

FACULTAD DE INGENIERÍA

Carrera de **INGENIERÍA AMBIENTAL**

“EFICIENCIA DE LA BIORREMEDIACIÓN DE AGUA DESTILADA CONTAMINADA POR COBRE MEDIANTE LA APLICACIÓN DE LEVADURA DE CERVEZA *Saccharomyces cerevisiae*”

Tesis para optar al título profesional de:

Ingeniero Ambiental

Autores:

Angeli Milena Mori Garcia

Anderson Puscan Pingus

Asesor:

MSc. Carlos Alberto Alva Huapaya

<https://orcid.org/0000-0002-0983-3151>

Lima - Perú

2023

JURADO EVALUADOR

Jurado 1 Presidente(a)	ISELLI MURGA GONZALEZ	44362724
	Nombre y Apellidos	Nº DNI

Jurado 2	JAVIER CHUMAN LOPEZ	45997406
	Nombre y Apellidos	Nº DNI

Jurado 3	OSCAR HUAROC BRAVO	71972398
	Nombre y Apellidos	Nº DNI

INFORME DE SIMILITUD



DEDICATORIA

A Dios y a nuestras familias, quienes han sido nuestra motivación, inspiración y un soporte fundamental en lo largo de estos años. Este es la recompensa por todo el esfuerzo y el sacrificio brindado.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a nuestras familias por todo el apoyo y la paciencia que siempre nos han brindado.

Agradecemos también al profesor Cesar Víctor Sánchez Aliaga, por su apoyo durante este proceso y a nuestro asesor Carlos Alberto Alva Huapaya por sus conocimientos acerca de nuestro trabajo.

Agradecemos al laboratorio Multifuncional 1 y laboratorio de química de la Facultad de Ingeniería Ambiental de la Universidad Privada del Norte por el préstamo del espacio, permitirnos el uso de equipos y materiales.

Tabla de contenido

JURADO EVALUADOR	2
INFORME DE SIMILITUD	3
DEDICATORIA	4
AGRADECIMIENTO	5
ÍNDICE DE TABLAS	7
ÍNDICE DE FIGURAS	8
RESUMEN	10
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	11
CAPÍTULO II: METODOLOGÍA	35
CAPÍTULO III: RESULTADOS	47
CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	59
REFERENCIAS	64
ANEXO 1	72
ANEXO 2	73
ANEXO 3	74

Índice de tablas

Tabla 1 Categoría 1: Poblacional y Recreacional.....	25
Tabla 2 Lectura de absorbancia respecto a la longitud de onda	47
Tabla 3 Lectura de absorbancia promedio de solución de sulfato de cobre	48
Tabla 4 Determinación de absorbancia para corridas con levadura muerta	50
Tabla 5 Determinación de absorbancia para corridas con levadura viva	50
Tabla 6 Cálculo de concentración final con 0.1 g de biomasa muerta.	51
Tabla 7 Cálculo de concentración final con 0.5 g de biomasa muerta.	51
Tabla 8 Cálculo de concentración final con 1 g de biomasa muerta.	51
Tabla 9 Cálculo de concentración final con 1.5 g de biomasa muerta.	52
Tabla 10 Cálculo de concentración final con 0.1 g de biomasa viva.	53
Tabla 11 Cálculo de concentración final con 0.5 g de biomasa viva.	53
Tabla 12 Cálculo de concentración final con 1 g de biomasa viva.	53
Tabla 13 Cálculo de concentración final con 1.5 g de biomasa viva.	54
Tabla 14 Determinación de la concentración óptima por biomasa muerta.	55
Tabla 15 Determinación de la concentración óptima por biomasa viva	55
Tabla 16 Concentración y porcentaje óptimo de Cu removido por levadura viva	57
Tabla 17 Concentración y porcentaje óptimo de Cu removido por levadura muerta	57
Tabla 18 Determinación del tiempo óptimo para mayor porcentaje de eficiencia de biomasa viva	58
Tabla 19 Determinación del tiempo óptimo para mayor porcentaje de eficiencia de biomasa muerta	58
Tabla 20 Matriz de Operacionalización de Variables.....	72

Índice de figuras

Figura 1 Cinética de crecimiento de absorbancia vs longitud de onda	48
Figura 2 Curva de calibración de Sulfato de Cobre.....	49
Figura 3 Preparación de materiales para autoclavar	74
Figura 4 Pesaje del Agar Papa Dextrosa	74
Figura 5 Dilución del medio de cultivo en calor	75
Figura 6 Autoclavado de materiales y medio de cultivo	75
Figura 7 Segunda preparación del medio de cultivo	76
Figura 8 Segundo autoclavado de materiales y medio de cultivo	76
Figura 9 Prepatación de levadura	77
Figura 10 Vertimiento del Agar en las placas petri.....	77
Figura 11 Aplicando la técnica de estriado de la biomasa en el medio de cultivo	78
Figura 12 Sembrado y rotulado de levadura en placas petri.....	78
Figura 13 Acondicionamiento de placas en la estufa digital	79
Figura 14 Figura Sembrado de levaduras después de 5 días	79
Figura 15 Separación de levadura del medio de cultivo	80
Figura 16 Preparación de formaldehído al 1%	81
Figura 17 Lavado de levadura con desionizada.....	82
Figura 18 Centrífugado para la separación de la biomasa	82
Figura 19 Tercer y último lavado de levadura	83
Figura 20 Levadura muerta lista para ser llevada al horno	83
Figura 21 Retirar levadura inerte de la placa para su pesaje.....	84
Figura 22 Preparación de concentraciones de cobre en agua destilada	85
Figura 23 Evaluación de longitud de onda	85
Figura 24 Levadura muerta con cobre en el agitador magnético.....	86

Figura 25 Concentraciones de cobre en diferentes tiempos	86
Figura 26 Muestra patrón de cobre	87
Figura 27 Evaluación de corridas de absorción	87
Figura 28 Mezcla de levadura viva con agua destilada	88
Figura 29 Filtrado de muestras contaminadas	88
Figura 30 Segundo filtrado de concentraciones	89
Figura 31 Muestras de concentraciones filtradas en diferentes tiempos	89

RESUMEN

El paso a energías más limpias lleva consigo una consecuencia inmediata al uso masivo de cobre, esta producción mundial en el sector minero e industrial producirá elementos más persistentes donde su estructura con cobre se combinará dentro de masas de agua que corren hacia los ríos. Por ello, es importante desarrollar métodos ecológicos para eliminar el cobre de todos los ecosistemas acuáticos donde se encuentre presente. El objetivo principal es determinar la eficiencia de la biorremediación de agua destilada contaminada por cobre mediante la aplicación de levadura de cerveza, la metodología realizada se basa en la adsorción por parte de la pared celular de *Saccharomyce cerevisiae* que al capturar los iones metálicos disminuirá la concentración de cobre dentro de un volumen establecido y un tiempo de contacto respectivamente. Los resultados se analizaron con un espectrofotómetro de las muestras artificiales contaminadas con cobre, donde se analizó la absorbancia como punto de partida con relación a la concentración inicial, para 2000 ppm, 5000 ppm y 10000 ppm, siendo 0,5 g la biomasa favorable de adsorción al remover un 75% del contaminante. Concluyendo que el estudio es eficiente en los propósitos de biorremediar aguas contaminadas por cobre mediante el uso de biomasa fúngica.

PALABRAS CLAVES: *Saccharomyce cerevisiae*, biorremediación, cobre, aguas contaminadas.

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

1.1. Realidad problemática

En la actualidad la contaminación de cobre es un problema de gran emergencia a nivel mundial ya que, los residuos de diferentes procesos industriales tales como procesos metalúrgicos, carrocerías, autopartes, explotaciones mineras y también plantas de energía, son las fuentes detectadas como contaminantes de los cuerpos de agua y suelos con metales pesados, proporcionando al ambiente un drenaje ácido y posterior erosión.

