



# UNIVERSIDAD ANDINA DEL CUSCO

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL



TESIS

---

**EFICIENCIA DE RIZOBACTERIAS AISLADAS DE *Scirpus californicus*  
y *Typha dominguensis* EN LA REDUCCIÓN DE DQO DE AGUAS  
RESIDUALES BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO, CUSCO  
2022.**

---

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: Ingeniería e Innovación tecnológica**

**Presentado por:**

Bach. Granada Cruz Gabriela Olenka

Bach. Masias Flores Sandra Maite

**Para optar al Título Profesional de  
Ingeniero Ambiental**

**Asesor:** Dr. Ing. Felio Calderón La Torre

**CUSCO - PERÚ**

**2022**



## AGRADECIMIENTOS

A nuestra casa de estudios “Universidad Andina del Cusco” y profesorado de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental, por brindarnos los conocimientos y herramientas necesarias en la formación para Ingenieros Ambientales.

Al asesor Dr. Ing. Felio Calderón La Torre por habernos guiado y sus sabios consejos, así como los grandes aportes en nuestra investigación.

A la Dra. Blga. Verónica Isela Vera Marmanillo por brindarnos su apoyo incondicional, conocimientos, dedicación y respaldo para el desarrollo de esta investigación, por permitirnos hacer uso de su laboratorio y efectuar la experimentación bajo su cuidado. Por su tiempo, paciencia y cariño que han sido esenciales para alcanzar esta meta.

A la EPS SEDACUSCO por facilitarnos el acceso a la Planta de tratamiento de aguas residuales San Jerónimo – Cusco y proporcionarnos asistencia técnica en la toma de muestra de aguas residuales.

A nuestros amigos y compañeros de la Universidad con quienes compartimos gratos momentos, por su apoyo incondicional durante la construcción de esta tesis, los apreciamos mucho.



## DEDICATORIA

A Dios por guiarme y permitirme llegar a este punto.

A mi familia, especialmente a mi madre y padre quienes son pilares y apoyo en mi vida, por cada palabra de aliento brindada que me ayudó en este proceso.

A mi hermana Graysi, que continúa aconsejándome en este camino; aún desde pequeñas, por su eterna complicidad

A T. por ser la mejor mascota, por su compañía en mis horas de estudio, demostrando el cariño más puro hacia alguien. Y a todos quienes me ayudaron y alegraron en esta etapa académica; familiares y amigos.

**Con aprecio, Gabriela.**



## DEDICATORIA

A Dios todopoderoso, por su infinita bondad y amor, por estar siempre a mi lado, brindarme grandes oportunidades y ayudarme siempre a superar toda dificultad para lograr mis objetivos, por los triunfos que me regaló y por haberme permitido llegar hasta aquí.

A mis padres Rene Masias Salazar y Maruja Flores Encalada por su gran amor, esfuerzo, apoyo y guía en cada paso de mi vida personal y académica, por su paciencia y enseñanzas que me ayudaron a crecer y fortalecerme.

A mi hermana Rocio Masias Flores, por sus consejos y motivación para alcanzar mis metas.

A mis amigos, por su apoyo incondicional y por los lindos momentos que me trajeron felicidad.

**Con cariño, Sandra.**



## LISTA DE ABREVIATURAS

%(V/V): Porcentaje Volumen sobre Volumen

A/G: Aceites y Grasas

ANA: Autoridad Nacional del Agua

ANOVA: Análisis de Varianza

ARD: Agua Residual Doméstica

ARU: Agua Residual Urbana

CG: *Cyperus giganteus*

cm: Centímetros

CF: Coliformes Fecales

CTT: Coliformes Termo Tolerantes

DBO: Demanda Bioquímica de Oxígeno

DP<sub>max</sub>: Distancia Punto Máximo

DPP: Distancia del Punto Medio

DQO: Demanda Química de Oxígeno

DT: Dureza Total

ECA Estándares de calidad ambiental

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: Ácido Sulfúrico

h: Horas

ICA: Índice de Calidad Ambiental

INEI: Instituto Nacional de Estadística e Informática

LMP: Límites Máximos Permisibles

L: Litros

m: Metros

ME: Microorganismos Eficientes



mg: Miligramos

min: Minutos

MINAM: Ministerio del Ambiente

ml: Mililitros

mm: Milímetros

MO: Materia Orgánica

N: Nitrógeno

NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: Ion Amonio

NTK: Nitrógeno Total Kjeldahl

P: Fósforo

pH: Potencial de Hidrógeno

ppm: Partículas por millón

PTAR: Planta de Tratamiento de Aguas Residuales

PCBs: Bifenilos policlorados

RAMSAR: Convención Relativa a los humedales de Importancia Internacional, especialmente hábitat de aves acuáticas firmada en la ciudad iraní de Ramsar.

rpm: Revoluciones por minuto

SC: *Scirpus californicus*

SST: Sólidos Suspendidos Totales

SSV: Sólidos Suspendidos Volátiles

ST: Sólidos Totales

TD: *Typha dominguensis*

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

V<sub>sol</sub>: Volumen de solución

V<sub>sto</sub>: Volumen del soluto



## ÍNDICE

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	i
<b>DEDICATORIA</b> .....	ii
<b>DEDICATORIA</b> .....	iii
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	iv
<b>ÍNDICE</b> .....	vi
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	ix
<b>RESUMEN</b> .....	xii
<b>ABSTRACT</b> .....	xiii
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	xiv
<b>CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1 Planteamiento del Problema .....	1
1.2 Formulación del Problema.....	2
1.2.1 Problema General.....	2
1.2.2 Problemas Específicos.....	2
1.3 Justificación .....	2
1.3.1 Conveniencia.....	3
1.3.2 Relevancia Social. ....	3
1.3.3 Implicancia práctica.....	3
1.3.4 Valor teórico.....	4
1.3.5 Utilidad metodológica.....	4
1.4 Objetivos de investigación .....	4
1.4.1 Objetivo General.....	4
1.4.2 Objetivos Específicos.....	4
1.5 Delimitación del estudio .....	5
1.5.1 Delimitación espacial.....	5
1.5.2 Delimitación temporal.....	7
<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO</b> .....	8
2.1 Antecedentes del Estudio.....	8
2.1.1 Antecedente Internacional.....	8
2.1.2 Antecedentes Nacionales.....	8
2.2 Bases Teóricas .....	10
2.2.1 Especies Totales <i>Typha dominguensis</i> y <i>Scirpus californicus</i> . ....	10
2.2.1.1 <i>Typha dominguensis</i> .....	10
2.2.1.2 <i>Scirpus californicus</i> .....	11



2.2.1.3	<i>Uso en la remoción de contaminantes</i> .....	12
2.2.2	Bacterias Rizosféricas.....	15
2.2.2.1	<i>Hábitat: Rizósfera</i> .....	16
2.2.2.2	<i>Potencialidades</i> .....	17
2.2.3	Aguas Residuales Urbanas.....	18
2.2.3.1	<i>Parámetros indicadores de la calidad de agua residual</i> .....	20
2.2.3.2	<i>DBO y DQO en aguas residuales</i> .....	21
2.3	Marco conceptual.....	22
2.4	Hipótesis.....	23
2.4.1	Hipótesis General.....	23
2.4.2	Hipótesis Específicas.....	24
2.5	Variables.....	24
2.5.1	Identificación de variables.....	24
2.5.2	Operacionalización de variables.....	25
<b>CAPÍTULO III: MÉTODO</b> .....		26
3.1	Alcance del Estudio.....	26
3.2	Diseño de la investigación.....	26
3.3	Población.....	26
3.4	Muestra.....	26
3.5	Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	27
3.6	Validez y confiabilidad de instrumentos.....	46
3.7	Plan de Análisis de datos.....	47
<b>CAPÍTULO IV: RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....		50
4.1	Resultados respecto a los objetivos específicos.....	51
4.2	Resultado respecto al objetivo general.....	66
<b>CAPÍTULO V: DISCUSIÓN</b> .....		68
5.1	Descripción de los hallazgos más relevantes y significativos.....	68
5.2	Limitaciones del estudio.....	68
5.3	Comparación crítica con la literatura existente.....	69
<b>CONCLUSIONES</b> .....		71
<b>RECOMENDACIONES</b> .....		72
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....		73
<b>A. INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS</b> .....		79
<b>B. VALIDACIÓN DE INSTRUMENTOS</b> .....		87
<b>C. ANEXOS</b> .....		91





## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> Estudios sobre remoción de contaminantes utilizando <i>Typha dominguensis</i> .....	12
<b>Tabla 2</b> Estudios sobre remoción de contaminantes utilizando <i>Scirpus californicus</i> .....	14
<b>Tabla 3</b> Estudios sobre remoción de contaminantes utilizando bacterias rizosféricas.....	17
<b>Tabla 4</b> Criterios de biodegradabilidad según la relación $DBO_5/DQO$ . ....	22
<b>Tabla 5</b> Cuadro de operacionalización de variables.....	25
<b>Tabla 6</b> Determinación del número de UFC en placa y UFC/ml.....	33
<b>Tabla 7</b> Valores de dosis, tiempo de contacto y temperatura. ....	40
<b>Tabla 8</b> Cálculo de dosis de biomasa bacteriana. ....	40
<b>Tabla 9</b> Calificación de los instrumentos de recolección de datos valorada por los expertos.....	46
<b>Tabla 10</b> Método DPP - Rango de calificación.....	47
<b>Tabla 11</b> Factores y niveles del diseño factorial.....	48
<b>Tabla 12</b> Modelo de tabla para sistematizar los datos referentes a TD .....	48
<b>Tabla 13</b> Modelo de tabla para sistematizar los datos referentes a SC.....	49
<b>Tabla 14</b> Valores iniciales de DQO y DBO.....	50
<b>Tabla 15</b> Niveles de reducción de DQO por acción de rizobacterias de TD. ....	54
<b>Tabla 16</b> Niveles de reducción de DQO por acción de rizobacterias de SC. ....	55
<b>Tabla 17</b> Análisis de Varianza para remoción de DQO por acción de rizobacterias de TD. ....	58
<b>Tabla 18</b> Análisis de Varianza para remoción de DQO por acción de rizobacterias de SC.....	62
<b>Tabla 19</b> Porcentajes de reducción de DBO por acción de rizobacterias.....	66
<b>Tabla 20</b> Porcentajes de reducción de DQO en fosas sépticas y tanques Imhoff.....	66



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> <i>Ubicación geográfica de la zona de estudio.</i> .....	5
<b>Figura 2</b> <i>Punto de extracción de la muestra de agua residual del Tratamiento Preliminar - PTAR San Jerónimo.</i> .....	6
<b>Figura 3</b> <i>Canal de entrada después del sistema de cribado-PTAR San Jerónimo.</i> .....	6
<b>Figura 4</b> <i>Ubicación espacial Humedal Lucre-Huacarpay.</i> .....	7
<b>Figura 5</b> <i>Totora Typha dominguensis</i> .....	10
<b>Figura 6</b> <i>Totora Scirpus californicus.</i> ....	11
<b>Figura 7</b> <i>Diagrama de Operaciones de la Planta de Tratamiento PTAR San Jerónimo.</i> .....	20
<b>Figura 8</b> <i>Ubicación geográfica de la zona de estudio.</i> .....	27
<b>Figura 9</b> <i>Punto 1 de extracción de muestras de raíz con suelo rizosférico especie Scirpus californicus.</i> .....	28
<b>Figura 10</b> <i>Punto 2 de extracción de muestras de raíz con suelo rizosférico especie Typha dominguensis</i> .....	29
<b>Figura 11</b> <i>Punto 3 de extracción de muestras de raíz con suelo rizosférico especie Typha dominguensis.</i> .....	29
<b>Figura 12</b> <i>Punto 4 de extracción de muestras de raíz con suelo rizosférico especie Scirpus californicus.</i> .....	29
<b>Figura 13</b> <i>Vaciado de viales para la adición de agua estéril y agitado de las muestras.</i> .....	30
<b>Figura 14</b> <i>Sembrado de bacterias en agar nutritivo.</i> .....	31
<b>Figura 15</b> <i>Incubación de las bacterias a una temperatura de 28°C.</i> .....	31
<b>Figura 16</b> <i>Presencia de colonias bacterianas en placa.</i> .....	32
<b>Figura 17</b> <i>Fijación de frotis para la coloración de Gram y análisis en microscopio</i> .....	33
<b>Figura 18</b> <i>Cultivo de bacterias en caldo nutritivo</i> .....	34
<b>Figura 19</b> <i>Crecimiento de biomasa bacteriana después de 1 día</i> .....	34
<b>Figura 20</b> <i>Crecimiento de biomasa bacteriana después de 10 días</i> .....	35
<b>Figura 21</b> <i>Canal de entrada después del cribado - PTAR San Jerónimo.</i> .....	35
<b>Figura 22</b> <i>Extracción de muestras de agua residual - PTAR San Jerónimo.</i> .....	36
<b>Figura 23</b> <i>Medición de pH.</i> .....	36
<b>Figura 24</b> <i>Adición de dicromato de potasio y ácido sulfúrico.</i> .....	37



<b>Figura 25</b> <i>Resultado de la digestión.</i> .....	37
<b>Figura 26</b> <i>Valoración de DQO mediante Fotómetro de luz</i> .....	38
<b>Figura 27</b> <i>Adición de sustancia inhibidora de nitrógeno con hidróxido de sodio e instalación del Sistema OxiTop en la incubadora.</i> .....	39
<b>Figura 28</b> <i>Resultado de la DBO<sub>5</sub></i> .....	39
<b>Figura 29</b> <i>Inoculación de rizobacterias al agua residual a distintas dosis a una temperatura de 20°C</i> .....	41
<b>Figura 30</b> <i>Inoculación de rizobacterias al agua residual a distintas dosis a temperaturas de 25°C y 30°C</i> .....	41
<b>Figura 31</b> <i>Centrifugado de muestras para la separación de biomasa del agua residual.</i> .....	42
<b>Figura 32</b> <i>Valoración de DQO mediante Fotómetro de Luz</i> .....	43
<b>Figura 33</b> <i>Diagrama de flujo Procedimiento experimental</i> .....	45
<b>Figura 34</b> <i>Evaluación de los porcentajes de reducción de DQO por rizobacterias de TD.</i> .....	55
<b>Figura 35</b> <i>Evaluación de los porcentajes de reducción de DQO por rizobacterias de SC.</i> .....	56
<b>Figura 36</b> <i>Diagrama de Pareto para reducción de DQO por rizobacterias de TD.</i> .....	59
<b>Figura 37</b> <i>Gráfica de efectos principales para reducción de DQO por acción de rizobacterias de TD.</i> .....	60
<b>Figura 38</b> <i>Gráfica de interacción para reducción de DQO por acción de rizobacterias de TD.</i> .....	61
<b>Figura 39</b> <i>Diagrama de Pareto para reducción de DQO por acción de rizobacterias de SC.</i> .....	63
<b>Figura 40</b> <i>Gráfica de efectos principales para reducción de DQO por acción de rizobacterias de SC</i> .....	64
<b>Figura 41</b> <i>Gráfica de interacción de reducción de DQO por acción de rizobacterias de SC.</i> .....	65
<b>Figura 42</b> <i>Ficha de registro de datos N°1 - Extracción de las raíces con suelo rizosférico</i> .....	79
<b>Figura 43</b> <i>Ficha de registro de datos N°2 – Identificación bacteriana de las rizobacterias aisladas.</i> .....	81
<b>Figura 44</b> <i>Ficha de registro de datos N°3 – Conteo de Unidades Formadoras de Colonia.</i> .....	83



<b>Figura 45</b> <i>Cadena de custodia</i> .....	84
<b>Figura 46</b> <i>Reporte de Laboratorio N°1 – Análisis de DBO y DQO Pre-Tratamiento</i> .....	85
<b>Figura 47</b> <i>Reporte de Laboratorio N°2 - Parámetro DQO post tratamiento.</i> .....	86
<b>Figura 48</b> <i>Preparación de Agua peptona</i> .....	91
<b>Figura 49</b> <i>Preparación de Caldo nutritivo</i> .....	92



## RESUMEN

Las aguas residuales urbanas representan una de las más grandes problemáticas ambientales en Cusco, siendo la materia orgánica el principal contaminante. Y ante la necesidad de innovar con tecnologías limpias, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar la eficiencia de rizobacterias aisladas de *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis* en la reducción de DQO en aguas residuales a condiciones de laboratorio. La metodología consistió en extraer suelo rizosférico de ambas especies de totoras ubicadas en el humedal Lucre – Huacarpay, conservadas en agua peptona al 10% y llevadas a laboratorio para el cultivo, proliferación, identificación por morfología y coloración de Gram de rizobacterias. La muestra de agua residual fue obtenida en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) San Jerónimo - Cusco después del sistema de cribado, su concentración inicial de DQO fue 820.98 mg/l y DBO 552 mg/l. El agua residual fue sometida a tratamientos con rizobacterias evaluando tres factores: Dosis (1%v/v y 2%v/v), tiempo de contacto (3 y 5 días) y temperatura (20°C y 30°C). Para el análisis de datos se empleó un diseño factorial de 2<sup>3</sup> con puntos centrales (1.5%v/v de dosis, 4 días y 25°C). Los resultados de reducción de DQO oscilan entre 15% a 51% correspondientes a las rizobacterias aisladas de *Typha dominguensis* y 18% hasta 49.58% en rizobacterias aisladas de *Scirpus californicus*. Para la DBO, se obtuvo una reducción del 70% con el tratamiento de 30°C en ambas especies. En conclusión, se determinó la eficiencia significativa de rizobacterias aisladas de *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis* en la reducción de DQO de agua residuales urbanas bajo condiciones de laboratorio, donde los niveles de reducción más altos obtenidos por parte de las rizobacterias de TD y SC fueron de 51.24% y 49.58% respectivamente con dosis de 1%v/v a los 5 días de contacto y temperatura de 20°C.

**PALABRAS CLAVES:** DBO, DQO, Rizobacterias, *Scirpus californicus*, *Typha dominguensis*.



## ABSTRACT

Urban wastewater represents one of the biggest environmental problems in Cusco, being organic matter the main pollutant. In response to the need to innovate with clean technologies, the present work aims to evaluate the efficiency of rhizobacteria isolated from *Scirpus californicus* and *Typha dominguensis* in the reduction of COD in wastewater under laboratory conditions. The methodology consisted of extracting rhizospheric soil from both species of cattails located in the Lucre - Huacarpay wetland, preserved in 10% peptone water and taken to the laboratory for proliferation in culture, and for examining the Gram stain status and morphological features of bacteria. The wastewater sample was obtained at the San Jeronimo Wastewater Treatment Plant (WWTP) - Cusco after screening; its initial COD concentration was 820.98 mg/l and BOD 552 mg/l. The wastewater was subjected to treatments with rhizobacteria by evaluating three factors: dose (1%v/v and 2%v/v), contact time (3 and 5 days) and temperature (20°C and 30°C). A 2<sup>3</sup> factorial design with central points (1.5%v/v dose, 4 days and 25°C) was used for the analysis. The results of COD reduction ranged from 15% to 51% for rhizobacteria isolated from *Typha dominguensis* and 18% to 49% for rhizobacteria isolated from *Scirpus californicus*. For BOD, 70% reduction was obtained at 30°C treatment in both species. In conclusion, significant efficiency of rhizobacteria isolated from *Scirpus californicus* and *Typha dominguensis* for the reduction of COD in urban wastewater determined under laboratory conditions, getting highest reduction levels by the rhizobacterias of TD and SC (51.24% and 49.58% respectively) with a dose of 1%v/v at 5 days at a temperature of 20°C.

KEY WORDS: *BOD*, *COD*, *Rhizobacteria*, *Scirpus californicus*, *Typha dominguensis*.



## INTRODUCCIÓN

En todo el mundo, el deterioro de la calidad del agua potable y su escasez viene siendo intensificada por la contaminación continua y directa a ríos, lagos, lagunas y otros cuerpos hídricos, con agentes contaminantes provenientes de actividades antropogénicas. El problema de contaminación hídrica está alcanzando niveles críticos especialmente en países del tercer mundo en donde las pequeñas ciudades no cuentan con plantas de tratamiento, y en cuanto a las urbes, a pesar de disponer de sistemas integrados para el tratamiento de aguas residuales estos no logran abastecer a toda la población llegando a tratar solo un pequeño porcentaje de aguas servidas, provocando así que sus redes de alcantarillado viertan efluentes domésticos e industriales a cuerpos de agua superficiales.

En el Perú existen 171 plantas de tratamiento de aguas residuales operativas de 202 (SUNASS, 2022), y Cusco cuenta con la PTAR San Jerónimo considerada una de las mejores del país. Aun así, estos sistemas no logran abastecer el total de aguas residuales generadas. A estos conflictos se suma la aceleración del crecimiento urbano que trae consigo una extraordinaria escasez del agua.

La naturaleza de este problema genera la necesidad y urgencia de diseñar nuevos métodos para la gestión de agua potable y aguas residuales, así como también crece la demanda del uso de tecnologías de tratamiento eficaces que al integrarse formen un sistema de tratamiento óptimo para disminuir la carga contaminante de efluentes residuales, limite su vertido, logre recuperar agua de alta calidad y permitan una adecuada gestión del agua.

Es por ello, que surge esta investigación “EFICIENCIA DE RIZOBACTERIAS AISLADAS DE *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis* EN LA REDUCCIÓN DE DQO DE AGUAS RESIDUALES BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO, CUSCO 2022”, que plantea la inoculación de bacterias extraídas de la rizósfera de dos especies totorales pertenecientes al humedal de Lucre - Huacarpay en aguas residuales urbanas, y mediante la ingeniería brindar todos los requerimientos necesarios a este tratamiento, como la dosis de biomasa, temperatura y tiempo de retención hidráulico para alcanzar la eficiencia en la reducción de las concentraciones de demanda química de oxígeno.



## CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

### 1.1 Planteamiento del Problema

A nivel mundial más del 80% de las aguas residuales de diversas fuentes son vertidas al ambiente sin un tratamiento previo, este problema a gran escala genera efectos adversos en: La salud, por el deterioro de la calidad de agua reduciendo la disponibilidad del número de cuerpos hídricos aptos para consumo; el ambiente por la inserción de contaminantes que degradan los ecosistemas y la economía al generarse externalidades por los daños ambientales causados y dificultad en el desarrollo de actividades económicas como agricultura, ganadería, piscicultura, industria y turismo. (WWAP, 2017)

En el Perú, la principal causa de contaminación hídrica es el insuficiente tratamiento de aguas residuales domésticas, que según el Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI) en el año 2019, las descargas de efluentes residuales domésticos sin tratamiento fueron de 262 696 865 m<sup>3</sup>. Adicionalmente, la Autoridad Nacional del Agua (ANA) identificó 41 unidades hidrográficas, cuyos parámetros exceden los estándares de calidad ambiental para el agua (DAR, 2017).

En la ciudad del Cusco, el problema de pérdida de recurso hídrico se magnifica por la contaminación directa que sufre uno de los principales cuerpos de agua: El río Huatanay, a causa del servicio de tratamiento de aguas residuales que no logra abastecer a toda la población. De acuerdo al informe de la Superintendencia Nacional de Servicios de Saneamiento (SUNASS) al 2019, la PTAR San Jerónimo trata el 85% de aguas residuales generadas y el 15% restante es vertido directamente al río a lo largo de todo su recorrido, convirtiendo a este cuerpo hídrico en el principal colector de aguas servidas. Según Calvo y Polo, (2017) en su investigación sobre la evaluación de la contaminación del río Huatanay, los valores de pH; demanda bioquímica de oxígeno (DBO); coliformes termotolerantes (CTT) y coliformes fecales (CF) se encuentran por encima de los valores establecidos por los Estándares de Calidad Ambiental (ECA), probando que el Índice de Calidad Ambiental (ICA) del río Huatanay es MALO, motivo por el cual se imposibilita su uso.





## 1.2 Formulación del Problema

### 1.2.1 Problema General.

¿Cuán eficientes son las rizobacterias aisladas de *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis* en la reducción de DQO de aguas residuales bajo condiciones de laboratorio, Cusco 2022?

### 1.2.2 Problemas Específicos.

Problema específico 1: ¿Es posible aislar las bacterias de la rizosfera de las totoras *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis*?

Problema específico 2: ¿Cuál es el porcentaje de reducción de DQO de aguas residuales por acción de rizobacterias bajo condiciones de laboratorio?

Problema específico 3: ¿Cuál es la dosis de inoculación adecuada de rizobacterias para la reducción de DQO de aguas residuales bajo condiciones de laboratorio?

Problema específico 4: ¿Cuál es el tiempo de contacto adecuado de rizobacterias con el agua residual para la reducción de DQO bajo condiciones de laboratorio?

Problema específico 5: ¿Cuál es la temperatura de incubación adecuada de rizobacterias para la reducción de DQO de aguas residuales bajo condiciones de laboratorio?

## 1.3 Justificación

La calidad de agua de los cuerpos superficiales cada vez se encuentra más deteriorada debido a diversas acciones que se ejercen sobre dichos cuerpos, siendo la principal causa de su contaminación el vertimiento continuo de los sistemas de alcantarillado directamente a los ríos, lagos o lagunas, incrementando su carga contaminante resaltando la materia orgánica. (Wang, Liu, & Lu, 2012), indica que: “Según las estadísticas, a principios del siglo XX, no existía casi un río natural completo en el mundo. Por lo tanto, es urgente desarrollar una técnica rentable para gestionar la calidad del agua de los ríos.”

Esta investigación se fundamentó en el deseo de lograr reducir la carga orgánica (DQO), de modo que este estudio pueda ser reconocido como metodología de tratamiento de aguas contaminadas y sea utilizado dentro de los procesos de un sistema de tratamiento de aguas residuales como una PTAR, para elevar su eficiencia.



### **1.3.1 Conveniencia.**

La calidad de los cuerpos hídricos, con el pasar del tiempo se deteriora debido a diversas acciones que se ejercen sobre estos como el vertimiento continuo y directo de los sistemas de alcantarillado. Es por ello, la necesidad de dar a conocer alternativas que ayuden a reducir el impacto producido por las aguas residuales en el ambiente. El presente trabajo de investigación propone el empleo de bacterias rizosféricas que ayudarán a reducir la concentración de DQO del agua de forma eficiente, debido a sus potencialidades para eliminar contaminantes de las aguas residuales mediante mecanismos como la bioacumulación, bioadsorción y degradación al utilizar diversos componentes del agua residuales como fuente de energía y carbono; por lo tanto, la investigación es útil y relevante ya que puede usarse como tratamiento biológico para la remoción de materia orgánica presente en aguas residuales.

