

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**TESIS:**

**Remoción de grasas y aceites en la Planta de Tratamiento de  
Aguas Residuales Totorá usando consorcios microbianos,  
Ayacucho - 2024**

Para optar el título profesional de:  
**BIÓLOGO, ESPECIALIDAD: MICROBIOLOGÍA**

PRESENTADO POR:  
**Bach. Cesar Paul ZAMORA JUAREZ**

ASESORA:  
**Mg. Katherin Ruth TACO QUISPE**

COASESOR:  
**Mg. Reynán CÓNDOR ALARCÓN**

**AYACUCHO - PERÚ**

**2025**

A quienes siempre han estado a mi lado: mis padres, mis hermanos, mi primo y mis entrañables amigos.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi *Alma Mater*, la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por acogerme y brindarme sus aulas para mi formación profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, por forjar esta carrera que me inspira la Biología en el campo de la Microbiología, a todos los docentes de la Escuela Profesional de Biología, por compartir sus conocimientos y valores a lo largo de mi formación académica.

Al Laboratorio de Biotecnología por permitirme usar sus ambientes para la ejecución de una de las fases de la presente investigación.

A mi asesora, Mg. Katherin Ruth Taco Quispe, por ser mi guía en cada paso de la realización de la investigación; estoy profundamente agradecido con ella porque gracias a sus enseñanzas pude aprender día a día, para así superarme y por hacer posible la finalización de la tesis.

A mi coasesor, Mg. Reynán Cóndor Alarcón, por ser un guía y por el conocimiento brindado en el procesamiento de datos.

A la empresa de Servicio de Agua Potable y Alcantarillado de Ayacucho S.A., por permitir la ejecución de la investigación en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Totorá. Al jefe del Departamento de Tratamiento de Aguas Servidas Totorá, Blgo. César Anaya Huarcaya y al Blgo. Rudesindo Huincho Rodríguez; por haberme brindado sus conocimientos, orientación y su experiencia, haciendo posible la ejecución de una de las fases de mi investigación.

Al Señor Luis Espichán Campos auxiliar del Laboratorio de Bromatología y Nutrición por el apoyo recibido en el proceso de extracción de grasas y aceites.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xvii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Marco conceptual	5
2.3. Bases teóricas	7
2.3.1. Aguas residuales	7
2.3.2. Efluentes residuales que ingresan al ecosistema	5
2.3.3. Efluentes grasos y zonas de donde provienen	7
2.3.4. Diferencias en la solubilidad en las grasas y aceites	7
2.3.5. Aceites minerales y su impacto en el medio ambiente	8
2.3.6. Efectos de la presencia de grasas y aceites en aguas efecto en su remoción	8
2.3.7. Grasas y aceites y su impacto en el medio ambiente	9
2.3.8. Microorganismos lipolíticos	10
2.3.9. Lipasas	11
2.3.10. Mesocosmos	13
2.3.11. Biodegradación de grasas y aceites en aguas residuales con microorganismos lipolíticos	14
III. MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1. Tipo y nivel de investigación	15
3.2. Diseño de investigación	15

3.3.	Área de estudio	16
3.4.	Definición de muestra y unidad experimental	16
3.4.2.	Muestra	16
3.4.3.	Unidad experimental	16
3.5.	Metodología y recolección de datos	16
3.5.1.	Aislamiento de microorganismos	16
3.5.2.	Prueba de antagonismo	18
3.5.3.	Selección de consorcios microbianos	19
3.5.4.	Construcción del armazón para la instalación de las unidades experimentales	19
3.5.5.	Recolección de muestras de aguas residuales	20
3.5.6.	Estandarización de la concentración microbiana	21
3.5.7.	Instalación de unidades experimentales (mesocosmos) y adición de consorcios microbianos	21
3.5.8.	Monitoreo del experimento	22
3.5.9.	Determinación de grasas y aceites por el método de Soxhlet	22
3.5.10.	Determinación del porcentaje de remoción	23
3.5.11.	Identificación de microorganismos del consorcio con mayor remoción de grasas y aceites	23
3.5.12.	Pruebas bioquímicas y perfil de sensibilidad antimicrobiana	24
3.6.	Análisis estadístico	24
IV.	RESULTADOS	25
V.	DISCUSIÓN	31
VI.	CONCLUSIONES	39
VII.	RECOMENDACIONES	41
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
	ANEXOS	49

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
<b>Tabla 1.</b> Modelo del diseño experimental 5 x 3	15
<b>Tabla 2.</b> Cepas microbianas con halo de lipólisis $\geq 1,5$ mm, no antagónicas, que formaron los cuatro consorcios inoculados en la laguna facultativa 1 de la PTAR - Totorá, Ayacucho - 2024	25
<b>Tabla 3.</b> Porcentaje de remoción de grasas y aceites en aguas residuales de la PTAR - Totorá con consorcios microbianos lipolíticos, Ayacucho - 2024	28
<b>Tabla 4.</b> Identificación de las cepas microbianas del consorcio 2, aisladas de suelos contaminados con aceites de talleres mecánicos, que presentó uno de los mayores niveles de remoción de grasas y aceites en aguas residuales de la PTAR - Totorá, Ayacucho - 2024	29
<b>Tabla 5.</b> Identificación de las cepas microbianas del consorcio 3, aisladas del tanque Imhoff N° 5 de la PTAR - Totorá, que presentó uno de los mayores niveles de remoción de grasas y aceites en aguas residuales, Ayacucho - 2024	30

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1.</b> Esquema de la acción catalítica de las lipasas	12
<b>Figura 2.</b> Hidrólisis secuencial de los grupos acilo de los triglicéridos, catalizada por las lipasas	13
<b>Figura 3.</b> Medidas del armazón donde se instalaron los tratamientos en sistema de mesocosmo	20
<b>Figura 4.</b> Zona de instalación de los tratamientos en la laguna facultativa 1 de la PTAR - Totorá	22
<b>Figura 5.</b> Temperatura del agua residual antes y después del tratamiento con consorcios microbianos lipolíticos en la PTAR - Totorá, Ayacucho – 2024	26
<b>Figura 6.</b> pH inicial y final en aguas residuales con consorcios microbianos lipolíticos y el blanco en la PTAR -Totorá, Ayacucho - 2024	26
<b>Figura 7.</b> Variación de los sólidos totales disueltos (STD) en aguas residuales tratadas con consorcios microbianos lipolíticos y blanco en la PTAR - Totorá, Ayacucho - 2024	27
<b>Figura 8.</b> Porcentaje de remoción de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO <sub>5</sub> ) en aguas residuales de la PTAR - Totorá con consorcios microbianos lipolíticos, Ayacucho - 2024	27
<b>Figura 9.</b> Porcentaje de remoción de grasas y aceites en aguas residuales de la PTAR - Totorá con consorcios microbianos lipolíticos, Ayacucho - 2024	28

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
<b>Anexo 1.</b> Flujograma del proceso experimental de remoción de grasas y aceites de aguas residuales de la PTAR - Totorá con consorcios microbianos lipolíticos, Ayacucho - 2024	49
<b>Anexo 2.</b> Parámetros físico, químico y biológico antes y después de tratamiento con consorcios microbianos lipolíticos en la PTAR – Totorá, Ayacucho - 2024	50
<b>Anexo 3.</b> Prueba de normalidad de Anderson Darling de la remoción de grasas y aceites de aguas residuales de la PTAR - Totorá con consorcios microbianos lipolíticos, Ayacucho - 2024	50
<b>Anexo 4.</b> Prueba de homogeneidad de varianzas de Bartlett de la remoción de grasas y aceites de aguas residuales de la PTAR - Totorá con consorcios microbianos lipolíticos, Ayacucho - 2024	51
<b>Anexo 5.</b> Prueba de ANOVA del porcentaje de remoción de grasas y aceites con los consorcios microbianos lipolíticos y el blanco en aguas residuales de la PTAR - Totorá, Ayacucho - 2024	51
<b>Anexo 6.</b> Prueba de comparación múltiples de promedios con Tukey con una confianza del 95% del porcentaje de remoción de grasas y aceites con los consorcios microbianos y el blanco en aguas residuales de la PTAR - Totorá, Ayacucho - 2024	51
<b>Anexo 7.</b> Recolección y naturaleza de las muestras para el aislamiento de microorganismos lipolíticos de las diferentes fuentes contaminadas con grasas y aceites, Ayacucho - 2024	52

<b>Anexo 8.</b>	Pruebas de aislamiento de cepas lipolíticas de las diferentes fuentes de aislamiento, Ayacucho - 2024	53
<b>Anexo 9.</b>	Prueba de antagonismo microbiano por la técnica de difusión con cilindros de agar, Ayacucho - 2024	54
<b>Anexo 10.</b>	Selección de consorcios microbianos lipolíticos, Ayacucho - 2024	55
<b>Anexo 11.</b>	Elaboración del armazón para la instalación de las unidades experimentales, Ayacucho - 2024	56
<b>Anexo 12.</b>	Toma de muestra de aguas residuales de la caseta de distribución afluyente de la laguna facultativa 1 de la PTAR - Totorá, Ayacucho - 2024	57
<b>Anexo 13.</b>	Estandarización de la carga microbiana de consorcios microbianos lipolíticos, Ayacucho - 2024	58
<b>Anexo 14.</b>	Instalación de unidades experimentales (mesocosmos) y adición de consorcios de microorganismos en la laguna facultativa 1 de la PTAR - Totorá, Ayacucho - 2024	59
<b>Anexo 15.</b>	Monitoreo y finalización del experimento en la laguna facultativa 1 de la PTAR - Totorá, Ayacucho - 2024	60
<b>Anexo 16.</b>	Determinación de grasas y aceites por el método de Soxhlet, Ayacucho - 2024	61
<b>Anexo 17.</b>	Caracterización macroscópica y microscópica de las cepas lipolíticas del consorcio 2, aisladas de suelos contaminados con aceites de talleres mecánicos, que presentó uno de los mayores niveles de remoción de grasas y aceites en aguas residuales de la PTAR – Totorá. A) Colonia cepa S <sub>1</sub> ; B) Cepa S <sub>1</sub> , forma bacilar, tamaño 1,10x0,55 µm y Gram negativo; C) Colonia cepa S <sub>2</sub> ; D) Cepa S <sub>2</sub> , forma bacilar con endosporas céntricas, tamaño 1,02x0,53 µm, Gram positivo E) Colonia cepa S <sub>3</sub> F) Cepa S <sub>3</sub> , forma bacilar, tamaño 1,25x0,22 µm, Gram positivo; las fotografías B, D y F fueron tomadas y	

	medidas por un microscopio Nikon Eclipse Si, con el Software Toup View, Ayacucho - 2024	63
<b>Anexo 18.</b>	Pruebas bioquímicas (Consortio 2), Ayacucho – 2024	64
<b>Anexo 19.</b>	Perfil de resistencia antimicrobiana (Consortio 2), Ayacucho - 2024	68
<b>Anexo 20.</b>	Caracterización macroscópica y microscópica de las cepas lipolíticas del consorcio 3, aisladas del tanque Imhoff N° 5 de la PTAR – Totorá, que presentó uno de los mayores niveles de remoción de grasas y aceites en aguas residuales de la PTAR – Totorá. A) Colonia cepa P <sub>1</sub> ; B) cepa P <sub>1</sub> , forma bacilar, tamaño 1,53x0,49 µm y Gram negativo; C) colonia cepa P <sub>2</sub> ; D) Cepa P <sub>2</sub> , forma bacilar, tamaño 0,78x0,34 µm, Gram positivo E) Colonia cepa P <sub>3</sub> F) Cepa P <sub>3</sub> , forma de cocos y cocos en racimos, tamaño 0,55x0,55 µm, Gram positivo; las fotografías B, D y F fueron tomadas y medidos por un microscopio Nikon Eclipse Si, con el Software Toup View, Ayacucho-2024	69
<b>Anexo 21.</b>	Pruebas bioquímicas (Consortio 3), Ayacucho - 2024	70
<b>Anexo 22.</b>	Perfil de sensibilidad antimicrobiana (Consortio 3), Ayacucho - 2024)	74
<b>Anexo 23.</b>	Autorización para el uso ambiente y equipos de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Totorá para la realización de la tesis de pregrado, Ayacucho - 2024	76
<b>Anexo 24.</b>	Matriz de consistencia	78

## RESUMEN

La presencia de grasas y aceites en aguas servidas que llegan a la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales - Totorá, representa un desafío debido a su baja remoción, inhiben el desarrollo de la flora y fauna acuática. El objetivo fue determinar la capacidad de remoción de grasas y aceites en aguas residuales usando consorcios microbianos. Se aislaron microorganismos lipolíticos de tres lugares diferentes: del entorno de trabajo de una cocina (C1), suelos contaminados con aceites provenientes de talleres mecánicos (C2) y del tanque Imhoff N° 5 de la PTAR – Totorá (C3). Todos los microorganismos aislados de las diferentes zonas se incluyeron en los consorcios (C1, C2, C3), además las cepas con mayor capacidad lipolítica de cada consorcio, fue parte de un cuarto consorcio (C4). Los consorcios se inocularon en un sistema de mesocosmos, en condiciones ambientales de la laguna facultativa 1; el experimento se llevó a cabo durante un periodo de 14 días y se determinó el porcentaje de remoción de grasas y aceites. Posteriormente, se identificaron a los microorganismos de los consorcios con mayor remoción de estas sustancias, mediante las características macroscópicas, microscópicas, pruebas bioquímicas y la prueba de sensibilidad antimicrobiana. Se obtuvo mayor porcentaje de remoción utilizando los consorcios 2 (89,68 %) y 3 (89,79 %), sin embargo, con los consorcios 1 (26,15 %), 4 (62,00 %) y el blanco (38,51 %) no hubo diferencia significativa. Los microorganismos identificados del consorcio 2 fueron *Pseudomonas fluorescens* (S<sub>1</sub>), *Bacillus* sp. (S<sub>2</sub>), *Rhodococcus erythropolis* (S<sub>3</sub>). Los microorganismos identificados del consorcio 3 fueron *Proteus mirabilis* (P1), *Leifsonia aquatica* (P2) y *Staphylococcus saprophyticus* (P3). Se concluye que la adición de consorcios microbianos a las aguas residuales, reducen significativamente la concentración de grasas y aceites.

**Palabras clave:** PTAR, microorganismos lipolíticos, consorcios microbianos, mesocosmos, remoción, grasas y aceites.

## I. INTRODUCCIÓN

Las aguas servidas que llegan a las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) contienen grasas y aceites, provenientes de diversas fuentes como: el uso doméstico, restaurantes, industria láctea, etc. Estas sustancias representan un desafío significativo para las PTAR, incluida la PTAR – Totorá, debido a que el tratamiento convencional no las remueve de manera eficiente; la acumulación de estas sustancias provoca obstrucción de tuberías e impiden el intercambio de oxígeno con el agua, al formar natas en la superficie, afectando así al tratamiento biológico convencional (Hidrika, 2023) y al ser vertidas sin un adecuado tratamiento afectan a los ecosistemas acuáticos.

Actualmente existen diferentes métodos de remoción de grasas y aceites, como: procesos físicos, que incluyen métodos de flotación mediante el uso a presión atmosférica (Iagua, 2018; Ibañez, 2023), procesos químicos, mediante métodos de coagulación y floculación (Ibañez, 2023) y procesos biológicos, usando microorganismos lipolíticos. De todos éstos, los procesos biológicos poseen mayor ventaja, debido a que degradan y remueven grasas y aceites (González et al., 2012; Pazmiño, 2016; Verdezoto, 2017 Mendoza et al., 2020; Gil et al., 2022), reduciendo el impacto en los ecosistemas.

Esta investigación plantea como alternativa a esta problemática, reducir el impacto negativo de las grasas y aceites al medio acuático, usando consorcios microbianos capaces de degradar estas sustancias. La cual se desarrolló en la laguna facultativa 1 de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Totorá de la Empresa SEDA Ayacucho S.A. Para alcanzar este propósito, se plantearon los siguientes objetivos:

### **Objetivo general**

Determinar la capacidad de remoción de grasas y aceites en aguas residuales usando consorcios microbianos.

### **Objetivos específicos**

1. Aislar microorganismos con capacidad lipolítica del tanque Imhoff N° 5 de la PTAR – Totorá, de material graso adherido del entorno de trabajo de una cocina y de suelos contaminados con aceites provenientes de talleres mecánicos.
2. Realizar la prueba de antagonismo microbiano e integrar a los microorganismos no antagónicos para ser parte del consorcio.
3. Cuantificar la remoción de grasas y aceites por consorcios microbianos y determinar cuál de todos los consorcios microbianos tiene una mayor capacidad de remoción de grasas y aceites.
4. Identificar microorganismos lipolíticos del consorcio con mayor capacidad de remoción de grasas y aceites.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

En un estudio realizado por Gonzáles et al. (2012) tuvieron como objetivo aislar bacterias lipolíticas endógenas formando un consorcio bacteriano. Aislaron e identificaron cepas de los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Enterobacter*, con los cuales formaron un consorcio bacteriano. El experimento se realizó por 21 días a temperatura ambiente. Como resultado obtuvieron una degradación de grasas y aceites de 91,4 %, la carga bacteriana superó  $1 \times 10^{10}$  UFC/mL, y observaron una disminución del 33,6 % en la demanda bioquímica de oxígeno ( $DBO_5$ ) y del 59,8 % en la demanda química de oxígeno (DQO). Concluyeron que este consorcio bacteriano puede ser utilizado para el biotratamiento de residuos con alto contenido lipídico.

Por otra parte, Pazmiño (2016) tuvo como objetivo evaluar la eficiencia de remoción de grasas y aceites en aguas residuales usando bacterias del rumen de vaca. Aisló bacterias lipolíticas del rumen de bovinos y determinó la capacidad de biodegradar las grasas y aceites por estas bacterias. Formó consorcios y la inoculó, el experimento duró 28 días a 37 °C. Como resultado obtuvo una reducción de grasas y aceites en un 52 %. Concluyó que el medio con presencia de grasas y aceites es adecuado para aislar bacterias lipolíticas.

De forma similar Mendoza et al. (2020) evaluaron la eficiencia de 3 bacterias lipolíticas (*Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp. y *Corynebacterium* sp.) aisladas del efluente de una industria aceitera, para la degradación de grasas y aceites de aguas residuales. Inocularon consorcios bacterianos a diferentes

concentraciones (1%, 2,5% y 5%), durante 15 días a temperatura ambiente, con y sin aireación asistida; obteniendo una remoción del 78,75 % de grasas y aceites con *Pseudomonas sp.* y *Corynebacterium sp.* como consorcio, a una concentración del inóculo de 2,5% con aireación asistida. Concluyeron que las bacterias autóctonas pueden ser usadas como degradadoras de grasas y aceites presentes en aguas residuales.

Por otro lado, Amaya et al. (2021) evaluaron la eficiencia de *Pseudomonas fluorescens* en la eliminación de grasas y aceites presentes en la laguna de aireación de la PTAR del municipio de Durango. Para ello, inocularon diferentes concentraciones de la cepa (5 %, 10 %, 15 % y 20 %) en un modelo a escala bajo condiciones ambientales, durante un periodo de 108 horas. Los resultados indicaron que la concentración del 5 % fue la más eficiente, logrando una degradación del 61.5 % de las grasas y aceites. Concluyeron que este método representa una alternativa viable, de bajo costo y con potencial para su aplicación a mayor escala.

Mientras Gil et al. (2022) tuvieron como objetivos determinar la efectividad de bacterias lipolíticas en la remoción de grasas y aceites de aguas residuales de una industria metalmeccánica. Donde usaron un inoculante ambiental compuesto por bacterias benéficas (29 cepas), con capacidad degradativa de lípidos, donde determinaron la turbidez, pH y concentración de grasas y aceites (mg/l), obteniendo así que el porcentaje de remoción después de 5 días a temperatura ambiente fue de 85 a 99%. Concluyeron que el uso de estas bacterias son una alternativa viable para eliminar estas sustancias en aguas residuales.

Asimismo, Wei et al. (2022) llevaron a cabo un estudio con el objetivo de evaluar el potencial de cepas bacterianas aisladas de aguas residuales con alta carga de grasas y aceites. Lograron aislar cinco cepas bacterianas Gram positivas con capacidad lipolítica. Evaluaron la eficiencia degradativa de las cinco cepas en caldo de recuento en placa suplementado con 1 % de aceite de palma, a 30 °C durante 48 h; obtuvieron una remoción del aceite de palma entre 7,29 % y 32,37 %. Concluyeron que estos aislados bacterianos tienen potencial en la biodegradación de aguas residuales ricas en lípidos.

Mientras Catania y Quatrini (2023) evaluaron la capacidad de degradar grasas y aceites por microorganismos aislados de aguas residuales provenientes de un PTAR. En su estudio, aislaron e identificaron tres géneros bacterianos con mayor

potencial degradativo: *Serratia*, *Aeromonas* y *Pedobacter*. Posteriormente, evaluaron la eficiencia del consorcio microbiano en plantas piloto de aguas residuales mediante de reactores discontinuos durante 10 días, alcanzando una remoción de grasas y aceites del 76 %. Concluyeron que estas cepas tienen potencial biotecnológico para aumentar la eliminación de grasas y aceites en las PTAR y en los tanques de residuos de los restaurantes.

Por otro lado, Fahmi Rashid et al. (2023) tuvieron como objetivo aislar microorganismos a partir del efluente de un molino de aceite de palma y evaluar su capacidad para biodegradar grasas y aceites. En su estudio, aislaron e identificaron la cepa con mayor potencial degradativo como *Micrococcus lylae*. Posteriormente, evaluaron su eficiencia de biodegradación bajo diferentes condiciones de concentración de aceite de cocina, pH y concentración de inóculo bacteriano. Los resultados indicaron que la mayor eficiencia de degradación se alcanzó bajo condiciones óptimas de pH 6, con una concentración inicial de aceite del 1 % y una concentración de inóculo del 10 %, logrando un porcentaje máximo de biodegradación del 68 %. Los autores concluyeron que los microorganismos aislados del efluente de aceite de palma son capaces de biodegradar grasas y aceites, lo cual podría atribuirse a la similitud en las propiedades físico-químicas de ambos tipos de residuos.

## **2.2. Marco conceptual**

### **2.2.1. Remoción de contaminantes**

Es el proceso de tratamiento por el que pasa el agua para eliminar cualquier tipo de contaminante (CBR Ingeniería, 2021).

### **2.2.2. Planta de Tratamiento de Aguas de Residuales**

Es el espacio físico destinado a la eliminación de contaminantes de aguas residuales mediante procesos físicos, químicos y biológicos, para que así estas sean vertidas de forma segura al medio ambiente (Synertech, s.f. y Gc tratamiento, 2023).

### **2.2.3. Nata**

Son sustancias acumuladas en especial grasas y aceites que forman una capa o película en la superficie del agua (Aguamarket, s.f.).

#### **2.2.4. Grasas y aceites**

Son lípidos formados por ácidos grasos de origen animal y vegetal, insolubles en el agua, pero solubles en solventes orgánicos. Los compuestos dependen del grado de solidificación a temperatura ambiente los que se solidifican o cristalizan son las grasas y los que se mantienen líquido son los aceites no cristalizables; estos aceites están presentes en las aguas residuales generando un olor desagradable, son poco solubles y difíciles de degradar, generando problemas en las tuberías y en su tratamiento (Pazmiño,2016 y Verdezoto,2017).

#### **2.2.5. Lipasas**

Son enzimas hidrolíticas glicerol-éster-hidrolasas, que rompen los enlaces éster de los acilgliceroles de sustratos insolubles; estas enzimas están distribuidas en la naturaleza en plantas, animales y en los microorganismos (Verdezoto, 2017).

#### **2.2.6. Microorganismos lipolíticos**

Son aquellos microorganismos capaces de hidrolizar grasas y aceites gracias a la producción de lipasas extracelulares, que son enzimas hidrolíticas; estos microorganismos son encontrados en diversos medios de desecho como aguas residuales con alta carga de aceites y grasas, residuos vegetales, suelos contaminados con hidrocarburos, etc (Aceves y Castañeda, 2012).

#### **2.2.7. Cepa**

Es un grupo de organismos que pertenecen a la misma especie, pero que comparten ciertas características genéticas que no se encuentran en otros miembros de dicha especie (NIH, s.f.).

#### **2.2.8. Consorcio microbiano**

Es el conjunto de diversas especies de microorganismos que interactúan para su mutuo beneficio, dentro de una comunidad (Salazar y Sánchez, 2011).

#### **2.2.9. Mesocosmos**

Es un sistema experimental diseñado al aire libre, donde se simulan las condiciones naturales con algunas variables manipuladas por el investigador (Mesocosm, 2023).

## **2.3. Bases teóricas**

### **2.3.1. Aguas residuales**

Son aquellas aguas cuyas características físicas, químicas o biológicas han sido alteradas por intervención antropogénica debido a la introducción de contaminantes de residuos sólidos, químicos, municipales, industriales, agrícolas, etc., afectando así el ecosistema (Bejarano y Escobar, 2015).

Estas aguas fueron afectadas negativamente por la actividad humana y para ser purificadas y ser aprovechadas necesitan de un tratamiento previo (Ferrovial, s.f.).