En el 2020 una investigación realizada en la cuenca alta del río Napo, Ecuador identificó que los niveles de Cd, Al, Fe, Cu, Zn, Ni y Pb superan hasta 500 veces los LMP por normativas ecuatorianas y norteamericanas. La Fundación Río Napo ha presentado una variedad de denuncias sobre las afectaciones ambientales, porque debido a todos los estudios realizados se encontró que "El estudio de impacto ambiental ex post viola los derechos ambientales de la naturaleza según la Constitución", y viola el derecho de las comunidades indígenas a la consulta previa, libre e informada, a pesar de todas las pruebas presentadas y denuncias realizadas, no obtuvieron alguna respuesta del Ministerio de Ambiente, la Agencia de Control Minero, la Secretaría del Agua y la Fiscalía (Castro, 2020).

Una grave emergencia ocurrió en la provincia de Los Andes, Chile en el 2016, ya que se rompió un ducto subterráneo que transportaba concentrados de cobre, contaminando el río Aconcagua y río Blanco con un vertimiento de 50 m³ del metal, lo cual es una situación muy preocupante por eso un grupo de ambientalistas realizaron marchas pacíficas por tal daño ocasionado ya que no es la primera vez. (El Andino, 2016). Además, en el 2019 se realizó un informe en Chile, acerca del consumo de agua en la minería de cobre y se obtuvo como resultado que el abastecimiento de agua fue de un 79% correspondiendo a agua

recirculada, por ello, el consumo de la minería chilena fue de 13,56 m³/seg el 2019 y 12,7 m³/seg el 2020. Demostrando que la industria minera de cobre debe estar comprometida con un consumo responsable (SONAMI, 2020).

En el 2014, la mina "Buenavista del cobre" en México, ocasionó una tragedia ambiental de gran importancia, al derramar 40 millones de litros de sulfato de cobre acidulado en los ríos Bacanuchi y Sonora, la cual abastecían a más de 22 mil personas. Asimismo, el pueblo Sauz de Ures, Sonora el más afectado indicó en el 2019 que les prometieron que colocarían potabilizadoras para que puedan beber agua, pero no cumplieron con lo acordado hasta el momento. Por ello, las enfermedades siguen aumentando, los cultivos disminuyen y las autoridades ni la empresa se hacen responsables de la tragedia (Rojas, 2019).

Un estudio realizado en el 2018 por la Comisión Administradora del Río Uruguay (CARU) en el río Monte Caseros (Corrientes) hasta La Concordia (Uruguay), río compartido entre Argentina y Uruguay revelaron presencia de 13 parámetros de calidad de agua que sobrepasaban los LMP. En el 43% de las muestras, el cobre superaba el límite permitido, siendo este el metal que más violaba la norma y que alcanzaba los niveles más elevados en los meses de julio y noviembre (Télam, 2020).

Los ríos más afectados son Huanuni y Desaguadero en Oruro, Bolivia, lo cual es un daño ambiental causado por muchos años de contaminación por la minería de oro. A raíz de varias movilizaciones de los pobladores durante varios años, lograron que el gobierno declare en emergencia ambiental la cuenca y obligaron a la empresa en el 2009 que construya un dique de colas para remediar tal daño ocasionado, pero hasta el 2017 no se han hecho responsables ni del abastecimiento de agua potable a las 42 comunidades para sus recursos,

por ello, las personas han tenido que migrar y solo quedan aproximadamente 30 personas viviendo en la zona afectada porque ya no se puede vivir allí, el terreno disponible ya no sirve para cultivar y puedan sobrevivir (Telma, 2017).

Por otro lado, nuestro país, es el segundo productor de cobre a nivel mundial pero su explotación genera impactos negativos en los ecosistemas y los seres vivos. Son 35 ríos que se encuentran contaminados por cobre en el Perú (Castro, 2019), ya que existen una gran cantidad de empresas mineras que explotan este metal, como también provocan desastres ambientales y vierten sus residuos en los ríos de Arequipa, Puno, Apurímac, Moquegua, Ancash, Tacna y Cusco, provocando un gran daño ambiental en la naturaleza, conflictos sociales, enfermedades y hasta muertes. Se sabe también que los resultados del monitoreo de la ANA en la Bahía interior del Lago Titicaca en el 2014 arrojaron 11 elementos químicos nocivos y en 17 km² no hay vida acuática debido a los altos niveles alarmantes de metales como el cobre (Ampudia, 2014). En el 2016, 2017 y 2019 la OEFA realizó estudios de impacto ambiental en las zonas donde la unidad minera Aruntani-Arasi tiene impacto y encontraron metales (As, Fe, Mn, Hg, Al, Cd, Co, Cu, Ni y Zn) y otros contaminantes que superan los LMP en aguas superficiales, aguas subterráneas y sedimentos, lo cual la OEFA indicó que paralicen sus operaciones, pero los pobladores de Jatun Ayllu continúan sus quejas porque la minera Aruntani continúa botando sus residuos a los ríos (Chávez, 2022). Por lo tanto, se realizaron los estudios en el Laboratorio Multifuncional 2 de la Universidad Privada del Norte, donde se preparó aguas contaminadas por cobre artificialmente en diferentes concentraciones, haciendo una simulación de las aguas residuales para riego que son contaminadas por este metal, ya que estas aguas pueden contaminar los suelos agrícolas

con cobre, lo cual es dañino porque no se degradan fácilmente, afectan negativamente a las plantas que se cultivan y pueden ser absorbidos por los organismos vivos.

En el presente trabajo de investigación se determinó la eficiencia de la biorremediación del microorganismo adsorbiendo cobre en agua destilada contaminada artificialmente utilizando distintas concentraciones, en diferentes tiempos, con levadura muerta y viva, lo cual fue evaluado con un espectrofotómetro Thermo Scientific Orion AquaMate 8000 UV-Vis, el instrumento utilizado cuenta con más de 260 métodos de prueba preprogramados que permiten el análisis simple y preciso de análisis de metales, entre otros, además tiene longitudes de onda completas de 190 a 1100 nm para las opciones de medición, es fácil de usar, tiene manejo intuitivo y es confiable, en la presente investigación mostró una reducción considerable de las muestras contaminadas de este metal mediante la aplicación del hongo *Saccharomyces cerevisiae*, lo cual es un bioadsorbente importante, ya que la levadura activa o inactiva logra acumular y retener metales presentes en soluciones acuosas diluidas en su estructura. De esta manera, se comprueba la variedad de beneficios que tiene la masa, es eco amigable con el medio ambiente, económica, se encuentra fácilmente y es una buena alternativa de solución para remover metales de los ecosistemas acuáticos contaminados.

Antecedentes Internacionales

Morales (2021), en su investigación desarrollada en Ecuador sobre "Evaluación de la bioadsorción de plomo por *Saccharomyces cerevisiae* en agua sintética a escala de laboratorio". Tuvo como objetivo determinar el nivel de bioadsorción de *Saccharomyces cerevisiae* respecto a la eliminación de plomo. Empleó una metodología de enfoque cuantitativo, de diseño experimental, con un alcance descriptivo para demostrar la

bioadsorción que se obtiene del plomo con la levadura que fue en un bloque de 5 kg. Utilizando el método de disolución para ver cuanto crece la levadura en un tiempo de 300 minutos. Los principales resultados mostraron que, la retención de metal fue de 7,89 mg de plomo por cada gramo de levadura. Además, el nivel que tuvo más bioadsorción fue el de 5ppm, pues, se pudo eliminar cerca del 96,4% con un pH de 5,1 en un periodo de tiempo de 120 minutos. La investigación concluye que, la levadura tiene una potente bioadsorción al plomo en ensayos de laboratorio, vale mencionar que, es necesario determinar correctamente el pH, pues, de ello dependerá el porcentaje de bioadsorción.

