

Efecto de *Pseudomonas putida* en la variación de la demanda bioquímica de oxígeno en los efluentes de la PTAR-Collique, Lima

The effect of *Pseudomonas putida* on the variation of biochemical oxygen demand in the effluents of the domestic WWTP-Collique, Lima

Daimer Bazán-Suárez^{1*}  y Armando Chiclla-Salazar¹ 

1 Facultad de Ingeniería Agraria, Universidad Católica Sedes Sapientiae. Lima, Perú.



Citar como: Bazán-Suárez, D. y Chiclla-Salazar, A. (2023). «Efecto de *Pseudomonas putida* en la variación de la demanda bioquímica de oxígeno en los efluentes de la PTAR-Collique, Lima». *South Sustainability*, 4(1), e071. DOI: 10.21142/SS-0401-2023-e071

Artículo recibido: 26/12/2022
Revisado por pares
Artículo aceptado: 7/2/2023



© Los autores, 2023. Publicado por la Universidad Científica del Sur (Lima, Perú)

* E-mail de correspondencia:
bazan.daimer@gmail.com

RESUMEN

En el Perú, muchos efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas (PTAR) suelen albergar altas concentraciones de contaminantes biológicos, físicos o químicos, que constituyen efluentes de baja calidad. Frente a ello, esta investigación pretendió evaluar el efecto producido por la cepa bacteriana *Pseudomonas putida* ATCC 49128 en la variación de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅) de efluentes extraídos de la PTAR-Collique (Lima, Perú). La investigación de tipo experimental se llevó a cabo durante 120 horas e implicó el establecimiento de tres tratamientos y un control con tres repeticiones cada uno. La fuente de variación conocida fueron las distintas concentraciones de *Pseudomonas putida* ATCC 49128 en razón de 1×10^8 , $1,5 \times 10^8$ y 2×10^8 UFC/mL. Los resultados muestran reducciones máximas de la DBO₅ y demanda química de oxígeno (DQO) en un 54,79 y 51,62 %, respectivamente. Más aún, se evidenciaron variaciones en el pH, con fluctuaciones entre 6,60 y 8,23; lo cual es considerado como óptimo para el proceso depurador de la cepa. La temperatura, en el medio experimental, varió muy poco, entre 25,36 y 27,47 °C, y fue estadísticamente constante ($p = 0,149 > \alpha = 0,05$). En tal sentido, la cepa bacteriana *Pseudomonas putida* ATCC 49128 produjo un efecto significativo en la reducción de la DBO₅ de las aguas residuales efluentes de PTAR.

Palabras clave: cepa bacteriana, efluente doméstico, *Pseudomonas*, *Pseudomonas putida* ATCC 49128, PTAR

ABSTRACT

In Peru, many effluents from domestic wastewater treatment plants often contain high concentrations of biological, physical or chemical contaminants; constituting low quality effluents. In this context, the aim of this research was to evaluate the effect produced by the bacterial strain *Pseudomonas putida* ATCC 49128 on the variation of biochemical oxygen demand (BOD₅) of effluents extracted from the domestic wastewater treatment plant (WWTP) located in the town of Collique, in the district of Comas, in the province of Lima, Peru. We conducted our experimental research for a period of 120 hours, establishing three treatments and a control, with three repetitions each. The known sources of variation were the different concentrations of *P. putida* ATCC 49128, in a ratio of 1×10^8 , 1.5×10^8 and 2×10^8 CFU/ml. The results demonstrated maximum reductions in BOD₅ and COD of 54.79% and 51.62%, respectively. Furthermore, variations in the pH were evident, with fluctuations between 6.60 and 8.23, which is considered optimal for the purification process of the strain. In the experimental medium, the temperature varied very little, between 25.36°C and 27.47°C, making it statistically constant ($p = 0.149 > \alpha = 0.05$). Through our research, we were able to conclude that the bacterial strain *Pseudomonas putida* ATCC 49128 produced a significant effect in the reduction of BOD₅ in the WWTP effluent wastewater.

Keywords: bacterial strain, domestic effluent, *Pseudomonas*, *Pseudomonas putida* ATCC 49128, WWTP



Introducción

El desarrollo sostenible, entendido como la posibilidad de alcanzar el crecimiento económico, sin poner en riesgo el equilibrio ambiental y la calidad de vida de las personas, supone un objetivo global. En tal sentido, muchos países, incluido el Perú, impulsan políticas y estrategias orientadas al logro de este fin. No obstante, las múltiples actividades humanas dan pie a la generación de una enorme cantidad de residuos, entre los cuales se encuentran los residuos líquidos identificados como aguas residuales domésticas (Albert, 2011). Según la Superintendencia Nacional de Servicios de Saneamiento (Sunass), en el Perú el manejo de las aguas residuales domésticas supone una problemática latente, debido a la falta de infraestructuras de tratamiento o la adopción de tecnologías de tratamiento que en muchos casos no garantizan efluentes de calidad (Sunass, 2016). Por ello, estos efluentes, al llegar al ambiente, degradan los recursos naturales y ponen en riesgo el equilibrio de los ecosistemas. De esta forma, alejan la posibilidad de alcanzar el tan anhelado desarrollo sostenible (Garzón, Rodríguez y Hernández, 2017).

La calidad de las aguas residuales es determinada con base en parámetros, y entre ellos la demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅) es el parámetro por excelencia utilizado para estimar el grado de contaminación orgánica de las aguas residuales (Del Ángel, 1994). Del Ángel resalta que, pese a que la DBO₅ es un método de medición indirecta, puesto que cuantifica el oxígeno requerido por los microorganismos para degradar la materia carbonácea contenida en el agua, supone uno de los métodos más utilizados por investigadores e instituciones gubernamentales en el mundo. En ese sentido, una adecuada depuración de las aguas residuales implica la emisión de efluentes con bajos niveles de DBO₅, los cuales, al ser vertidos en un cuerpo de agua receptor, garantizan la disponibilidad de oxígeno disuelto en el medio. Por el contrario, los altos niveles de materia orgánica presentes en las aguas residuales vertidas provocan el agotamiento de oxígeno de los medios receptores, al convertirlos en espacios anóxicos y perjudiciales para la flora y fauna acuática autóctona (Raffo y Ruiz, 2014).

