANIMALES

PARÁMETROS PARA RIEGO DE VEGETALES DE TALLO BAJO Y TALLO ALTO		
PARÁMETROS	UNIDAD	VALOR
Fisicoquímicos		
Bicarbonatos	mg/L	370
Calcio	mg/L	200
Carbonatos	mg/L	5
Cloruros	mg/L	100-700
Conductividad	(uS/cm)	<2 000
Demanda Bioquímica de Oxígeno	mg/L	15
Demanda Química de Oxígeno	mg/L	40
Fluoruros	mg/L	1
Fosfatos - P	mg/L	1
Nitratos (NO3-N)	mg/L	10
Nitritos (NO2-N)	mg/L	0,06
Oxígeno Disuelto	mg/L	> =4
pH	Unidad de pH	6,5 - 8,5
Sodio	mg/L	200
Sulfatos	mg/L	300
Sulfuros	mg/L	0,05
Inorgánicos		
Aluminio	mg/L	5
Arsénico	mg/L	0,05
Bario total	mg/L	0,7
Boro	mg/L	0,5-6
Cadmio	mg/L	0,005
Cianuro Wad	mg/L	0,1
Cobalto	mg/L	0,05
Cobre	mg/L	0,2
Cromo (6+)	mg/L	0,1
Hierro	mg/L	1
Litio	mg/L	2,5
Magnesio	mg/L	150
Manganeso	mg/L	0,2
Mercurio	mg/L	0,001
Níquel	mg/L	0,2
Plata	mg/L	0,05
Plomo	mg/L	0,05
Selenio	mg/L	0,05
Zinc	mg/L	2
Orgánicos		
Aceites y Grasas	mg/L	1
Fenoles	mg/L	0,001
S.A.A.M. (detergentes)	mg/L	1
Plaguicidas		
Aldicarb	ug/L	1
Aldrin (CAS 309-00-2)	ug/L	0,004
Clordano (CAS 57-74-9)	ug/L	0,3
DDT	ug/L	0,001
Dieldrin (N° CAS 72-20-8)	ug/L	0,7
Endrin	ug/L	0,004

PARÁMETROS PARA RIEGO DE VEGETALES DE TALLO BAJO Y TALLO ALTO		
PARÁMETROS	UNIDAD	VALOR
Endosulfán	ug/L	0,02
Heptacloro (N° CAS 76-44-8) y heptacloropoxido	ug/L	0,1
Lindano	ug/L	4
Paratión	ug/L	7,5

CATEGORÍA 3: RIEGO DE VEGETALES Y BEBIDAS DE ANIMALES

PARÁMETROS PARA RIEGO DE VEGETALES.			
PARÁMETROS	Unidad	Vegetales Tallo Bajo	Vegetales Tallo Alto
		Valor	Valor
Biológicos			
Coliformes Termotolerantes	NMP/100mL	1 000	2 000(3)
Coliformes Totales	NMP/100mL	5 000	5 000(3)
Enterococos	NMP/100mL	20	100
<i>Escherichia coli</i>	NMP/100mL	100	100
Huevos de Helmintos	huevos/litro	<1	<1(1)
<i>Salmonella</i> sp.		Ausente	Ausente
<i>Vibrio cholerae</i>		Ausente	Ausente
PARÁMETROS PARA BEBIDAS DE ANIMALES			
PARÁMETROS	UNIDAD	VALOR	
Fisicoquímicos			
Conductividad Eléctrica	(uS/cm)	<= 5000	
Demanda Bioquímica de Oxígeno	mg/L	<=15	
Demanda Química de Oxígeno	mg/L	40	
Fluoruro	mg/L	2	
Nitratos-(NO3-N)	mg/L	50	
Nitritos (NO2-N)	mg/L	1	
Oxígeno Disuelto	mg/L	> 5	
pH	Unidades de pH	6,5 – 8,4	
Sulfatos	mg/L	500	
Sulfuros	mg/L	0,05	
Inorgánicos			
Aluminio	mg/L	5	
Arsénico	mg/L	0,1	
Berilio	mg/L	0,1	
Boro	mg/L	5	
Cadmio	mg/L	0,01	
Cianuro WAD	mg/L	0,1	
Cobalto	mg/L	1	
Cobre	mg/L	0,5	
Cromo (6+)	mg/L	1	
Hierro	mg/L	1	
Litio	mg/L	2,5	
Magnesio	mg/L	150	
Manganeso	mg/L	0,2	
Mercurio	mg/L	0,001	
Niquel	mg/L	0,2	
Plata	mg/L	0,05	
Plomo	mg/L	0,05	
Selenio	mg/L	0,05	
Zinc	mg/L	24	
Orgánicos			
Aceites y Grasas	mg/L	1	
Fenoles	mg/L	0,001	
S.A.A.M. (detergentes)	mg/L	1	
Plaguicidas			
Aldicarb	ug/L	1	
Aldrin (CAS 309-00-2)	ug/L	0,03	
Clordano (CAS 57-74-9)	ug/L	0,3	
DDT	ug/L	1	
Dieldrin (N° CAS 72-20-8)	ug/L	0,7	
Endosulfán	ug/L	0,02	

