

# Evaluación de tolerancia a medios alcalinos de cepas aisladas de efluentes de curtiembre

EVALUATION TOLERANCE TO ALKALINE MEDIA OF STRAINS ISOLATED FROM TANNERY EFFLUENT

Mario Alcarraz Curi\*

RECIBIDO: 27/05/2013 – APROBADO: 21/10/2013

## RESUMEN

El tratamiento biológico de efluentes industriales ha cobrado tanta importancia que se ha hecho imprescindible en la gestión de efluentes (Rodríguez, 2012); sin embargo requiere de microorganismos entrenados y adaptados a las condiciones fisicoquímicas del efluente, por ello es necesario caracterizar previamente los efluentes para diseñar el tipo y las condiciones de tratamiento. Los efluentes de curtiembre de la planta donde se realizó la investigación poseen un pH variable dentro del rango alcalino y una elevada DBO que indica abundancia de materia orgánica. Estas características motivaron la búsqueda de microorganismos tolerantes a condiciones alcalinas para un potencial tratamiento de dichos efluentes. Se diseñaron medios de cultivo tomando como base los efluentes de curtiembre acondicionados a diferentes pH: 9, 10, 11 y 12.

De las 50 cepas, se seleccionaron 39, de estas, el 100 % creció en pH 9 y 10, el 79.5 % en pH 11 y el 54 % en pH 12. Cabe resaltar que del total de cepas ensayadas dos de ellas (N3D y N4E) desarrollaron en todas las condiciones alcalinas experimentadas y resultaron positivas a las pruebas de proteólisis y lipólisis respectivamente. Concluimos que en los efluentes de curtiembre existen microorganismos con capacidad adaptativa a las condiciones del medio y con un alto potencial de bioconversión de la materia orgánica, características que deben tener los microorganismos para el tratamiento de efluentes. La capacidad de estos microorganismos para producción de proteasas alcalinas y lipasas es otra característica que se debe considerar por sus múltiples aplicaciones.

**Palabras clave:** Alcalino, curtiembre, efluente, bioconversión, tratamiento

## ABSTRACT

Industrial effluents biological treatment has obtained great important, becoming essential in the management of effluents, but for this, requires trained microorganisms adapted to the physicochemical conditions of the effluent, so it is necessary to characterize effluents previously to design the type and treatment conditions. Tannery effluents of the plant, where the research was conducted, have pH within alkaline range and high BOD (Biochemical Oxygen Demand) indicating abundance of organic matter. These features led to the search for microorganisms tolerant to alkaline conditions for a potential treatment of these effluents. Culture media were designed based conditioners tannery effluents at different pH values: 9, 10, 11 and 12.

Of the 39 isolates, 100% grew in pH 9 and 10; 79.5% at pH 11; and 77% at pH 12. It should be noted that from the total strains tested, two (N3D and N4E) developed in all alkaline conditions experienced, with a positive tests for proteolysis and lipólisis simultaneously. The conclusion is that there are tannery effluent microorganisms with adaptive capacity to environmental conditions and with high potential for bioconversion of organic matter, characteristics required for the treatment of effluents. The ability of these organisms for the production of alkaline proteases and lipases is another feature to be considered for multiple applications.

**Keywords:** Alkaline, tannery effluent, bioconversion, treatment.

\* Docente Principal de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. E-mail: biomac\_20@hotmail.com

## I. INTRODUCCIÓN

En el Reporte Técnico para la Industria de Curtiembres en el Perú para el Ministerio de Industria, Turismo, Integración y Comercio Internacional (MITINCI) Technical Assistance Provider (TAP) Proyecto SENREM (CONAM–USAID) Los autores sostienen que en el Perú sobre todo en ciudades donde el crecimiento de industrias es vertiginoso se nota, muy claramente, un crecimiento en los niveles de contaminación de los ecosistemas aledaños por la descarga de los efluentes industriales sin tratamiento previo ni control adecuado de las autoridades correspondientes

A pesar de que el Perú posee legislación para el control de los efluentes industriales, lamentablemente no se realiza un control estricto a todas las industrias por razones económicas, técnicas, administrativas entre otras. (CITEC, 1983) El problema se agrava por el incremento de pequeñas y medianas industrias informales que al no estar registradas evaden de dicho control, contribuyendo negativa y clandestinamente a la contaminación del efluente (Stuart, 1999).

