



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Ingeniería Industrial

Unidad de Posgrado

**Innovación en el tratamiento y revalorización de  
efluentes de curtiembres por bioconversión microbiana**

**TESIS**

Para optar el Grado Académico de Doctor en Ingeniería Industrial

**AUTOR**

Mg. Mario ALCARRAZ CURI

**ASESOR**

Dr. Jorge Luis INCHE MITMA

Lima, Perú

2023



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Alcarraz, M. (2023). *Innovación en el tratamiento y revalorización de efluentes de curtiembres por bioconversión microbiana*. [Tesis de doctorado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ingeniería Industrial, Unidad de Posgrado]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

---

## Metadatos complementarios

| <b>Datos de autor</b>            |   |
|----------------------------------|---|
| Nombres y apellidos              | Mario Alcarraz Curi   |
| Tipo de documento de identidad   | DNI   |
| Número de documento de identidad | 31159746  |
| URL de ORCID                     | <a href="https://orcid.org/0000-0001-5262-2969">https://orcid.org/0000-0001-5262-2969</a> |
| <b>Datos de asesor</b>           |   |
| Nombres y apellidos              | Jorge Luis Inche Mitma  |
| Tipo de documento de identidad   | DNI   |
| Número de documento de identidad | 07506203  |
| URL de ORCID                     | <a href="https://orcid.org/0000-0002-5887-8591">https://orcid.org/0000-0002-5887-8591</a> |
| <b>Datos del jurado</b>          |   |
| <b>Presidente del jurado</b>     |   |
| Nombres y apellidos              | Olivio Nino Castro Mandujano  |
| Tipo de documento                | DNI   |
| Número de documento de identidad | 07683880  |
| <b>Miembro del jurado 1</b>      |   |
| Nombres y apellidos              | Anacleto Victorio Herrera   |
| Tipo de documento                | DNI   |
| Número de documento de identidad | 18135151  |
| <b>Miembro del jurado 2</b>      |   |
| Nombres y apellidos              | Jorge Leonardo Jave Nakayo  |
| Tipo de documento                | DNI   |
| Número de documento de identidad | 01066653  |
| <b>Datos de investigación</b>    |   |

|  |  |
|--|--|
| Línea de investigación                                 | A.1.2.1. Biorremediación y Bioconversión   |
| Grupo de investigación                                 | Investigación y Desarrollo de Procesos Biotecnológicos Agroindustriales y Ambientales - PROBAA   |
| Agencia de financiamiento                              | Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Vicerrectorado de Investigación y Posgrado. Programa de promoción de tesis de posgrado para docentes de la UNMSM 2017. C17170256a. PTPDOCTO .  |
| Ubicación geográfica de la investigación               | Edificio: UNMSM. Pabellón de Investigación de la facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Bioprocesos Industriales<br>País: Perú<br>Departamento: Lima<br>Provincia: Lima<br>Distrito: Lima Cercado<br>Calle: Av. German Amezaga N° 375 Ciudad Universitaria<br>Latitud: -12.05715<br>Longitud: -77.08341 |
| Año o rango de años en que se realizó la investigación | Julio 2018 - Noviembre 2020  |
| URL de disciplinas OCDE                                | Biología celular, Microbiología<br><a href="https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.01">https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.01</a>   |



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
MAYOR DE SAN MARCOS**

Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA

**UNIDAD DE POSGRADO**

**ACTA DE SUSTENTACIÓN VIRTUAL N°11-UPG-FII-2023**

**SUSTENTACIÓN DE TESIS VIRTUAL PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO  
DE DOCTOR EN INGENIERÍA INDUSTRIAL**

En la ciudad de Lima del día veinticuatro del mes de julio del dos mil veintitrés, siendo las once horas, de forma virtual se instaló el Jurado Examinador para la Sustentación de la Tesis titulada: **“INNOVACIÓN EN EL TRATAMIENTO Y REVALORIZACIÓN DE EFLUENTES DE CURTIEMBRES POR BIOCONVERSIÓN MICROBIANA”**, presentado por el **Mg. MARIO ALCARRAZ CURI** para optar el Grado Académico de Doctor en Ingeniería Industrial.

Luego de la exposición y absueltas las preguntas del Jurado Examinador se procedió a la calificación individual y secreta, habiendo sido **A P R O B A D O** con la calificación de **DIECISIETE (17) MUY BUENO**.

El Jurado recomienda que la Facultad acuerde el otorgamiento del Grado Académico de Doctor en Ingeniería Industrial, al **Mg. MARIO ALCARRAZ CURI**.

En señal de conformidad, siendo las **12:08 horas** se suscribe la presente acta en cuatro ejemplares, dándose por concluido el acto.



**UNMSM**

Firmado digitalmente por CASTRO  
MANDUJANO Olivio Nino FAU  
20148092282 soft  
Motivo: Soy el autor del documento  
Fecha: 24.07.2023 15:12:06 -05:00

**Dr. OLIVIO NINO CASTRO MANDUJANO**  
*Presidente*

**Dr. ANACLETO VICTORIO HERRERA**  
*Miembro*



**UNMSM**

Firmado digitalmente por JAVE  
NAKAYO Jorge Leonardo FAU  
20148092282 hard  
Motivo: Soy el autor del documento  
Fecha: 24.07.2023 15:20:04 -05:00

**Dr. JORGE LEONARDO JAVE NAKAYO**  
*Miembro*

**Dr. JORGE LUIS INCHE MITMA**  
*Asesor*



UNIVERSIDAD NACIONAL  
MAYOR DE SAN MARCOS

Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA

## INFORME DE EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD

1. Facultad de Ingeniería Industrial.
2. Unidad de Posgrado.
3. Autoridad académica: Director (e) de la Unidad de Posgrado.  
Dr. Jorge Luis Inche Mitma.
4. Operador del programa informático de similitudes: Asistente de Tesis de la UPG.
5. Documento Evaluado: Tesis de posgrado para optar el Grado Académico de Doctor en Ingeniería Industrial. Titulado **“INNOVACIÓN EN EL TRATAMIENTO Y REVALORIZACIÓN DE EFLUENTES DE CURTIEMBRES POR BIOCONVERSIÓN MICROBIANA”**.
6. Autor del Documento: Mario Alcarraz Curi.
7. Fecha de recepción del documento: 28/06/2023.
8. Fecha de aplicación del programa de similitudes: 28/06/2023.
9. Software utilizado: Turnitin.
10. Configuración del programa detector de similitudes:
  - a. Excluye textos entrecomillados.
  - b. Excluye cadenas menores a 40 palabras.
  - c. Excluye Índice
11. Porcentaje de similitudes encontradas: Nueve por ciento (09%).
12. Fuentes originales de las similitudes encontradas (Ver informe de originalidad).
13. Sin observaciones.
14. Calificación de originalidad.
  - d. Documento que cumple criterio de originalidad, sin observaciones.
15. Fecha del informe: 03/07/2023.



Firmado digitalmente por INCHE  
MITMA Jorge Luis FAU 20148092282  
soft  
Motivo: Soy el autor del documento  
Fecha: 03.07.2023 17:56:53 -05:00

**Dr. JORGE LUIS INCHE MITMA**  
**Director (e) de la Unidad de Posgrado**

## **Dedicatoria**

A mis padres Celso y Julia

A mi esposa Ruth Teresa y a mis hijos Alvaro y Gabriela



## **Agradecimiento**

A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos,  
a la Unidad de Posgrado de Ingeniería Industrial,  
al Dr. Jorge Luis Inche Mitma, asesor de la tesis  
y a todas las personas e instituciones que aportaron directa e indirectamente  
en la elaboración de la presente tesis.

## INDICE GENERAL

|  |    |
|--|----|
| RESUMEN .....  | x  |
| ABSTRACT .....                                       | xi |
| CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN .....                       | 1  |
| 1.1. Situación problemática .....                    | 1  |
| 1.2. Formulación del problema .....                  | 5  |
| 1.2.1. Problema General .....                        | 5  |
| 1.2.1. Problemas Específicos .....                   | 5  |
| 1.3. Justificación de la investigación .....         | 5  |
| 1.4. Objetivos de la investigación .....             | 7  |
| 1.4.1. Objetivo General .....                        | 7  |
| 1.4.2. Objetivos Específicos .....                   | 8  |
| CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....                     | 9  |
| 2.1. Antecedentes .....                              | 9  |
| 2.2. Marco Epistemológico .....                      | 12 |
| 2.3. Bases teóricas .....                            | 13 |
| 2.3.1 Proceso de Curtido .....                       | 13 |
| 2.3.2 Tratamiento de Aguas Residuales .....          | 17 |
| 2.3.3 Tratamiento Biológicos .....                   | 17 |
| 2.3.4 Tratamiento con Bioconversión Microbiana ..... | 18 |
| 2.4. Glosario .....                                  | 19 |
| CAPÍTULO III. METODOLOGÍA .....                      | 21 |
| 3.1. Hipótesis general .....                         | 21 |
| 3.2. Hipótesis específicas .....                     | 21 |

|   |    |
|---|----|
| 3.3. Identificación de variables .....  | 21 |
| 3.4. Operacionalización .....   | 22 |
| 3.5. Matriz de consistencia .....   | 23 |
| 3.6. Tipo y diseño de investigación .....   | 25 |
| 3.7. Unidad de análisis.....  | 25 |
| 3.8. Población de estudio.....  | 25 |
| 3.9. Tamaño de muestra.....   | 25 |
| 3.10. Selección de la muestra.....  | 26 |
| 3.11. Técnicas de recolección de datos.....   | 26 |
| 3.11.1. Recolección de la muestra .....   | 26 |
| 3.11.2. Caracterización del Efluente inicial de la curtiembre Unión. ....           | 26 |
| 3.11.3. Aislamiento de microorganismos de efluentes de curtiembre.....              | 27 |
| 3.11.4. Recuperación de la materia orgánica.....                                    | 27 |
| 3.11.4.1. Prueba de jarras .....  | 28 |
| 3.11.5. Evaluación de tolerancia a la alcalinidad.....                              | 28 |
| 3.11.6. Adecuación de la materia orgánica al metabolismo microbiano ....            | 29 |
| 3.11.7. Evaluación de la actividad proteolítica y lipolítica .....                  | 30 |
| 3.11.8. Biotransformación de la materia orgánica .....                              | 30 |
| 3.11.9. Determinación de la reducción del potencial contaminante .....              | 30 |
| Evaluación de la reducción del potencial contaminante .....                         | 31 |
| Recuperación de agua del proceso.....   | 31 |
| 3.11.10. Evaluación de la capacidad promotora de crecimiento vegetal<br>(PGPR)..... | 31 |
| 3.11.11. Identificación molecular.....  | 34 |
| CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....  | 45 |
| 4.1. RESULTADOS .....   | 45 |

|  |    |
|--|----|
| 4.1.1. Caracterización del efluente inicial (Pelambre).....  | 45 |
| 4.1.2. Aislamiento de microorganismos a partir de efluentes de la curtiembre Unión .....                           | 47 |
| 4.1.3. Evaluación de tolerancia a la alcalinidad de las cepas aisladas de la curtiembre Unión. ....                | 49 |
| 4.1.4. Evaluación de las actividades proteolíticas y lipolíticas de las cepas aisladas de la curtiembre Unión..... | 52 |
| 4.1.5. Reducción de la materia orgánica .....  | 54 |
| 4.1.6. Reducción del potencial contaminante mediante tratamiento fisicoquímico .....                               | 56 |
| 4.1.7. Adecuación de los efluentes para el tratamiento biológico .....   | 58 |
| 4.1.8. Adecuación de la materia orgánica al metabolismo microbiano para degradación biológica.....                 | 59 |
| 4.1.9. Tratamiento biológico con la cepa N4D en biorreactor .....  | 59 |
| 4.1.10. Evaluación de la reducción del potencial contaminante.....   | 64 |
| 4.1.11. Recuperación de agua de proceso .....  | 69 |
| 4.1.12. Evaluación de las actividades promotoras de crecimiento vegetal  | 70 |
| 4.1.13. Identificación molecular de la cepa N4D.....   | 70 |
| 4.2. DISCUSIONES .....   | 72 |
| 4.2.1. Prueba de hipótesis .....   | 79 |
| CONCLUSIONES .....   | 81 |
| RECOMENDACIONES .....  | 81 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....   | 83 |

## INDICE DE CUADROS

|   |    |
|---|----|
| Cuadro 1. Operacionalización de variables .....   | 22 |
| Cuadro 2. Matriz de consistencia .....  | 24 |
| Cuadro 3. Formulación de medios de cultivo .....  | 30 |
| Cuadro 4. Caracterización de efluentes de pelambre, antes del tratamiento .....   | 45 |
| Cuadro 5. Promedio de los valores fisicoquímicos de los efluentes de pelambre .....   | 46 |
| Cuadro 6. Resumen del análisis estadístico de la evaluación de calidad de agua realizado a los efluentes de los tres procesos de pelambre ..... | 47 |
| Cuadro 7. Aislamiento de microorganismos, a partir de efluentes de curtiembre, en agar TSA, nutritivo y agar curtiembre .....                   | 47 |
| Cuadro 8. Selección de cepas tolerantes a pH 12 .....   | 50 |
| Cuadro 9. Resultado de coagulación para la muestra 1 con serie de volúmenes de coagulante .....   | 54 |
| Cuadro 10. Resultado de coagulación para la muestra 2 con la serie de volúmenes de coagulante .....   | 55 |
| Cuadro 11. Resultado de coagulación para la muestra 3 con la serie de volúmenes de coagulante .....   | 55 |
| Cuadro 12. Resultado de la evaluación del floculante para las tres muestras de efluentes .....  | 56 |
| Cuadro 13. Caracterización de los efluentes después de la coagulación floculación .....   | 56 |
| Cuadro 14- Promedio de valores de la caracterización de efluentes después de la coagulación floculación .....                                   | 57 |
| Cuadro 15. Resumen de porcentaje de remoción de contaminantes en el proceso de floculación – coagulación .....                                  | 57 |
| Cuadro 16. Unidades formadoras de colonias para cada tipo de medio formulado .....  | 58 |
| Cuadro 17. Composición del medio de cultivo para su tratamiento biológico .....   | 59 |

|   |    |
|---|----|
| Cuadro 18. Caracterización de los efluentes después de la biodegradación microbiana .....   | 60 |
| Cuadro 19. Promedio de valores de la caracterización de efluentes después de la biodegradación microbiana .....   | 61 |
| Cuadro 20. Reducción de la concentración de contaminantes en las diferentes etapas secuenciales .....   | 64 |
| Cuadro 21. Porcentaje de remoción de contaminantes al final del proceso .....   | 65 |
| Cuadro 22. Resumen de porcentajes de remoción de contaminantes después del proceso de biodegradación biológica .....  | 65 |
| Cuadro 23. Resumen de porcentajes de remoción de contaminantes después del tratamiento de coagulación - floculación y biodegradación biológica .....  | 67 |
| Cuadro 24. Resultados del análisis de calidad de agua realizado a los tres efluentes producidos en el proceso de pelambre después del tratamiento de descontaminación (Coagulación – floculación y biodegradación biológica). ..... | 67 |
| Cuadro 25. Cinética de crecimiento de la cepa N4E en caldo curtiembre y en biorreactor Applikon a 28°C, pH 11, 400 rpm .....  | 67 |
| Cuadro 26. Recuperación de los sobrenadantes luego del tratamiento fisicoquímico y biológico .....  | 69 |
| Cuadro 27. Resultados de la actividad promotora de crecimiento vegetal ..   | 70 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1. Esquema del proceso de curtido .....  | 16 |
| Figura 2. Ubicación satelital de la curtiembre “Unión” .....  | 27 |
| Figura 3. Comparación de los efluentes respecto a su caracterización .....  | 46 |
| Figura 4. Microorganismos aislados de curtiembre a pH 10 .....  | 49 |
| Figura 5. Tolerancia de microorganismos aislados de curtiembre a pH 11  | 49 |
| Figura 6. Tolerancia de microorganismos aislados de curtiembre a pH 12  | 50 |
| Figura 7. Capacidad de hidrólisis de proteínas de las cepas aisladas de efluentes de curtiembre .....   | 52 |
| Figura 8. Capacidad de hidrólisis de lípidos de las cepas aisladas de efluentes de curtiembre .....   | 52 |
| Figura 9. Capacidad simultánea de hidrólisis de proteínas y lípidos de las cepas aisladas de efluentes de curtiembre.....   | 53 |
| Figura 10. Preparación el biorreactor Sartorius modelo Biostat A para tratamiento biológico del efluente de pelambre .....  | 59 |
| Figura 11. Reducción de la concentración de Na <sub>2</sub> S en las diferentes etapas secuenciales .....   | 61 |
| Figura 12. Reducción de la concentración de sólidos totales en las diferentes etapas secuenciales .....   | 62 |
| Figura 13. Reducción de la concentración de aceites y grasas en las diferentes etapas secuenciales .....  | 62 |
| Figura 14. Variación de pH en las diferentes etapas secuenciales .....  | 63 |
| Figura 15. Reducción de la concentración de DBO <sub>5</sub> en las diferentes etapas secuenciales .....  | 63 |
| Figura 16. Reducción de la concentración de DQO en las diferentes etapas secuenciales .....   | 64 |
| Figura 17. Curva de cinética de crecimiento de la cepa N4E .....  | 68 |
| Figura 18. Aislamiento en placa de la cepa <i>Pseudomonas putida</i> (N4E) en agar curtiembre .....   | 71 |
| Figura 19. Determinación de la prueba de producción de ácido indol acético de la cepa N4E con reactivo Salkowski por triplicado (100 ul de cepa y 300 ul de reactivo) ..... | 71 |

Figura 20. Halos de solubilización de fosfatos en medio Pikovskaya de la cepa N4E ..... 72

Figura 21. Halos de solubilización de fosfatos en medio Pikovskaya de la cepa N4E ..... 72



## RESUMEN

El proceso de producción de cueros en el Perú, por métodos tradicionales, genera grandes volúmenes de efluentes muy complejos y con alto potencial contaminante, cuyo proceso de tratamiento demanda costos significativos que repercuten en las ganancias de las empresas y el no hacerlo expone a una serie de sanciones por el correspondiente sector. La presente investigación tuvo como objetivo desarrollar una nueva alternativa de tratamiento biológico por bioconversión para reducir el potencial contaminante de los efluentes y revalorizar los residuos generados por la curtiembre “Unión”. Para lo cual se eligió el efluente de la etapa de pelambre, fracción del efluente con mayor carga de materia orgánica, antes de que se una y se acompleje con los otros efluentes.

De estos efluentes característicamente alcalinos se aislaron microorganismos tolerantes a pH alcalinos y la capacidad de hidrolizar proteínas y lípidos. Luego de un proceso de coagulación y sedimentación de los efluentes, el sobrenadante fue suplementado para mejorar el crecimiento de la cepa seleccionada (N4E) y permitir la bioconversión de la materia orgánica en biomasa celular y así reducir la cantidad de DBO<sub>5</sub> y su potencial contaminante.

Se determinó a escala de laboratorio que el tratamiento biológico reduce la DBO<sub>5</sub> y la DQO en un 95.68 % y 87.96 % respectivamente, una recuperación de agua del 70% y la cepa utilizada posee buen crecimiento en el efluente produciendo compuestos promotores de crecimiento vegetal. Resultados promisorios como alternativa de tratamiento y revalorización de efluentes.

**Palabras clave:** Bioconversión, Efluente, Tratamiento biológico, Contaminación

## **ABSTRACT**

The leather production process in Peru, by traditional methods, generates large volumes of highly complex effluents with high contaminating potential, whose treatment process demands significant costs that affect the profits of companies, and failure to do so exposes a series of sanctions by the corresponding sector. The objective of this research was to develop a new alternative for biological treatment by bioconversion to reduce the polluting potential of effluents and revalue the waste generated by the “Unión” tannery. For which the effluent from the pellet stage was chosen, the fraction of the effluent with the highest load of organic matter before it is joined and complexed with the other effluents.

From these characteristically alkaline effluents, microorganisms tolerant to alkaline pH and the ability to hydrolyze proteins and lipids were isolated. After a process of coagulation and sedimentation of the effluents, the supernatant was supplemented to improve the growth of the selected strain (N4E) and allow the bioconversion of organic matter into cellular biomass and thus reduce the amount of BOD5 and its contaminating potential.

It was determined on a laboratory scale that biological treatment reduces BOD5 and COD by 95.68% and 87.96% respectively, a water recovery of 70% and the strain used has good growth in the effluent producing plant growth promoting compounds. Promising results as an alternative for treatment and revaluation of effluents.

**Keywords:** Bioconversion, Effluent, Biological treatment, Contamination

## **CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN**

### **1.1. Situación problemática**

La industria del cuero consume en promedio de 10 a 25 m<sup>3</sup> de agua en su procesado y puede generar en promedio de 9 a 21 m<sup>3</sup> de aguas residuales; este flujo varía dependiendo del tipo de tecnología de cada industria. De acuerdo con Nagi et al. (2020), este recurso se utiliza para transportar productos químicos de difusión y en la fase de lavado y extracción de compuestos indeseables del cuero (Peña et al, 2019). En este proceso se generan grandes cantidades de aguas residuales, alterando significativamente la calidad del agua ya que no solo contienen compuestos biodegradables como grasas, proteínas y carbohidratos, sino también compuestos contaminantes como solventes, aditivos y metales pesados tóxicos propios del proceso (Ouassa et al, 2012). Estos problemas han llevado a los gobiernos a aplicar regulaciones más estrictas y promover tratamientos efectivos para reducir el riesgo de contaminación. A lo largo de los años, se han estudiado diversas técnicas para el tratamiento de las aguas residuales de curtiduría, enfocadas en la eliminación de contaminantes, particularmente el cromo. Algunas de estas tecnologías son la coagulación química, la foto degradación, la biodegradación, la adsorción, la ozonización, la electrocoagulación y la ósmosis inversa (da Fontoura et al, 2017); sin embargo, la dificultad de implementarlos está relacionada con el alto consumo de energía, el uso de grandes extensiones de terreno, los altos costos de operación y mantenimiento (Mohd Udaiyappan et al, 2017); del mismo modo, en algunos procesos se generan otros subproductos contaminantes (Crini, G.; Lichtfouse, 2019). Lo anterior ha puesto en marcha diversos procesos biotecnológicos,

entre ellos el uso de microalgas, bacterias y hongos, como alternativas sostenibles y económicamente asequibles (Peña et al, 2019).