Descargado desde www.ejperuano.com.pe



Endrín	ug/L	0,004
Heptacloro (N° CAS 76-44-8) y heptacloripóxido	ug/L	0,1
Lindano	ug/L	4
Paralión	ug/L	7,5
Biológicos		
Coliformes Termotolerantes	NMP/100mL	1 000
Coliformes Totales	NMP/100mL	5 000
Enterococos	NMP/100mL	20
<i>Escherichia coli</i>	NMP/100mL	100
Huevos de Helmintos	huevo/litro	<1
<i>Salmonella</i> sp.		Ausente
<i>Vibrio cholerae</i>		Ausente

NOTA :

NMP/100: Número más probable en 100 mL

Vegetales de Tallo alto: Son plantas cultivables o no, de porte arbustivo o arbóreo y tienen una buena longitud de tallo. las especies leñosas y forestales tienen un sistema radicular pivotante profundo (1 a 20 metros). Ejemplo: Forestales, árboles frutales, etc.

Vegetales de Tallo bajo: Son plantas cultivables o no, frecuentemente porte herbáceo, debido a su poca longitud de tallo alcanzan poca altura. Usualmente, las especies herbáceas de porte bajo tienen un sistema radicular difuso o fibroso, poco profundo (10 a 50 cm). Ejemplo: Hortalizas y verdura de tallo corto, como ajo, lechuga, fresas, col, repollo, apio y arveja, etc.

Animales mayores: Entiéndase como animales mayores a vacunos, ovinos, porcinos, camélidos y equinos, etc.

Animales menores: Entiéndase como animales menores a caprinos, cuyes, aves y conejos

SAAM: Sustancias activas de azul de metileno

CATEGORÍA 4: CONSERVACIÓN DEL AMBIENTE ACUÁTICO

PARÁMETROS	UNIDADES	LAGUNAS Y LAGOS	RÍOS		ECOSISTEMAS MARINO COSTEROS	
			COSTA Y SIERRA	SELVA	ESTUARIOS	MARINOS
FÍSICOS Y QUÍMICOS						
Aceites y grasas	mg/L	Ausencia de película visible	Ausencia de película visible	Ausencia de película visible	1	1
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5)	mg/L	<5	<10	<10	15	10
Nitrógeno Amoniacal	mg/L	<0,02	0,02	0,05	0,05	0,08
Temperatura	Celsius					delta 3 °C
Oxígeno Disuelto	mg/L	≥5	≥5	≥5	≥4	≥4
pH	unidad	6,5-8,5	6,5-8,5		6,8-8,5	6,8 - 8,5
Sólidos Disueltos Totales	mg/L	500	500	500	500	
Sólidos Suspendedos Totales	mg/L	≤25	≤25 - 100	≤25 - 400	≤25-100	30,00
INORGÁNICOS						
Arsénico	mg/L	0,01	0,05	0,05	0,05	0,05
Bario	mg/L	0,7	0,7	1	1	-----
Cadmio	mg/L	0,004	0,004	0,004	0,005	0,005
Cianuro Libre	mg/L	0,022	0,022	0,022	0,022	-----
Clorofila A	mg/L	10	-----	-----	-----	-----
Cobre	mg/L	0,02	0,02	0,02	0,05	0,05
Cromo VI	mg/L	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Fenoles	mg/L	0,001	0,001	0,001	0,001	
Fosfatos Total	mg/L	0,4	0,5	0,5	0,5	0,031 - 0,093
Hidrocarburos de Petróleo Aromáticos Totales	Ausente				Ausente	Ausente
Mercurio	mg/L	0,0001	0,0001	0,0001	0,001	0,0001
Nitratos (N-NO3)	mg/L	5	10	10	10	0,07 - 0,28
INORGÁNICOS						
Nitrógeno Total	mg/L	1,6	1,6		-----	-----
Níquel	mg/L	0,025	0,025	0,025	0,002	0,0082
Plomo	mg/L	0,001	0,001	0,001	0,0081	0,0081
Silicatos	mg/L	-----	-----	-----	-----	0,14-0,7
Sulfuro de Hidrógeno (H2S indisoluble)	mg/L	0,002	0,002	0,002	0,002	0,06
Zinc	mg/L	0,03	0,03	0,3	0,03	0,081
MICROBIOLÓGICOS						
Coliformes Termotolerantes	(NMP/100mL)	1 000	2 000		1 000	≤30
Coliformes Totales	(NMP/100mL)	2 000	3 000		2 000	