Gómez (2020), en su investigación desarrollada en México sobre "Remoción de Pb (II) (II), Cr (III) y Cr (VI) presentes en muestras de agua grado reactivo mediante el uso de *Pseudomonas putida* y *Saccharomyces cerevisiae*". Tuvo como objetivo evaluar la eficiencia de remoción en ambos metales, empleando el consorcio microbiano. Emplearon la metodología de espectrofotómetro de ultravioleta visible para determinar absorbancia de *P. putida* y *S. cerevisiae*, lo cual adoptaron parámetros eficientes en agua natural, natural estéril y agua no estéril donde se obtuvo altas concentraciones de remoción utilizando ambos microorganismos. Entre los resultados obtenidos lograron la remoción de un 79,07% y 76,22% de Cr (VI) en agua natural y agua natural estéril, en Cr total fue en agua natural fue de 39,22% y 27,11% en agua natural estéril, en Pb (II) aumentó en agua sin esterilizar a un 86.80% y en agua estéril 79,70%. La investigación concluye que al evaluar la remoción de Pb (II) y Cr (VI) y Cr total, en conjunto en agua natural estéril y no estéril, empleando el consorcio microbiano se encontró que la eficiencia aumenta cuando se encuentran los dos microorganismos juntos y que los interferentes presenten en la muestra no afectan la

eficiencia del proceso. Se determinó que el porcentaje de remoción por los microorganismos autóctonos es mínimo.

Dávila (2019) en su investigación desarrollada en México sobre “Remediación de sedimentos contaminados con Manganeseo (Mn) y Zinc (Zn) utilizando *Saccharomyces cerevisiae* aislada del río San Pedro ubicado en Cananea, Sonora”. Tuvo como objetivo remediar los sedimentos contaminados por metales mediante la biomasa de *S. cerevisiae*, además de determinar la cinética de biosorción con *S. cerevisiae* de Mn y Zn por sistema en lote y caracterizar la biodiversidad microbiana. Emplearon la metodología por microscopia electrónica de barrido del sistema en semicontinuo para evaluar la remoción y la digestión ácida de sedimentos para conocer la concentración de Mn y Zn, para la cinética biosorción se utilizó el modelo pseudo segundo orden y para la capacidad de biosorción se utilizaron los modelos de Langmuir y Freundlich. Teniendo como resultados de constante cinética 0,0442 y 0,0171 g/mg de biomasa para 1 g y 5 g de sedimentos metálicos, donde para Langmuir se obtuvo una capacidad de biosorción máxima de 70,79 mg/g. Así para el sistema semicontinuo los resultados de la interacción de ambos metales con la biomasa dieron de 34,05% Mg y 14,01% Zn. Se pudo concluir que teniendo las condiciones para el proceso de biosorción-especie metálica arrojan resultados favorables que contribuyen a la mejora del medio ambiente en este caso de sedimentos.

Espinoza y Zambrano (2019), en su investigación desarrollada en Ecuador sobre “Eficiencia de microorganismos (*Saccharomyces sp*, *Lactobacillus spp*, *Rhodospseudomona spp*) en el tratamiento de aguas residuales de la ESPAM MFL”. Tuvo como objetivo estudiar tres tratamientos con microorganismos eficaces (EM) a concentraciones de 0,75 1.25 y 2,00% replicadas tres veces en tres fases, donde la primera

Caracterizaron propiedades físico-químicas y microbiológicas del agua residual; Mediante los análisis se evidenciaron que las aguas residuales de la ESPAM MFL necesitan someterse a tratamientos adicionales para la remoción de DBO5 y DQO, en segundo determinaron la eficiencia de EM; permitiendo ajustar a los criterios de calidad de aguas para uso agrícola y pecuario; así ninguno de los tres tratamientos por EM cumple par los LMP para DBO5 y DQO. y tercero realizar un análisis económico al tratamiento. De donde la dosis de 2% de EM tuvo un menor costo económico, presentando el mayor porcentaje de remoción de DBO5 (58,70%) y DQO (56,97%). concluyendo que los tratamientos aplicados estadísticamente presentan valores significativos de $p < 0,05$ en DBO5 y DQO. Finalmente es correcta la hipótesis descrita en el estudio.

Moreno y Ramos (2018), en su investigación desarrollada en México sobre “Descontaminación de arsénico, cadmio y plomo en agua por biosorción con *Saccharomyces cerevisiae*”. Tuvo como objetivo conseguir información importante para erradicar la contaminación del agua por metales pesados, además de evaluar la capacidad de bioadsorción de la biomasa especial de *Saccharomyces cerevisiae* en el agua contaminada. Utilizaron una metodología de enfoque cualitativo, con un alcance descriptivo, de tipo de revisión bibliográfica, a través de la técnica de espectroscopia infrarroja con transformador de Fourier cuyas siglas son FTIR. Encontrando como principales resultados que la eficiencia que tiene la levadura o *Saccharomyces cerevisiae* en situación activa puede llegar hasta en un 80% en un tiempo de 120 horas con 2 miligramos de Cd^{2+} por litro. La investigación concluye que, las metodologías existentes de bioadsorción con *Saccharomyces cerevisiae* son mecanismos muy efectivos para remover los metales pesados de las aguas contaminadas para dejarlas listas para el consumo humano, pero, actualmente su aplicación se limita a su

exploración solo en laboratorios, lo ideal sería que se pueda implementar en diversas zonas del país que necesiten solucionar este tipo de problemáticas en contexto reales.

Antecedentes Nacionales

Rodríguez y Quezada (2019), en su investigación desarrollada en Trujillo sobre “Remoción de cromo en efluente de curtiembre por consorcio de levaduras del género *Saccharomyces* y *Pichia*”. Tuvo como objetivo analizar la facilidad de eliminación de cromo mediante un tipo de levadura como *Saccharomyces cerevisiae* y *Pichia guillierm* en emisarios producto de fábricas de cuero. Aplicaron una metodología de enfoque cuantitativo, con un diseño experimental, de método unifactorial, empleando 4 biorreactores con una capacidad para 250 mililitros, hallaron la concentración con el método de Espectrofotometría atómica, sacando las muestras de las aguas en 4 momentos, sacando 10 ml en cada periodo. Los principales resultados demostraron que, el nivel de eliminación del cromo a través de la levadura va entre un 57% a un nivel de concentración de 50 ppm, mientras que en un 54% a un nivel de concentración de 100 ppm. La investigación concluye que, el uso de los 2 tipos de levadura según los 2 niveles de concentración utilizados es indistinto, sin embargo, lo factible es optar por la concentración más alta con el propósito de tener un mayor porcentaje de eliminación. De forma que, el uso de la levadura contribuye en gran medida a la limpieza de las aguas contaminadas a causa de los negocios del rubro curtiembre.

Fernández y Guzmán (2019), en su investigación desarrollada en Arequipa, titulado “Bioadsorción de Cromo (VI) con *Saccharomyces cerevisiae* inmovilizada, como residuo de la elaboración de la cerveza, para su aplicación en biorremediación de aguas contaminadas de la industria del curtido, Arequipa 2016”. Tuvo como objetivo identificar y bioadsorber Cromo (VI), en efluentes con residuos de la industria del cuero, utilizando microorganismos

como *Saccharomyces cerevisiae*, activada y focalizada en agar. La cepa se aisló y caracterizo macroscópica, microscópica y bioquímicamente. Interactuando con diferentes concentraciones de Cromo (VI), donde la cepa logró adaptarse a una concentración de 600 ppm de Cromo (VI). La metodología comienza por la producción de biomasa llevada a cabo en un sistema batch, utilizado para la bioadsorción, obteniéndose 300 g de biomasa seca en un volumen de 3 L por un lapso de 48 horas. Donde se procedió a la inmovilización de las cepas, mediante el método de Gelificación en agar, se obtuvo "pellets" de 0,5 cm de longitud. A continuación, se elaboró un biorreactor de flujo pistón (PFTR), en el cual se puso 18 L de biomasa para calcular la remoción de Cromo (VI) por parte de la cepa, tanto en aguas artificiales, como en el efluente contaminado por curtiembre, La evaluación de la concentración inicial y final de Cromo (VI) en ambas muestras se dio por el método colorimétrico de la Difenilcarbazida. Resultando en un 83,42% de adsorción de Cromo (VI) en agua sintética, mientras en efluente de curtiembre redujo un 86,96% de Cromo (VI). Concluyendo que el sistema es adecuado para el tratamiento de efluentes contaminados procedentes de la industria curtiembre.