Por ello, resulta imperativo el estudio y la puesta en marcha de tecnologías innovadoras y eficientes, que garanticen la adecuada depuración de las aguas residuales domésticas, y que además se caractericen por sus bajos costos y por ser amigables con el medioambiente. En esa línea, diversas investigaciones llevadas a cabo a nivel nacional e internacional señalan que el uso de microorganismos ambientales como las bacterias del género *Pseudomonas* suponen una alternativa viable y con el potencial necesario para depurar los contaminantes que albergan las aguas residuales domésticas (Takahashi, 2018; Garzón, Rodríguez y Hernández, 2017; Bedoya, Castaño y Ochoa, 2019; Flórez, 2016). Más aún, autores

como Lacal (2008) y Loh y Cao (2008) precisan que la cepa *Pseudomonas putida* es un microorganismo ambiental muy versátil, capaz de aprovechar distintas fuentes de materia y energía, además de proliferar en ambientes adversos y soportar amplios rangos de pH y temperatura, características de una cepa con alto potencial biotecnológico.

No obstante, autores como Chitiva y Dussán sostienen que la capacidad depuradora de *Pseudomonas putida* se ve potenciada con la inmovilización bacteriana por adsorción. Hacen énfasis en el uso de matrices inertes que presentan alta rugosidad y porosidad superficial, como es el caso de las espumas de poliuretano, que facilitan la adhesión y el agrupamiento de las células bacterianas hasta la generación de *biofilm*. Además, con la inmovilización bacteriana, la cepa adquiere una mayor tolerancia a compuestos tóxicos y mejora su capacidad para atrapar contaminantes orgánicos de las aguas residuales, debido a la alta concentración celular alcanzada (Chitiva y Dussán, 2003).

Todo ello en un contexto en el que las aguas residuales domésticas, al no recibir un tratamiento adecuado, albergan altos niveles de contaminación orgánica, lo cual supone un peligro para el equilibrio ambiental y el bienestar social. Resulta necesario plantear alternativas de solución eficaces y en sintonía con los esfuerzos orientados a alcanzar un desarrollo sostenible. En esa línea, la presente investigación busca evaluar la capacidad depuradora de la cepa bacteriana *Pseudomonas putida* ATCC 49128 para reducir la carga orgánica, medida a través de la DBO₅, de efluentes extraídos de la PTAR-Collique, Lima.

Materiales y métodos

Punto de muestreo

Las muestras de agua residual doméstica utilizadas en la investigación fueron colectadas de los efluentes de la PTAR ubicada en la localidad de Collique, distrito de Comas, departamento de Lima (Perú); sus coordenadas UTM en el sistema WGS 84 son: 8682238 N y 281087 E, zona 18 sur. El trabajo experimental fue llevado a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Microbiología y Biotecnología de la Universidad Católica Sedes Sapientiae (UCSS).

Los parámetros determinados en campo fueron pH, conductividad eléctrica y temperatura. Para ello, fue necesario el desarrollo de una planificación previa que permitió la obtención de materiales y equipos a utilizar, así como la obtención de los permisos para el acceso a la infraestructura de tratamiento. Cabe precisar que el muestreo y la preservación de las muestras fueron desarrollados según los lineamientos del «Protocolo de Monitoreo de los Efluentes de las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas o Municipales», aprobado mediante Resolución Ministerial N.º 273-2013-VIVIENDA.

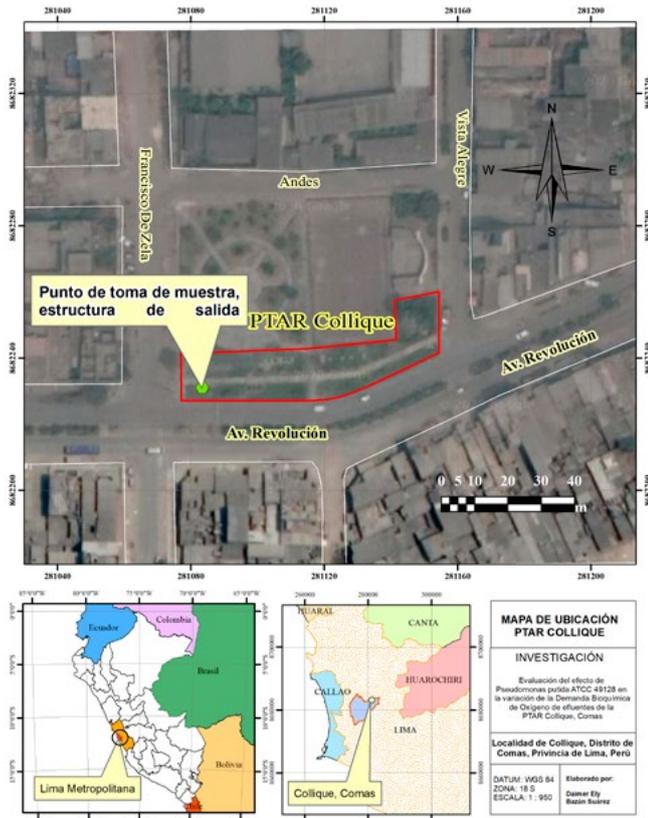


Figura 1. Mapa de ubicación de la infraestructura de tratamiento de la PTAR-Collique.

Activación de la cepa bacteriana

Para la activación de *Pseudomonas putida* ATCC 49128 fue necesaria la preparación de un medio de cultivo sólido, constituido por 24,2 g de Agar Base *Pseudomonas* de la marca Himedia, 0,5 L de agua destilada y 5 mL de glicerol. Dichos componentes fueron dispuestos en un matraz Erlenmeyer y calentados en horno microondas hasta lograr su completa homogenización; tras ello, el medio de cultivo fue vertido en placas de Petri debidamente esterilizadas (Aquihuatl *et al.*, 2012; Johnsen y Nielsen, 1999). Finalmente, se realizó la siembra de la cepa empleando la técnica de estría simple; ello propició un crecimiento bacteriano uniforme tras 48 horas de incubación a una temperatura constante de 30 °C, tal como se observa en la figura 2.