El convenio entre el Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente (CEPIS) y la Agencia de Cooperación Técnica (GTZ) de la República de Alemania realizaron un estudio de las curtiembres en la zona norte del Perú y llegaron a la conclusión que actualmente el sector curtiembre genera un serio problema ambiental en la contaminación de los cuerpos de agua por la descarga de altas concentraciones de materia orgánica, sulfuro y cromo, descargas que se realizan directamente a los desagües y/o ríos, lagos, etc. Entre las causas más destacables de esta situación se encuentran el aumento de la micro y pequeña industria del cuero, uso de tecnologías obsoletas y deterioro paulatino de grandes curtiembres. De otro lado, ninguna curtiembre es lo suficientemente grande para justificar el gasto de instalación de un sistema completo de tratamiento de efluentes y residuos.

Los análisis realizados a estos efluentes revelan un alto valor de la Demanda Bioquímica de Oxígeno, así como de Sólidos Totales lo cual demuestra su elevado potencial contaminante. Estudios realizados a nivel de laboratorio, referente al tratamiento de estos efluentes concluyen en la factibilidad de estos procesos; sin embargo representan costos significativos y que difícilmente son asumidos por el empresario, porque considera un egreso “innecesario” que mermaría sus cálculos de ganancia, debido a que desconoce el enorme daño que causa al ecosistema y que dañar el medio ambiente repercutirá directa o indirectamente sobre su empresa.

Asimismo los empresarios de curtiembres se encuentran preocupados por las exigencias de las nuevas disposiciones y normas legales que obligan a las empresas a cumplir con los valores máximos admisibles (VMA) de las descargas de aguas residuales no domésticas en el sistema de alcantarillado (Decreto Supremo N.º 1 021-2009-VIVIENDA) (Decreto Supremo 003-2002-PRODUCE) bajo pena de ingentes multas, suspensión de servicio o cierre de planta.

En tal sentido la presente investigación formula el problema general: Afrontar el problema planteado no pasa solamente por el control, supervisión y sanción de las empresas generadoras de efluentes sino también por la investigación y presentación de nuevas alternativas cada vez más factibles

y baratas de tratamiento o reciclaje de dichos efluentes, que puedan ser adoptadas por las industrias implicadas, tales como los bioprocesos que representan en sí una opción tecnológica de menor impacto ambiental.

El tratamiento biológico de efluentes industriales ha cobrado tanta importancia que se ha hecho imprescindible en la gestión de efluentes; sin embargo requiere de la búsqueda de microorganismos con potencial de bioconversión, entrenados y adaptados a las condiciones físicoquímicas estresantes del efluente como la alcalinidad y concentraciones altas de sodio, por ello es necesario caracterizar previamente los efluentes para diseñar el tipo y las condiciones de tratamiento. (Melga 2002).

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Tratamientos biológicos

Constituyen una serie de importantes procesos de tratamiento que tienen en común la utilización de microorganismos (entre las que destacan las bacterias) para llevar a cabo la eliminación de componentes indeseables del agua, aprovechando la actividad metabólica de los mismos sobre esos componentes. La aplicación tradicional consiste en la eliminación de materia orgánica biodegradable, tanto soluble como coloidal, así como la eliminación de compuestos que contienen elementos nutrientes (N y P). Es uno de los tratamientos más habituales, no solo en el caso de aguas residuales urbanas, sino en buena parte de las aguas industriales. (Umaña, 2004) En la mayor parte de los casos, la materia orgánica constituye la fuente de energía y de carbono que necesitan los microorganismos para su crecimiento. Además, también es necesaria la presencia de nutrientes, que contengan los elementos esenciales para el crecimiento, especialmente los compuestos que contengan N y P, y por último, en el caso de sistema aerobio, la presencia de oxígeno disuelto en el agua. Este último aspecto será clave a la hora de elegir el proceso biológico más conveniente (Lawrence, 2008)

En el metabolismo bacteriano juega un papel fundamental el elemento aceptor de electrones en los procesos de oxidación de la materia orgánica (Anton de Perino, 1990). Este aspecto, además, tiene una importante incidencia en las posibilidades de aplicación al tratamiento de aguas. Atendiendo a cual es dicho aceptor de electrones distinguimos tres casos:

#### 2.1.1 Sistemas aerobios

La presencia de O<sub>2</sub> hace que este elemento sea el aceptor de electrones, por lo que se obtienen unos rendimientos energéticos elevados, provocando una importante generación de fangos, debido al alto crecimiento de las bacterias aerobias. Su aplicación a aguas residuales puede estar muy condicionada por la baja solubilidad del oxígeno en el agua.