El proceso de curtiembre consiste en transformar materia orgánica degradable a un estado no degradable. Para esto, se usan compuestos y aditivos que permiten esta transformación, pero a la vez generan residuos contaminantes tanto para el humano como para el medio ambiente (Urbina-Suarez et al. 2021).

Estas aguas residuales tienen como principales características un color marrón oscuro, un olor característico debido a la presencia de compuestos orgánicos volátiles, carbono orgánico e inorgánico, fósforo (P), compuestos nitrogenados (N) (Genawi, 2020), grasas y otros compuestos altamente contaminantes en determinadas concentraciones, como demanda química de oxígeno (DQO), demanda biológica de oxígeno (DBO), sólidos disueltos totales (TDS), cloruros, sulfatos y metales pesados como el zinc (Zn) y el cromo (Cr), entre otras cosas (Reyes-Serrano et al, 2020).

La contaminación ambiental es un problema importante en la actualidad y afecta las condiciones de vida de las personas. Los países en vías de desarrollo son especialmente afectados por este problema debido a que las industrias que se desarrollan tienen menos posibilidades de realizar un tratamiento adecuado de sus residuos contaminantes, por lo que generan daños al aire, suelo y agua.

Un tipo de contaminantes, los efluentes industriales, son especialmente dañinos para el medio ambiente por características que se explicarán más adelante. Algunas soluciones que pueden aplicarse son:

- 1) Modificar las operaciones y procesos usados en las industrias para disminuir el volumen de efluente liberado y minimizar la toxicidad y carga contaminante, asegurando que se mantenga la calidad de los productos
- 2) Aplicar métodos físicos, químicos y biológicos para reducir los niveles de DBO, DQO, metales pesados, sulfuros, etc.
- 3) Revalorizar los efluentes para recuperar productos con algún tipo de rentabilidad. Esto, además de influir positivamente en disminuir la contaminación, podría ser un incentivo para que las industrias apliquen el tratamiento de sus efluentes (Chamy, 2003).

Si bien en nuestro país existe legislación para el control de los efluentes industriales y de curtiembre, no se lleva a cabo un control estricto en las industrias debido a diversos motivos: falta de presupuesto por parte de las entidades regulatorias, falta de capacidades técnicas o problemas administrativos, entre otros. Las empresas informales, principalmente las pequeñas y medianas, no están registradas y evaden el control, desechando sus efluentes y agravando el problema de la contaminación (Stuart, 1999).

Se han establecido disposiciones que obligan que los efluentes industriales de las empresas cumplan los valores máximos admisibles al ser eliminados en el alcantarillado (Decreto Supremo N°2022-MINAM, DS N°1 021-2009-VIVIENDA y DS 003-2002-PRODUCE). De no cumplirse estos valores, las empresas serían sancionadas con multas o incluso el cierre de la planta.

La industria de curtiembre en el Perú genera problemas de contaminación ambiental de los ríos y lagos debido a la descarga indiscriminada de sus efluentes. Estos desechos que son vertidos tienen la característica de presentar alta concentración de materia

orgánica, sulfuro y cromo. Las principales causas de este problema son el aumento de la industria del cuero, especialmente micro y pequeñas industrias, que no cuentan con el capital suficiente para la instalación de sistemas de tratamientos de sus efluentes (Zárate y Rojas, 1993).

Las industrias procesadoras del cuero, específicamente las curtiembres, vienen mostrando un crecimiento importante en el Perú, tal como consta en los estudios realizados por el ministerio correspondiente; aunque debemos precisar que son las curtiembres clandestinas e informales las que muestran el mayor crecimiento a costa de las formales. Estas industrias, por el tipo de procesamiento y materia prima utilizada, eliminan ingentes cantidades de efluentes cargados de materia orgánica e inorgánica, que al no recibir tratamiento previo y ser eliminados directamente a los desagües urbanos, generan polución y contaminación en los ecosistemas donde son descargados.

Los estudios realizados a escala de laboratorio y piloto, demuestran que el tratamiento de los efluentes, los que se caracterizan por valores altos de la DBO y ST, es factible. Sin embargo, implican costos elevados por la necesidad de equipos e instalaciones, por lo que muchos empresarios lo consideran un gasto innecesario que disminuye la rentabilidad, aunque esto implique daños en el ecosistema y daños directos o indirectos a la empresa.

El problema de la contaminación por las industrias no requiere solamente el control, supervisión y sanción de las empresas, sino el apoyo a la investigación y generación de tecnologías más efectivas y accesibles de tratamiento de efluentes que se adopten por las industrias y se traduzcan en un menor impacto ambiental.

Considerando la problemática expuesta, la presente investigación pretende, mediante el uso de herramientas biotecnológicas, tratar los

efluentes de la industria de curtiembre mediante bioconversión para disminuir su potencial contaminante y mitigar el impacto en nuestros ecosistemas.

## **1.2. Formulación del problema**

### **1.2.1. Problema General**

¿Cómo influye el tratamiento biológico por bioconversión microbiana de efluentes de curtiembres en la reducción de la contaminación y su revalorización?

### **1.2.1. Problemas Específicos**

1. ¿Cuál es la innovación del tratamiento biológico por bioconversión de los efluentes de curtiembre?
2. ¿Cuál es la reducción de la contaminación y su revalorización del tratamiento de efluentes de curtiembre?

## **1.3. Justificación de la investigación**

### **Justificación teórica**

El tratamiento tradicional de los efluentes industriales se realiza por métodos físicos y químicos que tienen por finalidad retirar del efluente la carga orgánica y/o inorgánica luego del cual se procede a su disposición final en algún lugar del ecosistema. Estos tipos de tratamiento si bien reducen la carga contaminante del efluente, simplemente trasladan los contaminantes de un lugar a otro donde ocurrirá el impacto negativo. El tratamiento biológico clásico reduce los contaminantes, pero no los reutiliza

La propuesta que se plantea en el presente proyecto es una innovación al tratamiento biológico mediante la bioconversión de la materia orgánica contaminante en materia de interés industrial con

posibilidad de comercialización a favor de la revalorización del efluente y la minimización de los costos de tratamiento.

### **Justificación práctica**

Si la bioconversión y revalorización de los desechos orgánicos de los efluentes minimizan los costos del tratamiento de los mismos, el empresario tendrá una nueva visión y una nueva alternativa para el tratamiento de los efluentes de su curtiembre; más aún si la bioconversión permite algunos ingresos a la empresa, el tratamiento previo de los efluentes se constituirá en una actividad auto sostenible con la posibilidad de generar nuevos productos auxiliares que optimicen el aprovechamiento integral de la materia prima. Conllevando entonces a los siguientes beneficios:

- Costo mínimo del tratamiento de efluentes  
La bioconversión de la materia orgánica presente en los efluentes a compuestos de interés industrial comercial como proteínas o enzimas permitirá generar fondos económicos que costearán el tratamiento total o parcial de los efluentes.
- Incremento de la productividad de la empresa  
La innovación que plantea la investigación está orientada hacia producción más limpia que disminuirá la cantidad y peligrosidad de los efluentes, asimismo a la recuperación de la materia prima que se pierde en los efluentes. Estas innovaciones conducirán a la reducción de los costos de tratamiento y la valorización de los efluentes a favor de la productividad.
- Aprovechamiento integral de la materia prima  
Las proteínas y lípidos, parte de la materia prima que actualmente se pierde, serán bioconvertidas a nuevas proteínas y/o enzimas de potencial comercialización.



- Liberación de las sanciones de ley por contaminar el medio ambiente

El decreto supremo N° 003-2002-PRODUCE aprueba los valores máximos admisibles de las descargas de aguas residuales no domésticas en el sistema de alcantarillado sanitario. Establece sanciones drásticas y suspensión de servicio a las empresas que infringen los valores máximos admisibles; por lo cual todas las empresas generadoras de efluentes industriales están obligadas a cumplir con las normas.

- Mitigación del impacto ambiental

La reducción del potencial contaminante de los efluentes de curtiembre, por tratamiento biológico, repercutirá en un menor impacto sobre los ecosistemas donde son descargados, cumpliendo de esta manera la empresa con su responsabilidad social.

- Mejoramiento del estatus de la empresa

Toda empresa que desarrolla producción más limpia y cumple con las normas establecidas a favor del medio ambiente es merecedora de certificaciones de buena conducta ambiental, lo cual incrementa su competitividad en el mundo empresarial y la comunidad en general.

## **1.4. Objetivos de la investigación**

### **1.4.1. Objetivo General**

Determinar la influencia del tratamiento biológico por bioconversión microbiana de los efluentes de curtiembres en la reducción de la contaminación y su revalorización

### **1.4.2. Objetivos Específicos**

1. Describir la innovación del tratamiento biológico por bioconversión de los efluentes de curtiembre.
2. Describir la reducción de la contaminación y su revalorización del tratamiento de efluentes de la curtiembre.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

**Mpofu, A. B. et al (2022)** investigaron la Codigestión anaeróbica de efluentes curtiembre, donde estudiaron la viabilidad de la codigestión anaeróbica de los efluentes de la ribera y de la curtiembre pretratada utilizando el protocolo estandarizado de potencial bioquímico de metano (BMP), demostraron la factibilidad de una bioeconomía circular y neta positivo para las operaciones de curtiduría donde 639 mL biogás/gVS (59% CH<sub>4</sub>), 13% y 18% del azufre y nitrógeno de entrada, respectivamente, son recuperables como productos. El proceso también recuperó agua de riego/proceso reutilizable.

**Kannan, R. R. et al. (2022)** Trabajaron en la eliminación de color de aguas residuales de curtiduría utilizando microorganismos tolerantes a la sal en un reactor discontinuo secuencial. La fase de la SBR se observó durante un período de 50 d. Se realizaron experimentos de base estadística para optimizar los parámetros pH, temperatura, concentraciones de inóculo, velocidad de agitación y concentración inicial de los sustratos en el tratamiento de aguas residuales de tenerías por el cultivo mixto derivado de los lodos efluentes de la planta de tratamiento de la curtiduría, en un reactor discontinuo en condiciones aeróbicas. En las condiciones optimizadas, realizaron experimentos con microorganismos tolerantes a la sal como *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus flexus*, *Exiguobacterium homiense* y *Staphylococcus aureus* a varias tasas de carga orgánica, variando la concentración de aguas residuales y tiempo de retención hidráulica para la eliminación del color. Obtuvieron una decoloración máxima del 94% en SBR con el OLR 0.312 kg COD/m<sup>3</sup> d, HRT 5 d para la concentración inicial del sustrato de 1,560 mg COD/L.

**Chauhan, S. et al. (2022)** investigaron respecto a la Mitigación de efluente de curtiduría con generación simultánea de bioenergía mediante pila de combustible microbiana de doble cámara, En este estudio, se fabricó una celda

de combustible microbiana (MFC) de doble cámara para el tratamiento aguas residuales de curtiduría con la producción simultánea de bioenergía. Los efluentes actúan como anolito y una solución electrolítica sintética como catolito. Se aislaron cinco bacterias electroquímicamente activas del biofilm que mostraron homología con *Klebsiella quasipneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Cloacibacterium normanese*, *Bacillus firmus* y *Pseudomonas reactans*, mediante análisis de ADNr 16S. Los estudios fisicoquímicos de las aguas residuales tratadas mostraron una reducción del 88 %, 74 % y 94 % en el nivel de DQO, DBO y TDS, respectivamente. Se estudió la factibilidad técnico-económica del sistema bio-electroquímico para futuras bioprospecciones. El estudio reporta una generación de energía significativa con tratamiento simultáneo de efluente hasta un máximo de ~85%, de forma sostenible y respetuosa con el medio ambiente.

**Okoduwa, S. I et al (2017)** investigaron el tratamiento de efluentes de curtiembre por levaduras. En este estudio, se aislaron *Saccharomyces cerevisiae* y *Torulaspota delbrueckii* y se inocularon en diferentes concentraciones de efluente. Los inoculantes se incubaron durante 21 días para monitorear el desempeño de los aislamientos mediante la medición de la DBO, DQO, nitratos, conductividad, fosfatos, sulfatos y turbidez. Los resultados mostraron que *Saccharomyces cerevisiae* tuvo la mayor disminución porcentual de 98,1%, 83,0%, 60,7%, 60,5% y 54,2% para turbidez, sulfatos, DBO, fosfatos y DQO, respectivamente, de la curtiduría efluente. *Torulaspota delbrueckii* mostró la mayor disminución porcentual de 92,9 %, 90,6 % y 61,9 % para sulfatos, DQO y fosfatos, respectivamente. El estudio reveló que *Saccharomyces cerevisiae* y *Torulaspota delbrueckii* podrían utilizarse en el tratamiento biológico de efluentes de curtiembre. Concluyeron que el uso de estos organismos podría contribuir a minimizar los riesgos ambientales adversos y los peligros para la salud asociados con la eliminación de efluentes de curtiembre sin tratar.

**Boujelben, R. et al (2019)** estudiaron la capacidad del hongo *Aspergillus niger* para reducir la contaminación orgánica y mineral de aguas residuales de curtiembre, así como la toxicidad de dos aguas residuales de la curtiembre, el

pelambre efluente (UE) y el efluente final (FE). La caracterización de efluentes reveló altos niveles de sal ( $CE > 17$  mS/cm) y alto contenido de materia orgánica (25 g/L para la UE y 7,2 g/L para la FE) pero una baja biodegradabilidad ya que la  $DBO_5$  no superó los 2,5 y 1,25 g/L para el UE y el FE, respectivamente. Los resultados del tratamiento biológico mostraron que *A. niger* era capaz no solo de crecer a valores altos de pH y salinidad, sino también de reducir la carga de contaminantes orgánicos y minerales. Después del tratamiento, la reducción de DQO para la UE alcanzó 90% y 70% a  $pH=6$  y al pH inicial (12,13), respectivamente. Para la FE, la disminución de los valores de DQO alcanzó un 75% a  $pH=6$  y un 64% a pH inicial (11,64). El monitoreo de los niveles de contaminación mineral mostró una reducción en las concentraciones de cromo (Cr) llegando al 70% para el FE. Esto se reflejó en un aumento de la biomasa de *A. Niger* de 9,25 g/L (control) a 9,84 g/L para el FE. Para confirmar la eficacia de tratamiento biológico utilizando *A. niger* se realizaron pruebas de fitotoxicidad (semilla de tomate) y microtoxicidad (*Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*). Los resultados de este monitoreo mostraron una importante disminución en los niveles de toxicidad para los efluentes.

**Agustini, C. B et al (2020)** se investigó la posibilidad de usar aguas residuales de curtiembre sin tratar como sustituto del suministro de nutrientes en la codigestión anaeróbica de dos residuos sólidos de curtidurías con respecto a la eficiencia energética, la eficiencia del tratamiento de los residuos y la eficiencia económica. Los resultados mostraron que el uso de aguas residuales de curtiduría como fuente de nutrientes para la DA de los residuos sólidos de curtiduría demostraron ser adecuados. Hubo una producción de biogás de solo  $1,9 \pm 0,3$  mL/VSS. Sin embargo, el porcentaje de metano en el biogás alcanzó el 33 % al inicio del proceso, lo que demuestra que hubo actividad metanogénica y que se estableció la DA. El análisis de costos mostró que existe una gran reducción en el costo de tratamiento de las aguas residuales y disposición de residuos sólidos del 23 % y 18 %, respectivamente, en términos de consumo eléctrico y 11 % y 8 % respectivamente en términos de consumo térmico.

**Klein, R. M. et al (2022)** realizaron un trabajo de investigación respecto a la reutilización de agua en el post-curtido para minimizar el impacto ambiental de este proceso. El objetivo fue evaluar la reutilización de líquidos efluentes en el proceso de post-curtido. La metodología de trabajo consistió en (i) caracterización de corrientes de agua (aguas subterráneas, efluente después del tratamiento primario y líquido efluente después del tratamiento secundario); (ii) pruebas de post-curtido a escala piloto utilizando agua subterránea, efluente y efluente secundario; (iii) caracterización de los baños residuales a partir de ensayos a escala piloto (pH, conductividad, sólidos totales, DQO, DBO, cloruros, dureza y aceites y grasas); y (iv) probar el cuero obtenido para cenizas sulfatadas totales y propiedades organolépticas. Los resultados mostraron que el principal efluente y el secundario efluente podría reutilizarse en pruebas de post-bronceado a escala piloto. Hubo un aumento en la conductividad de los baños residuales cuando el líquido efluente fue reutilizado, lo que confirma la acumulación de sales en el efluente después de su reutilización.

## **2.2. Marco Epistemológico**

La imperiosa necesidad de profundizar en el conocimiento de la gestión de residuos hace imprescindible el saber de la filosofía y epistemología de un tema tan complejo y muy importante en el mantenimiento del equilibrio ambiental. En el transcurso del tiempo muchos de los conceptos han ido evolucionando por tanto las políticas internacionales y regionales también se han visto obligadas a cambiar; aunque la ejecución de estas aún siga siendo un problema muy complejo de aspectos sociales, económicos y culturales. En nuestra región, más del 50% de los residuos corresponden a los orgánicos y como la mayoría no tratados, desencadenan una serie de procesos de contaminación como el efecto invernadero por los gases que se generan; por lo que recomiendan promover la recolección diferenciada y su adecuado tratamiento, asimismo gradualmente se debe prohibir la disposición de los residuos biodegradables y buscar su aprovechamiento no olvidando que en primera instancia, las estrategias deben buscar reducir el volumen de restos de alimentos que se generan (Ambiente, 2018)

Sabino (2021) sostiene que es menester apurar, en países como el nuestro, el cambio hacia una economía circular dado que la mayoría de los residuos municipales aún se destina a disposición final, realidad contradictoria con los principios modernos de prevención y aprovechamiento de la gestión de residuos. Cambiar esta filosofía obsoleta de “usar y tirar” de una economía lineal, demanda un cambio de paradigma hacia una economía circular que debe basarse en pensar y desarrollar productos cuyos residuos puedan ser reutilizados o constituirse en un sustrato secundario para un nuevo proceso industrial, o combustibles para generar energía alternativa, desplazando así a los tradicionales combustibles fósiles. El análisis demuestra la gran posibilidad de una eficiente recuperación de recursos aún presentes en los residuos lo cual depende de las etapas previas del manejo de los residuos. Por lo que es fundamental la adecuación de programas de segregación y recolección por separado y que puedan ser transportados, a los centros de revalorización, en la mayor cantidad posible y con la mejor calidad.

Finalmente dejar sentado el planteamiento del programa de las Naciones Unidas para el medio ambiente (Ambiente, 2018) que las políticas, los programas y los sistemas de gestión de residuos deben compatibilizar con la realidad compleja y particular de cada región, prestando atención al urgente requerimiento de prevenir y mitigar los impactos relacionados con prácticas inadecuadas de gestión, al tiempo que se maximizan los beneficios sobre la salud y el medio ambiente. Para ello es necesario que los gobiernos concedan prioridad política debida a este tema, implementen políticas y estrategias bien diseñadas, soporte institucional pertinente, tecnologías apropiadas, participación social, financiamiento y garantizar su integración y sostenibilidad.

## **2.3. Bases teóricas**

### **2.3.1 Proceso de Curtido**

Consiste en la transformación de la piel animal en cuero, mediante procesos fisicoquímicos, que le confieren características especiales como la resistencia a la degradación biológica (MINSALUD, 2015). Se desarrolla en las siguientes etapas:

**Pre-Tratamiento**

Se pesan y clasifican las pieles por su tamaño y especie. Debido a que presentan residuos de sangre y estiércol, es necesario lavarlas para su limpieza y rehidratación.

**Curado y Desinfectado.**

La piel recién extraída es un medio propicio para el crecimiento de bacterias, por lo que se le debe tratar con agentes o procesos que los inhiban. Se puede utilizar el secado o el salado. El más frecuente es este último, existiendo dos formas: salazón húmeda y el curado en salmuera. Para el curado con salmuera, se colocan las pieles por 16 horas en contenedores con desinfectantes, bactericidas y una solución de sal común.

**Pelambre.**

Con esta etapa se pretende eliminar la epidermis y el pelaje presente; además, se aflojan las fibras de colágeno con el objetivo de prepararlas para el siguiente proceso. Los reactivos usados aquí son el sulfuro de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}$ ) y cal ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ). Para lograr un tratamiento adecuado, se deben mantener las pieles en constante agitación.

**Desencalado.**

El objetivo es la remoción de la cal y el sulfuro mediante lavado que requiere grandes volúmenes de agua; es importante porque evita interferencias con las siguientes etapas. Es necesario la utilización de algunas sustancias químicas como ácidos, sales de amonio, bisulfito de sodio y otros.

**Descarnado.**

Al iniciar esta etapa, la piel aún contiene grasas y carnazas que deben ser retiradas. Se eliminan los tejidos subcutáneos y adiposis de la piel, ya que estos podrían interferir con los reactivos usados en las siguientes fases. Se debe lavar profusamente para eliminar los residuos.

**Desengrasado.**

Para lograrlo se sumerge la piel en soluciones con detergente por un tiempo determinado. El cloruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) es usado para limpiar los poros y eliminar las proteínas de la piel. Este proceso permite lograr una piel homogénea y más elástica.



**Piquelado.**

Aquí ocurre el tratamiento de la piel con ácidos para llevar el pH a un nivel adecuado para las siguientes fases. Principalmente se usa ácido fórmico y sulfúrico. En este proceso se detiene de manera definitiva la actividad enzimática, por lo que actúa como conservante.

**Curtido.**

Se realiza primero el desencalado, que consiste en remover la cal y el sulfuro de la piel mediante lavados. Continúa la purga enzimática, donde se usan proteasas para aflojar la estructura del colágeno. El piquelado consiste en la adición de sales de cromo trivalente en ácido clorhídrico para estabilizar el colágeno y acondicionar la piel para el curtido. Por último, se continúa con el recurtido, neutralización y escurrido mecánico.

**Secado**

En esta etapa, se elimina la humedad del cuero y se producen reacciones químicas que intervienen en su fabricación. Las variables a tener en cuenta son el espesor del cuero y la temperatura del proceso.

**Engrasado.**

Se impregna el cuero con aceites emulsionados (minerales o vegetales) que se depositan en las fibras del cuero. El objetivo es evitar el cuarteamiento y transformarlo en un material suave y flexible. Además, aumenta la impermeabilidad y calidad del mismo

**Planchado y Clasificación.**

Se aplana el cuero para brindarle la textura adecuada, además de brillo o satinado. Se pueden usar máquinas rotativas, de mesa o de prensado, dependiendo de la terminación solicitada.

**Almacenamiento.**

El producto final es almacenado de acuerdo con el tamaño, calidad y color. Se apilan sobre estructuras de madera de superficie plana, en un área ventilada y libre de humedad. Además, son cubiertos para evitarla luz solar.