Cinética de crecimiento de *Pseudomonas putida* ATCC 49128

El crecimiento de *Pseudomonas putida* ATCC 49128 fue determinado mediante el método de dilución y siembra en placa, que permitió cuantificar el crecimiento celular en unidades formadoras de colonias por mililitro de solución (UFC/mL). Para ello, las células bacterianas fueron dispuestas en un medio de cultivo líquido, constituido por 30 g de caldo tripticasa de soya de la marca CONDA y 1 L de agua destilada. Se realizaron diluciones seriadas hasta el orden de 10^{-10} durante 11 horas consecutivas (Aquihuatl *et al.*, 2012; Bustos, 2017).



Figura 2. A. Siembra bacteriana por estría simple. B. Colonia de *Pseudomonas putida* en medio de cultivo sólido.

La cinética de crecimiento de la cepa fue determinada con base en los parámetros propuestos por Sánchez (2018), los cuales se describen a continuación:

Tasa máxima de crecimiento (μ):

$$N_t = N_0 e^{\mu t}$$

Donde:

N_t : población final

N_0 : población inicial

e : constante neperiana

t : tiempo transcurrido

μ : tasa de crecimiento exponencial

Tiempo de duplicación (td):

$$td = \frac{\ln(2)}{r}$$

Donde:

r : tasa de crecimiento exponencial

Capacidad de carga (k):

$$N_t = \frac{K}{1 - \left(1 - \frac{K}{N_0}\right) e^{-\mu t}}$$

Donde:

N_t : población en el tiempo t

μ : tasa máxima de crecimiento

k : capacidad de carga del cultivo

Determinación de los parámetros de estudio

La DBO₅ fue determinada mediante el método Winkler, que permitió estimar la cantidad de oxígeno requerido en mg/L por una comunidad microbiana durante cinco días de incubación, en condiciones de oscuridad y a temperatura constante de 20 °C.

Por otro lado, la mensuración de la DQO fue llevada a cabo mediante el método colorimétrico. Ello implicó el uso de viales con solución preparada, proporcionados por la empresa SQA Soluciones Químicas Ambientales SAC. Cada vial albergó 5 mL de solución, conformado por 1,5 mL de solución digestora (K₂Cr₂O₇, H₂SO₄, HgSO₄) y 3,5 mL de solución ácida (H₂SO₄, Ag₂SO₄). El tamaño de la muestra inoculada en cada vial fue de 2,5 mL, y tras su homogenización fue calentada por un lapso de dos horas a 150 °C en el termorreactor de la marca Rocker modelo CR-25. Una vez que los viales estuvieron a temperatura ambiente, se determinó la DQO en cada muestra haciendo uso del colorímetro portátil de la marca HACH modelo DR900.

En cuanto a los parámetros de pH, conductividad eléctrica y temperatura, estos fueron determinados mediante el método electrométrico, haciendo uso del multiparámetro de la marca HANNA modelo HI 9813-6 (APHA *et al.*, 1992).

Diseño experimental

Como se muestra en la tabla 1, el presente estudio consideró cuatro tratamientos, incluido el tratamiento control. Cada uno contó con cubos de espumas de poliuretano de 5 mm de lado como matriz de inmovilización. Las repeticiones en cada tratamiento fueron triples. De acuerdo con el diseño completamente al azar aplicado, la única fuente de variación conocida lo constituyó *Pseudomonas putida* ATCC 49128, a razón de 1 × 10⁸, 1,5 × 10⁸ y 2 × 10⁸ UFC/mL, en cada uno de los tratamientos.

Tabla 1. Descripción de los tratamientos experimentales

Tratamiento*	Descripción
T0 (control)	AP + ES + <i>P. putida</i> 1,5 × 10 ⁸ UFC/mL
T1	AM + ES + <i>P. putida</i> 1,0 × 10 ⁸ UFC/mL
T2	AM + ES + <i>P. putida</i> 1,5 × 10 ⁸ UFC/mL
T3	AM + ES + <i>P. putida</i> 2,0 × 10 ⁸ UFC/mL

Nota. Elaboración propia a partir de Chitiva y Dussán, 2003, y Morillo y Guevara, 2014.

*: AM: 150 mL de agua muestra; ES: 1 g de espuma de poliuretano cortada en cubos de 5 mm de lado; AP: agua destilada.

Análisis estadístico

El procesamiento estadístico de la información fue llevado a cabo en el programa SPSS v.25, a un nivel de significancia de 0,05 ($\alpha = 0,05$). Como punto de partida, y teniendo en cuenta que la muestra no sobrepasó los 50 datos, se verificó la normalidad de los resultados y la homogeneidad de las varianzas, mediante el test de Shapiro-Wilk y la prueba de Levene, respectivamente. El efecto de los tratamientos se constató mediante el ANOVA, mientras que las medias de los tratamientos fueron comparadas con la prueba de Tukey (Di Rienzo *et al.*, 2005).

Resultados

Cinética de crecimiento de *Pseudomonas putida* ATCC 49128

La cepa *Pseudomonas putida* ATCC 49128 mostró un crecimiento exponencial durante las primeras 11 horas de medición, hasta alcanzar una concentración celular máxima de 11 × 10¹⁰ UFC/mL (figura 3). Además, la tasa máxima de crecimiento (μ) fue de 0,35 hora⁻¹, con un tiempo de duplicación (t_d) de 1,98 horas y una capacidad de carga (K) de 10,91 × 10¹⁰ UFC/mL.