#### 2.1.2 Sistemas anaerobios

En este caso el aceptor de electrones puede ser el CO<sub>2</sub> o parte de la propia materia orgánica, obteniéndose como producto de esta reducción el carbono es su estado más reducido, CH<sub>4</sub>. La utilización de este sistema, tendría, como

ya se explicará, como ventaja importante, la obtención de un gas combustible.

### 2.1.3 Sistemas anóxicos

Se denominan así los sistemas en los que la ausencia de O<sub>2</sub> y la presencia de NO<sub>3</sub> hacen que este último elemento sea el aceptor de electrones, transformándose, entre otros, en N<sub>2</sub>, elemento completamente inerte. Por tanto es posible, en ciertas condiciones, conseguir una eliminación biológica de nitratos (desnitrificación).

Teniendo en cuenta todos estos aspectos, existe una gran variedad de formas de operar, dependiendo de las características del agua, así como de la carga orgánica a tratar. (Arundel, 2002)

## 2.2 Tratamiento por bioconversión microbiana

Proceso de transformación bioquímica de un material recuperable contaminado hasta originar nuevas moléculas que constituyen un complejo Mineral Orgánico, con funciones ecológicas definidas. Optimizando el hábitat de los microorganismos, estimulando su desarrollo, cuantificando las variables que nos indiquen la orientación de los procesos y que permitan corregir las posibles desviaciones hasta asegurar un control de calidad del producto final.

El proceso se inicia con la descripción analítica del desecho. En este punto se define el objetivo final a trazarse. La definición del uso del material resultante. Al caracterizar el desecho podemos definir cuál es su uso potencial y al definir el objeto de su uso definimos la ruta de procesos a seguir. En esta etapa se inician las elaboraciones de las formulaciones a seguir, fuentes orgánicas e inorgánicas y sus cantidades. Al producirse la mezcla de cada componente, iniciamos el conjunto de reacciones bioquímicas de descomposición y composición a seguir durante el proceso. Es importante definir las variables a medir durante el proceso: pH, contenido de aceites y grasas, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, O<sub>2</sub> y Temperatura. (Schneider, 2003)

### 2.2.1 Demanda bioquímica de oxígeno

Expresa la cantidad de oxígeno necesario para la oxidación bioquímica, de los compuestos orgánicos degradables existentes en el líquido residual. Fijando ciertas condiciones de tiempo y temperatura, por ejemplo en 5 días y a 20 °C.

Cantidad de oxígeno consumida durante un tiempo determinado, a una temperatura dada, para descomponer por oxidación las materias orgánicas. Es una característica cuantificable del grado de contaminación del agua a partir de su contenido de sustancias biodegradables. Ese contenido se expresa en función de la demanda de oxígeno de los microorganismos participantes en la degradación de la materia orgánica presente a 20 °C en un tiempo predeterminado. (Usualmente 5 días. DBO<sub>5</sub>). (Perry, 2000).

### 2.2.2 Demanda química de oxígeno de aguas residuales

Expresa la cantidad de oxígeno necesario para la oxidación química de la materia orgánica. Generalmente es mayor que el valor de la DBO<sub>5</sub>, porque suele ser mayor el número de compuestos que se oxidan por vía química que biológica, ante la presencia de un oxidante fuerte como los dicromatos.

La fijación química se debe al oxígeno consumido por los cuerpos reductores sin intervención de organismos vivos, esto es común en los efluentes industriales. Es una característica cuantificable del grado de contaminación del agua por la presencia de sustancias orgánicas mensurando la cantidad de oxígeno necesario para su oxidación. El dicromato de potasio en generalmente utilizado como agente oxidante. La D.Q.O. generalmente en produce valores superiores a la D.B.O. y a veces considera sustancias que no son biodegradables. (Chamy, 2005; Clesceri, 1992).

## III. MATERIALES Y DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 3.1 Muestras

Los efluentes finales de la curtiembre "Unión S.A." Se tomaron en frascos estériles de 1 litro de capacidad y transportados al laboratorio de Bioprocesos Industriales para su caracterización y procesamiento. Tabla N.º 1.

Tabla N.º 1. Caracterización promedio de los efluentes de curtiembre.