### **2.3.2. Efluentes residuales que ingresan al ecosistema**

Estas son emisiones no deseables en el ambiente, ya sea tratados o no, que fluye de las plantas de tratamiento, drenaje y medio acuático, estas son aguas servidas que terminan en el ecosistema acuático afectando negativamente a los seres vivos que están en ella (Huané y Rivera, 2014).

### **2.3.3. Efluentes grasos y zonas de donde provienen**

Son emisiones líquidas acompañada de sólidos disueltos o suspendidos cuya característica resalta por la alta carga de grasas y aceites, incluyendo sustancias presentes en aguas residuales domésticas, provenientes del comercio y expendio de alimentos, industria aceitera (palma y pescado), productos lácteos (mantequilla, margarina, helados, yogurt, queso), los mataderos y otros (Orellana,2010).

Los tipos de grasas y aceites que están con mayor frecuencia en los sistemas de desagüe son los aceites vegetales y grasas de tipo animales , al ser compuestos orgánicos muy estables, no se biodegradan fácilmente, pero al ser degradados forman ácidos grasos y glicerina, estas sustancias al ser desechado en exceso a las alcantarillas dañan las tuberías ocasionando el taponamiento de estos y al ser descargados en los cuerpos hídricos, flotan formando así una película superficial causando daño a la vida acuática generando así un impacto negativo en el medio ambiente (Huané y Rivera, 2014).

### **2.3.4. Diferencias en la solubilidad en las grasas y aceites**

Son sustancias orgánicas de origen lipídico representados mayormente por triglicéridos en un 95%, que está compuesta por una molécula de glicerol y tres

ácidos grasos esterificados, que pueden tener diferente longitud en la cadena; las grasas se diferencian principalmente de los aceites debido a la consistencia de la primera al ser sólido a temperatura ambiente, mientras que los aceites se mantienen líquidos a temperatura ambiente, debido a la estructura de los ácidos grasos (UTN, 2016).

Ambos pertenecen a los lípidos simples neutros saponificables que al menos poseen un ácido graso en su estructura, unidos a un grupo glicerol o a un alcohol al que se le denomina céridos, estos glicéridos se clasifican en monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos, normalmente se conoce a estas sustancias como triacilglicéridos estos últimos se clasifican a su vez como las conocidas grasas insolubles a temperatura ambiente y los aceites solubles a temperatura ambiente, esta solubilidad se debe al tipo de ácido graso que va unido en ella, como los ácidos grasos saturados o insaturados, químicamente estas sustancias no tienen diferencia (IIDENUT, 2022; MacFaddin, 2003).

### **2.3.5. Aceites minerales y su impacto en el medio ambiente**

Son aceites que se obtienen por la destilación y refinación del petróleo crudo que se usa como lubricantes de motores y piezas mecánicas en maquinarias industriales, vehículos de diésel y en otras más. Generalmente los talleres mecánicos son los que generan residuos de estos aceites lubricantes usados, llegando así a las Plantas de Tratamiento de aguas residuales o contaminando directamente al medio ambiente al no ser tratados adecuadamente (Pochteca, s.f., Grupo Herres, s.f., Jurado, 2017).

### **2.3.6. Efectos de la presencia de grasas y aceites en aguas residuales y efecto en su remoción**

Las grasas y aceites en altas concentraciones en las aguas residuales, tienen efectos negativos en las plantas de tratamiento de aguas residuales dañando a las tuberías, disminuyendo así la eficiencia de las operaciones de tratamiento, estas finalmente se depositarían en los fangos activados, aumentando su viscosidad y reduciendo la eficiencia de la deshidratación de lodos (Remtavares, 2018).

La presencia de estos compuestos tienen impactos negativos críticos en el tratamiento de aguas residuales, como la transferencia del oxígeno del aire al agua, debido a su densidad forman una película impidiendo la entrada de O<sub>2</sub> y salida del CO<sub>2</sub> generando así condiciones anóxicas e impidiendo que los

microorganismos que se encargan de oxidar la materia orgánica se desarrollen, reduciendo así la eficiencia de los procesos biológicos en un 70 %, el impacto que tienen las grasas y aceites en la DBO y la DQO es alto, ya que estas miden la cantidad de oxígeno necesario para descomponer moléculas y la cantidad de oxígeno consumido es directamente proporcional al tamaño de la molécula, las moléculas que componen las grasas y aceites tienen moléculas de cadenas largas, agotando la mayor cantidad del oxígeno presente en el agua e incrementando así las DBO y la DQO; como consecuencia el rendimiento de las depuradoras es menor, ya que necesitan mayor tiempo y aumentan el consumo de energía para el saneamiento de estas sustancias (Romero, 2020; Hidrika, 2023).

Además de los problemas anteriores las grasas y aceites al unirse con sólidos como papel, cabello, toallas pueden formar aglomerados los cuales causarían taponamientos en las líneas de agua, válvulas y bombas generando gastos en el mantenimiento (Hidrika, 2023).

Otro impacto negativo son los costos asociados a la eliminación de contaminantes con contaminantes comunes en aguas residuales, una perspectiva aproximada del costo de remover 1 m<sup>3</sup> de estos contaminantes asciende a 0,67 euros equivalente a 2,75 soles; sin embargo, cuando se trata de compuestos altamente contaminantes, como las grasas y aceites, el costo de tratamiento se incrementa, se estima que para depurar un litro de este contaminante tiene un costo de 0,46 euros, es decir, 460 euros por m<sup>3</sup>, lo que equivale a 1 872 soles peruanos por m<sup>3</sup>. Esta cifra representa un costo aproximadamente 700 veces más caro que el costo medio asumido por un ciudadano por el tratamiento de su agua residual (González y González, 2015).

### **2.3.7. Grasas y aceites y su impacto en el medio ambiente**

Las grasas y aceites usados al ser vertidos en cuerpos hídricos pueden llegar a contaminar 40 000 litros de agua en una concentración de 20 mg/L, ya que contiene 5 000 veces mayor carga contaminante que el agua residual que circula por las alcantarillas (González y González, 2015).

Cuando estos residuos grasos son vertidos al medio acuático, debido a su densidad se difunden y forman una película superficial, lo que interfiere con el intercambio de oxígeno y reduce su concentración en el agua; este fenómeno perjudica a los organismos del ecosistema acuático, ya que afectan el proceso

fotosintético al bloquear la radiación solar. Además, estos residuos contribuyen a la contaminación al consumir grandes cantidades de oxígeno, lo que incrementa la DBO y la DQO; otros organismos afectados son los peces, debido a que una concentración excesiva de grasas y aceites pueden adherirse a su piel y cubrir sus branquias, provocándoles asfixia y eventualmente, la muerte (Aquaes, s.f., OAB, 2019).

### **2.3.8. Microorganismos lipolíticos**

Son microorganismos que tienen la capacidad de producir lipasas que son enzimas capaces de hidrolizar las grasas y aceites, convirtiendo al triacilglicerol a glicerol y ácidos grasos libres; esto se debe a la capacidad de estas enzimas de romper enlaces éster en grasas y aceites convirtiéndolas así en moléculas fácilmente degradables por otros microorganismos. Los microorganismos lipolíticos secretan estas enzimas al ser inducidas en presencia de residuos con grasas y aceites, las cuales hidrolizan total o parcialmente los triacilglicéridos, a través de reacciones de esterificación, transesterificación e interesterificación. Estos microorganismos pueden ser encontrados principalmente en residuos de aceites vegetales, residuos de la industria láctea, suelos contaminados con aceites y alimentos que contengan lípidos en descomposición. Se han identificado diferentes grupos de microorganismos como bacterias, hongos filamentosos y levaduras, de los cuales los que resaltan de estos grupos son los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Staphylococcus*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Candida*, *Aspergillus* y *Geotrichum* por su capacidad para producir lipasas extracelulares (Aceves y Castañeda, 2012; Alban y Castelo, 2018).

Estas enzimas se sintetizan debido a la presencia de inductores como lípidos, luego de ser sintetizadas atraviesan la membrana celular y son secretadas normalmente al medio extracelular, ya que los triacilglicéridos no pueden ser absorbidos de manera directa por los microorganismos, estas al ser hidrolizadas son usadas por los microorganismos como fuente de carbono (Aceves y Castañeda, 2012; Verdezoto, 2017; Pedroza, 2017).

Las bacterias conforman un grupo heterogéneo de las cuales los géneros que sobresalen en este grupo microbiano son el género *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas* y *Erwinia* (Abner, 2013 citado en Pazmiño, 2016). De estas las cepas bacterianas identificadas como predominantes en la producción de lipasa son *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*

*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis* (Prasad y Manjunath, 2011; Pedroza et al., 2017; Amaya et al., 2021; Mendoza y Soto, 2022).

Por otro lado, algunos géneros de hongos presentan actividad lipolítica al estar presentes en un medio con presencia de grasas y aceites, estos hongos usan estas enzimas de manera natural en los procesos de alteración de los alimentos y la degradación de la materia orgánica de los géneros de hongos filamentosos que se consideran predominantes son el *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Geotrichum* y entre los hongos levaduriformes tenemos al género *Candida* y *Yarrowia* (Aceves y Castañeda, 2012; Verdezoto, 2017).

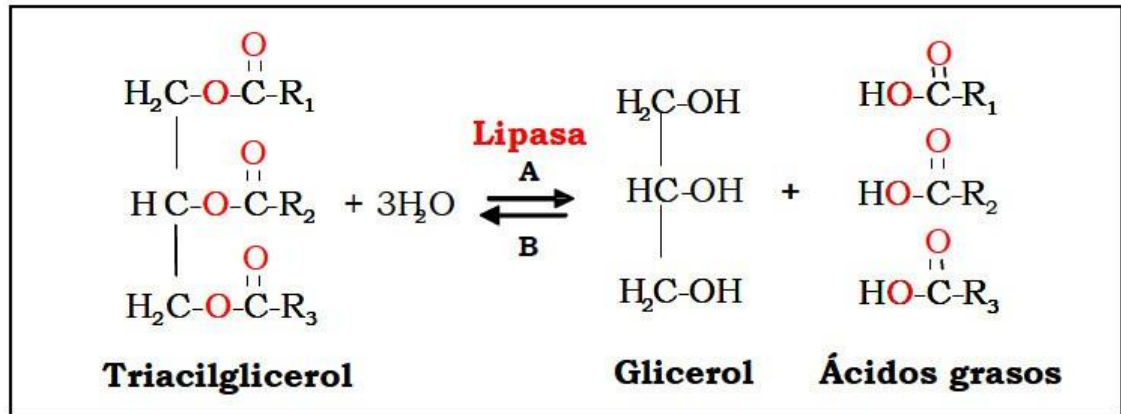
Además, la levadura con mayor actividad lipolítica identificada es *Candida rugosa*, también hay levaduras con potencial lipolítico como *Yarrowia lipolytica*, *Candida cylindracea*, *Trichosporon asahii*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Debaryomyces occidentalislike* (Aceves y Castañeda, 2012).

### **2.3.9. Lipasas**

Son enzimas conocidas como carboxil éster hidrolasas o triacil éster hidrolasas (EC 3.1.1.3) según la comisión de enzimas de la IUPAC son enzimas que actúan sobre enlaces éster presentes en acilgliceroles, catalizando reacciones de hidrólisis reversible de triacilglicéridos de residuos grasos animales y de aceites vegetales, obteniendo como producto de la acción de la enzima ácidos grasos libres y glicerol (Mendoza, 2010; Huané y Rivera, 2014); en ausencia de agua las lipasas realizan las reacciones de síntesis como esterificación, interesterificación, y transesterificación, formando así glicéridos, tal como se muestra en la Figura 1 (Pedroza et al., 2017).

Las lipasas poseen alta estabilidad en solventes orgánicos por ser de origen extracelular, además poseen actividad en condiciones extremas de pH y temperatura. Se ha visto que estas enzimas tienen mayor impacto debido a sus aplicaciones biotecnológicas en el procesamiento de alimentos lácteos, aceites, detergentes, biodiesel y en los últimos años como una alternativa para el tratamiento de aguas residuales con alto contenido de grasas y aceites (Mendoza, 2010; Huané y Rivera, 2014; Pedroza, 2017).

**Figura 1.** Esquema de la acción catalítica de las lipasas



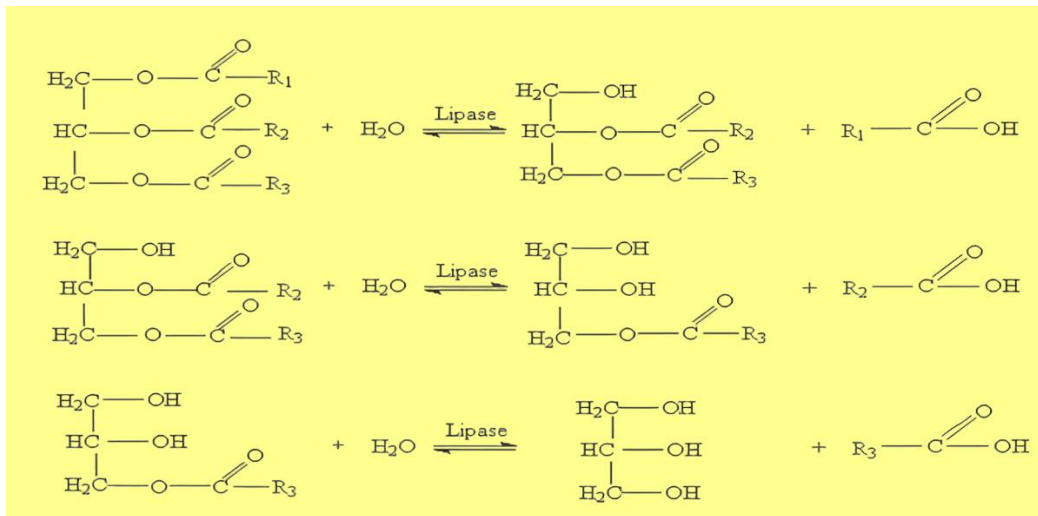
Fuente: Huané y Rivera (2014)

Estas lipasas están ampliamente distribuidas en la naturaleza en animales, plantas y microorganismos, interviniendo así en los procesos metabólicos de estos. La actividad de estos catalizadores tiene una acción enzimática común independientemente de su naturaleza, ya que todas hidrolizan los enlaces éster formados entre un ácido y un alcohol (Salazar et al., 2020).

De forma genérica las enzimas lipolíticas se clasifican en dos grandes grupos las lipasas y las esterasas, su diferencia varía en que las lipasas actúan sobre los acilgliceroles de cadena larga (>10 átomos de carbono), tienen afinidad por sustratos altamente hidrofóbicos e insolubles, presentando sitios de unión largos para dividir los ácidos grasos y las esterasas actúan sobre acilgliceroles de cadena corta (<10 átomos de carbono) y actúan sobre sustratos más solubles e hidrofóbicamente variable (Huané y Rivera, 2014; Salazar et al., 2020).

Estas enzimas esterasas solubles actúan sobre sustratos insolubles, actúan en la interfase lípido-agua (medio acuoso), catalizando la reacción mediante la hidrólisis de los enlaces éster, estas enzimas son específicas para las cadenas  $\alpha$  y  $\alpha_1$ , esta reacción ocurre de manera secuencial vía hidrólisis de los grupos acilo en los glicéridos, teniendo como pasos intermedios la formación de diacilglicéridos y monoacilglicéridos, teniendo en un momento como mezcla de la reacción triacilglicéridos, agua, glicerol y ácidos grasos, tal como se muestra en la Figura 2; a nivel biológico las lipasas metabolizan las grasas y los aceites reduciéndolas a glicerol y ácidos grasos que son insolubles en agua (MacFaddin, 2003; Huané y Rivera, 2014; Verdezoto, 2017).

**Figura 2.** Hidrólisis secuencial de los grupos acilo de los triglicéridos, catalizada por las lipasas



Fuente: Mendoza, 2010

### 2.3.10. Mesocosmos

Son sistemas experimentales diseñados al aire libre considerados un nivel intermedio entre los ensayos de laboratorio y de campo, se considera como una recreación natural del ecosistema acuático o terrestre, donde se tienen variables independientes, dependientes y una variable controlada (López, 2008; Mesocosm, 2023; Morey, s.f.).

Las ventajas de estos mesocosmos es que a diferencia de los estudios de laboratorio controlados, cuando pasan a una escala diferente generan un cambio en cuanto a los resultados obtenidos previamente, por eso se dice que los mesocosmos son un intermedio entre un estudio de laboratorio y uno de campo, donde estos son considerados diseños más complejos debido a que integran situaciones más realistas como las condiciones ambientales, se considera al mesocosmos como un ecosistema experimental cercano al entorno real, como anteriormente se mencionó hay variables que se pueden controlar lo que ingresa al mesocosmos como los organismos o sustancias químicas, para recrear un mesocosmos con el medio natural. Todos los componentes presentes en el deben relacionarse simulando un ecosistema real, esto se logra garantizando que haya nutrientes presentes, energía y que los subproductos de desecho de la actividad biológica puedan reciclarse, todo esto es posible sin perder las condiciones de referencia y replicación (Foekema, s.f., EPA, 2023).

### **2.3.11. Biodegradación de grasas y aceites en aguas residuales con microorganismos lipolíticos**

La biodegradación de este compuesto orgánico se lleva a cabo en dos etapas: etapa extracelular y la etapa intracelular, en la etapa extracelular las lipasas realizan la hidrólisis catalizando y permitiendo el rompimiento de los enlaces éster carboxilo, obteniendo finalmente glicerol y ácidos grasos; en la segunda etapa intracelular se da la asimilación de estos ácidos grasos y demás monómeros que pueden ser catabolizados por la ruta de la  $\beta$ -oxidación, que en las células microbianas eucariotas se da en las mitocondrias y en células procariotas se da en el citoplasma (Aqualimpia, 2013).

El uso de microorganismos lipolíticos para la biodegradación de grasas y aceites, es una alternativa a los altos costos que generan la eliminación de estas sustancias de las aguas residuales, las cuales al no ser depuradas eficientemente generan contaminación al medio ambiente. El uso de estos microorganismos para bioconvertir las grasas y aceites en moléculas asimilables, permiten remover estas sustancias disminuyendo el impacto en el medio ambiente; en consecuencia, la manipulación y uso de estos microorganismos para fines de biotratamiento es una alternativa para depurar los efluentes contaminados con estas sustancias (Lickes, 2019).

Sin embargo, las desventajas del uso de estos microorganismos son la adaptación limitada a las condiciones ambientales, desarrollo únicamente *in vitro* y la falta de integración entre diferentes cepas de microorganismos (Moya y Moya; 2020).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Tipo y nivel de investigación

Experimental – aplicada.

#### 3.2. Diseño de investigación

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 5 tratamientos y 3 repeticiones, donde cada unidad experimental estuvo compuesta de 3,8 L de aguas residuales y a cada una se inóculo con un consorcio microbiano, además de un blanco.

**Tabla 1.** Modelo del diseño experimental

	Tratamientos	Repeticiones
Blanco	C0	3
Consortio 1	C1	3
Consortio 2	C2	3
Consortio 3	C3	3
Consortio 4	C4	3

Nota. Blanco (aguas residuales sin ningún consorcio microbiano), C1 (2 cepas lipolíticas obtenidas de material graso del entorno de trabajo de una cocina), C2 (3 cepas lipolíticas obtenidas de suelos contaminados con aceites provenientes de talleres mecánicos), C3 (3 cepas lipolíticas obtenidas del tanque Imhoff N°5 de la PTAR – Totorá) y el C4 (3 cepas lipolíticas con mayor halo de lipólisis, 1 cepa de cada lugar de aislamiento).

#### 3.3. Área de estudio

El presente trabajo de investigación se realizó en 3 áreas de estudio:

- En el Laboratorio de Biotecnología de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

- En la laguna facultativa 1 de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Totorá, perteneciente a la Empresa de Servicio de Agua Potable y Alcantarillado de Ayacucho (SEDA – Ayacucho), ubicado en el distrito de Jesús Nazareno.

Latitud: 13° 8'30,91"S

Longitud: 74°12'38.69"O

Altitud: 2638 msnm

- En el Laboratorio de Bromatología y Nutrición de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

### **3.4. Muestra y unidad experimental**

#### **3.4.1. Muestra**

- Microorganismos lipolíticos aislados de: aguas residuales del tanque Imhoff N° 5 de la PTAR - Totorá, material graso adherido del entorno de trabajo de una cocina y de suelos contaminados con aceites provenientes de talleres mecánicos de la Ciudad de Ayacucho.

#### **3.4.2. Unidad experimental**

- Mesocosmos de 3,8 L de agua residual más 2,5 % (200 mL) de consorcio microbiano, formados en la laguna facultativa 1.
- 4 unidades experimentales con 3 repeticiones: consorcio 1 (2 cepas lipolíticas aisladas de material graso adherido del entorno de trabajo de una cocina), consorcio 2 (3 cepas lipolíticas aisladas de suelos contaminados con aceites provenientes de talleres mecánicos), consorcio 3 (3 cepas lipolíticas aisladas del tanque Imhoff N° 5 de la PTAR – Totorá) y el consorcio 4 (3 cepas microbianas lipolíticas con mayor halo de lipólisis, 1 cepa de cada lugar de aislamiento).

### **3.5. Metodología y recolección de datos**

#### **3.5.1. Aislamiento de microorganismos**

##### **3.5.1.1. Recolección y naturaleza de las muestras**

- Las muestras fueron colectadas de: La nata acumulada del tanque Imhoff N° 5 de la PTAR - Totorá, material graso adherido del entorno de trabajo de una cocina y suelos contaminados con aceites provenientes de talleres mecánicos de la Ciudad de Ayacucho.

**a. Para muestras de la PTAR - Totorá:**

Modificado de Reutelshöfer y Guzmán (2015)

- Se tomó una muestra del tanque Imhoff N° 5 del lugar donde hubo acumulación de nata de las aguas residuales en la que se llenó hasta las 3/4 partes de un frasco de vidrio estéril de 625 mL.
- Finalmente se cerró de manera inmediata y cuidadosa, posteriormente se etiquetó y se llevó al laboratorio.

**b. Para muestras de material graso adherido del entorno de trabajo de una cocina**

- Esta se realizó por conveniencia; para lo cual se usó un frasco de vidrio estéril de boca ancha y con la ayuda de una espátula estéril se raspó la superficie del entorno de la cocina donde hubo mayor presencia de grasas, de la que se recolectó 100 g de muestra, se etiquetó y se llevó al laboratorio (Aqualimpia, 2013).

**c. Para muestras de suelos contaminados con aceites provenientes de talleres mecánicos:**

- Se identificó la zona con el mayor conglomerado de talleres mecánicos en la ciudad de Ayacucho, específicamente la Asociación “Los Mecánicos”, ubicada en el distrito de Jesús Nazareno. Dentro de esta área, se seleccionó el taller mecánico que mostraba una mayor presencia de aceites en el suelo.
- Para ello se tomó una muestra de suelo en un frasco de vidrio estéril de boca ancha y con la ayuda de una espátula estéril se colectó 100 g de muestra que posteriormente se etiquetó y se llevó al laboratorio (Aqualimpia, 2013).

**3.5.1.2. Enriquecimiento para el aislamiento de microorganismos**

Procedimiento modificado de Madero y Buitrago (s.f.)

- Para el enriquecimiento se tomó en cuenta lo siguiente:
  - De muestras líquidas se tomó una alícuota de 0,05 mL y se sembró en 5 mL de Caldo nutritivo suplementado con 1 % de aceite de oliva.
  - De muestras sólidas se tomó dos asadas y se sembró en 5 mL de Caldo nutritivo suplementado con 1 % de aceite de oliva.
- Luego se incubó a 37 °C por 72 h.
- De los cultivos de 72 h, se hicieron diluciones seriadas en NaCl al 0,89 % hasta  $10^{-7}$ , de la última dilución se sembró por incorporación en agar nutritivo y se incubó a 37 °C por 24 a 48 h (Reyes et al., 2016).

### **3.5.1.3. Prueba de la lipasa**

Procedimiento modificado de Lickes (2019).

- Todas las colonias aisladas anteriormente de la dilución  $10^{-7}$ , se sembraron por puntura en agar tributirina.
- Luego se incubaron a 37 °C por 72 h.
- Finalmente se seleccionaron las colonias que produjeron halos de lipólisis  $\geq 1,5$  mm (Otárola et al., 2000).

### **3.5.1.4. Almacenamiento de colonias de interés**

- Las colonias seleccionadas se sembraron en viales con agar nutritivo por estrías y se llevaron a incubar 37 °C por 24 h.
- Se codificaron, se sellaron con cinta adhesiva y se llevaron a refrigerar.

### **3.5.2. Prueba de antagonismo**

Procedimiento modificado de Astorga et al. (2014).

- Para esta prueba se necesitó un cultivo joven de 18 h de cada cepa de interés en Caldo nutritivo y en agar nutritivo sembrado por diseminación usando un hisopo estéril.
- La prueba de antagonismo se realizó con la técnica de difusión con cilindros de agar.
- Utilizando un hisopo estéril, se impregnó con el Caldo nutritivo que contenía la cepa joven de interés y posteriormente se realizó la siembra por diseminación en una placa con agar nutritivo.
- Posteriormente, utilizando un sacabocado previamente flameado, se extrajo un cilindro de agar de las placas de agar nutritivo que contenían las cepas jóvenes de interés
- Dicho cilindro de agar, se colocó en posición invertida sobre la placa de Petri, en una disposición equidistante entre cada cilindro de agar.
- Las placas fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas, tras lo cual se evaluó si alguna de las cepas microbianas presentaba actividad antagonista frente a la cepa evaluada.
- Este procedimiento se realizó por triplicado para cada una de las cepas microbianas incluidas en la investigación.