### **1.3.2 Relevancia Social.**

Un gran porcentaje de efluentes residuales municipales son vertidos de forma directa en cuerpos de agua superficiales, generando un impacto en el desarrollo de actividades económicas especialmente la agricultura y ganadería, debido al deterioro de la calidad hídrica que da lugar a la reducción de la disponibilidad de cuerpos de agua. La tecnología propuesta en la investigación tiene la finalidad de disminuir la carga contaminante de las aguas residuales y limitar su vertido.

### **1.3.3 Implicancia práctica.**

La presente investigación plantea un tratamiento de incubación con rizobacterias que permitirá una reducción eficiente del parámetro DQO de aguas residuales, debido a la capacidad de bioadsorción, bioacumulación y biodegradación que poseen dichas bacterias. Pretende una operación sencilla, de bajos requerimientos, baja demanda energética y efectuado en un tiempo relativamente corto ya que, en los sistemas integrados de una PTAR los tiempos de retención hidráulicos son breves, y se pretende que esta tecnología sea incorporada posteriormente como parte de un sistema de tratamiento en Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales, de esta forma lograr remover materia orgánica de un mayor volumen de agua residual en menor tiempo. Es por ello, que representaría una



estrategia muy económica como procedimiento integrado en el sistema de tratamiento de aguas residuales.

#### **1.3.4 Valor teórico.**

Esta investigación se desarrolla con la mira de reducir la concentración de DQO, parámetro indicador de materia orgánica en aguas residuales, mediante el uso de rizobacterias cuyos resultados determinarán este tratamiento biológico como una tecnología a implementarse dentro de un sistema de tratamiento de aguas residuales complejo, al demostrar su potencial biorremediador y efectividad en este trabajo.

#### **1.3.5 Utilidad metodológica.**

La siguiente investigación busca, a partir de los resultados, ser usada en el tratamiento biológico de aguas residuales, y formar parte de los antecedentes en futuras investigaciones.

### **1.4 Objetivos de investigación**

#### **1.4.1 Objetivo General.**

Evaluar la eficiencia de rizobacterias aisladas de *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis* en la reducción de DQO de aguas residuales bajo condiciones de laboratorio.

#### **1.4.2 Objetivos Específicos.**

Objetivo específico 1: Aislar las bacterias de la rizosfera de las totoras *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis*.

Objetivo específico 2: Calcular el porcentaje de reducción de DQO de aguas residuales por acción de rizobacterias bajo condiciones de laboratorio.

Objetivo específico 3: Establecer la dosis de inoculación adecuada de rizobacterias aisladas de cada especie para la reducción de DQO de aguas residuales bajo condiciones de laboratorio.

Objetivo específico 4: Determinar el tiempo de contacto adecuado de rizobacterias aisladas de cada especie con el agua residual para la reducción de DQO bajo condiciones de laboratorio.



Objetivo específico 5: Identificar la temperatura de incubación adecuada de rizobacterias aisladas de cada especie para la reducción de DQO de aguas residuales bajo condiciones de laboratorio.

## 1.5 Delimitación del estudio

### 1.5.1 Delimitación espacial.

Esta investigación tiene como fin reducir la concentración de DQO, utilizando como muestra aguas residuales de la ciudad del Cusco, extraídas en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales PTAR San Jerónimo del tratamiento preliminar a la salida del sistema de cribado, empleando rizobacterias aisladas de dos especies de totoras: *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis*.

Se presenta la ubicación geográfica de la zona de estudio.

- Departamento: Cusco
- Provincia: Cusco
- Distrito: San Jerónimo

### Figura 1

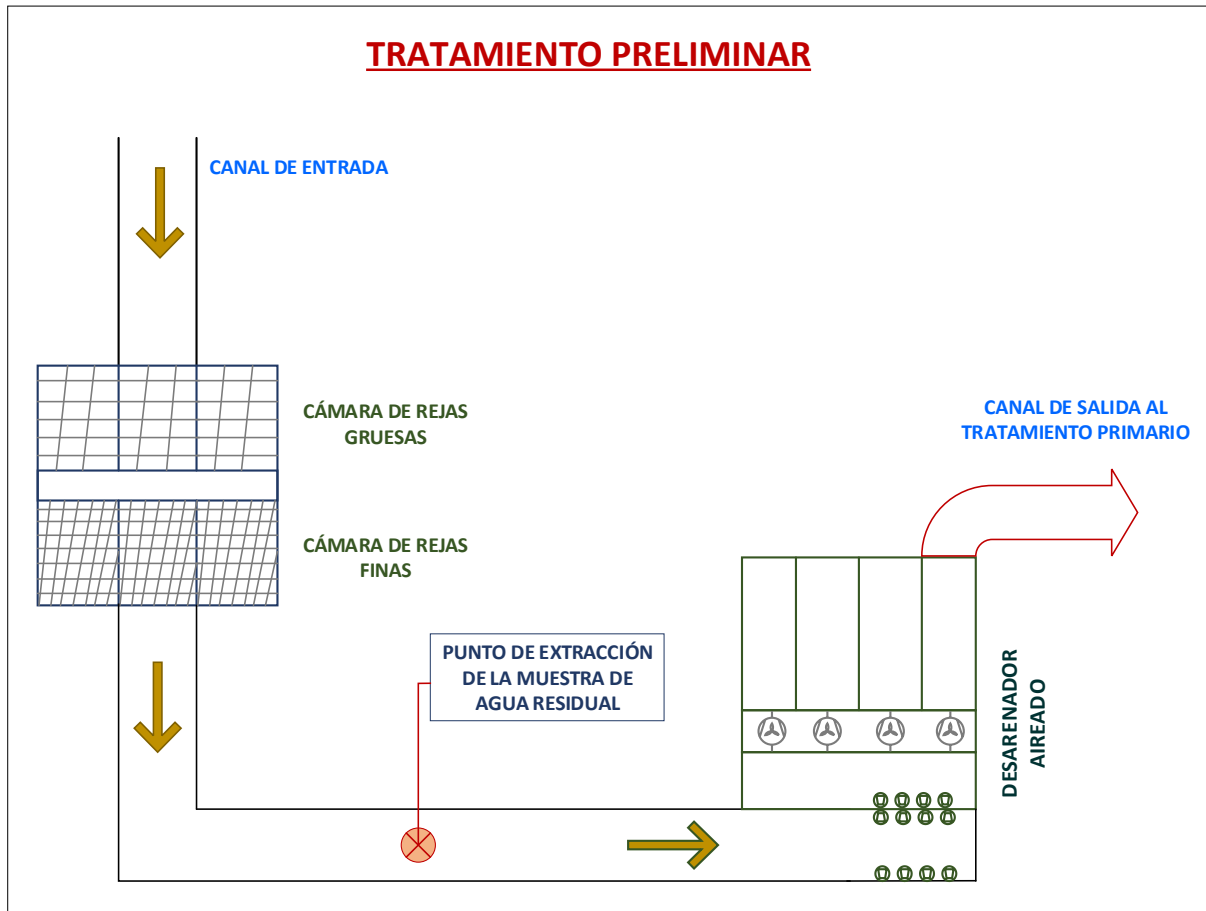
Ubicación geográfica de la zona de estudio.



*Nota.* Las coordenadas geográficas del punto de extracción son 13° 33' 7.54" latitud sur y 71° 52' 12.71" longitud oeste.

Figura 2

Punto de extracción de la muestra de agua residual del Tratamiento Preliminar - PTAR San Jerónimo.



Nota. Punto de extracción de la muestra situado después del sistema de cribado y antes de ingresar al proceso de desarenador aireado.

Figura 3

Canal de entrada después del sistema de cribado - PTAR San Jerónimo.





- Ubicación geográfica de la zona de extracción de las totoras:

Las rizobacterias utilizadas en la presente investigación se obtuvieron de especies de totora *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis* localizadas en el humedal de Huacarpay, distrito Lucre, provincia de Quispicanchis.

**Figura 4**

*Ubicación espacial Humedal Lucre-Huacarpay.*



Las coordenadas geográficas están dadas por 13°37'06" latitud sur y 71°44'07" longitud oeste.

### 1.5.2 Delimitación temporal.

El desarrollo de la presente investigación se llevó a cabo en los meses de marzo y abril del año 2022, a inicios de la temporada de estío.



## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes del Estudio

#### 2.1.1 Antecedente Internacional.

Salgado et al. (2012), en su artículo científico titulado “Bacterias rizosféricas con potencialidades fisiológicas para eliminar materia orgánica de aguas residuales”, con el **objetivo** de caracterizar las potencialidades de 58 cepas bacterianas obtenidas de la rizosfera de plantas hidrófitas de *Typha dominguensis*, para la remoción de materia orgánica presente en el agua residual. La **metodología** consistió en aislar bacterias provenientes de la rizosfera de *Typha dominguensis*, plantas hidrófitas seleccionadas de tres humedales de la cuenca hidrográfica Almendares-Venta, ciudad de La Habana en Cuba, el aislamiento se realizó siguiendo el protocolo de Muratova (2003). Las cepas bacterianas fueron inoculadas en agua residual sintética compleja a un pH 7, temperatura de 30°C, 3 días de contacto y una concentración de 1%v/v de cultivo bacteriano en agua residual sintética. Los **resultados** mostraron que las cepas bacterianas obtuvieron niveles de remoción de DQO por encima del 50%. Llegando a la **conclusión** que, de las 58 cepas bacterianas lograron destacar 13 que pudieran ser empleadas de manera independiente o en consorcios bacterianos para la disminución de DQO de agua residuales domésticas, mediante su incorporación en sistemas de tratamiento de aguas.

#### 2.1.2 Antecedentes Nacionales.

Canales & Sevilla (2016) es su investigación titulada “Evaluación del uso de Microorganismos Eficaces en el tratamiento de efluentes domésticos residuales del distrito de Pátapo”, provincia de Chiclayo, departamento de Lambayeque, tesis de grado de la Escuela Profesional de Ingeniería Química de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Tuvo como **objetivo** evaluar el efecto de los microorganismos eficaces (ME) en el tratamiento del agua residual doméstica proveniente de las lagunas de oxidación del distrito de Pátapo sobre las características fisicoquímicas y microbiológicas; la **metodología** realizada consistió en dar seguimiento a los parámetros microbiológicos y fisicoquímicos del agua residual doméstica del distrito de Pátapo con una concentración de 1ml/L de Microorganismos Eficaces (ME), con el fin de monitorear los cambios fisicoquímicos y microbiológicos que se presentaran en



el agua residual doméstico (ARD) tras aplicar el tratamiento; los **resultados** obtenidos muestran a las 6 semanas de tratamiento una eficiencia de remoción del 68.11% para DQO; 65.83% para DBO; cloruros en un 28.53%; nitratos en un 81.87%; dureza total en un 15.30% y coliformes totales en un 99.96%; **concluyendo** que los microorganismos eficaces alcanzaron una disminución eficiente en la reducción de los parámetros estudiados.

Robles (2019) en su tesis titulada “Influencia de la concentración de microorganismos eficaces y el tiempo de retención hidráulico en la remoción de materia orgánica del agua residual del Distrito de Sapallanga”, provincia de Huancayo, departamento de Junín, investigación perteneciente a la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Centro del Perú, tuvo por **objetivo** determinar la influencia de concentración de microorganismos eficaces y el tiempo de retención hidráulico en la remoción de materia orgánica del agua residual del distrito de Sapallanga. La **metodología** consistió en evaluar las condiciones físico-químicas de las aguas residuales del distrito de Sapallanga, el experimento fue realizado a la salida de la planta de tratamiento de agua residual utilizando diferentes concentraciones de microorganismos eficaces (10, 30 y 50 ppm), evaluados a los 3, 5 y 7 días, y un valor de DQO inicial de 340 mg/L. Los **resultados** de la investigación mostraron un nivel máximo de remoción de materia orgánica (DQO) de 70% usando una concentración de 50 ppm al séptimo día, y un mínimo de remoción de 32.3% utilizando de 10 ppm a los 3 días. Llegando a la **conclusión** que, la concentración de microorganismos eficaces y el tiempo de retención hidráulico tienen un impacto positivo en la degradación de materia orgánica de aguas residuales.





## 2.2 Bases Teóricas

### 2.2.1 Especies Totorales *Typha dominguensis* y *Scirpus californicus*.

#### 2.2.1.1 *Typha dominguensis*.

Es una especie perenne herbácea del género *Typha*. “La especie está muy extendida en los trópicos, subtropicales y en regiones de temperaturas cálidas que abarcan Europa, Asia, África, Australia y América del Norte y del Sur” (Lim, 2016, p.114).

- Clasificación taxonómica de *Typha dominguensis*

Reino: *Plantae*

Phylum: *Magnoliophyta*

Clase: *Liliopsida*

Orden: *Typhales*

Familia: *Typhaceae*

Género: *Typha*

Especie: *Typha dominguensis*

#### Figura 5

*Typha dominguensis*.



La especie es emergente y circundante que crece en lagos poco profundos, estanques, ríos, pantanos, arroyos, canales de riego y desagües. Prospera en condiciones eutróficas e hidrop periodos estabilizados artificialmente, en humedales no perturbados y con pocos nutrientes. *T. dominguensis* a menudo crece escasamente y no parece reducir la diversidad, invade agresivamente y forma rodales casi puros en humedales salobres o enriquecidos con nutrientes. (Lim, 2016, p.115)



### 2.2.1.2 *Scirpus californicus*

Es una especie emergente perenne de escaso porte y fasciculada; que crece en lagos lagunas, zonas pantanosas, huachagues y balsares de la costa y sierra del Perú, desde el nivel del mar hasta los 4,000 m de altitud (Bernabe Valerio, 2020).

- Clasificación taxonómica de *Scirpus californicus*

Reino: *Plantae*

Phylum: *Angiospermae*

Clase: *Monocotiledoneae*

Orden: *Cyperales*

Familia: *Cyperaceae*

Género: *Scirpus*

Especie: *Scirpus californicus*

#### Figura 6

*Totora Scirpus californicus.*



La macrófita *Scirpus californicus* posee las siguientes características:

Especie circundante que puede alcanzar los 4 metros de altura, su tallo presenta semejanzas con el césped, es liso, recto, rollizo y flexible; sus hojas forman una vaina que rodea al tallo en la base; distribuidas en dos sectores: la parte inferior de la planta que presentan vainas foliares carentes de láminas y la parte superior que las desarrollan ocasionalmente, y sus flores son hermafroditas ya que poseen ambos sexos y su envoltura floral está compuesta por dos a seis escamas. (Bernabe Valerio, 2020)



### 2.2.1.3 Uso en la remoción de contaminantes.

Las especies han sido estudiadas extensamente en la remoción de contaminantes para el tratamiento de aguas residuales. En este apartado se presentan estudios encontrados sobre degradación y reducción de contaminantes en el agua mediante el uso de *Typha dominguensis* y *Scirpus californicus*.

**Tabla 1**

*Estudios sobre remoción de contaminantes utilizando Typha dominguensis.*

Tratamiento / Descripción	Contaminante	Resultados	Referencias
<p>Biodegradación.</p> <p>Descripción: Remoción de contaminantes, en función al desarrollo de la macrófita <i>Typha dominguensis</i>, en un humedal construido.</p>	<p>Materia orgánica (DQO, SST) y nutrientes (N-amoniaco, N-total, P).</p>	<p>- Eficiencia en la remoción de materia orgánica. Alcanzando un máximo de remoción de 30.48% DQO; 34.63% DBO; 52.4% SST y 60.8% SSV.</p> <p>- Eficiencia en la remoción de nutrientes. Alcanzando un máximo de remoción de 55% NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; 50% NTK y 19.17% P.</p>	<p>(Vera et al., 2010)</p>
<p>Fitorremediación.</p> <p>Descripción: Remoción en humedales.</p>	<p>Fósforo (P)</p>	<p>Gran capacidad de remoción de fosfatos de los sistemas plantados con <i>T. dominguensis</i>. Remoción de P100 en un 68.1%. Remoción de P500 en un 61%.</p>	<p>(Di Luca et al., 2015)</p>



<p>Fitorremediación. Descripción: Tratamiento utilizando dos macrófitas <i>Cyperus</i> <i>giganteus</i> (CG) y <i>Typha</i> <i>dominguensis</i> (TD) en humedales construidos.</p>	<p>Agua residual urbana. (N- NH<sub>4</sub>; P-total; DBO; DQO).</p>	<p>- Remoción con CG: 42% N-NH<sub>4</sub>; 45% P-total; 64%DBO y 40%DQO. - Remoción con TD: 65% (López et al., N-NH<sub>4</sub>; 58% P-total; 2019) 81%DBO y 61%DQO. La macrófita <i>T.</i> <i>dominguensis</i> presentó mayor porcentaje de remoción frente a la otra especie.</p>
<p>Fitorremediación. Descripción: Tratamiento de agua contaminada utilizando <i>T.</i> <i>dominguensis</i> en humedal construido.</p>	<p>Mercurio</p>	<p><i>T. dominguensis</i> posee una alta capacidad de acumulación de mercurio en la parte aérea de la planta. (Teles et al., 2013) La macrófita produjo la eliminación de mercurio en el agua de 99.6 +- 0.4%.</p>
<p>Fitorremediación. Descripción: Reducción de metales pesados de lixiviados de residuos urbanos.</p>	<p>Metales pesados (Pb, Ni; Cd).</p>	<p>La macrófita resultó ser un (Mojiri et al., acumulador eficaz y una 2013) planta de fitorremediación de plomo, níquel y cadmio.</p>

Nota: En base a Vera et al., 2010; Di Luca et al., 2015; López et al., 2019; Teles et al., 2013 y Mojiri et al., 2013.

*Typha dominguensis* ha demostrado mayor capacidad frente a otras especies macrófitas para su uso en la fitorremediación por su alto potencial degradador de materia orgánica y potencial acumulador de metales pesados, al realizar la transformación del estado de oxidación de los metales mediante sus microorganismos, aumentando la biodisponibilidad para su absorción y eliminación.



**Tabla 2**

Estudios sobre remoción de contaminantes utilizando *Scirpus californicus*

Tratamiento / Descripción	Contaminante	Resultados	Referencias
Biodegradación. Descripción: Remoción de contaminantes, en humedal subsuperficial usando la macrófita <i>Scirpus californicus</i> .	Materia orgánica (DQO, DBO).	- Eficiencia en la remoción de materia orgánica. A un tiempo de retención hidráulico de 12 horas, la remoción de DBO y DQO con concentraciones iniciales de 99.01 mg/L y 206.33 mg/L respectivamente, superó el 50%.	(Cecilio, 2016)
Bioacumulación. Descripción: Capacidad acumuladora de cadmio en la raíz en laboratorio.	Cadmio (Cd)	Acumula concentraciones de 0.4432 ppm, además de que el cadmio produjo variación en el color y crecimiento en la raíz.	(Fernández-Aguilar y Enrique, 2013)
Fitorremediación. Descripción: Tratamiento con <i>Lupinus pubescens</i> , <i>Plantago major</i> y <i>Scirpus californicus</i> .	Arsénico (As) en suelos	De las 3 especies, la <i>Scirpus californicus</i> fue la más eficiente al absorber un 34% de arsénico total (2.45 ppm).	(Jiménez y Ramos, 2019)
Fitorremediación. Descripción: Remoción de metales de aguas contaminadas del medio acuático.	Metales pesados (Cu, Pb, Fe, Zn).	La eficiencia de remoción de los metales pesados en el transcurso fue de 52.10% en cobre, 53.5% para plomo, 50.20% en zinc y 48% de hierro.	(Cuadrado et al., 2019)



Fitorremediación. Descripción: Inmovilización del Cobre en humedales	Metal pesado Cobre (Cu).	Las raíces de la <i>Scirpus californicus</i> absorbieron 1.9% y los brotes 0.6% del cobre que ingreso al sistema (humedal)	(Bhatia y Goyal, 2014)
--	-----------------------------	--	------------------------

*Nota:* En base a Cecilio, 2016; Fernández-Aguilar y Enrique, 2013; Jiménez y Ramos, 2019; Cuadrado et al., 2019; y Bhatia y Goyal, 2014.

Se ha evidenciado que *Scirpus californicus* al igual que *T. dominguensis* al competir con otras especies macrófitas, presenta potencialidades que la hacen una mejor opción para su uso en la fitorremediación, debido a su capacidad de remoción de contaminantes por medio de mecanismos como la absorción, acumulación de metales pesados en sus raíces y brotes, y la degradación de materia orgánica.

### 2.2.2 Bacterias Rizosféricas.

También denominadas rizobacterias. Son aquellas que residen en la rizosfera, espacio en el suelo unido a la raíz desplegada a pocos milímetros de la superficie del sistema radicular, caracterizada por la interacción singular y dinámica de los procesos biogeoquímicos acontecidos entre las raíces de las plantas y microorganismos del suelo influenciados en gran medida por los exudados radiculares (McNear Jr., 2013). De igual forma, alberga gran cuantía de microorganismos estimuladores del crecimiento vegetal y reductores de la incidencia de enfermedades (Molina-Romero et al., 2015).

Las rizobacterias son capaces de absorber ciertos contaminantes mediante mecanismos como la bioadsorción, bioacumulación y degradación. La bioadsorción consiste en la captación de metales que lleva a cabo una biomasa completa (viva o muerta), mediante mecanismos fisicoquímicos como la adsorción o el intercambio iónico. La bioacumulación es un proceso activo, los metales en la célula microbiana se transportan por medio de la membrana celular hacia el citoplasma donde se inmovilizan (Damián y Juárez, 2021). En la degradación estas bacterias utilizan los compuestos del medio como fuente de carbono y energía. De esta manera, las rizobacterias son una buena alternativa para eliminar el exceso de contaminantes en las aguas residuales.



### 2.2.2.1 *Hábitat: Rizósfera.*

La rizósfera es un ambiente dinámico donde microorganismos ya sean bacterias, actinomicetos y hongos interactúan con las raíces de las plantas y componentes del suelo. En esta zona se produce una actividad metabólica de gran importancia en la que se genera un intercambio de nutrientes entre la atmósfera y el suelo, la cual es mediada por la sinergia entre plantas y microorganismos. (Pedraza et al., 2010)

- Remoción de contaminantes en la Rizosfera:

La rizosfera desempeña un importante papel en la remediación de medios contaminados puesto que, en esta zona toma lugar la rizodegradación; mecanismo que utiliza microorganismos para consumir y digerir sustancias orgánicas para nutrición y energía, biodegradar bifenilos policlorados (PCBs) recalcitrantes, transformar el estado de oxidación de metales pesados, entre otros. (Dhir, 2013)

La rizósfera de los macrófitos empleados en humedales artificiales para el tratamiento de efluentes realiza una tarea muy importante. Durante el paso de las aguas residuales por el humedal, entran en contacto con una red de zonas anaerobias, anóxicas y aerobias, esta última se produce alrededor de raíces y rizomas que filtran oxígeno al sustrato. Los compuestos orgánicos se degradan de forma aerobia como anaerobia. Es así que, durante el paso de las aguas residuales por la rizosfera, estas son depuradas por degradación microbiológica y procesos fisicoquímicos. (Vymazal et al., 1998)

En la fitorremediación, contar con una especie de buen sistema radicular es esencial, ya que el aumento de la masa radicular proporciona superficie disponible para la colonización microbiana y la exudación radicular que estimula el crecimiento microbiano en la rizosfera, lo que facilita una mayor eliminación de contaminantes del suelo. El aumento de la cantidad de microorganismos en la zona de la rizosfera mejora la biodegradación del contaminante. En resumen, la fitodegradación de materia orgánica por las macrófitas es insignificante en comparación con la degradación llevada a cabo por microorganismos. (Dhir, 2013; Vymazal et al., 1998)



### 2.2.2.2 *Potencialidades.*

Según Salgado et al. (2015), “las bacterias resaltan entre los agentes biológicos utilizados en la biorremediación, por su capacidad de emplear varios componentes de las aguas residuales para adquirir energía para su metabolismo”.

De la misma forma, las rizobacterias tienen la capacidad de permanecer y desarrollarse en el sistema radicular de las plantas, para competir por los nutrientes exudados por el vegetal, sobreviviendo en número suficiente y colonizando satisfactoriamente las raíces (Ahemad y Kibret, 2014).

- Uso en la remoción de contaminantes:

Existen diversos estudios de rizobacterias en la remoción de contaminantes orgánicos e inorgánicos para el tratamiento de aguas residuales y suelos. En esta sección se presentan algunas investigaciones encontradas referentes a la degradación y reducción de contaminantes haciendo uso de bacterias rizosféricas.

**Tabla 3**

*Estudios sobre remoción de contaminantes utilizando bacterias rizosféricas.*

Tratamiento / Descripción	Contaminante	Resultados	Referencias
Biodegradación. Descripción: Rizobacterias aisladas de <i>Typha dominguensis</i> en la eliminación de materia orgánica de aguas residuales.	Materia orgánica (DQO).	Eficiencia en la remoción de materia orgánica. Se alcanzaron valores >50% de reducción de DQO.	(Salgado et al., 2012)
Biodegradación. Descripción: Degradación de nitrofenoles por bacterias aisladas de las raíces de <i>S. polyrrhiza</i> .	Nitrofenoles (2-NP; 4-NP y 2,4-DNP)	Se observó remoción acelerada de los tres nitrofenoles por biodegradación.	(Kristanti et al., 2012)





Fitorremediación.		Las <i>Pseudomonas</i>
Descripción:		<i>luteola</i> resistieron a
Bacterias rizosféricas de		200 ppm de mercurio
una mina de oro y su	Mercurio (Hg).	en forma de cloruro de
resistencia a diferentes		mercurio (HgCl <sub>2</sub> );
concentraciones de		además fueron
mercurio.		capaces de solubilizar
		fosfato y de la fijación
		biológica del nitrógeno.

(Paternina et al., 2017)

*Nota:* En base a Salgado et al., 2012; Kristanti et al., 2012 y Paternina et al., 2017.

Respecto a la tabla anterior se evidencia que, las bacterias rizosféricas de cada investigación en sus respectivas especies, son eficientes en la remoción de contaminantes de diferentes naturalezas como metales pesados, agentes químicos, entre otros.