NOTA : Aquellos parámetros que no tienen valor asignado se debe reportar cuando se dispone de análisis

Dureza: Medir "dureza" del agua muestreada para contribuir en la interpretación de los datos (método/técnica recomendada: APHA-AWWA-WPCF 2340C)

Nitrógeno total: Equivalente a la suma del nitrógeno Kjeldahl total (Nitrógeno orgánico y amoniacal), nitrógeno en forma de nitrato y nitrógeno en forma de nitrito (NO)

Amonio: Como NH3 no ionizado

NMP/100 mL: Número más probable de 100 mL

Ausente: No deben estar presentes a concentraciones que sean detectables por olor, que afecten a los organismos acuáticos comestibles, que puedan formar depósitos de sedimentos en las orillas o en el fondo, que puedan ser detectados como películas visibles en la superficie o que sean nocivos a los organismos acuáticos presentes.

232538-1

2.8. LEY GENERAL DE AGUAS: Decreto Ley N° 17752 (1969)

CONSIDERANDO:

Que según la tradición histórica peruana y la Constitución vigente, las aguas pertenecen al Estado y su dominio es inalienable e imprescriptible;

Que es necesario e impostergable la dación de una nueva Ley General de Aguas que establezca el uso justificado y racional de este recurso en armonía con el interés social y en desarrollo del país;

En uso de las facultades de que está investido; y,

Con el voto aprobatorio del Consejo de Ministros;

Ha dado el Decreto - Ley siguiente:

TITULO I DISPOSICIONES GENERALES

Artículo 1°.- Inalienabilidad e imprescriptibilidad de las aguas. Finalidades

Las aguas, sin excepción alguna, son de propiedad del Estado y su dominio es inalienable e imprescriptible. No hay propiedad privada de las aguas ni derechos adquiridos sobre ellas. El uso justificado y racional del agua, sólo puede ser otorgado en armonía, con el interés social y el desarrollo del país.

Artículo 2°.- Deber del Estado en cuanto a los recursos hídricos

En armonía con las finalidades señaladas en el artículo anterior, en cuanto a los recursos hídricos, el Estado deberá:

- a) Formular la política general de su utilización y desarrollo;
- b) Planificar y administrar sus usos de modo que ellos tiendan a efectuarse en forma múltiple, económica y racional;
- c) Inventariar y evaluar su uso potencial;
- d) Conservar, preservar e incrementar dichos recursos; y
- e) Realizar y mantener actualizados los estudios hidrológicos, hidrobiológicos, hidrogeológicos, meteorológicos, y demás que fuesen necesarios en las cuencas hidrográficas del territorio nacional.

Artículo 3°.- Prioridades por sistemas hidrográficos, cuencas, valles y distritos de riego

En los planes de inversión en que las aguas intervienen o son necesarias como factor de desarrollo, la Autoridad de Aguas, en coordinación con los demás organismos del Sector Público, señalará en orden de las prioridades por sistemas hidrográficos, cuencas, valles y distritos de riego, para lo que tendrá en cuenta principalmente los programas y acciones de Reforma Agraria, los problemas de orden económico y social y la política general de desarrollo.

Artículo 4°.- Ambito de la Ley

Las disposiciones de la presente Ley comprenden las aguas marítimas, terrestres y atmosféricas del territorio y espacio nacionales; en todos sus estados físicos, las que con carácter enunciativo pero no limitativo son:

- a) Las del mar que se extiende hasta las 200 millas;
- b) Las de los golfos, bahías, ensenadas y esteros;
- c) Las atmosféricas;
- d) Las provenientes de las lluvias de formación natural o artificial;
- e) Los nevados y glaciares;
- f) Las de los ríos y sus afluentes; las de los arroyos, torrentes y manantiales, y las que discurren por cauces artificiales;
- g) Las de los lagos, lagunas y embalses de formación natural o artificial;
- h) Las subterráneas;
- i) Las minero medicinales;
- j) Las servidas;
- k) Las producidas; y
- l) Las de desagües agrícolas, de filtraciones y drenaje.