### 3.5.3. Selección de consorcios microbianos

La selección de los consorcios microbianos empleados en los cuatro tratamientos experimentales se basó en dos criterios principales: ausencia de antagonismo entre cepas y elevada actividad lipolítica, determinada mediante la formación de halos de lipólisis en agar tributirina tras 72 horas de incubación.

Cada consorcio se conformó con las tres cepas que presentaron los halos de lipólisis más amplios y que no presentaron interacciones antagónicas entre sí. A excepción de las cepas aisladas de material graso del entorno de trabajo de una cocina, cuyo consorcio estuvo conformado por 2 cepas microbianas, debido a la ausencia de una tercera cepa compatible.

La conformación de los consorcios fue la siguiente:

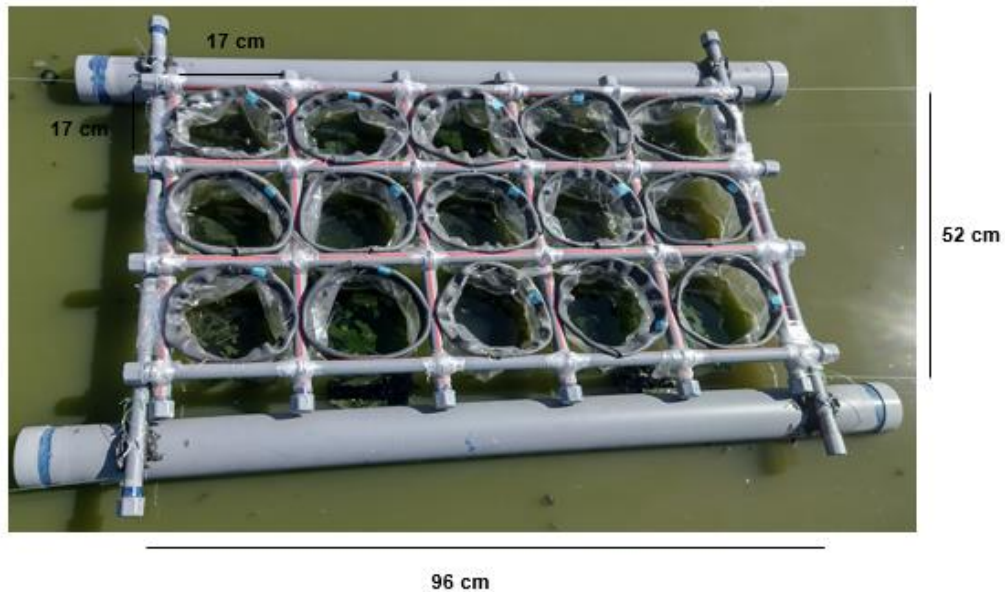
- **Consortio 1:** conformado por dos cepas microbianas aisladas de material graso adherido en superficies del entorno de trabajo de una cocina.
- **Consortio 2:** integrado por tres cepas microbianas aisladas de suelos contaminados con aceites provenientes de talleres mecánicos.
- **Consortio 3:** compuesto por tres cepas microbianas aisladas del tanque Imhoff N° 5 de la PTAR - Totorá.
- **Consortio 4:** conformado por una cepa representativa de cada uno de los consorcios anteriores, seleccionadas por presentar la mayor capacidad lipolítica dentro de su grupo de origen.

### 3.5.4. Construcción del armazón para la instalación de las unidades experimentales

- Se construyó un armazón de 5 x 3 celdas utilizando tubos de PVC de 21,34 mm, con dimensiones de 96 x 52 cm (L x A); los tubos se unieron con cordel y se reforzaron con parafilm; este armazón constó de 15 celdas, a cada una de las cuales se le colocó una bolsa de polipropileno de 2 µm de grosor y 25 x 38 cm (L x A), formando las unidades experimentales. Las bolsas fueron aseguradas a lo largo de todo su diámetro con alambre y envueltas con caucho reciclado.
- Posteriormente fueron sujetadas y fijadas al armazón con nylon de 0,2 mm de grosor. Todas las celdas tuvieron una medida de 17 x 17 cm (L x A).

- Para facilitar la flotabilidad del armazón se colocó en cada extremo tubos de PVC de 88,90 mm, que fueron previamente taponados para evitar el ingreso de las aguas residuales.
- Este armazón se colocó en la laguna facultativa 1 de la PTAR – Totorá.

**Figura 3.** Medidas del armazón donde se instalaron los tratamientos en sistema de mesocosmo



### 3.5.5. Recolección de muestras de aguas residuales

Según Toapanta (2009)

- Se tomó una muestra compuesta de las aguas residuales provenientes de la caseta de distribución, que es el afluente de la laguna facultativa 1. Se realizó con el objetivo de hacer un análisis inicial de temperatura, pH, sólidos totales disueltos (STD), DBO<sub>5</sub>, grasas y aceites y para la instalación de las unidades experimentales.
- Con el equipo de protección personal adecuado, se recolectó la muestra utilizando un muestreador alargado de 1 L, previamente desinfectado con alcohol al 70 %.
- Para asegurar que la muestra fuera representativa, se tomaron las muestras en un intervalo de 12 h del día, cada 6 h (7:30 a.m., 1:30 p.m. y 7:30 p.m.), las muestras se mezclaron en un bidón.

### **3.5.6. Estandarización de la concentración microbiana**

- Se utilizó la escala de Mc Farland, donde la carga microbiana de cada cepa microbiana fue igual al tubo N° 3 que es equivalente a una concentración de  $9 \times 10^8$  UFC/mL.

### **3.5.7. Instalación de unidades experimentales (mesocosmos) y adición de consorcios de microorganismos**

Según Gonzáles et al. (2012) y Mendoza et al. (2020).

- Las unidades experimentales se instalaron en la laguna facultativa 1 de la PTAR – Totorá.
- Antes de la inoculación se midieron los parámetros iniciales de temperatura, pH, STD, DBO<sub>5</sub> y concentración de grasas y aceites.
- En el laboratorio previamente se prepararon los consorcios microbianos como inóculo con una concentración de  $9 \times 10^8$  UFC/mL.
- A cada unidad experimental se le agregó 3,8 L de aguas residuales previamente homogeneizadas, provenientes de la muestra compuesta.
- A las 3 repeticiones del blanco se le agregó 4 L de aguas residuales.
- En este armazón previamente construido se colocaron los 4 tratamientos con las 3 repeticiones, al blanco no se inoculó con ningún consorcio.
- Este armazón se hizo con la finalidad de mantener las condiciones ambientales *in situ*, formando así un mesocosmo, como se muestra en la Figura 4.
- Se ubicaron los tratamientos en las celdas de manera aleatoria y posteriormente se etiquetaron.
- Posteriormente se adicionó el inóculo al 5 % (200 mL) a cada unidad experimental para iniciar con el experimento.
- Finalmente, a los 4 extremos del armazón conteniendo las unidades experimentales, se amarró con hilo de Nylon de 0,9 mm de grosor. Luego se colocó el armazón aproximadamente al centro de la laguna facultativa 1, donde se sujetaron los cuatro extremos con hilos de nylon amarrados a estacas, lo que ayudó a mantener la estabilidad del armazón.

**Figura 4.** Zona de instalación de los tratamientos en la laguna facultativa 1 de la PTAR - Totora



### 3.5.8. Monitoreo del experimento

- El experimento duró 14 días luego de la inoculación de los consorcios microbianos, debido a que la laguna facultativa 1 de la PTAR – Totora posee un tiempo de retención hidráulica de 14 días.
- Finalizado el tiempo estimado del experimento se midieron los parámetros finales de temperatura, pH, STD, DBO<sub>5</sub> y la concentración de grasas y aceites.

### 3.5.9. Determinación de grasas y aceites por el método de Soxhlet

Procedimiento según los Métodos estándar para el examen de agua y aguas residuales (APHA,2023; AWWA, 2023; WPCF, 2023).

- Esta determinación se realizó tanto para la muestra inicial como para la muestra final a los 14 días.
- De cada unidad experimental se tomó 1 L de muestra de aguas residuales, luego de homogeneiza se acidificaron con HCl, hasta obtener un pH  $\leq 2$ .
- Se colocó papel filtro tipo disco Whatman N° 4 en el embudo de filtración, y se lavó con 10 mL de agua destilada. Luego, se filtraron las muestras previamente acidificadas hasta que ya no pasara agua, y se dejó secar el papel filtro con la muestra. Posteriormente, se dobló el filtro formando un cartucho, que se colocó en un horno de aire caliente a 60 °C durante 1 h y se almacenó en un desecador hasta su procesamiento.
- Luego se pesó el balón del equipo Soxhlet limpio, se dejó secar a 105 °C por 30 min y se dejó el desecador por 30 min.

- Se colocó el cartucho con la muestra dentro del extractor Soxhlet, se añadió el hexano y se realizó el proceso de extracción por 3 h.
- Terminado el tiempo de extracción, se llevó el balón de extracción a un desecador, se evaporó el solvente, se dejó secar, se dejó enfriar por 30 min y se pesó en la balanza analítica, hasta obtener un peso constante.

#### **3.5.9.1. Cálculo para determinar la concentración de grasas y aceites**

$$\text{Grasas y aceites (mg/L)} = (\text{Pf} - \text{Pi})$$

Muestra:

- Pi = Peso inicial del balón de extracción (mg)
- Pf = Peso final del balón de extracción (mg)
- V = Volumen de muestra: (L)

#### **3.5.10. Determinación del porcentaje de remoción**

- Se determinó usando la fórmula propuesta por Ideam, 2007 citado por Gil et al. (2022)

$$\% \text{ Remoción de grasas y aceites} = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$$

Donde:

- R1: Concentración de grasas y aceites antes del tratamiento
- R2: Concentración de grasas y aceites después del tratamiento

#### **3.5.11. Identificación de microorganismos del consorcio con mayor remoción de grasas y aceites**

Las observaciones tanto macroscópicas, microscópicas, la identificación bioquímica y el perfil de sensibilidad antimicrobiana se realizaron a aquellos microorganismos del consorcio con mayor capacidad de remoción de grasas y aceites en aguas residuales de la PTAR – Totorá.

##### **3.5.11.1. Características macroscópicas**

Según Pazmiño (2016)

- Para las observaciones macroscópicas se utilizó un cultivo joven, se sembró por agotamiento en superficie y se registró las características culturales de las colonias como color, forma, tamaño, elevación y margen.

### **3.5.11.2. Características microscópicas**

Según Pazmiño (2016)

- A partir de un cultivo joven se realizó la tinción de Gram y se anotó la morfología, tamaño de los microorganismos y la respuesta a la tinción de Gram.

### **3.5.12. Pruebas bioquímicas y perfil de sensibilidad antimicrobiana**

Según MacFaddin (2003) y el Manual de Bergey y Holt (2010)

- Todas las pruebas bioquímicas y de sensibilidad antimicrobiana se realizaron usando cultivos jóvenes.
- Se realizaron pruebas de la catalasa, oxidasa, ureasa, citrato, movilidad, indol, ornitina, TSI, LIA, amilasa, desaminación de la fenilalanina, prueba de coagulasa, fermentación de los hidratos de carbono y la sensibilidad antimicrobiana.

### **3.6. Análisis estadístico**

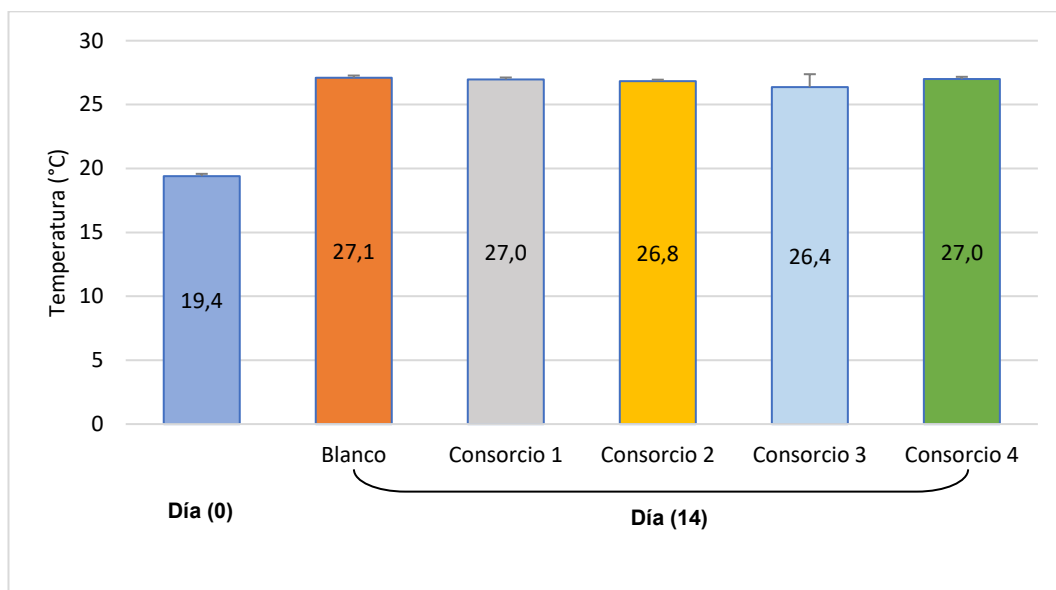
- Para la elaboración de tablas y figuras se utilizó el programa Excel.
- Para el procesamiento de datos estadísticos se usó el programa Minitab versión 21.1.0 (2023).
- A partir de los datos obtenidos de grasas y aceites de los tratamientos, se analizaron si estos datos presentaban una distribución normal, posteriormente se ejecutó la homogeneidad de varianzas y finalmente se realizaron la prueba de ANOVA y la comparación múltiple de promedios de Tukey con un nivel de confianza del 95%.
- Los datos de los parámetros físico, químico y biológico se presentaron en tablas y figuras.

#### IV. RESULTADOS

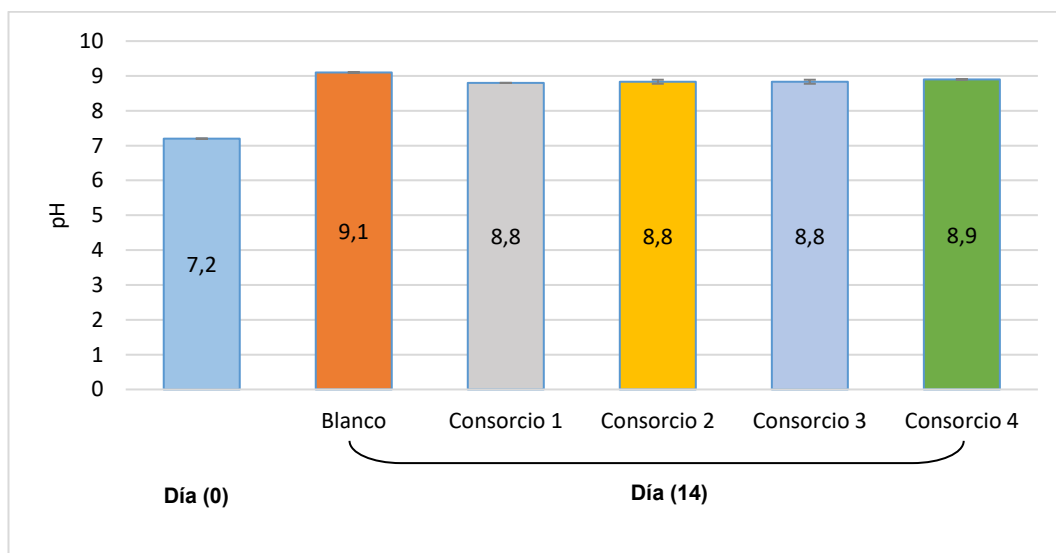
**Tabla 2.** Cepas microbianas con halo de lipólisis  $\geq 1,5$  mm, no antagónicos, que formaron los cuatro consorcios inoculados en la laguna facultativa 1 de la PTAR - Totorá, Ayacucho – 2024

Codificación de consorcios	Codificación de cepas microbianas	Características microscópicas			Grupo microbiano	Medición de halos de lipólisis (mm)
		Forma	Tamaño ( $\mu\text{m}$ )	Tinción Gram		
C1	C <sub>1</sub>	Ovaladas	2,40 x 1,40		Levadura	3
	C <sub>2</sub>	Bacilos, con endosporas céntricas	2,78 x 0,75	+	Bacteria	2,5
C2	S <sub>1</sub>	Bacilos	1,18 x 0,96	-	Bacteria	2,5
	S <sub>2</sub>	Bacilos, con endosporas céntricas	1,01 x 0,53	+	Bacteria	2
	S <sub>3</sub>	Bacilos	1,22 x 0,24	+	Bacteria	3
C3	P <sub>1</sub>	Bacilos	1,53 x 0,48	-	Bacteria	1,6
	P <sub>2</sub>	Bacilos cortos	0,78 x 0,34	+	Bacteria	3
	P <sub>3</sub>	Cocos y cocos en racimo	0,55 x 0,55	+	Bacteria	5
C4	C <sub>1</sub>	Ovaladas	2,40 x 1,40		Levadura	3
	S <sub>3</sub>	Bacilos	1,22 x 0,24	-	Bacteria	3
	P <sub>3</sub>	Cocos y cocos en racimo	0,55 x 0,55	+	Bacteria	5

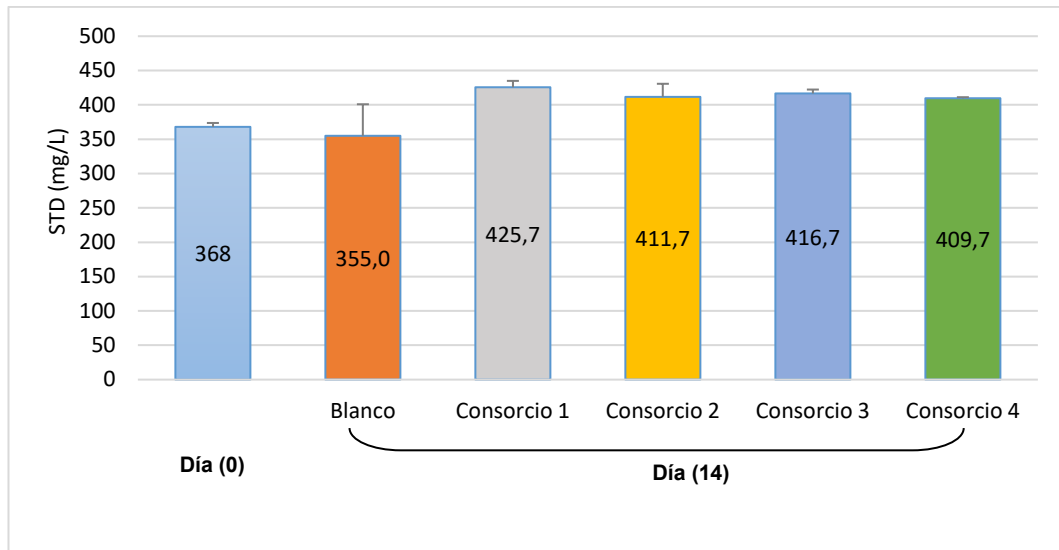
**Figura 5.** Temperatura del agua residual antes y después del tratamiento con consorcios microbianos lipolíticos en la PTAR - Totorá, Ayacucho – 2024



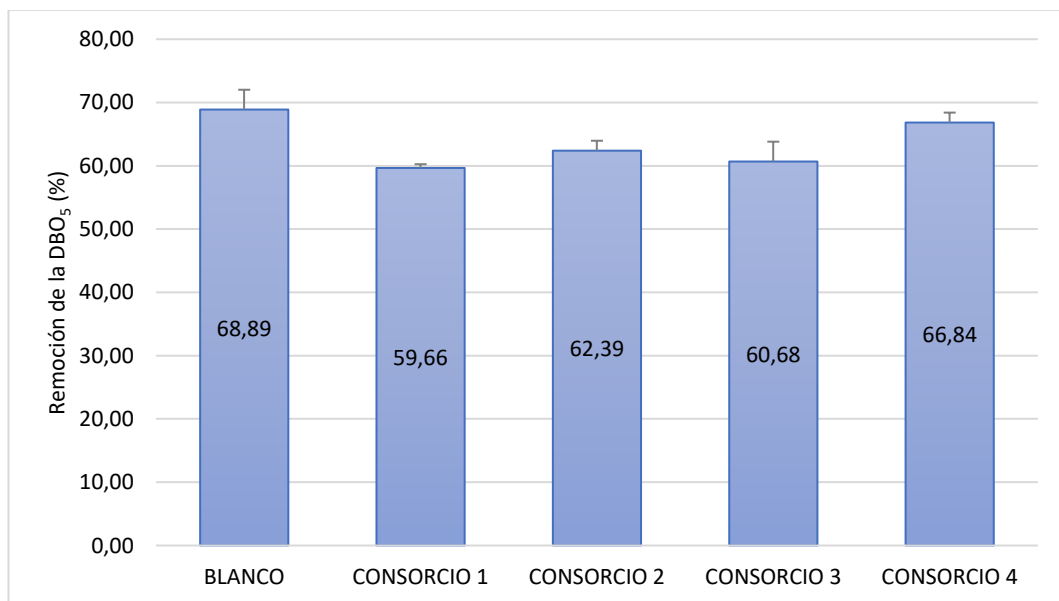
**Figura 6.** pH inicial y final en aguas residuales con consorcios microbianos lipolíticos y el blanco en la PTAR - Totorá, Ayacucho - 2024



**Figura 7.** Variación de los sólidos totales disueltos (STD) en aguas residuales tratadas con consorcios microbianos lipolíticos y blanco en la PTAR - Totorá, Ayacucho – 2024



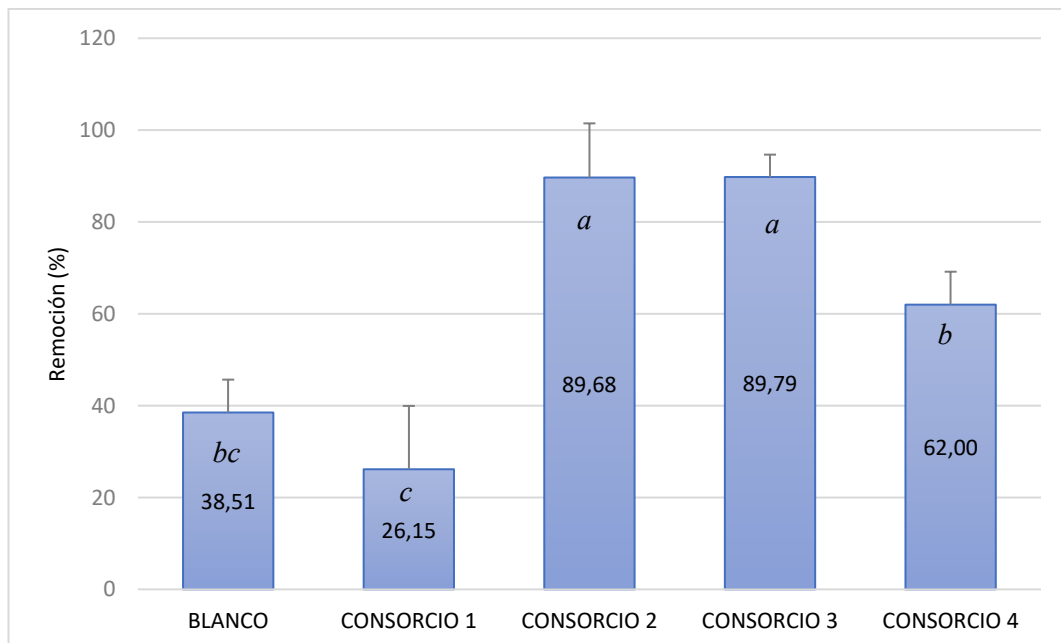
**Figura 8.** Porcentaje de remoción de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>) en aguas residuales de la PTAR - Totorá con consorcios microbianos lipolíticos, Ayacucho - 2024



**Tabla 3.** Porcentaje de remoción de grasas y aceites en aguas residuales de la PTAR - Totorá con consorcios microbianos lipolíticos, Ayacucho - 2024

Medición de grasas y aceites (día)	Tratamientos	Concentración (mg/L)	Remoción de grasas y aceites (%)
0	-	32,63±6,86	-
	C0	20,07±2,34	38,51 ± 7,16
14	C1	24,10±4,50	26,15 ± 13,79
	C2	3,37±3,85	89,68 ± 11,79
	C3	3,33±1,59	89,79 ± 4,87
	C4	12,40±2,34	62,00 ± 7,17

**Figura 9.** Porcentaje de remoción de grasas y aceites en aguas residuales de la PTAR – Totorá con consorcios microbianos lipolíticos, Ayacucho - 2024



**Tabla 4.** Identificación de las cepas microbianas del consorcio 2, aisladas de suelos contaminados con aceites de talleres mecánicos, que presentó uno de los mayores niveles de remoción de grasas y aceites en aguas residuales de la PTAR - Totorá, Ayacucho – 2024