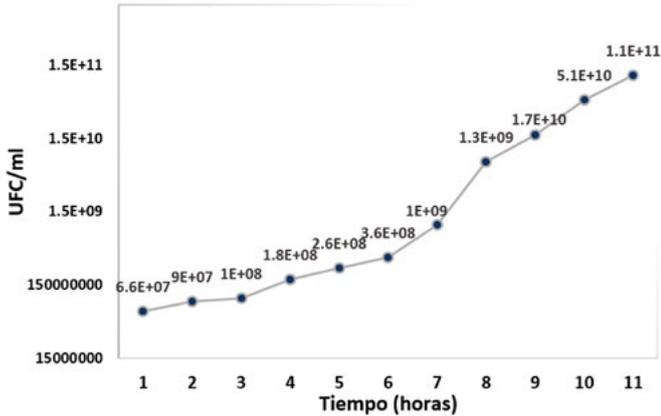


Figura 3. Crecimiento de *Pseudomonas putida* ATCC 49128.

Parámetros fisicoquímicos de los efluentes de la PTAR-Collique

Los efluentes de la PTAR-Collique presentaron niveles de contaminación bajos y acordes a los límites máximos permisibles (LMP) para este tipo de efluentes (Decreto Supremo N.° 003-2010-MINAM). La DBO₅ fue solo de 61,58 mg/L, mientras que la DQO presentó una concentración de 91 mg/L; por otro lado, el pH, la temperatura y la conductividad eléctrica presentaron valores de 7,3, 22,8 °C y 1210 μS/cm, respectivamente (tabla 2). Pese a los resultados obtenidos, los efluentes de la PTAR-Collique conformaron las muestras de agua residual a tratar, ya que la investigación pretende evaluar la capacidad biorremediadora de *Pseudomonas putida* ATCC 49128.

Tabla 2. Parámetros determinados en la muestra de efluente de la PTAR-Collique

Parámetro	Unidad	Resultado
DBO ₅	mg/L	61,58 ± 0,675
DQO	mg/L	91,00 ± 0,200
pH	Unidad de pH	7,3 ± 0.00
Temperatura	°C	22,8 ± 0.10
CE	μS/cm	1210 ± 0.00

Variación de la DBO₅ en los efluentes de la PTAR-Collique por efecto de *Pseudomonas putida* ATCC 49128

La variación de la DBO₅ fue determinada comparando los niveles de este parámetro antes y después del experimento con *Pseudomonas putida* ATCC 49128. Teniendo en cuenta que la DBO₅ inicial, en las muestras de agua, fue de 61,58 ± 0,67 mg/L, el tratamiento que propició la mayor reducción de este parámetro fue (T1), con una DBO₅ final de 27,84 ± 0,76 mg/L en promedio, equivalente a una disminución del 54,8 % de materia orgánica. En otro extremo, el tercer tratamiento (T3) tuvo el menor efecto esperado, puesto que redujo la DBO₅ en un 43,4 %; la concentración final fue de 34,88 ± 0,79 mg/L. El análisis estadístico indica que los resultados presentan una

distribución normal, con varianzas uniformes; además, según el ANOVA, existen diferencias significativas entre los tratamientos. Asimismo, la prueba de Tukey a un nivel de significancia de 0,05 indica que la reducción de la DBO₅ es estadísticamente distinta en T1, T2 y T3. El T3 fue el tratamiento que redujo la DBO₅ en menor medida, y el T1, el tratamiento más efectivo (figura 4).

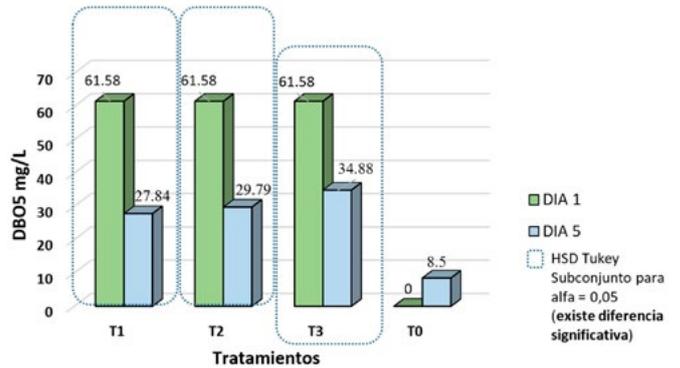


Figura 4. Variación de la DBO₅ en mg/L.

Efecto sobre la DQO de los efluentes de la PTAR-Collique, por influencia de *Pseudomonas putida* ATCC 49128

La DQO promedio que presentó la muestra de agua residual antes de ser sometida a los tratamientos fue de 91,00 ± 0,20 mg/L; tras el experimento con *Pseudomonas putida* ATCC 49128, los tratamientos T1 y T2 redujeron la DQO en mayor proporción, hasta niveles de 43,37 ± 0,56 y 45,90 ± 0,36 mg/L, respectivamente. Ello equivale a porcentajes de remoción de 52,34 ± 0,62 % para T1 y 49,56 ± 0,39 % para T2; mientras que T3 alcanzó una remoción de 41,75 ± 0,33 %, por lo que fue el tratamiento que mostró la menor reducción del parámetro. Por otro lado, el ANOVA al 0,05 de significancia indica que hay diferencias significativas entre los tratamientos, respecto a la reducción de la DQO. Asimismo, la prueba de Tukey sugirió que el efecto producido por cada uno de los tratamientos es distinto entre sí. Así, el T1 fue el tratamiento que alcanzó el mejor resultado en cuanto a la remoción de la DQO (figura 5).

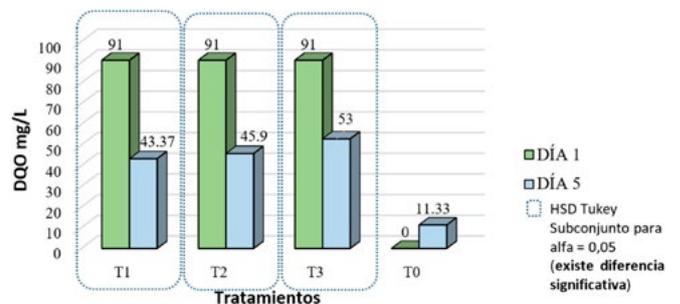


Figura 5. Variación de la DQO en mg/L.