Artículo 5°.- Propiedad del Estado

Son igualmente de propiedad inalterable e imprescriptible del Estado:

- a) La extensión comprendida entre la baja y la alta marea, más una faja no menor de 50 metros de ancho paralela a la línea de alta marea;
- b) Los terrenos marginales marítimos que se reservan por razones de Seguridad Nacional o uso público;
- c) Los álveos o cauces de las aguas;
- d) Las áreas ocupadas por los nevados y los cauces de los glaciares;
- e) Los estratos o depósitos por donde corren o se encuentran las lagunas subterráneas;
- f) Las islas existentes y las que se formen en el mar, en los lagos, lagunas o esteros o en los ríos, siempre que no procedan de una bifurcación de las aguas, al cruzar las tierras de propiedad de particulares; y
- g) Los terrenos ganados por causas naturales o por las obras artificiales, al mar, a los ríos, lagos o lagunas, esteros y otros cursos o embalses de agua.

El Poder Ejecutivo determinará las zonas ribereñas o anexas a ellas que deben ser reservadas para la defensa nacional, servicios públicos, de saneamiento, ornato, recreación y otros.

Artículo 6°.- El Estado manejará los incisos f) y g) del Artículo 5°

Las tierras a que se refieren los incisos f) y g) del artículo anterior podrán ser manejadas por el Estado cuando se destinen a fines de Vivienda o de Reforma Agraria. Si se solicitan para otros fines sólo podrán ser objeto de concesión.

Artículo 7°.- Facultades del Poder Ejecutivo

El Poder Ejecutivo podrá:

- a) Reservar aguas para cualquier finalidad de interés público;
- b) Reorganizar una zona, cuenca hidrográfica o valle para una mejor o más racional utilización de las aguas;
- c) Declarar zonas de protección, en las cuales, cualquier actividad que afecte a los recursos de agua, podrá ser limitada, condicionada o prohibida;
- d) Declarar los estados de emergencia a que se refiere la presente Ley;
- e) Autorizar la desviación de aguas de una cuenca a otra que requiera ser desarrollada; y
- f) Sustituir una fuente de abastecimiento de agua de uno o más usuarios, por otra de similar cantidad y calidad, para lograr un mejor o más racional aprovechamiento de los recursos.

Artículo 8°.- Requisitos para la utilización de las aguas

Toda persona, incluyendo las entidades del Sector Público Nacional y de los Gobiernos Locales, requiere permiso, autorización o licencia según proceda, para utilizar aguas, con excepción de las destinadas a satisfacer necesidades primarias.

Artículo 9°.- Necesidad y utilidad pública de los recursos hídricos

Declárese de necesidad y utilidad pública; conservar, preservar e incrementar los recursos hídricos; regularizar el régimen de las aguas obtener una racional, eficiente, económica y múltiple utilización de los recursos hídricos; promover, financiar y realizar las investigaciones, estudios y obras necesarias para tales fines.

Artículo 10°.- Entes encargados de la conservación y preservación

El Ministerio de Agricultura y Pesquería en cuanto a la conservación e incremento, y el Ministerio de Salud en lo que respecta, a la preservación de los recursos hídricos, están obligados a:

- a) Realizar los estudios e investigaciones que fuesen necesarios;
- b) Dictar las providencias que persigan, sancionen y pongan fin a la contaminación, o pérdida de las aguas, cuidando su cumplimiento;
- c) Desarrollar acción educativa y asistencia técnica permanentes para formar conciencia pública sobre la necesidad de conservar y preservar las aguas; y
- d) Promover programas de forestación de cuencas, defensa de bosques, encauzamiento de cursos de agua y preservación contra su acción erosiva.

Artículo 11°.- Medida volumétrica

La medición volumétrica es la norma general que se aplicará en los diversos usos de las aguas, siendo obligatorio que los usuarios instalen los dispositivos de control y medición para su distribución y aprovechamiento adecuados.

Todo sistema destinado a usar aguas debe disponer de las obras e instalaciones necesarias para su medición y control adecuados.

Artículo 12°.- Tarifas para el uso de aguas

Los usuarios de cada Distrito de Riego abonarán tarifas que serán fijadas por unidad de volumen para cada uso. Dichas tarifas servirán de base para cubrir los costos de explotación y distribución de los recursos de agua, incluyendo las del subsuelo, así como para la financiación de estudios y obras hidráulicas necesarios para el desarrollo de la zona.

La Autoridad de Aguas reintegrará a los usuarios que exploten pozos considerados en los Planes de Cultivo y Riego, los gastos de operación y mantenimiento correspondientes.

Artículo 13°.- Ocupación temporal, servidumbres y expropiaciones

Son forzosas las ocupaciones temporales la implantación de servidumbres y las expropiaciones necesarias para el uso, conservación o preservación de las aguas.