Caracterización y pruebas bioquímicas		Cepas microbianas		
		S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>
<b>Características Macroscópicas</b>		Colonia mediana, color blanquecino, forma circular, borde entero, elevación convexa	Colonia pequeña, blanquecino, forma circular, borde entero, elevación umbonada, margen ondulado	Colonia pequeña, color crema, forma circular, borde rizoide, elevación convexa
<b>Características Microscópicas</b>	Tamaño (µm)	1,10x0,55	1,02x0,53	1,25x0,22
	Forma	Bacilos	Bacilos cortos con endosporas céntricas	Bacilos
	Tinción Gram	(-)	(+)	(+)
	Prueba de lipasa	(+)	(+)	(+)
	Prueba de hidrólisis de almidón	(-)	(-)	(-)
	Prueba de lecitinasa	(+)	(-)	(-)
	Prueba de la catalasa	(+)	(+)	(+)
	Prueba de oxidasa	(+)	(-)	(-)
	Prueba de citrato	(+)	(+)	(+)
	Prueba de movilidad	(+)	(+)	(-)
	Prueba del indol	(-)	(-)	(-)
	Prueba de ornitina	(-)	(+)	(+)
	Prueba de la ureasa	(-)	(+)	(-)
	TSI	K/A	NR	NR
	Producción de gas	(-)	NR	NR
	Producción de SH <sub>2</sub>	(-)	NR	NR
	LIA	K/A	NR	NR
<b>Pruebas bioquímicas</b>	Crecimiento en Agar Pseudomonas (Observación en rayos UV)	Colonia fluorescente verde pálido	NR	NR
	Crecimiento en agar Mac Conkey	G	NR	NR
	Glucosa	(+)	(+)	(-)
	Lactosa	(-)	(+)	(+)
	Ribosa	(+)	(-)	(+)
	Fructosa	(+)	(+)	(+)
	Rafinosa	(-)	(+)	(-)
	Galactosa	(+)	(-)	(-)
	Maltosa	(+)	(+)	(+)
	Sacarosa	(-)	(+)	(+)
	Manosa	(+)	(-)	(-)
	Manitol	(+)	(+)	(-)
	Novobiocina	S	NR	NR
	Oxacilina	S	NR	NR
	Tetraciclina	S	NR	NR
	Vancomicina	R	NR	NR
	Sulfametoxazol + Trimetoprima	S	NR	NR
	Penicilina	S	NR	NR
	Amikacina	S	NR	NR
	Microorganismo identificado	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Rhodococcus erythropolis</i>

**Nota:** +: positivo; -: negativo; NR: no se dispone de resultados; R: resistente; S: sensible, G: Crecimiento

**Tabla 5.** Identificación de las cepas microbianas del consorcio 3, aisladas del tanque Imhoff N° 5 de la PTAR - Totorá, que presentó uno de los mayores niveles de remoción de grasas y aceites en aguas residuales, Ayacucho - 2024

Caracterización y pruebas bioquímicas		Cepas microbianas			
		P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	
Características Macroscópicas		Colonia pequeña, color cremosa, forma irregular, borde ondulado, elevación convexa, en AMS colonias amarillo pálido	Colonia pequeña, color cremoso, forma circular, borde entero, elevación convexa	Colonia pequeña, color cremoso con centro crema oscuro, forma circular, borde entero, elevación convexa, en AMS colonias blancas sin variación en el color del medio	
	Tamaño (µm)	1,53x0,49	0,78x0,34	0,55x0,55	
Características Microscópicas	Forma	Bacilos cortos	Bacilos cortos	Cocos y cocos en racimos	
	Tinción Gram	(-)	(+)	(+)	
	Prueba de lipasa	(+)	(+)	(+)	
Pruebas bioquímicas	Prueba de hidrólisis de almidón	(+)	(+)	(-)	
	Prueba de lecitinasa	(-)	(+)	(-)	
	Prueba de la catalasa	(+)	(+)	(+)	
	Prueba de la oxidasa	(-)	(-)	(-)	
	Prueba de citrato	(+)	(+)	(+)	
	Prueba de movilidad	(+)	(+)	(-)	
	Prueba del indol	(-)	(-)	(-)	
	Prueba de ornitina	(-)	(-)	(+)	
	Prueba de la ureasa	(+)	(-)	(+)	
	TSI	K/A	NR	NR	
	Producción de gas	(+)	NR	NR	
	Producción de SH <sub>2</sub>	(-)	NR	NR	
	LIA	K/A	NR	NR	
	Prueba de coagulasa	NR	NR	(-)	
	Desaminación de la fenilalanina	(-)	(-)	(-)	
	Crecimiento en agar Mac Conkey	G	NR	NR	
	Fermentación de los hidratos de carbono	Glucosa	(+)	(+)	(+)
		Lactosa	(-)	(+)	(-)
		Ribosa	(+)	(+)	(+)
		Fructosa	(+)	(+)	(-)
Rafinosa		(-)	(+)	(-)	
Galactosa		(+)	(+)	(+)	
Maltosa		(+)	(+)	(-)	
Sacarosa		(+)	(+)	(-)	
Manosa		(+)	(+)	(+)	
Manitol		(+)	(+)	(-)	
Prueba de sensibilidad antimicrobiana	Novobiocina	R	NR	R	
	Oxacilina	S	NR	R	
	Tetraciclina	R	NR	R	
	Vancomicina	R	NR	R	
	Sulfametoxazol + Trimetoprima	S	NR	S	
	Eritromicina	S	NR	R	
	Ampicilina	R	NR	R	
Amikacina	S	NR	S		
Microorganismo identificado		<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Leifsonia aquatica</i> *	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	

**Nota:** +: positivo; -: negativo; NR: no se dispone de resultados; R: resistente; S: sensible, \*: Antes denominado *Corynebacterium aquaticum* (Bac Dive, s.f.)

## V. DISCUSIÓN

El objetivo de esta investigación fue determinar la capacidad de remoción de grasas y aceites en aguas residuales utilizando consorcios microbianos, con el fin de evaluar el uso de microorganismos para mitigar el impacto ambiental que estas sustancias tienen en los ecosistemas acuáticos.

Se aislaron microorganismos de diferentes fuentes ricas en grasas y aceites, inicialmente se tuvieron 23 cepas microbianas: 6,9,8 cepas microbianas provenientes del entorno de trabajo de una cocina, de suelos contaminados con aceites de talleres mecánicos y de la PTAR – Totorá, respectivamente. Del total; 21 cepas microbianas presentaron actividad lipolítica, sin embargo, solo 11 presentaron halos de lipólisis  $\geq 1,5$  mm; se tomó en cuenta el antagonismo microbiano, por lo que 8 cepas microbianas formaron parte de los diferentes consorcios, tal como se muestran en los resultados obtenidos, presentados en la Tabla 2, donde se detalla que cada consorcio está compuesto por cepas microbianas del mismo origen, a excepción del consorcio 4 que fue formado por las mejores cepas microbianas de cada lugar. Las cepas microbianas de los consorcios 1, 2 y 3 fueron codificadas tal como se muestran en la Tabla 2, como C<sub>1</sub> - C<sub>2</sub>, S<sub>1</sub> - S<sub>2</sub> - S<sub>3</sub> y P<sub>1</sub> - P<sub>2</sub> - P<sub>3</sub>, respectivamente, y en ellas se identificaron dos grupos microbianos: hongos y bacterias. Dentro de los hongos se encontraba una cepa levaduriforme (C<sub>1</sub>), mientras que las bacterias fueron mayoritariamente bacilos (C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, S<sub>1</sub> y S<sub>2</sub>) y cocos individuales o cocos en racimo (P<sub>3</sub>), con una distribución entre bacterias Gram positivas (C<sub>2</sub>, S<sub>2</sub>, P<sub>2</sub> y P<sub>3</sub>) y Gram negativas (S<sub>1</sub>, S<sub>3</sub> y P<sub>1</sub>). Estos resultados son consistentes con estudios previos, como el de Pedroza et al. (2017), quienes aislaron 149 cepas microbianas de aguas residuales, de los cuales 128 fueron bacterias y 21 hongos, siendo 37 de ellos

lipolíticos. Asimismo, Agualimpia (2013) aisló 31 cepas microbianas de efluentes de una industria aceitera vegetal, de las cuales 11 mostraron actividad lipolítica, destacando hongos levaduriformes y cepas bacterianas tanto Gram positivas como Gram negativas. De igual manera Lickes (2019) realizó un aislamiento de bacterias lipolíticas de una PTAR e identificaron 20 cepas, 18 de ellas Gram negativas y 2 Gram positivas. Asimismo, Pérez et al. (2021) aislaron hongos lipolíticos de aceite de cocina usado y suelos de talleres mecánicos, encontrando hongos filamentosos de los géneros *Aspergillus* y *Fusarium*. Estos hallazgos, junto con los resultados de esta investigación, respaldan la diversidad de grupos microbianos que tienen la capacidad de degradar grasas y aceites, gracias a la producción de lipasas. Estos microorganismos son capaces de producir lipasas en presencia de fuentes ricas en grasas y aceites, lo que les permite realizar la biodegradación de estos compuestos (Aceves y Castañeda, 2012). Los resultados obtenidos en este estudio refuerzan la idea de que estos microorganismos pueden ser aislados de diferentes fuentes, como aguas residuales, aceites de cocina usados y suelos de talleres mecánicos.

Los resultados presentados en las Figuras 5, 6, 7 y 8 muestran los parámetros físico, químico y biológico antes del experimento y luego de finalizado el experimento.

Asimismo, en la Figura 5, se muestra que la temperatura del agua residual inicial fue 19,4 °C y después de 14 días esta temperatura del cuerpo de agua de mesocosmos se incrementó en todos los tratamientos y el blanco en un intervalo de 26,4 -27,1 °C; este aumento de temperatura se debe a la alta radiación solar que provoca un aumento gradual de temperatura, lo que a su vez afectan positivamente a la actividad microbiana (Fuente et al., 2010).

De igual manera en la Figura 6, se observa que el pH inicial fue de 7,2 y luego de 14 días aumentó en todos los tratamientos con consorcios microbianos incluido el blanco en un intervalo de 8,8 – 9,1. Estos resultados coinciden con los resultados obtenidos por Otárola et al. (2000) y Mendoza et al. (2020); en ambos estudios el pH inicial fue de 7-7,2 posteriormente este se incrementó hasta llegar a un pH alcalino ( $8 \pm 0,3$ ). Sin embargo, en otra investigación realizada por Gonzáles et al. (2012), donde el pH inicial como el final mostraron variaciones mínimas, manteniéndose dentro del intervalo de 7 - 7,2. A diferencia de Gil et al. (2022) reportaron un pH alcalino inicial de  $9,7 \pm 0,1$ , el cual experimentó una

disminución del pH, estabilizándose en  $8,8 \pm 0,1$ . Este aumento de pH en la investigación y en otros estudios, se debe a la actividad lipolítica de los microorganismos, esta actividad causa el aumento del pH en el agua residual (Otárola et al., 2000). Otro factor que influye en el aumento del pH en la laguna facultativa se debe a la proliferación de algas; debido a que, durante el día, la luz solar penetra y calienta la laguna, lo que facilita que las algas lleven a cabo la fotosíntesis y utilicen el  $\text{CO}_2$  disuelto en el agua; en consecuencia, se reduce la concentración de  $\text{CO}_2$ , lo que provoca un aumento del pH. Este incremento solo ocurre durante el día, ya que por la noche el proceso de fotosíntesis cesa y el pH vuelve a descender debido a la liberación de  $\text{CO}_2$ . Además, el pH varía según la profundidad de la laguna facultativa, ya que las condiciones de luz y la intensidad de la fotosíntesis no son uniformes en todas las capas del agua (Metcalf y Eddy, 1994).

Por otro lado, en la Figura 7, se observa que los STD inicialmente fueron de 368 mg/L. Finalizado el experimento, se observó una disminución en el blanco a 355 mg/L; por el contrario, en los tratamientos con los consorcios microbianos aumentó en un intervalo de 411,7 – 425,7 mg/L. El aumento de los STD en los tratamientos con consorcios microbianos, en comparación con la disminución observada en el blanco, se atribuye a la intensa actividad microbiana durante el proceso de degradación de la materia orgánica. A medida que los microorganismos descomponen los compuestos orgánicos presentes en las aguas residuales, se generan diversos subproductos, tales como metabolitos y compuestos minerales solubles, que contribuyen al incremento de los STD. Además, la alta tasa de actividad microbiana puede inducir fenómenos de autólisis o descomposición celular, liberando sustancias intracelulares y restos celulares solubles que también elevan la concentración de sólidos disueltos en el medio (Conagua, s.f.). Sin embargo, el blanco mostró una disminución de STD, debido a que, sin la adición de consorcios microbianos, no se generaron tantos subproductos disueltos con respecto a los tratamientos.

De igual manera, en la figura 8 se observa la remoción  $\text{DBO}_5$ , el blanco tuvo una mayor remoción de  $\text{DBO}_5$  de 68,89 %, seguido del consorcio 4 que presentó una remoción de 60,68 % y el consorcio 1 presentó la menor remoción de  $\text{DBO}_5$  con 59,66 %. Esto difiere con los resultados obtenidos por González et al. (2012); donde solo obtuvieron 33 % de remoción de  $\text{DBO}_5$  luego de 21 días de

tratamiento a comparación de nuestra investigación que fue 14 días. La mayor eficiencia en la remoción de la  $DBO_5$  observada en el tratamiento blanco, en comparación con los tratamientos con consorcios microbianos, puede atribuirse a la presencia de microorganismos nativos ya bien adaptados a las condiciones específicas de las aguas residuales de la PTAR – Totorá. En el caso particular del consorcio 3, compuesto por tres cepas aisladas del tanque Imhoff de la misma planta, se habría producido interferencia y competencia metabólica entre los microorganismos nativos presentes en la muestra y las cepas inoculadas, lo que podría haber limitado su eficiencia. Por otro lado, los consorcios 1, 2 y 4, al estar compuestos por cepas con actividad lipolítica específica, requieren un mayor tiempo de adaptación y presentan menor capacidad para degradar otros tipos de compuestos orgánicos, lo que también habría influido en su menor rendimiento en la remoción de  $DBO_5$  durante el periodo de evaluación. (Becerra et al., 2019; García et al., s.f.).

La remoción de grasas y aceites presentes en aguas residuales usando microorganismos se considera una alternativa para reducir el impacto negativo de estos compuestos al medio acuático; a continuación, se observan los resultados obtenidos en la Tabla 3 y en la Figura 9, se presentan los resultados de la remoción de grasas y aceites en aguas residuales de la PTAR – Totorá mediante consorcios microbianos en un mesocosmos. El consorcio 2 y 3, cada uno formado por 3 cepas microbianas, provenientes de suelos contaminados con aceites de talleres mecánicos y del tanque Imhoff N° 5 de la PTAR – Totorá mostraron mayores porcentajes de remoción en 89,68 % y 89,79 % respectivamente. En comparación de los consorcios 1 y 4 que mostraron una remoción de 26,15 % y 62 % respectivamente. El consorcio 4, formado por un aislado levaduriforme y dos aislados bacterianos, mostró una capacidad de remoción de 62%, inferior a los consorcios 2 y 3, pero superior al consorcio 1. Por último, el consorcio 1, formado por dos aislados (uno levaduriforme y uno bacteriano) de un entorno de cocina, presentó el menor porcentaje de remoción, con 26,15%, incluso por debajo del blanco, que removió 38,51%. En el anexo 5 se observan que estos resultados fueron sometidos a un análisis de varianza con un nivel de confianza del 95%, el valor de p fue  $< 0,05$ , lo que indica que al menos un tratamiento muestra una diferencia significativa en su capacidad de remoción. De acuerdo con la prueba de Tukey, el consorcio 2 y 3 presentaron una mayor capacidad de remoción, ya que estos no difieren estadísticamente.

Ambos consorcios, aunque superiores al blanco, se comportaron de manera similar, mientras que el consorcio 4 y el consorcio 1 no presentaron diferencias significativas respecto al blanco, indicando que la adición de los consorcios microbianos 2 y 3 a las aguas residuales reduce de manera significativa la concentración de grasas y aceites. Los resultados obtenidos en este estudio difieren de investigaciones previas. Por ejemplo, Otárola et al. (2000) aislaron microorganismos lipolíticos de una laguna de estabilización, obteniendo solo un 40% de remoción en condiciones de campo y un 20 % en condiciones controladas, durante un periodo de 15 días. Esta diferencia podría atribuirse a la cantidad de inóculo microbiano: en nuestro estudio, se inoculó un 5 % en los tratamientos, mientras que Otárola et al. (2000) inocularon solo 0,2 %, lo que podría haber afectado la adaptabilidad de las bacterias al medio, especialmente frente a la competencia con los microorganismos nativos presentes en las aguas residuales (Zinsser, 1994).

Otro aspecto a considerar es la baja eficiencia del consorcio 4, que estuvo compuesto por microorganismos con el mayor halo degradativo. Sin embargo, en condiciones reales del mesocosmo, no se logró la eficiencia esperada: esto podría deberse a la adaptación lenta de las levaduras al entorno acuático real, lo que afectó su capacidad competitiva frente a las bacterias inoculadas. De manera similar, la baja eficiencia de remoción observada en el consorcio 1, a comparación con el blanco, podría explicarse por la falta de adaptación de los microorganismos aislados del entorno de cocina. Al ser trasladados a un medio distinto, como las aguas residuales, es probable que no se adaptaran adecuadamente a las nuevas condiciones ambientales. Asimismo, pudo haberse generado competencia con los microorganismos nativos presentes en la PTAR-Totora, lo que habría limitado su actividad y crecimiento. En consecuencia, al enfrentarse a un entorno real de aguas residuales, el crecimiento microbiano se ralentizó, reduciendo su eficiencia en la degradación de grasas y aceites (Weiland, 2021). Los resultados de esta investigación también difieren de los obtenidos por Pazmiño (2016), quien aisló bacterias del rumen de bovinos y las inoculó en aguas residuales de la industria láctea en condiciones controladas por 28 días, obteniendo un 52 % de remoción de grasas y aceites en condiciones anaerobias, a diferencia de esta investigación que la disponibilidad de oxígeno favoreció a la mayor degradación de grasas y aceites, este resultado resalta la importancia de la disponibilidad de oxígeno en el proceso de degradación.

Mientras que en condiciones anaerobias el proceso de descomposición de grasas es más lento y menos eficiente, en presencia de oxígeno las grasas se descomponen más rápidamente en moléculas más pequeñas como ácidos grasos y glicerol, que luego se oxidan a CO<sub>2</sub> y agua, gracias a la acción de enzimas lipolíticas. La falta de oxígeno reduce la actividad de estas enzimas, lo que disminuye la eficiencia de la degradación. La importancia del oxígeno en la degradación de grasas y aceites se observa en los resultados obtenidos por Mendoza et al. (2020); donde evaluaron bacterias lipolíticas que fueron aisladas de una industria aceitera, usaron 2,5 % de inóculo por 15 días con aireación y a temperatura ambiente se alcanzó una remoción máxima de 78,75 % de grasas y aceites; esta coincide con esta investigación donde los resultados obtenidos con los consorcios 2 y 3, que utilizaron microorganismos aislados de suelos contaminados con aceites de talleres mecánicos y microorganismos nativos de la PTAR – Totorá respectivamente, se asemeja al porcentaje de remoción obtenidas por estos consorcios tal como se muestra en la Tabla 3 y en la Figura 9.

Por otro lado, los estudios realizados por González et al. (2012), quienes reportaron una remoción máxima del 91,4 % de grasas y aceites tras 21 días utilizando consorcios bacterianos endógenos. De manera similar, en la investigación de Gil et al. (2022), se utilizó 29 cepas bacterianas como inoculante ambiental, provenientes de la tecnología EM-microorganismos complementadas con un filtro donde se inocularon en aguas residuales de una industria metalmeccánica, posteriormente luego de 5 días lograron una remoción de grasas y aceites de 85,71 % a 98,9 %. Estas investigaciones tuvieron una mejor remoción que esta investigación, donde se usó 2 – 3 cepas microbianas por consorcio microbiano, a comparación de estas investigaciones que usaron 5 a 29 cepas respectivamente por consorcio.

En la Tabla 4 y 5 se muestran los resultados de las identificaciones de los consorcios 2 y 3, que presentaron los mayores porcentajes de remoción de grasas y aceites en aguas residuales de la PTAR – Totorá, se hizo la identificación de estos microorganismos con las características macroscópicas, microscópicas, tinción Gram, las pruebas bioquímicas y el antibiograma. Se identificaron estos microorganismos tomando en cuenta a MacFaddin (2003); Bergey y Holt (2010) y BacDive (s.f.) del consorcio 2 se identificaron 3 especies

de microorganismos como *Pseudomonas fluorescens* (S<sub>1</sub>), *Bacillus* sp. (S<sub>2</sub>), *Rhodococcus erythropolis* (S<sub>3</sub>) y en el consorcio 3 se identificaron 3 especies de microorganismos donde como *Proteus mirabilis* (P<sub>1</sub>), *Leifsonia aquatica* (P<sub>2</sub>) y *Staphylococcus saprophyticus* (P<sub>3</sub>).

Los microorganismos del consorcio 2 fueron aislados de suelos contaminados con aceites provenientes de talleres mecánicos. Diversos estudios han reportado la capacidad del género *Pseudomonas*, particularmente de cepas aisladas de ambientes ricos en aceites minerales, para participar en procesos de degradación (Ilesanmi et al., 2020). Específicamente, *Pseudomonas fluorescens* ha sido documentada por Aceves y Castañeda (2012) como un microorganismo eficaz en la eliminación de grasas y aceites presentes en aguas residuales municipales, utilidad que también ha sido respaldada por Amaya et al. (2021). Por otra parte, el género *Bacillus* es ampliamente reconocido como uno de los más predominantes en suelos, este grupo bacteriano ha sido aislado en múltiples estudios realizados en suelos contaminados con aceites, destacándose por su notable capacidad lipolítica (Lee et al., 2015; Ilesanmi et al., 2020). Además, diferentes investigaciones han utilizado consorcios microbianos que incluyen al *Bacillus* para la degradación de grasas y aceites en aguas residuales (Otárola et al., 2000; Bhumibhamon y Phattayakorn, 2003; Gonzáles et al., 2012). Asimismo, *Rhodococcus erythropolis* ha demostrado capacidad lipolítica en la degradación de grasas y aceites municipales, según Kiss et al. (2015), lo que destaca su potencial en el tratamiento de aguas residuales con compuestos lipídicos.

Por otro lado, los microorganismos del consorcio 3 que fueron aislados del tanque Imhoff N° 5 de la PTAR – Totorá, algunos de estos géneros identificados concuerdan con la investigación de Otárola et al. (2000), donde identificaron *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter agglomerans*, *Bacillus* sp. y *Staphylococcus* sp. que fueron aislados de aguas residuales de la extractora Palmar de Oriente. Sin embargo, en una investigación realizada por Lickes (2017); en el que aisló e identificó bacterias lipolíticas de aguas residuales de una PTAR donde identificaron diversos microorganismos como: *Serratia marcescens*, *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus*, *Acinetobacter junii/johnsonii*, *Comamonas testosteroni*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*,

*Aeromonas sobria*, *Aeromonas hydrophila/caviae*, *Pasteurella aerogenes*, *Pasteurella* spp., *Chromobacterium violaceum*, *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens* y *Bacillus coagulans*; donde no encontraron géneros microbianos identificados por nuestra investigación.

Los microorganismos del Consorcio 3, que presentaron uno de los mayores porcentajes de remoción; son microorganismos comunes en las aguas residuales, ya que son microorganismos presentes en los tractos intestinales y mucosas de los humanos y animales (Ríos et al., 2017), la capacidad lipolítica de *Staphylococcus saprophyticus*, así como la del género *Staphylococcus* en general, ha sido reportada en múltiples estudios (Otárola et al., 2000; Prasad y Manjunath, 2010; Aceves y Castañeda, 2012; Pazmiño, 2016; Lickes, 2019). En cuanto a *Leifsonia aquatica*, cuya capacidad lipolítica fue reportado por (BacDive, s.f.). Por otro lado, la capacidad lipolítica de *Proteus mirabilis* fue reportada por Lopardo (2016), pero no se hallaron investigaciones relacionadas que hayan aislado o utilizado *Leifsonia aquatica*, *Proteus* sp. o *Proteus mirabilis* en la degradación de grasas y aceites en aguas residuales.