Determinación	Efluente final
PH	11,55
Temperatura °C	20,90
Aceites y grasas mg/l	9,0
DQO mg/l	3880
DBO mg/l	2350
Sólidos suspendidos mg/l	1523
Sulfuros mg/l	2583,5

### 3.2 Aislamiento y selección de microorganismos

Se tomó 1 ml. del efluente y se procedió a la dilución al décimo hasta llegar a 10<sup>-5</sup> y 10<sup>-6</sup>, para luego sembrar una alícuota (0,1 ml.) en medios comunes (Agar nutritivo, Agar TSA) y en medios selectivos (Agar curtiembre). Al cabo de 48 horas de incubación se procedió a aislar las colonias y llevadas a un cepario.

### 3.3 Formulación de medios de cultivo

Teniendo como base el Agar curtiembre se formularon 4 medios de cultivo cuya diferencia fundamental fue el pH y la suplementación. Véase Tabla N.º 2.

Tabla N.º 2. Formulación de medios de cultivo.

Medio	PH	Suplementación
01	10	Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>
02	11	(NH <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>
03	12	Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>
04	13	(NH <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>

### 3.4 Evaluación de tolerancia a la alcalinidad

Las 36 cepas aisladas fueron sembradas en los 4 medios formulados e incubados a 30 °C por 48 horas, al cabo del cual se determinó crecimiento.

### 3.5 Evaluación de la actividad proteolítica y lipolítica

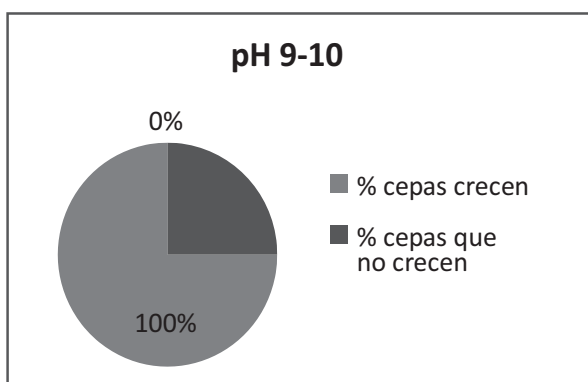
Las cepas con mejor crecimiento en los medios alcalinos de pH 11 y 12, fueron sembradas en Agar calcio caseinato y Agar tributirina para evaluar proteólisis y lipólisis respectivamente. Se incubaron a 35 °C por 72 horas y se procedió a la verificación y medición de los halos de hidrólisis.

## IV. RESULTADOS

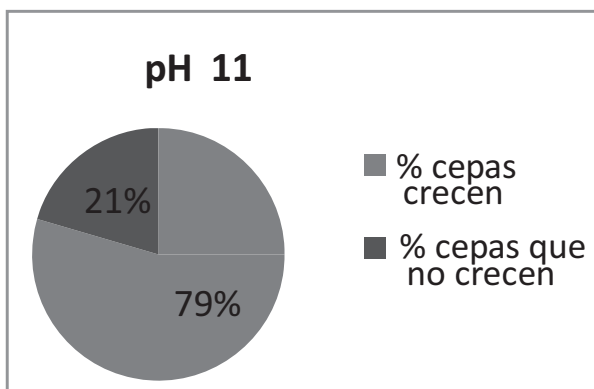
De acuerdo al protocolo propuesto y desarrollado se obtuvieron resultados respecto a la caracterización del efluente lo cual se muestra en la Tabla N.º 3, el porcentaje de crecimiento en los diferentes medios alcalinos formulados se reportan en las Figuras N.º 1, 2 y 3. La evaluación de las correspondientes actividades enzimáticas se reportan en la Figura N.º 4 la actividad proteolítica y en la Figura N.º 5 la actividad lipolítica.

**Tabla N.º 3.** Caracterización promedio de los efluentes de curtiembre.

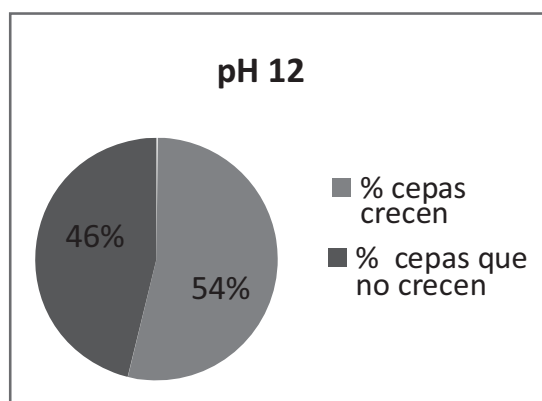
Determinación	Efluente final
pH	11,55
Temperatura °C	20,90
Aceites y grasas mg/l	9,0
DQO mg/l	3880
DBO mg/l	2350
Sólidos suspendidos mg/l	1523
Sulfuros mg/l	2583,5