Artículo 14°.- Restricciones al uso de aguas

Nadie podrá variar el régimen, la naturaleza o la calidad de las aguas, ni alterar los cauces, ni el uso público de los mismos sin la correspondiente autorización; y en ningún caso, si con ello se perjudica la salud pública o se causa daño a la colectividad o a los recursos naturales o se atenta contra la seguridad o soberanía nacionales. Tampoco se podrá obstruir los caminos de vigilancia, o de obras hidráulicas.

Artículo 15°.- Uso ilegítimo de las aguas

Nadie podrá impedir, alterar, modificar o perturbar el uso legítimo de las aguas, cualquiera que sea el lugar o el fin al que ellas estuviesen destinadas. Esta disposición no es limitativa de las funciones, facultades y acciones que corresponden al Poder Ejecutivo y a las demás Autoridades, en su caso.

Artículo 16°.- Autoridad en materia de aguas

Quienes ejercen autoridad en materia de aguas o control en la ejecución de obras, podrán ingresar a cualquier lugar de propiedad pública o privada, sin necesidad de previa notificación, para cumplir las funciones emanadas de la presente Ley.

Las mismas Autoridades o quienes estén debidamente autorizados por ellas, podrán ingresar también, previa notificación, para el efecto de la realización de estudios u obras.

Excepcionalmente cualquiera podrá ingresar para conjurar o remover un daño o peligro inminente, siempre que las circunstancias justifiquen el hecho practicado y que éste no exceda de los límites indispensables para ello.

Artículo 17°.- Casos de emergencia por escasez, exceso de contaminación u otras causas

En estados declarados de emergencia por escasez, exceso contaminación u otras causas, la Autoridad de Aguas o la Sanitaria, en su caso, dictarán las disposiciones convenientes para que las aguas sean protegidas, controladas y suministradas en beneficio de la colectividad e interés general, atendiendo preferentemente el abastecimiento de las poblaciones y las necesidades primarias.

Artículo 18°.- Utilización de los fondos públicos

El Estado cobrará el valor de las obras de regularización de riego que se ejecuten con fondos públicos, a quienes se beneficien directa o indirectamente con ellas, en las proporciones y condiciones que establezca el Poder Ejecutivo, teniendo en cuenta lo dispuesto en el Art. 195° del Decreto-Ley N°17716 de la Reforma Agraria.

TITULO II DE LA CONSERVACION Y PRESERVACION DE LAS AGUAS

Capítulo I De la Conservación

Artículo 19°.- Funciones de la Autoridad de Aguas

La Autoridad de Aguas dictará las providencias y aplicará las medidas necesarias para evitar la pérdida de agua por escorrentía, percolación, evaporación, inundación, inadecuado uso u otras causas, con el fin de lograr la máxima disponibilidad de los recursos hídricos y mayor grado de eficiencia en su utilización.

Artículo 20°.- Obligaciones del usuario

Todo usuario está obligado a:

- a) Emplear las aguas con eficiencia y economía, en el lugar y con el objeto para el que le sean otorgadas;
- b) Construir y mantener las instalaciones y obras hidráulicas propias en condiciones adecuadas para el uso, evacuación y avenamiento de las aguas;
- c) Contribuir proporcionalmente a la conservación y mantenimiento de los cauces, estructuras hidráulicas, caminos de vigilancia y demás obras e instalaciones comunes, así como a la construcción de las necesarias;
- d) Utilizar las aguas sin perjuicio de otros usos;
- e) No tomar mayor cantidad de agua que la otorgada, sujetándose a las regulaciones y limitaciones establecidas de conformidad con la presente Ley;
- f) Evitar que las aguas que deriven de una corriente o depósito se derramen o salgan de las obras que las deben contener;
- g) Dar aviso oportuno a la Autoridad competente cuando por cualquier causa justificada no utilice parcial, total, transitoria o permanentemente los usos de

aguas otorgados, excepto cuando se trate de alumbramiento de aguas subterráneas no comunes; y

- h) Cumplir con los reglamentos del Distrito de Riego al cual pertenece, así como con las demás disposiciones de las Autoridades competentes.

Artículo 21°.- Deber de la Autoridad de Aguas

La Autoridad de Aguas deberá disponer la modificación, reestructuración o acondicionamiento de las obras o instalaciones que atenten contra la conservación de las aguas, pudiendo modificar, restringir o prohibir el funcionamiento de ellas.

Capítulo II De la Preservación

Artículo 22°.- Prohibiciones

Está prohibido verter o emitir cualquier residuo sólido, líquido o gaseoso que pueda contaminar las aguas, causando daños o poniendo en peligro la salud humana o el normal desarrollo de la flora o fauna o comprometiendo su empleo para con otros usos. Podrán descargarse únicamente cuando:

- a) Sean sometidos a los necesarios tratamientos previos;
- b) Se compruebe que las condiciones del receptor permitan los procesos naturales de purificación;
- c) Se compruebe que con su lanzamiento submarino no se causará perjuicio a otro uso; y
- d) En otros casos que autorice el Reglamento.