## VI. CONCLUSIONES

1. Las cepas lipolíticas que resaltaron por su capacidad degradativa, pertenecen a tres cepas bacterianas (P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> y P<sub>3</sub>), dos cepas microbianas (C<sub>1</sub> y C<sub>2</sub>) y tres cepas bacterianas (S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub> y S<sub>3</sub>), fueron aisladas del tanque Imhoff N° 5 de la PTAR – Totorá, material graso adherido del entorno de trabajo de una cocina y de suelos contaminados con aceites de talleres mecánicos, respectivamente.
2. El antagonismo o ausencia de este, entre cepas lipolíticas aisladas del mismo entorno, permitió la formación de consorcios con cepas con capacidad degradativa de grasas y aceites y compatibles; los consorcios 1,2 y 3 fueron formados por cepas aisladas de: material graso adherido del entorno de trabajo de una cocina, de suelos contaminados con aceites de talleres mecánicos y del tanque Imhoff N° 5 de la PTAR – Totorá, respectivamente y el consorcio 4 por cepas con mayor capacidad degradativa entre todas las aisladas.
3. La remoción de grasas y aceites por los consorcios 1,2,3,4 fueron de 26,15; 89,68; 89,79; 62,0 % respectivamente, a comparación del blanco que tuvo un 38,51 %. Los consorcios 2 y 3 presentaron una mayor capacidad de remoción en condiciones de mesocosmos.
4. Se identificaron los microorganismos con mayor capacidad de remoción de grasas y aceites. En el consorcio 2 se identificaron *Pseudomonas fluorescens* (S<sub>1</sub>), *Bacillus* sp. (S<sub>2</sub>) y *Rhodococcus erythropolis* (S<sub>3</sub>); y en el consorcio 3 se identificaron *Proteus mirabilis* (P<sub>1</sub>), *Leifsonia aquatica* (P<sub>2</sub>) y *Staphylococcus saprophyticus* (P<sub>3</sub>).

## **VII. RECOMENDACIONES**

1. Formar cultivos mixtos con las mejores cepas microbianas de esta investigación.
2. Usar diferentes concentraciones del inóculo microbiano y trabajar con diferentes volúmenes de los inóculos microbianos.
3. Realizar experimentos con aireación asistida en sistema de mesocosmos.
4. Realizar más estudios de uso de consorcios microbianos en mesocosmos en diferentes épocas del año.
5. Realizar consorcios con microorganismos lipolíticos aislados en este estudio y microorganismos con capacidad degradativa de materia orgánica y observar en que influye en la remoción de  $\text{DBO}_5$ .
6. Realizar la identificación molecular de las cepas microbianas, ya que son técnicas más precisas.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aceves, A y Castañeda, L. (2012). Producción biotecnológica de lipasas microbianas, una alternativa sostenible para la utilización de residuos agroindustriales. *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica. Vol. 19(3)*, 244-247. <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v19n3/v19n3a1.pdf>
- Aqualimpia, B. (2013). *Microorganismos con la capacidad de degradar grasas y aceites vegetales presentes en el efluente del proceso de refinación de aceites de C.I. Saceites S.A.* [Tesis de maestría, Universidad Industrial de Santander].  
Biblioteca UIS.  
<http://tangara.uis.edu.co/biblioweb/tesis/2013/147491.pdf>
- Aguamarket. (s.f). Nata. Mi Aguamarket.  
<https://www.aguamarket.com/diccionario/terminos.asp?Id=1249>
- Alban, T y Castelo, A. (08/11/2018). Microorganismos Lipolíticos y Sus Aplicaciones. Scribd.  
<https://es.scribd.com/presentation/392649516/Microorganismos-Lipoliticos-y-sus-aplicaciones>
- Amaya, V., Chávez, G. y Morillón, P. (2021). Escalamiento del proceso de eliminación de grasas en aguas residuales municipales. *Renewable Energy, Biomass & Sustainability Vol 3 (1): 47- 52*
- APHA, AWWA, WPCF. (2023). Métodos estándar para el examen de agua y aguas residuales. 24° edición. Editorial: American Public Health Association.
- Aquae. (s.f.). ¿Por qué verter un litro de aceite usado contamina 1,000 litros de agua potable? *Aquae Fundación*. <https://www.fundacionaquae.org/por-que-verter-un-litro-de-aceite-usado-contamina-1-000-litros-de-agua-potable/>
- Astorga, K., Meneses, K., Zúñiga, C., Brenes, J., y Rivera, W. (2014). Evaluación del antagonismo de *Trichoderma sp.* y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo. *Revista Tecnología eMujican Marcha*, 27(2), pág. 82–91. <https://doi.org/10.18845/tm.v27i2.1929>
- BacDive (s.f.). *Leifsonia aquatica* 150 is a mesophilic bacterium that was isolated from distilled water. <https://bacdive.dsmz.de/strain/7339>
- Becerra, L., Horna, M., Barrionuevo, K. (2019) Influencia de microorganismos nativos en el tratamiento de efluentes residuales de camales. *Rev. Cuerpo Med. HNAAA*.  
<https://cmhnaaa.org.pe/ojs/index.php/rcmhnaaa/article/view/231>
- Bejarano, M. E. y Escobar, M. (2015). *Eficiencia del uso de microorganismos para el tratamiento de aguas residuales domésticas en una planta de tratamiento de agua residual*. [Título profesional, Universidad de la Salle] Ciencia Unisalle. [https://ciencia.lasalle.edu.co/ing\\_ambiental\\_sanitaria/299](https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_ambiental_sanitaria/299)
- Bergey, D y Holt, J. (2010). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. (2ª ed., vol. 4). Editorial Board.
- Bhumibhamon, O and Phattayakorn, K. (2003). Lipase-Producing Microorganisms for Use in Contaminated Fat and Oil Kitchen Wastewater Treatment. *Kasetsart J. (Nat. Sci.) 37: 327 – 333*

- Catania, V y Quatrini, P. (2023). A bacterial consortium for treatment of Fat, Oil, and Grease (FOGs) in wastewater treatment plants. *IRIS UNIPA* (2) <https://hdl.handle.net/10447/622874>
- CBR Ingeniería. (15/06/2021). Remoción de contaminantes: ¿De qué trata este proceso? <https://blog.cbr-ingenieria.com.mx/proceso-de-remocion-de-contaminantes#:~:text=La%20remoci%C3%B3n%20de%20contaminantes%20es,pueda%20volver%20a%20ser%20utilizado.>
- Comisión Nacional del Agua (s.f.). *Manual de Agua Potable, Alcantarillado y Saneamiento Introducción al Tratamiento de Aguas Residuales Municipales*. Subdirección General de Agua Potable, Drenaje y Saneamiento
- Environmental Protection Authority [EPA]. (2023). What we can learn from mesocosms – and how to create your own little world. *EPA*. <https://www.epa.govt.nz/community-involvement/science-at-work/mesocosms/>
- Fahmi Rashid, M., Alqedra, F. y Alam, M (2023). Biodegradation of fats, oil and grease using microorganisms isolated from palm oil mill effluent. *Iium Engineering Journal*, 24 (2), 1–10. <https://doi.org/10.31436/iiumej.v24i2.2590>
- Ferrovial. (s.f.). Aguas residuales. *Ferrovial*. <https://www.ferrovial.com/es/recursos/aguas-residuales/#:~:text=Las%20aguas%20residuales%20son%20las,para%20ser%20purificadas%20y%20reaprovechables.>
- Foekema, E. (s.f.). Mesocosms. *Wageningen- University. & Research*. <https://www.wur.nl/en/show/mesocosms.htm>
- Fuente, M; Matute, M y Méndez, M. (2010). Diseño de depuración de aguas residuales en el municipio de San Jorge (Nicaragua). *Library*. [https://1library.co/article/condiciones-operativas-de-las-lagunas-facultativas.q76e92ky?utm\\_source=chatgpt.com](https://1library.co/article/condiciones-operativas-de-las-lagunas-facultativas.q76e92ky?utm_source=chatgpt.com)
- García, H., Rodiles, C., Lopez, V y Gutierrez, H. (s.f.). Adaptación de consorcio de microorganismos nativos para el tratamiento de aguas residuales con alta carga orgánica. *Smbb*. [https://smbb.mx/congresos%20smbb/puertovallarta03/TRABAJOS/AREA\\_VII/CARTEL/CVII-3.pdf](https://smbb.mx/congresos%20smbb/puertovallarta03/TRABAJOS/AREA_VII/CARTEL/CVII-3.pdf)
- GC tratamiento. (2023). ¿Qué es una PTAR y cuál es su importancia? *Marketer Digital*. <https://gctratamiento.mx/que-es-una-ptar/#:~:text=PTAR%20son%20las%20iniciales%20de,presentes%20en%20el%20agua%20residual.>
- Gil, J., Rincón, T. y Salinas, E. (2022). Tratamiento de grasas y aceites por medio de bacterias lipolíticas en aguas residuales de industria metalmecánica. *Publicaciones E Investigación*, 16(1). <https://doi.org/10.22490/25394088.5632>
- González Canal, I. y González Ubierna, J. (2015). *Aceites usados de cocina. Problemática Ambiental, incidencias en redes de saneamiento y coste del tratamiento en depuradoras*. *Residuosmunicipales.Cat*. <https://www.residuosmunicipals.cat/uploads/activitats/docs/20170427092548.pdf>

- González, D., Amaíz, L., Medina, L., Vargas, R., Izzeddin, N. y Valbuena, O. (2012). Biodegradación de residuo graso industrial empleando bacterias endógenas. *Revista latinoamericana de biotecnología ambiental y algal* 3(2):105-118. <http://www.solabiaa.org/ojs3/index.php/RELBAA/article/view/37>
- Grupo Herres. (s.f.). ¿Qué es el aceite mineral y para qué sirve? *Grupo Herres*. <http://www.grupoherres.com.mx/aceite-mineral/>
- Hidrika. (01/02/2023). No de más vueltas, la grasa y el aceite en su PTAR es su mayor problema, ¿cómo reducir su impacto? *Linkedin*. <https://www.linkedin.com/pulse/de-m%C3%A1s-vueltas-la-grasa-y-el-aceite-en-su-ptar-es-mayor-hidrika-/?originalSubdomain=es>
- Huané, L y Rivera, R. (2014). *Evaluación de la adición de un inóculo para estimular a escala de laboratorio la biodegradación de efluentes grasos*. [Título profesional, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. Cybertesis-Repositorio de tesis digitales. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20,500.12672/3885>
- Iagua. (09/04/2018). La importancia de la separación de aceites y grasas en el tratamiento del agua residual urbana. *Teqma*. <https://www.iagua.es/noticias/teqma/importancia-separacion-aceites-y-grasas-tratamiento-agua-residual-urbana>
- Ibañez, C. (30/05/2023). Separación de grasas y aceites mediante sistema DAF. *Sigmadaf*. <https://sigmadafclarifiers.com/separacion-de-aceites-y-grasas-mediante-sistemas-daf/#:~:text=en%20aguas%20residuales-,La%20opci%C3%B3n%20m%C3%A1s%20eficaz%20es%20separar%20los%20aceites%20y%20grasas,el%20proceso%20de%20tratamiento%20secundario>
- IIDENUT. (2022). Clasificación actualizada de los lípidos. *Iidenut- Bioquímica clínica nutricional*. <https://www.iidenut.org/instituto/2018/10/16/clasificacion-actualizada-de-los-lipidos/>
- Ilesanmi, O., Adekunle, A., Omolaiye, A., Olorode, M., and Ogunkanmi, L. (2020). Isolation, optimization and molecular characterization of lipase producing bacteria from contaminated soil. *Scientific African*, 8, e00279. <https://doi.org/10.1016/J.SCIAF.2020.E00279>
- Jurado, A. (2017). Contaminación y manejo de aceites lubricantes usados. *Hoy en La Salle*. <https://hoy.lasalle.mx/contaminacion-y-manejo-de-aceites-lubricantes-usados/>
- Kiss, Á., Laczi, K., Zsíros, S., Rákhely, G., and Perei, K. (2015). Biodegradation of animal fats and vegetable oils by *Rhodococcus erythropolis* PR4. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 105, 114–119. <https://doi.org/10.1016/J.IBIOD.2015.08.015>
- Lee L., Karbul H., Citartan M., Gopinath S., Lakshmi Priya T., Tang T. (2015) Lipase-Secreting Bacillus Species in an Oil-Contaminated Habitat: Promising Strains to Alleviate Oil Pollution. *Biomed Res Int. Volume 2015* (09 pág). <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4477129/pdf/BMRI2015-820575.pdf>
- Lickes, S. (2019). Aislamiento y caracterización de bacterias lipolíticas en aguas residuales de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la

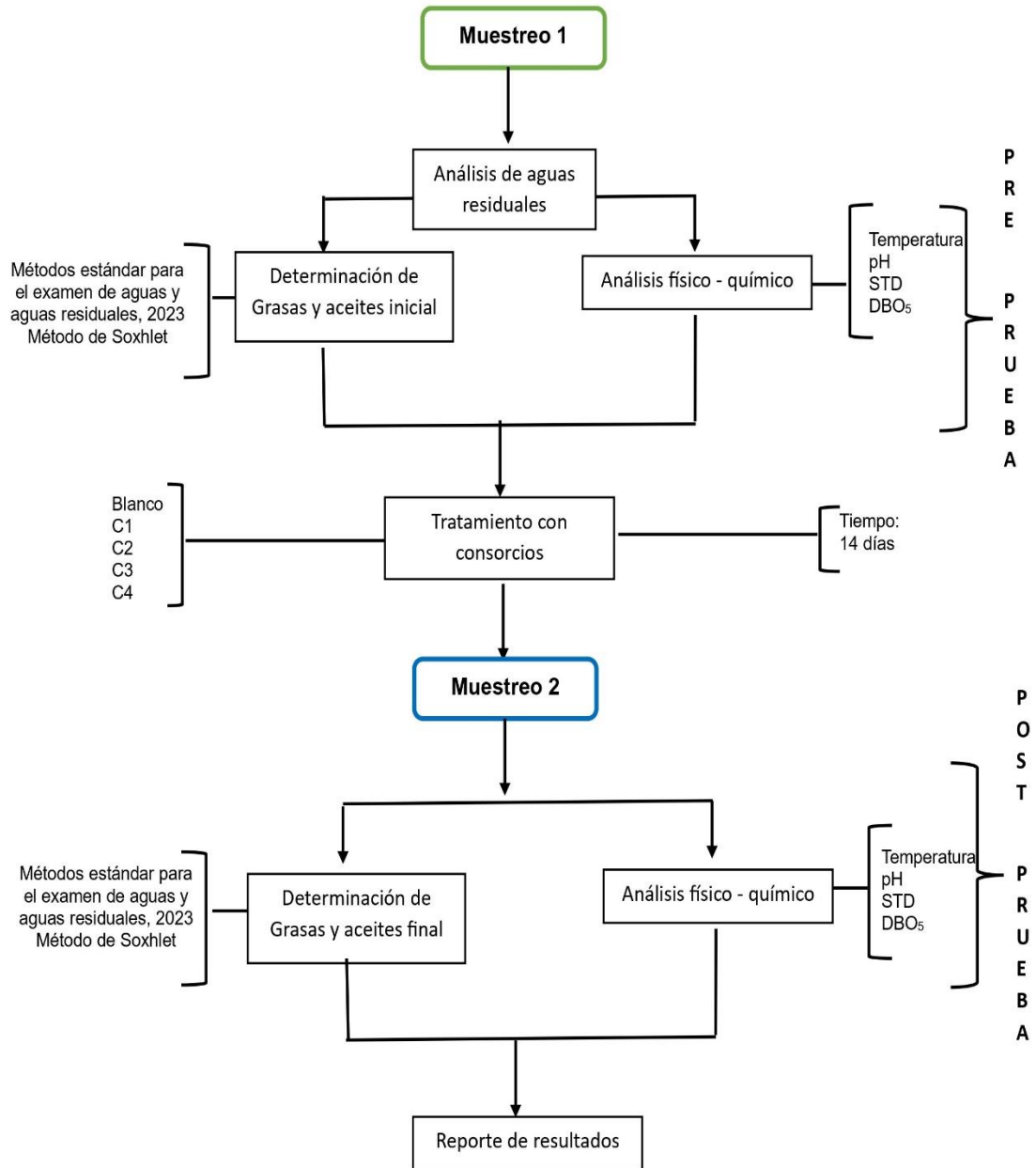
- Universidad de San Carlos de Guatemala. *Agua, Saneamiento & Ambiente*, Vol. 14 No.1. <https://revistas.usac.edu.gt/index.php/asa/article/view/1157>
- López, P. (2008). *Los mesocosmos como herramienta para la valoración de efectos ecotoxicológicos de insecticidas sobre las comunidades plantónicas*. [Título profesional, Universidad Complutense de Madrid]. Fundación Dialnet. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=193788>
- MacFaddin, J. (2003). *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica* (3ª ed.). Editorial Medica Panamericana.
- Madero, A. y Buitrago, J. (s.f.). Aislamiento y caracterización de bacteria generadora de enzimas lipolíticas para degradación de grasas y aceites. *Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Academia edu*.
- Metcalf y Eddy. (1994). *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*. (4º edición) Editorial McGraw Hill
- Mendoza, D., Lopez, M. y Montaña, A. (2020). Evaluación de la adición de bacterias lipolíticas autóctonas para estimular a escala de laboratorio la biodegradación de efluentes grasos de una industria aceitera. *Acta Nova*, 9(4), 618-640. [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1683-07892020000100009&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1683-07892020000100009&lng=es&tlng=es).
- Mendoza, J. y Soto, R. (2022). *Técnicas de biodegradación de grasas y aceites en aguas residuales* [Título profesional, Universidad César Vallejo]. Repositorio de la Universidad César Vallejo. <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20,500.12692/101098>
- Mendoza, L. (2010). *Aislamiento y selección de hongos lipolíticos a partir de aceites vegetales de desecho (proveniente de frituras) utilizados en la elaboración de biodiesel*. [Título profesional, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. Cybertesis-Repositorio de tesis digitales. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20,500.12672/872>
- Mesocosm. (2023). What is a mesocosm? *Mesocosm*. <https://mesocosm.org/about/what-is-a-mesocosm/>
- Morey, C. (s.f.). Mini Gaia. *Fundación Endesa*. <https://www.fundacionendesa.org/content/dam/fundacion-endesa-com/contribucion/premios-ecoinnovaci%C3%B3n-educativa/memoria-mini-gaia-mesocosmos.pdf>
- Moya Salazar, M. y Moya Salazar, J. (2020). Biodegradación de residuos de aceite usado de cocina por hongos lipolíticos: un estudio in vitro. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 36 (2), 351–359. <https://doi.org/10.20937/rica.53054>
- Obando, O y Suárez, Y. (2015). Obtención de cepas autóctonas de Bacillus spp. y su evaluación probiótica in vitro [Título profesional, Universidad Nacional Agraria]. Repositorio institucion UNA. <https://repositorio.una.edu.ni/3213/>
- Observatorio Ambiental de Bogotá [OAB]. (27/12/2019). Aceite de cocina, otra amenaza para los acuíferos. *OAB*. <https://oab.ambientebogota.gov.co/aceite-de-cocina-otra-amenaza-para-los->



- obtención de biodiesel en México. *Agro Productividad*, 9(11). <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/845>
- Romero, C. (2020). *Estudio de la factibilidad para el aprovechamiento del aceite usado de cocina* [Trabajo de especialización, Universidad Tecnológica Nacional]. Repositorio de la Universidad Tecnológica Nacional. <https://ria.utn.edu.ar/bitstream/handle/20,500.12272/7682/Romero-TFI-FRD-2020.pdf?sequence=1>
- Salazar, L., Hinojoza, M., Acosta, M., Escobar, A. y Scrich, A. (2020). Caracterización, clasificación y usos de las enzimas lipasas en la producción industrial. *Revista cubana de investigaciones biomédicas*, 39 (4). <https://revibiomedica.sld.cu/index.php/ibi/article/view/620/982#about>
- Salazar, Y. y Sánchez, E. (2011). *Evaluación de consorcios microbianos conformados a partir de aislamientos bacterianos con capacidad degradadora de tetranitrato de pentaeritrol (petn) y trinitrotolueno (tnt)*. [Título profesional, Universidad de La Salle]. Ciencia Unisalle. [https://ciencia.lasalle.edu.co/ing\\_ambiental\\_sanitaria/101/](https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_ambiental_sanitaria/101/)
- SSWM (2020) Lagoon systems. *Dukus Eylul*. <https://web.deu.edu.tr/atiksu/ana52/ani4044-13.html>
- Synertech. (s.f.). Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas Compacta Sbr. *Nyf*. <https://www.nyfdecolombia.com/aguas-residuales/plantas-de-tratamiento-de-aguas-residuales#:~:text=Una%20Planta%20de%20Tratamiento%20de,encuentran%20en%20las%20aguas%20residuales.>
- Toapanta, M. (2009). Calidad del agua: Grasas y aceites. *Dspace*. <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/6161/8/GRASASYAC EITES.pdf>
- UTN. (2016). Los aceites y las grasas. *UTN*. <https://www.frlp.utn.edu.ar/materias/qcasis/aceitesygrasas>
- Verdezoto, V. (2017). *Degradación de aceites y grasas mediante el uso de Aspergillus spp, Penicillium spp y Fusarium spp, en aguas residuales de queseras artesanales de Quimiag* [Título profesional, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. DSpace ESPOCH. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/8549>
- Wei, J; Suchawadee, W; Siriwan, P y Viyada, K. (2022). Screening of Lipolytic producing microbes from microbial consortium for treatment of palm oil contaminated wastewater. *Asia-Pacific Journal of Science and Technology: Volume: 28. Issue: 05*. [https://doi.nrct.go.th/admin/doc/doc\\_643728.pdf](https://doi.nrct.go.th/admin/doc/doc_643728.pdf)
- Weiland, N. (2021). Friends or Foes-Microbial Interactions in Nature. *Biology (Basel)*, 10(6):496. doi: 10.3390/biology10060496. PMID: 34199553; PMCID: PMC8229319.
- Zinsser. (1994). Microbiología. 20a ed. Editorial Médica Panamericana.

## ANEXOS

**Anexo 1.** Flujograma del proceso experimental de remoción de grasas y aceites de aguas residuales de la PTAR - Totora con consorcios microbianos lipolíticos, Ayacucho - 2024



**Anexo 2.** Parámetros físico, químico y biológico antes y después de tratamiento con consorcios microbianos lipolíticos en la PTAR – Totorá, Ayacucho - 2024

Parámetros (día)	Tratamientos	Temperatura (°C)	pH	STD (mg/L)	DBO <sub>5</sub> (mg o <sub>2</sub> /L)
<b>0</b>		19.4	7.2	368	195
<b>14</b>	<b>Blanco</b>	27.1±0.17	9.1±0.00	355.0±45.90	60.7±6.11
	<b>Consortio 1</b>	27.0±0.15	8.8±0.00	425.7±9.29	78.7±1.15
	<b>Consortio 2</b>	26.8±0.12	8.8±0.06	411.7±19.09	73.3±3.06
	<b>Consortio 3</b>	26.4±1.01	8.8±0.06	416.7±5.69	76.7±6.11
	<b>Consortio 4</b>	27.0±0.17	8.9±0.00	409.7±1.53	64.7±3.06

**Anexo 3.** Prueba de normalidad de Anderson Darling de la remoción de grasas y aceites de aguas residuales de la PTAR - Totorá con consorcios microbianos lipolíticos, Ayacucho - 2024

	A cuadrado	Valor P
Blanco	0,22	0,508
Consortio 1	0,19	0,631
Consortio 2	0,42	0,101
Consortio 3	0,45	0,076
Consortio 4	0,46	0,069

**Anexo 4.** Prueba de homogeneidad de varianzas de Bartlett de la remoción de grasas y aceites de aguas residuales de la PTAR - Totorá con consorcios microbianos lipolíticos, Ayacucho - 2024

Método	Estadística de prueba	Valor p
Bartlett	2,23	0,694

**Anexo 5.** Prueba de ANOVA del porcentaje de remoción de grasas y aceites con los consorcios microbianos lipolíticos y el blanco en aguas residuales de la PTAR - Totorá, Ayacucho - 2024

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamientos	4	10117,6	2529,40	27,77	0,000
Error	10	910,9	91,09		
Total	14	11028,4			

Nota:

H0: No hay diferencia entre los tratamientos. Es decir, la capacidad de remoción no difiere.

H1: Al menos un tratamiento presenta diferencia en su capacidad de remoción con respecto a los otros tratamientos.

Nivel de significancia ( $\alpha$ ) = 0,05

**Anexo 6.** Prueba de comparación múltiples de promedios con Tukey con una confianza del 95% del porcentaje de remoción de grasas y aceites con los consorcios microbianos y el blanco en aguas residuales de la PTAR - Totorá, Ayacucho - 2024

Tratamientos	N	Media	Agrupación	
Consorcio 3	3	89,79	A	
Consorcio 2	3	89,68	A	
Consorcio 4	3	62,00	B	
Blanco	3	38,51	B	C
Consorcio 1	3	26,15	C	

Nota: Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

**Anexo 7. Recolección y naturaleza de las muestras para el aislamiento de microorganismos lipolíticos de las diferentes fuentes contaminadas con grasas y aceites, Ayacucho - 2024**



**a. Para muestras de la PTAR - Totorá:** Se tomó la muestra del tanque Imhoff N° 5 de la PTAR – Totorá, del lugar donde hubo acumulación de nata hasta las  $\frac{3}{4}$  partes de un frasco de vidrio estéril de 625 mL, se cerró, etiquetó y se llevó al laboratorio.