**Figura N.º 1.** Porcentaje de crecimiento de cepas en PH 9 y 10.



**Figura N.º 2.** Porcentaje de crecimiento de cepas en pH = 11



**Figura N.º 3.** Porcentaje de crecimiento de cepas en pH = 12

## V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El hallazgo de microorganismos alcalófilos o álcali tolerantes en los efluentes de curtiembre representa una gran importancia para el potencial tratamiento de dichos efluentes por bioprocesos como la bioconversión; pues una de las limitantes para el tratamiento biológico de este tipo de efluentes constituye su característica estresante que limita o bloquea la viabilidad microbiana o la actividad enzimática. Este primer y gran escollo sería superado por los microorganismos aislados.

Los altos valores de la DBO reportados en estos efluentes indican altos valores de materia orgánica que superan los límites permisibles impuestos por la norma técnica Peruana (Decreto Supremo 003-2002-PRODUCE), los componentes orgánicos con mayor porcentaje, en los efluentes de curtiembre, corresponden a proteínas y lípidos; por consiguiente su disminución significará un decremento de la DBO y por ende una reducción de su potencial contaminante. Los microorganismos encontrados, tales como la N3D y la N4E han mostrado una gran capacidad de bioconversión de proteínas y lípidos respectivamente, una virtud metabólica requerida para el tratamiento biológico del efluente en estudio.

La utilización de microorganismos autóctonos, aislados de las mismas curtiembres, ofrece mayores ventajas que la utilización de microorganismos alóctonos por el proceso de adaptación, ocurrido en los primeros, a las características y condiciones especiales que los efluentes presentan.

### Actividad proteolítica

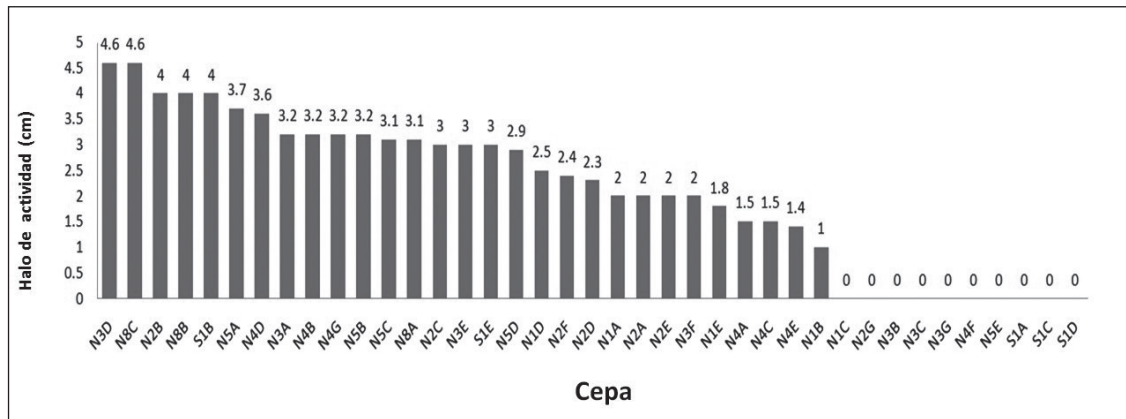


Figura N.º 4. Actividad proteolítica de cepas tolerantes a pH 11-1.

### Actividad Lipolítica

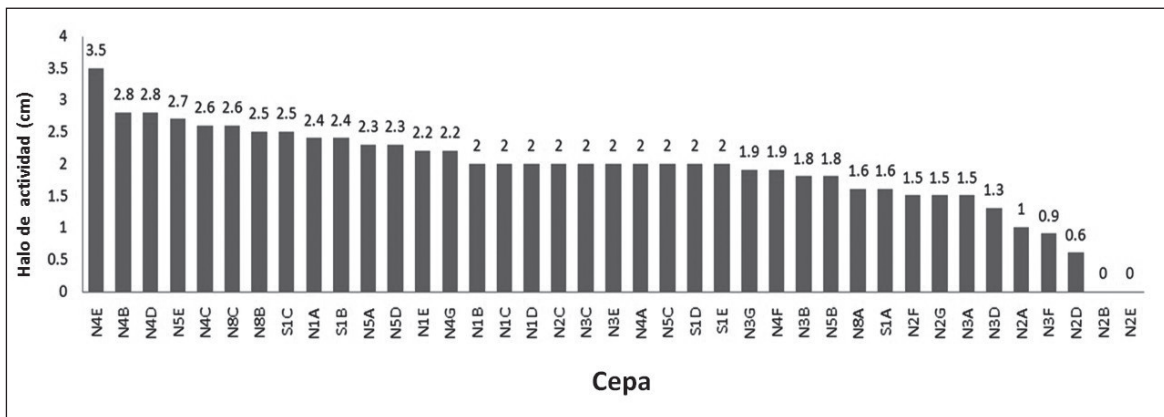


Figura N.º 5. Actividad lipolítica de cepas tolerantes a pH 11-12.