Diaz, Rojas, Baldera (2019), en su investigación desarrollada en Moyobamba, que tiene por título "Determinación de la capacidad de biosorción de Hierro (Fe) usando biomasa *Saccharomyces uvarum* y *S. cerevisiae* a partir del desecho del proceso industrial de la cerveza, en el tratamiento del agua de la quebrada Juningullo la Mina, Moyobamba". Teniendo como objetivo identificar la dosis de biomasa *Saccharomyces Uvarum* y *S. cerevisiae*; velocidad y tiempo adecuados para la biosorción de Hierro (Fe) y determinar en qué medida el proceso de biosorción influyen en el mejoramiento de la calidad del agua de Juningullo la Mina, Moyobamba. Aplicaron la metodología experimental con las técnicas

de coagulación, floculación y decantación con coagulantes de *Saccharomyces uvarum* y *S. cerevisiae*, procesos que se replicaron y reprodujeron en condiciones controladas, aplicando la prueba de jarras en 14 ensayos desarrollados a nivel de laboratorios de la EPS-Moyobamba. Con resultados donde se pudieron identificar la dosis óptima de biomasa *Saccharomyces uvarum* y *S. cerevisiae*, resaltando el ensayo n° 14 con 85 mg/L con Hierro de 0,13 mg/l y de remoción de 87,5 %. Los resultados obtenidos de los ensayos n° 07 al 14 con concentraciones de Hierro final, respecto a los iniciales, cumplen con los Estándares de calidad ambiental del D.S. 004-2017 MINAN Cat.A1 y el D.S 031-2010 SA de los LMPs, siendo no considerado los números de ensayos del 1 al 6 de la tabla 4, ya no cumplen con los ECAS del D.S. 004-2017 MINAN Cat.A1 y el D.S 031-2010 SA de los LMPs de la norma vigente. Se determinaron que las técnicas influyen en la reducción y remoción de los niveles iniciales analizados para la concentración de hierro. Así se recomienda utilizar la biomasa para dimensiones de agua de menor capacidad como en áreas suburbanas, para un alcance de absorción más significativo.

Ortiz (2018), en su investigación elaborada en Lima, titulado “Remoción de cobre en muestras alteradas mediante el uso del hongo *Saccharomyces cerevisiae* en aguas del río Chillón, Asentamiento Humano Márquez a nivel laboratorio-2018”. Teniendo como objetivo determinar que el uso de *Saccharomyces Cerevisiae* absorbe cobre a nivel de laboratorio en muestras artificiales del Río Chillón. Basándose en dos variables, la primera enfocada en el uso de biomasa activada y focalizada en agar, la segunda radica en encontrar la capacidad de remoción de cobre en las muestras alteradas. La metodología de esta investigación da su enfoque a datos cuantitativos infiriendo a través de datos estadísticos, se estableció la observación como técnica de recolección de datos por medio de una ficha de

registro, respecto a los parámetros 1 g/100 mL de levadura seca a niveles de ph (5 – 5,7), 1,5 g/100 mL de ph (5 – 5,7), 1 g/100ml ph (6 – 6,5) y por último 1.5 gr/100 mL a un rango de ph (6 – 6,5). Los resultados demostraron que la *S. Cerevisiae* remueve cobre en muestras alteradas a nivel de laboratorio, obteniendo un cambio significativo en la concentración inicial y final, Así para el indicador 1 g/100 mL de levadura a un rango de ph (5 – 5,7) se reduce la concentración en un 76,33%, asimismo la concentración de cobre para el indicador 1,5 g/100 mL a pH (5 – 5,7) obtuvo una eficiencia de remoción del 79,24%, para estos parámetros se tuvo una mayor incidencia de remoción. Concluyendo en que el uso del hongo *Saccharomyces Cerevisiae* reduce de manera significativa la concentración.

Amaya et al. (2018), en su investigación desarrollada en La Libertad, titulado "Capacidad de adsorción de metales pesados por *Saccharomyces cerevisiae* en un efluente minero de Shorey, distrito de Quiruvilca, La libertad". Tuvo como objetivo el desarrollo de esta investigación determinar la capacidad de adsorción de metales pesados por *Saccharomyces cerevisiae* en un efluente minero de Shorey, distrito de Quiruvilca, proponiendo un método eficiente y económico con el uso de biomasa seca inerte, extraída de las lías de fermentación de la empresa vinícola Don Manuelito, Cascas, para la adsorción de estos iones metálicos. La metodología comienza por el análisis previo general del efluente minero para ver los metales contaminantes, seguidamente se aplicaron tres tratamientos con diferentes concentraciones de levadura (3 g, 5 g y 10 g por Litro de muestra) durante 7 tiempos para cada uno. Los resultados se hallaron de la concentración ideal en que se daba mayor adsorción, y comparar con los LMP del D.S. 010-2010 – MINAM, donde se obtuvo que la levadura adsorbió en 40 minutos de aplicación, más del 50% de la concentración de metales pesados, en el cual el tratamiento 3 fue el mejor, con 10 g. En conclusión, se pudo

favorecer a que la levadura tiene mayor capacidad de adsorción en metales pesados como el plomo, cadmio, arsénico, níquel y cobre dando como resultados concentraciones por debajo del límite máximo permisible.

Bases teóricas

Reglamento de la Calidad del Agua para Consumo Humano DS N° 031-2010-SA.

El presente Reglamento establece las disposiciones generales con relación a la gestión de la calidad del agua para consumo humano, con la finalidad de garantizar su inocuidad, prevenir los factores de riesgos sanitarios, así como proteger y promover la salud y bienestar de la población. (DIGESA, 2011)

Ley de Recursos Hídricos N° 29338

La presente Ley tiene por finalidad regular el uso y gestión integrada del agua, la actuación del Estado y los particulares en dicha gestión, así como en los bienes asociados a esta. (Congreso de la República, 2017)

Ley General del Ambiente N° 28611

La presente Ley es la norma ordenadora del marco normativo legal para la gestión ambiental en el Perú. Establece los principios y normas básicas para asegurar el efectivo ejercicio del derecho a un ambiente saludable, equilibrado y adecuado para el pleno desarrollo de la vida, así como el cumplimiento del deber de contribuir a una efectiva gestión ambiental y de proteger el ambiente, así como sus componentes, con el objetivo de mejorar la calidad de vida de la población y lograr el desarrollo sostenible del país (Congreso de la República, 2005).

Artículo 31. Del Estándar de Calidad Ambiental

31.1 El Estándar de Calidad Ambiental - ECA es la medida que establece el nivel de concentración o del grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, presentes en el aire, agua o suelo, en su condición de cuerpo receptor, que no representa riesgo significativo para la salud de las personas ni al ambiente. Según el parámetro en particular a que se refiera, la concentración o grado podrá ser expresada en máximos, mínimos o rangos (Congreso de la República, 2005).

31.2 El ECA es obligatorio en el diseño de las normas legales y las políticas públicas. Es un referente obligatorio en el diseño y aplicación de todos los instrumentos de gestión ambiental. 31.3 No se otorga la certificación ambiental establecida mediante la Ley del Sistema Nacional de Evaluación del Impacto Ambiental, cuando el respectivo EIA concluye que la implementación de la actividad implicaría el incumplimiento de algún Estándar de Calidad Ambiental. Los Programas de Adecuación y Manejo Ambiental también deben considerar los Estándares de Calidad Ambiental al momento de establecer los compromisos respectivos. 31.4 Ninguna autoridad judicial o administrativa podrá hacer uso de los estándares nacionales de calidad ambiental, con el objeto de sancionar bajo forma alguna a personas jurídicas o naturales, a menos que se demuestre que existe causalidad entre su actuación y la transgresión de dichos estándares. Las sanciones deben basarse en el incumplimiento de obligaciones a cargo de las personas naturales o jurídicas, incluyendo las contenidas en los instrumentos de gestión ambiental (Congreso de la República, 2005).