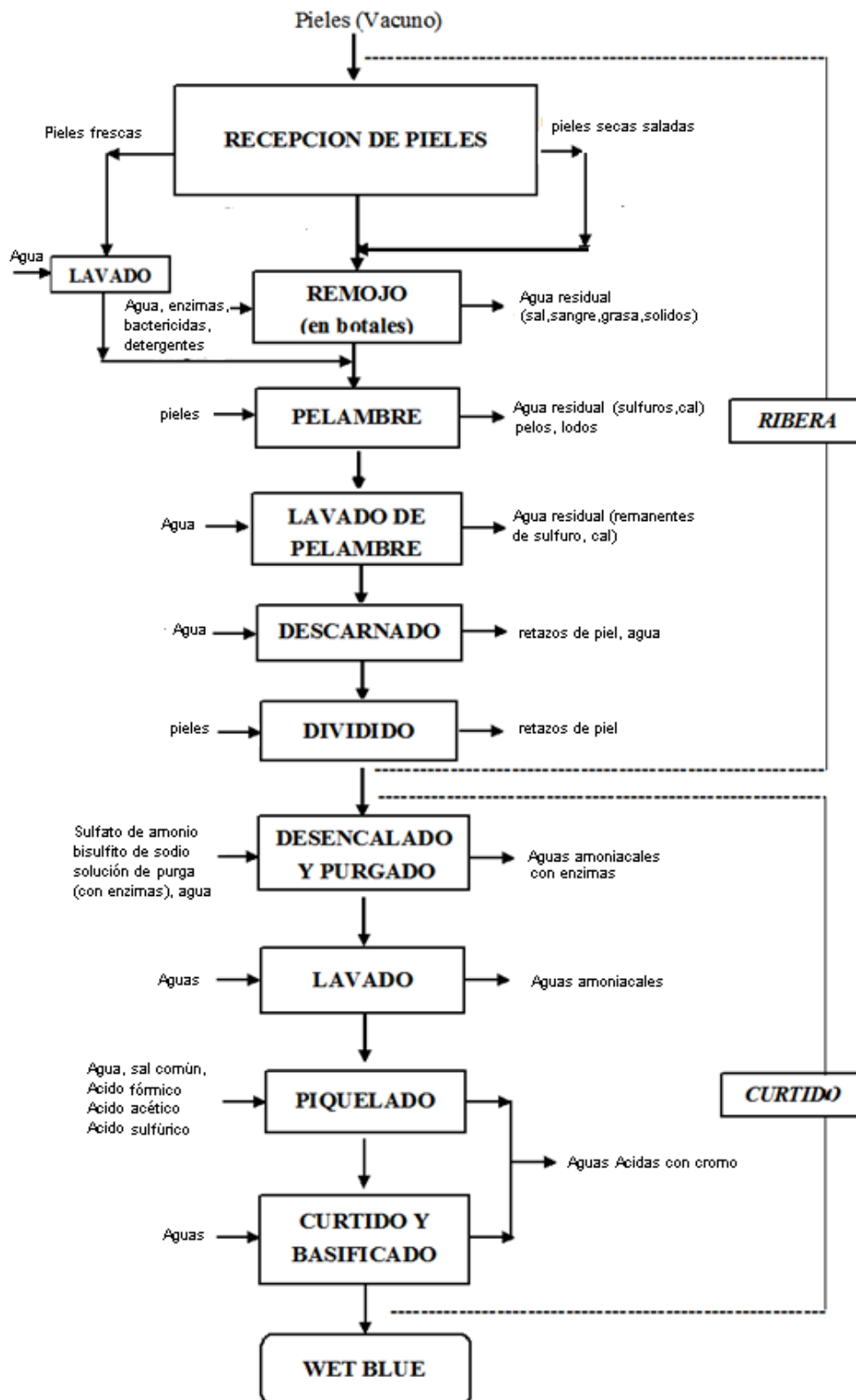


Figura 1. Esquema del proceso de curtido

Fuente: Centro Nacional de Producción más Limpia

### **2.3.2 Tratamiento de Aguas Residuales**

Las aguas residuales consisten en dos componentes, un efluente líquido y un constituyente sólido (lodo). Una forma de tratar las aguas residuales es dejar que estas se asienten en estanques y que el material sólido se deposite en el fondo, luego de lo cual se trata la corriente superior de residuos con químicos para reducir la concentración de contaminantes. Otro método, conocido como tratamiento de lodos activados, aprovecha las bacterias para degradar los compuestos orgánicos. Este método requiere la oxigenación de las aguas para mejorar el crecimiento de los microorganismos. (Reynold, 2002). Las etapas básicas para el tratamiento de son:

1. Pretratamiento: Se remueven por métodos físicos los objetos grandes que puedan causar problemas en el tratamiento posterior.
2. Deposición primaria: Se basa en la sedimentación de partículas sólidas por gravedad.
3. Tratamiento secundario: Consiste en la digestión biológica usando técnicas que aumenten el metabolismo de los microorganismos.
4. Tratamiento terciario: Esta es la etapa de tratamiento químico (precipitación, desinfección, etc.). También puede servir para complementar el tratamiento biológico.

### **2.3.3 Tratamiento Biológicos**

Son una alternativa para el tratamiento de los efluentes que se basa en el uso de microorganismos aeróbicos o anaeróbicos (especialmente bacterias) para la eliminación de compuestos contaminantes del agua. Generalmente se utiliza para eliminar la materia orgánica biodegradable soluble y coloidal, además de compuestos nitrogenados y fosfatados. En este tipo de tratamientos se aprovecha la materia orgánica como sustrato para el crecimiento de los microorganismos; además, la presencia de nutrientes como N y P permite este crecimiento. Otra variable de importancia es el oxígeno disuelto en el agua, lo cual definirá el tipo de proceso a usar (Lawrence, 2008).

La molécula aceptora de electrones tiene un efecto muy importante en el metabolismo microbiano, específicamente durante los procesos de la materia

orgánica. Dependiendo del aceptor de electrones, se pueden mencionar 3 ejemplos:

- **Sistemas aerobios:** Estos sistemas se caracterizan por el uso del O<sub>2</sub> como aceptor de electrones, lo cual permite rendimientos energéticos elevados con el consiguiente crecimiento bacteriano elevado y producción de fangos. Sin embargo, su aplicación es limitada por la baja solubilidad del O<sub>2</sub> en el agua.
- **Sistemas anaerobios:** El aceptor de electrones puede ser el CO<sub>2</sub> o la materia orgánica presente, y se obtiene como producto el metano, el estado más reducido de la molécula de carbono. Utilizando este sistema, se puede generar gas combustible.
- **Sistemas anóxicos:** Estos sistemas, además de la ausencia de O<sub>2</sub>, se caracterizan por la presencia de nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), el cual es usado como aceptor de electrones y convertido, entre otros compuestos, en nitrógeno molecular (N<sub>2</sub>). Este es un compuesto inerte, por lo que puede obtener la eliminación de nitratos.

Estas diferencias brindan distintas posibilidades con respecto a las tecnologías de tratamiento de efluentes y una gran variedad de formas de operación, dependiendo de las características particulares de los efluentes, carga orgánica e incluso el presupuesto.

#### **2.3.4 Tratamiento con Bioconversión Microbiana**

Es el proceso de transformación bioquímica de materia orgánica para originar complejos minerales orgánicos. Este proceso se puede aprovechar para el tratamiento de residuos o efluentes contaminados, especialmente la fracción orgánica de estos. A gran escala, la bioconversión microbiana se logra optimizando las condiciones de crecimiento de los microorganismos y cuantificando las variables pertinentes en el proceso para poder corregir desviaciones con el fin de asegurar el control de calidad del producto final. Es importante definir las variables a medir durante el proceso: pH, Contenido de Aceites y grasas, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, O<sub>2</sub> y temperatura.

## 2.4. Glosario

### **Demanda Bioquímica de Oxígeno**

Es una medida de la cantidad de oxígeno consumida, bajo condiciones de tiempo y temperatura establecidos y controlados, para el metabolismo de materia orgánica mediante microorganismos. Ayuda a cuantificar el grado de contaminación del agua, pues da una medida del contenido de materia biodegradable. Generalmente, el ensayo se realiza a 20 C por 5 días (DBO5)

### **Demanda Química de Oxígeno de aguas residuales**

Es la cantidad de oxígeno necesario para la oxidación química de materia orgánica presente en la muestra utilizando oxidantes inorgánicos bajo condiciones establecidas y controladas de temperatura y tiempo. Se utiliza como oxidante el dicromato de potasio en una solución de ácido sulfúrico concentrado. El sulfato de plata actúa como catalizador y el sulfato mercúrico evita la interferencia de cloruros en la muestra. Generalmente, la DQO es mayor a la DBO, pues también se oxidan compuestos no biodegradables por microorganismos. (Rodríguez, 2007)

### **Sólidos Totales**

Es la materia suspendida y disuelta en el agua. Se obtiene después de evaporar y secar la muestra a 103-105 °C. La porción filtrable representa a los sólidos coloidales totales disueltos y la no filtrable son los sólidos totales en suspensión.

### **Sólidos Sedimentables**

Son los sólidos suspendidos que se sedimentan en el fondo de un recipiente de forma cónica, en un tiempo establecido (p. ej. 10 minutos o 2 horas).

**Revalorización de residuos**

Se refiere a la transformación de residuos para la generación de nuevos productos. Esto contribuye a diversificar tanto los productos ofrecidos por las empresas como sus ingresos. Además, es beneficioso para combatir la contaminación porque disminuye la cantidad de residuos generados (Orozco et al. 2021)

**Biodegradable**

Es la característica de una molécula de ser metabolizada en el ambiente. Generalmente, es degradada por microorganismos (bacterias, hongos, etc.) en un tiempo relativamente corto. La mayor parte de materia orgánica es biodegradable rápidamente; sin embargo, los compuestos xenobióticos difícilmente se biodegradan y son resistentes a la acción de microorganismos.

## **CAPÍTULO III. METODOLOGÍA**

### **3.1. Hipótesis general**

El tratamiento biológico por bioconversión de la materia orgánica de los efluentes de curtiembres influye significativamente en la reducción de la contaminación y su revalorización.

### **3.2. Hipótesis específicas**

- a) El tratamiento biológico por bioconversión de la materia orgánica de los efluentes de curtiembres reduce su potencial contaminante.
- b) El tratamiento biológico por bioconversión de la materia orgánica de los efluentes de curtiembres genera su revalorización

### **3.3. Identificación de variables**

#### **Variable independiente**

- Aplicación del tratamiento biológico por bioconversión microbiana.

#### **Variables Dependientes**

- Reducción de la contaminación y su revalorización

### 3.4. Operacionalización

**Cuadro 1. Operacionalización de variables**

| VARIABLE INDEPENDIENTE                                  | DEFINICIÓN CONCEPTUAL   | DEFINICIÓN OPERACIONAL   | DIMENSIONES                   | INDICADOR  | CRITERIO DE VALORACIÓN                               | VALOR FINAL   |
|---|---|--|-------------------------------|--|--|---|
| Innovación de tratamiento por bioconversión microbiana. | Mejoramiento del tratamiento de los efluentes de curtiembre, mediante la conversión en productos utilizables con participación de microorganismos | Selección y aplicación de microorganismos que transforman los desechos orgánicos de los efluentes en biomasa   | tratamiento biológico         | Inoculación de microorganismos proteolíticos y lipolíticos | Radio de hidrolisis generado                         | Superior a 5mm  |
|   |   |  | bioconversión microbiana      | Crecimiento y desarrollo                                   | UFC/ml.  | Superior a  |
| VARIABLE DEPENDIENTE                                    | DEFINICIÓN CONCEPTUAL   | DEFINICIÓN OPERACIONAL   | DIMENSIONES                   | INDICADOR  | CRITERIO DE VALORACIÓN                               | VALOR FINAL   |
| Reducción de la contaminación y su revalorización       | Disminuir el grado de peligrosidad del efluente y transformarlo en algo útil  | Evaluación del grado de contaminación antes y después del tratamiento mediante la DBO <sub>5</sub> y la determinación de la biomasa de microorganismos promotores de crecimiento generada. | reducción de la contaminación | DBO <sub>5</sub> (Demanda Bioquímica de Oxígeno)           | Disminución de la DBO <sub>5</sub>                   | Menor al establecido en los LMP según Norma técnica peruana |
|   |   |  | revalorización                | Generación de biomasa útil con potencial aplicación        | Mg de biomasa generado por litro de efluente tratado | Superior a 1 mg/L   |



### 3.5. Matriz de consistencia

**Cuadro 2. Matriz de consistencia**

| PROBLEMAS   | OBJETIVOS  | HIPÓTESIS   | VARIABLE INDEPENDIENTE (VI)                            | VARIABLE DEPENDIENTE (VD) | INDICADOR VI  | INDICADOR VD   |
|---|--|---|--|---------------------------|---|--|
| ¿Cómo impacta el tratamiento biológico por bioconversión de la materia orgánica de los efluentes de curtiembres en su potencial contaminante y su revalorización? | Determinar cómo impacta el tratamiento biológico por bioconversión de la materia orgánica de los efluentes de curtiembres en su potencial contaminante y su revalorización | El tratamiento biológico por bioconversión de la materia orgánica de los efluentes de curtiembres impacta favorablemente en su potencial contaminante y su revalorización |  |                           |   |  |
| ¿Cómo impacta el tratamiento biológico por bioconversión de la materia orgánica de los efluentes de curtiembres en su potencial contaminante?                     | Determinar cómo impacta el tratamiento biológico por bioconversión de la materia orgánica de los efluentes de curtiembres en su potencial contaminante                     | El tratamiento biológico por bioconversión de la materia orgánica de los efluentes de curtiembres reduce su potencial contaminante  | Aplicación del tratamiento biológico por bioconversión | Potencial contaminante    | Se aplica (post test)<br><br>No se aplica (pretest) | Na <sub>2</sub> S, sólidos totales, aceites y grasas, DBO <sub>5</sub> y DQO |

|   |  |  |  |                             |                       |                 |
|---|--|--|--|-----------------------------|-----------------------|-----------------|
| ¿Cómo impacta el tratamiento biológico por bioconversión de la materia orgánica de los efluentes de curtiembres en su revalorización? | Determinar cómo impacta el tratamiento biológico por bioconversión de la materia orgánica de los efluentes de curtiembres en su revalorización | El tratamiento biológico por bioconversión de la materia orgánica de los efluentes de curtiembres genera su revalorización | Aplicación del tratamiento biológico por bioconversión | Revalorización del efluente | Se aplica (post test) | Mg de biomasa/L |
|---|--|--|--|-----------------------------|-----------------------|-----------------|

### 3.6. Tipo y diseño de investigación

La investigación es cuasi - experimental, con diseño experimental y enfoque cuantitativo, propone un método de tratamiento biológico de efluente de curtiembre con la finalidad de reducir su potencial contaminante a límites permisibles, según la norma técnica peruana y revalorizar mediante la generación de biomasa de interés industrial.

Diseño experimental para la evaluación de la reducción de potencial contaminante (RPC)

PC<sub>1</sub> X<sub>1</sub> TB X<sub>4</sub>

PC<sub>2</sub> X<sub>2</sub> TB X<sub>5</sub>

PC<sub>3</sub> X<sub>3</sub> TB X<sub>6</sub>

Donde:

PC: proceso de curtiembre, X: Análisis fisicoquímico, TB: tratamiento biológico

Diseño experimental para la evaluación de la producción de biomasa

EPT S CB X

Donde:

EPT: efluente de pelambre tratado, S: suplementación, CB: cultivo microbiano en biorreactor, X: biomasa generada.

### 3.7. Unidad de análisis

Tratamiento de efluentes de curtiembre.

### 3.8. Población de estudio

Efluentes de tres procesos de la curtiembre "Unión"

### 3.9. Tamaño de muestra

Los volúmenes requeridos para la caracterización del efluente (1L), aislamiento de microorganismos (1,5L) y para la bioconversión (1,5 L), haciendo un total de 4 litros de efluente de curtiembre por cada muestreo.

### 3.10. Selección de la muestra

La muestra fue seleccionada por un muestreo simple específicamente del efluente proveniente de la etapa de pelambre.

### 3.11. Técnicas de recolección de datos

#### 3.11.1. Recolección de la muestra

Los efluentes de curtiembre, después de la etapa de pelambre, fueron recolectados en coordinación con el Centro de Innovación Tecnológica del Cuero (CITEccal) en frascos estériles de 5 L. De capacidad y transportadas en recipientes refrigerados inmediatamente al laboratorio de Bioprocesos Industriales para su procesamiento.



**Figura 2. Ubicación satelital de la curtiembre “Union”**

**Fuente: Google Maps**

#### 3.11.2. Caracterización del Efluente inicial de la curtiembre Unión.

Se determinó del efluente crudo la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), la Demanda Química de Oxígeno (DQO), cantidad de Na<sub>2</sub>S, y el pH.

Las muestras fueron analizadas en Envirolab Perú S.A.C. Laboratorio acreditado por el servicio nacional de acreditación.

### **3.11.3. Aislamiento de microorganismos de efluentes de curtiembre**

Se tomaron muestras de los efluentes de la curtiembre “Unión S.A.” en frascos estériles de 1 L. Estos fueron transportados al laboratorio de Bioprocesos Industriales para su caracterización y procesamiento

En simultáneo, se tomaron varias muestras de las biopelículas y costras formadas en las paredes de las canaletas de transporte de aguas residuales de la curtiembre en estudio.

Se realizaron diluciones decimales del efluente (pasando 1 mL de este a tubos con 9 mL de diluyente) hasta conseguir concentraciones de  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$ . Se realizó la diseminación de 100  $\mu$ L en medios no selectivos (agar nutritivo y agar TSA) y selectivos (agar curtiembre). Se realizó una incubación a 28°C y 48 horas, luego de lo cual se procedió al aislamiento de colonias y preparación de ceparios.

De la misma forma se procedió con las muestras sólidas para el aislamiento de microorganismos adaptados a dichos ambientes.

### **3.11.4. Recuperación de la materia orgánica**

Mediante operaciones de floculación – sedimentación, para lo cual se ensayó con agentes de frecuente uso en la industria de curtiembres como Terra Flock GM (coagulante) y el Back Flock RR (floculante)

#### **3.11.4.1. Prueba de jarras**

Se utilizó el método de jarras para obtener la dosificación óptima de coagulantes y floculantes (Schulz, 1990).

- Se llenó un recipiente con efluente de pelambre sin tratamiento previo.
- Se midió 0.8 litros de este líquido y se colocaron en las distintas jarras del equipo.
- Se agregó el coagulante Terra Flock a cada una de las respectivas jarras. Este se agregó cuando el agitador estaba a 180 rpm. Con una jeringa se agregó 1 mL en la primera jarra, 2 mL a la segunda y así sucesivamente hasta la 5ta jarra. A la sexta jarra sirvió como control, por lo que no se le agregaron reactivos
- Al no visualizar cambios, se repitió el ensayo colocando el efluente en las jarras y adicionando coagulante desde 5 ml.
- Luego se realizó el ensayo para el floculante de la misma manera, para lo cual agitamos a 180 rpm por un minuto, adicionamos el floculante y bajamos la agitación a 20 rpm como la mejor dosis a la que forma flóculos.

#### **3.11.5. Evaluación de tolerancia a la alcalinidad**

Todas las cepas aisladas de los efluentes de la curtiembre y de las biopelículas fueron reactivadas en caldo Tripticasa Soya, Luego 100 microlitros de cada una se sembraron en agar curtiembre, utilizando como diluyente el sobrenadante de los procesos de sedimentación. Los medios de cultivo fueron ajustados a tres diferentes pH: 10, 11 y 12.

Se incubaron a 30 °C por 48 horas, y se determinó crecimiento al final de este tiempo.

### 3.11.6. Adecuación de la materia orgánica al metabolismo microbiano

#### Suplementación y formulación de medios de cultivo

Teniendo como base el sobrenadante obtenido de los procesos de floculación-sedimentación, se formularon 12 medios de cultivo cuya diferencia fundamental fue el pH y la suplementación, de acuerdo con el siguiente cuadro.

**Cuadro 3. Formulación de medios de cultivo**

| pH | SUPLEMENTO                                      |   |
|----|---|---|
| 9  | (NH <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> |   |
|    |   | (NH <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> |
|    | Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | (NH <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> |
| 10 | (NH <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> |   |
|    |   | (NH <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> |
|    | Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | (NH <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> |
| 11 | (NH <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> |   |
|    |   | (NH <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> |
|    | Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | (NH <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> |
| 12 | (NH <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> |   |
|    |   | (NH <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> |
|    | Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | (NH <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> |

Se sembraron los microorganismos que mostraron tolerancia a los medios alcalinos, se incubaron a 30°C durante 48 horas y en cada caso se evaluó la presencia de crecimiento microbiano y la densidad.

### **3.11.7. Evaluación de la actividad proteolítica y lipolítica**

Se evaluaron la actividad proteolítica y lipolítica de las cepas con mayor desarrollo en el medio alcalino a pH 12 usando el agar calcio caseinato y tributirina, respectivamente. Se realizó la incubación a 35 °C por 72 horas, luego de lo cual se verificaron y midieron los halos de hidrólisis

### **3.11.8. Biotransformación de la materia orgánica**

#### **Bioconversión microbiana**

Para esta etapa se consideró como sustrato inicial el sobrenadante generado por el coagulante con mejor porcentaje de remoción, al cual se suplementó con  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  al 1% y glucosa al 0.5%, se procedió a la esterilización del medio a 15 libras de presión, 121°C por 15 minutos, al cabo del cual se enfrió a temperatura ambiente y se inoculó con las cepas N3D y la N4E aisladas de los efluentes de la curtiembre seleccionadas como las mejores proteolíticas y lipolíticas respectivamente. Previamente las cepas mencionadas fueron inmovilizadas en soportes porosos de arcilla en un proceso de 48 horas a 30°C con medio TSB.

El proceso se realizó en un biorreactor de tanque agitado de 2.5 litros de capacidad con los siguientes parámetros: temperatura 28°C, pH 12, agitación 180 rpm y 1VVM de aire durante 48 horas.

### **3.11.9. Determinación de la reducción del potencial contaminante**



### **Caracterización del efluente tratado**

Al finalizar el proceso fermentativo en el reactor se colectó una alícuota del efluente y se transportó al laboratorio para la determinación de la DBO del efluente tratado por el método DBO<sub>5</sub> recomendado por la AOAC.