### 2.2.3 Aguas Residuales Urbanas.

Las aguas residuales o también llamadas de desecho, son aquellas aguas que posterior a su uso en actividades antrópicas (domésticas, industriales, agrícolas, pecuarias o recreativas) de una urbe, presentan un elevado porcentaje de residuos contaminantes. De acuerdo a la fuente de origen, estas se pueden catalogar en diversos tipos que presentan características y composiciones disímiles. (Trapote A. , 2013) (López del Pino & Calderón, 2015) (Lozano-Rivas, 2012). Su clasificación, se compone de la siguiente manera: aguas residuales blancas, aguas negras o urbanas, aguas grises, aguas residuales industriales, aguas residuales domésticas y escorrentías de usos agrícolas. (Trapote A. , 2013) (Ramalho, 1996)

Las aguas residuales Urbanas (ARU) son los efluentes líquidos generados por un medio urbano, en las cuales se encuentran también aguas residuales domésticas, industriales y de escorrentía pluvial. (Huertas & Marcos, 2012)

Las ARU están compuestas por múltiples contaminantes, de los cuales la materia orgánica es la que predomina, así como lo describen Doménech y Peral:



(Domènech & Peral, 2012) Un agua residual urbana es una combinación de una diversa gama de sustancias, como materia orgánica de origen fecal, surfactantes, grasas y aceites, sales solubles, agentes complejantes, metales pesados disueltos, sólidos en suspensión, etc. Son efluentes que se caracterizan por tener una elevada demanda de oxígeno, ya que buena parte de la materia contenida en dichas aguas es degradable aeróbicamente.

El principal contaminante de las aguas residuales es la materia orgánica (López Vásquez et al., 2017).

- Planta de Tratamiento de Aguas Residuales PTAR San Jerónimo

Una planta de tratamiento de agua residual es una infraestructura y proceso que permite la depuración de aguas residuales domésticas y/o municipales (OEFA, 2014); por ello requieren un tratamiento apropiado, previo a su reúso o disposición final, con la finalidad de proteger el ambiente y la salud de la población (Ministerio del Ambiente, 2009).

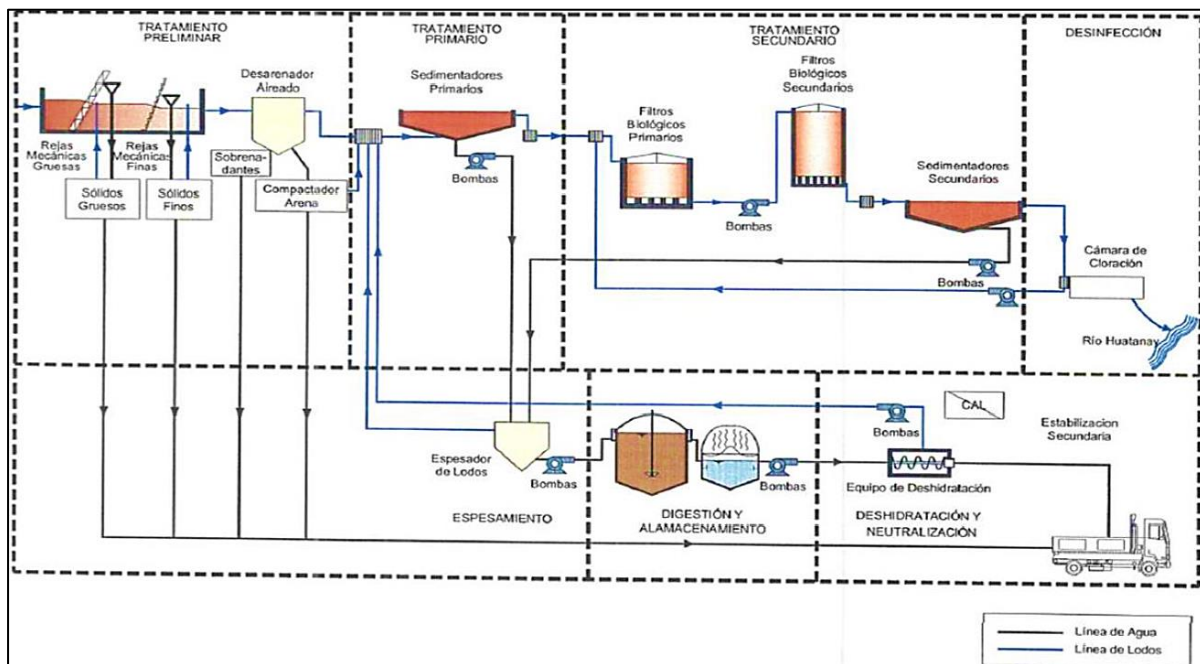
La planta de tratamiento de aguas residuales PTAR San Jerónimo recibe aguas de los distritos de Santiago, Cusco, Wánchaq, San Sebastián y San Jerónimo, durante el año 2020 el volumen de aguas residuales tratadas de la ciudad del Cusco fue de 19 479 975 m<sup>3</sup>. (SEDACUSCO, 2021)

Las aguas residuales son colectadas y transportadas por el canal de entrada hacia las rejillas gruesas y finas, luego a un desarenador aireado para eliminar arenas, grasas y aceites. Terminado el tratamiento preliminar, estas aguas son derivadas a los sedimentadores primarios para después dirigirse a filtros biológicos y a un sedimentador secundario, finalmente llega al tratamiento terciario, en el cual utilizan el método de cloración. En todo el proceso se recircula el agua para que vuelva a tratarse.



Figura 7

Diagrama de Operaciones de la Planta de Tratamiento PTAR San Jerónimo.



(Ayma, 2018)

### 2.2.3.1 Parámetros indicadores de la calidad de agua residual.

El estado de las aguas residuales y su nivel de contaminación se ve determinada por una serie de parámetros, los cuales se desempeñan como indicadores de la calidad del agua. (López del Pino & Calderón, 2015). En este apartado se expondrán los parámetros físicos, químicos y microbiológicos de mayor importancia en las aguas residuales.

#### a) Indicadores Físicos

Los parámetros físicos más importantes de un agua residual son: Sólidos totales, olor, temperatura, densidad, color, turbidez y conductividad. (Delgadillo, Camacho, Pérez, & Andrade, 2010) y (Metcalf & Eddy, 1995)

#### b) Indicadores Químicos

Las características químicas de las aguas residuales son fundamentales para asegurar la eficiencia en el diseño de estaciones de depuración de aguas. Los parámetros químicos más destacados son: Materias inhibidoras, DQO, DBO,



compuestos nitrogenados, compuestos fosforados y nutrientes. (Delgadillo, Camacho, Pérez, & Andrade, 2010) (Metcalf & Eddy, 1995) y (López del Pino & Calderón, 2015)

#### c) Indicadores Microbiológicos

La existencia de microorganismos patógenos en el agua supone un riesgo a la salud, especialmente al momento de la reutilización de los efluentes residuales, dado que las deposiciones humanas o animales pueden transmitir enfermedades entéricas.

Los organismos indicadores son: bacterias (coliformes y estreptococos), virus y parásitos (protozoarios, huevos de helmintos). (Delgadillo, Camacho, Pérez, & Andrade, 2010) (Metcalf & Eddy, 1995)

#### **2.2.3.2 DBO y DQO en aguas residuales.**

El incremento de materia orgánica consume el oxígeno presente en los cuerpos hídricos superficiales, por oxidación química y principalmente por bioquímica, a través de la respiración de los microorganismos, depurando así la materia orgánica. (Serra Valente, Magalhães Padilha, & Marques Silva, 1997). Cuando la carga contaminante de aguas residuales supera la capacidad de autodepuración del cuerpo de agua, este se queda sin oxígeno, provocando problemas como desprendimiento de olores e impidiendo la existencia de seres acuáticos.

La contaminación orgánica de un curso de agua puede evaluarse por la reducción de la concentración de oxígeno disuelto y/o por la concentración de materia orgánica en términos de la concentración de oxígeno necesario para oxidarla.

Según Trapote (2011), la materia orgánica de las aguas residuales está valorada como DBO y DQO.

#### a. Demanda Bioquímica de Oxígeno - DBO

Según Raffo y Ruiz, (2014) "Es la cantidad de oxígeno que es necesario en los microorganismos para oxidar residuos orgánicos de modo aerobio". La DBO puede constar de diversas unidades, pero la más utilizada está expresada en miligramos de oxígeno requerido por litro de agua residual (mg/L).

La DBO de cinco días, o DBO<sub>5</sub> es determinada de acuerdo al oxígeno consumido por los microorganismos presentes en esos cinco días (Raffo y Ruiz, 2014).



Por prevención, deberá evitarse exponer a luz directa para que las algas no incrementen la cantidad de oxígeno mediante la fotosíntesis y de la misma manera, si se hace uso de un recipiente, debe estar tapado para que no exista disoluciones de aire procedentes de la atmósfera.

b. Demanda Química de Oxígeno - DQO

Este parámetro está definido como “La cantidad de oxígeno que consumen los cuerpos reductores presentes en el agua residual, sin la injerencia de los organismos vivos” (Trapote, 2011, p. 27).

### 2.3 Marco conceptual

Biorremediación:

Tecnología que utiliza el potencial metabólico de organismos vivos, componentes celulares o enzimas libres para llevar a cabo una mineralización, transformación parcial o humificación de residuos o agentes contaminantes en suelos, sedimentos, lodos, aguas superficiales y subterráneas. Es importante prestar atención en las condiciones del recurso dañado, capacidades de las tecnologías remediadoras, proceso del tratamiento, pH, tiempos de retención y las concentraciones en el agua tratada. (Gonzalez Rojas, 2011).

Dependiendo del organismo utilizado, se diferenciará entre los siguientes: ficorremediación, fitorremediación, rizorremediación y bioadsorción (Cartagena David, 2019).

Índice de biodegradabilidad:

Basado en la relación de los parámetros  $DBO_5/DQO$ , que establece la cantidad de materia orgánica e inorgánica contenida en una muestra (DQO) susceptible a ser depurada por los microorganismos en cinco días ( $DBO_5$ ), para conocer el carácter de biodegradabilidad de los diferentes vertimientos.

**Tabla 4**

*Criterios de biodegradabilidad según la relación  $DBO_5/DQO$ .*

DBO <sub>5</sub> /DQO	Carácter	Descripción
< 0.2	Poco biodegradable	No es adecuado utilizar métodos biológicos. Conveniente recurrir a procesos químicos.



0.2 – 0.4	Biodegradable	Recomendado el empleo de lechos bacterianos
> 0.4	Muy biodegradable	Posible uso de sistemas biológicos de fangos activos o lechos bacterianos

---

(Hernández, Hernández, & Galán, 2004)

*Nota.* Si el índice de biodegradabilidad oscila en valores menores a 0,2 contemplar el tratamiento biológico no es lo más acertado. Por el contrario, si está en valores mayores a 0.4, el tratamiento por vía biológica puede realizarse.

#### Humedales:

La Secretaría de la Convención de RAMSAR, (2006) los interpreta como: “Extensiones de marismas, pantanos y turberas, o superficies cubiertas de aguas, de régimen natural o artificial, permanentes o temporales, estancadas o corrientes, dulces, salobres o saladas, incluidas las extensiones de agua marina con profundidad que no pase los seis metros en marea baja”.

#### Macrófitas:

Las macrófitas son vegetales visibles con partes fotosintéticamente activas, permanecen total, parcialmente sumergidas en agua dulce o salobre, esto por algunos meses, todo el año o flotando sobre ella. Son capaces de acumular y acelerar el ciclo de los nutrientes, en ecosistemas acuáticos poco profundos influyen en las propiedades químicas del agua, actúan como sustrato para las algas y sostienen la cadena de detritos (Pompêo, 2008).

De acuerdo a su morfología y fisiología, estas plantas se separan en tres grupos biológicos: Macrófitas flotantes libres que no están adherida al sustrato, macrófitas enraizadas flotantes y macrófitas sumergidas. (Gallego Maldonado, 2015)

## 2.4 Hipótesis

### 2.4.1 Hipótesis General.

Las rizobacterias aisladas de *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis* presentan alta eficiencia en la reducción de DQO del agua residual, bajo condiciones de laboratorio.



## 2.4.2 Hipótesis Específicas.

Hipótesis específica 1: Se comprueba el aislamiento eficiente de bacterias provenientes de la rizosfera de totoras *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis*.

Hipótesis específica 2: El porcentaje de reducción en cuanto a DQO del agua residual por acción de rizobacterias es significativa debido a su índice de biodegradabilidad.

Hipótesis específica 3: A mayor dosis de inoculación de rizobacterias en el agua residual, mayor es el porcentaje de reducción de DQO.

Hipótesis específica 4: A mayor tiempo de contacto de rizobacterias con el agua residual, la reducción de concentraciones de DQO incrementa.

Hipótesis específica 5: A mayor temperatura de incubación de rizobacterias en el agua residual, la reducción de la concentración de DQO es mayor.

## 2.5 Variables

### 2.5.1 Identificación de variables.

– Variable Independiente:

Rizobacterias aisladas de *Scirpus californicus* y *Typha Dominguisis*.

Indicadores:

- Tiempo de contacto
- Dosis de inoculación
- Temperatura de incubación

– Variable Dependiente:

Demanda Química de Oxígeno (DQO)

Indicador

- Porcentaje de reducción DQO

– Variable Interviniente:

Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)

Indicador

- Porcentaje de reducción DBO



## 2.5.2 Operacionalización de variables.

Tabla 5

Cuadro de operacionalización de variables.

Variables	Definición Conceptual	Dimensiones	Indicadores	Índices	Instrumento
Variable Independiente	Bacterias habitantes de la rizosfera, espacio en el suelo unido a la raíz, extendida a pocos milímetros de la superficie del sistema radicular.	Contacto con el agua residual	Tiempo de contacto	Días	Reportes de Laboratorio.
Rizobacterias	Resaltan entre los agentes biológicos empleados en la biorremediación. (McNear Jr., 2013)		Dosis de Inoculación	% (V/V)	
			Temperatura de incubación	°C	
Variable Interviniente	Oxígeno consumido para oxidar la materia orgánica mediante respiración de los microorganismos (Serra, Magalhães, & Marques, 1997)	DBO	% Reducción en el agua residual	mg O <sub>2</sub> /l	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reportes de Laboratorio</li> <li>• Ficha de identificación del punto de muestreo</li> </ul>
DBO					
Variable Dependiente	Indicador de materia orgánica basado en la concentración de oxígeno consumido para oxidar la materia orgánica en un medio ácido (Serra, Magalhães, & Marques, 1997)	DQO	% Reducción de DQO en el agua residual	mg O <sub>2</sub> /l	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cadena de Custodia</li> </ul>
DQO					





## CAPÍTULO III: MÉTODO

### 3.1 Alcance del Estudio

El nivel de investigación es explicativo. Este tipo de estudio “se enfoca en explicar por qué se relacionan dos o más variables o por qué ocurre un fenómeno y en qué condiciones se manifiesta” (Hernández, 2014, p.95).

La investigación tiene la finalidad de evaluar el efecto de rizobacterias aisladas de dos especies totoras *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis* sobre el parámetro DQO en aguas residuales, evaluadas en condiciones de laboratorio.

### 3.2 Diseño de la investigación

El diseño de la investigación es de tipo Experimental. Hernández (2014) define este tipo de investigación a aquella en la que se manipulan únicamente variables independientes, para analizar y medir el efecto que provoca sobre la variable dependiente.

La presente investigación está basada en la experiencia, observación y análisis. Se extraerán bacterias de la rizosfera de dos especies de totoras *Typha dominguensis* y *Scirpus californicus* y se crearán condiciones adecuadas para cultivarlas y reproducirlas en ambientes controlados para su posterior inoculación a la muestra. Durante la experimentación se manipularon dosis, tiempo y temperatura de las rizobacterias (variable independiente) para medir su efecto en la reducción de los parámetros DBO (variable interviniente) y DQO (variable dependiente) del punto de muestreo.

### 3.3 Población

La población está conformada por las aguas residuales que ingresan a la planta de tratamientos de aguas residuales (PTAR) de la ciudad del Cusco.

### 3.4 Muestra

La muestra está conformada por aguas residuales extraídas del canal de entrada después del sistema de cribado de la Planta de Tratamiento de Aguas

Residuales - PTAR San Jerónimo, en el mes de abril a inicios de la temporada de estío.

Se presenta la ubicación geográfica de la zona de estudio.

- Departamento: Cusco
- Provincia: Cusco
- Distrito: San Jerónimo

### Figura 8

*Ubicación geográfica de la zona de estudio.*



Las coordenadas geográficas son  $13^{\circ} 33' 7.54''$  latitud sur y  $71^{\circ} 52' 12.71''$  longitud oeste.

### 3.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Debido al enfoque, nivel y diseño de la presente investigación, se empleó en su desarrollo el “método de observación experimental” como técnica de recolección de datos, permitiendo al investigador generar datos de los factores a manipular de la variable independiente en un ambiente controlado para observar los efectos producidos en la variable dependiente.

## Procedimiento experimental

La investigación requirió de una experimentación cuidadosa con el fin de evitar errores en los resultados, además de una observación y análisis detallado. Es por ello, que todos los experimentos fueron procesados en un laboratorio particular con RUC 10403007655, que nos permitió permanecer durante todo el proceso del estudio.

- a. Extracción de totoras de las especies *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis*.

En el humedal de Lucre-Huacarpay se procedió a la extracción de raíz con suelo rizosférico de 10 totoras que desarrollaron su inflorescencia, lo cual significaba que habían alcanzado su madurez, 5 individuos de la especie *Typha dominguensis* y 5 pertenecientes a *Scirpus californicus*, siguiendo el protocolo de Muratova (2003). Las raíces fueron tomadas a profundidades de aproximadamente 10 – 20 cm y con ayuda de una cuchilla se retiró el suelo excedente de las raíces, donde únicamente se dejó suelo adherido de 2 a 3 mm de espesor.

Se extrajeron de 04 puntos diferentes del humedal, y las consideraciones que se tomaron en cuenta para su extracción fueron:

1. Presencia de contaminación en la zona.
2. Estado de eutrofización del punto
3. Vegetación abundante
4. Accesibilidad

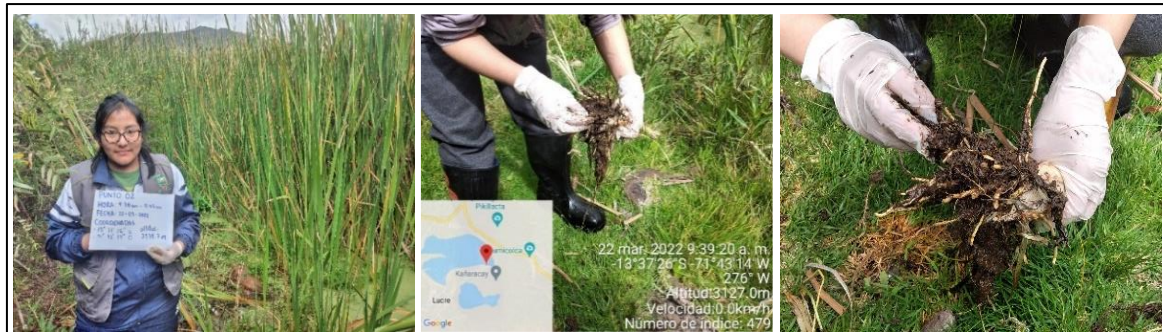
### Figura 9

Punto 1 de extracción de muestras de raíz con suelo rizosférico especie *Scirpus californicus*.



**Figura 10**

Punto 2 de extracción de muestras de raíz con suelo rizosférico especie *Typha domingensis*.



**Figura 11**

Punto 3 de extracción de muestras de raíz con suelo rizosférico especie *Typha domingensis*.



**Figura 12**

Punto 4 de extracción de muestras de raíz con suelo rizosférico especie *Scirpus californicus*.



Del punto 1 (Figura 9) y punto 4 (Figura 12) se extrajeron las muestras de raíz de la especie *S. californicus*, observándose suelo arcilloso y mojado en ellas, localizados en las coordenadas 13°36'59" latitud sur, 71°43'18" longitud oeste y 13°37'22" latitud sur, 71°44'26" longitud oeste respectivamente.



En cuanto a la especie *T. dominguensis*, fueron extraídas del punto 2 (Figura 10) con coordenadas 13°37'26" latitud sur, 71°43'14" longitud oeste y del punto 3 (Figura 11) con coordenadas 13°37'25" latitud sur y 71°44'26" longitud oeste, de donde se escogieron las raíces con menor cantidad de suelo rizosférico adherido.

Para preservar las muestras se utilizó con agua peptona al 10% (ANEXO 1) en viales de 50 ml, y se trasladó inmediatamente al laboratorio para proceder con el aislamiento de las rizobacterias.

#### b. Aislamiento de Rizobacterias

El aislamiento de rizobacterias pertenecientes a *Scirpus californicus* (SC) y *Typha dominguensis* (TD) se realizó por separado.

En laboratorio, siguiendo el protocolo propuesto por Muratova (2003), la muestra de raíz con suelo de rizosfera adherida se colocó en un matraz con 100 ml de agua estéril y se agitó durante 30 min (Figura 13). Las raíces fueron retiradas y se mantuvo en suspensión para dejar sedimentar las partículas del suelo.

**Figura 13**

Vaciado de viales para la adición de agua estéril y agitado de las muestras.



Con la suspensión se preparó un rango de diluciones seriadas desde  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$  para el aislamiento de los microorganismos de la rizosfera, esto realizado por cada individuo extraído de cada especie de totora.



- Siembra

En placas estériles con agar nutritivo se realizó la siembra de cada dilución y se incubó a 28°C por 72 horas. Con la ayuda de una pipeta automática se añadió 1 ml de los tubos con las diluciones seriadas desde  $10^1$  hasta  $10^4$  y fue distribuido a toda la placa con el asa drigalski a la llama del mechero como se observa en la figura 14.

**Figura 14**

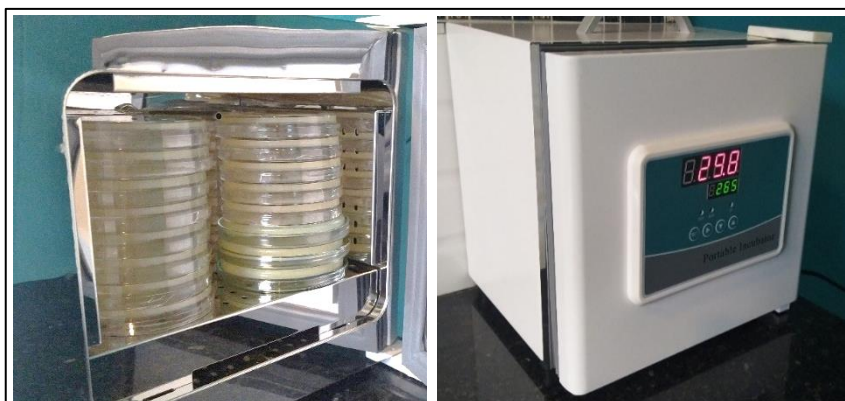
*Sembrado de bacterias en agar nutritivo.*



Cada placa tuvo que ser rotulada con las iniciales de la especie a la que pertenecían, la dilución utilizada en conjunto con el punto de muestreo, la fecha y hora de la siembra. Después fueron llevadas a la incubadora para que proliferen (Figura 15).

**Figura 15**

*Incubación de las bacterias a una temperatura de 28°C.*



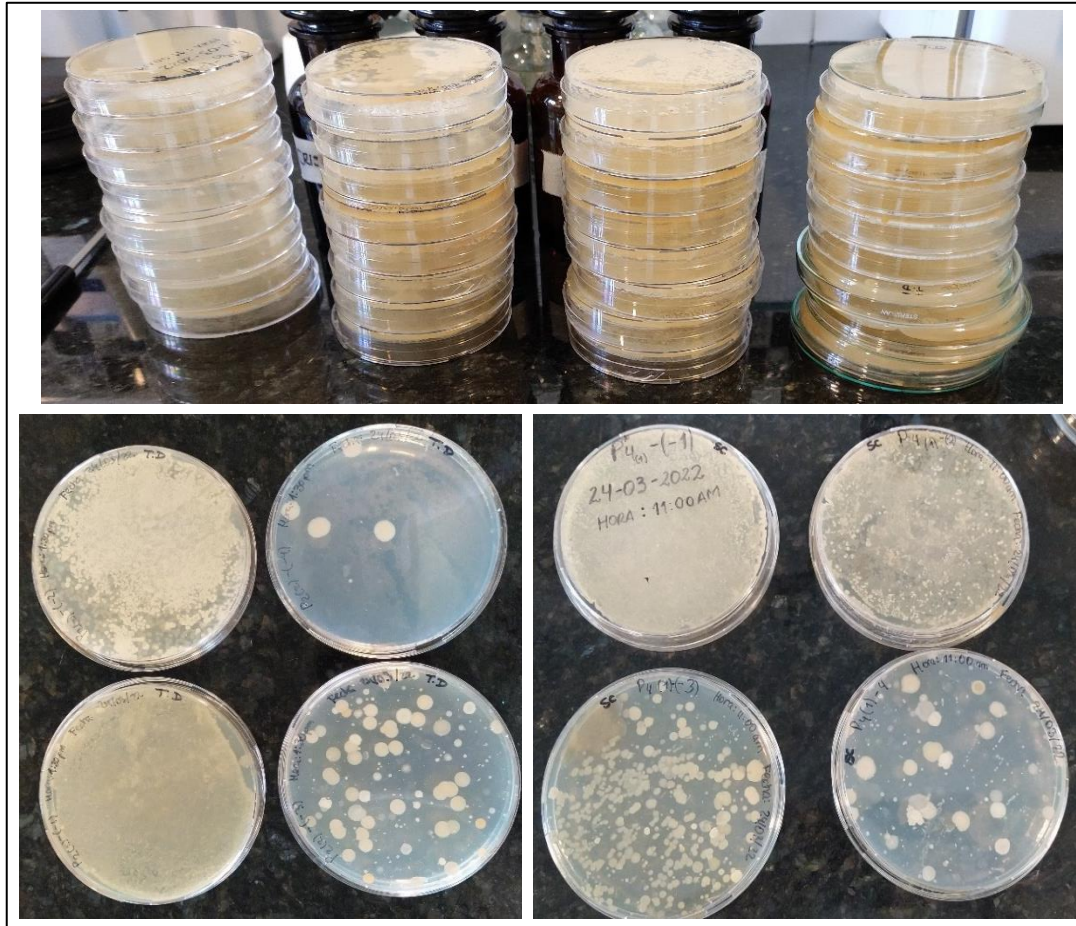
Se logró con éxito el crecimiento de las colonias bacterianas en el agar nutritivo evidenciadas en la figura 16, de la cual en la parte superior se tiene una vista general de todas las placas con proliferación bacteriana después de 72 horas, en la parte



inferior izquierda 4 diluciones de un individuo de TD y en la parte inferior derecha 4 diluciones de un individuo de SC.

**Figura 16**

*Presencia de colonias bacterianas en placa.*



- Morfología bacteriana y respuesta fisiológica a la coloración Gram

Se seleccionaron las placas más representativas, las colonias bacterianas de *Typha dominguensis* se extrajeron de placas con diluciones (-2) y (-3), mientras que las colonias bacterianas de *Scirpus californicus* fueron extraídas de placas con diluciones (-3) y (-4).