Artículo 32. Del Límite Máximo Permisible

El Límite Máximo Permisible - LMP, es la medida de la concentración o del grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, que caracterizan a un

efluente o una emisión, que al ser excedida causa o puede causar daños a la salud, al bienestar humano y al ambiente. Su cumplimiento es exigible legalmente por la respectiva autoridad competente. Según el parámetro en particular a que se refiera, la concentración o grado podrá ser expresada en máximos, mínimos o rangos. D.S 031-2010 SA de los LMPs El Límite Máximo Permissible - LMP, es la medida de la concentración o grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, que caracterizan a un efluente o una emisión, que al ser excedida causa o puede causar daños a la salud, al bienestar humano y al ambiente. Su determinación corresponde al Ministerio del Ambiente. Su cumplimiento es exigible legalmente por el Ministerio del Ambiente y los organismos que conforman el Sistema Nacional de Gestión Ambiental. Los criterios para la determinación de la supervisión y sanción serán establecidos por dicho Ministerio. El LMP guarda coherencia entre el nivel de protección ambiental establecido para una fuente determinada y los niveles generales que se establecen en los ECA. La implementación de estos instrumentos debe asegurar que no se exceda la capacidad de carga de los ecosistemas, de acuerdo con las normas sobre la materia (Congreso de la República, 2005).

Decreto Supremo N° 004-2017- MINAM- ECAS

La presente norma tiene por objeto compilar las disposiciones aprobadas mediante el Decreto Supremo N° 002-2008-MINAM, el Decreto Supremo N° 023-2009-MINAM y el Decreto Supremo N° 015-2015-MINAM, que aprueban los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua, quedando sujetos a lo establecido en el presente Decreto Supremo y el Anexo que forma parte integrante del mismo. Esta compilación normativa modifica y elimina algunos valores, parámetros, categorías y subcategorías de los ECA, y mantiene otros, que fueron aprobados por los referidos decretos supremos. (MINAM, 2017).

DECRETO SUPREMO N° 004-2017-MINAM

DISPOSICIÓN COMPLEMENTARIA DEROGATORIA

Derógase el Decreto Supremo N° 002-2008-MINAM, el Decreto Supremo N° 023-2009-MINAM y el Decreto Supremo N° 015-2015-MINA:

- Estos estándares sirven o se utilizan para realizar sistemas de gestión de Ambiental en el País.
- Los ECA no están sujetos a fiscalización o sanción.
- Particularmente se distinguen de los LMP.

Tabla 1 Categoría 1: Poblacional y Recreacional

Subcategoría A: Aguas superficiales destinadas a la producción de agua potable

Parámetros	Unidad de medida	A1	A2	A3
Aguas que pueden ser potabilizadas con desinfección	ppm	Aguas que pueden ser potabilizadas con tratamiento convencional		
Cobre	mg/L	20	200	2000

Origen de la Biorremediación

Se ha descubierto que la biorremediación ya se utilizaba inconscientemente por los romanos desde el siglo VI a.C. aproximadamente, lo cual empleaban técnicas para limpiar las aguas residuales (Ruiz, 2017).

Inicialmente se dieron las primeras investigaciones a fines del año 1946, donde se evaluó el alcance de los microorganismos para degradar contaminantes, con el fin de utilizar métodos que contrarrestar la contaminación (Diaz et al, 2021).

A mediados del siglo XX Claude E. Zobell encontró en la naturaleza microorganismos que aprovechaban a los hidrocarburos como fuente de energía y carbono. En 1960 el hundimiento de un superpetrolero en el canal inglés, fue lo que causó que los científicos se centren más en investigar acerca de la contaminación derivada del petróleo (Diaz et al, 2021).

El científico norteamericano George M. Robinson inventó la biorremediación usando microorganismos. En la compañía Santa María de California trabajó como ingeniero petrolero y se dedicó a experimentar con microbios en muestras contaminadas con microbios en los años 60 (Diaz et al, 2021).

Evolución de la Biorremediación

Se usó por primera vez la ingeniería en biorremediación en Ambler, Pennsylvania (1972), para el tratamiento de derrames de oleoductos. En 1974 se patentó el primer método de biorremediación empleado en la limpieza de acuíferos contaminados con gasolina al señor Richard Raymond y el método de recirculación de nutrientes en el tratamiento en aguas subterráneas patentado por Dick Raymond (Oña y Gualoto, s.f.).

La degradación microbiana de los hidrocarburos se estudió fundamentalmente en el año 1981, se definieron los factores ambientales, como la cantidad de hidrocarburos a degradar, la disposición de oxígeno y nutrientes, los cuales contribuyen con el propósito de remediar los vertidos de petróleo (Oña y Gualoto, s.f.).

En el año 1990 se realizaba la biorremediación lo cual se llevaba a cabo con la técnica ex situ llevando muestras contaminadas al laboratorio para que sean remediadas y en el año

2000 evolucionó realizándose los trabajos de biorremediación dentro del lugar contaminado (in situ) (Oña y Gualoto, s.f.).

Objetivos de la Biorremediación

El objetivo, es estimular a los organismos vivos del medio con compuestos naturales o químicos para que puedan destruir o neutralizar los contaminantes tóxicos de un determinado ambiente, de esa manera transformándolos en sustancias menos tóxicas y mitigando el ecosistema contaminado (Cota et al, 2019)

Tipos de Biorremediación:

-Según el organismo empleado son 3:

- Degradación enzimática: se colocan las enzimas (a partir de bacterias modificadas o naturales) en el lugar contaminado para lograr degradarlas en sustancias más pequeñas que son menos tóxicas (Di Paola y Vicién, 2010).
- Remediación microbiana: se introducen los microorganismos (las bacterias son las más utilizadas) directamente en el foco de contaminación para limpiar el ambiente. Estos organismos vivos pueden provenir del mismo medio o de otros ecosistemas, si es necesario se administran nutrientes a estos con el fin de agilizar el proceso de degradación y reducir el riesgo ambiental (Di Paola y Vicién, 2010).
- Fitorremediación: se usan las plantas para limpiar sitios contaminados, además tiene varios beneficios como el bajo costo y la rapidez que tienen estas especies vegetales de absorber, acumular, metabolizar, volatizar,

remover o neutralizar las sustancias tóxicas presentes. (Di Paola y Vicién, 2010).

-Según la técnica utilizada son 6:

- Bioaumentación: es una práctica muy extensa y económica, donde se incrementan la población de microorganismos nativos de un ecosistema y añadiendo seres vivos adaptados selectivamente, los cuales tienen la finalidad de acelerar la biorremediación y reparar los daños, degradando compuestos que son no biodegradables (Di Paola y Vicién, 2010).
- Bioestimulación: en esta técnica se modifican las condiciones del suelo agregando nutrientes, para que la degradación de contaminantes se aplique de manera óptima (Di Paola y Vicién, 2010).
- Inoculación: se trata el suelo en el mismo lugar y sin excavarlo. Se agregan los microorganismos, nutrientes o minerales de manera que faciliten el desarrollo de la degradación en el lugar contaminado (Di Paola y Vicién, 2010).
- Land farming (cultivo de la tierra): se recupera el lugar contaminado mediante organismos propios del sitio, adicionando fertilizantes, estos son capaces de ser cultivados para que sea posible la degradación, otra manera de realizar esta técnica, es excavando el suelo y llevándolo a un lugar ya preparado donde se tratará la tierra, agregando nutrientes u organismos si fuera el caso que lo requiera (Di Paola y Vicién, 2010).
- Biopila: se mezcla el suelo preparado con condiciones adecuadas con el suelo contaminado, los cuales son vigilados por medio de aireación, es

una técnica donde se utiliza menor cantidad de equipos (Di Paola y Vicién, 2010).