### **Evaluación de la reducción del potencial contaminante**

Al terminar el proceso se cuenta con tres grupos de valores de la DBO: el valor inicial del efluente crudo, el valor después de la coagulación-sedimentación y el valor después de la bioconversión microbiana.

La comparación estadística de estos valores nos permitió determinar la reducción del potencial contaminante.

### **Recuperación de agua del proceso**

Luego del proceso de tratamiento físico químico del efluente se midió y recuperó el sobrenadante que fue sometido a tratamiento biológico del cual se recuperó el sobrenadante y se midió el volumen recuperado.

#### **3.11.10. Evaluación de la capacidad promotora de crecimiento vegetal (PGPR)**

A la mejor cepa con capacidades de proteólisis y lipólisis se sometió a las siguientes evaluaciones para determinar su capacidad de promoción de crecimiento vegetal:

- A. Fijación biológica de N<sub>2</sub>
- B. Producción de fitohormonas
- C. Solubilización de fosfatos

#### **A. Fijación biológica de N<sub>2</sub>**

La fijación de N<sub>2</sub> de las cepas se evaluó por el método indirecto de valoración de ion amonio, utilizando la técnica

colorimétrica de Berthelot (fenol-hipoclorito) (Weatherburn, 1967). Para la cuantificación de nitrógeno amoniacal se cultivó cada cepa en tubos de ensayo de 50 ml de capacidad, con 20 ml de medio de cultivo Burk (Anexo 2) y 20 g l<sup>-1</sup> de sacarosa con 10% (m/v) de suelo rizosférico estéril. Los tubos se incubaron a 28 °C durante 96 horas a 150 rpm. Terminada la incubación se tomaron 5 ml de cada cultivo y se añadieron 5 ml de KCl 2 M, se homogeneizaron y se dejaron en reposo por 1 hora para precipitar, seguidamente se tomaron los caldos libres de suelo y se centrifugaron a 2 000 rpm por 20 minutos. Se recuperó el sobrenadante y se agregaron 0.08 ml de solución alcohólica de fenol al 10% (v/v), 0.08 ml de Nitroprusiato sódico al 0.5% (v/v) y 0.2 ml de solución oxidante (20% de citrato de sodio, m/v; 1% KOH, m/v y 1% de hipoclorito de sodio, v/v 1.5 N). Las soluciones se dejaron reposar por 1 hora y posteriormente se leyó la absorbancia en espectrofotómetro UV/Visible a una longitud de onda de 632.9 nm en el software MetaSpec Pro. Para la estimación de la concentración, se prepararon soluciones de NH<sub>4</sub>Cl en un rango 0.8 - 5.6 mg l<sup>-1</sup> para realizar la curva patrón. Los ensayos fueron por triplicado. Para conocer la concentración neta fijada de nitrógeno se reemplazaron los valores de la absorbancia en la curva patrón estimada, el resultado fue expresado en mg l<sup>-1</sup> de nitrógeno fijado como NH<sub>4</sub>. Se seleccionaron las cepas que presentaron los valores más altos de nitrógeno fijado.

## **B. Producción de ácido indol acético (AIA)**

Las cepas se inocularon en caldo Triptófano (Merck) durante de 72 horas a pH 7 y 28 °C. Posteriormente se centrifugaron a 2000 rpm por 30 minutos y se recuperó 1 ml del

sobrenadante. Seguidamente se agregaron 2 ml del reactivo de Salkowski (4.5 g de  $\text{FeCl}_3$  y 10.8 M de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ; Glickmann y Dessaux, 1995) y se dejó reaccionar por 30 minutos en oscuridad. Para tener mayor agudeza en la detección de AIA se midió la absorbancia en el espectro visible para una muestra de  $30 \mu\text{g ml}^{-1}$  de AIA (HIMEDIA) con 2 ml de reactivo de Salkowski. A partir de los resultados se seleccionó la longitud de onda ( $\lambda$ ) para leer la absorbancia en una curva patrón de AIA con las concentraciones de 5, 10, 15, 25 y  $30 \mu\text{g ml}^{-1}$ . Se seleccionaron las cepas que presentaron los mayores valores de producción de ácido indolacético.

### **C. Solubilización de fosfatos**

Se realizaron pruebas cualitativas de solubilización de fosfatos de las cepas. Los resultados positivos fueron evidenciados por la formación de halos de coloración amarilla alrededor de las colonias debido al viraje a pH ácido. Para ello, se utilizó el agar SMRS-1 (Anexo 2) (Becerra, 2011).

Se inoculó cada cepa en caldo SMRS-1 sin indicador de pH (púrpura de bromocresol), se incubaron a  $28^\circ\text{C}$  y 120 rpm por 24 horas. Se centrifugó a 2500 RPM por 30 minutos recuperando la biomasa y realizando posteriores lavados celulares. La suspensión celular fue ajustada a  $3 \times 10^8$  usando la escala de McFarland (McFarland, 1970). Se inocularon  $10 \mu\text{l}$  en la placa de Petri con medio de cultivo SMRS-1 y se dejó secar la microgota. Como control negativo se inoculó agua destilada estéril. Se incubaron las placas a  $28^\circ\text{C}$  por 5 días- Los halos de solubilización fueron distinguidos visualmente después de la incubación. Todas las pruebas se realizaron por triplicado. Para hallar el índice

de solubilización se siguió la fórmula utilizada por Santana y Vásquez (2002).

$$\text{Índice de solubilización} = \frac{(\text{Diámetro de la colonia} + \text{halo})}{\text{Diámetro de la colonia}}$$

Siendo D: diámetro de la colonia + halo y d: diámetro de la colonia. Se seleccionaron las cepas que presentaron índices de solubilización elevados.

### 3.11.11. Identificación molecular

Para la extracción de ADN se cosechó una biomasa equivalente a 0.5-2 ml de cada cultivo de entre 4 a 6 horas de crecimiento a 30 °C en caldo tripticasa de soya (Merck) y se usó el protocolo modificado de Holmes y Quigley (1981). Se centrifugaron 1.5 ml de cultivo a 13 000 rpm por 5 min, luego se transfirió el *pellet* a 1 ml agua destilada y se incubó por 5 minutos a 100 °C, inmediatamente se congeló a -20°C por 10 minutos. Luego se centrifugó a 13 000 rpm por 10 minutos, se recuperó el sobrenadante en un tubo con dos volúmenes de etanol absoluto frío, se centrifugó nuevamente a 13 000 rpm por 10 minutos, se descartó el sobrenadante y se dejó secar al ambiente para luego resuspender con 20 µl de agua.

Para la amplificación de secuencia 16S rRNA por PCR se estandarizó 5 µl de volumen como el requerido para generar los amplicones mediante PCR de la región 16S rRNA. Se fijaron 30 ciclos para los cebadores 27f (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'), 1492r (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'). Para ello se usó la enzima Taq DNA Polimerasa, y se fijó la temperatura de desnaturalización en 95 °C durante 20 segundos,

temperatura de anillamiento a 55 °C por 30 segundos y la temperatura de extensión a 72 °C por 30 segundos. El producto obtenido fue evaluado por electroforesis en gel de agarosa (1%) y enviado a secuenciar por síntesis en la plataforma ABI 2000 por MacroGen INC. (Korea).

Los cromatogramas se analizaron mediante el software Chromas v 2.6.6 y se compararon las reacciones *forward* y *reverse*. Seguidamente se generó una secuencia consenso entre ambas reacciones. El producto de la reacción fue ingresado a la base de datos BLASTn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>), usando la opción megablast (secuencias más parecidas).

### **3.12. Análisis e interpretación de la información**

Se empleó un diseño completamente aleatorizado (DCA) con 3 tratamientos y 3 repeticiones (tabla N° 1). Se tomaron como tratamientos los procesos 1, proceso 2 y el proceso 3, así mismo, se tomaron tres muestras de cada tratamiento (Proceso) las cuales constituyeron las 3 repeticiones (Muestra 1, Muestra 2 y Muestra 3). Este diseño se utilizó en la caracterización de contaminantes de los efluentes de los tres procesos de pelambre, porcentaje de remoción de contaminantes después del proceso de coagulación-floculación, porcentaje de remoción de contaminantes después del proceso de biodegradación biológica, porcentaje de retención de contaminantes después del proceso combinado de coagulación-floculación y biodegradación biológica y por último en la evaluación final de la calidad de agua de los tres efluentes al final del proceso de descontaminación. Para el estudio de los datos se empleó el análisis de varianza ANOVA con una confiabilidad del 95% y para la comparación de medias se empleó la prueba de Tukey. Para el análisis de todos estos datos se empleó el software estadístico InfoStat.

## CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. RESULTADOS

#### 4.1.1. Caracterización del efluente inicial (Pelambre)

**Cuadro 4. Caracterización de efluentes de pelambre, antes del tratamiento**

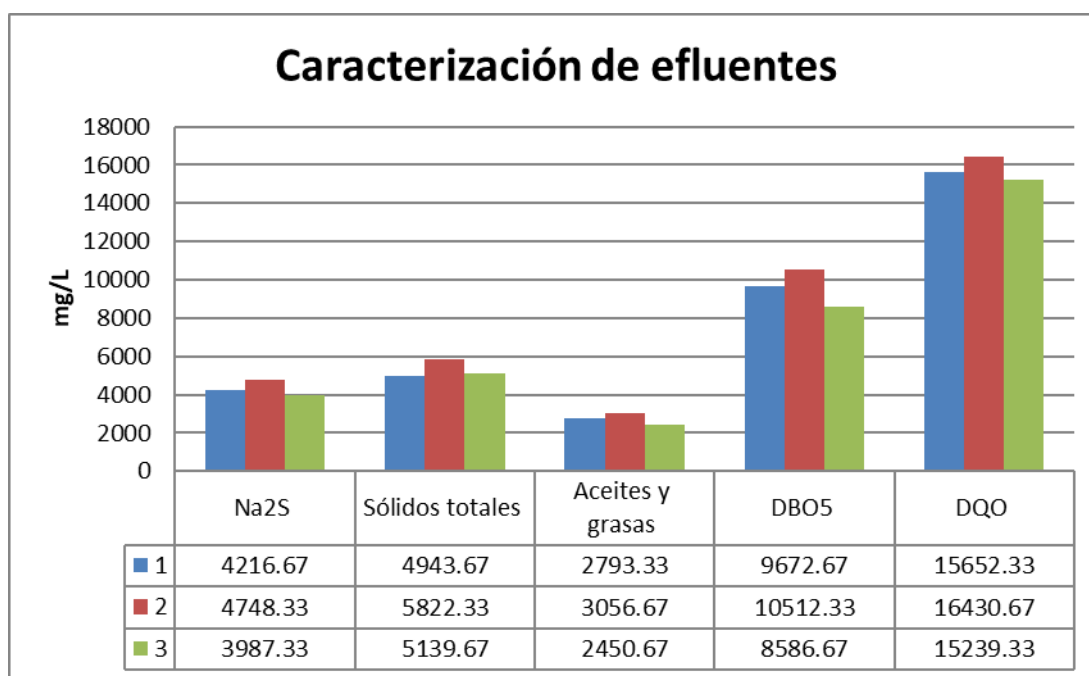
| Nº de muestra | Na <sub>2</sub> S (mg/L) | Sólidos totales (mg/L) | Aceites y grasas (mg/L) | pH   | DBO <sub>5</sub> (mg/L) | DQO (mg/L) |
|---------------|--------------------------|------------------------|-------------------------|------|-------------------------|------------|
| 1             | 4225                     | 4970                   | 2830                    | 11.5 | 9690                    | 15984      |
| 1             | 4210                     | 4896                   | 2750                    | 11.4 | 9643                    | 15143      |
| 1             | 4215                     | 4965                   | 2800                    | 11.5 | 9685                    | 15830      |
| 2             | 4735                     | 5840                   | 3030                    | 11.8 | 10592                   | 16456      |
| 2             | 4760                     | 5801                   | 3090                    | 12   | 10420                   | 16388      |
| 2             | 4750                     | 5826                   | 3050                    | 12   | 10525                   | 16448      |
| 3             | 3980                     | 5129                   | 2448                    | 11.8 | 8570                    | 15180      |
| 3             | 3997                     | 5150                   | 2454                    | 12.1 | 8600                    | 15278      |
| 3             | 3985                     | 5140                   | 2450                    | 11.9 | 8590                    | 15260      |

El cuadro 4 demuestra que los valores de la carga contaminante en los efluentes de pelambre, en las 3 operaciones, con sus correspondientes repeticiones, superan largamente los límites máximos permisibles según la norma peruana (DS 003-2002 PRODUCE). Lo que imposibilita la evacuación directa de dichos efluentes al alcantarillado, sin antes haber realizado un proceso de tratamiento para reducir su potencial contaminante. La evaluación estadística de los muestreos de las 3 operaciones de curtiembre demuestra que no hay diferencia significativa.

**Cuadro 5. Promedio de los valores fisicoquímicos de los efluentes de pelambre**

| N° de muestra | Na <sub>2</sub> S (mg/L) | Sólidos totales (mg/L) | Aceites y grasas (mg/L) | pH           | DBO <sub>5</sub> (mg/L) | DQO (mg/L)      |
|---------------|--------------------------|------------------------|-------------------------|--------------|-------------------------|-----------------|
| 1             | 4216.67                  | 4943.67                | 2793.33                 | 11.47        | 9672.67                 | 15652.33        |
| 2             | 4748.33                  | 5822.33                | 3056.67                 | 11.93        | 10512.33                | 16430.67        |
| 3             | 3987.33                  | 5139.67                | 2450.67                 | 11.93        | 8586.67                 | 15239.33        |
|               | <b>4317.44</b>           | <b>5301.89</b>         | <b>2766.89</b>          | <b>11.78</b> | <b>9590.56</b>          | <b>15774.11</b> |

Al promediar los valores de las 3 operaciones de curtiembre (cuadro 5), se observa la alta carga orgánica que presente el efluente manifiesto en los altos valores de DBO<sub>5</sub> y DQO, 9590.56 mg/L y 15774.11 mg/L respectivamente, superando los límites máximos permisibles.



**Figura 3. Comparación de los efluentes respecto a su caracterización**

La figura 3 ratifica que el mayor componente del efluente de pelambre corresponde a la materia orgánica representada de manera indirecta por el alto valor de la DBO<sub>5</sub>.

**Cuadro 6: Resumen del análisis estadístico de la evaluación de calidad de agua realizado a los efluentes de los tres procesos de pelambre.**

| Nº de muestra    | Na <sub>2</sub> S (mg/L) | Sólidos totales (mg/L) | Aceites y grasas (mg/L) | pH                 | DBO <sub>5</sub> (mg/L) | DQO (mg/L)            |
|------------------|--------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|-----------------------|
| <b>Proceso 1</b> | 4216,67 <sup>b</sup>     | 4943,67 <sup>a</sup>   | 2793,33 <sup>b</sup>    | 11,47 <sup>a</sup> | 9672,67 <sup>b</sup>    | 15652,33 <sup>a</sup> |
| <b>Proceso 2</b> | 4748,33 <sup>c</sup>     | 5139,67 <sup>b</sup>   | 3056,67 <sup>c</sup>    | 11,93 <sup>b</sup> | 10512,33 <sup>c</sup>   | 16430,67 <sup>b</sup> |
| <b>Proceso 3</b> | 3987,33 <sup>a</sup>     | 5822,33 <sup>c</sup>   | 2450,67 <sup>a</sup>    | 11,93 <sup>b</sup> | 8586,67 <sup>a</sup>    | 15239,33 <sup>a</sup> |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

El cuadro 6 muestra el análisis estadístico realizado a los resultados del estudio de calidad de los efluentes producidos en los tres procesos de pelambre. Estos datos muestran una diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre procesos en cada uno de los indicadores de calidad de agua estudiados.

Así mismo se puede observar que los datos obtenidos en este análisis indican que los tres procesos de pelambre superaron los límites máximos permisibles establecidos por el DS 003 – 2002 PRODUCE.

#### 4.1.2. Aislamiento de microorganismos a partir de efluentes de la curtiembre Unión

**Cuadro 7. Aislamiento de microorganismos, a partir de efluentes de curtiembre, en agar TSA, nutritivo y agar curtiembre**

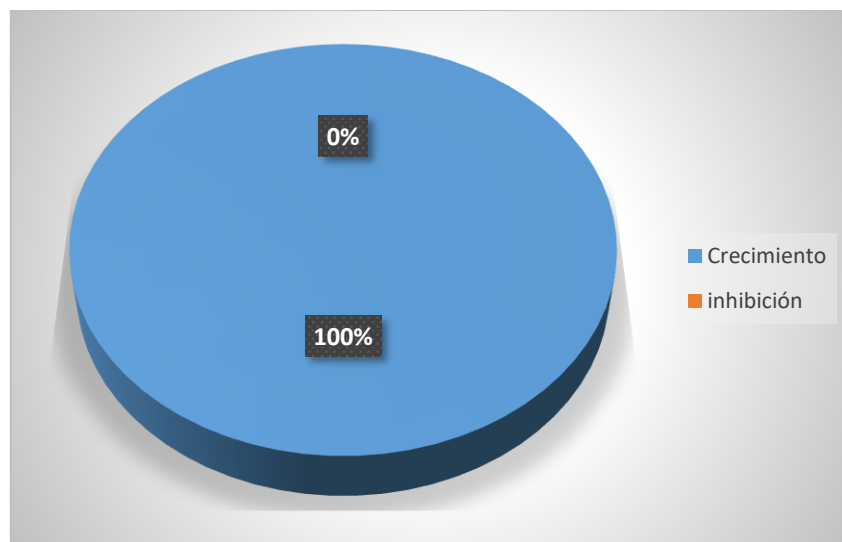
|   | CEPA | CARACTERÍSTICAS CULTURALES   | TINCIÓN GRAM         |
|---|------|--|----------------------|
| 1 | N1A  | Borde radiado plano, crema, opaca, convexa, mucoide                                  | (+); diplococos      |
| 2 | N1B  | Borde circular liso, color salmón, opaca, convexa, mucoide                           | -----                |
| 3 | N1C  | Borde circular liso, plan y translúcido; centro amarillo ligeramente elevado y opaco | (-); cocos           |
| 4 | N1D  | Borde circular liso translúcido, centro crema  | cocos Gram variables |
| 5 | N1E  | Borde radiado, transparente, plano   | (-); cocobacilos     |
| 6 | N1F  | Borde circular, liso; color blanco, costrosa y seca                                  | (-); cocos           |
| 7 | N1G  | Borde filamentosos ramificado, centro con borde                                      | (-); cocos           |



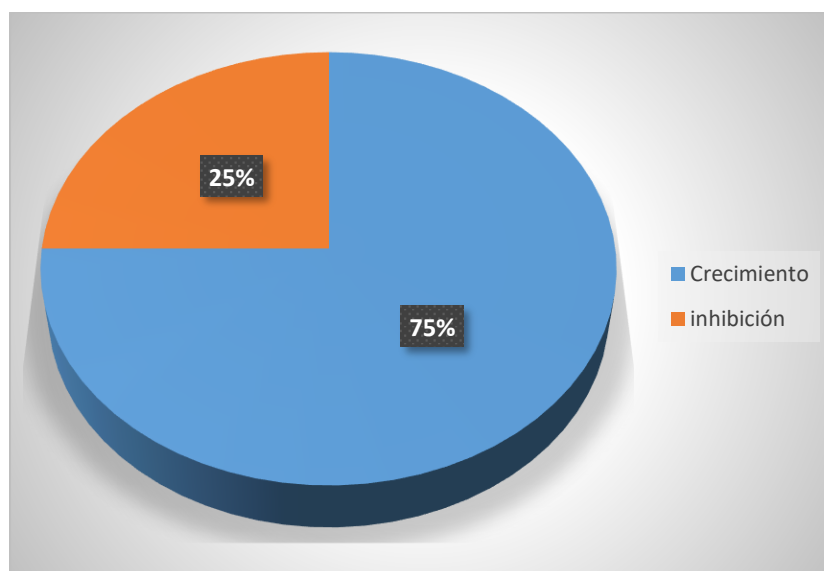
|    |     |  |                              |
|----|-----|--|------------------------------|
|    |     | circular, crema  |                              |
| 8  | N1H | Borde circular liso, transparente, centro anaranjado; convexa, opaca | (-) cocobacilo               |
| 9  | N2A | Borde circular liso; color mostaza, convexa                          | (-) bacilo                   |
| 10 | N2B | Borde irregular, transparente; plana                                 | (+) bacilo                   |
| 11 | N2C | Borde circular, liso; blanca, convexa, opaca                         | (-); cocos                   |
| 12 | N2D | Concéntrica, melón pálido, borde circular                            | (-); diplococos              |
| 13 | N2E | Concéntrica, crema, opaca, borde circular                            | (-); cocos                   |
| 14 | N2F | Melón, umbonada, opaca, borde circular                               | (+) bacilo                   |
| 15 | N2G | Circular, elvada, transparente, borde liso                           | (-) cocobacilo               |
| 16 | N2H | Amarillo pálido, opaca, borde circular liso                          | (-) cocos                    |
| 17 | N2I | Borde circular semiradiado, umbonada, color ámbar, opaca             | (+); estafilococos regulares |
| 18 | M2J | Borde circular liso, transparente, umbonada                          | (+); en pares y en grupos    |
| 19 | N3A | Amarilla, centro oscuro y convexo, borde regular                     | (-); cocos                   |
| 20 | N3B | Borde circular, anaranjado, convexa, opaca                           | (-) cocobacilo               |
| 21 | N3C | Borde circular, liso, umbonada, color salmón                         | (-) bacilo                   |
| 22 | N3D | Circular, borde liso, convexa, color mostaza                         | (-) cocobacilo               |
| 23 | N3E | Borde circular, liso, color crema, mucoide                           | (+); cocos                   |
| 24 | N3F | Borde circular, liso, ámbar, brillante                               | (+); cocos                   |
| 25 | N3G | Borde circular, liso, color amarillo pálido, convexa                 | (-) cocos                    |
| 26 | N3H | Borde irregular, apariencia compleja, opaca                          | (-) cocobacilo               |
| 27 | N3I | Borde circular, liso, opaca, color amarillo pálido                   | (+); cocos                   |
| 28 | N3J | Borde circular, liso, opaca, crema                                   | levadura                     |
| 29 | N3K | Borde circular, liso, pálida, brillante                              | (-) diplococos               |
| 30 | N4A | Amarilla, centro oscuro y convexo, borde regular                     | (-) cocobacilo               |
| 31 | N4B | Borde circular, anaranjado, convexa, opaca                           | (+) cocos                    |
| 32 | N4C | Borde circular, liso, umbonada, color salmón                         | (-) cocobacilo               |
| 33 | N4D | Circular, borde liso, convexa, color blanquecino                     | (-) diplococos               |
| 34 | N4E | Borde circular, liso, color crema                                    | (-) cocobacilo               |
| 35 | N4F | Borde circular, liso, ámbar.   | (+) bacilo corto             |
| 36 | N4H | Borde circular, liso, convexo color amarillo pálido                  | (-) cocobacilo               |

Se aislaron un total de 36 cepas, para lo cual además de los efluentes de pelambre, se muestrearon otros efluentes y biopelículas de las canaletas para efluentes.