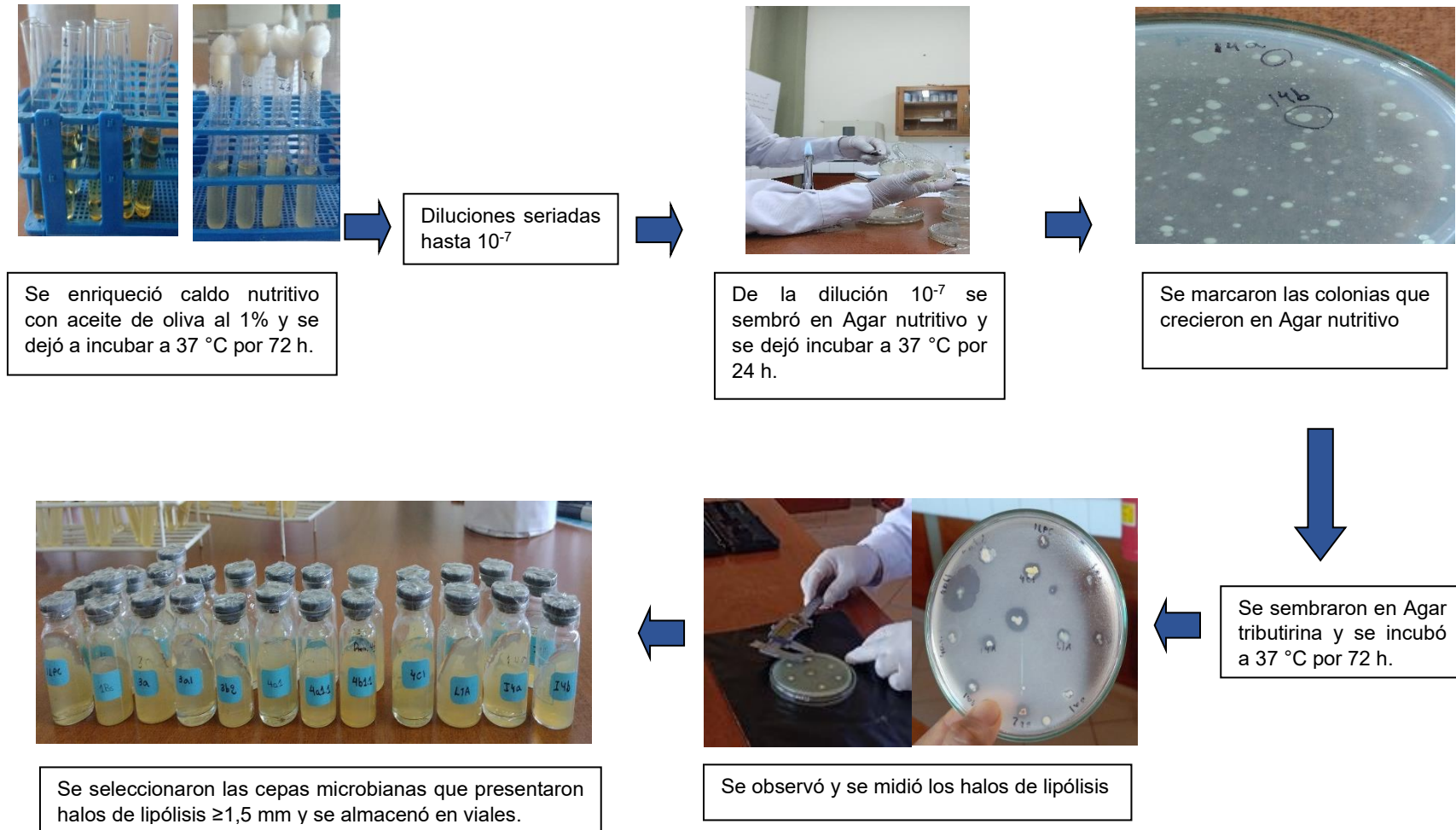


**b. Para muestras de material graso adherido del entorno de trabajo de una cocina:** Se realizó por conveniencia, con la ayuda de una espátula estéril, se raspó la zona donde había presencia de grasas y se recolectó 100 g de muestra, se etiquetó y se llevó al laboratorio

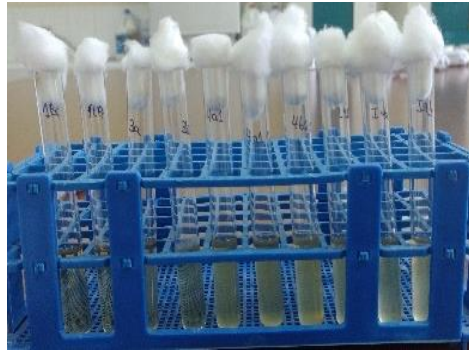


**c. Para muestra muestras de suelos contaminados con aceites provenientes de talleres mecánicos:** Se ubicó el conglomerado de talleres mecánicos de la ciudad de Ayacucho, que es la Asociación los Mecánicos perteneciente al distrito de Jesús Nazareno, donde se buscó el taller mecánico donde se observó mayor presencia de aceites en el suelo, con la ayuda de una espátula estéril se tomó la muestra de 100 g en un frasco de vidrio estéril; se etiquetó y se llevó al laboratorio

Anexo 8. Pruebas de aislamiento de cepas lipolíticas de las diferentes fuentes de aislamiento, Ayacucho - 2024



**Anexo 9.** Prueba de antagonismo microbiano por la técnica de difusión con cilindros de agar, Ayacucho - 2024



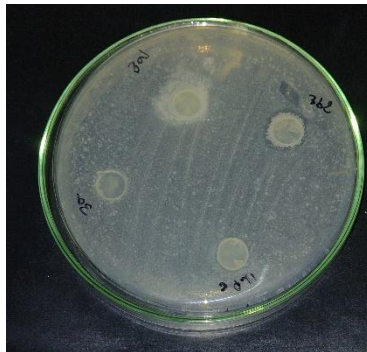
Se rejuveneció las colonias de interés en caldo nutritivo y se sembraron por 18 h.



Se realizó la siembra por disseminación en agar nutritivo y se dejó incubar a 37 °C por 24 h.



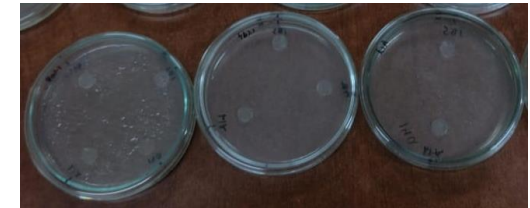
Con un sacabocado estéril se separaron discos de agar



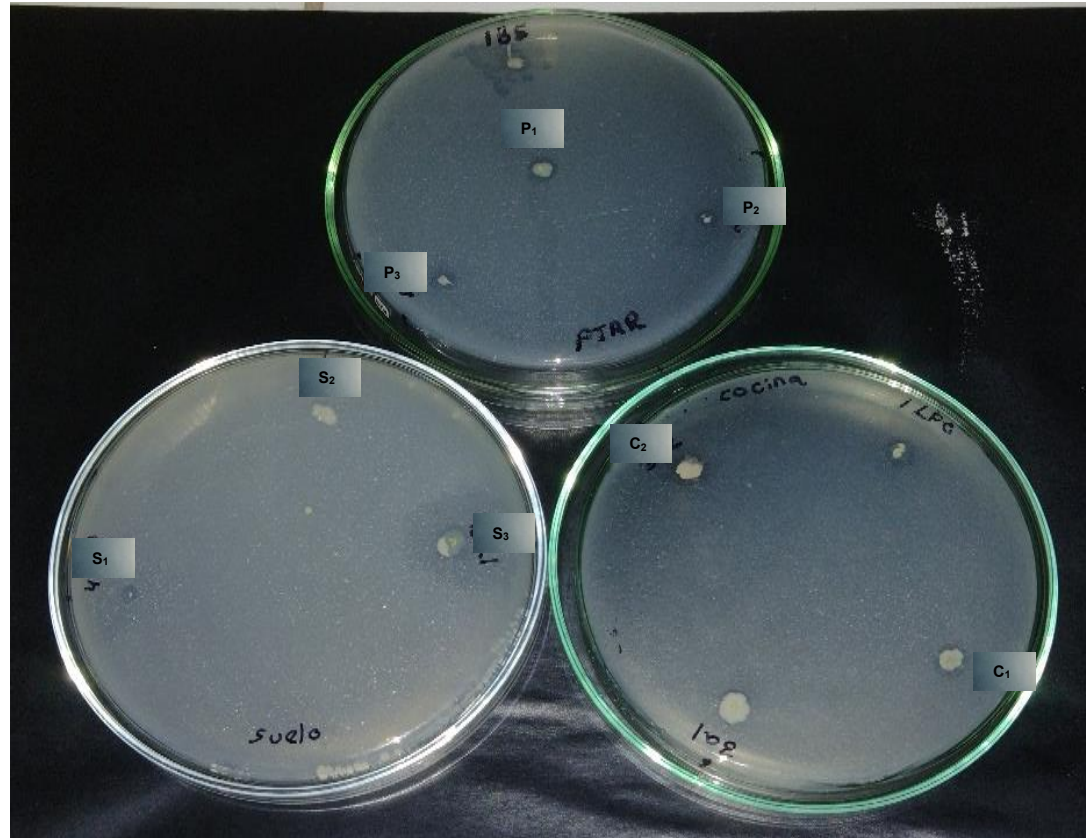
Observación de antagonismo microbiano



Se tomó un disco de agar y se colocó en la placa que se sembró previamente por disseminación y se incubó a 37 °C por 24 h.



**Anexo 10.** Selección de consorcios microbianos lipolíticos, Ayacucho - 2024



Se seleccionó las cepas microbianas que presentaron halos de lipólisis  $\geq 1,5$  mm luego de 72 h, que no se antagonizaron en la prueba anterior.

**Anexo 11. Construcción del armazón para la instalación de las unidades experimentales, Ayacucho - 2024**



Tesista en proceso de elaboración de un armazón de  $5 \times 3$  celdas, que se construyeron con tubos de PVC de 21,34 mm (96 cm de largo y ancho de 52 cm de ancho), se marró con cordel y se reforzó con parafilm. Este fue dividido en 15 celda, cada una con bolsa de polipropileno de 22  $\mu\text{m}$  de grosor (25 x 38 cm), reforzada con alambre y envuelta en caucho reciclado.



Se colocaron tubos de PVC de 88,90 mm en cada extremo del armazón, los cuales fueron taponados para evitar el ingreso de aguas residuales y mejorar la flotabilidad.

**Anexo 12.** Toma de muestra de aguas residuales de la caseta de distribución afluyente de la laguna facultativa 1 de la PTAR - Totora, Ayacucho - 2024



Con un muestreador alargado de 1L, desinfectado con alcohol y se recogió la muestra de un solo golpe sin derramar



Posteriormente se llenó el balde de 20 L previamente desinfectado, para evitar variaciones del DBO<sub>5</sub>



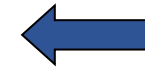
Luego se selló con cinta adhesiva y se guardó bajo sombra



Las muestras se tomaron cada 6h (7:30 a.m., 1:30 p.m., y 7:30 p.m.), obteniendo aproximadamente 20 litros por muestra, para un total de 60 litros al día.



Las 3 muestras se vertieron en un bidón de 70L desinfectado.



Finalmente se homogenizó las 3 muestras, obteniendo así una muestra compuesta

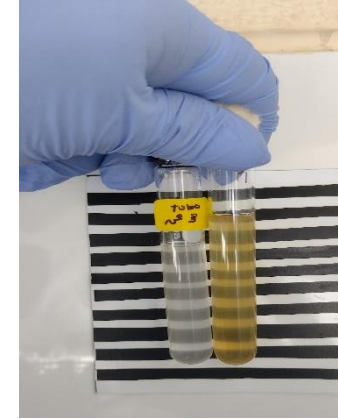
**Anexo 13.** Estandarización de la concentración microbiana de consorcios microbianos lipolíticos, Ayacucho - 2024



De un cultivo joven de 18 h. se repicó y se sembró en Caldo nutritivo



Se incubó a 37 °C, se esperó hasta llegar a la concentración deseada



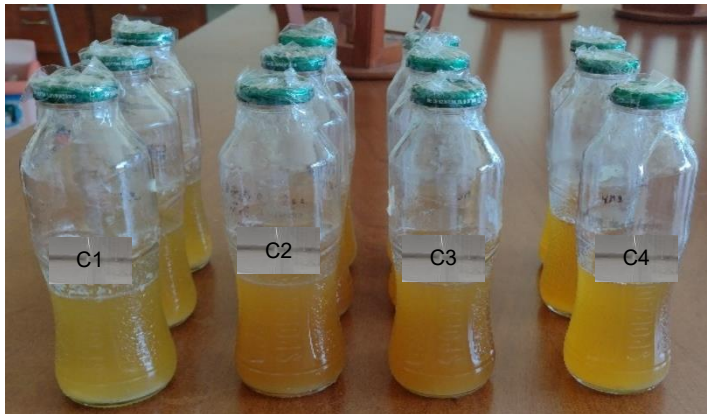
Medición de la concentración microbiana de los inóculos mediante comparación tubo N° 3 ( $9 \times 10^8$  UFC/mL) de la escala de Mc Farland



Luego se formó el inóculo microbiano para cada consorcio, hasta tener un volumen de 200 mL



Tesista en proceso de cierre hermético de frascos que contenían los inóculos



Frascos con cultivo microbiano utilizadas como inóculo

**Anexo 14.** Instalación de unidades experimentales (mesocosmos) y adición de consorcios de microorganismos en la laguna facultativa 1 de la PTAR - Totora, Ayacucho - 2024



Laguna facultativa 1 donde se instalaron las unidades experimentales



Proceso de medición de los parámetros iniciales de temperatura, pH, STD, DBO<sub>5</sub> y se tomó la muestra para determinar la concentración de grasas y aceites.



Se colocó las aguas residuales a cada unidad experimental, proveniente de la muestra compuesta y a cada blanco



Se amarraron los cuatro extremos del armazón con hilo de nylon de 0,9 mm y se colocó en el centro de la laguna facultativa 1, sujetando los extremos a estacas para asegurar la estabilidad del armazón y se inició con el experimento.



Se ubicaron los tratamientos de manera aleatoria y se etiquetaron, los inóculos microbianos (consorcios microbianos) obtenidas en el laboratorio se adicionaron un 5 % (200 mL).

**Anexo 15. Monitoreo y finalización del experimento en la laguna facultativa 1 de la PTAR - Totora, Ayacucho - 2024**



Se dejó el experimento (mesocosmos) por 14 días y se observó que el agua residual en los tratamientos y el blanco viró a verde



Se midieron los parámetros finales de temperatura, pH, STD y DBO<sub>5</sub>



Se tomaron las muestras para medir el DBO<sub>5</sub> final mediante el método respirométrico



Muestras para determinar la concentración de grasas y aceites final



Se tomaron muestras en frascos de vidrio de capacidad de 1L

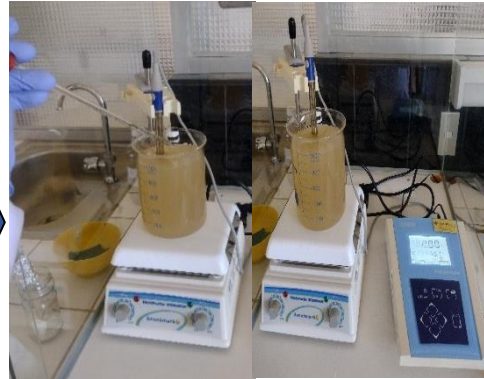


Se cerró herméticamente y se programó la medición del DBO<sub>5</sub> y se puso a incubar a 20 °C con agitación constante.

Anexo 16. Determinación de grasas y aceites por el método de Soxhlet, Ayacucho - 2024



Se obtuvo la muestra de agua residual de 1 L



Se acidificó la muestra con HCl a un pH  $\leq 2$



Se filtró la muestra con papel filtro de 0,22  $\mu\text{m}$  de porosidad



Se pesó el balón vacío

Continúa...

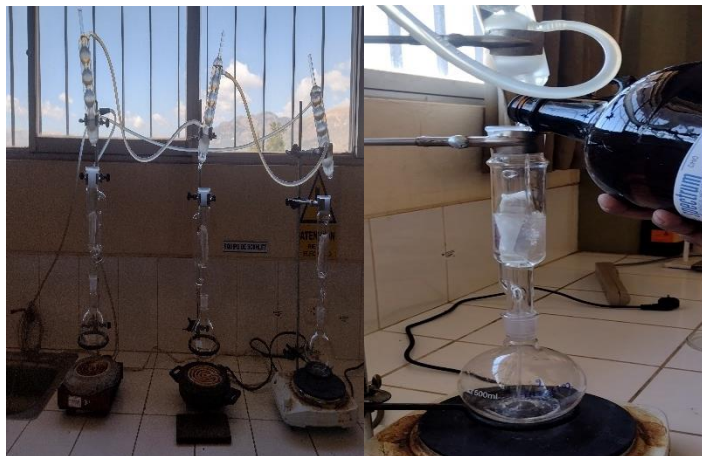


Se secó el balón del equipo Soxhlet vacío a 105 °C por 1 hora, dejar en el desecador por 30´



Se dobló el papel filtro el papel filtro, se dejó secar a 103 °C por 30´





Se colocó el cartucho con la muestra y se añadió 165 mL de hexano

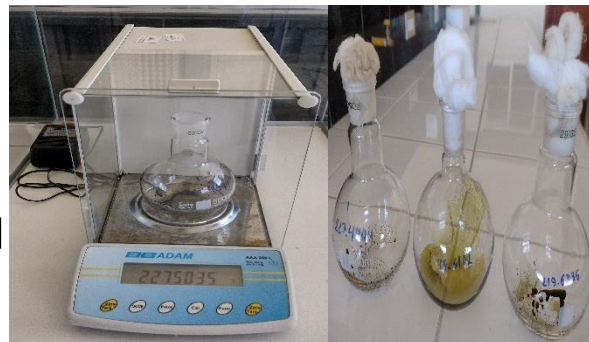


Se graduó a una velocidad de 20 ciclos/hora por 4 h., que es equivalente a una vuelta en 3 minutos y se inició con la extracción



Terminado el proceso se recuperó el solvente hexano y se dejó solo 10 mL y se dejó evaporar

Posteriormente se sacó el cálculo del porcentaje de remoción de grasas y aceites en aguas residuales



Se pesó el balón luego de la extracción

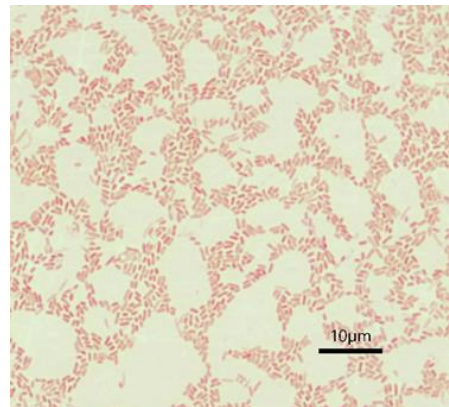


Se dejó secar el balón del equipo Soxhlet 105 °C por 30' y dejar enfriar por 30'

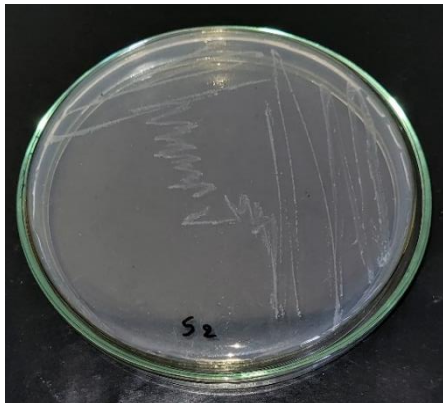
**Anexo 17.** Caracterización macroscópica y microscópica de las cepas lipolíticas del consorcio 2, aisladas de suelos contaminados con aceites de talleres mecánicos, que presentó uno de los mayores niveles de remoción de grasas y aceites en aguas residuales de la PTAR – Totorá. A) Colonia cepa S<sub>1</sub>; B) Cepa S<sub>1</sub>, forma bacilar, tamaño 1,10x0,55 μm y Gram negativo; C) Colonia cepa S<sub>2</sub>; D) Cepa S<sub>2</sub>, forma bacilar con endosporas céntricas, tamaño 1,02x0,53 μm, Gram positivo E) Colonia cepa S<sub>3</sub> F) Cepa S<sub>3</sub>, forma bacilar, tamaño 1,25x0,22 μm, Gram positivo; las fotografías B, D y F fueron tomadas y medidas por un microscopio Nikon Eclipse Si, con el Software Toup View, Ayacucho - 2024



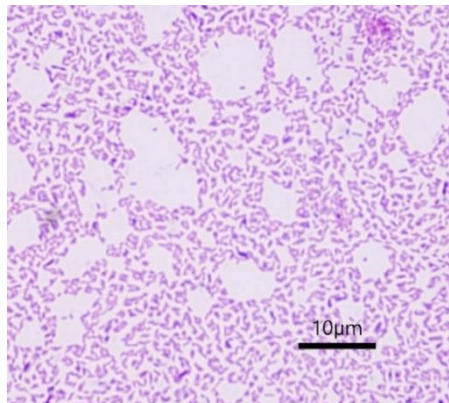
**A**



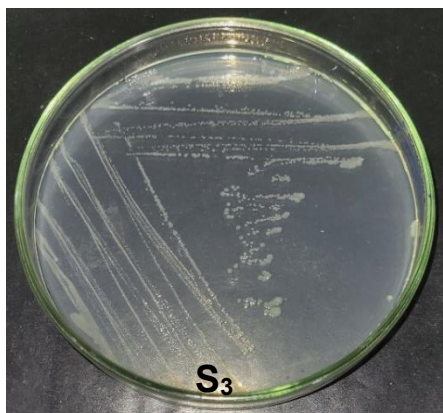
**B**



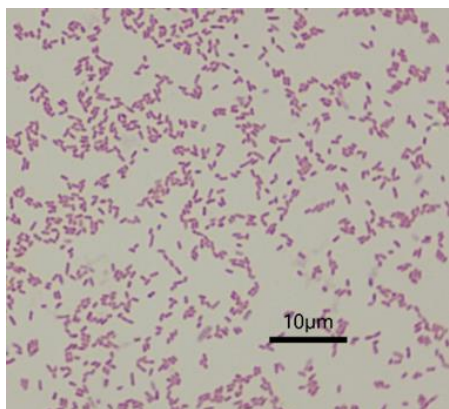
**C**



**D**

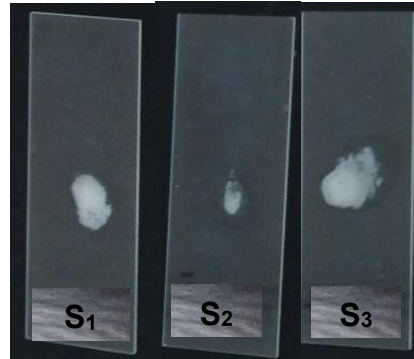


**E**

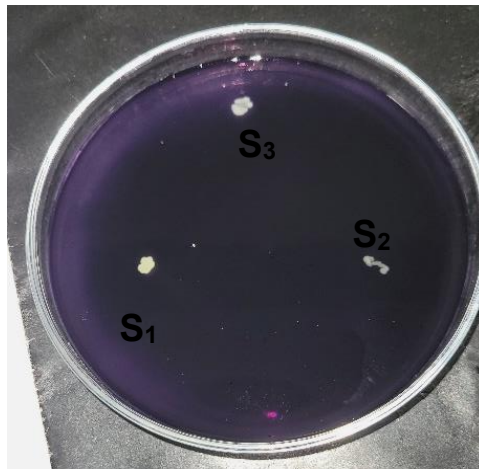


**F**

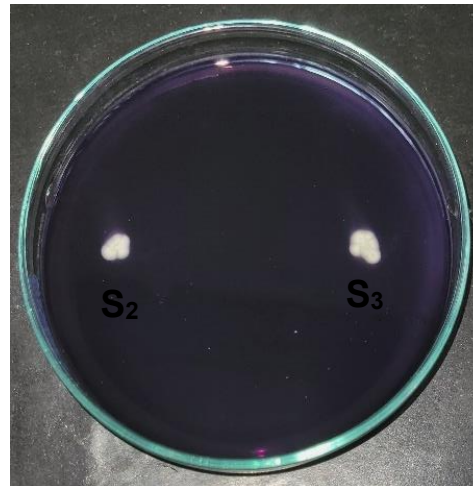
Anexo 18. Pruebas bioquímicas (Consortio 2), Ayacucho - 2024