- Biofiltro: frecuentemente consiste en recipientes (biorreactores) que son unas cápsulas confinadas donde existe gran control y los organismos son seleccionados de acuerdo a su capacidad de degradar ya que usualmente se tratan materiales peligrosos (Di Paola y Vicién, 2010).

-Según el lugar de realización son 2:

- In situ: los microorganismos utilizados son los que se encuentran directamente en el lugar contaminado donde se va a intervenir, como también se pueden añadir organismos específicos en el ecosistema contaminado.
- Ex situ: se remueve el sitio para retirar el contaminante y transportarlo a un lugar adecuado para que sea tratado fuera del lugar de su procedencia (Di Paola y Vicién, 2010).

Marco conceptual

Adsorción

La adsorción es una técnica utilizada para la remoción de una gran variedad de contaminantes, ya que tiene una alta capacidad de remediar y además presenta selectividad según el tipo de adsorbente que se usará (Sánchez, 2022). Además, se considera un método de conversión de masa, debido a que los residuos son transferidos ya sea por interacciones físicas o químicas según los sitios activos del adsorbente empleado. Algunas de las características que debe tener un buen adsorbente es que se necesite una gran área superficial,

una distribución correcta del tamaño de poro, grupos funcionales, polaridad adsorbente, ello determinará la calidad del proceso de adsorción (Pavón et al, 2021).

Cobre

El cobre es un metal que se utiliza en diversas actividades, principalmente en las extracciones mineras, producción que continúa en ascenso, ocasionando una acumulación excesiva para el medio ambiente. Este metal al combinarse con otros elementos se vuelve muy difícil de bioadsorber, generando acidez en los cuerpos de agua y suelo, en altas concentraciones el cobre en distintos ecosistemas ocasiona peligros irreversibles, perjudicando a las especies que se encuentran en él, además puede encontrarse en varios alimentos de forma natural ya que el organismo necesita de este metal, pero a concentraciones más altas de 100 mg afecta negativamente a los seres vivos, los más comunes son: el Sulfato de Cobre penta-hidrato ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), Acetato de Cobre ($\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$), Cianuro Cuproso (CuCN), Óxido Cuproso (Cu_2O), Cloruro Cúprico (CuCl_2), Óxido Cúprico (CuO) y Naftenato de Cobre ($[(\text{CH}_2)_n\text{COO}]_2\text{Cu}$). Estos al ser ingeridos puede ocasionar la muerte (Cruz et al, 2015)

Factores que influyen en la adsorción

Algunos factores que influyen en la bioadsorción son las altas concentraciones de los metales, muchas investigaciones obtuvieron resultados donde a medida que la concentración inicial del cobre aumenta el porcentaje de adsorción va disminuyendo. Asimismo, la superficie de las partículas varía de acuerdo con la relación del electrolito y el tipo de carga que existe. Un factor presente es el efecto del pH, ya que se considera un parámetro muy importante en el proceso de bioadsorción debido a que tiene un efecto directo en la solubilidad de los metales, es decir en la activación de los grupos funcionales; por ello, este

puede modificar la adsorción de los metales dependiendo de la biomasa utilizada. La determinación del tiempo es un factor que tiene en cuenta la cantidad adsorbida de cada metal por la biomasa utilizada en un tiempo (Fernández et al, 2018). También se tiene en cuenta la temperatura, ya que a medida que las reacciones del proceso de adsorción son exotérmicas el grado de adsorción será indiscutiblemente mayor al momento de disminuir la temperatura (Miguel-Gallo, 2017). Otros factores encontrados son el tamaño de la partícula y la presencia de otros iones, ya que coexisten diversos elementos relacionados los cuales pueden dificultar la remoción orientada a diferentes metales, algunos aniones más comunes son los sulfatos, los carbonatos, cloruros, fosfatos y algunos fluoruros que posibilitan la complejidad con los iones y dificulten el proceso (Moreno, 2018).

Saccharomyces Cerevisiae

La *Saccharomyces Cerevisiae* o también conocida como levadura de cerveza es un tipo de eucariota unicelular que pertenece al reino de los hongos, se tiene entendido que fue uno de los primeros en ser domesticado por el hombre, se considera una especie de hongo unicelular perteneciente al filo Ascomicota y a la clase de hemiascomicete-Saccharomicetales. Esta levadura ha sido empleada por más de un siglo en el ámbito de la repostería y la fabricación de cerveza, actualmente es utilizada para la producción de insulina, anticuerpos, albúmina y otras sustancias muy importantes para la humanidad, como también ha permitido dilucidar los mecanismos moleculares que ocurren durante un ciclo molecular en células eucariotas (Cajal, 2022). Se tiene un historial de las primeras aplicaciones en la producción de bebidas alcohólicas originario de China aproximadamente en los años 700 A.C y en el leudado en Egipto mucho antes de los años 500 A.C. Su proceso se lleva a cabo solo en la ausencia de oxígeno en el cual se consume el azúcar para poder

formar el alcohol. Asimismo, esta levadura posee características de transformación en el organismo eucariota, estas ventajas son sumadas en sus beneficios para el medio ambiente y la salud del ser humano. La levadura de cerveza se produce por un tipo de división asimétrica asignada como gemación, esto permite diferenciar entre una célula madre y una célula hija, también se puede mantener constante como un haploide, es decir una copia de información genética o un diploide, información genética duplicada, además de poseer solo un ciclo sexual que da paso al uso de herramientas de genética tradicionales (Coronel y Valdez, 2018).

1.2. Formulación del problema

¿Cuál es la eficiencia de la biorremediación de agua destilada contaminada por cobre mediante la aplicación de levadura de cerveza *Saccharomyces cerevisiae*?

1.3. Objetivos

General: Determinar la eficiencia de la biorremediación de agua destilada contaminada por cobre mediante la aplicación de levadura de cerveza.

Objetivos Específicos:

1. Realizar la evaluación de la biorremediación con levadura de cerveza en los 3 niveles de concentraciones de cobre (2000 ppm, 5000 ppm, 10000 ppm).
1. Determinar la efectividad de 4 distintas cantidades de biomasa viva y muerta (0,1g; 0,5 g; 1 g; 1,5 g) para la biorremediación de aguas contaminadas por cobre.

1.4. Hipótesis General

La levadura de cerveza reduce significativamente la concentración de cobre en aguas sintéticas contaminadas, con una eficiencia del 50% en todas las concentraciones evaluadas.

Hipótesis de Objetivo Específico 1:

La evaluación de la biorremediación aplicando levadura de cerveza determinara su efectividad en los 3 niveles de concentraciones de cobre (2000 ppm, 5000 ppm, 10000 ppm) presentes en el agua destilada contaminada por el metal.

Hipótesis de Objetivo Específico 2:

La efectividad de 4 distintas cantidades de biomasa viva y muerta (0,1g; 0,5 g; 1 g; 1,5 g) determinará su optimización para la biorremediación de agua destilada contaminada por cobre.

1.5. Justificación

La contaminación por cobre es un problema ambiental muy grave porque afecta la salud de las personas y la biodiversidad de los ecosistemas acuáticos. Este metal es utilizado ampliamente en distintas industrias, sin embargo, cuando el cobre es liberado en altas concentraciones produce un mal significativo, produciendo efectos negativos en los organismos vivos.

Por ello es de vital importancia desarrollar métodos ecológicos para eliminar el cobre de todas las aguas contaminadas donde se encuentra presente. El método de biorremediación para reducir la contaminación de cobre en ecosistemas acuáticos es una alternativa eficaz, prometedora, económica y amigable con nuestro medio ambiente ya que, los hongos que se utilizaron para descontaminar el agua destilada con cobre actuaron de manera positiva,

tolerando y acumulando altas concentraciones de este metal en su biomasa, de esta manera se logra disminuir la cantidad de cobre en los medios acuosos preparados.