Efecto sobre el pH de los efluentes de la PTAR-Collique, por influencia de Pseudomonas putida ATCC 49128

La fluctuación del pH en todos los tratamientos, a excepción de T0, tuvo una tendencia similar, puesto que mostró un incremento constante desde el inicio del experimento hasta las 96 horas. No obstante, a las 120 horas de tratamiento (quinto día), experimentó una ligera disminución del pH. Por ello, la fluctuación de este parámetro varió entre $7,46 \pm 0,5$ y $8,23 \pm 0,5$ para los tres tratamientos; mientras que el valor promedio de pH en T0 se mantuvo entre $6,60 \pm 0,100$ y $7,33 \pm 0,057$ (figura 6). Al aplicar las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene se corroboraron los supuestos de normalidad de datos (p valor $> 0,05$) y homogeneidad de varianzas (p valor $= 0,707 > \alpha = 0,05$). De esta manera, el ANOVA al 0,05 de significancia muestra diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos; en tanto, la prueba de Tukey sugiere que los niveles promedio de pH son estadísticamente iguales en los tres tratamientos, a diferencia de T0, que presenta diferencias significativas respecto a los demás tratamientos, con fluctuaciones de pH siempre por debajo de 7.

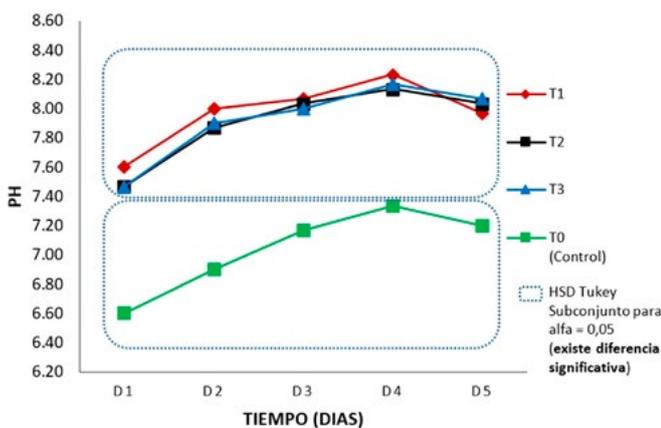


Figura 6. Variación del pH en los tratamientos.

Efecto sobre la temperatura de los efluentes de la PTAR-Collique, por influencia de Pseudomonas putida ATCC 49128

Los niveles de temperatura variaron entre $27,47 \pm 0,11$ y $25,36 \pm 0,11$ °C en promedio, y mostraron una tendencia similar en la totalidad de los tratamientos. Se observó una disminución de la temperatura a las 24 horas de tratamiento. Posteriormente, el nivel de temperatura se mantuvo relativamente constante hasta las 96 horas, y, al final, disminuyó en todos los tratamientos hacia el final del experimento (figura 7). Del ANOVA se tiene que la variación de temperatura en todos los tratamientos, incluido el control, no presentó diferencias significativas entre sí ($P = 0,149 > \alpha = 0,05$). Dicha afirmación fue corroborada al aplicar la prueba de Tukey al 0,05 de significancia, la cual agrupó a todos los tratamientos

en un mismo bloque; por ende, los niveles medios de temperatura son estadísticamente iguales y constantes en todos los tratamientos aplicados.

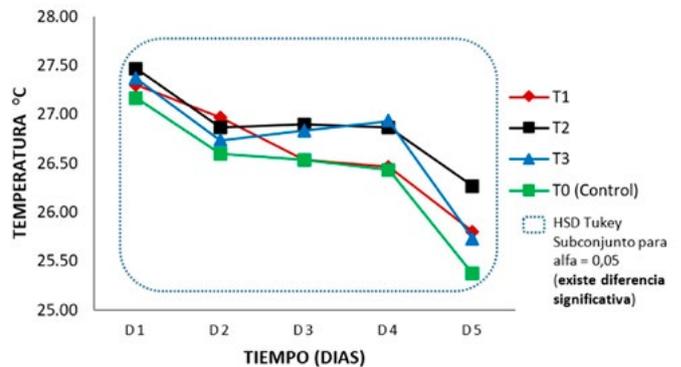


Figura 7. Variación de la temperatura en los tratamientos.

Efecto sobre la conductividad eléctrica de los efluentes de la PTAR-Collique, por influencia de Pseudomonas putida ATCC 49128

La variación de la conductividad eléctrica (CE) se enmarca entre los $1306,66 \pm 28,86$ y $1503,33 \pm 5,77$ $\mu\text{S}/\text{cm}$ como valores extremos para los tres tratamientos, a excepción de T0, que presentó valores relativamente inferiores y en el rango de $240,00 \pm 10,00$ a $320,00 \pm 10,00$ $\mu\text{S}/\text{cm}$ (figura 8). Del análisis de ANOVA a un 0,05 de significancia, se tuvo que existieron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$). Al respecto, la prueba de Tukey agrupó a T2 y T3 en un mismo bloque, lo cual implicó que las variaciones de la CE en dichos tratamientos son estadísticamente iguales; por el contrario, T1 y T0 presentaron divergencias estadísticas significativas entre sí y frente a los tratamientos T2 y T3.

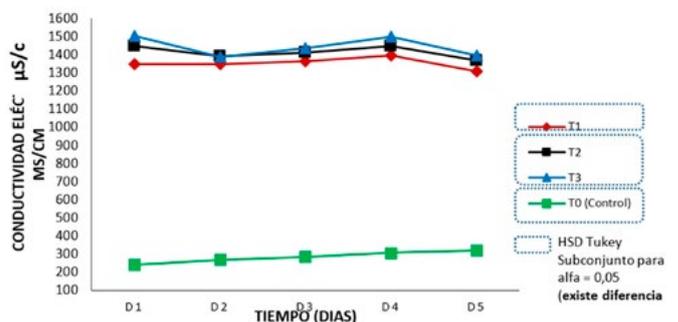


Figura 8. Variación de la CE ($\mu\text{S}/\text{cm}$) en los tratamientos.