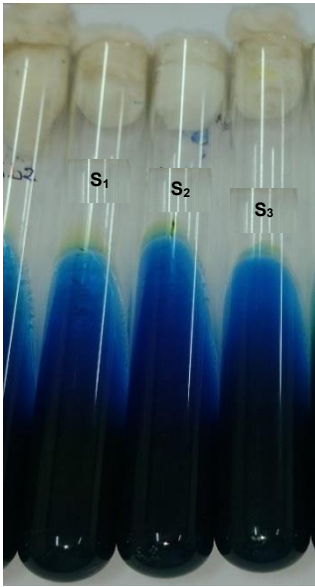
Prueba de catalasa



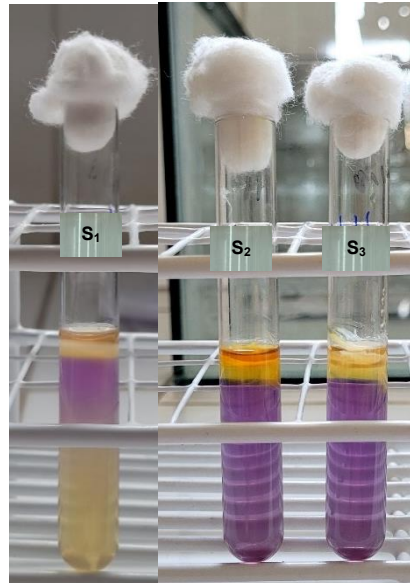
Prueba de amilasa



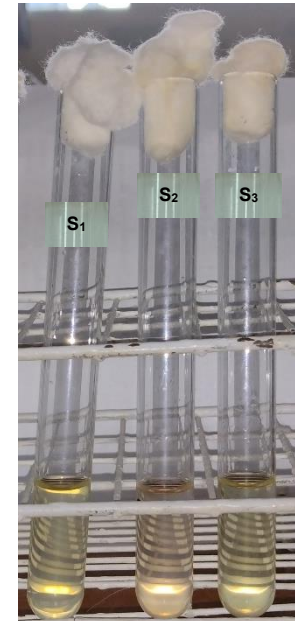
Crecimiento en agar Mac Conkey (MAC)



Prueba de citrato



Prueba de movilidad, indol y ornitina



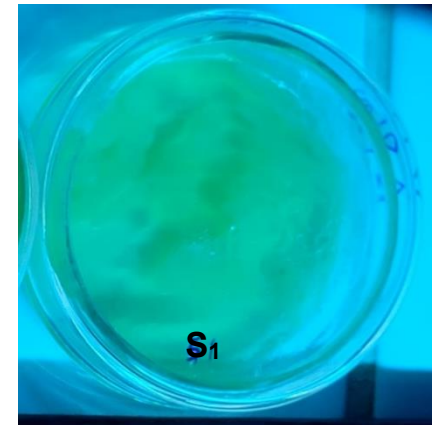
Prueba de la ureasa



Prueba de TSI



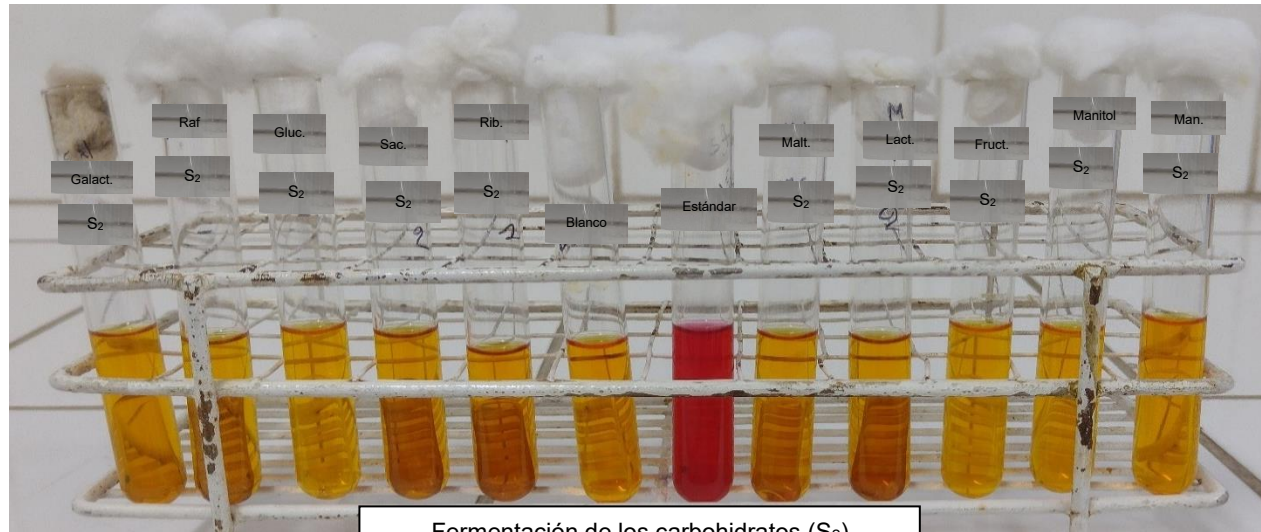
Prueba de LIA



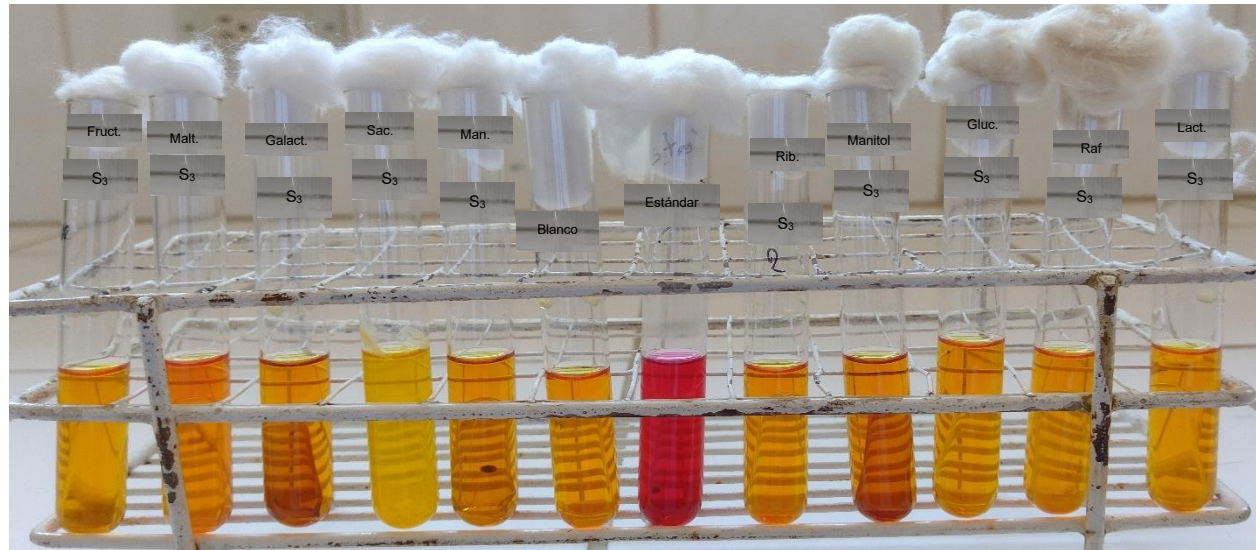
Observación de fluorescencia bajo luz UV



Fermentación de los carbohidratos (S<sub>1</sub>)

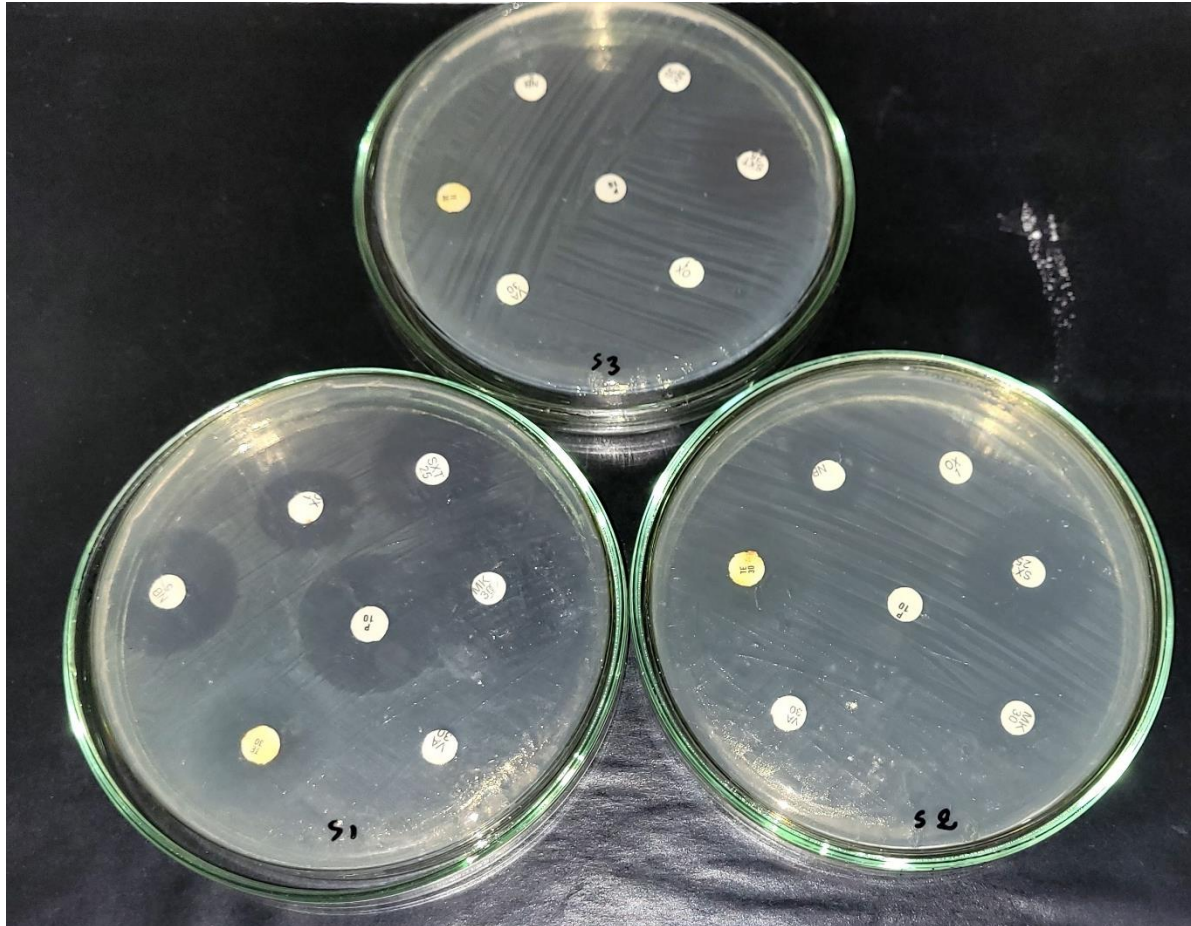


Fermentación de los carbohidratos (S<sub>2</sub>)



Fermentación de los carbohidratos (S<sub>3</sub>)

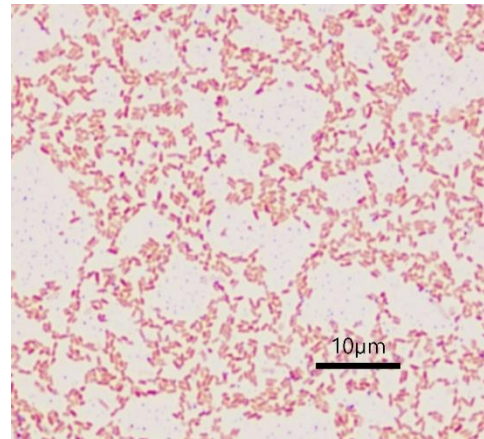
**Anexo 19.** Perfil de resistencia antimicrobiana (Consortio 2), Ayacucho - 2024



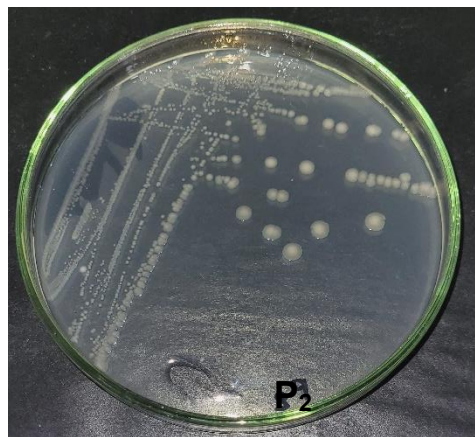
**Anexo 20.** Caracterización macroscópica y microscópica de las cepas lipolíticas del consorcio 3, aisladas del tanque Imhoff N° 5 de la PTAR – Totorá, que presentó uno de los mayores niveles de remoción de grasas y aceites en aguas residuales de la PTAR – Totorá. A) Colonia cepa P<sub>1</sub>; B) cepa P<sub>1</sub>, forma bacilar, tamaño 1,53x0,49 μm y Gram negativo; C) colonia cepa P<sub>2</sub>; D) Cepa P<sub>2</sub>, forma bacilar, tamaño 0,78x0,34 μm, Gram positivo E) Colonia cepa P<sub>3</sub> F) Cepa P<sub>3</sub>, forma de cocos y cocos en racimos, tamaño 0,55x0,55 μm, Gram positivo; las fotografías B, D y F fueron tomadas y medidos por un microscopio Nikon Eclipse Si, con el Software Toup View, Ayacucho-2024



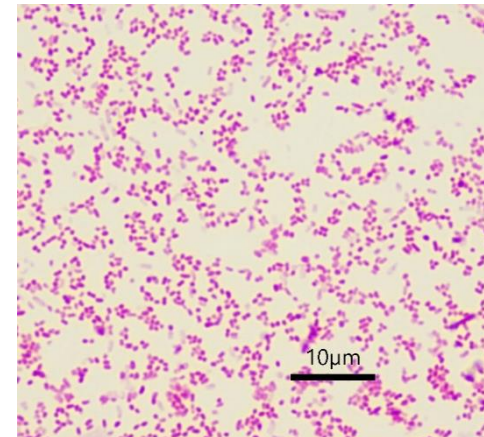
**A**



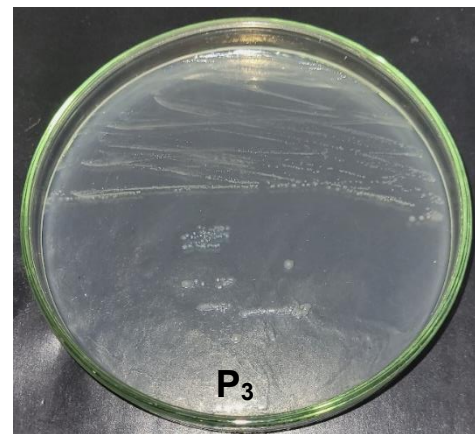
**B**



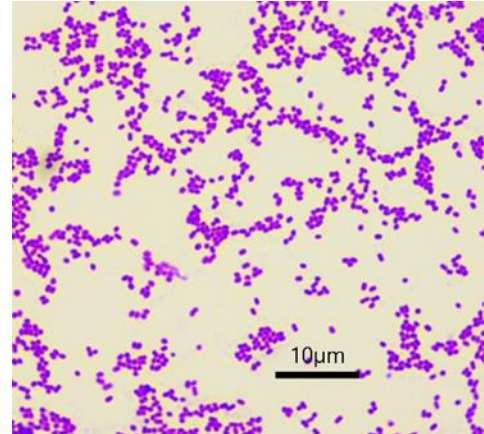
**C**



**D**

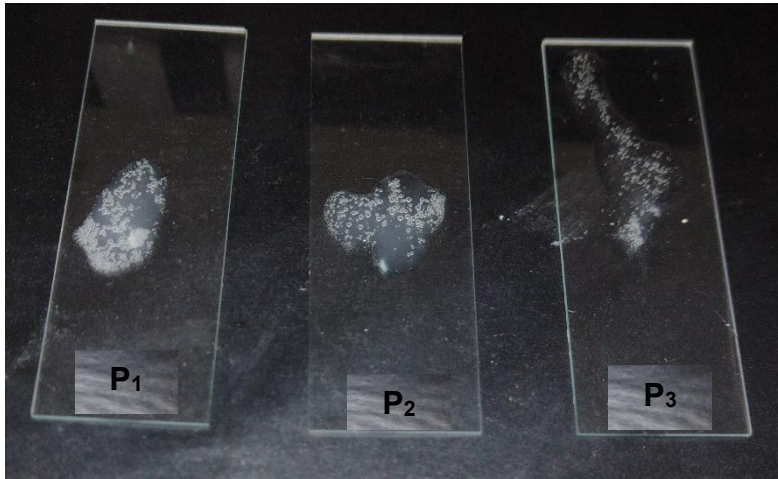


**E**

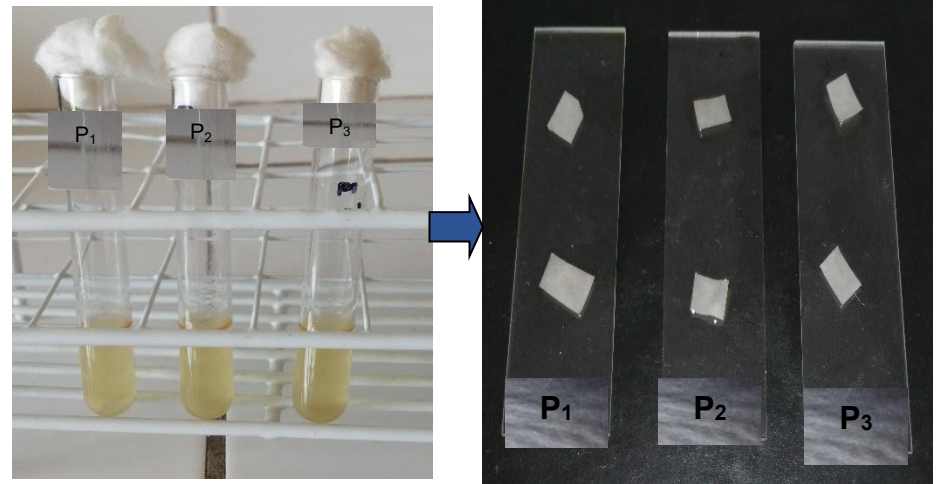


**F**

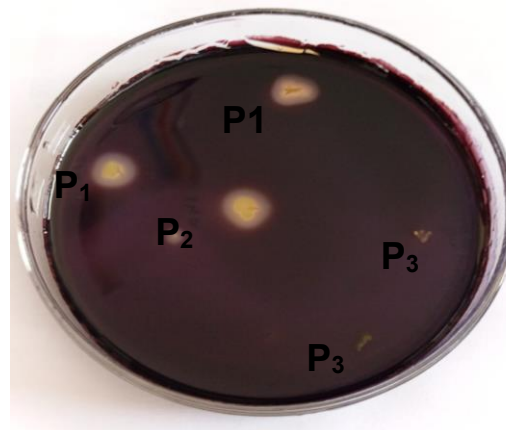
Anexo 21. Pruebas bioquímicas (Consortio 3), Ayacucho - 2024