Por otro lado, el método empleado sirve como tratamiento de agua destilada contaminada por cobre sin generar un impacto ambiental negativo. Por lo tanto, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* tiene un gran potencial para biorremediar agua destilada contaminada por cobre en diferentes concentraciones, en un orden de magnitud similar a los efluentes naturales en el que comúnmente empresas mineras, agrícolas, industriales y de medicina vierten sus residuos, por ello se puede reemplazar los métodos convencionales a un tratamiento biológico para contribuir con estrategias para el manejo sustentable de los recursos hídricos y la protección del ambiente.

CAPÍTULO II: METODOLOGÍA

2.1. Tipo y diseño de investigación

El tipo de investigación fue de tipo aplicada ya que, se busca aplicar toda la teoría existente en situaciones reales en la práctica directamente para comprobar su accionar en cada contexto en específico determinado (Cegarra, 2011).

El diseño es experimental, se refiere a la manipulación controlada de las variables que influyen en el fenómeno de estudio, en este caso, la biorremediación por levadura de cerveza. El diseño experimental, permite analizar el efecto de varios factores y sus interacciones sobre la variable respuesta, en este caso, la concentración final de cobre en el agua. Los factores estudiados fueron la concentración inicial de cobre, el tiempo y la relación masa/volumen de agua contaminada.

Además, la presente investigación fue de enfoque cuantitativo, que consiste en la realización, desarrollo y recolección de información relevante para los resultados de la investigación mediante datos numéricos que servirán para una posterior interpretación a través del análisis del propio investigador, producto de la información encontrada que ayudará a contrastarse con lo mencionado en los antecedentes planteados (Quezada, 2021).

1.2. Población y muestra

La población y muestra de esta investigación fue conformada por el agua destilada contaminada por cobre la cual fue compuesta por: 4 L de agua destilada + $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (reactivo) como simulación de los medios acuosos contaminados con metales.

2.3. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos y procedimiento

Equipos y materiales:

- Balanza digital OHAUS
- Campana de Flujo Laminar Cruma FL-1 CRFL1
- Agitador magnético Stir Station Vernier
- Vaso precipitado 500 ml
- Matraz Erlenmeyer 500 ml
- Placas Petri
- Tubos de ensayo
- Luna de reloj
- Espectrofotómetro Thermo Scientific Orion AquaMate 8000 UV-Vis
- Mechero
- Incubadora de convección Daihan Scientific ThermoStable SIF - 50
- Estufa digital Ecocell LSIS-B2V/ EC 111
- Pipeta
- Centrífuga Centrifuge PLC-03 series
- Autoclave Fravill AVDA30
- Espátula de drigalsky y cucharita de metal
- Agar Papa Dextrosa (APD)
- Metal (sulfato de cobre)
- Formaldehído al 40%
- Levadura de cerveza industrial (*S.cerevisiaea*)

- Papel de aluminio
- Gasa
- Algodón
- Hilo pabilo
- Papel toalla
- Papel filtro Whatman

-Técnicas:

1) Adsorción: Para la captación del cobre dentro de la solución se utilizó la técnica de adsorción, donde la levadura de cerveza *Saccharomyces cerevisiae* entra en contacto con el cobre dentro de la solución contaminada, lo cual este metal se adhiere a la levadura mediante la captación de la pared celular.

2) Espectrofotometría de Absorción Atómica: Es una técnica analítica instrumental donde un átomo absorbe luz a longitudes de ondas específicas, donde se utilizó el espectrofotómetro Thermo Scientific Orion AquaMate 8000 UV-Vis. De esta manera, analizamos las muestras contaminadas con sulfato de cobre a una longitud de onda de 815 nm, la cual sirvió para obtener la absorbancia y a su vez permitió la evaluación del cambio de las concentraciones.

-Instrumentos para la recolección de datos:

1) Hoja de cálculo de recopilación de datos: se utilizó el programa de Excel para registrar los resultados de absorbancia obtenidos del espectrofotómetro,

seguidamente se analizaron los datos para realizar los cálculos de la concentración y hallar la eficiencia, lo cual se utilizó tablas, gráficos, cuadros y fórmulas.

PRUEBA DE LEVADURA MUERTA Y VIVA

Paso 1: Esterilización de materiales

Se inició forrando con papel Kraft las 20 placas Petri, el vaso precipitado, el matraz, el gotero y la espátula de Drigalsky, posteriormente se rotula cada material para poder llevarlo a la autoclave y se esterilicen durante 15 minutos a 120 °C con presión de 15 Pa.

Paso 2: Preparación del medio de cultivo

Empezamos pesando 7.8 g del Agar Papa Dextrosa, seguidamente se depositó en un matraz de 500 ml y se agregó 200 ml de agua desionizada, para que se pueda diluir completamente nos ayudamos con un mechero a 50 °C por 1 minuto. Luego, el matraz ya listo se llevó a la autoclave por 15 minutos a 120 °C con 15 Pa. Cumpliendo el tiempo establecido, se llevó el matraz a la Campana de Flujo Laminar con las 20 placas Petri esterilizadas para realizar el vaciado libre de contaminación. El vaciado de cada placa fue midiendo 0,5 cm de altura.

Paso 3: Preparación de la levadura

Se realizó el peso de 5 g de *Saccharomyce c.* y 5 g de sacarosa (nutriente), seguidamente se mezcló 100 mL de agua desionizada en un vaso precipitado, lo cual se colocó en un agitador magnético y se mantuvo con agitación constante de 100 rpm durante

10 minutos. La mezcla después de ser diluida a 30 °C fue llevada a la Cámara de Flujo para su reposo.

Paso 4: Sembrado de levadura

El sembrado se llevó a cabo dentro de la Campana de Flujo Laminar, siempre con la ayuda de un mechero para desinfectar todo material a utilizar. Se repitió el mismo procedimiento en las 20 placas. Con ayuda de un gotero se inició dejando caer tres gotas de la mezcla de levadura con la sacarosa en la placa con el medio de cultivo, enseguida con la espátula de Drigasky (flameada con mechero) se esparció la mezcla por toda el área y se finalizó cerrando la placa previamente flameada para evitar que se contamine el sembrado (repetir con las 19 placas restantes). Para terminar, se llevó a incubación por 4 días en una incubadora de convención a 25 °C lo cual es el tiempo estimado para la reproducción de biomasa activa, lista para su posterior uso.

Paso 5: Separación de la levadura

La levadura que se encuentran en las 20 placas Petri se retiró de la incubadora, solo 10 de ellas fueron neutralizadas formándose biomasa muerta, las otras 10 se dejaron para los ensayos con biomasa viva. De estas placas seleccionas se separó los hongos del Agar Papa Dextrosa con una cucharita de metal y se acondicionó dentro de 3 tubos de ensayo respectivamente.

Paso 6: Preparación de Formaldehído

En una probeta se agregó 99 mL de agua desionizada, luego con una pipeta se añadió 1 mL de formaldehído al 40%. Al mezclar estas dos sustancias se obtuvo 100 mL de formaldehído al 1%.

Paso 7: Muerte y secado de la biomasa

La levadura activa que se encuentra en los tubos de ensayo se le agregó 10 mL de agua desionizada en cada tubo, lo cual fueron llevados a la centrífuga durante 2 minutos con 50 rpm donde se realizó la separación y se removió completamente los residuos. Posteriormente se retiró los tubos de la centrífuga y se vertió el agua desionizada para que solo quede la biomasa de levadura en la parte inferior, luego se añadió 10 mL de formaldehído al 1% a los tubos de ensayo y esta quedó inmersa durante 2 min dentro de la centrífuga. Seguidamente se realizó un segundo lavado con 10 mL de agua desionizada para retirar el excedente de formaldehído, y luego de este proceso la levadura muerta se colocó dentro de una placa Petri con ayuda de una cucharita de metal, lo cual en una placa se obtuvo 0.94 g de levadura semi sólida y en la segunda 2,9 g, estas fueron llevadas a la estufa digital a 65 °C por 24 horas, con el fin de secarla completamente.