Discusión

Cinética de crecimiento de Pseudomonas putida ATCC 49128

En la presente investigación *Pseudomonas putida* ATCC 49128 mostró un rápido crecimiento, al alcanzar una

concentración celular de 11×10^{10} UFC/mL a la onceava hora de medición. Investigaciones abordadas por Anaya (2019) y Takahashi (2018) reportaron concentraciones celulares de 33×10^7 UFC/mL y 14×10^7 UFC/mL, respectivamente. Aun cuando las metodologías, las condiciones de laboratorio y la cepa bacteriana utilizada fueron similares, la presente investigación mostró valores de crecimiento relativamente superiores a los estudios mencionados.

Al comparar estadísticamente los parámetros cinéticos de crecimiento del presente estudio y los reportados por Anaya (2019), Takahashi (2018) y Quinteros (2018), se determinaron diferencias estadísticas significativas entre sí ($p < 0,05$). Por ende, al analizar las posibles causas que dan pie a un crecimiento diferenciado de *Pseudomonas putida* en las investigaciones, se advierte que, en todos los casos, se desarrollaron diluciones seriadas para cuantificar el crecimiento bacteriano. No obstante, uno de los procedimientos previos implica trasladar un grupo de células activadas en medio sólido hacia un medio líquido, haciendo uso de un asa bacteriológica; en consecuencia, en cada una de las investigaciones se trasladó un número distinto e indeterminado de células de *Pseudomonas putida*. Por ese motivo, la diferenciación en el número inicial de células inoculadas en el medio de cultivo líquido podría influir en la velocidad de crecimiento posterior de la cepa. Finalmente, resulta importante resaltar que *Pseudomonas putida* mostró, en todos los casos, un crecimiento exponencial y óptimo para ser utilizado como biorremediador de las aguas residuales.

Parámetros fisicoquímicos de los efluentes de la PTAR-Collique

Los parámetros DBO₅ (61,58 mg/L), DQO (91 mg/L), pH (7,3) y temperatura (22,8 °C) correspondientes a las muestras de agua extraídas de la infraestructura de salida de la PTAR-Collique cumplieron con lo establecido en la normativa ambiental peruana. Ello se debió a que las concentraciones y parámetros determinados estuvieron por debajo de los niveles estipulado en los «Límites máximos permisibles (LMP) para efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas o municipales», establecidos por el Decreto Supremo N.º 003-2010-MINAM.

En contraste, Sunass (2016) señala que en 2013 el 48 % de las PTAR evaluadas incumplieron los niveles de DQO y el 21 % sobrepasaron los niveles de DBO₅ establecidos en los LMP. Por su parte, Cedrón y Cribilleros (2017) y Montenegro (2016), al evaluar efluentes de PTAR en el Perú, reportaron incumplimientos de la DQO en un 78 % y en un 5 %, respectivamente. De acuerdo con lo señalado, es posible denotar una heterogeneidad de casos en los cuales, por un lado, existen PTAR que no alcanzan a proporcionar efluentes de calidad, posiblemente a causa de la falta de mantenimiento en las infraestructuras de tratamiento o de los altos volúmenes de agua residual, que exceden su capacidad de tratamiento. Por otro lado, hay

PTAR que realizan un adecuado tratamiento de las aguas residuales domésticas, por su reciente puesta en operación o la utilización de tecnologías de tratamiento eficaces, como son los lodos activados. Este último es el caso de la PTAR-Collique, cuyos efluentes no representarían un peligro para la salud humana ni el ambiente, según los parámetros descritos.

Variación de la DBO₅ y DQO de los efluentes de la PTAR-Collique por efecto de *Pseudomonas putida* ATCC 49128

La bibliografía no describe estudios orientados al uso de *Pseudomonas putida* para depurar, de manera específica, las aguas residuales efluentes de PTAR. Sin embargo, sí se reportan investigaciones que evalúan el efecto remediador de esta cepa, en otro tipo de efluentes. Tal es el caso de las investigaciones abordadas por Mansour *et al.* (2011) o Azoddein *et al.* (2015), que evalúan la posibilidad de tratar aguas residuales provenientes de la industria aceitera. Dichas investigaciones, al igual que el presente estudio, evalúan la eficiencia biorremediadora de *Pseudomonas putida*, teniendo en cuenta la capacidad de la cepa para reducir los niveles de DBO₅, DQO o pH de las aguas residuales.

En el presente estudio, *Pseudomonas putida* ATCC 49128 propició una notable variación de la DBO₅ y DQO, al reducir dichos parámetros en 54,79 % y 52,34 % en promedio, respectivamente. Otras investigaciones llevadas a cabo por Flórez (2016) y Wang *et al.* (2008) obtuvieron niveles de remoción aún mayores, en el orden de 87,45 % (DBO₅) y 65,55 (DQO) en el primer caso, y una reducción muy significativa ($p < 0,01$), de 80,2 % de la DBO₅ en el caso de Wang *et al.* (2008). No obstante, del análisis realizado se advirtieron algunas diferencias metodológicas entre el presente estudio y los resultados obtenidos en la bibliografía citada. Así, en el caso de Flores (2016) se aplicó aireación constante y el ensayo fue de corta duración (48 horas); por su parte, Wang *et al.* (2008) desarrollaron el experimento en un lapso de 24 horas, aplicando movimiento constante a 100 rpm. En esa línea, Mansour *et al.* (2011) reportaron resultados aún mas sobresalientes, puesto que obtuvieron niveles de reducción muy significativos del 92,5 % de la DBO₅ y 85,3 % de la DQO. Dicho estudio contó con la aplicación de agitación (200 rpm) y aireación por burbujeo durante el experimento. Según lo señalado, resulta relevante tener en cuenta estos aspectos metodológicos, ya que podrían influir en el desempeño de *Pseudomonas putida* para alcanzar una remoción efectiva de la DBO₅ y DQO de las aguas residuales.