#### 4.1.3. Evaluación de tolerancia a la alcalinidad de las cepas aisladas de la curtiembre Unión.



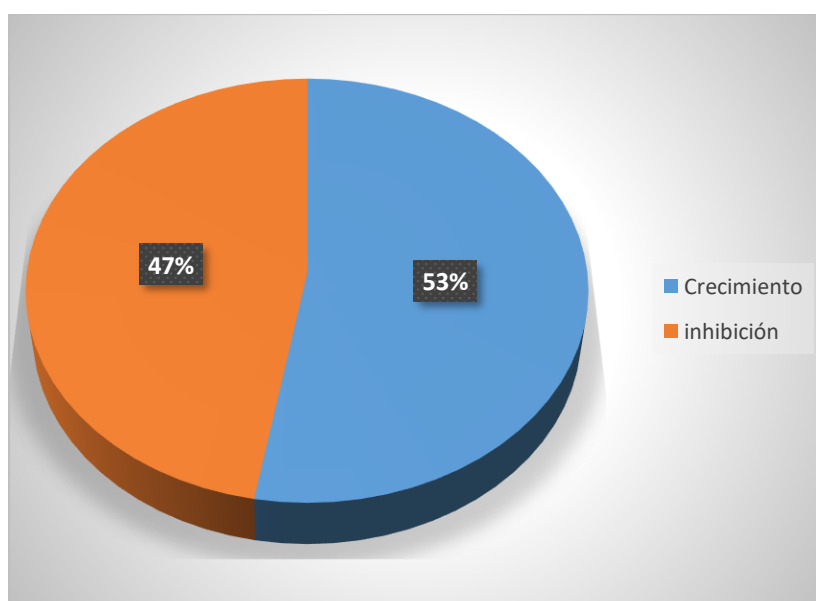
**Figura 4. Tolerancia de microorganismos aislados de curtiembre a pH 10**



**Figura 5. Tolerancia de microorganismos aislados de curtiembre a pH 11**

La figura muestra que el 100% de microorganismos sembrados en agar curtiembre a pH 10 lograron crecimiento, significa que toleran sin mayor inconveniente el grado de alcalinidad.

27 cepas (75%) de las 36 crecieron en agar curtiembre a pH 11, en tanto que 9 cepas (25%) fueron inhibidas.



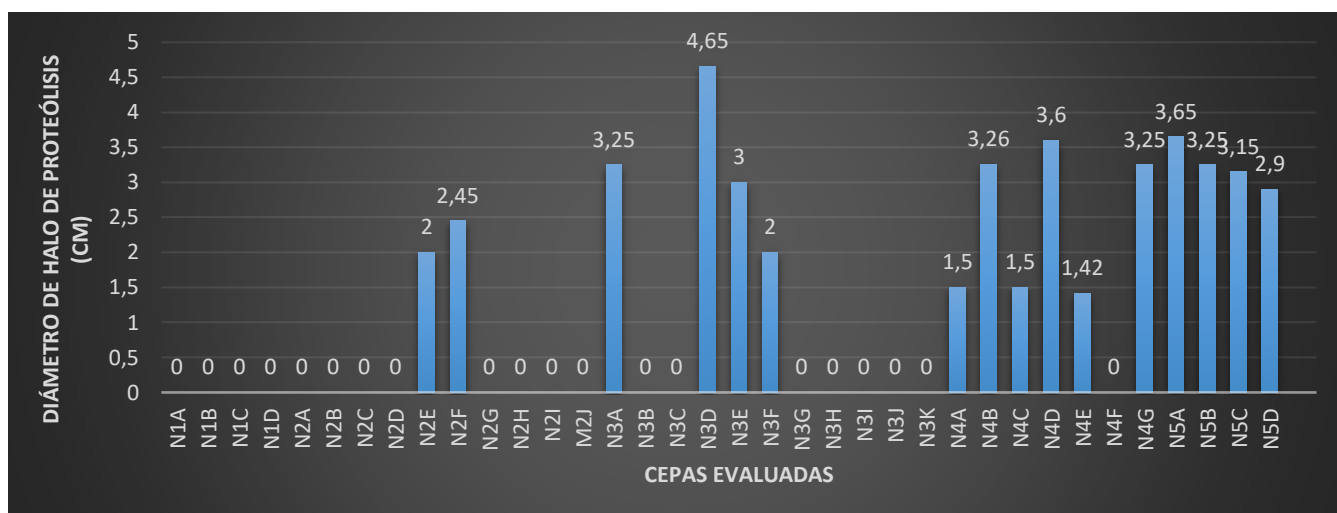
**Figura 6. Tolerancia de microorganismos aislados de curtiembre a pH 12**

19 cepas (53%) lograron crecimiento en agar curtiembre a pH 12, en tanto que 17 cepas (47%) fueron inhibidas.

**Cuadro 8. Selección de cepas tolerantes a pH 12**

| Cepas tolerantes a pH 12 en agar curtiembre |     |    |     |    |     |
|---|-----|----|-----|----|-----|
| 18  | M2J | 24 | N3F | 30 | N4A |
| 19  | N3A | 25 | N3G | 31 | N4B |
| 20  | N3B | 26 | N3H | 32 | N4C |
| 21  | N3C | 27 | N3I | 33 | N4D |
| 22  | N3D | 28 | N3J | 34 | N4E |
| 23  | N3E | 29 | N3K | 35 | N4F |
|   |     |    |     | 36 | N4H |

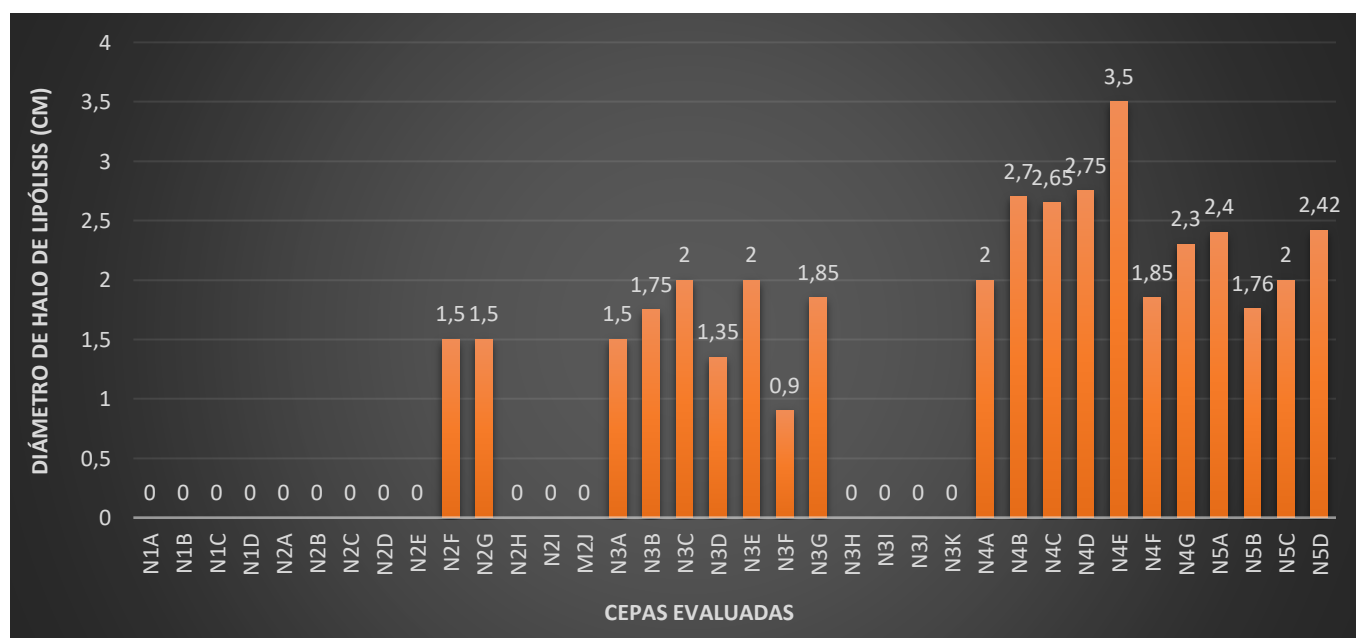
El cuadro 8 muestra a las 19 cepas seleccionadas como tolerantes a pH alcalinos, propio de efluentes de pelambre. Y son las candidatas para el tratamiento biológico.



**Figura 7. Capacidad de hidrólisis de proteínas de las cepas aisladas de efluentes de curtiembre.**

#### 4.1.4. Evaluación de las actividades proteolíticas y lipolíticas de las cepas aisladas de la curtiembre Unión.

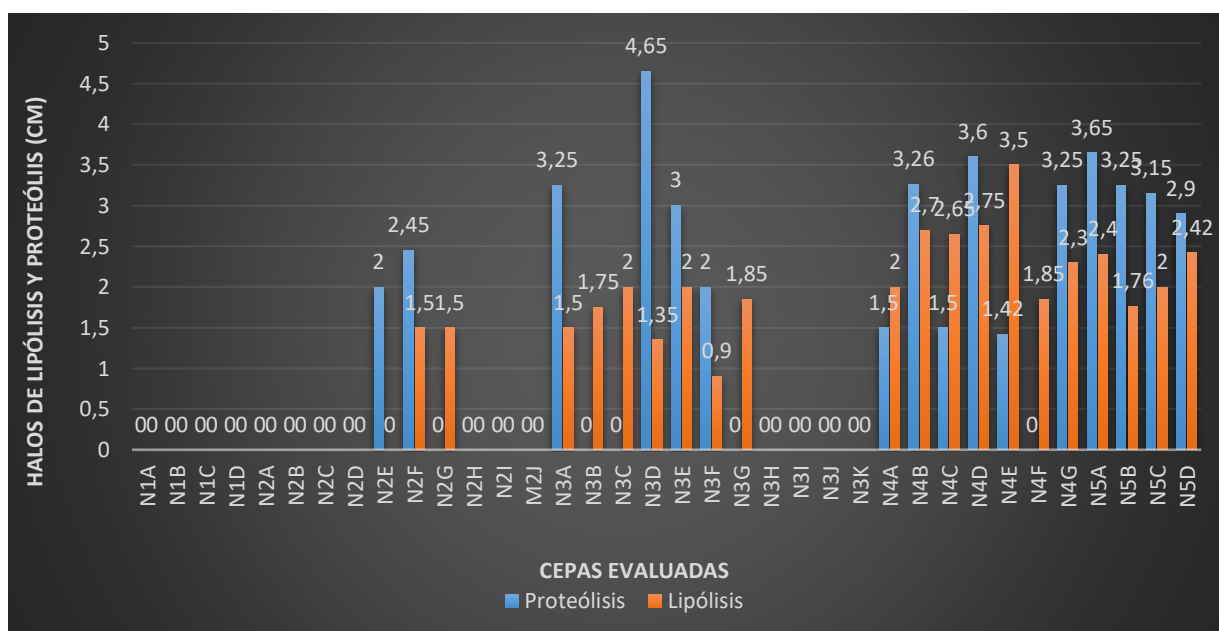
La figura 7 es el resultado de la evaluación de la capacidad enzimática de degradación de proteínas, componente importante del efluente. La cepa N3D es la que muestra mayor actividad proteolítica, característica importante para ser candidata al tratamiento biológico.



**Figura 8. Capacidad de hidrólisis de lípidos de las cepas aisladas de efluentes de curtiembre.**

Los resultados de la gráfica 8 muestra la capacidad proteolítica de las cepas, mediante el cual degradan las proteínas a monómeros simples, si bien varias de ellas resultaron positivas, claramente destaca la cepa N4E por su mayor capacidad de hidrólisis evaluada en agar tributirina a través del diámetro del halo generado.

Esta es una virtud muy importante para la selección de microorganismos como agentes de tratamiento biológico debido a que uno de los componentes de la materia orgánica de los efluentes de pelambre son los lípidos.



**Figura 9. Capacidad simultanea de hidrólisis de proteínas y lípidos de las cepas aisladas de efluentes de curtiembre.**

Varias cepas de estudio poseen las dos actividades enzimáticas en simultáneo, proteólisis y lipólisis, tal como se muestra en la figura 9. Esta es una importante virtud para el tratamiento biológico ya que un mismo microorganismo podría degradar los dos componentes más importantes de la materia orgánica del efluente de pelambre. Los mejores resultados se observan en la cepa N4D, razón por la cual fue seleccionada para el tratamiento biológico del efluente.

#### 4.1.5. Reducción de la materia orgánica

##### 4.1.5.1. Prueba de Jarras

La dosificación inicial del coagulante de 1 - 5 mL, no presentó coagulación; por lo cual se aumentó la dosificación a 5 ml, 10 ml, 15 ml, 20 ml, 25 ml sin obtener un buen resultado. Se continuó aumentando la dosis hasta que se lograron buenos resultados con 35 ml, 36 ml, 37ml, 38ml, 39 ml, quedando como la mejor dosis 38 ml.

**Cuadro 9. Resultado de coagulación para la muestra 1 con serie de volúmenes de coagulante.**

|        | Jarra 1 | Jarra 2 | Jarra 3 | Jarra 4 | Jarra 5 | Control |
|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 35 ml. | +       |         |         |         |         |         |
| 36 ml. |         | ++      |         |         |         |         |
| 37 ml. |         |         | +++     |         |         |         |
| 38 ml. |         |         |         | +++     |         |         |
| 39 ml. |         |         |         |         | +++     |         |

Para la muestra 1 la coagulación se logró con 37 ml. del coagulante Terra Flock GM

**Cuadro 10. Resultado de coagulación para la muestra 2 con la serie de volúmenes de coagulante**

|        | Jarra 1 | Jarra 2 | Jarra 3 | Jarra 4 | Jarra 5 | Control |
|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 35 ml. | +       |         |         |         |         |         |
| 36 ml. |         | +       |         |         |         |         |
| 37 ml. |         |         | ++      |         |         |         |
| 38 ml. |         |         |         | +++     |         |         |
| 39 ml. |         |         |         |         | +++     |         |

Para la muestra 2 la coagulación se logró con 38 ml. del coagulante Terra Flock GM

**Cuadro 11. Resultado de coagulación para la muestra 3 con la serie de volúmenes de coagulante**

|        | Jarra 1 | Jarra 2 | Jarra 3 | Jarra 4 | Jarra 5 | Control |
|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 35 ml. | +       |         |         |         |         |         |
| 36 ml. |         | ++      |         |         |         |         |
| 37 ml. |         |         | +++     |         |         |         |
| 38 ml. |         |         |         | +++     |         |         |
| 39 ml. |         |         |         |         | +++     |         |

Para la muestra 3 la coagulación se logró con 37 ml. del coagulante Terra Flock GM.

Para cada uno de los tres muestreos que se realizó en la investigación, se consideraron tres repeticiones y para la prueba de jarras se homogenizaron en una sola.



**Cuadro 12. Resultado de la evaluación del floculante para las tres muestras de efluentes**

|           | Volumen de floculante |       |       |       |       |        |
|-----------|-----------------------|-------|-------|-------|-------|--------|
|           | 5 ml.                 | 6 ml. | 7 ml. | 8 ml. | 9 ml. | 10 ml. |
| Muestra 1 |                       | +     |       |       |       |        |
| Muestra 2 |                       |       | +     |       |       |        |
| Muestra 3 |                       | +     |       |       |       |        |

Como dosis adecuada del floculante Back Flock RR se consideró los 7 ml. encontrados en la muestra 2. Fue necesario un periodo de 12 horas de sedimentación.

#### 4.1.6. Reducción del potencial contaminante mediante tratamiento fisicoquímico

**Cuadro 13. Caracterización de los efluentes después de la coagulación-floculación.**

| Nº de muestra | Na <sub>2</sub> S (mg/L) | Sólidos totales (mg/L) | Aceites y grasas (mg/L) | pH    | DBO <sub>5</sub> (mg/L) | DQO (mg/L) |
|---------------|--------------------------|------------------------|-------------------------|-------|-------------------------|------------|
| 1             | 156.00                   | 2248.00                | 938.00                  | 10.00 | 1442.00                 | 3848.00    |
| 1             | 160.00                   | 2230.00                | 941.00                  | 10.10 | 1445.00                 | 3849.00    |
| 1             | 163.00                   | 2250.00                | 940.00                  | 10.00 | 1444.00                 | 3850.00    |
| 2             | 151.00                   | 3098.00                | 830.00                  | 11.60 | 1486.00                 | 4109.00    |
| 2             | 153.00                   | 3109.00                | 827.00                  | 11.50 | 1492.00                 | 4114.00    |
| 2             | 150.00                   | 3100.00                | 830.00                  | 11.60 | 1494.00                 | 4117.00    |
| 3             | 228.00                   | 1392.00                | 871.00                  | 11.30 | 1598.00                 | 7438.00    |
| 3             | 229.00                   | 1387.00                | 868.00                  | 11.30 | 1590.00                 | 7430.00    |
| 3             | 230.00                   | 1390.00                | 870.00                  | 11.40 | 1593.00                 | 7436.00    |

Terminado el proceso de sedimentación se procedió a la decantación del sedimento formado y a la caracterización química del sobrenadante. En el cuadro 13 se puede observar que hay una disminución significativa en la concentración de todos los componentes contaminantes del efluente.

**Cuadro 14. Promedio de valores de la caracterización de efluentes después de la coagulación-floculación.**

| Nº de muestreo  | Na <sub>2</sub> S (mg/L) | Sólidos totales (mg/L) | Aceites y grasas (mg/L) | pH           | DBO <sub>5</sub> (mg/L) | DQO (mg/L)     |
|-----------------|--------------------------|------------------------|-------------------------|--------------|-------------------------|----------------|
| 1               | 159.67                   | 2242.67                | 939.67                  | 10.03        | 1443.67                 | 3849.00        |
| 2               | 151.33                   | 3102.33                | 829.00                  | 11.57        | 1490.67                 | 4113.33        |
| 3               | 229.00                   | 1389.67                | 869.67                  | 11.33        | 1593.67                 | 7434.67        |
| <b>Promedio</b> | <b>180.00</b>            | <b>2244.89</b>         | <b>879.44</b>           | <b>10.98</b> | <b>1509.33</b>          | <b>5132.33</b> |

En el cuadro que precede se puede notar en promedio la reducción de los componentes contaminantes del efluente de pelambre, luego de la coagulación, floculación y sedimentación. Resalta claramente que la DBO<sub>5</sub> ha disminuido hasta 1509.33 mg/L, lo cual indica una disminución de la materia orgánica. Importante señalar la disminución de la cantidad de sulfuro (Na<sub>2</sub>S) un contaminante de cuidado en el ecosistema.

***Cuadro 15. Resumen del porcentaje de remoción de contaminantes en el proceso de floculación – coagulación.***

| Nº de muestra    | Porcentaje de remoción de contaminantes (%) |                    |                    |                    |                    |                    |
|------------------|---|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                  | Na <sub>2</sub> S                           | Sólidos totales    | Aceites y grasas   | pH                 | DBO <sub>5</sub>   | DQO                |
| <b>Proceso 1</b> | 96,21 <sup>b</sup>                          | 54,63 <sup>b</sup> | 66,36 <sup>b</sup> | 12,49 <sup>b</sup> | 85,08 <sup>b</sup> | 75,40 <sup>b</sup> |
| <b>Proceso 2</b> | 96,81 <sup>c</sup>                          | 46,72 <sup>a</sup> | 72,88 <sup>c</sup> | 3,06 <sup>a</sup>  | 85,82 <sup>c</sup> | 74,97 <sup>b</sup> |
| <b>Proceso 3</b> | 94,26 <sup>a</sup>                          | 72,96 <sup>c</sup> | 64,51 <sup>a</sup> | 5,02 <sup>a</sup>  | 81,44 <sup>a</sup> | 51,21 <sup>a</sup> |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

El cuadro 15 muestra el análisis estadístico que se realizó a tres efluentes producidos en tres procesos de pelambre sometidas a un mismo proceso de Floculación – coagulación. Estos datos muestran diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los porcentajes de retención de contaminantes para cada indicador de calidad en cada proceso de pelambre estudiado.

Los porcentajes de retención de contaminantes en indicadores de calidad como  $\text{Na}_2\text{S}$ , Aceites y grasas y  $\text{DBO}_5$  están relacionados de manera directa con la cantidad de contaminantes al inicio del proceso. Por otro lado, indicadores como sólidos totales, pH y DQO no presentaron relación con la cantidad de contaminantes al inicio del proceso.

#### 4.1.7. Adecuación de los efluentes para el tratamiento biológico

De los 4 medios de cultivo formulados para la evaluación del tratamiento biológico, resultó como mejor el medio 03 ya que permitió el desarrollo de mayor densidad poblacional microbiana.

***Cuadro 16. Unidades formadoras de colonias (cepa N4D) para cada tipo de medio formulado.***

| MEDIO | PH | SUPLEMENTACIÓN               | UFC/mL          |
|-------|----|------------------------------|-----------------|
| 1     | 9  | $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ | $2 \times 10^4$ |
| 2     | 10 | $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ | $3 \times 10^2$ |
| 3     | 11 | $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ | $2 \times 10^5$ |
| 4     | 12 | $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ | $2 \times 10^2$ |

Sin embargo, para optimizar el crecimiento de la mejor cepa seleccionada por sus virtudes proteolíticas y lipolíticas (N4D), se evaluó la adición de pequeñas cantidades de glucosa grado industrial al medio 3 resultando la concentración 0.5% la elegida ya que es la concentración menor que permite desarrollar una cinética de crecimiento adecuada.