En un portaobjeto se realizó la fijación del frotis para luego proceder a la Coloración de Gram empleando cristal violeta, lugol, alcohol y safranina (Figura 17); en un microscopio óptico haciendo uso del objetivo de inmersión (100x) se observó su morfología (cocos, bacilos y espirilos), así como su respuesta a la coloración de Gram (grampositivas o gramnegativas).

**Figura 17**

*Fijación de frotis para la coloración de Gram y análisis en microscopio.*



Los datos obtenidos se plasmaron en la ficha de registro de datos N°2 (Figura 43).

- Conteo de colonias bacterianas

Se realizó el conteo de colonias por placa, y con los resultados se determinó mediante ecuación el número de colonias por ml de suspensión de la solución (proveniente de la agitación del suelo rizosférico en 100ml de agua destilada), plasmado en la ficha de registro de datos N°3 (Figura 44) y en la siguiente tabla:

**Tabla 6**

*Determinación del número de UFC en placa y UFC/ml.*

<i>Scirpus californicus</i>					<i>Typha domingensis</i>				
PUNTOS	INDIVIDUOS	DILUCIONES	N° DE UFC	POTENCIAL	PUNTOS	INDIVIDUOS	DILUCIONES	N° DE UFC	POTENCIAL
PUNTO 1	Individuo 1	(-1)	-	0	PUNTO 2	Individuo 1	(-1)	-	0
		(-2)	15	1.5			(-2)	46	4.6
		(-3)	-	0			(-3)	31	0.31
		(-4)	40	0.04			(-4)	121	0.121
	Individuo 2	(-1)	-	0		(-1)	-	0	
		(-2)	59	5.9		(-2)	-	0	
		(-3)	-	0		(-3)	64	0.64	
		(-4)	31	0.031		(-4)	5	0.005	
PUNTO 4	Individuo 1	(-1)	-	0		Individuo 3	(-1)	109	109
		(-2)	-	0			(-2)	-	0
		(-3)	131	1.31			(-3)	-	0
		(-4)	76	0.076			(-4)	-	0
	Individuo 2	(-1)	19	19	Individuo 1	(-1)	-	0	
		(-2)	6	0.6		(-2)	126	12.6	
		(-3)	15	0.15		(-3)	-	0	
		(-4)	2	0.002		(-4)	-	0	
	Individuo 3	(-1)	-	0	Individuo 2	(-1)	-	0	
		(-2)	41	4.1		(-2)	-	0	
		(-3)	19	0.19		(-3)	-	0	
		(-4)	21	0.021		(-4)	215	0.215	





c. Cultivo de bacterias en caldo nutritivo

El cultivo de rizobacterias de SC y TD se realizó por separado. Se seleccionaron las placas con las colonias más representativas, aquellas con el número de colonias entre 30 – 300, para su cultivo en caldo nutritivo (ANEXO 2). Como se ve en la figura 18, con un asa de siembra a la llama del mechero se tomaron las colonias y se cultivaron en 5 ml de caldo nutritivo e incubaron a una temperatura de 28°C durante 10 días.

**Figura 18**

*Cultivo de bacterias en caldo nutritivo.*



En la figura 19 muestra después de un día, tubos de ensayo conteniendo el caldo nutritivo con colonias bacterianas, que no presentan coloración y se distingue una nata de 0.5 cm aproximadamente.

**Figura 19**

*Crecimiento de biomasa bacteriana después de 1 día.*

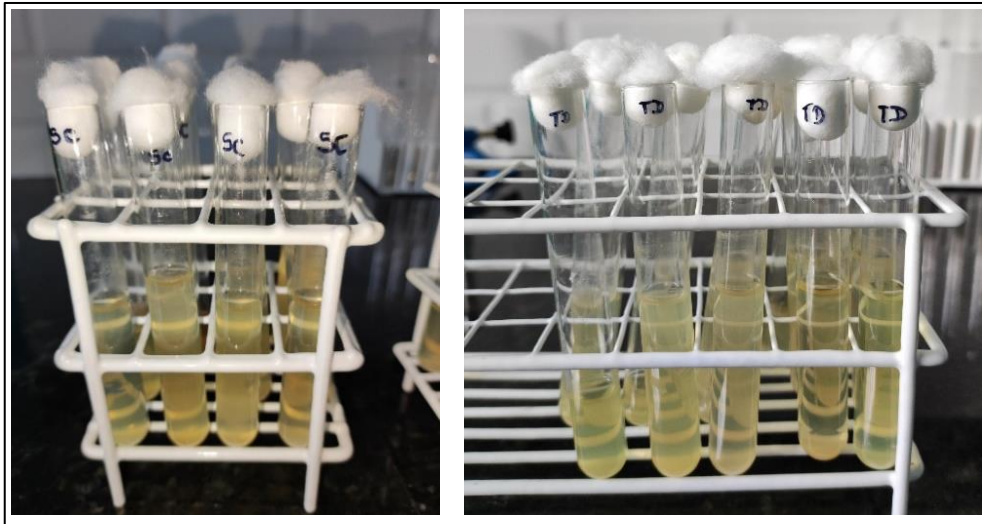




Se logró con éxito el crecimiento de biomasa bacteriana como indica la figura 20, en donde los tubos de ensayo con crecimiento bacteriano de ambas especies de totora, presentan coloración amarillenta y una nata más abundante.

**Figura 20**

*Crecimiento de biomasa bacteriana después de 10 días.*



d. Extracción de la muestra de agua residual

Para la muestra del agua residual, se acordó el día y hora de muestreo con SEDACUSCO. El punto de extracción fue el canal de entrada después del sistema de cribado del tratamiento preliminar mostrada en la figura 21.

**Figura 21**

*Canal de entrada después del cribado - PTAR San Jerónimo.*



**Figura 22**

*Extracción de muestras de agua residual - PTAR San Jerónimo.*



Acorde a la figura 22, el número de muestras extraídas fueron seis con un volumen de 650 ml/muestra y una séptima de 500 ml para determinar la DQO en laboratorio, preservado con ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ). Todas debidamente etiquetadas de acuerdo al Protocolo Nacional para el monitoreo de la calidad de los Recursos Hídricos Superficiales. Se midió el parámetro pH con ayuda de un pHmetro (Figura 23).

**Figura 23**

*Medición de pH.*



Los datos obtenidos en campo fueron registrados en la cadena de custodia (Figura 45). Una vez concluida la recolección de muestras, estas fueron transportadas en un caja conservadora contenida de empaques de hielo y gel para su preservación durante el traslado a laboratorio.

e. Medición de parámetros de la muestra de agua residual

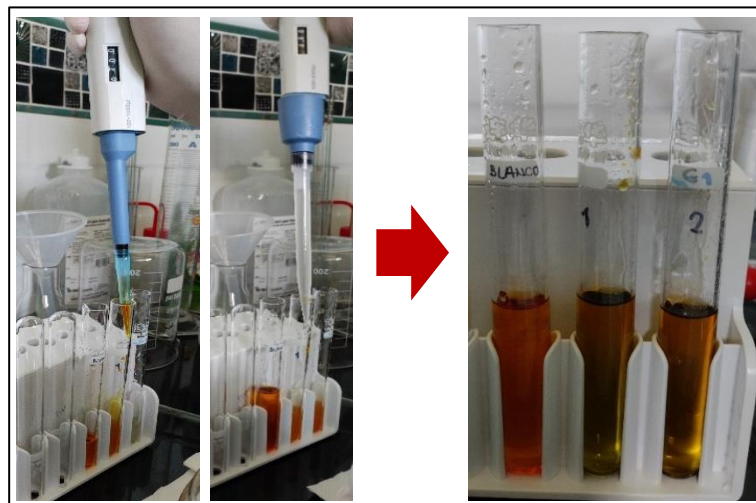
En laboratorio se midieron los parámetros de interés (DQO y DBO).

- DQO

La DQO se determinó mediante el “Método Dicromato”. De la cual primero se utilizó un blanco que era el agua destilada, a la muestra de 2.5 ml de agua residual se añade un volumen de 0.7 ml de dicromato de potasio con 4.8 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se homogeneizó la solución (Figura 24), aquí se observa que el primer tubo de ensayo (blanco) posee una tonalidad naranja fuerte mientras la muestra del agua residual posee tonalidad verdosa antes de ingresar al digester de DQO, donde permanecerá durante 10 minutos a una temperatura de 165 °C. Una vez finalizada la digestión, se observa un cambio en la coloración, mientras más verdosa, mayor presencia de DQO posee (Figura 25). Posteriormente se enfrió la mezcla a temperatura ambiente durante dos minutos y se añadió 2.5 ml de agua destilada para luego sumergirla en agua y volverse a enfriar durante 2 min.

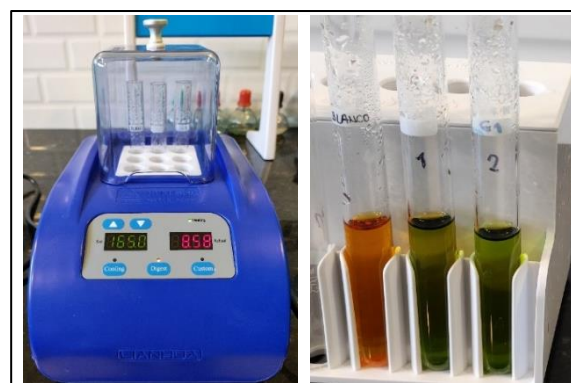
**Figura 24**

*Adición de dicromato de potasio y ácido sulfúrico.*



**Figura 25**

*Resultado de la digestión después de 10 minutos.*





Finalmente, la mezcla fue transferida a celdas de análisis que son ingresadas al fotómetro de luz para valoración de DQO (Figura 26).

**Figura 26**

*Valoración de DQO mediante Fotómetro de luz.*



#### - DBO

Para determinar la DBO, se realizó mediante el sistema OxiTop. Este método de medición posee un funcionamiento simple con un control automático de la temperatura, ya que, si la muestra de agua se encuentra fría, la medición se detiene hasta que la muestra llegue a la temperatura de trabajo (20°C), y permite que los valores medidos se almacenen durante 5 días y se muestren inmediatamente en la pantalla del cabezal de medición.

Haciendo uso del protocolo del equipo, en base al resultado de la DQO se colocó 50 ml de agua residual en los frascos ámbar con una barra magnética, y se añadió 03 gotas de sustancia inhibidora usada para inhibir los procesos de nitrificación que puedan interferir con el resultado de la DBO. Dentro del tapón de goma se introducen dos perlas de hidróxido de sodio para la captura de CO<sub>2</sub> liberado para que no aumente la presión en el equipo. Inmediatamente se cerró el frasco con el cabezal de medición OxiTop para ser colocado en el agitador magnético, e ingresado a la incubadora a 20°C durante 5 días mostrado en la figura 27.



**Figura 27**

*Adición de sustancia inhibidora de nitrógeno con hidróxido de sodio e instalación del Sistema OxiTop en la incubadora.*



Las lecturas diarias son almacenadas en el cabezal de medición, en este caso se utilizó un volumen de muestra de 50 ml (Figura 28).

**Figura 28**

*Resultado de la DBO<sub>5</sub>.*



La información obtenida fue registrada en el reporte de laboratorio N°1. (Figura 46)

f. Tratamiento: Incubación de rizobacterias en la muestra.

El tratamiento consistió en inocular las rizobacterias extraídas de cada especie de totora por separado a distintas dosis y temperaturas en la muestra de agua residual y evaluar la reducción de DQO en diferentes tiempos de contacto.

Se establecieron estos tiempos de contacto (3 y 5 días) para evaluar la eficiencia del tratamiento en un periodo relativamente corto; ya que, en sistemas integrados de una PTAR los tiempos de retención hidráulicos son breves, y se



pretende que esta tecnología sea incorporada posteriormente como parte de un sistema de tratamiento en plantas de tratamiento de aguas residuales.

**Tabla 7**

Valores de dosis, tiempo de contacto y temperatura.

Dosis de inoculación (A)	Tiempo de contacto (B)	Temperatura (C)
1%v/v	3 d	20 °C
2%v/v	5 d	30°C

Para la confiabilidad de los resultados, se tomaron puntos centrales (explicados en el ítem 3.7) siendo 1.5 %v/v para dosis, 25°C de temperatura y un tiempo de contacto de 4 días.

Se utilizaron matraces con 100 ml de agua residual a los cuales se inocularon diferentes dosis con una pipeta automática (Figura 29). El volumen de soluto (biomasa de rizobacterias) que ingresó en 100 ml de agua residual de acuerdo a las diferentes dosis (1%v/v y 2%v/v), se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$V_{sto} = \% \frac{V}{V} \times \frac{V_{sol}}{100} \dots\dots\dots \text{Ecuación para el cálculo de soluto conociendo el \%v/v y } V_{sol}.$$

Reemplazando:

**Tabla 8**

Cálculo de dosis de biomasa bacteriana.

Dosis de 1 %v/v en 100 ml de agua residual	Dosis de 1.5 %v/v en 100 ml de agua residual	Dosis de 2 %v/v en 100 ml de agua residual
$V_{sto} = \% \frac{V}{V} \times \frac{V_{sol}}{100}$	$V_{sto} = \% \frac{V}{V} \times \frac{V_{sol}}{100}$	$V_{sto} = \% \frac{V}{V} \times \frac{V_{sol}}{100}$
$V_{sto} = 1 \frac{ml}{ml} \times \frac{100 ml}{100}$	$V_{sto} = 1.5 \frac{ml}{ml} \times \frac{100 ml}{100}$	$V_{sto} = 2 \frac{ml}{ml} \times \frac{100 ml}{100}$
<b><math>V_{sto} = 1 ml</math></b>	<b><math>V_{sto} = 1.5 ml</math></b>	<b><math>V_{sto} = 2 ml</math></b>

Por cada ml de soluto se incrementó 0.2 ml del mismo, (volumen en el caso de que se presenten pérdidas por adaptabilidad de las rizobacterias al nuevo medio). Es así que



para la dosis de 1 %v/v, 1.5 %v/v y 2 %v/v se inocula 1.20, 1.80 y 2.40 ml de soluto al agua residual respectivamente como se ve en la figura 30 para los tratamientos de 25 y 30°C.

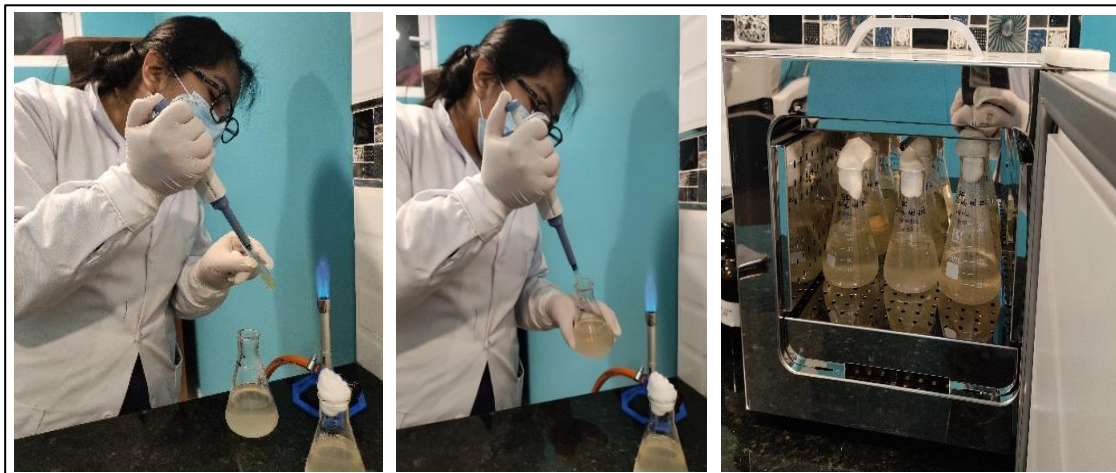
**Figura 29**

*Inoculación de rizobacterias al agua residual a distintas dosis a una temperatura de 20°C.*



**Figura 30**

*Inoculación de rizobacterias al agua residual a distintas dosis a temperaturas de 25°C y 30°C.*



- g. Medición de los parámetros después de los tratamientos
- Determinación de DQO:

Una vez aplicado el tratamiento con rizobacterias de SC y TD a distintas dosis y temperaturas se determinó las concentraciones de DQO a diferentes tiempos de contacto (3 y 5 días) utilizando el "Método Dicromato".

Las muestras de agua se centrifugaron a 4000 rpm durante 10 min para separar el agua residual de la biomasa, en la figura 31 se observa el precipitado de la biomasa




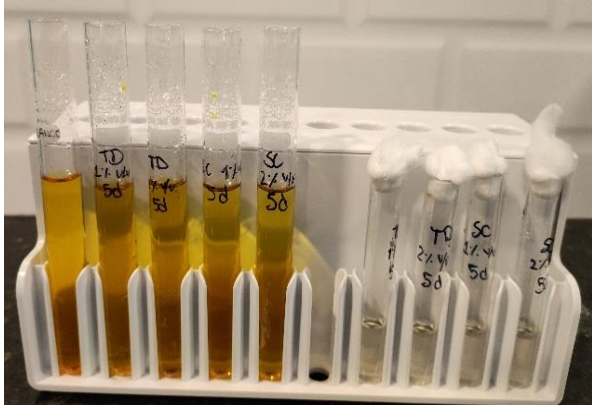


en la parte cónica del vial, terminado este procedimiento se realizó la determinación de DQO, siguiendo el mismo procedimiento del ítem 3.5 inciso “e”.

**Figura 31**

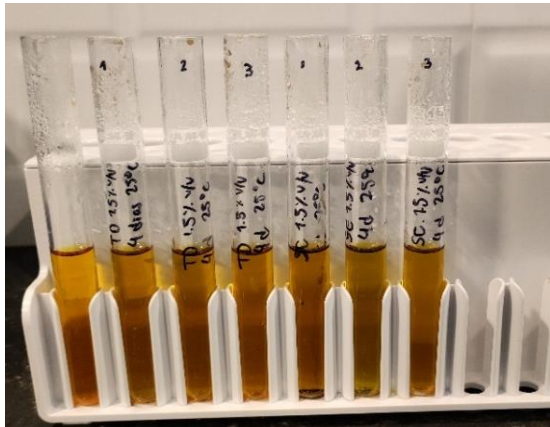
*Centrifugado de muestras para la separación de biomasa del agua residual.*



<p>A. Determinación de DQO al 3er día de inoculación de rizobacterias con dosis 1%v/v y 2%v/v a una temperatura de 20°C.</p>	<p>B. Determinación de DQO al 5to día de inoculación de rizobacterias con dosis 1%v/v y 2%v/v a una temperatura de 20°C.</p>
 <p>La coloración presentada en los tubos de ensayo es naranja oscuro justo antes de pasar a las celdas de análisis, indicando que se redujo la concentración de MO.</p>	 <p>Los tratamientos presentan una coloración naranja amarillenta indicadora de baja carga orgánica en el agua residual.</p>



C. Determinación de DQO al 4to día de inoculada la dosis de 1.5%v/v de rizobacterias a una temperatura de 25°C.



Los tratamientos con puntos centrales presentan coloración naranja.

D. Determinación de DQO al 3er día de inoculación de rizobacterias con dosis 1%v/v y 2%v/v a una temperatura de 30°C.



Las mezclas muestran una coloración naranja con tonalidad ligeramente verdosa, que indica una de remoción de MO en menor cantidad.

E. Determinación de DQO al 5to día de inoculación de distintas dosis de rizobacterias (1%v/v y 2%v/v) a una temperatura de 30°C.



Adición de agua destilada después de la digestión, coloración naranja fuerte que refleja remoción de MO en mayor cantidad que los tratamientos evaluados al 3er día.

Se debe recordar limpiar las celdas de análisis, antes que ingrese al fotómetro de luz para así, evitar error en la lectura del valor de DQO por el equipo (Figura 32).



**Figura 32**

*Valoración de DQO mediante Fotómetro de Luz.*



Los resultados obtenidos fueron registrados en el reporte de laboratorio N°2 (Figura 47).

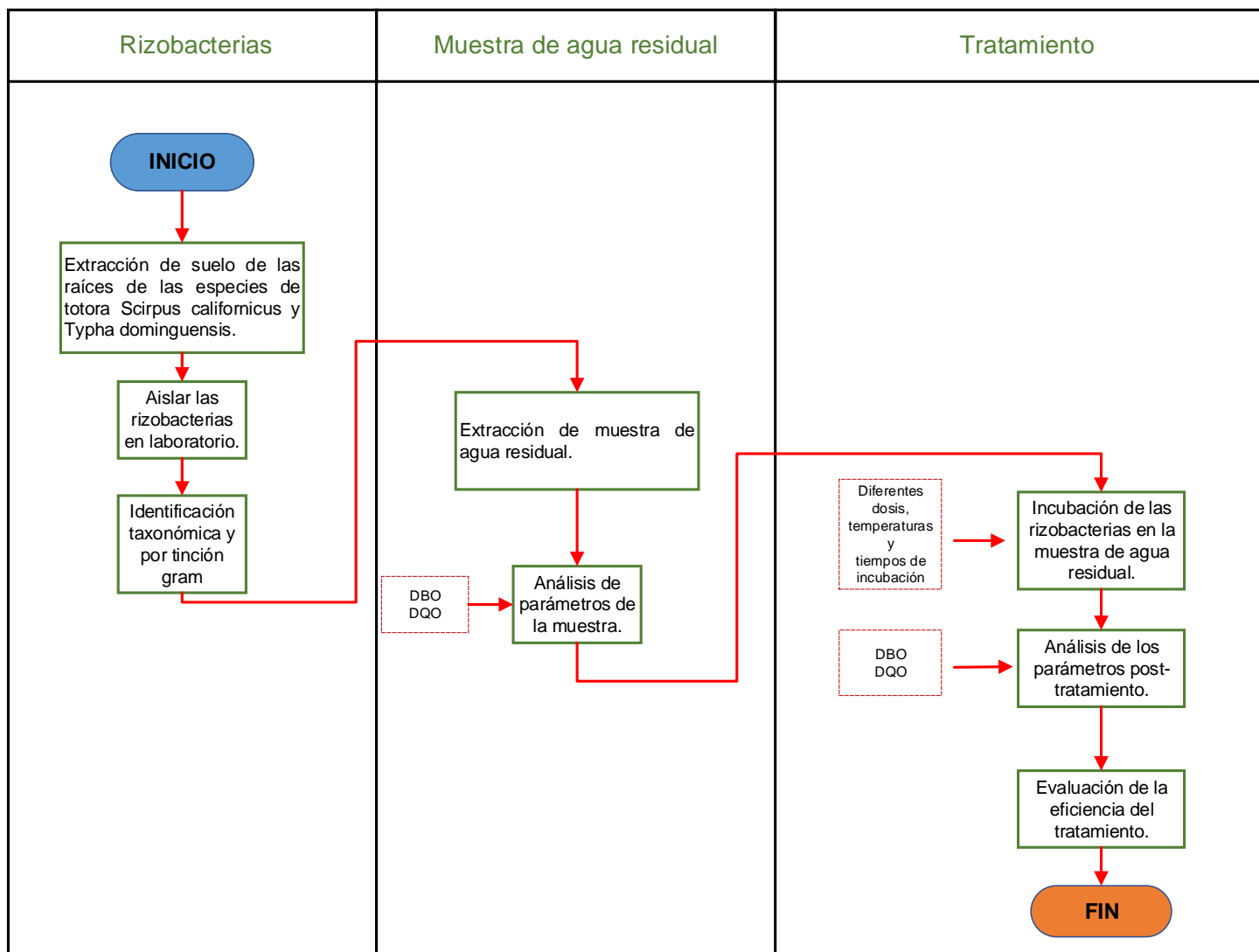
- Determinación de DBO:

Se valoró la DBO después de los tratamientos con rizobacterias de SC y TD con ambas dosis a los 5 días de contacto y una temperatura de 30°C cada uno, la determinación se realizó mediante el método OxiTop.



Figura 33

Diagrama de flujo Procedimiento experimental.





### 3.6 Validez y confiabilidad de instrumentos

Los instrumentos de recolección de datos fueron elaborados de acuerdo a las necesidades de la investigación.

La cadena de custodia fue extraída del “Protocolo Nacional para el monitoreo de la calidad de los recursos hídricos superficiales” documento elaborado por la Autoridad Nacional del Agua (ANA) y de uso obligatorio a nivel nacional. El documento contiene los procedimientos adecuados para la toma de muestras, así como la preservación, almacenamiento, conservación y traslado de las mismas. Por lo tanto, representa validez y confiabilidad en nuestra investigación.

Los instrumentos como fichas de registro de datos, reportes de laboratorios y demás fueron revisados, validados y evaluados por 4 docentes especialistas mediante el método DPP (distancia del punto medio) tomando en cuenta 3 componentes: forma, contenido y estructura, clasificados en 10 indicadores que valoran varios aspectos de los instrumentos.

Finalizada la revisión de los instrumentos, calificados entre deficiente a excelente valorados del 1 al 5, se colocaron en la siguiente tabla para después sacar el promedio de cada indicador.

**Tabla 9**

*Calificación de los instrumentos de recolección de datos valorada por los expertos.*

Componente	Indicadores	A	B	C	D	Promedio
Forma	Redacción	4	5	4	4	4.3
	Claridad	4	4	4	4	4.0
	Objetividad	4	4	5	4	4.3
Contenido	Actualidad	5	5	5	4	4.8
	Suficiencia	5	4	5	4	4.5
	Intencionalidad	5	5	5	4	4.8
Estructura	Organización	4	4	5	4	4.3
	Consistencia	5	5	5	5	5.0
	Coherencia	4	5	5	5	4.8
	Metodología	4	5	5	5	4.5

*Nota.* Los valores se encuentran al final de la investigación, en el apartado D. Validación de instrumentos

De la tabla obtenemos el valor máximo de calificación siendo este 5 y el valor del promedio de los diez indicadores.



$$DPP = \sqrt{(5-4.3)^2 + (5-4)^2 + (5-4.3)^2 + (5-4.8)^2 + (5-4.5)^2 + (5-4.8)^2 + (5-4.3)^2 + (5-5)^2 + (5-4.8)^2 + (5-4.5)^2}$$

$$DPP = \sqrt{3.09}$$

$$DPP = 1.76$$

Para comparar si los instrumentos usados son aplicables a la investigación, se tomaron todos los valores máximos de todos los indicadores.

$$DP_{\text{máx}} = \sqrt{(5-1) + (4-1) + (5-1) + (5-1) + (5-1) + (5-1) + (5-1) + (5-1) + (5-1) + (5-1)}$$

$$DP_{\text{máx}} = \sqrt{39} = 6.24$$

**Tabla 10**

*Método DPP - Rango de calificación.*

[0 A 6.16 >	Excelente
[6.16 A 12.32>	Muy Bueno
[12.32 A 18.48>	Bueno
[18.48 A 24.64>	Regular
[24.64 A 30.8>	Deficiente

El valor resultante es 6.24 ubicado en el rango [6.16 a 12.32> clasificándolo como muy bueno, es decir que los instrumentos presentados son adecuados para ser aplicados en el desarrollo de la investigación.