La Autoridad Sanitaria dictará las providencias y aplicará las medidas necesarias para el cumplimiento de la presente disposición. Si, no obstante, la contaminación fuere inevitable, podrá llegar hasta la revocación del uso de las aguas o la prohibición o la restricción de la actividad dañina.

Artículo 23°.- Prohibición de vertimiento de residuos

Está prohibido verter a las redes públicas de alcantarillado, residuos con propiedades corrosivas o destructoras de los materiales de construcción que imposibiliten la reutilización de las aguas receptoras.

Artículo 24°.- Autoridad competente para el establecimiento de límites de concentración permisibles

La Autoridad Sanitaria establecerá los límites de concentración permisibles de sustancias nocivas, que pueden contener las aguas, según el uso a que se destinen. Estos límites podrán ser revisados periódicamente.

Artículo 25°.- Suspensión del suministro de aguas

Cuando la Autoridad Sanitaria compruebe la contravención de las disposiciones contenidas en este Capítulo podrá solicitar a la Autoridad de Aguas



la suspensión del suministro, mientras se realizan los estudios o trabajos que impidan la contaminación de las aguas.



TITULO III DE LOS USOS DE LAS AGUAS

Capítulo I Disposiciones Genéricas

Artículo 26°.- Uso de aguas en función al interés social y desarrollo del país

Los usos de las aguas son aleatorios y se encuentran condicionados a las disponibilidades del recurso y a las necesidades reales del objeto al que se destinen y deberán ejercerse en función del interés social y el desarrollo del país.

Artículo 27°.- Orden de prelación en el uso de aguas

El orden de preferencia en el uso de las aguas es el siguiente:

- a) Para las necesidades primarias y abastecimientos de poblaciones;
- b) Para cría y explotación de animales;
- c) Para agricultura;
- d) Para usos energéticos, industriales y mineros, y
- e) Para otros usos.

El Poder Ejecutivo podrá variar el orden preferencial de los incisos c), d) y e) en atención a los siguientes criterios básicos: características de las cuencas o sistemas, disponibilidad de aguas, política hidráulica, planes de Reforma Agraria, usos de mayor interés económico.

Artículo 28°.- Otorgamiento de usos de aguas

Los usos de las aguas se otorgan mediante permiso, autorización o licencias.

Artículo 29°.- Permisos otorgados por la Autoridad de las aguas

Los permisos se otorgarán por la Autoridad de Aguas de la jurisdicción respectiva, exclusivamente sobre recursos sobrantes, supeditados a la eventual disponibilidad de las aguas y en el caso de aguas para agricultura condicionados a determinados cultivos. No serán responsabilidad de dicha Autoridad las pérdidas o perjuicios que pudieran sobrevenir a quien utilizare el permiso, si la cancelación del mismo, por falta de sobrantes, no permitiera alcanzar el objeto para el cual fue solicitado.

*(MODIFICADO)*³

Artículo 30°.- Otorgamiento de autorizaciones

Las autorizaciones se otorgarán **por Resolución de la Dirección Regional respectiva**, serán de plazo determinado y tendrán lugar cuando las aguas se destinen a:

- a) Realizar estudios o ejecutar obras; y
- b) Otras labores transitorias y especiales.

⁴⁷ Por el Artículo 1° del Decreto Legislativo N° 106 del 05.jun.1981.

(MODIFICADO)⁴

Artículo 31°.- Otorgamiento y extinción de licencias

El otorgamiento y extinción de licencias para usos de agua con carácter permanente para todos los fines, se efectuará por Resolución del Director General de Aguas, Suelos e Irrigaciones.

Artículo 32°.- Requisitos para el otorgamiento de uso de aguas

El otorgamiento de cualquier uso de aguas está sujeto al cumplimiento de las siguientes condiciones concurrentes:

- a) Que no impida la satisfacción de los requerimientos de los usos otorgados conforme a las disposiciones de la presente ley;
- b) Que se compruebe que no se causará contaminación o pérdida de recursos de agua;
- c) Que las aguas sean apropiadas en calidad, cantidad y oportunidad para el uso al que se destinarán;
- d) Que no se alteren los usos públicos a que se refiere la presente ley; y
- e) Que hayan sido aprobadas las obras de captación, alumbramiento, producción o regeneración, conducción, utilización, avenamiento, medición y las demás que fuesen necesarias.