Efectos sobre el pH, temperatura y CE por influencia de *P. putida* ATCC 49128

pH

El nivel de pH alcanzado durante el proceso de biorremediación fluctuó entre 7,46 y 8,23 para los



tres tratamientos; en cambio, las fluctuaciones del TO estuvieron enmarcadas entre 6,60 y 7,33. Otras investigaciones, en las cuales se usó *Pseudomonas putida* como depurador de las aguas residuales, reportan variaciones de pH en el rango de 7,10 a 7,60 en el caso de Pimentel *et al.* (2018) y variaciones de pH entre 5 a 7,5 en el estudio realizado por Flórez (2016). Por ende, dichos niveles de pH se encontrarían en el rango de valores óptimos para este tipo de procesos, los cuales se recomienda mantener entre 6 a 8 (Gómez *et al.*, 2008). También Morillo y Guevara investigaron la degradación de cianuro de sodio por efecto de *Pseudomonas sp.* a diferentes niveles de pH, y encontraron que, a niveles de pH más cercanos a 7, la remoción del contaminante fue más efectiva. Morillo y Guevara concluyen que los niveles extremos de pH limitan la capacidad remediadora de la cepa, debido a que provocan la desnaturalización de las proteínas celulares.

Temperatura

Gómez *et al.* (2008) subrayan que la temperatura adecuada en los procesos de remoción de contaminantes con *Pseudomonas putida* debería encontrarse entre 30 a 35 °C, porque la cepa bacteriana en cuestión, pese a soportar amplios rangos de temperatura, es un microorganismo mesófilo (20 °C-40 °C). Al respecto, las unidades experimentales de la presente investigación fueron dispuestas en una estufa a temperatura constante de 30 °C, a lo largo del ensayo (Botello, Ortiz y Peña, 2016; Morillo y Guevara, 2014); no obstante, se registraron ligeras variaciones en la temperatura de las muestras de agua, en un rango de 25,36 a 27,47 °C, sin presentar diferencias estadísticas significativas entre sí ($p = 0,149 > \alpha = 0,05$).

Conductividad eléctrica (CE)

Las variaciones de la CE durante el experimento fueron mínimas, en el rango de 1300 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 1500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ para los tratamientos aplicados, y entre 240 a 320 $\mu\text{S}/\text{cm}$ para el TO. Con ello se alcanzó una reducción promedio del 9 % de la CE. Al respecto, Pimentel *et al.* (2018) reportan reducciones de la CE en un 48,53 %, tras usar *Pseudomonas putida* para depurar efluentes líquidos. Pese a ello, cabe señalar que los niveles de CE determinados en la presente investigación son bajos, en comparación con las concentraciones de este parámetro exigidas en la

normativa ambiental peruana, entre 1500 y 1600 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Decreto Supremo N.° 004-2017-MINAM).

Conclusiones

Con base en los resultados, se concluye que *Pseudomonas putida* ATCC 49128 produjo una variación significativa de la DBO₅ y DQO de los efluentes de la PTAR-Collique.

Pseudomonas putida ATCC 49128 redujo la DBO₅ (54,79 %) y DQO (52,34 %) de los efluentes de PTAR, perfilándose como un microorganismo eficaz en la depuración de estas aguas. Además, la capacidad biorremediadora de *Pseudomonas putida* ATCC 49128 podría verse potenciada, por un lado, al asegurar la disponibilidad de materia orgánica como fuente de energía y, por otro lado, al aplicar aireación y movimiento en las unidades de tratamiento.

La influencia de *Pseudomonas putida* ATCC 49128 en los parámetros pH, temperatura y CE fue mínima; en tal sentido, dichos parámetros fluctuaron en el rango de valores óptimos para este tipo de procesos, en los cuales se emplean organismos vivos para remover contaminantes albergados en las aguas residuales.

Agradecimiento

A la Municipalidad Distrital de Comas, por las facilidades brindadas para la toma de muestras de agua residual doméstica. A la bióloga Teresa Damaris Rebaza Cárdenas, por el valioso apoyo brindado durante los trabajos en laboratorio.

Fuente de financiamiento

La presente investigación fue autofinanciada.

Contribución de autoría

DBS desarrolló la ejecución experimental de la investigación, el recojo y el análisis de la información, así como la redacción del presente artículo. ACS brindó asesoría técnica durante el desarrollo de la investigación.

Potenciales conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflicto de intereses alguno.