### 3.7 Plan de Análisis de datos

Los datos obtenidos al momento del desarrollo de la investigación fueron insertados en el software Microsoft Excel para hallar los porcentajes de reducción (%) de DQO en relación a la concentración inicial. Posteriormente dichos porcentajes, se insertaron en el software Statgraphics para su evaluación.

#### - **Diseño experimental Factorial 2<sup>3</sup> con puntos centrales:**

Se realizó un diseño factorial completo 2<sup>3</sup> con puntos centrales para las rizobacterias aisladas de SC y TD por separado en el programa Statgraphics. Este diseño tiene 3 factores: A: Dosis de inoculación, B: Tiempo de contacto y C: Temperatura, cada factor a su vez posee 2 niveles (1 alto y -1 bajo) y un nivel



intermedio denominado punto central al cual se codificó con cero (0) (Tabla 11). Se tiene como variable respuesta el porcentaje de reducción (%R) de DQO.

**Tabla 11**

*Factores y niveles del diseño factorial*

Nivel	Dosis de inoculación (A)	Tiempo de contacto (B)	Temperatura (C)
-1	1% v/v	3 días	20°C
0	1.5% v/v	4 días	25°C
+1	2% v/v	5 días	30°C

Se obtuvieron 8 combinaciones (tratamientos) que fueron observados una sola vez (una réplica por tratamiento). Posteriormente se adicionaron 3 puntos centrales a este experimento, es decir se replicó 3 veces el tratamiento con los tres factores en un nivel intermedio. El total de combinaciones para el experimento se presenta a continuación:

**Tabla 12**

*Modelo de tabla para sistematizar los datos referentes a TD*

Especie	Nº	A: Dosis de inoculación	B: Tiempo de contacto	C: Temperatura	% Reducción
<b>TD</b>	1	1% V/V	3 días	20 °C	
	2	2% V/V	3 días	20 °C	
	3	1% V/V	5 días	20 °C	
	4	2% V/V	5 días	20 °C	
	5	1.5 % v/v	4 días	25 °C	
	6	1.5% V/V	4 días	25 °C	
	7	1.5% V/V	4 días	25 °C	
	8	1% V/V	3 días	30 °C	
	9	2% V/V	3 días	30 °C	
	10	1% V/V	5 días	30 °C	
	11	2% V/V	5 días	30 °C	

*Nota: Los puntos centrales fueron replicados 3 veces, dando un total de 11 experimentos; la columna del % de reducción será llenada en la experimentación.*



**Tabla 13**

*Modelo de tabla para sistematizar los datos referentes a SC*

Especie	Nº	A: Dosis de inoculación	B: Tiempo de contacto	C: Temperatura	% Reducción
<b>SC</b>	1	1% V/V	3 días	20 °C	
	2	2% V/V	3 días	20 °C	
	3	1% V/V	5 días	20 °C	
	4	2% V/V	5 días	20 °C	
	5	1.5 % v/v	4 días	25 °C	
	6	1.5% V/V	4 días	25 °C	
	7	1.5% V/V	4 días	25 °C	
	8	1% V/V	3 días	30 °C	
	9	2% V/V	3 días	30 °C	
	10	1% V/V	5 días	30 °C	
	11	2% V/V	5 días	30 °C	

*Nota: Los puntos centrales fueron replicados 3 veces, dando un total de 11 experimentos; la columna del % de reducción será llenada en la experimentación.*

Se tiene como variable respuesta el porcentaje de reducción (%R) de DQO. El tratamiento adicional (punto central) fue replicado 3 veces debido a las siguientes razones:

- Obtener grados de libertad para el error sin perjudicar la estimación de los efectos de interés, cuando por razones económicas se corre el experimento sin réplicas.
- Detectar si la presencia de curvatura es significativa o falla de ajuste del modelo, ya que si se presentara un caso de curvatura cuadrática se tendría que escoger un diseño de segundo orden para poder estudiar los efectos cuadráticos o de curvatura pura.

Los resultados se analizaron considerando: Análisis de varianza de ANOVA, diagrama de Pareto, gráficos de efectos principales y de interacción. Esto fue aplicado a cada especie por separado.

Los porcentajes de reducción alcanzados de cada especie TD y SC fueron hallados con la ecuación siguiente y colocados en las tablas mostradas a continuación:

$$\% \text{ Reducción} = \frac{\text{Valor inicial del parámetro} - \text{Valor final del parámetro}}{\text{Valor inicial del parámetro}} \times 100$$





## CAPÍTULO IV: RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

Se obtuvieron los valores iniciales de DQO y DBO del agua residual, mostrados en la siguiente tabla:

**Tabla 14**

*Valores iniciales de DQO y DBO.*

Parámetro	Valor
DQO	820.98 mg/l
DBO	552.00 mg/l

Los cuales permitieron determinar los porcentajes de reducción después de aplicado los tratamientos con rizobacterias.

Asimismo, los valores fueron usados para calcular el índice de biodegradabilidad del agua residual mediante la relación  $DBO_5/DQO$ :

$$\frac{DBO_5}{DQO} = \frac{552.00}{820.98} = 0.67$$

Según los valores de la tabla 4 el valor obtenido indica que el agua residual extraída es biodegradable. Esto se debe a que las aguas residuales urbanas cargan consigo aguas residuales domésticas, industriales y escorrentía pluvial; por ende, composición es muy variada (materia orgánica de origen fecal, surfactantes, grasas y aceites, sales solubles, agentes complejantes, metales pesados disueltos, sólidos en suspensión, etc.)

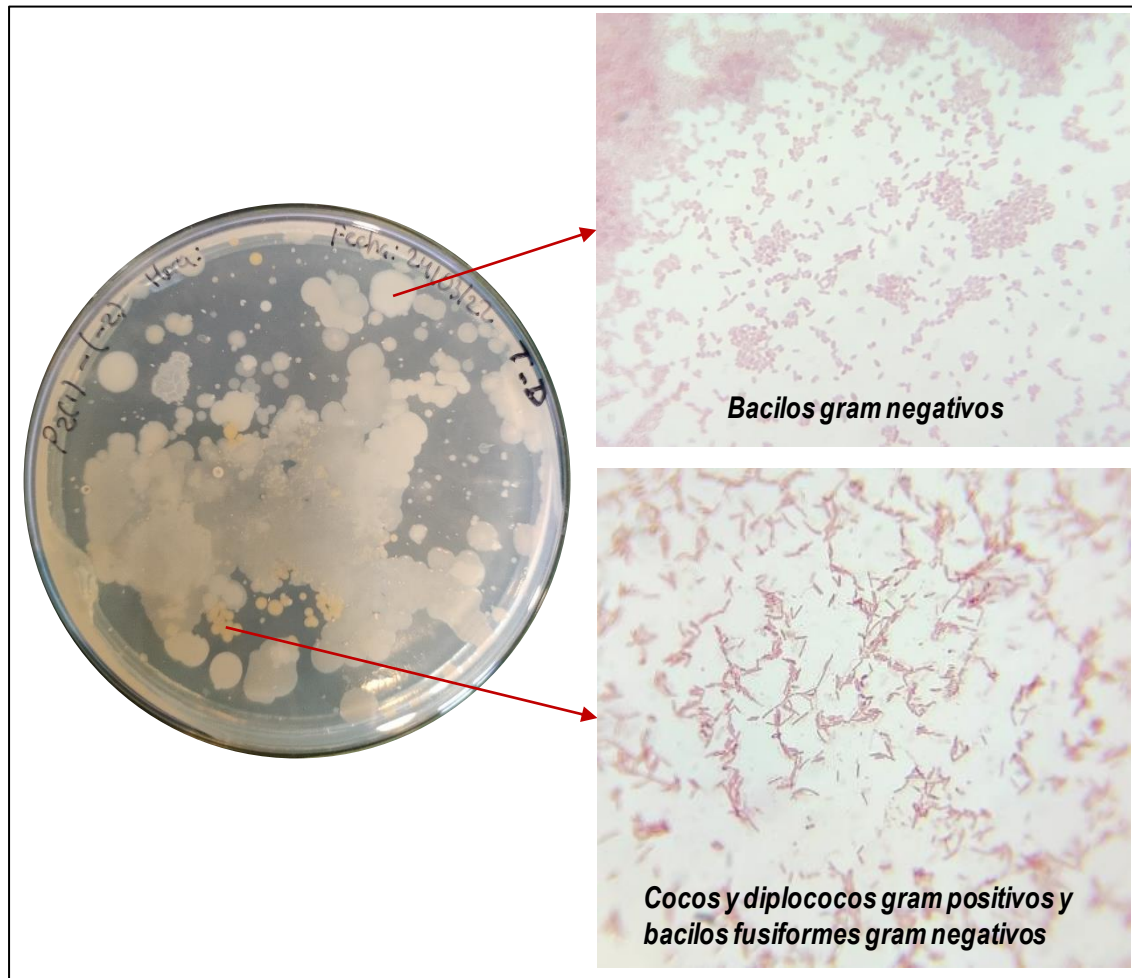


#### 4.1 Resultados respecto a los objetivos específicos

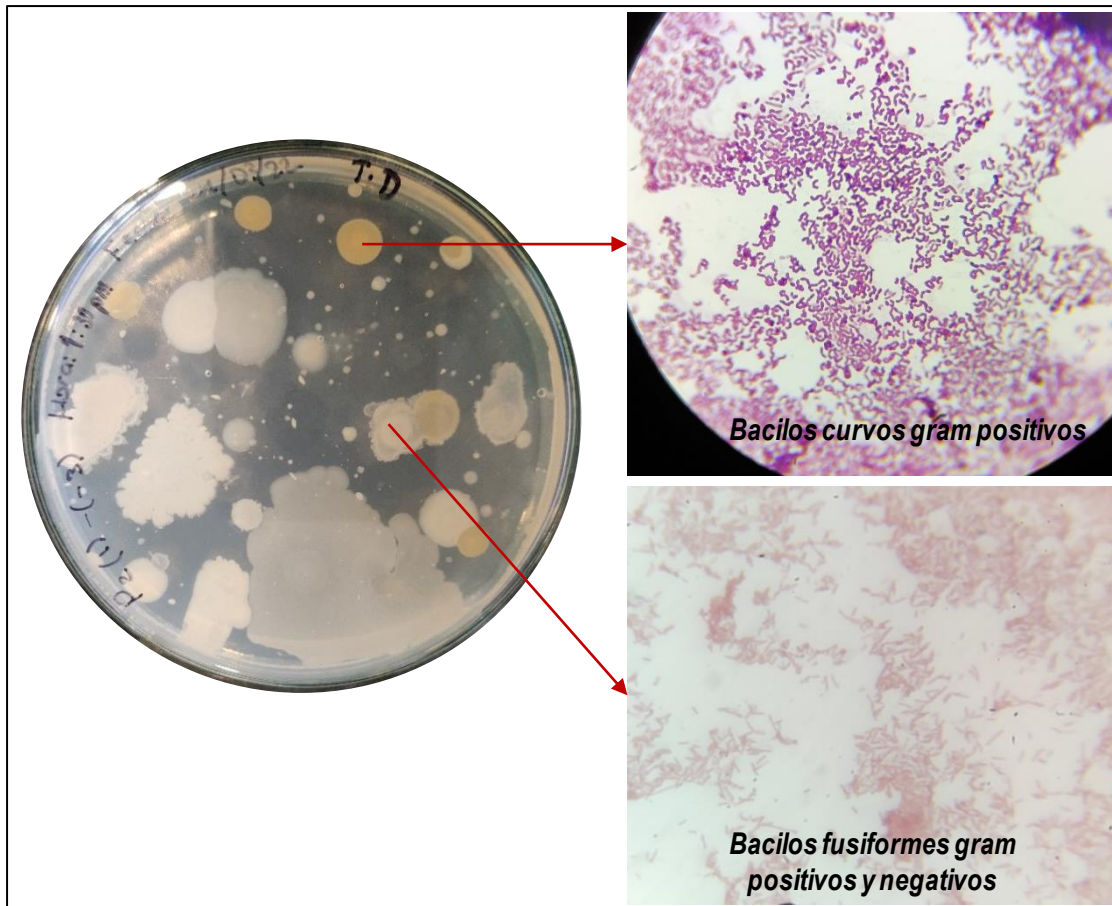
1. Se logró aislar con éxito rizobacterias extraídas de las totoras SC y TD, lo que permitió su caracterización por morfología y Coloración de Gram.

Las preparaciones se observaron en un microscopio óptico con ocular WF10x y objetivo 100x.

- Rizobacterias aisladas de *Typha dominguensis*:



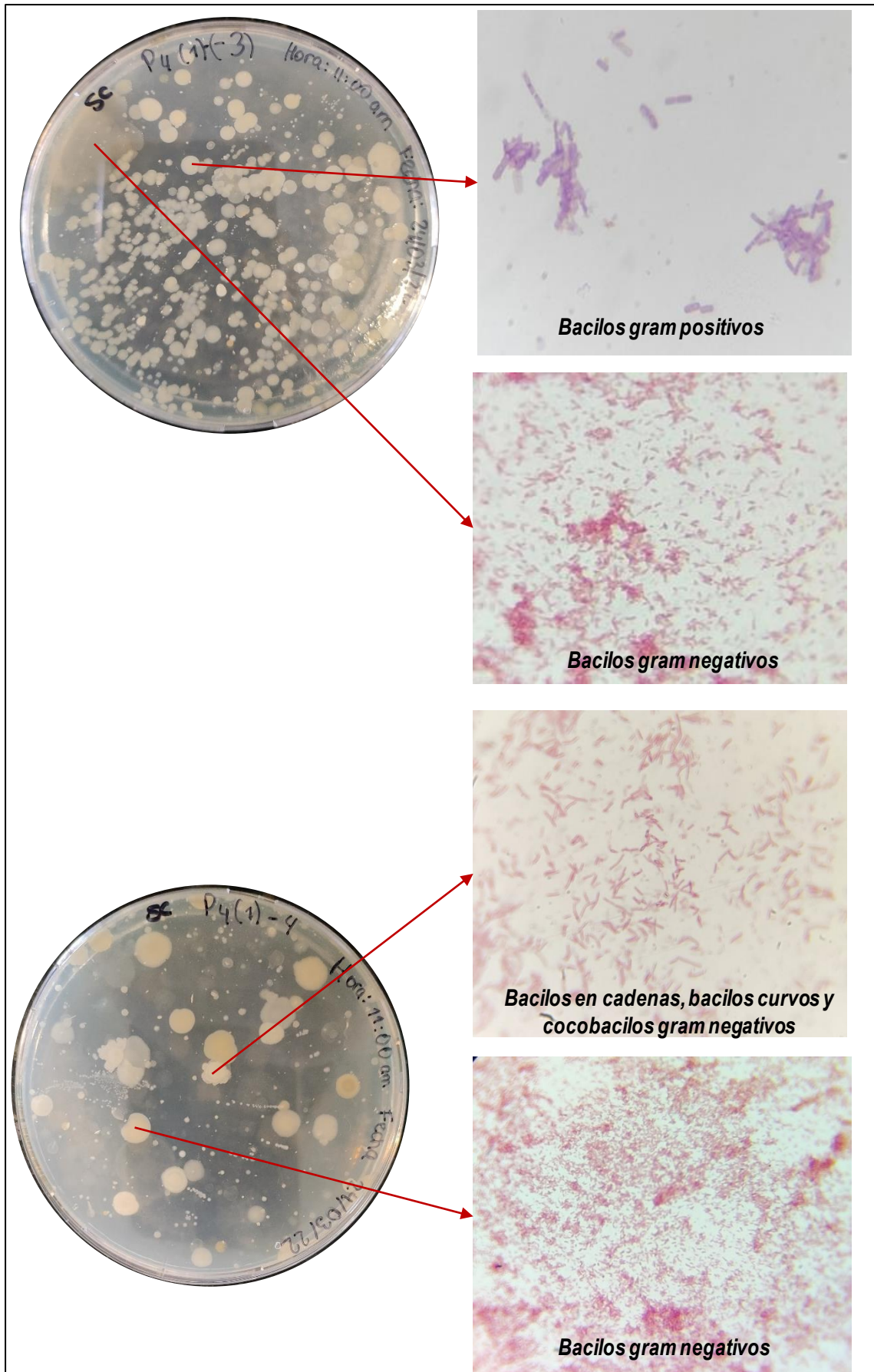
*Nota:* Vista en microscopio (Ocular 10x con campo de visión 18 mm, objetivo 100x).



Nota: Vista en microscopio (Ocular 10x con campo de visión 18 mm, objetivo 100x).

En placa se observaron colonias de coloración blanquecina y naranja, en las cuales se identificaron bacilos gram negativos, bacilos fusiformes gram positivos y negativos y cocos/diplococos gram positivos.

- Rizobacterias aisladas de *Scirpus Californicus*:



*Nota:* Vista en microscopio (Ocular 10x con campo de visión 18 mm, objetivo 100x).



Al igual que en *T. dominguensis* las placas también presentaron colonias de coloración blanquecina y naranja, en las cuales se identificaron bacterias gram positivas y negativas con morfología de bacilos, bacilos en cadenas, bacilos curvos y cocobacilos.

2. Las tablas 15 y 16 muestran los porcentajes de reducción de DQO del agua residual urbana frente a los diferentes tratamientos aplicados (acción de rizobacterias a diferentes dosis, tiempos de contacto y temperatura).

**Tabla 15**

*Niveles de reducción de DQO por acción de rizobacterias de TD.*

Especie	Nº	Dosis de inoculación	Tiempo de contacto	Temperatura	% Reducción
<i>Typha dominguensis</i>	1	1% V/V	3 días	20 °C	50.05
	2	2% V/V	3 días	20 °C	46.47
	3	1% V/V	5 días	20 °C	<b>51.24</b>
	4	2% V/V	5 días	20 °C	47.03
	5	1.5 % v/v	4 días	25 °C	40.61
	6	1.5% V/V	4 días	25 °C	42.25
	7	1.5% V/V	4 días	25 °C	47.39
	8	1% V/V	3 días	30 °C	26.03
	9	2% V/V	3 días	30 °C	<b>15.49</b>
	10	1% V/V	5 días	30 °C	45.00
	11	2% V/V	5 días	30 °C	38.77

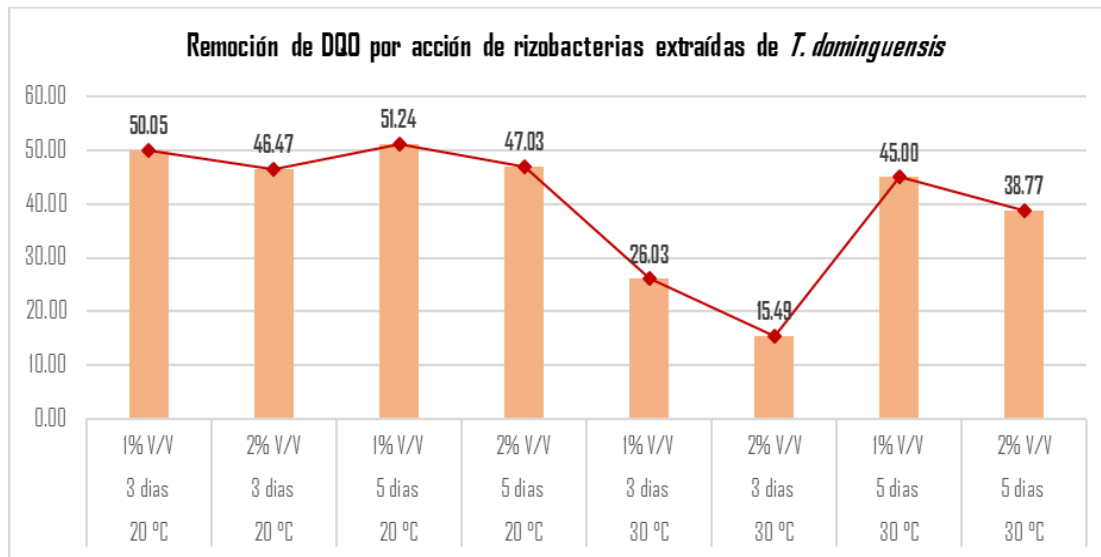
En la tabla 15 se observan las 11 corridas factoriales (combinaciones) y su eficiencia en la reducción de DQO.

El porcentaje más alto alcanzado fue de 51.24% en un periodo de 5 días a una temperatura de 20°C utilizando una dosis de bacterias al 1%v/v, y el mínimo alcanzado fue de 15.49% a los 3 días de aplicado el tratamiento con dosis de 2%v/v a una temperatura de 30°C. A continuación, se observa la gráfica de la tabla 15 perteneciente a los resultados de los tratamientos aplicados con rizobacterias extraídas de *T. dominguensis* al agua residual.



**Figura 34**

Evaluación de los porcentajes de reducción de DQO por rizobacterias de TD.



En la figura 34 se evidencian los resultados de los porcentajes de reducción de DQO por acción de rizobacterias en el agua residual a diferentes temperaturas, dosis y tiempos de contacto.

Los tratamientos realizados a una temperatura de 20°C fueron los que alcanzaron un mayor nivel de reducción de 50.05% y 51.24%, en comparación con los que se realizaron a una temperatura de 30°C cuyos valores más altos alcanzaron el 38.77% y 45%, siendo los tratamientos con menor temperatura los que mayor eficiencia obtuvieron. Hay que destacar que, el mayor nivel de reducción obtenido de los 8 tratamientos (combinaciones factoriales) fue 51.24% con una dosis de 1%v/v al quinto día de evaluación y temperatura de 20°C, y el menor porcentaje alcanzado fue 15.49% empleando una dosis de inoculación de 2%v/v evaluado al tercer día de contacto y una temperatura de 30°C.

**Tabla 16**

Niveles de reducción de DQO por acción de rizobacterias de SC.

Especie	Nº	Dosis de inoculación	Tiempo de contacto	Temperatura	% Reducción
<i>Scirpus californicus</i>	1	1% V/V	3 días	20 °C	48.39
	2	2% V/V	3 días	20 °C	49.12
	3	1% V/V	5 días	20 °C	<b>49.58</b>
	4	2% V/V	5 días	20 °C	47.94



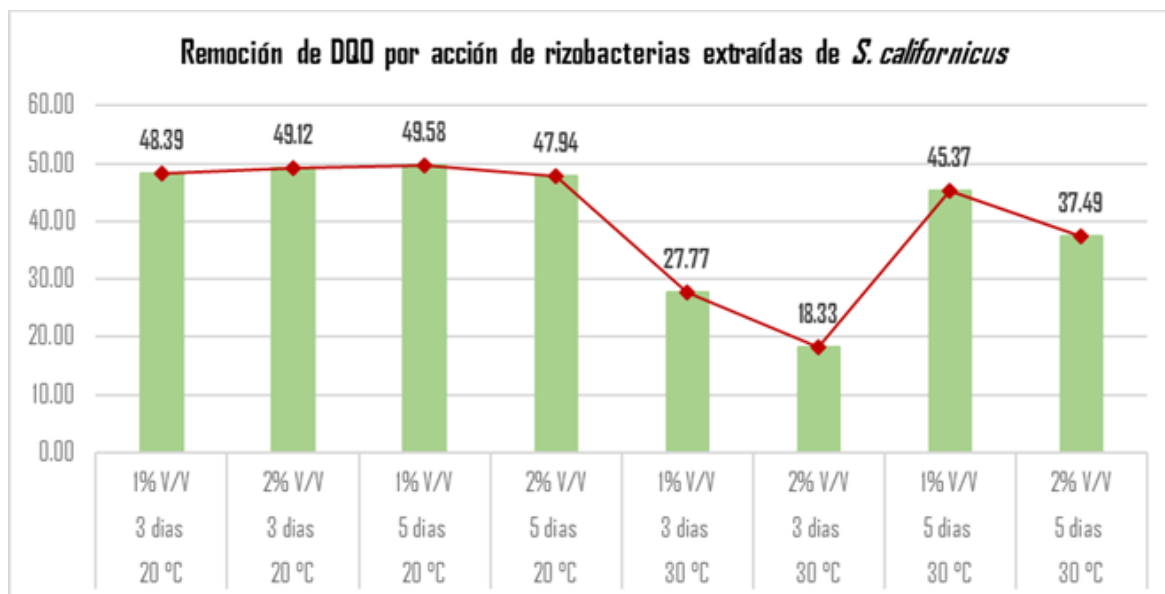
5	1.5 % v/v	4 días	25 °C	43.48
6	1.5% V/V	4 días	25 °C	47.27
7	1.5% V/V	4 días	25 °C	39.69
8	1% V/V	3 días	30 °C	27.77
9	2% V/V	3 días	30 °C	<b>18.33</b>
10	1% V/V	5 días	30 °C	45.37
11	2% V/V	5 días	30 °C	37.49

En la tabla 16 se observan los 11 tratamientos (combinaciones) y su eficiencia en la reducción de DQO.

El porcentaje más alto alcanzado fue de 49.58% en un periodo de 5 días a una temperatura de 20°C utilizando una dosis de bacterias al 1%v/v, y el mínimo alcanzado fue de 18.33% a los 3 días de aplicado el tratamiento con dosis de 2%v/v a una temperatura de 30°C. A continuación, se observa la gráfica de la tabla 16 perteneciente a los resultados de los tratamientos aplicados con rizobacterias extraídas de *S. californicus* al agua residual.

Figura 35

Evaluación de los porcentajes de reducción de DQO por rizobacterias de SC.





Se observa en la figura 35 que, los tratamientos realizados a una temperatura de 20°C a los 3 días de evaluación las dosis de 1 y 2 (%v/v) muestran porcentajes de reducción de 48.39 y 49.12 respectivamente con una diferencia no significativa y al quinto día de evaluación el valor más alto de 49.58% fue obtenido por la dosis de 1%v/v. Respecto a la temperatura de 30°C, en el 3er día de evaluación las dosis de 1 y 2 (%v/v) obtuvieron un porcentaje de 27.77 y 18.33 respectivamente, al quinto día el porcentaje de reducción de ambas dosis aumentó radicalmente a 45 y 37.49%. En ambos casos se demuestra que la dosis de 1%v/v es la que obtiene mayores niveles de remoción de DQO.