#### 4.1.8. Adecuación de la materia orgánica al metabolismo microbiano para degradación biológica.

El diseño y formulación del medio de cultivo resultó con la siguiente composición:

#### **Cuadro 17. Composición del medio de cultivo para su tratamiento biológico.**

| Composición del medio                           |        |
|---|--------|
| Efluente del tratamiento fisicoquímico          | 98.50% |
| Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 1.00%  |
| Glucosa   | 0.50%  |
| pH  | 11.00% |

#### 4.1.9. Tratamiento biológico con la cepa N4D en biorreactor



**Figura 10. Preparando el Biorreactor Sartorius modelo Biostat A para el tratamiento biológico del efluente de pelambre.**

**Cuadro 18. Caracterización de los efluentes después de la biodegradación microbiana.**

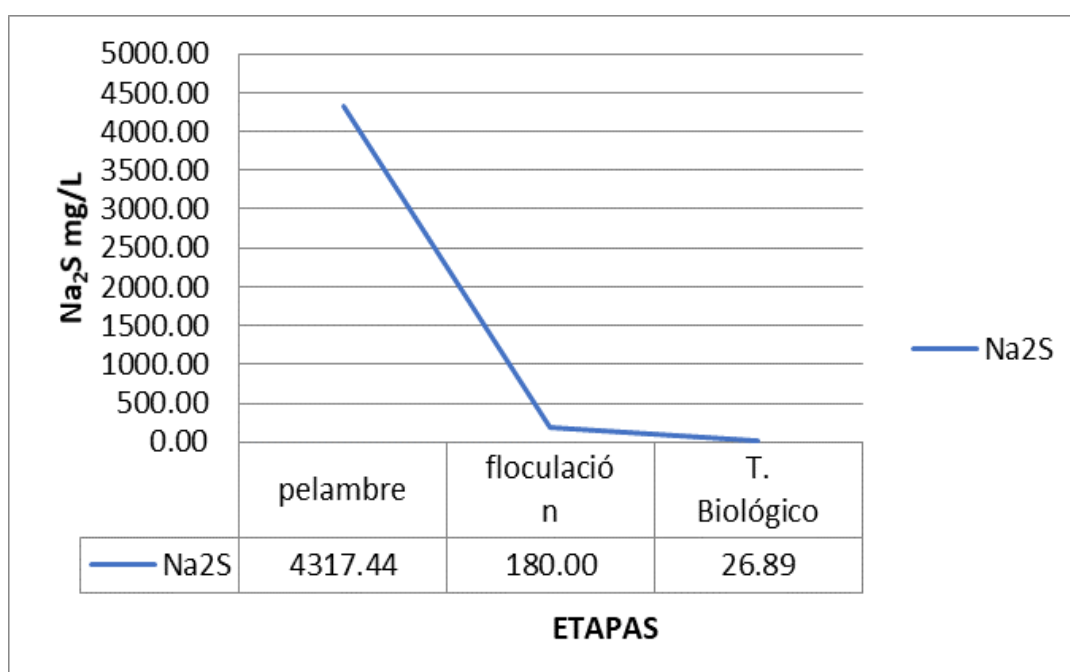
| Nº de muestra | Na <sub>2</sub> S (mg/L) | Sólidos totales (mg/L) | Aceites y grasas (mg/L) | pH  | DBO <sub>5</sub> (mg/L) | DQO (mg/L) |
|---------------|--------------------------|------------------------|-------------------------|-----|-------------------------|------------|
| 1             | 24                       | 300                    | 181                     | 7.8 | 470                     | 2692       |
| 1             | 25                       | 300                    | 178                     | 7.7 | 471                     | 2692       |
| 1             | 25                       | 301                    | 185                     | 7.8 | 471                     | 2692       |
| 2             | 36                       | 400                    | 145                     | 8.1 | 398                     | 1722       |
| 2             | 35                       | 402                    | 150                     | 8.2 | 390                     | 1725       |
| 2             | 36                       | 403                    | 154                     | 8.2 | 399                     | 1727       |
| 3             | 19                       | 428                    | 95                      | 7.9 | 370                     | 1284       |
| 3             | 22                       | 425                    | 97                      | 7.7 | 377                     | 1280       |
| 3             | 20                       | 428                    | 98                      | 7.9 | 379                     | 1282       |

Los resultados presentados en el cuadro 18 muestran los valores de cada componente del efluente de pelambre después del tratamiento biológico, llevado a cabo con la cepa N4D. El proceso se realizó en un biorreactor de tanque agitado de 2.5 litros de capacidad con los siguientes parámetros: temperatura 28°C, pH 12, agitación 180 rpm y 1VVM de aire durante 48 horas.

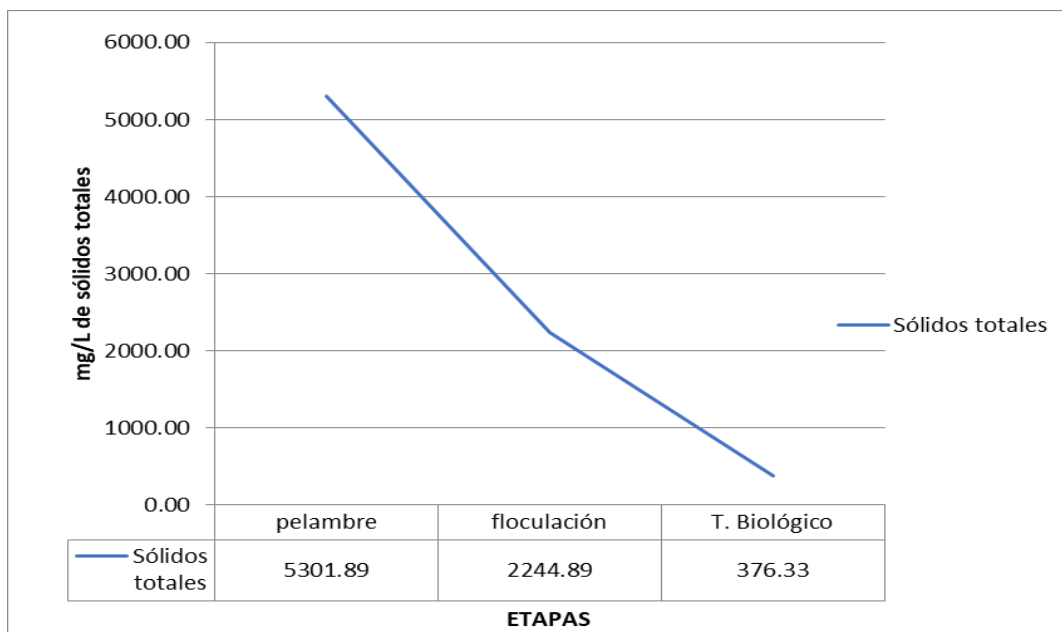
Se aprecia la reducción significativa de cada uno de los componentes, principalmente de la DBO<sub>5</sub>, DQO y Na<sub>2</sub>S que comparados con los límites máximos permisibles de la norma peruana estarían en el rango aceptable.

**Cuadro 19. Promedio de valores de la caracterización de efluentes después de la biodegradación microbiana**

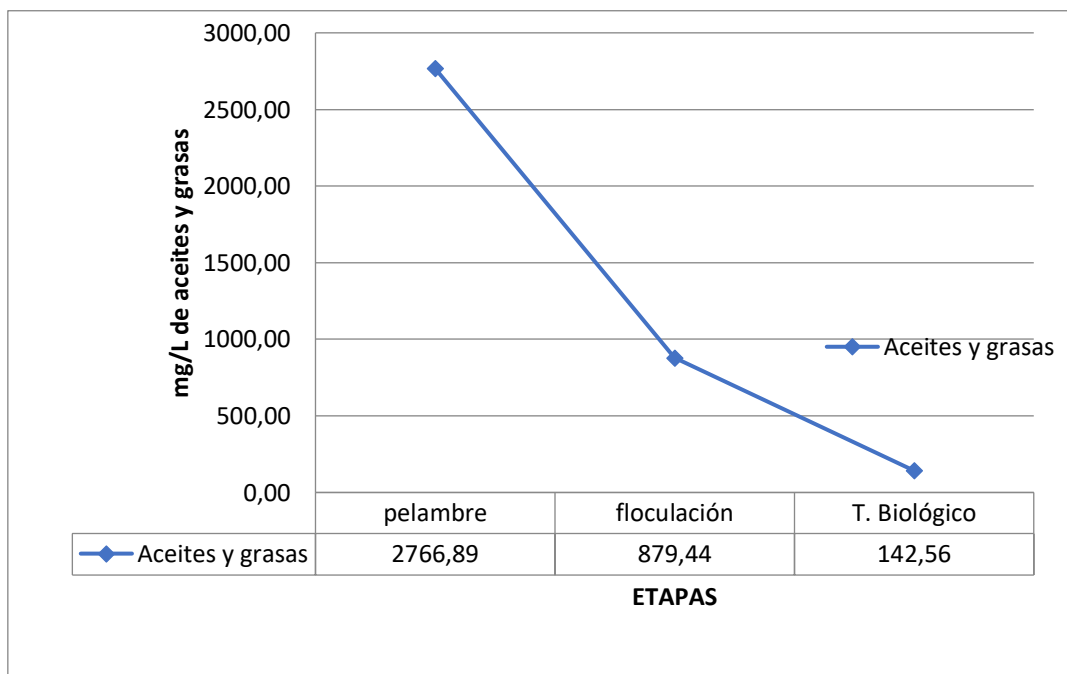
| Nº de muestreo  | Na <sub>2</sub> S (mg/L) | Sólidos totales (mg/L) | Aceites y grasas (mg/L) | pH          | DBO <sub>5</sub> (mg/L) | DQO (mg/L)     |
|-----------------|--------------------------|------------------------|-------------------------|-------------|-------------------------|----------------|
|                 | 24.67                    | 300.33                 | 181.33                  | 7.77        | 470.67                  | 2692.00        |
|                 | 35.67                    | 401.67                 | 149.67                  | 8.17        | 395.67                  | 1724.67        |
|                 | 20.33                    | 427.00                 | 96.67                   | 7.83        | 375.33                  | 1282.00        |
| <b>Promedio</b> | <b>26.89</b>             | <b>376.33</b>          | <b>142.56</b>           | <b>7.92</b> | <b>413.89</b>           | <b>1899.56</b> |



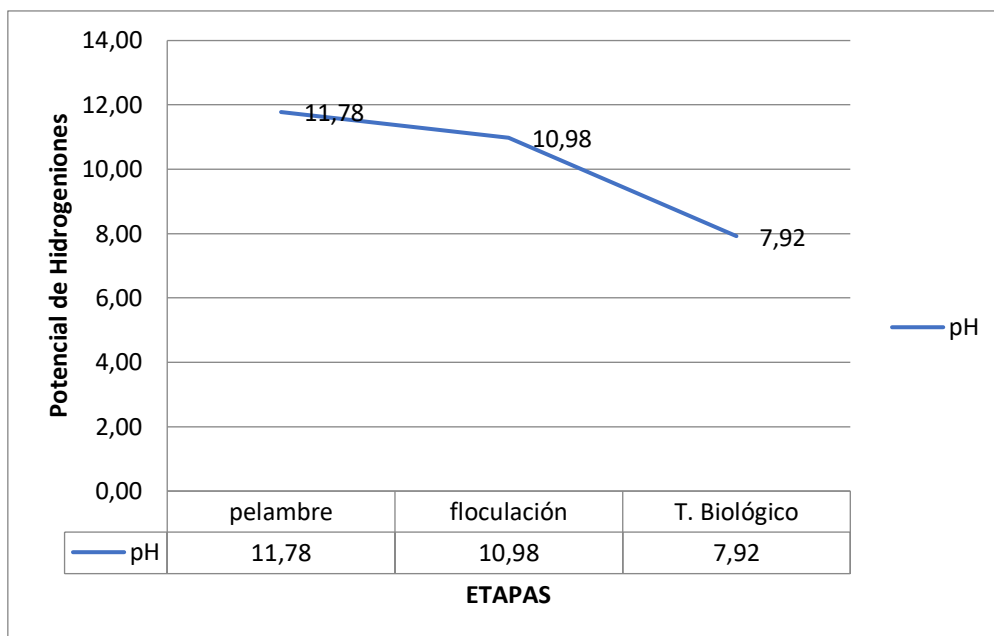
**Figura 11. Reducción de la concentración de Na<sub>2</sub>S en las diferentes etapas secuenciales.**



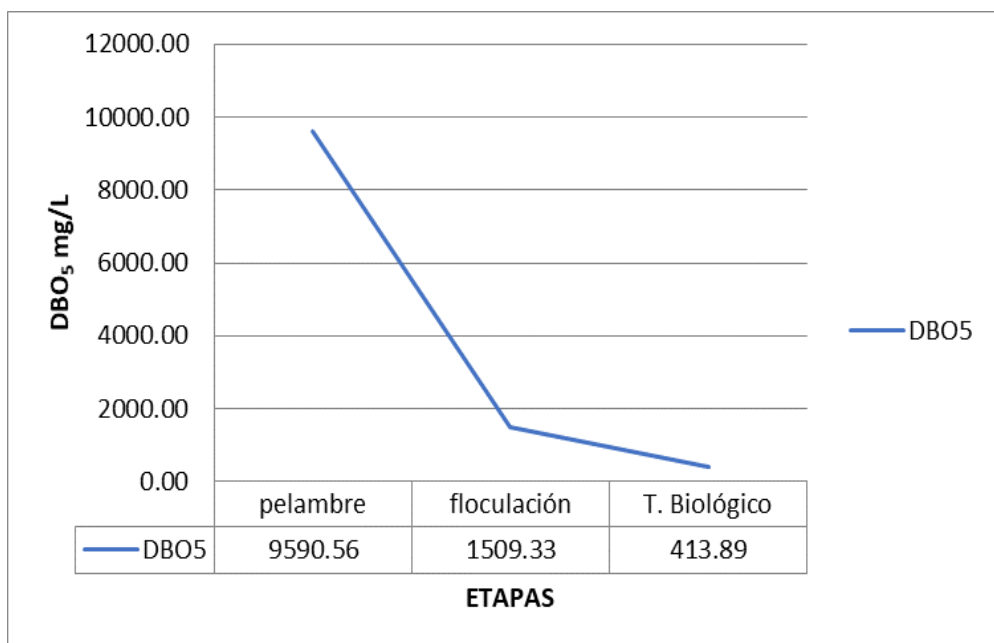
**Figura 12. Reducción de la concentración de sólidos totales en las diferentes etapas secuenciales.**



**Figura 13. Reducción de la concentración de aceites y grasas en las diferentes etapas secuenciales.**

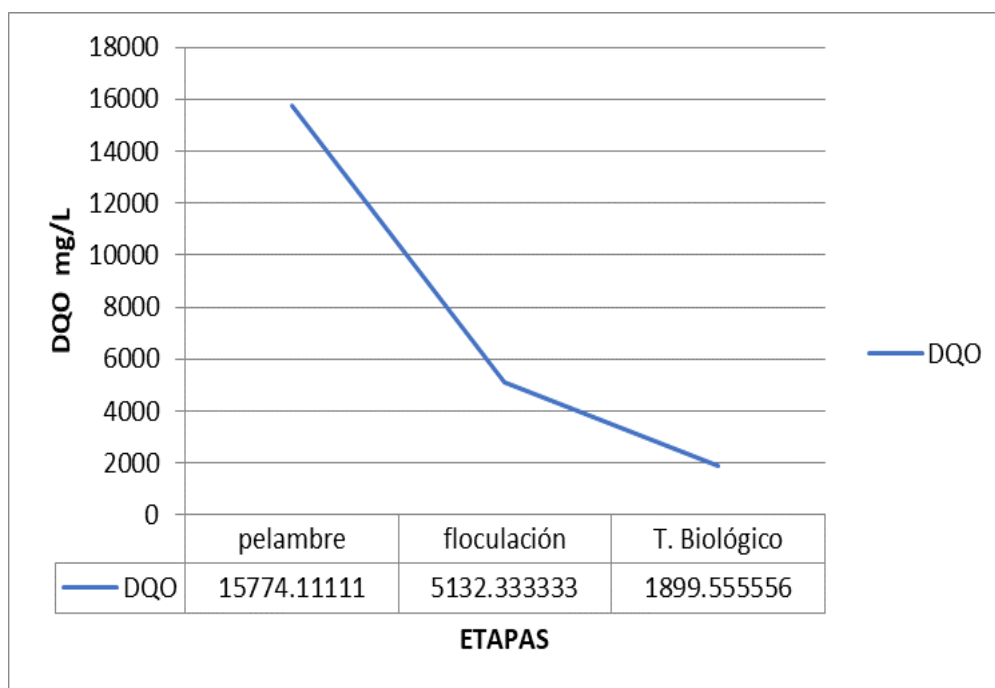


**Figura 14. Variación de pH en las diferentes etapas secuenciales.**



**Figura 15. Reducción de la concentración de DBO<sub>5</sub> en las diferentes etapas secuenciales.**





**Figura 16. Reducción de la concentración de DQO en las diferentes etapas secuenciales**

#### 4.1.10. Evaluación de la reducción del potencial contaminante.

**Cuadro 20. Reducción de la concentración de Contaminantes en las diferentes etapas secuenciales**

| Muestra          | Na <sub>2</sub> S (mg/L) | Sólidos totales (mg/L) | Aceites y grasas (mg/L) | pH    | DBO <sub>5</sub> (mg/L) | DQO (mg/L) |
|------------------|--------------------------|------------------------|-------------------------|-------|-------------------------|------------|
| <b>Inicial</b>   | 4317.44                  | 5301.89                | 2766.89                 | 11.78 | 9590.56                 | 15774.11   |
| <b>Químico</b>   | 180.00                   | 2244.89                | 879.44                  | 10.98 | 1509.33                 | 5132.33    |
| <b>Biológico</b> | 26.89                    | 376.33                 | 142.56                  | 7.92  | 413.89                  | 1899.56    |

Muestra el cuadro 20 la reducción secuencial de la carga contaminante del efluente de pelambre demostrándose la importancia del tratamiento biológico para el acercamiento a las normas exigidas para el efluente final.

**Cuadro 21. porcentaje de remoción de contaminantes al final del proceso**

| Nº de muestra     | Na <sub>2</sub> S (mg/L) | Sólidos totales (mg/L) | Aceites y grasas (mg/L) | pH           | DBO <sub>5</sub> (mg/L) | DQO (mg/L)   |
|-------------------|--------------------------|------------------------|-------------------------|--------------|-------------------------|--------------|
| <b>Inicial</b>    | 4317.44                  | 5301.89                | 2766.89                 | 11.78        | 9590.56                 | 15774.1<br>1 |
| <b>Final</b>      | 26.89                    | 376.33                 | 142.56                  | 7.92         | 413.89                  | 1899.56      |
|                   | 0.62                     | 7.10                   | 5.15                    | 67.27        | 4.32                    | 12.04        |
| <b>Porcentaje</b> | <b>99.38</b>             | <b>92.90</b>           | <b>94.85</b>            | <b>32.73</b> | <b>95.68</b>            | <b>87.96</b> |

Al comparar los valores de los contaminantes antes y después del tratamiento, según el cuadro 21 podemos apreciar una reducción significativa de dichos valores. El porcentaje de reducción de 95.68 para la materia orgánica expresada como DBO<sub>5</sub> y las otras reducciones, permite que este efluente tratado puede ser vertido a la alcantarilla, por cumplir con los límites máximos permisible para efluentes de curtiembre establecidos por el Decreto Supremo 003-2002 PRODUCE.

**Cuadro 22. Resumen de porcentajes de remoción de contaminantes después del proceso de biodegradación biológica.**

| Nº de muestra    | Porcentaje de remoción de contaminantes (%) |                    |                    |            |                    |                    |
|------------------|---|--------------------|--------------------|------------|--------------------|--------------------|
|                  | Na <sub>2</sub> S                           | Sólidos totales    | Aceites y grasas   | pH         | DBO <sub>5</sub>   | DQO                |
| <b>Proceso 1</b> | 84,55 <sup>b</sup>                          | 86,61 <sup>b</sup> | 80,70 <sup>a</sup> | 22,59<br>a | 67,40 <sup>a</sup> | 30,06 <sup>a</sup> |
| <b>Proceso 2</b> | 76,43 <sup>a</sup>                          | 87,05 <sup>c</sup> | 81,95 <sup>b</sup> | 29,39<br>b | 73,46 <sup>b</sup> | 58,07 <sup>b</sup> |
| <b>Proceso 3</b> | 91,12 <sup>c</sup>                          | 69,27 <sup>a</sup> | 88,88 <sup>c</sup> | 30,88<br>b | 76,45 <sup>c</sup> | 82,76 <sup>c</sup> |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

***Porcentaje de remoción de contaminantes después del proceso de biodegradación biológica.***

El cuadro 22 muestra el análisis estadístico que se realizó a los porcentajes de retención de contaminantes de los tres sobrenadantes producidos después del tratamiento de coagulación-floculación realizados a los efluentes del proceso de pelambre.

Se encontraron diferencias estadísticas significativas ( $p < 0,05$ ) en los resultados de porcentajes de retención de contaminantes en cada indicador de calidad agua. Los porcentajes de retención de contaminantes de los parámetros de calidad como  $\text{Na}_2\text{S}$ , Aceites y grasa,  $\text{DBO}_5$  y DQO guardaron relación inversa con respecto al grado inicial de contaminación del sobrenadante, es decir, tuvieron mayor eficiencia cuando se trata de descontaminar cantidades menores. Por otro lado, los parámetros de calidad como sólidos totales y pH no guardaron relación con el grado de contaminación inicial del sobrenadante.

***Porcentaje de retención de contaminantes después del proceso combinado de coagulación-floculación y biodegradación biológica.***

El cuadro 23 muestra el análisis estadístico que se realizó a los porcentajes de retención de contaminantes de los tres efluentes producidos en el proceso de pelambre. Estos resultados se obtuvieron después de tratar los efluentes con la metodología propuesta en la presente investigación (coagulación – floculación y biodegradación biológica).

Los resultados muestran diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los porcentajes de remoción de contaminantes de los tres efluentes para cada indicador de calidad de agua. Así mismo, no se encontró relación entre la cantidad de contaminante inicial y el porcentaje de remoción.

**Cuadro 23. Resumen de porcentajes de remoción de contaminantes después del tratamiento de coagulación - floculación y biodegradación biológica.**

| Nº de muestra | Porcentaje de remoción de contaminantes (%) |                    |                    |                         |                    |                    |
|---------------|---|--------------------|--------------------|-------------------------|--------------------|--------------------|
|               | Na <sub>2</sub> S                           | Sólidos totales    | Aceites y grasas   | pH                      | DBO <sub>5</sub>   | DQO                |
| Proceso 1     | 99,42 <sup>b</sup>                          | 93,92 <sup>c</sup> | 93,51 <sup>a</sup> | 32,27 <sup>a</sup><br>b | 95,14 <sup>a</sup> | 82,79 <sup>a</sup> |
| Proceso 2     | 99,25 <sup>a</sup>                          | 93,10 <sup>b</sup> | 95,10 <sup>b</sup> | 31,57 <sup>a</sup>      | 96,24 <sup>c</sup> | 89,50 <sup>b</sup> |
| Proceso 3     | 99,49 <sup>c</sup>                          | 91,69 <sup>a</sup> | 96,06 <sup>c</sup> | 34,34 <sup>b</sup>      | 95,63 <sup>b</sup> | 91,59 <sup>c</sup> |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Resultados de la evaluación final de calidad de agua de los tres efluentes al final del proceso de descontaminación.**

El cuadro 24 muestra los valores finales de las mediciones de los parámetros de calidad de agua para los efluentes producidos en los tres procesos de pelambre. Estos resultados muestran diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre procesos en cada uno de los parámetros de calidad.