### VI. AGRADECIMIENTOS

Nuestro sincero agradecimiento a la planta de curtiembre “Unión S.A.” por brindarnos las facilidades del caso en la ejecución de la presente investigación; así como a la empresa Bioconsultores SAC. por su apoyo en los análisis fisicoquímicos de los efluentes.

### VII. CONCLUSIONES

- De acuerdo a los resultados en la presente investigación se concluye que los ductos y efluentes de curtiembre contienen algunos microorganismos tolerantes a las condiciones alcalinas estresantes de dichos efluentes.
- Las cepas N3D y la N4E mostraron tolerancia a medios de cultivo con pH 11 – 12 y una gran capacidad proteolítica y lipolítica respectivamente. Las proteínas y los lípidos son componentes orgánicos más importantes de los efluentes de curtiembre.
- Las cepas N3D y la N4E muestran virtudes metabólicas de interés industrial y se constituyen en potenciales microorganismos para el tratamiento de efluentes de curtiembre por bioconversión microbiana.

### VIII. BIBLIOGRAFÍA

- ANTÓN DE PERINO, R. (1990). *Complejos de Cr y Nb c 2-2- (5- cloropiridil)-azo-5- dimetilanimo fenol. Aplicaciones analíticas y toxicológicas.* Tesis Doctorado, Universidad Nacional de San Luis, Argentina.
- ARUNDEL, J. (2002). *Tratamiento de Aguas Negras y Efluentes Industriales.* Zaragoza.España: Acribia S.A.
- FRANSON M. ed. (2002). *Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales.* Madrid, Díaz de Santos
- CHAMY R. CARRERA, J. JEISON D. y RUIZ G., (2005). *Avances en biotecnología ambiental: Tratamiento de residuos líquidos y sólidos.* Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Universitarias de Valparaíso S.A.
- CITEC (INTI) (Centro De Investigaciones De Tecnología Del Cuero). *El efluente de Curtiembre; Reutilización de líquidos efluentes.* Argentina.(1983)
- CLESCERI L. GREENBERG A. RODEES R. (1992). *Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales.* American Public Health Association; American Water Works Association; Water Pollution

- Control Federation*. Madrid: Díaz de Santos S. A. 17ª edición.
7. GERHARD SCHLEENSTEIN. (2002). Evaluación de la actividad genotóxica de efluentes de curtiembres del departamento central de la Región Oriental. *Revista Virtual Pro*.
  8. LAWRENCE K. (2008). *Tratamiento de los Residuos de la Industria*. España, Acribia S.A.
  9. MELGA, G. (2002). Tratabilidad aeróbica de un efluente proveniente de una curtiembre de terminación. XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Cancún. México.
  10. PERRY, R. (2000). *Manual del Ingeniero Químico*; 7.ª ed.; Editorial Mc Gras Hill; *Revista de Ciencia y Tecnología*.
  11. RODRÍGUEZ, R y FERNÁNDEZ, A. (2012). *Tratamientos avanzados de aguas residuales industriales*. Madrid, Acribia, S.A.
  12. SCHNEIDER, A. y col. (2003). *Disminución de la demanda biológica de oxígeno de efluentes de curtiembres Por Decantación*. Santa Fe. Argentina.
  13. Schneider, A.; Flores, H.; Guala, M. (2002). Recuperación de sulfuros de efluentes de curtiembre. *Actas del 12º Congreso Argentino de Saneamiento y Medio Ambiente*.
  14. STUART. Miller (1999). *Informe para el Ministerio de Industria y Turismo, Integración y Comercio nternacional (MITINCI)*. Lima.
  15. UMAÑA BUSTAMANTE, R. (2004). *Tratamiento de aguas residuales de la industria de la curtiembre mediante un sistema de lodos activados a escala piloto*. Tesis de Maestría. Universidad de la Frontera, Temuco, Chile.