**3.** Para ambos estudios de rizobacterias pertenecientes a *T. dominguensis* y *S. californicus* se prueba que la dosis de inoculación adecuada es 1%v/v.

**4.** Respecto al tiempo de contacto, los valores más altos de reducción para ambas dosis se dan al quinto día de evaluación, así se demuestra que el tiempo adecuado son 5 días de contacto de rizobacterias en el agua residual. Con este resultado podemos aceptar la hipótesis 4, que indica que, a mayor tiempo de contacto la reducción de la concentración de DQO es mayor.

**5.** Referente a la temperatura de incubación, en ambos gráficos se observa que los niveles más altos de reducción de DQO fueron obtenidos por la menor temperatura de 20°C. Es así que, se rechaza la hipótesis 5 que menciona que, a mayor temperatura la reducción de DQO es mayor.





## ANÁLISIS ESTADÍSTICO EN STATGRAPHICS Centurion

### a) Rizobacterias extraídas de *Typha dominguensis*.

- Análisis de Varianza ANOVA

Tabla 17

Análisis de Varianza para reducción de DQO por acción de rizobacterias de TD.

Análisis de Varianza para Remoción DQO					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Dosis de Inoculación	75.3992	1	75.3992	4.49	0.1242
B:Tiempo de contacto	242.0	1	242.0	14.42	0.0321
C:Temperatura	603.781	1	603.781	35.98	0.0093
AB	1.6928	1	1.6928	0.10	0.7716
AC	10.08	1	10.08	0.60	0.4948
BC	205.031	1	205.031	12.22	0.0396
ABC	3.05045	1	3.05045	0.18	0.6986
Error total	50.3467	3	16.7822		
Total (corr.)	1191.38	10			

R-cuadrada = 95.7741 por ciento

La tabla 17 muestra factores evaluados con valores-P de rojo menores a 0.05, los cuales representan significancia en el tratamiento; asimismo, se evidencia el valor de R-cuadrada 95.7741%, valor mayor al 70% que indica una buena asociación lineal entre las variables; es decir, el modelo estadístico utilizado se ajusta perfectamente a los resultados de la investigación.

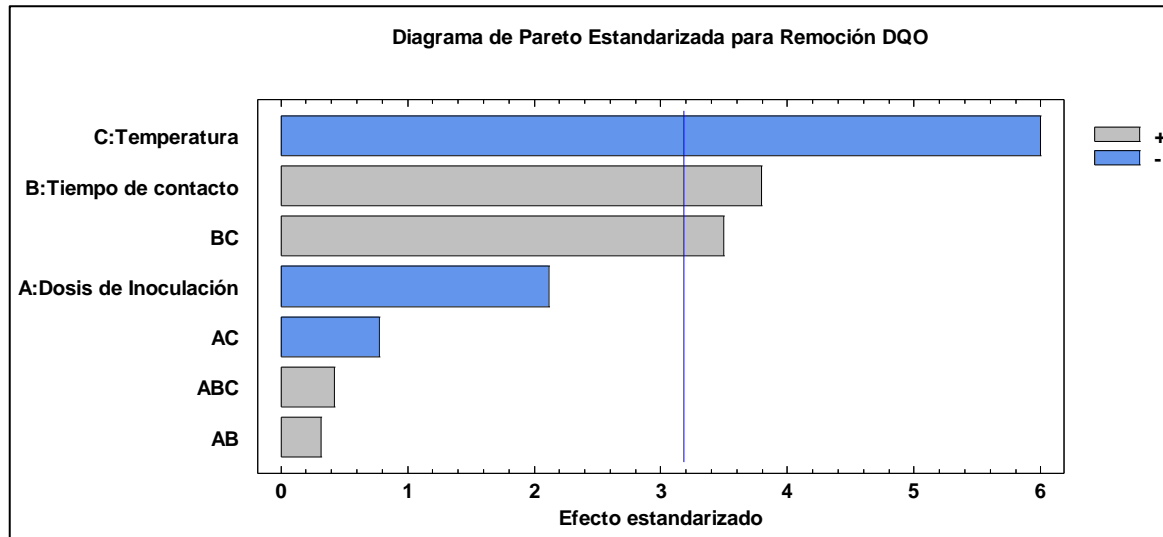
Según la tabla de análisis de varianza ANOVA los factores que más impacto tuvieron en el porcentaje de reducción de DQO fueron B: Tiempo de contacto, C: Temperatura y la interacción BC: Tiempo contacto con temperatura, debido a que sus valores-p (sig.) son menores a 0.05; señalando que, estos factores si tienen efectos significativos sobre el DQO del agua residual. Con lo cual se rechaza la hipótesis nula: NO hay diferencia significativa de los datos de DQO antes y después del tratamiento, y se acepta la hipótesis alterna: SI hay diferencia significativa de las concentraciones de DQO antes y después de aplicado el tratamiento con rizobacterias.

En cuanto a los que menor significancia tuvieron, se encuentran al factor A: Dosis de inoculación, y las interacciones AB, AC y ABC.

- Análisis Diagrama de Pareto

Figura 36

Diagrama de Pareto para reducción de DQO por rizobacterias de TD.



La figura 36 presenta el diagrama de Pareto de los factores e interacciones ordenadas de mayor a menor impacto. Se observa una línea de referencia trazada para determinar qué efectos son estadísticamente significativos. El color gris representa un impacto positivo, a diferencia del azul que representa un impacto negativo sobre la variable respuesta.

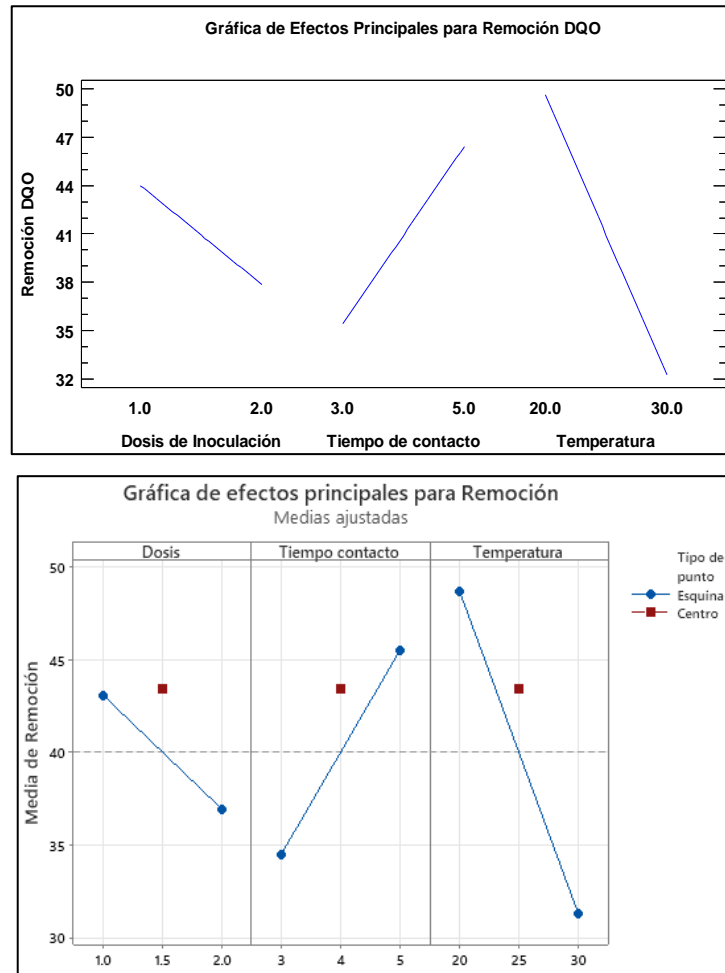
Se evidencia a C: Temperatura como el factor que tuvo efectos negativos en la respuesta, es decir a medida que aumenta la temperatura menor será la reducción de DQO. Lo contrario se observa con el factor B: Tiempo de contacto y la interacción BC, los cuales presentaron efectos positivos, a medida que incrementa el tiempo de contacto de rizobacterias con el agua residual el porcentaje de reducción incrementa. La interacción BC mostró que a mayor temperatura se necesita mayor tiempo de contacto para alcanzar un buen porcentaje de reducción.

El factor A: Dosis de inoculación tanto como la interacción AC muestran efectos negativos en la variable respuesta y no presentaron significancia. En cuanto a la interacción AB y ABC a pesar de mostrar efectos positivos en la reducción no fueron significativos.

- Análisis de la Gráfica de Efectos Principales

Figura 37

Gráfica de efectos principales para reducción de DQO por acción de rizobacterias de TD.



La figura 37 presenta la gráfica de efectos principales en el que se evidencian los cambios que se produce sobre la variable respuesta (reducción de DQO) cuando los factores evaluados dosis de inoculación, tiempo de contacto y temperatura se mueven desde su nivel bajo a su nivel alto. Asimismo, se observa que, los puntos centrales se encuentran próximos a las líneas trazadas indicando que la curvatura no es significativa; por lo tanto, el modelo que se ajusta a nuestra experimentación es lineal y se demuestra nuevamente que el diseño escogido es el adecuado.

Del análisis podemos manifestar que el factor que más incidió positivamente en la variable respuesta es B: Tiempo de contacto. Respecto al factor A: Dosis de inoculación se observa que el porcentaje de reducción fue decayendo a medida que se incrementa la dosis; lo mismo se observa en el factor C: Temperatura una

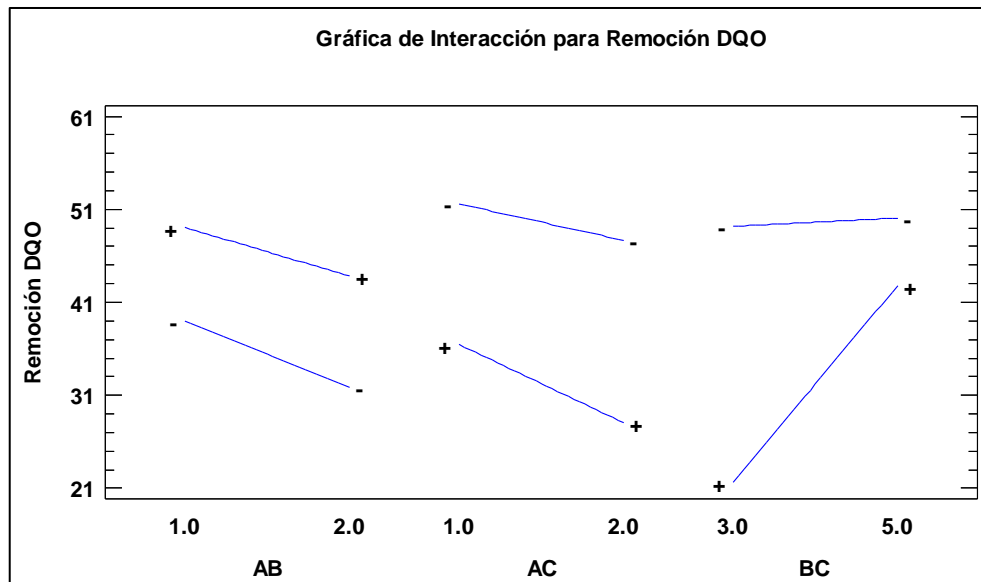


pendiente negativa muy pronunciada que indica que a mayor temperatura menor será la reducción de DQO.

- Análisis de la Gráfica de Interacción

Figura 38

Gráfica de interacción para reducción de DQO por acción de rizobacterias de TD.



La figura 38 muestra el gráfico de interacción entre dos factores a la vez en el porcentaje de reducción de DQO del agua residual urbana. Se tiene en el gráfico tres interacciones: AB (dosis de inoculación y tiempo de contacto), AC (dosis y temperatura) y BC (tiempo de contacto con Temperatura). Para el análisis se debe tomar en cuenta que, cuando las líneas presentes son paralelas o sus pendientes presentan un ligero grado de inclinación, se manifiesta que la interacción entre los dos factores no es significativa en la variable respuesta.

La primera interacción AB no muestra significancia, revelando así que, los factores dosis de inoculación y tiempo de contacto no dependen entre sí para alcanzar buenos niveles de reducción de DQO. El factor B por sí solo puede variar apreciablemente los porcentajes de reducción del parámetro sin la influencia de la dosis de inoculación.

La segunda interacción muestra cierto grado de significancia. La interacción entre el nivel alto del factor temperatura (30°C) y el nivel alto de dosis (2%v/v), provoca una disminución notable en los niveles de reducción del parámetro de DQO.



La tercera interacción es sustancial en la reducción del parámetro. El nivel alto del factor temperatura (30°C) y su interacción con el nivel alto del tiempo de contacto (5 días) varía considerablemente y de forma positiva los porcentajes de reducción de la demanda química de oxígeno del agua residual urbana. Estableciéndose así que, a mayor temperatura se requerirá un mayor tiempo de contacto para que obtener importantes niveles de reducción de materia orgánica.

### b) Rizobacterias extraídas de *Scirpus californicus*

- Análisis de Varianza ANOVA

**Tabla 18**

*Análisis de Varianza para reducción de DQO por acción de rizobacterias de SC.*

<b>Análisis de Varianza para Remoción DQO</b>					
<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:Dosis de Inoculación	41.5416	1	41.5416	2.59	0.2059
B:Tiempo de contacto	169.004	1	169.004	10.54	0.0476
C:Temperatura	545.656	1	545.656	34.02	0.0100
AB	0.0820125	1	0.0820125	0.01	0.9475
AC	33.661	1	33.661	2.10	0.2433
BC	168.82	1	168.82	10.52	0.0477
ABC	1.93061	1	1.93061	0.12	0.7516
Error total	48.1199	3	16.04		
Total (corr.)	1008.82	10			

R-cuadrada = 95.2301 por ciento

La tabla 18 del Análisis de Varianza (ANOVA) muestra 3 factores con valores-P menores a 0.05 resaltados de color rojo, los cuales representan significancia en el tratamiento; asimismo, se evidencia el valor de R-cuadrada 95.2301%, valor mayor al 70% que indica que, el modelo estadístico utilizado se ajusta perfectamente a los resultados de la investigación.

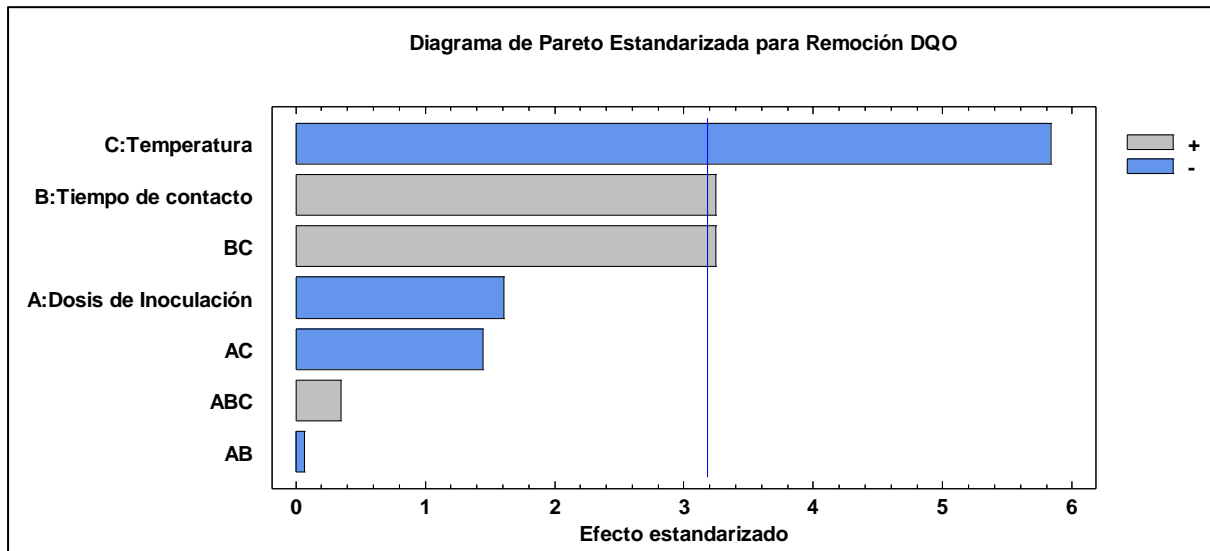
En la tabla observamos a los factores con mayor impacto en el porcentaje de reducción de DQO los cuales fueron B: Tiempo de contacto, C: Temperatura y la interacción BC: Tiempo contacto con temperatura, ya que sus valores-p (sig.) son menores a 0.05; por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula: NO hay diferencia significativa de los datos de DQO antes y después del tratamiento, y se acepta la alterna: SI hay diferencia significativa de los datos de DQO antes y después del tratamiento. Que nos indica que los factores B, C y su interacción tuvieron efectos significativos sobre la DQO del agua residual.

Por otro lado, los de menor impacto fueron A: Dosis de inoculación y las interacciones AB (dosis y tiempo de contacto), AC (dosis y temperatura) y ABC (combinación de los tres factores).

- Análisis Diagrama de Pareto

**Figura 39**

*Diagrama de Pareto para reducción de DQO por acción de rizobacterias de SC.*



La figura 39 presenta al diagrama de Pareto de los factores evaluados: Dosis, tiempo de contacto y temperatura y interacciones ordenados de mayor a menor impacto que mostraron sobre la variable respuesta. Se observa una línea de referencia trazada para determinar qué efectos son estadísticamente significativos. El color gris representa un impacto positivo, a diferencia del azul que representa un impacto negativo.

De la figura podemos interpretar que la temperatura tuvo un efecto negativo en la respuesta, si esta aumenta, la reducción de DQO disminuye.

Lo contrario se observa con el factor B: Tiempo de contacto y la interacción BC, los cuales presentaron efectos positivos, a medida que incrementa el tiempo de contacto de rizobacterias con el agua residual también aumenta el porcentaje de reducción. La interacción BC mostró que a mayor temperatura se necesitará mayor tiempo de contacto para alcanzar niveles considerables de reducción de DQO.

Aunque la interacción entre los tres factores tenga efectos positivos sobre la respuesta, no logran tener significancia; referente al factor A: Dosis de inoculación,

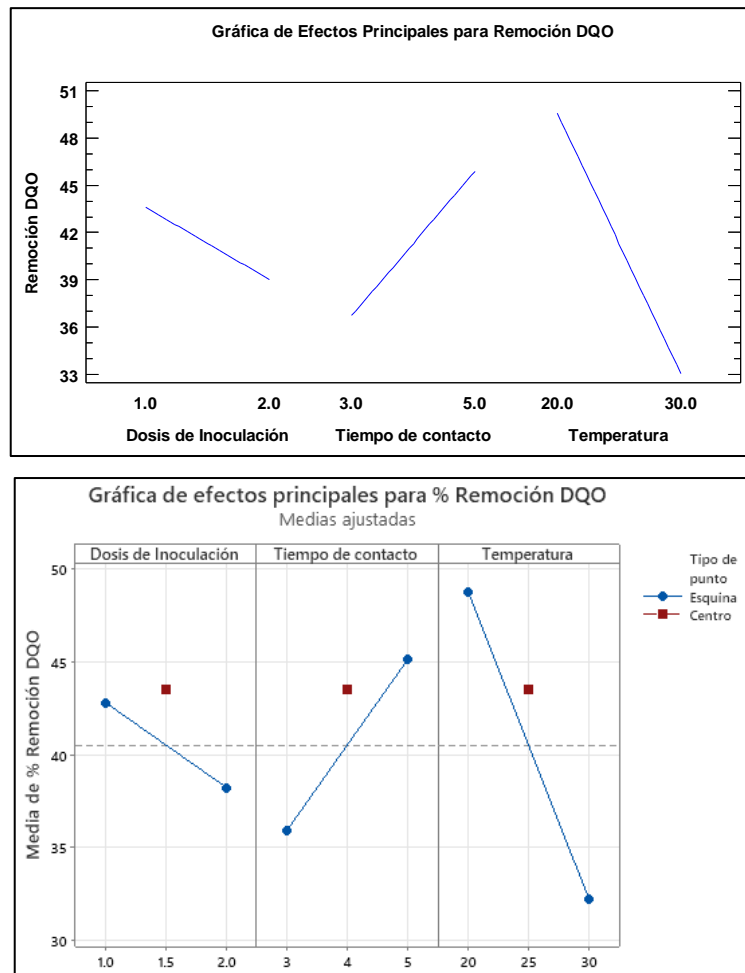


interacción AC y AB, estos tuvieron efectos negativos no significativos en la reducción de DQO.

– Análisis Gráfica de Efectos Principales

Figura 40

Gráfica de efectos principales para reducción de DQO por acción de rizobacterias de SC.



En la figura 40 se muestra la gráfica de efectos principales, en el cual se da a conocer que el factor más influyente de manera positiva en la variable respuesta fue B: Tiempo de contacto al presentar una pendiente positiva, corroborando así que, a mayor tiempo de contacto de rizobacterias con el agua residual los niveles de reducción de DQO incrementarán.

En cuanto al factor A muestra una pendiente negativa no tan pronunciada que si bien es cierto indica que, a medida que incrementa la dosis de inoculación de



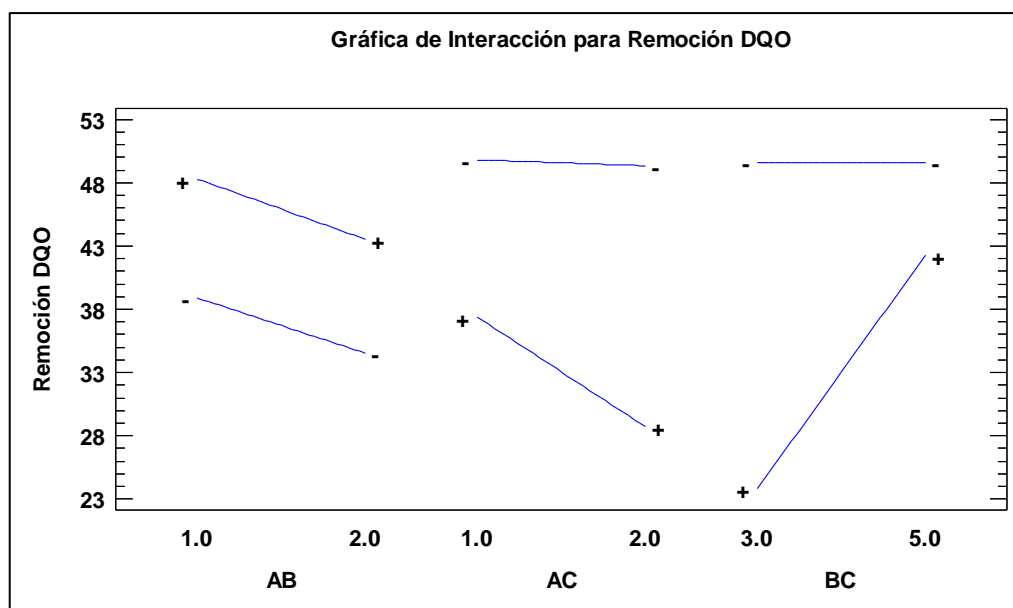
bacterias disminuirá el nivel de reducción del parámetro, esta disminución no será tan representativa.

Respecto a C: Temperatura, este presenta una pendiente negativa muy pronunciada posicionando nuevamente a este factor como aquel que posee mayores efectos significativos negativos sobre la variable de respuesta. A medida que incrementa la temperatura, el porcentaje de reducción de DQO fue decayendo.

- Análisis Gráfica de Interacción

Figura 41

Gráfica de interacción de reducción de DQO por acción de rizobacterias de SC.



La figura 41 presenta la gráfica de interacción de los factores evaluados, y el efecto producido en el porcentaje de reducción de DQO.

La primera interacción entre dosis de inoculación y tiempo de contacto (AB) no mostró significancia en la reducción de la Demanda Química de oxígeno del agua residual. En cuanto a la segunda, dosis con temperatura (AC), los niveles de reducción de DQO fueron menores cuando interactúan los niveles altos de ambos factores. Respecto a la tercera, tiempo con temperatura (BC), se evidenció que la temperatura depende del tiempo de contacto para remover de forma eficiente la materia orgánica del agua residual.





## REDUCCIÓN DE LOS NIVELES DE DBO

Se muestra a continuación los porcentajes de reducción de DBO de las aguas residuales, con rizobacterias a una temperatura de 30°C, 5 días de contacto y dosis de 1 y 2 (%v/v).

**Tabla 19**

*Porcentajes de reducción de DBO por acción de rizobacterias.*

	Dosis de Inoculación	Tiempo de contacto	Temperatura	% Reducción
Rizobacterias de TD	1%v/v	5 días	30°C	70.8
	2%v/v	5 días	30°C	69.9
Rizobacterias de SC	1%v/v	5 días	30°C	70.5
	2%v/v	5 días	30°C	69.9

Las rizobacterias de SC y TD alcanzaron una reducción mínima de 69.9% para ambos casos y un valor de reducción máximo del 70.5% y 70.8 % respectivamente. Estos últimos se lograron con la dosis de 1%v/v y un tiempo de contacto de 5 días. En ambos casos se mostró una reducción significativa por acción de las rizobacterias de *Typha dominguensis* y *Scirpus californicus*.

### 4.2 Resultado respecto al objetivo general

Después de analizar los resultados, se evidencia la eficiencia de las rizobacterias de *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis* en la reducción de DQO.

Las rizobacterias de TD lograron disminuir la concentración de materia orgánica alcanzando un máximo de reducción del 51.24%; en cuanto a las rizobacterias de SC estas alcanzaron el 49.58%. Estos porcentajes superan en casi 20% el rendimiento de depuración de los tratamientos primarios de fosas sépticas y poco más del 10% para tanques Imhoff,

**Tabla 20**

*Porcentajes de reducción de DQO en fosas sépticas y tanques Imhoff*

Tratamiento Primario	% Reducción DQO
Fosas Séptica	20 - 30
Tanques Imhoff	30 - 40

(Martín Garcia, y otros, 2006)



Los tratamientos de tanques Imhoff y Fosas sépticas al ser consideradas tecnologías de depuración para pequeños núcleos de población, tienen un límite de aplicación de 300 a 500 habitantes; por lo cual, solo tratan aguas residuales de origen doméstico, a pesar de ello el rendimiento en remoción de carga orgánica es bajo. Y en la presente investigación el agua residual utilizada fue de origen urbano con efluentes domésticos e industriales logrando reducir eficientemente y en mayores porcentajes la DQO del agua residual en corto tiempo. Ante ello podemos manifestar que el tratamiento de depuración con rizobacterias supera la eficiencia de dichos tratamientos en la remoción de materia orgánica del agua residual.



## CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

### 5.1 Descripción de los hallazgos más relevantes y significativos

Finalizado el periodo de experimentación con los datos ya sistematizados, se identificó más del 50% de reducción de DQO en el primer tratamiento a los 3 días de inoculadas las rizobacterias aumentando este valor al quinto día; demostrando así que, estos microorganismos son capaces de reducir concentraciones de materia orgánica presentes en el agua residual en un periodo relativamente corto.

De la misma manera, las rizobacterias mostraron mayores porcentajes de reducción del parámetro a condiciones de 20°C comparando con las otras temperaturas a las que fueron sometidas, se evidencia que, no se requieren altas temperaturas de trabajo para comprobar su eficiencia.

### 5.2 Limitaciones del estudio

- En el procedimiento experimental al momento de inocular las rizobacterias al agua residual estas debían filtrarse y pesarse en una balanza analítica de precisión en gramos según las respectivas dosis. Sin embargo, en el filtro no había indicios de retención de biomasa bacteriana imposibilitando su pesaje, además que la potencia de la bomba era excesiva lo que succionaba el filtro. Es por ello, que se tomó la decisión de mantener las bacterias en el caldo nutritivo por más tiempo para que incremente el crecimiento de la población bacteriana e inocularlas directamente con la pipeta automática sin la necesidad de realizar el filtrado.
- Limitación al momento de considerar al parámetro de DBO como segunda variable de respuesta, debido a que debe separarse por centrífuga el agua residual de la biomasa bacteriana para medir los parámetros de DBO y DQO, caso contrario se podrían alterar los resultados debido a que la presencia de biomasa bacteriana aumenta los niveles de materia orgánica. Sin embargo, el método de medición OxiTop es un sistema cerrado que mide la DBO durante 5 días, del cual no se puede extraer el contenido de agua residual con rizobacterias para centrifugar la muestra y volverla a introducir ya que, aparte de interrumpirse la medición del quinto día varía el volumen que se reingresaría alterando significativamente los resultados.



### 5.3 Comparación crítica con la literatura existente

A. Los resultados obtenidos en el presente estudio se diferencian frente a los obtenidos por Salgado en su investigación “Bacterias rizosféricas con potencialidades fisiológicas para eliminar materia orgánica de aguas residuales”, donde utilizó bacterias rizosféricas de *T. dominguensis* para la remoción de materia orgánica. Sus resultados mostraron niveles por encima del 50% de remoción de DQO del agua residual sintética usando una dosis de 1%v/v y a una temperatura de 30°C.

Estos resultados se diferencian de los nuestros ya que, los niveles más altos alcanzados en nuestra investigación fueron de 51.24% de reducción de DQO utilizando rizobacterias de *T. dominguensis* con una dosis de 1%v/v a los 5 días y una temperatura de 20°C y 49.58% usando rizobacterias de *S. californicus* a una dosis de 1%v/v a los 5 días y temperatura de 20°C. Los resultados de nuestra investigación al igual que del investigador sobresalen ya que el agua residual utilizada en el estudio de Salgado fue sintética propicia para sus microorganismos; mientras que la nuestra es agua residual de tipo urbana en la que se encuentran efluentes domésticos e industriales; a pesar de ello, las bacterias lograron tolerar el medio y adaptarse para reducir los niveles de DQO presente.

B. El estudio realizado por Robles “Influencia de la concentración de microorganismos eficaces y el tiempo de retención hidráulico en la remoción de materia orgánica del agua residual del Distrito de Sapallanga” demuestra que a los 3 días del enfrentamiento de sus microorganismos con el agua residual de la planta de tratamiento logró una remoción no mayor al 45%, y al quinto día con la dosis más alta llegó al 60% de remoción.

En comparación con nuestra investigación donde a los 3 días la reducción del parámetro DQO por parte de las rizobacterias llegó a un 50.05% y al quinto día poco menos del 52% resultante de la menor dosis, independientemente de la especie y temperatura empleada. Los resultados de la investigadora con mejor remoción se debieron a la dosis alta, mientras que, en nuestra investigación la dosis más baja fue más efectiva en reducir las concentraciones del parámetro del agua residual.



C. Respecto a la investigación de Canales y Sevilla (2016) “Evaluación del uso de microorganismos eficaces en el tratamiento de efluentes domésticos residuales del distrito de Pátapo”; demostró que su tratamiento de aguas residuales utilizando ME alcanzó una eficiencia de remoción del 33.3% a los 15 días, 50% a los 30 días y 68.10% a los 45 días después de aplicado. Evidenciando así que, su tratamiento requiere un periodo largo para probar su eficiencia. En contraste con la presente investigación que prueba la eficiencia en la reducción del parámetro de DQO en un periodo corto (5 días), logrando una reducción del 51.24% (dosis 1% v/v) y 47.03% (dosis 2% v/v) de TD y en SC del 49.58% (dosis 1% v/v) y 47.94% (dosis 2% v/v).



## CONCLUSIONES

1. Se determinó la eficiencia significativa de rizobacterias aisladas de *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis* en la reducción de DQO de agua residuales urbanas bajo condiciones de laboratorio, donde los niveles de reducción más altos obtenidos por parte de las rizobacterias de TD y SC fueron de 51.24% y 49.58% respectivamente con una dosis de 1%v/v a los 5 días a una temperatura de 20°C.
2. El aislamiento exitoso de las bacterias rizosféricas de ambas especies de totora permitió su caracterización por morfología y coloración de Gram; identificando en rizobacterias de TD bacilos gram negativos, bacilos fusiformes gram positivos y negativos, así como también cocos y diplococos gram positivos. Por parte de las rizobacterias de SC se identificaron bacilos, bacilos en cadena, bacilos curvos y cocobacilos gram positivos y gram negativos.
3. Los resultados de la DQO final, después de los tratamientos permitió determinar los porcentajes de reducción que van desde 15.49% valor mínimo alcanzado hasta 51.24% valor máximo de reducción, pertenecientes a rizobacterias extraídas de TD. Con respecto a rizobacterias extraídas de SC los porcentajes de reducción varían desde 18.33% hasta 49.58%.
4. La dosis adecuada de inoculación de rizobacterias aisladas de ambas especies de totora *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis* para la reducción de DQO de aguas residuales a condiciones de laboratorio fue de 1% v/v.
5. El tiempo adecuado de contacto de rizobacterias aisladas de ambas especies de totora *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis* para la reducción de DQO del agua residual a condiciones de laboratorio, fue 5 días de contacto.
6. La temperatura adecuada de incubación de las rizobacterias aisladas de ambas especies de totora *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis* en la reducción de DQO del agua residual a condiciones de laboratorio fue de 20°C.



## RECOMENDACIONES

Se recomienda a la PTAR SEDACUSCO y futuros investigadores, realizar experimentaciones a mayor escala para probar la eficiencia de rizobacterias en la reducción de los parámetros DBO y DQO a condiciones reales de operación dentro de un sistema de tratamiento de aguas residuales urbanas.

Recomendamos también realizar un estudio sobre la interacción de rizobacterias de ambas especies para observar su comportamiento frente a la reducción del parámetro o parámetros según sea necesario.

Asimismo, evaluar ambas especies de rizobacterias a temperaturas bajas para verificar su eficacia en la remoción de materia orgánica. De igual forma someterlas a un mayor tiempo de contacto en el agua residual, controlando la adaptación al medio y monitoreando su respuesta.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahemad, M., & Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University - Science*, 26, 1-20.
- Ardila, A., Reyes, J., Arriola, E., & Hernández, J. (2012). Remoción Fotocatalítica de DQO, DBO5 y COT de Efluentes de la Industria Farmacéutica. *Revista Politécnica*, 8(15), 9-17.
- Atoche, H., & Cruz, J. (2018). *Influencia del PH y la concentración de haloferax sp en la DQO y DBO5 del efluente residual de la empresa Exalmar S. A. C. Lima*. Obtenido de <http://revistas.ucv.edu.pe/index.php/INNOVACION/article/view/1731/1416>
- Ayma, K. (2018). Tipos de Tratamiento de Aguas residuales. *Determinación de los coeficientes de variación diaria y horaria de la Planta de Tratamiento de Aguas residuales de la ciudad del Cusco ubicado en el distrito de San Jerónimo y su relación con la calidad de agua de ingreso y salida*. Universidad Andina del Cusco, Cusco.
- Bala, J., Lalung, J., & Ismail, N. (2014). Estudios sobre la reducción de la carga orgánica del efluente de la almazara de aceite de palma (POME) por cepas bacterianas. *Int J Recycl Org Waste Agricult*, IV, 1-10. Obtenido de <https://link.springer.com/article/10.1007/s40093-014-0079-6>
- Bernabe Valerio, Y. Y. (2020). Capacidad de absorción de plomo en la totora (*Scirpus californicus*), en crecimiento en las aguas en la zona del Delta Upamayo-Lago Chinchaycocha. *Tesis de Grado*. Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, Cerro de Pasco.
- Bhatia, M., & Goyal, D. (2014). Analyzing Remediation Potential of Wastewater Through Wetland Plants: A Review. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 33(01), 11-27. doi:10.1002/ep
- Calvo, J., & Polo, Z. (2017). Evaluación de la contaminación del río Huatanay - provincia de Cusco y Quispicanchi. *Tesis de Grado*. UNSAAC, Cusco.
- Canales, H., & Sevilla, A. (2016). Evaluación del Uso de Microorganismos Eficaces en el Tratamiento de Efluentes Domésticos Residuales del Distrito de Pátapo. *Tesis de Grado*. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú. Obtenido de <https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/1092>
- Cartagena David, M. I. (2019). Biorremediación en aguas residuales contaminadas con cianuro y mercurio generadas en el proceso de la minería aurífera en Colombia, a partir de una revisión bibliográfica entre los años 2008 -2018. *Titulo para grado*. Universidad de Antioquia, Medellín.





- Cecilio Cabrera, Y. (2016). Remoción de materia orgánica, influenciada por la macrófita *Scirpus californicus*, en humedales artificiales subsuperficiales. *Tesis de Grado*. Universidad Nacional de Ingeniería, Lima.
- Cuadrado, W., Custodio, M., Espinoza, C., Vicuña, C., & Uribe, M. (2019). Capacity of Absorption and Removal of Heavy Metals from *Scirpus californicus* and Its Potential Use in the Remediation of Polluted Aquatic Environment. *Open Journal of Marine Science*, 9, 74-85.
- Damián Zúñiga, A., & Juárez Arellano, J. (2021). Potencial biotecnológico de bacterias rizosféricas. *Jovenes en la Ciencia*, 12. Obtenido de <https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/3273/2775>
- DAR. (2017). *Calidad del agua en el Perú. Retos y aportes para una gestión sostenible en aguas residuales*. Lima.
- Delgadillo, O., Camacho, A., Pérez, L., & Andrade, M. (2010). *Depuración de aguas residuales por medio de humedales artificiales*. Cochabamba.
- Dhir, B. (2013). *Phytoremediation: Role of Aquatic Plants in Environmental Clean-Up*.
- Di Luca, G., Maine, M., Hadad, H., & Bonetto, C. (2015). Influence of *Typha domingensis* in the removal of high P concentrations. *Chemosphere*, 405-411.
- Díaz, T. C., & Collantes, L. (2018). *Determinación de la efectividad del uso de microorganismos de montaña para el tratamiento de las aguas residuales in vitro en el caserío de Chontamuyo - San Martín 2018*. Tarapoto. Obtenido de [https://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/UPEU/1944/Tito\\_Tesis\\_Licenciatura\\_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/UPEU/1944/Tito_Tesis_Licenciatura_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Domènech, X., & Peral, J. (2012). *Química ambiental de sistemas terrestres*. Barcelona: Editorial Reverté.
- Fernández-Aguilar, L., & Enrique Padilla, S. (2013). Capacidad acumuladora de cadmio en raíces de *Scirpus californicus* expuestas a diferentes concentraciones de nitrato de cadmio en condiciones de laboratorio. *Rebiolest*, 1(2).
- Gallego Maldonado, D. B. (2015). Caracterización de las Macrófitas del Humedal Meandro del Say Como Insumo de las Herramientas de Conservación. *Tesis de grado*. Universidad Santo Tomas, Bogota.
- Giorgi, A. (2013). *Historias de protistas*. Buenos Aires: Editorial Dunken .
- Gonzalez Rojas, E. H. (2011). Concepto y estrategias de biorremediación. *Ingeniería Universidad Antonio Nariño*, 1(2), 20-29.
- Hernández, A., Hernández, A., & Galán, P. (2004). *Manual de depuración Uralita. Sistemas para depuración de aguas residuales en núcleos de hasta 20.000 habitantes*. Madrid: Paraninfo.
- Hernández, R. (2014). *Metodología de Investigación* . México: Mc Graw Hill Education.



- Huertas, R., & Marcos, C. (2012). *Guía práctica para la depuración de agua residuales en pequeñas poblaciones*. Valladolid: Confederación Hidrográfica del Duero (CHD).
- Jiménez Reascos, E. G., & Ramos Collaguazo, B. A. (2019). Evaluación de la eficiencia fitorremediadora de *Lupinus pubescens*, *Plantago major* y *Scirpus californicus* en suelos contaminados con arsénico. *Tesis de Grado*. Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito, Quito.
- Kristanti, R., Kanbe, M., Toyama, T., Tanaka, Y., Tang, Y., Wu, X., & Mori, K. (2012). Accelerated biodegradation of nitrophenols in the rhizosphere of *Spirodela polyrhiza*. *Journal of Environmental Sciences*, XXIV(5), 800-807.
- Lim, T. (2016). *Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants. Modified Stems, Roots, Bulbs* (Vol. XII).
- López del Pino, S., & Calderón, S. (2015). *Depuración de aguas residuales*. Editorial Elearning S.L.
- López Vásquez, C., Buitrón, G., García, H., & Cervantes, F. (2017). *Tratamiento biológico de aguas residuales: principios, modelación y diseño*.
- López, T., Duré, G., Doldán, M., Galeano, E., & Marín, D. (2019). Desempeño de humedales construidos a escala piloto para el tratamiento de agua residual urbana utilizando *Cyperus giganteus* Vahl y *Typha domingensis* Pers. *Steviana*, XI(1), 3-14.
- Lozano-Rivas, W. (2012). *Curso "Fundamentos de diseño de plantas depuradoras de aguas residuales"*. Bogotá D.C.
- Luvi, U. (2014). *Evaluación de los índices microbiológicos y fisicoquímicos en aguas residuales de la ciudad de Puno – tratadas con microorganismos nativos*. Puno. Obtenido de [http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/2821/Luvi\\_Checani\\_Uriel.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/2821/Luvi_Checani_Uriel.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Martín García, I., Betancort Rodríguez, J. R., Salas Rodríguez, J. J., Peñate Suárez, B., Pidre Bocado, J. R., & Sardón Martín, N. (2006). *Guía Sobre Tratamientos de Aguas Residuales Urbanas para Pequeños Núcleos de Población* (Primera ed.). España: ITC.
- McNear Jr., D. H. (2013). The Rhizosphere - Roots, Soil and Everything In Between. *Nature Education Knowledge*, 4(3), 1-15.
- Metcalf, & Eddy. (1995). *Ingeniería de aguas residuales. Tratamiento y reutilización*. Madrid: McGraw-Hill. Obtenido de [https://www.academia.edu/35963101/Ingenier%C3%ADa\\_de\\_aguas\\_residuales\\_Volumen\\_1\\_3ra\\_Edici%C3%B3n\\_METCALF\\_and\\_EDDY\\_FREELIBROS\\_ORG\\_pdf](https://www.academia.edu/35963101/Ingenier%C3%ADa_de_aguas_residuales_Volumen_1_3ra_Edici%C3%B3n_METCALF_and_EDDY_FREELIBROS_ORG_pdf)



- Ministerio de Agricultura, A. y. (2012). *GUÍA PRÁCTICA para la depuración de aguas residuales en pequeñas poblaciones*. Valladolid: Confederación Hidrográfica del Duero .
- Ministerio del Ambiente. (2009). *Tratamiento y Reuso de Aguas Residuales*. Lima: Deposito Legal Biblioteca Nacional del Perú.
- Mojiri, A., Abdul, H., Ali, M., Qarani, S., & Razip, M. (2013). Phytoremediation of Heavy Metals from Urban Waste Leachate by Southern Cattail (*Typha domingensis*). *International Journal of Scientific Research in Environmental Sciences (IJSRES)*, 1(4), 63-70.
- Molina-Romero, D., Bustillos-Cristales, M., Rodriguez-Andrade, O., Morales-Garcia, Y., Santiago-Saenz, Y., Castañeda-Lucio, M., & Muñoz-Rojas, J. (2015). Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico. *Biologicas*, 17(02), 24-34.
- Organismo de Evaluacion y Fiscalizacion Ambiental. (2014). *Fiscalizacion Ambiental en Aguas Residuales*. Lima: Deposito Legal Biblioteca Nacional del Peru .
- Paternina, H., Pérez, C., & Vitola, R. (2017). Presencia de bacterias rizosféricas resistentes a mercurio en suelos del sur de Bolívar, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, IX(2), 301-310.
- Pedraza, R., Teixeira, K., Fernández, A., García de Salamone, I., Baca, B., Azcón, R., . . . Bonilla, R. (2010). Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. Revisión. *Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, XI(2), 155-164.
- Pompêo, M. (2008). Monitoramento e Manejo de Macrófitas Aquáticas. *Oecologia Brasiliensis*, 12(3), 406-424.
- Raffo Lecca, E., & Ruiz Lizama, E. (2014). Caracterización de las aguas residuales y la demanda bioquímica de oxígeno. *Industrial Data*, 17(1), 71-80. doi:<https://doi.org/10.15381/idata.v17i1.12035>
- Ramalho, R. (1996). *Tratamiento de aguas residuales*. Editorial Reverté S.A.
- Ríos, G. A. (2016). *Aplicación de microorganismos eficaces para disminuir DBO, DQO y Sólidos Totales en las aguas residuales de la Empresa Grupo Pecuario S.A.C.* Lima.
- Robles, F. (2019). Influencia de la concentración de microorganismos eficaces y el tiempo de retención hidráulico en la remoción de materia orgánica del agua residual del Distrito de Sapallanga. *Tesis de Grado*. Universidad Nacional del Centro del Perú, Huancayo, Peru. Obtenido de <https://repositorio.uncp.edu.pe/handle/20.500.12894/5978?show=full>
- Roldán, G., & Ramírez, J. J. (2008). *Fundamentos de limnología neotropical*. Medellín: Editorial Universidad de Antioquía.
- Romero, T. d., & Vargas, D. (2017). Uso de microorganismos eficientes para tratar aguas contaminadas. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental*, 88-100. Obtenido de



[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1680-03382017000300008](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1680-03382017000300008)

- Salgado, I., Durán, C., Cruz, M., Carballo, M., & Martínez, A. (2012). Bacterias rizosféricas con potencialidades fisiológicas para eliminar materia orgánica de aguas residuales. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, XXVIII(1), 17-26.
- Salgado, I., Pérez, J., Carballo, M., Martínez, A., & Cruz, M. (2015). Aplicación de rizobacterias en la biorremediación del cromo hexavalente presente en aguas residuales. *Revista Cubana de Ciencias Biológicas*, 4(2), 20-34.
- Secretaria de la Convención de RAMSAR. (2006). *Manual de la Convención de RAMSAR* (Cuarta ed.). Gland.
- SEDACUSCO. (2021). *Memoria Anual 2020*.
- Serra Valente, J. P., Magalhães Padilha, P., & Marques Silva, A. M. (1997). Oxigênio dissuélido (OD), demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e demanda química de oxigênio (DQO) como parâmetros de poluição no ribeirão Lavapés/Botucatu - SP. *Eclética Química*.
- SUNASS. (2019). *Estudio tarifario SedaCusco S.A. 2019-2024*. Cusco.
- Teles, M., Rodrigues, R., Silva, V., & Araújo, É. (2013). Phytoremediation of water contaminated with mercury using *Typha domingensis* in constructed wetland. *Chemosphere*, 228-233.
- Trapote, A. (2011). *Depuración de aguas residuales urbanas*.
- Trapote, A. (2013). *Infraestructuras Hidráulico-Sanitarias II. Saneamiento y drenaje urbano*. Universidad de Alicante .
- Vásquez, A. (2016). *Determinación del efecto de los microorganismos eficientes para la remoción del valor de la DBO en las aguas residuales domésticas de la localidad de Japelacio* . Moyobamba. Obtenido de [http://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/handle/11458/2377/TP\\_ISA\\_00011\\_2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/handle/11458/2377/TP_ISA_00011_2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Vera, A., Andrade, C., Flores, E., Nuñez, M., Cárdenas, C., & Morales, E. (2010). Removal of nutrients and organic matter in a constructed wetland, in function of the development of the macrophyte *Typha domingensis* Pers. *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia*, XXIII(2), 153-163.
- Vidaurre, R. (2019). *Aplicación de microorganismos eficaces para reducir la concentración de materia orgánica en aguas residuales industriales de la Empresa Avícola Selva S.A, provincia de San Martín - 2019*. Tarapoto. Obtenido de [https://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/UPEU/2374/Roland\\_Trabajo\\_Bachillerato\\_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/UPEU/2374/Roland_Trabajo_Bachillerato_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Villaseñor, J. (1998). Eliminación biológica de fósforo en aguas residuales urbanas. *Tesis Doctoral*. Universidad de Castilla-La Mancha, Ciudad Real.



- Vymazal, J., Brix, H., Cooper, P., Haberl, R., Perfler, R., & Laber, J. (1998). Removal mechanisms and types of constructed wetlands. *Backhyus Publishers*, 17-66.
- Wang, J., Liu, X., & Lu, J. (2012). Urban River Pollution Control and Remediation. *SciVerse ScienceDirect*, 1856-1862.
- WWAP. (2017). *Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos 2017. Aguas residuales: El recurso desaprovechado*. París: UNESCO.

## A. INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Figura 42

Ficha de registro de datos N°1 - Extracción de las raíces con suelo rizosférico

<b>UNIVERSIDAD ANDINA DEL CUSCO</b> <b>FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA</b> <b>ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL</b>																	
<b>FICHA DE REGISTRO DE DATOS</b> <b>EXTRACCIÓN DE LAS RAÍCES CON SUELO RIZOSFÉRICO DE LAS ESPECIES <i>Scirpus californicus</i> y <i>Typha dominguenis</i>.</b>																	
NOMBRE DE LA TESIS	EFICIENCIA DE RIZOBACTERIAS AISLADAS DE <i>Scirpus californicus</i> y <i>Typha dominguenis</i> EN LA REDUCCIÓN DE DQO DE AGUAS RESIDUALES BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO, CUSCO 2022																
TESISTAS	Bach. Granada Cruz Gabriela Olenka Bach. Masias Flores Sandra Maite																
ZONA DE ESTUDIO	Descripción: Zona con abundante vegetación, la cual esta sumergida en el humedal, eutrofizada por sectores.																
MÉTODO DE PRESERVACIÓN	Viales con agua peptona al 10%																
<b>PUNTOS DE EXTRACCIÓN</b>																	
<i>Typha dominguenis</i>	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 15%;">Individuo 1</td> <td style="width: 25%;">Coordenadas: 13° 37' 26" S 71° 43' 14" O</td> <td style="width: 40%; text-align: center;"> </td> <td rowspan="5" style="width: 20%; vertical-align: top;">           Observaciones: Agua con coloración verdosa, eutrofizada con fuertes olores y de difícil acceso         </td> </tr> <tr> <td>Individuo 2</td> <td>Coordenadas: 13° 37' 26" S 71° 43' 14" O</td> <td style="text-align: center;"> </td> </tr> <tr> <td>Individuo 3</td> <td>Coordenadas: 13° 37' 26" S 71° 43' 14" O</td> <td style="text-align: center;"> </td> </tr> <tr> <td>Individuo 4</td> <td>Coordenadas: 13° 37' 25" S 71° 44' 26" O</td> <td style="text-align: center;"> </td> </tr> <tr> <td>Individuo 5</td> <td>Coordenadas: 13° 37' 25" S 71° 44' 26" O</td> <td style="text-align: center;"> </td> </tr> </table>	Individuo 1	Coordenadas: 13° 37' 26" S 71° 43' 14" O		Observaciones: Agua con coloración verdosa, eutrofizada con fuertes olores y de difícil acceso	Individuo 2	Coordenadas: 13° 37' 26" S 71° 43' 14" O		Individuo 3	Coordenadas: 13° 37' 26" S 71° 43' 14" O		Individuo 4	Coordenadas: 13° 37' 25" S 71° 44' 26" O		Individuo 5	Coordenadas: 13° 37' 25" S 71° 44' 26" O	
	Individuo 1	Coordenadas: 13° 37' 26" S 71° 43' 14" O		Observaciones: Agua con coloración verdosa, eutrofizada con fuertes olores y de difícil acceso													
	Individuo 2	Coordenadas: 13° 37' 26" S 71° 43' 14" O															
	Individuo 3	Coordenadas: 13° 37' 26" S 71° 43' 14" O															
	Individuo 4	Coordenadas: 13° 37' 25" S 71° 44' 26" O															
Individuo 5	Coordenadas: 13° 37' 25" S 71° 44' 26" O																
<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 15%;">Individuo 4</td> <td style="width: 25%;">Coordenadas: 13° 37' 25" S 71° 44' 26" O</td> <td style="width: 40%; text-align: center;"> </td> <td rowspan="2" style="width: 20%; vertical-align: top;">           Observaciones: El suelo en las raíces se desprendio con facilidad, expedian olores fuertes, acceso relativamente bueno.         </td> </tr> <tr> <td>Individuo 5</td> <td>Coordenadas: 13° 37' 25" S 71° 44' 26" O</td> <td style="text-align: center;"> </td> </tr> </table>		Individuo 4	Coordenadas: 13° 37' 25" S 71° 44' 26" O		Observaciones: El suelo en las raíces se desprendio con facilidad, expedian olores fuertes, acceso relativamente bueno.	Individuo 5	Coordenadas: 13° 37' 25" S 71° 44' 26" O										
Individuo 4	Coordenadas: 13° 37' 25" S 71° 44' 26" O		Observaciones: El suelo en las raíces se desprendio con facilidad, expedian olores fuertes, acceso relativamente bueno.														
Individuo 5	Coordenadas: 13° 37' 25" S 71° 44' 26" O																