**Cuadro 24. Resultados del análisis de calidad de agua realizado a los tres efluentes producidos en el proceso de pelambre después del tratamiento de descontaminación (Coagulación – floculación y biodegradación biológica).**

| Proceso   | Na <sub>2</sub> S (mg/L) | Sólidos totales (mg/L) | Aceites y grasas (mg/L) | pH                | DBO <sub>5</sub> (mg/L) | DQO (mg/L)           |
|-----------|--------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------------|----------------------|
| Proceso 1 | 24,67 <sup>b</sup>       | 300,33 <sup>a</sup>    | 181,33 <sup>c</sup>     | 7,77 <sup>a</sup> | 470,67 <sup>c</sup>     | 2692,00 <sup>c</sup> |
| Proceso 2 | 35,67 <sup>c</sup>       | 401,67 <sup>b</sup>    | 149,67 <sup>b</sup>     | 8,17 <sup>b</sup> | 395,67 <sup>b</sup>     | 1724,67 <sup>b</sup> |
| Proceso 3 | 20,33 <sup>a</sup>       | 427,00 <sup>c</sup>    | 96,67 <sup>a</sup>      | 7,83 <sup>a</sup> | 375,33 <sup>a</sup>     | 1282,00 <sup>a</sup> |

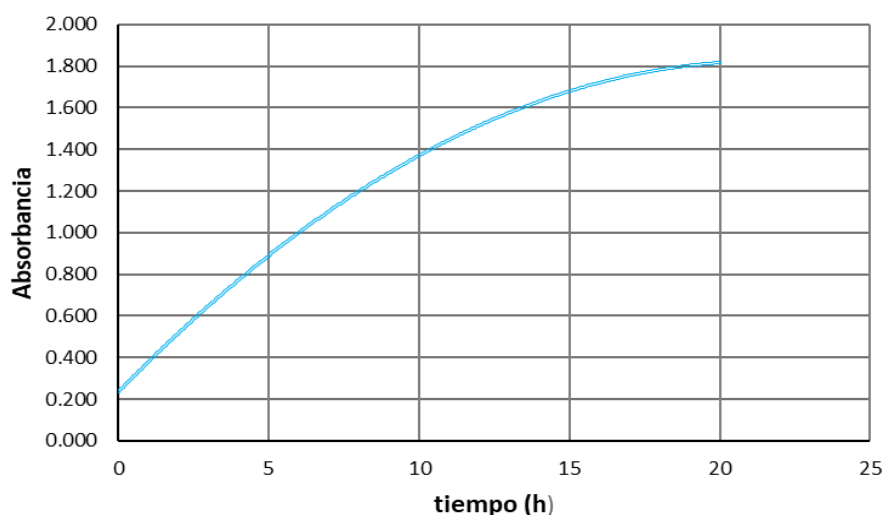
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Cuadro 25. Cinética de crecimiento de la cepa N4D en caldo curtiembre y en biorreactor Sartorius Biostat A a 28°C, pH 11, 400 rpm y 1vvm de aire.**

| Tiempo | Absorbancia |       |       | ABS Promedio |
|--------|-------------|-------|-------|--------------|
| 0      | 0.224       | 0.283 | 0.284 | 0.264        |
| 1      | 0.371       | 0.368 | 0.369 | 0.369        |
| 2      | 0.45        | 0.461 | 0.463 | 0.458        |
| 3      | 0.642       | 0.643 | 0.646 | 0.644        |
| 4      | 0.78        | 0.786 | 0.788 | 0.785        |
| 5      | 0.998       | 0.997 | 0.999 | 0.998        |
| 6      | 0.978       | 0.977 | 0.978 | 0.978        |
| 12     | 1.366       | 1.36  | 1.361 | 1.362        |
| 13     | 1.516       | 1.518 | 1.519 | 1.518        |
| 14     | 1.606       | 1.607 | 1.601 | 1.605        |
| 15     | 1.814       | 1.898 | 1.896 | 1.869        |
| 16     | 1.744       | 1.756 | 1.749 | 1.750        |
| 17     | 1.81        | 1.809 | 1.806 | 1.808        |
| 18     | 1.794       | 1.798 | 1.792 | 1.795        |
| 19     | 1.755       | 1.781 | 1.76  | 1.765        |
| 20     | 1.764       | 1.778 | 1.769 | 1.770        |

El cuadro que antecede representa el cultivo de la cepa N4D, realizado para establecer su cinética de crecimiento y determinar el tiempo requerido para completar su fase exponencial de crecimiento, dato importante para el control del tratamiento biológico y la posibilidad de revalorización de los efluentes.

La absorbancia es una medida indirecta que nos indica la biomasa generada en el transcurso del tiempo, que de acuerdo a estos resultados la generación de biomasa cesa a partir de las 20 horas de cultivo, hora donde declina la fase exponencial o de crecimiento.



**Figura 17. Curva de cinética de crecimiento de la cepa N4D**

La figura 17 confirma que la fase exponencial o de crecimiento de la cepa N4D inicia a declinar a partir de 20 horas, lo que estaría sugiriendo la hora de cosecha celular si el objetivo es la generación de biomasa.

#### 4.1.11. Recuperación de agua de proceso

**Cuadro 26. Recuperación de los sobrenadantes luego del tratamiento fisicoquímico y biológico**

| Proceso<br>(volumen de<br>efluente 800<br>ml) | Físico químico<br>(sobrenadante<br>ml.) | Biológico<br>(sobrenadante<br>ml.) | Porcentaje   |
|---|---|------------------------------------|--------------|
| 1   | 600                                     | 490                                | 61.25        |
| 2   | 590                                     | 475                                | 59.37        |
| 3   | 625                                     | 500                                | 62.5         |
| <b>Promedio</b>                               | <b>605</b>                              | <b>488</b>                         | <b>61.04</b> |

Los resultados expresados en el cuadro 26 indican el volumen de agua recuperado, como sobrenadante, en cada etapa de tratamiento. El sobrenadante del tratamiento fisicoquímico fue utilizado para el tratamiento biológico, del cual se recupera el sobrenadante final que corresponde al volumen de agua recuperado. Como se expresa en el cuadro el promedio de volumen de agua recuperado corresponde al 61.04%.

#### 4.1.11.1. Evaluación de las actividades promotoras de crecimiento vegetal

**Cuadro 27. Resultados de la actividad promotora de crecimiento vegetal.**

| CEPA | Fijación de nitrógeno (mg l-1) | Producción de AIA ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) | Índice de solubilidad |
|------|--------------------------------|---|-----------------------|
| N4E  | 0                              | 21.06 $\pm$ 0.03a                           | 3.08 $\pm$ 0.29       |
| N4D  | 0                              | 32.10 $\pm$ 0.03a                           | 5.34 $\pm$ 0.29       |

Los resultados del cuadro 27 revelan que la cepa N4D es la mejor promotora de crecimiento vegetal debido a que produce mayor cantidad de fitohormona (ácido indol acético) y posee mayor índice de solubilidad al crecer en medio de cultivo formulado a base del efluente de pelambre.

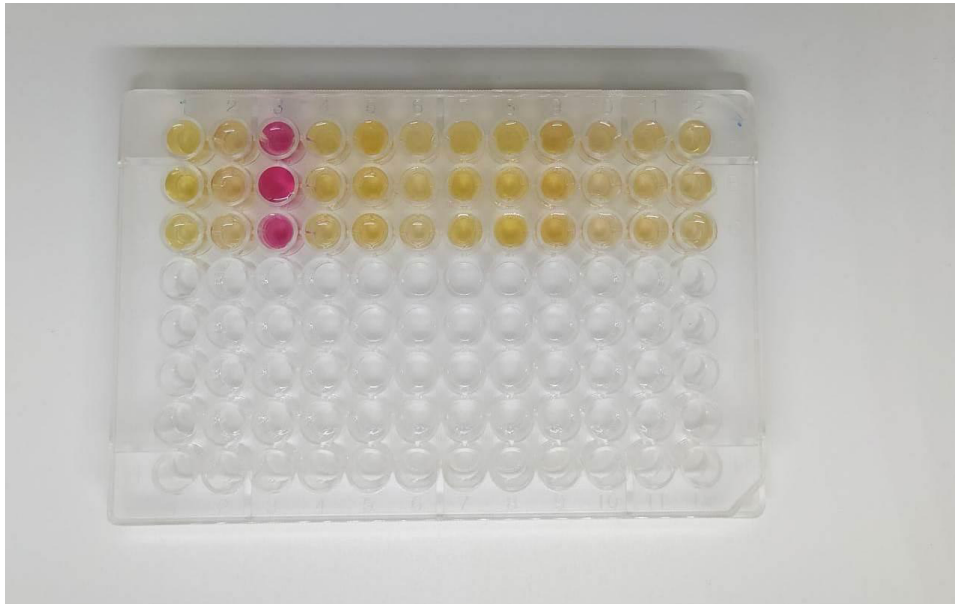
#### 4.1.12. Identificación molecular de la cepa N4D

El análisis de los cromatogramas enviados por Macrogen INC. (Korea), se analizaron mediante el software Chromas v 2.6.6 y se compararon las secuencias forward y reverse para generar una secuencia consenso. Esta fue ingresada a la base de datos BLASTn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>), usando la opción megablast, que reportó el siguiente resultado:

**Cepa N4D**    *Pseudomonas putida*

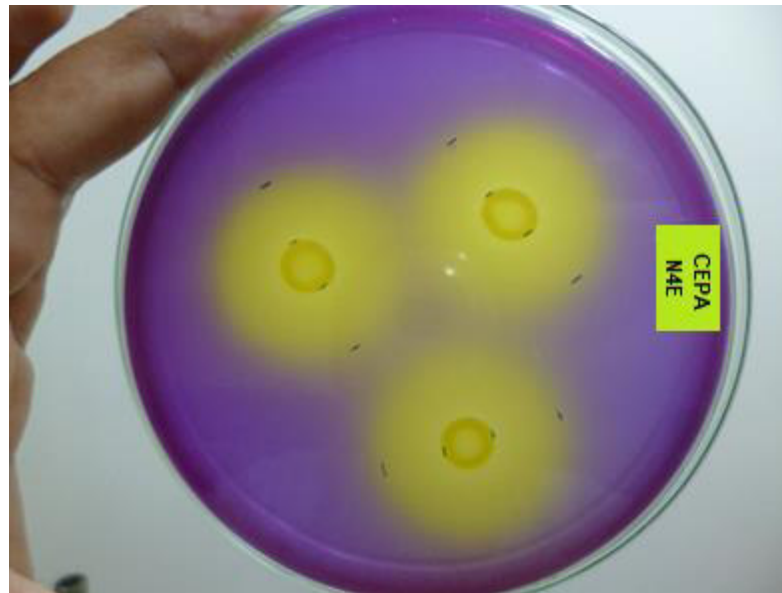


**Figura 18. Aislamiento en placa de la cepa *Pseudomonas putida* (N4E) en agar curtiembre**

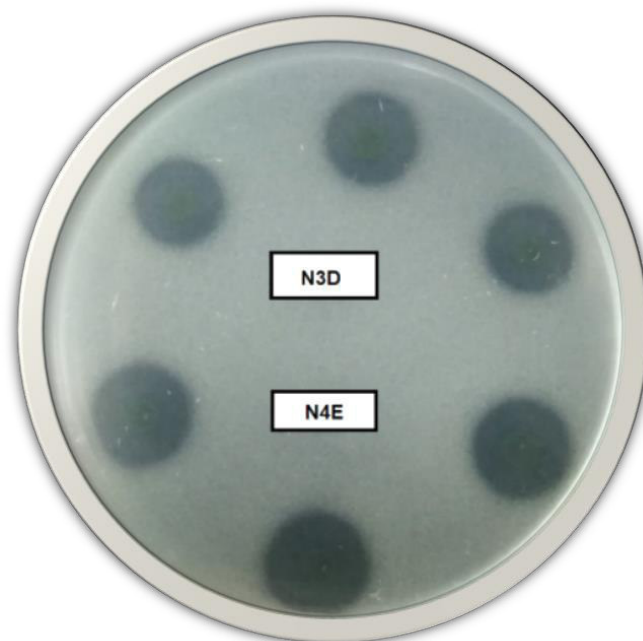


**Figura 19. Determinación de la prueba de producción de ácido indol acético de la cepa N4E con reactivo Salkowski por triplicado (100 ul de cepa y 300 ul de reactivo)**





**Figura 20. Halos de solubilización de fosfatos en medio SRSM-1 de la cepa N4E**



**Figura 21. Halos de solubilización de fosfatos en medio Pikovskaya de la cepa N4E**

#### **4.2. DISCUSIONES**

La presente investigación ha propuesto el tratamiento de los efluentes de curtiembre en función al flujo del proceso y de manera escalonada a diferencia del tratamiento convencional “al final del tubo” que en el caso

de las curtiembres genera un efluente altamente complejo que dificulta seriamente el proceso y sobre todo encarece, haciéndolo menos viable desde el punto de vista ambiental y económico.

El proceso de pelambre (o depilación), debido a sus características específicas, es el que genera la mayor carga de efluentes contaminados, además de olores desagradables y uso de agua. La finalidad de este proceso es eliminar la epidermis, retirar el pelo y saponificar las grasas de la piel. El componente principal de los residuos sólidos generados durante este proceso es el pelo. Otros contaminantes son el cebo, carnaza, sulfuros, proteínas solubles y, por el proceso de remojo, cantidades pequeñas de tensoactivos. El pelo suele ser removido usando filtración y así se evita su descomposición química por los reactivos añadidos, la cual causaría un aumento en los sólidos totales y demanda química de oxígeno (Guzmán y Luján, 2010). Además, debe tomarse en cuenta que el proceso de encalado, donde se incorpora cal hidratada para abrir las fibras de colágeno y preparar la piel para el proceso de curtido, también aumenta la cantidad de contaminantes. Cabe agregar que, si bien el sulfuro de sodio no libera ácido sulfhídrico ( $H_2S$ ) en alcalinidad, sí genera este compuesto en condiciones ácidas, el cual tiene un olor característico y es altamente corrosivo. En resumen, estos efluentes no pueden ser vertidos al sistema de alcantarillado sin un tratamiento previo, debido a su alta carga contaminante, por lo que es importante buscar alternativas tecnológicas para reducir la contaminación producida por estos efluentes.

La carga orgánica en el efluente de pelambre de la curtiembre donde se realizó la investigación en promedio tiene un valor 9590.56 mg/L de  $DBO_5$  que supera largamente los límites permisibles de la norma peruana al igual que los valores de los otros componentes cuadro 3.

Considerando que la principal carga orgánica del efluente de pelambre son proteínas y lípidos, se investigó y aisló microorganismos con capacidad enzimática de degradar proteínas y lípidos, los cuales fueron aplicados después del proceso de coagulación y sedimentación. Los resultados alcanzados muestran una notable reducción de la carga

contaminante reflejada por la reducción significativa de la DBO<sub>5</sub> en un 95.68% y la DQO en un 87.96% al igual que en los otros componentes de los efluentes de pelambre. Algunas investigaciones correspondientes al tratamiento de efluentes de curtiembre muestran resultados similares, como el de Fernández y Verduga (2014) quienes en su investigación sobre la remoción de la DBO y DQO por una cepa bacteriana, concluyen que esta cepa de *Burkholderia cepacia* disminuye los valores estudiados en 61.54% y 61.69%, respectivamente, con una concentración bacteriana de 7%, consiguiendo menores valores para las concentraciones de 5 y 10% en 15 días.

Los lodos separados en la etapa de coagulación y sedimentación del presente proyecto son propuestos para ser destinados al compostaje, debido a las evidencias de factibilidad encontradas en otras investigaciones, como la desarrollada por Cuervo (2010), quienes evaluaron la factibilidad del reciclaje de residuos producidos durante la etapa de pelambre de pieles usando el compostaje. Caracterizaron los residuos y se observaron un alto contenido de materia orgánica (65-75%), nitrógeno (7-9%), pH alcalino (9-11), ausencia de metales pesados y elevadas concentraciones de calcio y sodio (1.5% y 2.5%, respectivamente). Mencionan que las condiciones alcalinas a las que se expone el pelambre dificulta la biodegradación de estos residuos, por lo que se hace necesaria la aplicación de microorganismos para permitir la transformación biológica. Concluyeron que el mejor compost (producido usando lodos PTAR y viruta de madera) se caracteriza por un elevado contenido de materia orgánica y nitrógeno, estabilidad, grado de madurez adecuado y un alto valor agronómico.

Respecto a la revalorización de estos efluentes la investigación ha demostrado que la cepa N4E (identificada molecularmente como *Pseudomonas putida*) con capacidad enzimática de hidrolizar proteínas y lípidos de los efluentes, también tiene capacidad de producir fitohormonas, específicamente el ácido indol acético y de solubilizar

fosfato tricálcico, virtudes que lo catalogan como microorganismos promotores de crecimiento vegetal (PGPR). Lo importante del microorganismo es que puede crecer y producir los compuestos promotores de crecimiento en el efluente de pelambre con el primer tratamiento y una simple suplementación. Varias investigaciones sostienen que algunos integrantes del género *Pseudomonas* desarrollan productos que promueven el crecimiento vegetal.

Se considera que el compostaje es una tecnología técnicamente viable y amigable con el ambiente para aprovechar los residuos del pelambre, los cuales son producidos en cantidades ingentes por la industria del curtido.

*Pseudomonas putida* es una bacteria cuya versatilidad ha sido estudiada ampliamente. Rives (2009) investigó el efecto antagónico de *P. putida* frente a *Pyricularia grisea*, además de su capacidad de estimular el crecimiento de arroz. Reportó que las cepas de *P. putida* AJ9, AJ14, AJ20 y AJ18 mostraron efectos significativos. Estos resultados apoyan la idea de usar estas cepas como bioinoculantes efectivos en el cultivo de arroz.

Sánchez et al (2014) estudiaron la capacidad de distintas cepas de *Pseudomonas* spp. (FR1, UVLO27, LEAV18) de solubilizar roca fosfórica y promover el crecimiento de *Lactuca sativa* cultivar White Boston. Concluyeron que estas cepas tienen la capacidad de solubilizar fuentes de fósforo de baja solubilidad, además de producir indoles y sideróforos, además de aumentar la biomasa de la planta y su desarrollo en condiciones de invernadero. Estas investigaciones confirman las virtudes promotoras del microorganismo seleccionado en la presente investigación.

La cinética de crecimiento desarrollado por la cepa N4E muestra una fase de crecimiento exponencial promedio hasta las 20 horas de cultivo lo que indica una buena velocidad de crecimiento en el efluente de pelambre semi tratado; por consiguiente, un buen rendimiento tal como se puede

evidenciar con la reducción del DBO<sub>5</sub> de dicho efluente. La generación de biomasa alcanzó 1.65 g/L y siendo también significativa si consideramos que el sustrato de cultivo es un residuo; lo cual significa que el efluente puede ser usado para el cultivo masivo de esta cepa, con potencial uso en la agricultura, minimizando los costos de medio de cultivo y revalorizando los efluentes. Becerra (2007) obtuvo una concentración ligeramente mayor de biomasa de 1.71 g/L y  $7.09 \times 10^9$  UFC/mL; sin embargo, esta mayor biomasa se explica porque usó medios de cultivo sintéticos y optimizados.

### ***Caracterización de contaminantes en los efluentes de los tres procesos de pelambre.***

Los resultados de la caracterización inicial de los efluentes muestran la existencia de diferencia estadística significativa entre procesos. Esta diferencia se puede deber a que cada proceso de pelambre estudiado utilizó diferentes cantidades de aditivos en esta etapa de producción, así como diferentes materias primas.

El estudio de calidad de agua realizado a estos efluentes muestra que en todos los casos no cumplen con lo establecido por DS 003 – 2002 PRODUCE por lo que es importante someterlos a un tratamiento de reducción de contaminantes.

### ***Porcentaje de retención de contaminantes después del proceso de coagulación-floculación.***

Los resultados del cuadro 15 muestran los valores de retención de contaminantes después del proceso coagulación – floculación. Se puede evidenciar diferencia estadística significativa entre los tres procesos. Esta diferencia se debe a que los valores iniciales de las tres muestras de efluentes diferían en la cantidad de contaminantes. El tratamiento de coagulación – floculación utilizada en la descontaminación de los efluentes fue el mismo para los tres procesos por lo que las cantidades iniciales de contaminantes afectaron directamente en la remoción de contaminantes.

Los porcentajes de remoción de contaminantes en  $\text{Na}_2\text{S}$ , Aceites y grasas y  $\text{DBO}_5$  guardan relación directa con el grado de contaminación de las muestras, es decir, a más cantidad de contaminantes mayor remoción de los mismos. Este hecho sugiere que la metodología de coagulación – floculación propuesta tiene mayor eficiencia de retención frente a mayores cantidades de contaminantes.

La remoción de contaminantes en  $\text{Na}_2\text{S}$ ,  $\text{DBO}_5$  y DQO presentaron buenos porcentajes de remoción de contaminantes llegando a un 96,21% para el caso del  $\text{Na}_2\text{S}$  en el proceso 1, un 85,82% para el caso del  $\text{DBO}_5$  en el proceso 2 y hasta un 75,4% para el caso del DQO en el proceso 1.

La presente investigación obtuvo mejores resultados de remoción de  $\text{Na}_2\text{S}$  en comparación a la investigación realizada por Silva (2016) quien evaluó diferentes coagulantes sometidos a agitaciones de 100 y 200 rpm a pH 11 obteniendo promedios de remoción de  $\text{Na}_2\text{S}$  de 64,3% y 71,52%. Esta diferencia se pudo deber a que dicha investigadora no utilizó una cantidad adecuada de coagulante y a su vez tampoco empleo agitación adecuada.