Referencias bibliográficas

- Albert, L. (2011).** «Contaminación ambiental: origen, clases, fuentes y efectos». *Sociedad Mexicana de Toxicología*. Disponible en: <https://dsp.facmed.unam.mx/wp-content/uploads/2022/02/Contaminacion-ambiental-origen-clases-fuentes-y-efectos.pdf>
- American Public Health Association. (1992).** *Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales*. Madrid: Díaz de Santos.
- Anaya, J. (2019).** *Evaluación de la remoción de nitrógeno total y fósforo total presentes en las aguas del Humedal de Santa Rosa mediante la bacteria Pseudomonas putida ATCC 49128*. Tesis de grado. Universidad Católica Sedes Sapientiae.
- Aquiuhuatl, M., Volke, T., Prado, L., Shirai, K., Ramírez, F. y Salazar, M. (2012).** *Manual de prácticas de laboratorio Microbiología general*. Ciudad de México: Casa Abierta al Tiempo.
- Azoddein, M., Bustary, B., Azli, A., Abidin, Z., Ali, M. y Desa, M. (2015).** «Study of palm oil mill effluents treatment using bioengineered structure biomedica». *Journal of Engineering and Technology*, 6(2), pp. 67-74. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/270215563.pdf>
- Bedoya, J., Castaño, G. y Ochoa, S. (2019).** «Tolerancia al plomo de aislamientos nativos de *Pseudomonas* spp. de aguas residuales del Valle de Aburrá». *Revista Colombiana de Biotecnología*, 21(1), pp. 68-76. Disponible en: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v21n1.65146>
- Botello, W., Ortiz, J. y Peña, S. (2016).** «Inmovilización microbiana en polímeros sintéticos para el tratamiento de aguas residuales». *NOVA*, 14(26), pp. 93-100. Disponible en: <https://doi.org/10.22490/24629448.1755>
- Bustos, C. (2017).** *Desarrollo de un método para recuento de Listeria monocytogenes utilizando turbidimetría*. Tesis de grado. Universidad Técnica de Ambato.
- Cedron, O. y Cribilleros, A. (2017).** *Diagnóstico del sistema de aguas residuales en Salaverry y propuesta de solución*. Tesis de grado. Universidad Privada Antenor Orrego.
- Chitiva, L. y Dussán, J. (2003).** «Evaluación de matrices para la inmovilización de *Pseudomonas* spp. en biorremediación del fenol». *Revista Colombiana de Biotecnología*, 5(2), pp. 5-10. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/776/77650201.pdf>
- Decreto Supremo N.º 003-2010-MINAM. (17 de marzo de 2010).** Normas Legales, 415675. Diario oficial *El Peruano*, pp. 415675-415676.
- Decreto Supremo N.º 004-2017-MINAM. (7 de junio de 2017).** Normas Legales, 20170607. Diario oficial *El Peruano*, pp. 10-19.
- Del Ángel, M. (1994).** *Contribución al estudio de la demanda bioquímica de oxígeno*. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Gonzalez, L., Tablada, E., Díaz, M., Robledo, C. y Balzarini, M. (2005).** *Estadística para las Ciencias Agropecuaria*. Cordova: ISBN.
- Flórez, D. (2016).** *Evaluación de la eficiencia de un tratamiento biológico aerobio mediante el uso de las bacterias Pseudomonas putida, Pseudomonas mendocina y Hafnia alvei, como alternativa de tratamiento para vertimientos líquidos de una industria láctea*. Tesis de grado. Universidad Nacional Abierta y a Distancia.
- Garzón, J., Rodríguez, J. y Hernández, C. (2017).** Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. *Universidad y Salud*, 19(2), pp. 309-318. Disponible en: <https://doi.org/10.22267/rus.171902.93>
- Gómez, S., Gutiérrez, D., Hernández, A., Hernández, C., Losada, M. y Mantilla, P. (2008).** «Factores bióticos y abióticos que condicionan la biorremediación por *Pseudomonas* en suelos contaminados por hidrocarburos». *NOVA*, 6(9), pp. 76-84. Disponible en: <https://doi.org/10.22490/24629448.398>
- Johnsen, K. y Nielsen, P. (1999).** «Diversity of *Pseudomonas* strains isolated with King B and Gould S1 agar determined by repetitive extragenic palindromic-polymerase chain reaction, 16S rDNA sequencing and Fourier transform infrared spectroscopy characterization». *Microbiology Letters*, 173(1999), pp. 155-162. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13497.x>
- Lacal, J. (2008).** *Caracterización bioquímica y molecular del sistema de dos componentes TODS/TODT de Pseudomonas putida DAT-TIE*. Tesis doctoral. Universidad de Granada.
- Loh, K.-C. y Cao, B. (2008).** «Paradigm in biodegradation using *Pseudomonas putida* - A review of proteomics studies». *Enzyme and Microbial Technology*, 43(1), pp. 1-12. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2008.03.004>
- Mansour, H., Mechri, B., Ghedira, K., Barillier, D., Mosrati, R., Hammami, M. y Ghedira, L. (2011).** «Treatment of olive mill wastewaters by *Pseudomonas putida* mt-2: Toxicity assessment of untreated and treated effluent». *Environmental Engineering Science*, 28(12). Disponible en: <https://doi.org/10.1089/ees.2010.0236>
- Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento. (2013).** «Protocolo de monitoreo de la calidad de los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas o municipales». Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/vivienda/normas-legales/13762-273-2013-vivienda>
- Montenegro, J. (2016).** *Eficiencia de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas del distrito El Parco, Bagua, Amazonas, abril-octubre 2013*. Tesis de maestría. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- Morillo, J. y Guevara, J. (2014).** *Degradación de cianuro de sodio por Pseudomonas sp. a dos temperaturas y tres pH*. Tesis de grado. Universidad Nacional de Trujillo.
- Pimentel, G., Flores, R., Alfaro, Y., Villarreal, D. y De la Cruz, A. (2018).** «Aplicación de bacterias benéficas como modelo experimental para la reducción de sólidos y conductividad en aguas residuales». *Revista de Iniciación Científica*, pp. 57-61. Disponible en: <https://doi.org/10.33412/rev-ric.v4.0.1821>
- Quinteros, A. (2018).** *Modelamiento matemático de la fenomenología de crecimiento de Pseudomonas putida a partir de la cinética utilizando glicerol como sustrato*. Tesis de grado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Raffo, E. y Ruiz, E. (2014).** «Caracterización de las aguas residuales y la demanda bioquímica de oxígeno». *Industrial Data*, 17(1), pp. 71-80. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81640855010>
- Sánchez, K. (2018).** *Evaluación del diseño de un fotobiorreactor con iluminación fotovoltaica para la obtención de biomasa Arthrospira platensis (Nordstedt) Gomont empleando agua residual hidropónica*. Tesis de grado. Universidad Católica Sedes Sapientiae.
- Superintendencia Nacional de Servicios de Saneamiento, Sunass. (2016).** *Diagnóstico de las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales en el ámbito de operación de las Entidades Prestadoras de Servicios de Saneamiento*. Disponible en: <https://www.sunass.gob.pe/doc/Publicaciones/ptar.pdf>
- Takahashi, K. (2018).** *Remoción de plomo y cadmio presente en el efluente del río Pativilca, Barranca, Lima por células inmovilizadas de Pseudomonas putida ATCC 49128*. Tesis de grado. Universidad Católica Sedes Sapientiae.
- Wang, L., Huang, L.-J., Yun, L.-J., Tang, F., Zhao, J.-H., Liu, Y. y Luo, Q.-F. (2008).** «Removal of nitrogen, phosphorus, and organic pollutants from water using seeding type immobilized microorganisms». *Biomedical and Environmental Sciences*, 21(2), pp. 150-156. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0895-3988\(08\)60021-5](https://doi.org/10.1016/S0895-3988(08)60021-5)