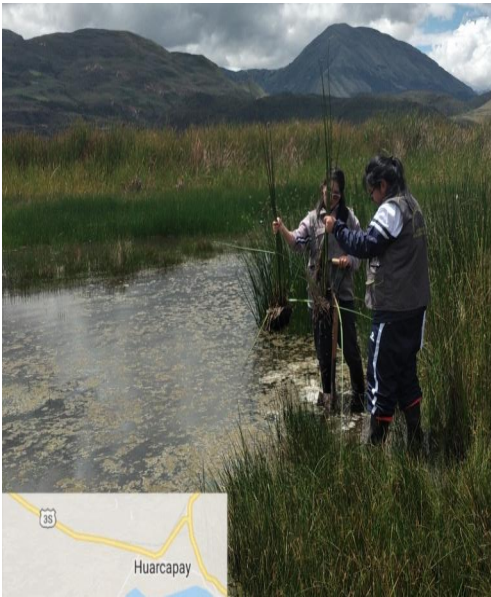


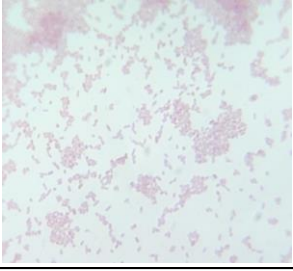
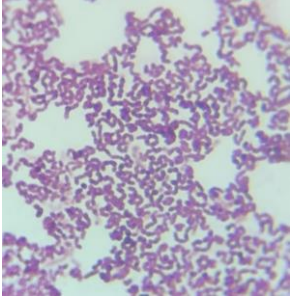
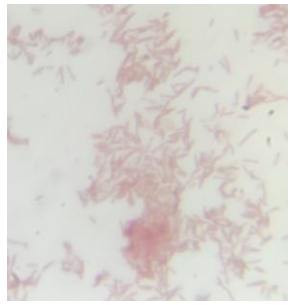
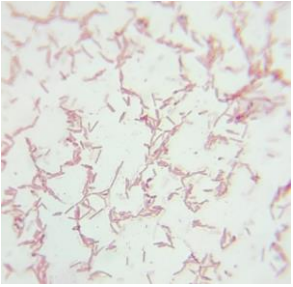
PUNTOS DE EXTRACCIÓN				
<i>Scirpus californicus</i>	Individuo 1	Coordenadas: 13° 36' 59" S 71° 43' 18" O		Observaciones: La masa de tierra adherida a las raíces co textura arcillosa desprendiendo un fuerte olor a desague
	Individuo 2	Coordenadas: 13° 36' 59" S 71° 43' 18" O		
	Individuo 3	Coordenadas: 13° 37' 22" S 71° 44' 26" O		Observaciones: Agua con coloracion no tan verdosa, con masas de vegetación flotante. Olor fuerte
	Individuo 4	Coordenadas: 13° 37' 22" S 71° 44' 26" O		
	Individuo 5	Coordenadas: 13° 37' 22" S 71° 44' 26" O		



Figura 43

Ficha de registro de datos N°2 – Identificación bacteriana de las rizobacterias aisladas

 <b>UNIVERSIDAD ANDINA DEL CUSCO</b> <b>FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA</b> <b>ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL</b> 							
<b>FICHA DE REGISTRO DE DATOS</b> <b>IDENTIFICACIÓN BACTERIANA DEL AISLAMIENTO DE BACTERIAS DE LA RIZOSFERA DE <i>Typha domingensis</i> y <i>Scirpus californicus</i></b>							
NOMBRE DE LA TESIS	EFICIENCIA DE RIZOBACTERIAS AISLADAS DE <i>Scirpus californicus</i> y <i>Typha domingensis</i> EN LA REDUCCIÓN DE DQO DE AGUAS RESIDUALES BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO, CUSCO 2022						
TESISTAS	<table border="1"> <tr> <td>Bach. Granada Cruz Gabriela Olenka</td> <td>Fecha de evaluación</td> <td>Hora</td> </tr> <tr> <td>Bach. Masias Flores Sandra Maite</td> <td>30/03/2022</td> <td>5:20 p.m.</td> </tr> </table>	Bach. Granada Cruz Gabriela Olenka	Fecha de evaluación	Hora	Bach. Masias Flores Sandra Maite	30/03/2022	5:20 p.m.
Bach. Granada Cruz Gabriela Olenka	Fecha de evaluación	Hora					
Bach. Masias Flores Sandra Maite	30/03/2022	5:20 p.m.					
MÉTODO							
Procedimientos	* Coloración Gram usando Cristal Violeta, Lugol y Safranina * Identificación por morfología						
Especie macrofita	Identificación de grupos de bacterias	Morfología microbiana	Coloración Gram	Imagen del microorganismo			
<i>Typha domingensis</i>	Actinomicetos	Bacilos	Gram Negativos				
	Actinomicetos	Diplobacilos	Gram Positivos				
	Actinomicetos	Bacilos fusiformes	Gram negativos y Gram positivos				
	Actinomicetos	Cocos, diplococos y bacilos fusiformes	Gram negativos y Gram positivos				





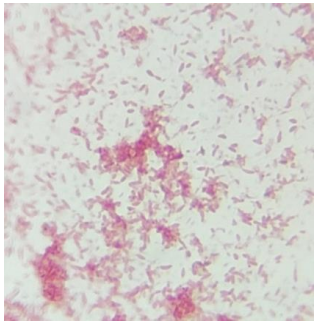
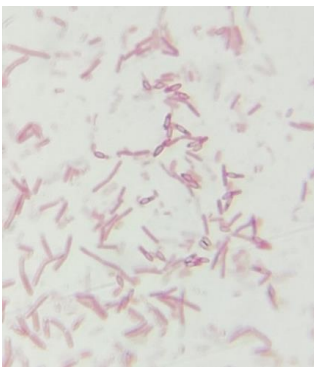
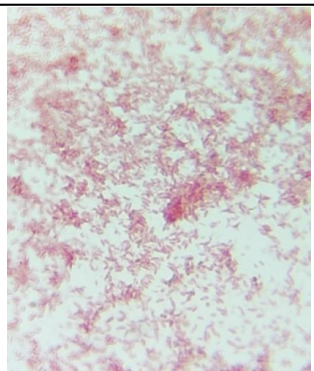
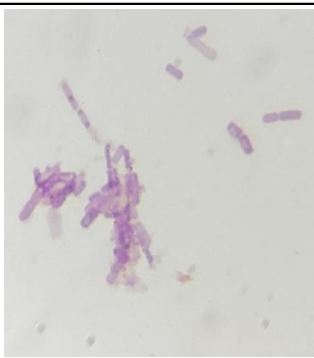
MÉTODO				
Procedimiento		* Coloración Gram usando Cristal Violeta, Lugol y Safranina * Identificación por morfología		
Especie macrofita	Identificación de grupos de bacterias	Morfología microbiana	Coloración Gram	Imagen del microorganismo
<i>Scirpus californicus</i>	Actinomicetos	Bacilos	Gram Negativos	
	Actinomicetos	Bacilos en cadena, bacilos curvos y coccobacilos	Gram Negativos	
	Actinomicetos	Bacilos	Gram Negativos	
	Actinomicetos	Bacilos simples	Gram positivos	



Figura 44

Ficha de registro de datos N°3 – Cuento de Unidades Formadoras de Colonia



 <b>UNIVERSIDAD ANDINA DEL CUSCO</b> <b>FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA</b> <b>ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL</b> 				
<b>REPORTE DE LABORATORIO</b> <b>CONTEO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIA (UFC)</b>				
NOMBRE DE LA TESIS		EFICIENCIA DE RIZOBACTERIAS AISLADAS DE <i>Scirpus californicus</i> y <i>Typha dominguensis</i> EN LA REDUCCIÓN DE DQO DE AGUAS RESIDUALES BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO, CUSCO 2022		
ALUMNAS		Bach. Granada Cruz Gabriela Olenka Bach. Masias Flores Sandra Maite		
<i>Scirpus californicus</i>				
PUNTOS	INDIVIDUOS	DILUCIONES	N° DE UFC	POTENCIAL
PUNTO 1	Individuo 1	(-1)	-	0
		(-2)	15	0,0015
		(-3)	-	0
		(-4)	40	0,004
	Individuo 2	(-1)	-	0
		(-2)	59	0,0059
		(-3)	-	0
		(-4)	31	0,0031
PUNTO 4	Individuo 1	(-1)	-	0
		(-2)	-	0
		(-3)	131	0,0131
		(-4)	76	0,0076
	Individuo 2	(-1)	19	0,0019
		(-2)	6	0,0006
		(-3)	15	0,0015
		(-4)	2	0,0002
	Individuo 3	(-1)	-	0
		(-2)	41	0,0041
		(-3)	19	0,0019
		(-4)	21	0,0021
<i>Typha dominguensis</i>				
PUNTOS	INDIVIDUOS	DILUCIONES	N° DE UFC	POTENCIAL
PUNTO 2	Individuo 1	(-1)	-	0
		(-2)	46	0,0046
		(-3)	31	0,0031
		(-4)	121	0,0121
	Individuo 2	(-1)	-	0
		(-2)	-	0
		(-3)	64	0,0064
		(-4)	5	0,0005
	Individuo 3	(-1)	109	0,0109
		(-2)	-	0
		(-3)	-	0
		(-4)	-	0
PUNTO 3	Individuo 1	(-1)	-	0
		(-2)	126	0,0126
		(-3)	-	0
		(-4)	-	0
	Individuo 2	(-1)	-	0
		(-2)	-	0
		(-3)	-	0
		(-4)	215	0,0215
OBSERVACIONES:	De algunas placas fue imposible el conteo de colonias ya que se encontraban muy saturadas y no se lograron reconocer colonias aisladas			



Figura 45

Cadena de custodia.



CADENA DE CUSTODIA

Código número de custodia: <b>CU 001</b>	Solicitante: <b>Sandra Maite Masias Flores</b>	DNI: <b>74964264</b>	Firma:
Institución: <b>Universidad Andina del Cusco</b>	Dirección: <b>Huanacayo S/N</b>	Distrito: <b>Santiago</b>	Provincia: <b>Cusco</b>
Teléfono:	FAX:	Responsable del muestreo: <b>Gabriela Olenka Granada Cruz</b>	Firma: <b>GA</b>
			Opto.: <b>CUSCO</b>
			Urgencia: <b>ALTA</b>

Código DILAB (1)	Código de campo	Fecha de muestreo	Hora de muestreo	Tipo de muestreo (2)	Nº. De envases por punto de muestreo			Preservación													Parámetros fisico-químicos (4)													Parámetros Biológicos (4)					Observaciones
					P (3)	V (3)	m (3)	HCL	H2SO4	HNO3	NaOH	Zn(O2CCH3)2	Otro:	SSST	STD	DBO5	DOO	Aceites y grasas (MIEH)	Metalos totales (corrión)	Cromo hexavalente	Nitrogeno total	Nitrogeno amoniacal	Nitatos	Nitritos	Fosfatos	Fosforo total	Cianuro WAD	Fenoles	SAAAM-Detergentes	Sulfuros	Fluoruros	Pragmicias TODOS: D.S.-015-2015-MINAM	Coli.	Termotolerantes	Coliformes totales	Enterococos	Huevos de helmintos		
	PTAR-01	12/04/22	8:47	AR	X			X																												Agua muy turbia			
	PTAR-02	12/04/22	8:48	AR	X							X																							Agua muy turbia				
	PTAR-03	12/04/22	8:48	AR	X							X																						Agua muy turbia					
	PTAR-04	12/04/22	8:49	AR	X							X																						Agua muy turbia					
	PTAR-05	12/04/22	8:49	AR	X							X																						Agua muy turbia					
	PTAR-06	12/04/22	8:50	AR	X							X																						Agua muy turbia					
	PTAR-07	12/04/22	8:50	AR	X							X																						Agua muy turbia					

Entregado			Recibido				
Nombre y apellidos	Firma	Institución/empresa	Nombre y apellidos	Firma	Institución/empresa	Fecha	Hora
Sandra M. Masias Flores	<i>[Firma]</i>	UAC	Verónica Isela Vera Marzanillo	<i>[Firma]</i>	UAC	12/04/22	11:00 am
Gabriela O. Granada Cruz	<i>[Firma]</i>	UAC					

Condición y temperatura de llegada de las muestras: 4°C Comentarios: \_\_\_\_\_

Según Protocolo Nacional para el Monitoreo de la calidad de los Recursos Hídricos Superficiales. (ANA, 2016)



Figura 46



Reporte de Laboratorio N°1 – Análisis de DBO y DQO Pre-Tratamiento

 <p><b>UNIVERSIDAD ANDINA DEL CUSCO</b> <b>FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA</b> <b>ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL</b></p> 		
<p><b>REPORTE DE LABORATORIO</b> <b>ANÁLISIS DE DBO Y DQO PRE-TRATAMIENTO</b></p>		
NOMBRE DE LA TESIS	EFICIENCIA DE RIZOBACTERIAS AISLADAS DE <i>Scirpus californicus</i> y <i>Typha dominguensis</i> EN LA REDUCCIÓN DE DQO DE AGUAS RESIDUALES BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO, CUSCO 2022	
ALUMNAS	Bach. Granada Cruz Gabriela Olenka	
	Bach. Masias Flores Sandra Maite	
DATOS DE LAS MUESTRAS	Procedencia:	PTAR San Jeronimo
	Cantidad de muestras:	7 muestras
	Condición de la muestra:	Transporte a 4°C
	Método de preservación	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> para DQO
	Valor pH	8.6
<b>MÉTODO DE ENSAYO</b>		
PARÁMETRO	NORMAS	
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)	Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA	
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA	
PARÁMETRO	MÉTODO DE MEDICIÓN	
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)	Sistema OxiTop.	
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	Reactor en Medio Ácido con Dicromato de Potasio.	
<b>RESULTADOS</b>		
Parámetros	Concentración	Unidad
DBO	552,00	mg/L
DQO	820,98	mg/L



Figura 47

Reporte de Laboratorio N°2 - Parámetro DQO post tratamiento.

 <b>UNIVERSIDAD ANDINA DEL CUSCO</b> <b>FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA</b> <b>ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL</b> 						
<b>REPORTE DE LABORATORIO</b> <b>CONCENTRACIÓN DE DQO POST-TRATAMIENTO (DIFERENTES DOSIS, TEMPERATURA Y TIEMPOS DE CONTACTO)</b>						
NOMBRE DE LA TESIS	EFICIENCIA DE RIZOBACTERIAS AISLADAS DE <i>Scirpus californicus</i> y <i>Typha dominguensis</i> EN LA REDUCCIÓN DE DQO DE AGUAS RESIDUALES BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO, CUSCO 2022					
TESISTAS	Bach. Granada Cruz Gabriela Olenka Bach. Masias Flores Sandra Maite					
DATOS DE LAS MUESTRAS	Procedencia: PTAR San Jerónimo					
	Cantidad de muestras: 22 muestras					
	Condición de la muestra: incubadas a diferentes temperaturas, dosis y tiempos de contacto					
PARÁMETRO	MÉTODO DE ENSAYO - NORMA Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater APHA					
	MÉTODO DE MEDICIÓN Reactor en Medio Ácido con Dicromato de Potasio.					
Demanda Química de Oxígeno (DQO)						
Diseño experimental factorial	2 <sup>3</sup> +3	N° tratamientos	11 por especie			
RESULTADOS						
Especie	Dosis de inoculación	Tiempo de contacto	Temperatura	DQO	Unidades	NORMATIVA LMP PARA LOS EFLUENTES DE PTAR
<i>Typha dominguensis</i>	1% V/V	3 días	20 °C	410,1	mg/L	200 mg/L
	2% V/V	3 días	20 °C	439,5	mg/L	
	1% V/V	5 días	20 °C	400,3	mg/L	
	2% V/V	5 días	20 °C	434,9	mg/L	
	1.5 % v/v	4 días	25 °C	487,6	mg/L	
	1.5% V/V	4 días	25 °C	474,1	mg/L	
	1.5% V/V	4 días	25 °C	431,9	mg/L	
	1% V/V	3 días	30 °C	607,3	mg/L	
	2% V/V	3 días	30 °C	693,8	mg/L	
	1% V/V	5 días	30 °C	451,5	mg/L	
2% V/V	5 días	30 °C	502,7	mg/L		
<i>Scirpus californicus</i>	1% V/V	3 días	20 °C	423,7	mg/L	
	2% V/V	3 días	20 °C	417,7	mg/L	
	1% V/V	5 días	20 °C	413,9	mg/L	
	2% V/V	5 días	20 °C	427,4	mg/L	
	1.5 % v/v	4 días	25 °C	464,0	mg/L	
	1.5% V/V	4 días	25 °C	432,9	mg/L	
	1.5% V/V	4 días	25 °C	495,1	mg/L	
	1% V/V	3 días	30 °C	593,0	mg/L	
	2% V/V	3 días	30 °C	670,5	mg/L	
	1% V/V	5 días	30 °C	448,5	mg/L	
2% V/V	5 días	30 °C	513,2	mg/L		



## B. VALIDACIÓN DE INSTRUMENTOS N°1

### DATOS GENERALES:

**1.1 TÍTULO DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN:** “EFICIENCIA DE RIZOBACTERIAS AISLADAS DE *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis* EN LA REDUCCIÓN DE DQO DE AGUAS RESIDUALES BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO, CUSCO, 2022.”

**1.2 INVESTIGADOR:** Bach. Gabriela Olenka Granada Cruz y Bach. Sandra Maite Masias Flores

### DATOS DEL EXPERTO:

2.1 Nombres y Apellidos: Dr. Ing. Felio Calderón La Torre

2.3 Lugar y Fecha: Cusco, 15/01/2022

2.2 Especialidad: Ingeniero Agrónomo con Doctorado en Medio Ambiente y Desarrollo Sostenible

2.4 Cargo e Institución donde labora: Docente de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental – UAC

COMPONENTE	INDICADORES	CRITERIOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy bueno 61-80%	Excelente 81-100%
Forma	1. REDACCIÓN	Los indicadores e ítems están redactados considerando los elementos necesarios				78	
	2. CLARIDAD	Está formulado con un lenguaje apropiado				80	
	3. OBJETIVIDAD	Está expresado en conducta observable				77	
Contenido	4. ACTUALIDAD	Es adecuado al avance de la ciencia y la tecnología					90
	5. SUFICIENCIA	Los ítems son adecuados en cantidad y claridad					90
	6. INTENCIONALIDAD	El instrumento mide pertinentemente las variables de la investigación					90
Estructura	7. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica				80	
	8. CONSISTENCIA	Se basa en aspectos teóricos científicos de la investigación educativa					85
	9. COHERENCIA	Existe coherencia entre los ítems, indicadores, dimensiones y variables				80	
	10. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del diagnóstico				80	

I. **OPINIÓN DE APLICABILIDAD:** Instrumento Confiable, Objetivo y Aplicable

II. **PROMEDIO DE VALORACIÓN:** 83.5 %

III. **LUEGO DE REVISADO EL INSTRUMENTO:**

Procede a su aplicación ( X )      Debe corregirse (   )

Sello y Firma del Experto  
DNI: 25310696



**VALIDACIÓN DE INSTRUMENTOS N°2**

**DATOS GENERALES:**

**1.1 TÍTULO DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN:** “EFICIENCIA DE RIZOBACTERIAS AISLADAS DE *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis* EN LA REDUCCIÓN DE DQO DE AGUAS RESIDUALES BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO, CUSCO, 2022.”

**1.2 INVESTIGADOR:** Bach. Gabriela Olenka Granada Cruz y Bach. Sandra Maite Masias Flores

**DATOS DEL EXPERTO:**

**2.1 Nombres y Apellidos:** M.SC Adriana Zegarra Tupayachi      **2.3 Lugar y Fecha:** Cusco, 01/02/2022

**2.2 Especialidad:** Bióloga con maestría en Ciencias Ambientales

**2.4 Cargo e Institución donde labora:** Docente de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental – UAC


COMPONENTE	INDICADORES	CRITERIOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy bueno 61-80%	Excelente 81-100%
Forma	1. REDACCIÓN	Los indicadores e ítems están redactados considerando los elementos necesarios					85
	2. CLARIDAD	Está formulado con un lenguaje apropiado				79	
	3. OBJETIVIDAD	Está expresado en conducta observable				79	
Contenido	4. ACTUALIDAD	Es adecuado al avance de la ciencia y la tecnología					88
	5. SUFICIENCIA	Los ítems son adecuados en cantidad y claridad				80	
	6. INTENCIONALIDAD	El instrumento mide pertinentemente las variables de la investigación					85
Estructura	7. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica				80	
	8. CONSISTENCIA	Se basa en aspectos teóricos científicos de la investigación educativa					88
	9. COHERENCIA	Existe coherencia entre los ítems, indicadores, dimensiones y variables					90
	10. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del diagnóstico					90

**I. OPINIÓN DE APLICABILIDAD:** Instrumento Objetivo y Aplicable.

**II. PROMEDIO DE VALORACIÓN:** 84.4%

**III. LUEGO DE REVISADO EL INSTRUMENTO:**

Procede a su aplicación ( X )      Debe corregirse (   )

  
Bga. Adriana Zegarra Tupayachi  
Magister en Ciencias Ambientales  
C.B.P. 4048

Sello y Firma del Experto  
DNI: 23976647



**VALIDACIÓN DE INSTRUMENTOS N°3**

**DATOS GENERALES:**

**1.1 TÍTULO DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN:** “EFICIENCIA DE RIZOBACTERIAS AISLADAS DE *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis* EN LA REDUCCIÓN DE DQO DE AGUAS RESIDUALES BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO, CUSCO, 2022.”

**1.2 INVESTIGADOR:** Bach. Gabriela Olenka Granada Cruz y Bach. Sandra Maite Masias Flores

**DATOS DEL EXPERTO:**

2.1 Nombres y Apellidos: Violeta Eugenia Zamalloa Acurio

2.3 Lugar y Fecha: Cusco, 25/02/2022

2.2 Especialidad: Bióloga, con especialidad en Ecología y Recursos Naturales y Biología Ambiental

2.4 Cargo e Institución donde labora: Docente de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental – UAC

COMPONENTE	INDICADORES	CRITERIOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-80%	Muy bueno 81-80%	Excelente 81-100%
Forma	1. REDACCIÓN	Los indicadores e ítems están redactados considerando los elementos necesarios				80	
	2. CLARIDAD	Está formulado con un lenguaje apropiado				80	
	3. OBJETIVIDAD	Está expresado en conducta observable					90
Contenido	4. ACTUALIDAD	Es adecuado al avance de la ciencia y la tecnología					90
	5. SUFICIENCIA	Los ítems son adecuados en cantidad y claridad					90
	6. INTENCIONALIDAD	El instrumento mide pertinentemente las variables de la investigación					90
Estructura	7. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica					90
	8. CONSISTENCIA	Se basa en aspectos teóricos científicos de la investigación educativa					90
	9. COHERENCIA	Existe coherencia entre los ítems, indicadores, dimensiones y variables					90
	10. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del diagnóstico					90

- I. **OPINIÓN DE APLICABILIDAD:** Preciso a los indicadores de evaluación, aplicable.
- II. **PROMEDIO DE VALORACIÓN:** 88.0%
- III. **LUEGO DE REVISADO EL INSTRUMENTO:**  
Procede a su aplicación ( X )      Debe corregirse (   )

Sello y Firma del Experto  
DNI: 23867865





**VALIDACIÓN DE INSTRUMENTOS N°4**

**DATOS GENERALES:**

**1.1 TÍTULO DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN:** “EFICIENCIA DE RIZOBACTERIAS AISLADAS DE *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis* EN LA REDUCCIÓN DE DQO DE AGUAS RESIDUALES BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO, CUSCO, 2022.”

**1.2 INVESTIGADOR:** Bach. Gabriela Olenka Granada Cruz y Bach. Sandra Maite Masias Flores

**DATOS DEL EXPERTO:**

2.1 Nombres y Apellidos: Ing. Teodoro Huarhua Chipani

2.3 Lugar y Fecha: Cusco, 13/02/2022

2.2 Especialidad: Ingeniero Agrónomo con maestría en Ingeniería Ambiental

2.4 Cargo e Institución donde labora: Docente de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental – UAC

COMPONENTE	INDICADORES	CRITERIOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-80%	Muy bueno 61-80%	Excelente 81-100%
Forma	1. REDACCIÓN	Los indicadores e ítems están redactados considerando los elementos necesarios				75	
	2. CLARIDAD	Está formulado con un lenguaje apropiado				75	
	3. OBJETIVIDAD	Está expresado en conducta observable				75	
Contenido	4. ACTUALIDAD	Es adecuado al avance de la ciencia y la tecnología				80	
	5. SUFICIENCIA	Los ítems son adecuados en cantidad y claridad				80	
	6. INTENCIONALIDAD	El instrumento mide pertinentemente las variables de la investigación				85	
Estructura	7. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica				80	
	8. CONSISTENCIA	Se basa en aspectos teóricos científicos de la investigación educativa					85
	9. COHERENCIA	Existe coherencia entre los ítems, indicadores, dimensiones y variables					90
	10. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del diagnóstico					90

- I. **OPINIÓN DE APLICABILIDAD:** Ideal para el registro de datos
- II. **PROMEDIO DE VALORACIÓN:** 82.5%
- III. **LUEGO DE REVISADO EL INSTRUMENTO:**  
Procede a su aplicación ( X )      Debe corregirse (   )



Sello y Firma del Experto  
DNI: 45924301



## C. ANEXOS

### ANEXO 1: Preparación del Agua Peptona al 10%

#### OBJETIVO

Preservar las muestras de raíces con suelo rizosferico de: *Scirpus californicus* y *Typha dominguensis*.

#### Materiales

- Agua Peptona (Agua Triptonada) ISO
- Agua destilada
- Balanza
- Termómetro
- Agitador magnético
- Vaso precipitado
- Viales

#### Procedimiento

Diluir 7.5 gramos de agua peptona en un vaso precipitado con 500 ml de agua destilada. Llevarlo a un agitador magnético y dejarlo por 5 minutos a 22°C. Autoclavarlo y dejar enfriar.

En viales de 50 ml de capacidad añadir 40 ml del agua peptona preparada y almacenarlas.

#### Figura 48

*Preparación de Agua peptona.*





## ANEXO 2: Preparación del Caldo Nutritivo

### OBJETIVO

Permitir el crecimiento de masa bacteriana para inocularlas posteriormente en un medio.

### MATERIALES

- Nutrient Broth (caldo nutritivo)
- Agua destilada
- Balanza
- Termómetro
- Agitador magnético
- Matraz

### PROCEDIMIENTO

Diluir 3 gramos de caldo nutritivo en un matraz de 250 ml con agua destilada. En un agitador magnético disolver hasta llegar a una temperatura de 28 °C.

Por último, dejar enfriar a temperatura ambiente.

### Figura 49

*Preparación de Caldo nutritivo.*