#### ***Porcentaje de retención de contaminantes después del proceso de biodegradación biológica.***

El tratamiento de biodegradación biológica realizado a los sobrenadantes obtenidos después del tratamiento de coagulación – floculación presentó diferencia estadística significativa. Esta diferencia significativa está ligada a los niveles iniciales de contaminación de los sobrenadantes.

Los porcentajes de remoción de  $\text{Na}_2\text{S}$ , aceites y grasas y DQO para los tres procesos muestran que a mayor contaminación de los sobrenadantes menor remoción de estos, es decir, el procedimiento de biodegradación biológica de contaminantes presentó mayor eficiencia en los procesos con menor cantidad de contaminantes.

En comparación al proceso de coagulación – Floculación el proceso de biodegradación biológica presentó mayor cantidad de remoción de Aceites y grasas. Así también, valores de remoción muy cercanos a los de  $\text{Na}_2\text{S}$ .

***Porcentaje de retención de contaminantes después del proceso combinado de coagulación-floculación y biodegradación biológica.***

El cuadro 22 muestra los valores de remoción de contaminantes de los tres procesos sometidos a una misma metodología de descontaminación de aguas. Se puede observar que los procesos evaluados presentaron diferencia estadística significativa, este hecho responde a que la metodología estudiada se comporta de manera diferente para distintos niveles de contaminación.

Por otro lado, los valores de remoción de contaminantes para todos los indicadores de calidad de agua muestran porcentajes altos de remoción de contaminantes, lo cual muestra, la buena eficiencia de la metodología de descontaminación empleada en la presente investigación.

***Resultados de la evaluación final de calidad de agua de los tres efluentes al final del proceso de descontaminación.***

El cuadro 23 muestra los valores finales de las mediciones de la calidad de agua realizadas a los efluentes de los tres procesos de pelambre. Se puede verificar que la reducción de contaminantes fue elevada en comparación a las muestras iniciales. Sin embargo, estos valores se deben comparar con el decreto supremo N° 003-2002-PRODUCE, que indica cuales son los límites máximos permisibles y valores referenciales para los efluentes producidos en las actividades de curtiembre. Según esta norma los efluentes que irán a dar al alcantarillado deben cumplir lo siguiente: el pH debe estar entre 6 y 9, los sulfuros no deben sobrepasar los 3 mg/L, los sólidos totales no deben superar 500 mg/L, los aceites y grasas no deben sobrepasar los 100 mg/L, el DBO<sub>5</sub> no debe pasar los 500 mg/L y el DQO no debe sobrepasar los 1500 mg/L. Como podemos verificar en el cuadro 7 el sistema de descontaminación propuesto en esta investigación cumplió los requisitos exigidos por el decreto supremo ya mencionado para sólidos totales, pH y DBO<sub>5</sub>. A sí mismo, el proceso 3 cumplió con la norma para el caso de aceites y grasas y DQO.

Es importante tener en cuenta que el sistema utilizado para la descontaminación de efluentes del proceso de pelambre propuesto en la presente investigación no se ajustó de acuerdo a los diferentes niveles de contaminación iniciales de los efluentes, es por esta razón que no se mejoró la eficiencia de descontaminación.

#### **4.2.1. Prueba de hipótesis**

Hipótesis específica 1. **“El tratamiento biológico por bioconversión de la materia orgánica de los efluentes de curtiembres, reducirá su potencial contaminante”**

Se comprueba que el tratamiento de los efluentes de la pelambre reduce su potencial contaminante a límites permisibles según Norma Técnica Peruana, mediante los resultados resumidos en el cuadro 21, donde se verifica que el potencial contaminante del efluente inicial de la etapa pelambre es reducido en sus diferentes expresiones tales como  $\text{Na}_2\text{S}$ , sólidos totales, aceites y grasas,  $\text{DBO}_5$  y DQO. De todos ellos el más significativo es la demanda bioquímica de Oxígeno, pues representa la cantidad de materia orgánica contaminante presente en el efluente, este valor de 9,590.56 mg/L inicial fue reducido a 413.89 mg/L equivalente a un 95.68% de reducción, valor final aceptado por los límites permisibles para efluentes de curtiembre, según norma técnica peruana.

Hipótesis específica 2. **“El tratamiento biológico por bioconversión de la materia orgánica de los efluentes de curtiembres genera su revalorización”**

Esta hipótesis se demuestra en el cuadro 25 con el crecimiento exitoso de la cepa seleccionada, por sus virtudes promotoras de crecimiento vegetal, en los efluentes del pelambre tratado. Al inicio se siembra una mínima cantidad de estos microorganismos (inóculo) equivalente a una densidad óptica promedio de 0.264 y luego de las 20 horas de incubación, alcanzó una población significativa, equivalente a una densidad óptica de 1.770; Lo cual representa una biomasa importante en un tiempo relativamente breve. Entendiéndose que la revalorización es la transformación del efluente en biomasa microbiana,



poniendo en valor el efluente como fuente de materia y energía para la reproducción de microorganismos de interés industrial.

La comprobación de las 2 hipótesis específicas nos permite aceptar la hipótesis general, demostrando que el tratamiento biológico por bioconversión de la materia orgánica de los efluentes de curtiembres impacta favorablemente en su potencial contaminante; pues reduce a límites permisibles y en su revalorización porque permite transformarla en biomasa de interés industrial.

## CONCLUSIONES

El tratamiento biológico, por bioconversión microbiana, de los efluentes de pelambre de la curtiembre Unión permite reducir su capacidad contaminante a valores permisibles según la norma peruana, logrando porcentajes de remoción de 95.68, 87.96 y 92.90 para DBO<sub>5</sub>, DQO y sólidos totales respectivamente.

Los efluentes semi tratados de pelambre de la curtiembre Unión permiten el desarrollo de microorganismos promotores de crecimiento vegetal como *Pseudomonas putida*, que alcanzó una biomasa de 1.65 g/L permitiendo su revalorización como fuente de materia y energía (medios de cultivo y propagación masiva) para la generación de biomasa de interés industrial.

El tratamiento biológico de los efluentes de pelambre de la curtiembre Unión permite recuperar el agua de proceso en un 61.04%

## RECOMENDACIONES

Realizar tratamientos sectorizados y diferenciados de los efluentes de curtiembre, posibilitando su aprovechamiento y evitando su acomplejamiento al final del tubo.

Realizar investigaciones a mayor escala de la generación de biomasa, de interés comercial, a partir de efluentes de curtiembre, para evaluar su viabilidad tecnológica y económica.

Realizar investigaciones para correlacionar el tratamiento de los efluentes propuesto y el de la parte final del proceso e integrar protocolos y sus bondades.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adzet Adzet, J. M<sup>a</sup>. (1985). Química – Técnica de Tenería. Barcelona – España.
- Agustini, C. B., da Costa, M., & Gutterres, M. (2020). Tannery wastewater as nutrient supply in production of biogas from solid tannery wastes mixed through anaerobic co-digestion. *Process Safety and Environmental Protection*, 135, 38-45. doi: 10.1016/j.psep.2019.11.037
- Antón de Perino, R. (1990). "*Complejos de Cr y Nb c 2 – 2 – (5 – cloropiridil) – azo – 5 – dimetilanimofenol. Aplicaciones analíticas y toxicológicas.*" (Tesis Doctorado). Universidad Nacional de San Luis. San Luis. Argentina.
- AOAC. (2005). *Association of Official Analytical Chemists*. 18th ed. Inc. Washington. D. C. E U. A.
- Arundel, J. (2002). *Tratamiento de Aguas Negras y Efluentes Industriales*. Zaragoza. España: Acribia S.A.
- Becerra Mejía, C. A. (2007). Optimización de un medio de cultivo para la producción de biomasa de la cepa *Pseudomonas putida* UA 44 aislada del suelo bananero de Uraba–Antioquía (Bachelor's thesis, Universidad EAFIT).
- Bollag, D.M. y Edelstein, S.J. (1991). *Protein Methods*. Nueva York (USA): Wiley-Liss.
- Boujelben, R., Ellouze, M., & Sayadi, S. (2019). Detoxification assays of tunisian tannery wastewater under nonsterile conditions using the filamentous fungus *Aspergillus niger*. *BioMed Research International*, 2019 doi:10.1155/2019/9020178
- Campos, J., Carrera, J., Chamy, R., Jeison, D., Oyanedel, V., Poirrier, P., ... & Zuñiga, E. (2003). *Avances en biotecnología ambiental: Tratamiento de residuos líquidos y sólidos*.

- Chamy R. Carrera, J. Jeison D. y Ruiz G. (2005). Avances en biotecnología ambiental: Tratamiento de residuos líquidos y sólidos. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Valparaíso, Chile: Universitarias de Valparaíso S.A.
- Chauhan, S., Sharma, V., Varjani, S., Sindhu, R., & Chaturvedi Bhargava, P. (2022). Mitigation of tannery effluent with simultaneous generation of bioenergy using dual chambered microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, 351 doi: 10.1016/j.biortech.2022.127084
- CITEC (1983). (INTI) (Centro De Investigaciones De Tecnología Del Cuero). El efluente de Curtiembre; Reutilización de líquidos efluentes. Argentina.
- Clesceri L. Greenberg A. Rodees R. (1992). Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales. American Public Health Association; American Water Works Association; Water Pollution Control Federation. Madrid: Díaz de Santos S. A 17ma Edición.
- CPTS (Centro de Promoción de Tecnologías Sostenibles). (2003). Guía Técnica de Producción más Limpia para Curtiembres. La Paz – Bolivia. En: [www.bolivia-industry.com/sia/prodlimp/guias/curtiembres.htm](http://www.bolivia-industry.com/sia/prodlimp/guias/curtiembres.htm). (26.09.2003)
- Crini, G.; Lichtfouse, E. (2019) Ventajas y desventajas de las técnicas utilizadas para el tratamiento de aguas residuales. *Reinar. química Letón.*, 17, 145–155. [ [Google Académico](#) ] [ [CrossRef](#) ]
- Cuervo N (2010) ESTUDIO DEL PROCESO DE COMPOSTAJE DE LOS LODOS PRODUCIDOS EN LA OPERACIÓN DE PELAMBRE EN LA INDUSTRIA DEL CURTIDO DE PIELES. Universidad Nacional, Bogotá, Colombia
- da Fontoura, JT; Rolim, GS; Farenzena, M.; Gutterres, M. (2017) Influencia de la intensidad de la luz y la concentración de las aguas residuales de las curtidurías en la producción de biomasa y la eliminación de nutrientes por parte de *las*

*microalgas Scenedesmus sp. Proceso de Entorno Seguro. prot, 111, 355–362.* [ [Google Académico](#) ] [ [CrossRef](#) ]

Fernández E, Gavilánez F (2014) Evaluación de la eficiencia de biorremediación de efluentes de curtiembres en tanques sedimentadores artesanales del proceso de pelambre mediante el aislamiento de bacterias remediadoras; estudio de caso: taller artesanal en barrio Totoras, cantón Ambato. [Tesis para optar por el título de Ingeniería Ambiental, Universidad Central del Ecuador]

Franson M. ed. (2002). Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Madrid: Díaz de Santos

Genawi, Nuevo México; Ibrahim, MH; El-Naas, MH; Alshaik, AE (2020) Remoción de Cromo de Aguas Residuales de Curtiduría por Electrocoagulación: Optimización y Caracterización de Lodos. *Agua, 12*, 1374. [ [Google Scholar](#) ] [ [CrossRef](#) ]

Gerhard Schleenstein. (2002). Evaluación de la actividad genotóxica de efluentes de curtiembres del departamento central de la Región Oriental. *Revista Virtual Pro.* pp, 26-27

Guzmán K y Luján M (2010) Reducción de emisiones de la etapa de pelambre en el proceso de curtido de pieles. *Acta Nova*; Vol. 4 N 4, diciembre. <http://www.scielo.org.bo/pdf/ran/v4n4/v4n4a02.pdf>

Kannan, R. R., Durai, G., Ramsenthil, R., Dilipkumar, M., & Balamurugan, P. (2022). Colour removal of tannery wastewater using salt tolerant microorganisms in a sequential batch reactor. *Desalination and Water Treatment*, 251, 18-26. doi:10.5004/dwt.2022.28023

Klein, R. M., Hansen, É., & De Aquim, P. M. (2022). Water reuse in the post-tanning process: Minimizing environmental impact of leather production. *Water Science and Technology*, 85(1), 474-484. doi:10.2166/wst.2021.620

Lawrence K. (2008). *Tratamiento de los Residuos de la Industria*. Zaragoza. España: Acribia S.A.

Melga, G (2002) Tratabilidad Aeróbica de un Efluente Proveniente de una Curtiembre de Terminación. XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Cancún. México.

Metcalf & Eddy; (1996). Ingeniería en Aguas Residuales; Madrid: Mc Graw Hill; Edición N° 3.

Miller, S., Gagnet, A. J., & Worden, R. (1999). Reporte Técnico para la Industria de Curtiembres en el Perú. Lima, Perú. Recuperado de <http://www.bvsde.paho.org/bvsars/e/fulltext/conam/conam.pdf>.

MINISTERIO DE PRODUCCIÓN, (2016). *Resolución Directoral N°077-2016-PRODUCE/DVMYPE-I/DIGGAM* [en línea]. 2016. S.l.: s.n. Disponible en: <http://www2.produce.gob.pe/dispositivos/publicaciones/rd0077-2016-producediggam.pdf>.

Ministerio de Salud y Protección Social Dirección de Promoción y Prevención Subdirección de Salud Ambiental (MINSALUD) (2015). Guía para el desarrollo de actividades de promoción y prevención en la industria de curtiembres. <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/SA/6g/ua-actividades-pyp-curtiembres.pdf>

Mohd Udaiyappan, AF; Abu Hasan, H.; Takriff, MS; Sheikh Abdullah, SR (2017) Una revisión de los potenciales, desafíos y estado actual de las aplicaciones de biomasa de microalgas en el tratamiento de aguas residuales industriales. *J. Ing. de Procesos de Agua*, 20, 8–21. [ [Google Académico](#) ] [ [CrossRef](#) ]

Mpofu, A. B., Kaira, W. M., Oyekola, O. O., & Welz, P. J. (2022). Anaerobic co-digestion of tannery effluents: Process optimisation for resource recovery, recycling and reuse in a circular bioeconomy. *Process Safety and Environmental Protection*, 158, 547- 559. doi: 10.1016/j.psep.2021.12.027

- Nagi, M.; El, M.; Li, D.; Gebruelel, T.; Chen, B.; Wang, C.(2020) Utilización de aguas residuales de curtiduría para la producción de biocombustibles: nuevos conocimientos sobre el crecimiento de microalgas y la producción de biomasa. *ciencia Rep.* 10, 1530. [ [Google Scholar](#) ] [ [CrossRef](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Versión verde](#) ]
- Okoduwa, S. I. R., Igiri, B., Udeh, C. B., Edenta, C., & Gauje, B. (2017). Tannery effluent treatment by yeast species isolates from watermelon. *Toxics*, 5(1) doi:10.3390/toxics5010006
- Orozco Z, García J & Gutiérrez C (2021) Revalorización de residuos. *Ciencia. Novedades Científicas.* Abril-Junio. Volumen 72. Número 2 [https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/images/revista/72\\_2/PDF/12\\_72\\_2\\_1246.pdf](https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/images/revista/72_2/PDF/12_72_2_1246.pdf)
- Ouassa, YA; Chabaní, M.; Amrane, A.; Bensmaili, A. (2012) Integración de electrocoagulación y adsorción para el tratamiento de aguas residuales de curtiduría: el caso de una fábrica argelina, Rouiba. *Procedia Ing.* 33, 98–101. [ [Google Académico](#) ] [ [CrossRef](#) ]
- Peña, AC; Trierweiler, LF; Gutterres, M. (2019) Influencia del fotoperíodo en la producción de biomasa y remoción de nutrientes de efluentes de curtiduría con consorcio de microalgas. En *Actas del XXXV Congreso IULTCS*; Tegtmeier, D., Meyer, M., Eds.; Association for Tannery Chemistry and Technology: Dresde, Alemania, 2019; Volumen 4, pág. 19. [ [Académico de Google](#) ]
- Peña, AdCC; Bertoldi, CF; da Fontoura, JT; Trierweiler, LF; Gutterres, M. (2019) Consorcio de Microalgas para el Tratamiento de Efluentes de Curtiduría. *Brasil. Arco. Biol. Tecnología*, 62. [ [Google Académico](#) ] [ [CrossRef](#) ]
- Perry, R. (2000). *Manual del Ingeniero Químico*; Séptima Edición; Editorial Mc Gras Hill; Revista de Ciencia y Tecnología, Vol 2, pp. 37-48.
- Reyes-Serrano, A.; López-Alejo, JE; Hernández-Cortázar, MA; Elizalde, I. (2020) Eliminación de Contaminantes de Aguas Residuales de Curtiduría por



Precipitación Química Utilizando CaO y Ca(OH)<sub>2</sub>. *Barbilla. J. Chem. Ing.* 28, 1107–1111. [ [Google Académico](#) ] [ [CrossRef](#) ]

Reynold K (2002) Tratamiento de Aguas Residuales en Latinoamérica. Identificación del Problema. Agua Latinoamérica. Septiembre/Octubre 2002 <https://agua.org.mx/wp-content/uploads/2007/10/Tratamiento-aguas-residuales-Latinoamerica.pdf>

Rives, N., Acebo, Y., Almaguer, M., García, J. C., & Hernández, A. (2009). Actividad antagónica frente a *Pyricularia grisea* (Sacc.) y fitoestimulación en el cultivo del arroz de cepas autóctonas de *Pseudomonas putida* (Trev.). *Revista de Protección Vegetal*, 24(2), 106-116.

Rodríguez C (2007) DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO POR REFLUJO CERRADO Y VOLUMETRÍA. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales. Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia <http://www.ideam.gov.co/documents/14691/38155/Demanda+Qu%C3%ADmica+de+Ox%C3%ADgeno..pdf/20030922-4f81-4e8f-841c-c124b9ab5adb>

Rodríguez, R y Fernández, A. (2012). Tratamientos avanzados de aguas residuales industriales. Madrid España: Acribia, S.A.

Sabino, A. (2021). Síntesis de la Perspectiva de la Gestión de Residuos en América Latina y el Caribe. *Ambiente En Diálogo*, (2), e030. Recuperado a partir de <http://ojs.opds.gba.gov.ar/index.php/aed/article/view/8>

Sanchez López, D. B., García Hoyos, A. M., Romero Perdomo, F. A., & Bonilla Buitrago, R. R. (2014). Efecto de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal solubilizadoras de fosfato en *Lactuca sativa* cultivar White Boston. *Revista Colombiana de Biotecnología*.

Schneider, A y col. (2003). Disminución De La Demanda Biológica De Oxígeno de efluentes de curtiembres Por Decantación. Santa Fe. Argentina.

Schneider, A.; Flores, H.; Guala, M. (2002). Recuperación de Sulfuros de Efluentes de Curtiembre. Publicado en Actas del 12º Congreso Argentino de Saneamiento y Medio Ambiente

Skoog, D.; West, D. (2006). Fundamentals of Analytical Chemistry; Saunders College Publishing –Harcourt College Publishers.

Stuart Miller (1999). Informe para el Ministerio de Industria y Turismo, Integración y Comercio Internacional (MITINCI). Lima Perú.

Umaña Bustamante, R. (2004). Tratamiento de Aguas Residuales de la Industria de la Curtiembre Mediante un Sistema de Lodos Activados a Escala Piloto. (Tesis Maestría) Universidad de la Frontera. Temuco, Chile.

Urbina-Suarez N, Machuca-Martínez F, Barajas-Solano A (2021) Advanced Oxidation Processes and Biotechnological Alternatives for the Treatment of Tannery Wastewater. <https://doi.org/10.3390/molecules26113222>

Zárate M, Rojas C (1993) Guía Técnica para la Minimización de Residuos en Curtiembres. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente (CEPIS)

## ANEXOS

### ANEXO I. CALCULOS

**Porcentaje de remoción de contaminantes después de la operación de coagulación - floculación:**

$$\%R = \frac{Ci - Cf}{Ci} \times 100\%$$

*Ci*: Cantidad inicial de contaminantes del efluente muestreado.

*Cf*: Cantidad de contaminantes después de la operación de coagulación – Floculación.

*%R*: porcentaje de remoción de contaminantes en la operación de coagulación – Floculación.

**Porcentaje de remoción de contaminantes después de la operación de biodegradación biológica:**

$$\%R = \frac{Cf - Cb}{Cf} \times 100\%$$

*Cf*: Cantidad de contaminantes después de la operación de coagulación – Floculación.

*Cb*: Cantidad de contaminantes después de la operación biodegradación biológica.

*%R*: porcentaje de remoción de contaminantes después de la operación biodegradación biológica.

**Porcentaje de remoción de contaminantes después de la operación de Coagulación – Floculación y biodegradación biológica:**

$$\%R = \frac{Ci - Cb}{Ci} \times 100\%$$

*Ci*: Cantidad inicial de contaminantes del efluente muestreado.

*Cb*: Cantidad de contaminantes después de la operación biodegradación biológica.

*%R*: Porcentaje de remoción de contaminantes después de la operación de coagulación – floculación y biodegradación biológica.

### **Diseño estadístico utilizado DCA**

Se empleó un diseño completo aleatorizado con 3 tratamientos y 3 repeticiones como se muestra en la tabla N 1.

Para el análisis de los datos se empleó el análisis de varianza ANOVA y para la comparación de medias se empleó la prueba de Tukey.

| Repeticiones     | Tratamientos |           |           |
|------------------|--------------|-----------|-----------|
|                  | Proceso 1    | Proceso 2 | Proceso 3 |
| <b>Muestra 1</b> | P1M1         | P2M1      | P3M1      |
| <b>Muestra 2</b> | P1M2         | P2M2      | P3M2      |
| <b>Muestra 3</b> | P1M3         | P2M3      | P3M3      |

**ANEXO II. Medios de cultivo usados:**

Medio Burk (g/L):

|   |          |
|---|----------|
| Mg <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                     | 0.2      |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>                     | 0.8      |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                     | 0.2      |
| CaSO <sub>4</sub>                                   | 0.13     |
| FeCl <sub>3</sub>                                   | 0.0015   |
| Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> •2H <sub>2</sub> O | 0.000253 |

Agar SMRS-1 (g/L):

|   |       |
|---|-------|
| KCl   | 0.2   |
| (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 0.5   |
| MgSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O             | 0.3   |
| FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O            | 0.004 |
| NaCl  | 0.2   |
| Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 5     |
| Glucosa   | 10    |
| Extracto de levadura                            | 0.5   |
| Púrpura de bromocresol                          | 0.1   |