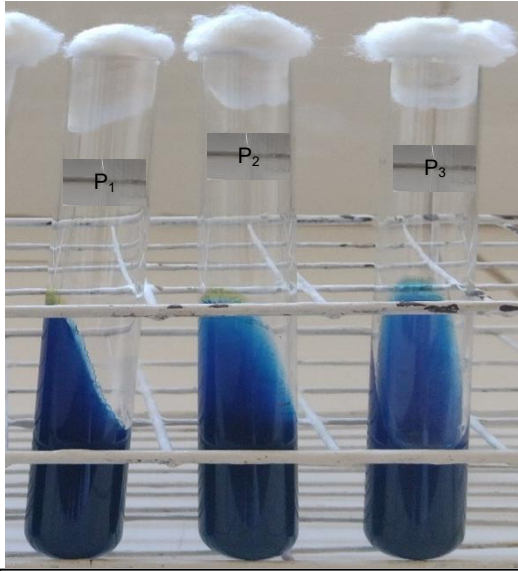
Prueba de catalasa



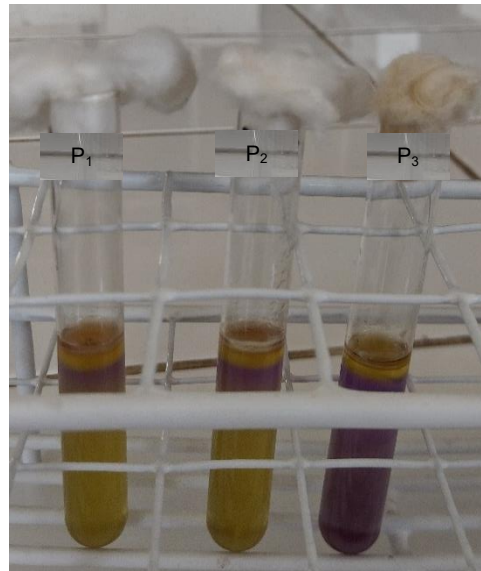
Prueba de oxidasa



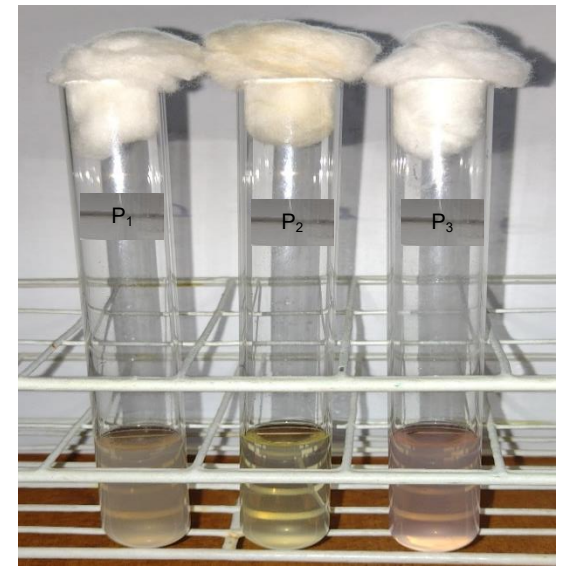
Prueba de amilasa



Prueba de citrato



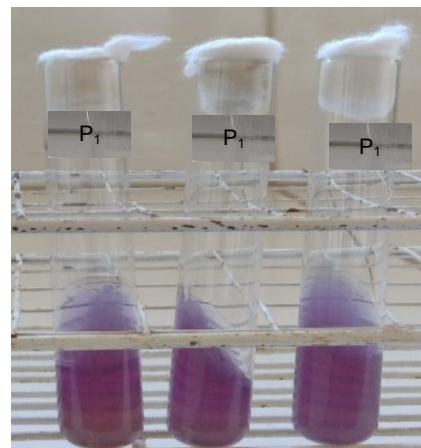
Prueba de movilidad, indol y ornitina



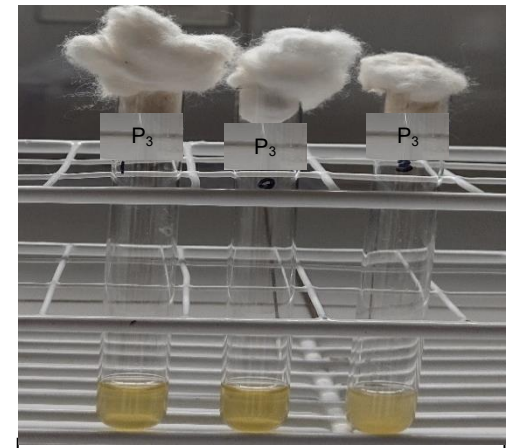
Prueba de la ureasa



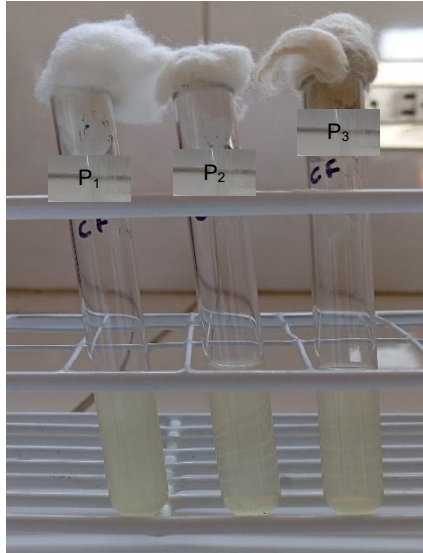
Prueba de TSI



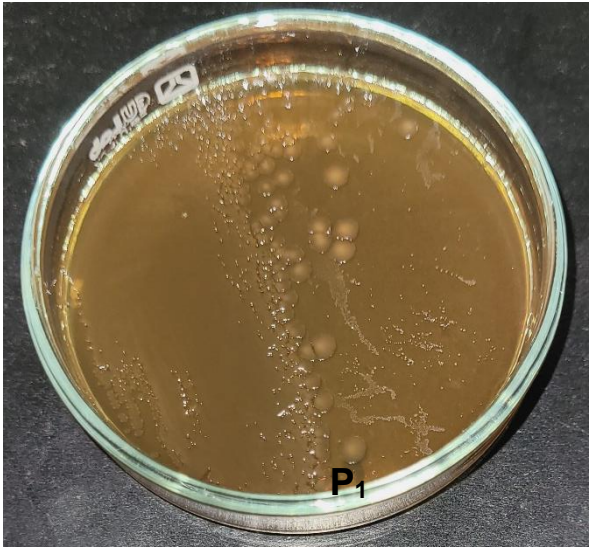
Prueba de LIA



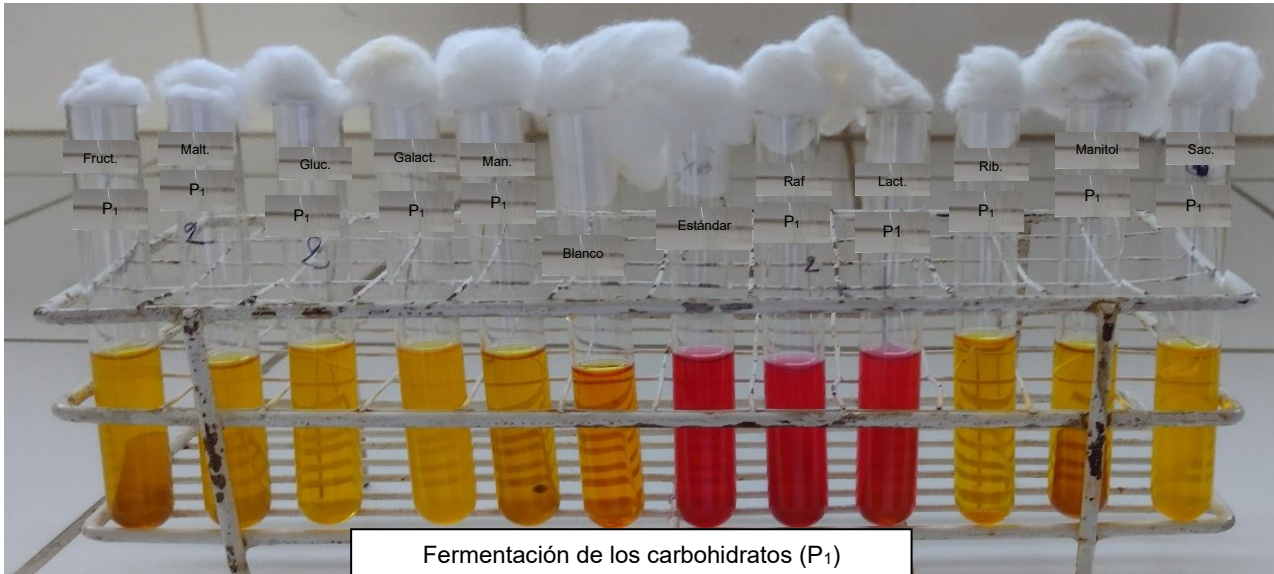
Prueba de la coagulasa



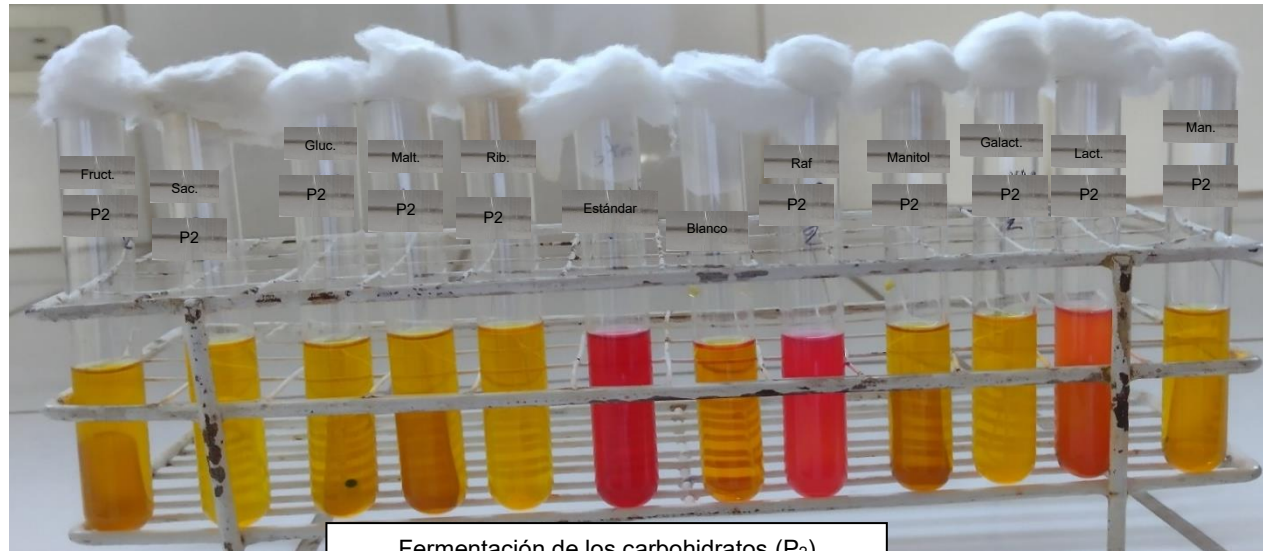
Prueba de la desaminación de la fenilalanina



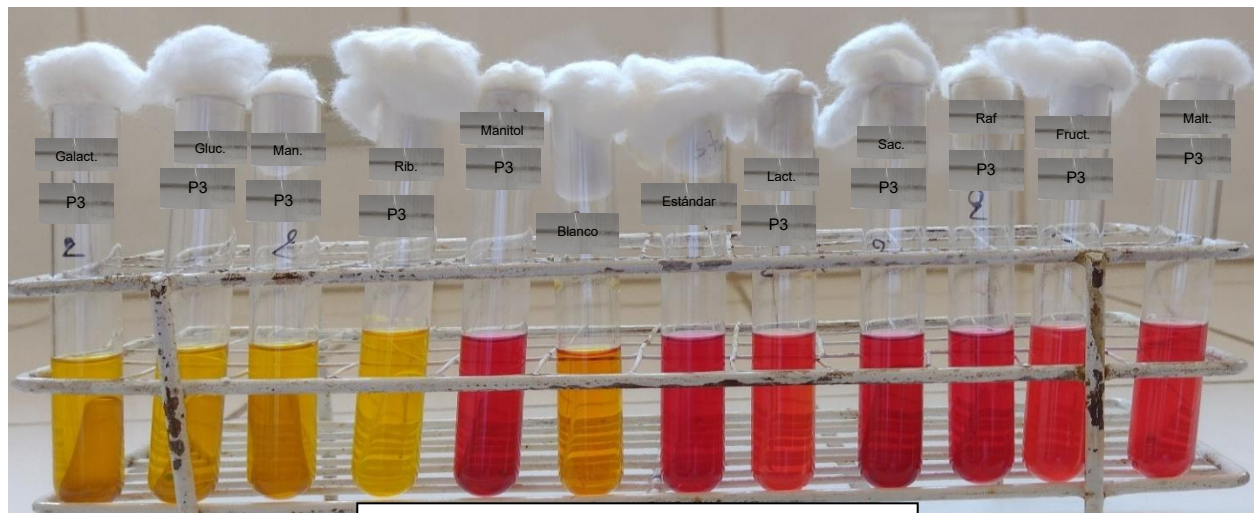
Crecimiento en agar Mac Conkey (MAC)



Fermentación de los carbohidratos (P<sub>1</sub>)

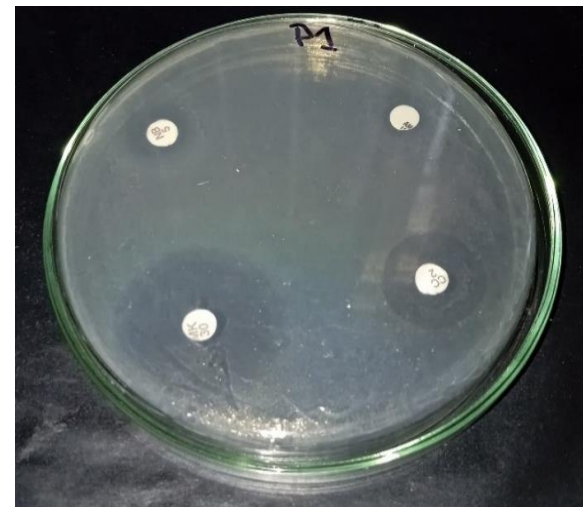
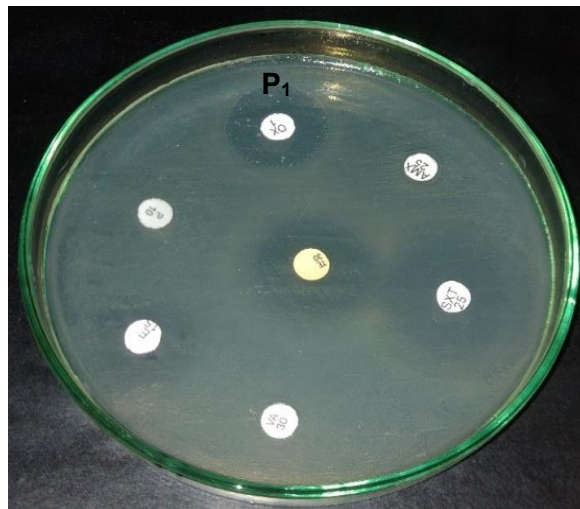


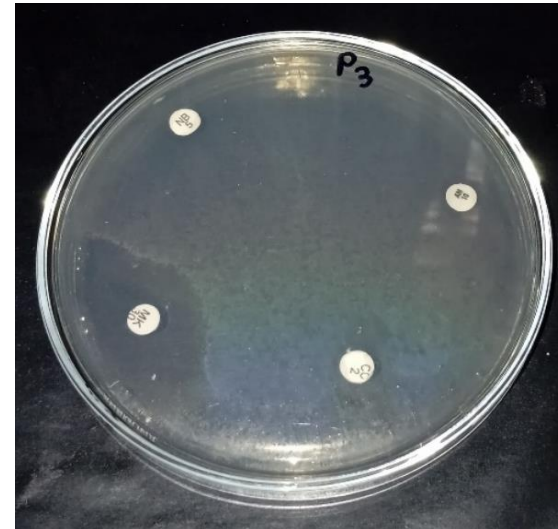
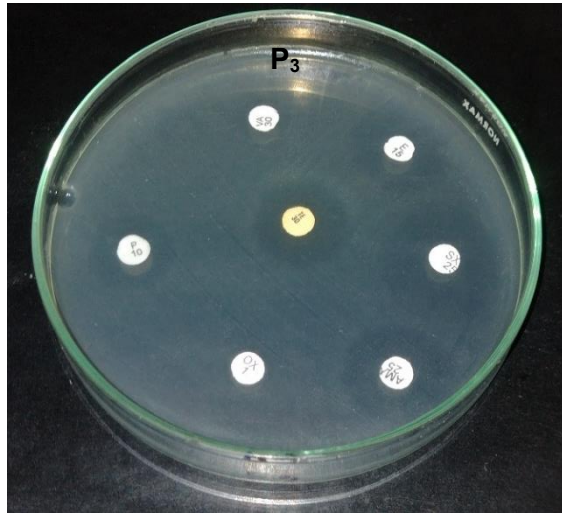
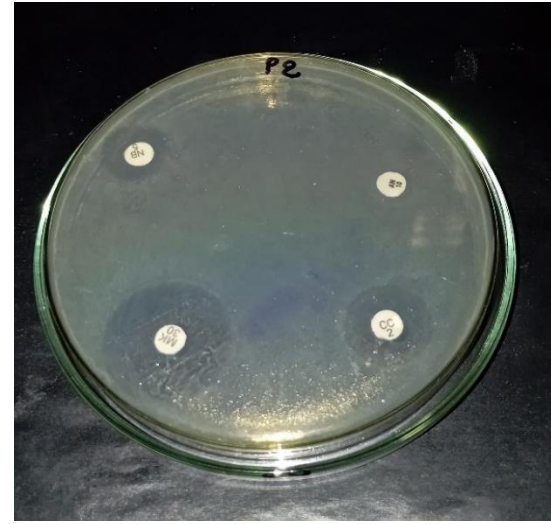
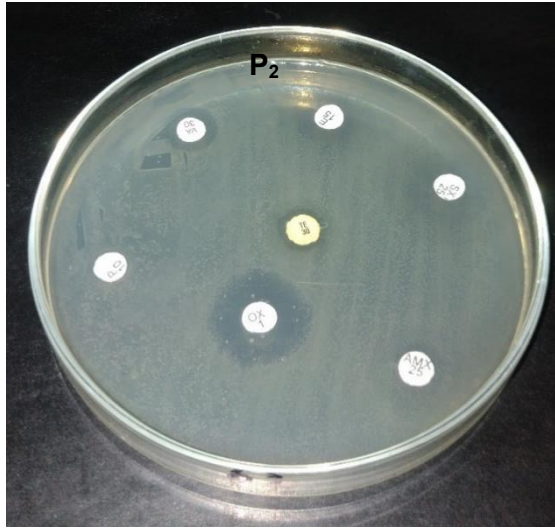
Fermentación de los carbohidratos (P<sub>2</sub>)



Fermentación de los carbohidratos (P<sub>3</sub>)

Anexo 22. Perfil de sensibilidad antimicrobiana (Consortio 3), Ayacucho - 2024





## Anexo 23. Autorización para el uso ambiente y equipos de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Totora para la realización de la tesis de pregrado, Ayacucho - 2024



**SEDA AYACUCHO**  
Servicio de Agua Potable y Alcantarillado de Ayacucho S.A.  
*Llevamos vida a tu hogar*

GERENCIA OPERACIONAL

DEPARTAMENTO DE  
TRATAMIENTO DE AGUAS  
SERVIDAS



Firmado digitalmente por ANAYA  
HUARCAYA Cesar FAU 20143079075  
hard  
Cargo: Jefe Del Departamento De  
Tratamiento De Aguas Servidas  
Motivo: Soy el autor del documento  
Fecha: 15.03.2024 15:10:58 -05:00

*"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"  
"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas  
batallas de Junín y Ayacucho"*

Ayacucho, 15 de Marzo del 2024

### INFORME N° D000036-2024-SEDA AYACUCHO-DTA

A : **EDWIN IVAN RODRIGUEZ QUISPE**  
GERENTE OPERACIONAL

De : **CESAR ANAYA HUARCAYA**  
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE TRATAMIENTO DE AGUAS SERVIDAS

Asunto : AUTORIZACIÓN PARA EL USO AMBIENTE Y EQUIPOS DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES TOTORA PARA LA REALIZACIÓN DE LA TESIS DE PREGRADO.

Referencia : PROVEIDO N° D000149-2024-SEDA AYACUCHO-GOP (28FEB2024)

Fecha Elaboración: Ayacucho, 15 de marzo de 2024

#### I) Antecedentes

Con fecha 28 de febrero del 2024 el área usuaria recepciona el documento de la referencia con la finalidad de solicitar autorización de uso de ambientes y equipos de laboratorio de la PTAS Totora.

#### II) Análisis

Respecto a la solicitud de autorización de uso de ambiente y equipos de la PTAS Totora para la ejecución de la tesis "Remoción de grasas y aceites en aguas residuales de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Totora usando consorcios microbianos" Ayacucho - 2024", el Dpto. de Tratamiento de Aguas Servidas de Totora autorizará solamente el uso de ambientes, uso de equipos multiparámetro y equipos para la Demanda Bioquímica de Oxígeno. No se suministrará insumos químicos u otros que no se haya solicitado.

Sin embargo, el tesista deberá plantear y/o presentar el cronograma actualizado del uso de ambientes y uso de equipos de laboratorio de la PTAS Totora, cuya finalidad será organizar el plan de monitoreo propio de la PTAS Totora y PTAR Ccasaccato.

Así mismo, el tesista el primer día que se presente a la PTAS Totora deberá presentar documentadamente y firmado por su asesor o director de escuela el documento que garantice el compromiso de dejar una copia de la tesis al culminar el proyecto de investigación, caso contrario no podrá iniciar con la ejecución del proyecto.





*"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"  
"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas  
batallas de Junín y Ayacucho"*

### III) Conclusiones

- Por lo antes mencionado se autoriza el uso de ambientes, equipo multiparámetro y DBO para análisis de Aceites y Grasas en aguas de la PTAS Totorá.
- Durante el la instalación de tratamiento, inoculación de consorcios microbianos el tesista deberá tener en cuenta los protocolos de seguridad y hacer uso de indumentarias de seguridad personal, cuya finalidad será minimizar los riesgos de accidentes.
- El Dpto. de Tratamiento de Aguas Servidas no suministrará insumos u otros materiales que no se haya solicitado el tesista.

### IV) Recomendaciones

- Se recomienda al tesista que, si durante la ejecución del proyecto rompiera las botellas de DBO u Oxitop, así como malograr el multiparámetro u otros será de entera responsabilidad haciéndose cargo de su reposición dentro de las 72 horas.
- Se recomienda al tesista que, deberá hacer uso obligatorio de mandil (guardapolvo) en los laboratorios de la PTAS Totorá, así como disponer de guantes quirúrgico.

Finalmente se recomienda a la Gerencia Operacional informar al interesado para las coordinaciones correspondientes.

Es cuanto se informa para su conocimiento y demás fines pertinentes



Documento firmado digitalmente

**CESAR ANAYA HUARCAYA**

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE TRATAMIENTO DE AGUAS SERVIDAS

CAH

cc.:

ANEXO 24

MATRIZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
Remoción de grasas y aceites en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Totorá con consorcios microbianos, Ayacucho - 2024	¿Cuál de los consorcios microbianos aislados del tanque Imhoff N° 5 de la PTAR – Totorá, de material graso adherido del entorno de trabajo de una cocina y de suelos contaminados con aceites provenientes de talleres mecánicos tendrá una mayor capacidad de remoción de grasas y aceites de aguas de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Totorá?	<p><b>Objetivo General</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Determinar la capacidad de remoción de grasas y aceites en aguas residuales usando consorcios microbianos</li> </ul> <p><b>Objetivos específicos</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Aislar microorganismos con capacidad lipolítica del tanque Imhoff N° 5 de la PTAR – Totorá, de material graso adherido del entorno de trabajo de una cocina y de suelos contaminados con aceites provenientes de talleres mecánicos.</li> <li>Realizar la prueba de antagonismo microbiano e integrar a los microorganismos no antagónicos para ser parte del consorcio.</li> <li>Cuantificar la remoción de grasas y aceites por consorcios microbianos y determinar cuál de todos los consorcios microbianos tiene una mayor capacidad de remoción de grasas y aceites.</li> <li>Identificar microorganismos lipolíticos del consorcio con mayor capacidad de remoción de grasas y aceites.</li> </ol>	Al menos uno de los consorcios microbianos aislados tendrá una mayor capacidad de remoción de grasas y aceites en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Totorá.	<p><b>Variable independiente</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Conorcios microbianos</li> </ul> <p><b>Indicadores</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Conorcio 1 (2 cepas lipolíticas obtenidas de material graso del entorno de trabajo de una cocina)</li> <li>Conorcio 2 (3 cepas lipolíticas obtenidas de suelos contaminados con aceites provenientes de talleres mecánicos)</li> <li>Conorcio 3 (3 cepas lipolíticas obtenidas del tanque Imhoff N°5 de la PTAR – Totorá)</li> <li>Conorcio 4 (3 cepas lipolíticas con mayor halo de lipólisis, 1 cepa de cada lugar de aislamiento)</li> </ul> <p><b>Variable dependiente</b> Remoción de grasas y aceites en aguas residuales</p> <p><b>Indicadores</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Porcentaje (%)</li> </ul>	<p><b>Tipo de investigación</b> Experimental</p> <p><b>Nivel de investigación</b> Aplicada</p> <p><b>Muestra</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Microorganismos lipolíticos aislados de: aguas residuales de la PTAR - Totorá, residuos superficiales grasos de la encimera de la cocina y suelos contaminados con aceites provenientes de talleres mecánicos de la Ciudad de Ayacucho.</li> </ul> <p><b>Unidad experimental</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Mesocosmos de 3,8 L de agua residual más 2,5 % (200 mL) de consorcio microbiano, formados en la laguna facultativa 1.</li> <li>4 unidades experimentales con 3 repeticiones: consorcio 1 (2 cepas lipolíticas aisladas de material graso adherido del entorno de trabajo de una cocina), consorcio 2 (3 cepas lipolíticas aisladas de suelos contaminados con aceites provenientes de talleres mecánicos), consorcio 3 (3 cepas lipolíticas aisladas del tanque Imhoff N° 5 de la PTAR – Totorá) y el consorcio 4 (3 cepas microbianas lipolíticas con mayor halo de lipólisis, 1 cepa de cada lugar de aislamiento).</li> </ul>



### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

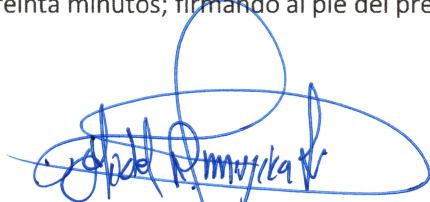
Bach. Cesar Paul ZAMORA JUAREZ

### RESOLUCIÓN DECANAL N° 403-2025-UNSCH-FCB-D


En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde del día viernes treinta y uno de octubre del año dos mil veinticinco; se reunieron los miembros del Jurado Evaluador en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, participando como presidente encargado el Dr. Fidel Rodolfo Mujica Lengua con memorando N° 261-2025-UNSCH-EDU-FCB con fecha treinta de octubre del año dos mil veinticinco a su vez (miembro – jurado), el Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez (miembro – jurado), la Mg. Sonia Haydee Palomino Felices (miembro – jurado), la Mg. Katherin Ruth Taco Quispe (miembro – asesor) y el Mg. Luis Uriel Moscoso García actuando como secretario docente, para presenciar la sustentación de tesis titulada: Remoción de grasas y aceites en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Tоторa usando consorcios microbianos, Ayacucho - 2024, presentado por el **Bach. Cesar Paul ZAMORA JUAREZ**; el presidente luego de verificar la documentación presentada, indicó al secretario docente dar lectura a la documentación generada que refrenda el presente acto académico, luego dispuso el inicio del acto de sustentación, indicando al sustentante que dispone de cuarenta y cinco minutos para exponer su trabajo de investigación tal como establece en el Reglamento de Grados y Títulos de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Culminada la exposición, el presidente invitó a cada uno de los Miembros del Jurado a participar con sus observaciones, sugerencias y preguntas al sustentante. Culminada esta etapa, el presidente invitó al sustentante y al público asistente a abandonar momentáneamente el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga para que los miembros del jurado evaluador puedan realizar las deliberaciones y calificaciones correspondientes; cuyos resultados son los que se consignan a continuación:

Miembros del Jurado Evaluador	Exposición	Respuesta/preguntas	Promedio
Dr. Fidel Rodolfo Mujica Lengua	17	17	17
Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez	17	16	17
Mg. Sonia Haydee Palomino Felices	18	18	18
PROMEDIO			17


El sustentante alcanzó el promedio de 17 aprobatorio. Acto seguido, el presidente autorizó el ingreso del sustentante y el público al Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga dando a conocer los resultados e indicando que de este modo se da por finalizado el presente acto académico, siendo las seis de la tarde con treinta minutos; firmando al pie del presente en señal de conformidad.




Dr. Fidel Rodolfo Mujica Lengua  
Presidente (e)  
Miembro - jurado



Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez  
Miembro - jurado



Mg. Sonia Haydee Palomino Felices  
Miembro – jurado



Mg. Katherin Ruth Taco Quispe  
Miembro – asesor



Mg. Luis Uriel Moscoso García  
Secretario Docente



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

DECANATURA - ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS

N° 070-2025-FCB-D

Yo, FIDEL RODOLFO MUJICA LENGUA, Director de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; autoridad encargada de verificar la tesis titulada: **Remoción de grasas y aceites en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Totorá usando consorcios microbianos, Ayacucho – 2024**, por CESAR PAUL ZAMORA JUAREZ; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 7%, grado de coincidencia, menor a lo que determina la ausencia de plagio definido por el Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la UNSCH, aprobado con Resolución del Consejo Universitario N° 039-2021-UNSCH-CU.

En consecuencia, la tesis cumple con las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Se acompaña el INFORME FINAL DE TURNITIN correspondiente.

Ayacucho, 02 de diciembre del 2025.

  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
Escuela Profesional de Biología  
Dr. Fidel R. Mujica Lengua  
DIRECTOR

# Remoción de grasas y aceites en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Totorá usando consorcios microbianos, Ayacucho – 2024

*por* Cesar Paul ZAMORA JUAREZ

---

**Fecha de entrega:** 01-dic-2025 07:45a. m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 2831919758

**Nombre del archivo:** ZAMORA\_JUAREZ\_-Cesar\_Paul\_-pregrado\_-\_2025\_TESIS\_TURNITIN\_1.pdf (751.26K)

**Total de palabras:** 10931

**Total de caracteres:** 59620

# Remoción de grasas y aceites en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Totora usando consorcios microbianos, Ayacucho – 2024

## INFORME DE ORIGINALIDAD

7%

INDICE DE SIMILITUD

7%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

2%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1

[biblioteca.usac.edu.gt](http://biblioteca.usac.edu.gt)

Fuente de Internet

2%

2

[hdl.handle.net](http://hdl.handle.net)

Fuente de Internet

1%

3

Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga

Trabajo del estudiante

1%

4

[docplayer.es](http://docplayer.es)

Fuente de Internet

<1%

5

[cio.mx](http://cio.mx)

Fuente de Internet

<1%

6

[repositorio.uo.edu.cu](http://repositorio.uo.edu.cu)

Fuente de Internet

<1%

7

Submitted to Universidad Antonio Nariño, UAN

Trabajo del estudiante

<1%

8

[es.scribd.com](http://es.scribd.com)

Fuente de Internet

<1%

9

[repositorio.unsm.edu.pe](http://repositorio.unsm.edu.pe)

Fuente de Internet

<1%

10

[prezi.com](http://prezi.com)

Fuente de Internet

<1%

11 [www.coursehero.com](http://www.coursehero.com)

Fuente de Internet

<1 %

---

12 [theibfr.com](http://theibfr.com)

Fuente de Internet

<1 %

---

13 [revistas.usac.edu.gt](http://revistas.usac.edu.gt)

Fuente de Internet

<1 %

---

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Excluir bibliografía

Activo