Artículo 33°.- Prioridad para el uso de aguas

Cuando se presenten dos o más solicitudes para un mismo uso de agua y el recurso no sea suficiente para atender a todas ellas, se dará prioridad a la que sirva mejor al interés social.

Artículo 34°.- Multiciplicidad en la utilización del agua

Podrán otorgarse dos o más usos de aguas para utilización múltiple siempre que se cumplan los requisitos establecidos en el Art. 32°.

Artículo 35°.- Revocación

Cuando la Autoridad de Aguas revoque determinado uso para servir a otro, que de conformidad con la presente ley, sea preferente, el beneficiario indemnizará al usuario afectado el daño producido.

No habrá lugar a indemnización cuando se trate de abastecimiento de poblaciones.

Artículo 36°.- Restricciones al uso de aguas. Excepciones

Las aguas no podrán utilizarse en usos o lugares distintos de aquellos para los que sean otorgadas, salvo las excepciones establecidas en la presente ley.

Artículo 37°.- Inscripción

⁴⁸ Por el Artículo 1° del Decreto Legislativo N° 106 del 05.jun.1981

Los usos de aguas deberán inscribirse en los registros o padrones respectivos. Tales usos no forman parte de los títulos de dominio de los predios o establecimientos.

Artículo 38°.- Suspensión de los suministros de agua

La Autoridad de Aguas podrá suspender los suministros de agua por el tiempo necesario para la ejecución de los programas destinados a la conservación, mejoramiento o construcción de obras e instalaciones públicas, procurando ocasionar los menos perjuicios.

Capítulo II De los Usos Preferentes

Artículo 39°.- Acceso al uso de agua

La Autoridad de Aguas, conjuntamente con la Sanitaria, podrá disponer lo que más convenga para que el agua como elemento vital sea accesible a todos los seres en la cantidad suficiente para satisfacer sus necesidades primarias. Con tal finalidad, fijará cuando sea necesario, lugares o zonas de libre acceso a las fuentes naturales o cursos artificiales abiertos sin alterarlos y evitando su contaminación.

Artículo 40°.- Uso preferente de las aguas

El Estado otorgará el uso de las aguas preferentemente para fines domésticos y abastecimiento de poblaciones que comprenderá la satisfacción de las necesidades primarias y sanitarias de la población como conjunto humano.

Artículo 41°.- Uso de aguas para cría y explotación de animales

Podrán otorgarse usos de agua para cría y explotación de animales, debiendo procurarse la utilización de aguas subterráneas en granjas, centros o planteles aledaños a poblaciones.

Capítulo III Del Uso para Agricultura

Artículo 42°.- Uso de aguas para agricultura

Podrán otorgarse usos de aguas para Agricultura en el siguiente orden:

- a) El riego de tierras agrícolas con sistemas de regadío existente;
- b) El riego de determinados cultivos con aguas excedentes en tierras agrícolas con sistemas de regadío existente.
- c) Mejorar suelos; e
- d) Irrigación

Artículo 43°.- Regulación de administración de las aguas

La Autoridad de Aguas regulará y administrará los usos de aguas para fines agrícolas en los Distritos de Riego de acuerdo a planes de cultivo y riego

semestrales o anuales. El abastecimiento de cada predio se fijará o reajustará en cada Plan de Cultivo y Riego.

Artículo 44°.- Formulación de los planes de cultivo y riego

La Autoridad de Aguas en coordinación con la Junta de Usuarios y con las Autoridades de la Zona Agraria correspondiente formulará los planes de cultivo y riego teniendo en cuenta las realidades hidrológicas y agrológicas del Distrito; las directivas del Ministerio de Agricultura y Pesquería sobre las preferencias que deban darse a ciertos cultivos dentro de los programas agropecuarios nacional o regional; las solicitudes de los usuarios respecto a los cultivos que más les interese desarrollar; y las posibilidades de crédito y de mercado para los respectivos productos.

Los recursos de aguas subterráneas existentes en los Distritos de Riego serán considerados dentro de los planes de cultivo y riego respectivos.

Artículo 45°.- Preferencia de uso de aguas para agricultura

En los Distritos de Riego donde la extrema insuficiencia o fluctuación de los recursos hídricos no permita atender las demandas de todo el área inscrita en el padrón respectivo, los planes de cultivo y riego considerarán preferentemente:

- a) Los cultivos que signifiquen mayor o más directo beneficio colectivo;
- b) La estructura de riego más eficiente; y
- c) La aptitud de las tierras para los cultivos a que se refiere el inciso a) de este artículo.

Artículo 46°.- Escasez de recursos hídricos

Para casos en que, por escasez de recursos de agua, algunos predios no pudieran implantar cultivos, se establecerá un sistema de indemnización social, con participación de todos los usuarios del respectivo Distrito, a fin de proporcionar los mínimos vitales a los usuarios afectados y resarcirlos de los gastos de preparación de tierras.

Artículo 47°.- Estado de emergencia por escasez

Para cada Valle o Distrito de Riego se fijará la descarga o caudal mínimo debajo del cual será declarado en “estado de emergencia por escasez” para los efectos de lo dispuesto en el Art. 17°, en cuyo caso, se atenderá previamente las necesidades para usos domésticos, abrevadero de ganado, cultivos permanentes y los preferenciales que señale el Ministerio de Agricultura y Pesquería.

Artículo 48°.- Eficiencia en distribución y utilización

Para lograr la mayor eficiencia en la distribución y utilización de las aguas, así como la atención de las demandas del mayor número posible de usuarios, la Autoridad de Aguas está facultada para establecer mitas, quiebras, turnos otros sistemas o formas de reparto, ya sea en cauces naturales o artificiales.

*(MODIFICADO)*⁵

⁵ Por el Artículo Unico del Decreto Ley N° 18735 del 19.ene.1971.

Artículo 49°.- Requisitos para los planes de cultivo y riego

Para ser considerado en los planes de cultivo y riego los interesados deberán cumplir con los siguientes requisitos:

- a) Estar inscritos en el padrón respectivo.
- b) Tener en buenas condiciones la infraestructura de riego de sus predios; y
- c) Acreditar el pago de la tarifa de agua y de las cuotas acordadas o aprobadas por la Autoridad de Aguas.
- d) Acreditar el pago de la última anualidad vencida correspondiente al precio de compra de la unidad adjudicada, cuando se trate de beneficiarios de Reforma Agraria, salvo casos de fuerza mayor.

Artículo 50°.- Limitación a los usos excesivos de las aguas

Cuando por exceso de riego el agua pudiera ocasionar daños a los suelos agrícolas u otras zonas, la Autoridad de Aguas limitará los usos excesivos.

Capítulo IV

De los Usos, Energéticos, Industriales y Mineros

Artículo 51°.- Uso de aguas para generación de energía y otras actividades

Podrán otorgarse usos de agua para la generación de energía y para actividades industriales y minerales, preferentemente para las comprendidas en los planes estatales de promoción y desarrollo.

Artículo 52°.- Dominio del Estado sobre las caídas de agua naturales

Todas las caídas de agua naturales pertenecen al Estado.

Artículo 53°.- Aguas destinadas a la generación de energía

Las aguas destinadas a la generación de energía deberán ser devueltas en el lugar que se señale en la licencia, debiendo el usuario informar a la Autoridad de Aguas en forma detallada la programación de las captaciones y fluctuación de los desagües.

Artículo 54°.- Manejo de los residuos minerales

La Autoridad de Aguas o la Sanitaria exigirá que los residuos minerales sean depositados en áreas especiales o “canchas de relave” dotadas de los elementos necesarios de control y seguridad, o sean evacuados por otros sistemas de manera que se evite la contaminación de las aguas o tierras agrícolas de actual o futura explotación.

Capítulo V

De los Usos

Artículo 55°.- Utilización de las aguas

Podrán otorgarse usos de agua o tramos de ríos y demás cauces naturales, así como áreas de lagos, lagunas y embalses naturales o artificiales o del mar territorial, para destinarse al cultivo o crianza de especies de la flora o fauna acuáticas, preferentemente para las actividades comprendidas en los planes estatales de promoción. Todos estos usos se otorgarán en lugares compatibles

con la seguridad nacional y que no interfieran o perturben los usos públicos, la flotación o navegación.

Artículo 56°.- Curso normal de las aguas

Nadie podrá emplear artificios o sistemas que impidan o dificulten el curso normal de las aguas, la navegación o flotación, así como los que puedan alterar las condiciones de vida en perjuicio de la flora o fauna acuáticas, ni introducir modificaciones en la composición química, física o biológica de las aguas en perjuicio de otros usos.

Artículo 57°.- Otros usos de las aguas

También se podrán otorgar usos de agua o tramos o áreas de embalses o cauces de agua para recreación, turismo o esparcimiento públicos.

Estas licencias se otorgarán en lugares compatibles con la Seguridad Nacional y que no interfieran o perturben los usos públicos.

Artículo 58°.- Pago por el uso de las aguas

El Poder Ejecutivo fijará en cada caso, lo que corresponda pagar por concepto de los usos a que se refiere este Capítulo. Este pago será mínimo cuando no se persigan propósitos de lucro.