Paso 8: Preparación de concentración de Cobre

Procedimiento para agua destilada contaminada en laboratorio con cobre total a 2000 ppm:

Se analizó la formulación del sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) ya que en su composición se tiene cobre total (Cu), este compuesto posee un peso molar de 249,5 g/mol donde el 25,5 % de este peso corresponde al cobre total, donde se realizó los cálculos que

por cada 249,5 g/mol de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ se tuvo 63,5 g/mol de Cu, seguidamente Para una concentración 2000 ppm de Cu: **¿Cuánto necesitaremos de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$?**

Cálculo de la concentración:

$$ppm = \frac{mg \text{ (soluto)}}{\text{volumen solución (Litros)}}$$

Convirtiendo a gramos la concentración de 2000 ppm por litro se necesitó 2 g. De esa manera se calculó que para tener 2 g de cobre total se necesitó por proporción 7.858 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Entonces el soluto fue de 7,85 g para tener una concentración de 2000 ppm de "cobre" en un litro de agua destilada. Convenientemente para 500 mL de agua se utilizó 3.93 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Esta mezcla fue llevada a cabo dentro de un vaso precipitado, donde se utilizó las $\frac{3}{4}$ partes de agua para diluir seguidamente se añadió la $\frac{1}{4}$ parte faltante, para completar se diluyó con ayuda de un agitador magnético a 800 rpm por 15 minutos a temperatura ambiente.

Paso 9: Preparación de disoluciones contaminadas.

Para la obtención de concentraciones convenientemente se utilizó 500 mL de agua y 3,93 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, estos pesos fueron mezclados para obtener una concentración de 2000 ppm. Así mismo, para la generación de las muestras siguientes de 5000 ppm y 10000 ppm se utilizó 9,825 g y 19,65 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, para cada disolución se agregó 500 mL de agua destilada, dentro de matraces de la misma capacidad, seguidamente se mezcló con el agitador magnético a 1500 rpm. Donde quedaron listas para interactuar con las biomasas vivas y muertas.

Paso 10: Obtención de longitud de onda óptima para lo toma de corridas

Para hallar una correcta absorción analizaremos la longitud de onda más adecuada para una muestra de concentración stock de 2000 ppm, donde se evaluó entre los intervalos de 600 nm a 1100 nm, teniendo en cuenta que estos valores pertenecen al rango de color de nuestro metal a evaluar $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, utilizamos el espectrofotómetro y la opción barrido partiendo desde un blanco, se encontró un máximo para los 815 nm de absorción, longitud de onda que utilizamos para la toma de corridas.

Paso 11: Elaboración de línea de calibración y ecuación de la recta para la concentración.

Preparamos la línea de calibración a partir de valores conocidos, donde se utilizó la ecuación de la recta como medio que definirán los cambios en la concentración, se tuvo una ecuación lineal de valores correlacionales gracias a la evaluación de diluciones previamente establecidas de 1000 ppm a 10 000 ppm de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ como las muestras a analizar, esto fue posible al usar el espectrofotómetro como instrumento de estudio, donde se enfatizó en la numeración de absorbancia como principal valor proporcional. A su vez la varianza debía tener un valor máximo de $1 <$ y mínimo $> 0,999$, estos datos apoyan la veracidad del método experimental, concluyendo con la ecuación lineal que nos permitirá calcular las siguientes concentraciones pertenecientes a las futuras absorbancias del estudio.

Paso 12: Agua destilada contaminada con biomasa muerta en contacto

Con la biomasa de 3,8 g que se obtuvo en el cultivo anterior, se dividió en pesos de 0,5 g, 1 g y 1,5 g, cantidades destinadas para las muestras de 500 mL con Cu, para su

interacción controlada por intervalos de tiempos de 15, 30, 45, 60, 90, 120 minutos. Donde se empezó con la solución de 500 ml de cobre a 2000 ppm, la cual entró en contacto desde el minuto cero con una biomasa de 0,5 gramos, a su vez esta muestra fue evaluada inicialmente por el espectrofotómetro, calculando una absorción antes de entrar en contacto con la biomasa, este dato fue comparado con las siguientes corridas, así mismo, se replicó para los intervalos hasta llegar al tiempo de 1 hora donde se filtró parte de la muestra, a estas partes les llamamos alícuotas, puesto que solo se tomó 100 mL del total, siguiendo con las corridas para 90 minutos la misma alícuota se centrifugó para su evaluación, así para terminar a los 120 minutos se filtró y centrifugó como última corrida a evaluar, estos resultados fueron analizados y comparados donde se tomaron en cuenta los más favorables. Finalmente, se duplicó el procedimiento para un mayor alcance y conseguir un menor margen de error.

Paso 13: Corridas de levadura muerta y recopilación de datos

Posteriormente se recopiló los datos de absorción obtenidos de la interacción con levadura inerte, las cuales se repartió en muestras de 250 mL de agua contaminada con 0.1, 0,5, 1, 1,5 gramos respectivamente, donde la biomasa entro en con contacto con muestras de concentración stock de 2000, 5000, 10000 ppm relacionadas al tiempo de contacto. Se separó en alícuotas de 10 ml puestos en tubos de ensayos, con estas muestras se llenó cubetas de 5 mL cada una para su análisis en el espectrofotómetro Thermo Scientific Orion AquaMate 8000 UV-Vis, previamente se estableció una longitud de onda de 815 nm, donde primero se toma el blanco para calibrar y segundo la absorción de la muestra contaminada, estos datos se recopilaron para posteriormente ser agrupados en cuadro de doble entrada, donde se facilita su análisis y comparación.

Paso 14: Separación de la levadura

Con el cultivo de las 10 placas separadas anteriormente (descritas en el paso 5), se acondicionadas en tubos de ensayos de 10 mL respectivamente. Las cuales fueron enjuagadas con 3 mL de agua desionizada para extraer el sobrante del agar. De esa manera poder obtener la biomasa y realizar las corridas con levadura viva.

Paso 15: Corridas de levadura viva y recopilación de datos

Posteriormente se recopiló los datos de absorción obtenidos de las corridas con levadura activa, las cuales se repartió en muestras de 250 mL de agua destilada contaminada con 0,1, 0,5, 1, 1,5 gramos respectivamente, donde cada volumen contaba con una concentración stock de 2000, 5000, 10000 ppm. Las tomas de cada corrida se realizaron en tiempos de 15 minutos, estas se separaban en alícuotas de 10 mL puestos en tubos de ensayos, con estas muestras se llenó cubetas de 5 mL cada una para su análisis en el espectrofotómetro Thermo Scientific Orion AquaMate 8000 UV-Vis, donde previamente se estableció una longitud de onda de 815 nm, donde primero se toma el blanco para calibrar y segundo la absorción de la muestra, estos datos se recopilaron para la posterior tabulación en un cuadro de doble entrada y así facilitar su análisis.

Paso 16: Análisis de datos

Se tomo en cuenta los datos con mayor cambio de absorbancia respecto a su disminución de la absorción inicial. A partir de las 7 corridas evaluadas por cada prueba donde se seleccionó las 3 últimas corridas con tiempos de 60 min, 90 min y 120 min. Seguidamente con cada dato de absorbancia seleccionada se calculó su concentración,

reemplazando en la ecuación de la recta ya establecida previamente en el paso 11, estos datos se llevaron a analizar en grupos, teniendo en cuenta la concentración inicial y la cantidad de biomasa en interacción. Posteriormente poder determinar la concentración final más favorable.

Paso 17: Cálculo de la eficiencia

Con la concentración final del paso 16 se reemplazó en la fórmula de cálculo de la eficiencia para encontrar el porcentaje más favorable para cada prueba, donde se tuvo en cuenta la variación de resultados de eficiencia por cada biomasa y concentración, finalmente se eligió los porcentajes óptimos para demostrar que el presente trabajo de investigación es una opción eco amigable para la remediación de agua destilada contaminada por metales como el cobre.

Cálculo de la eficiencia de bioadsorción

La eficiencia de bioadsorción (EBA) se determinó con la siguiente ecuación:

$$EBA = \frac{[Cu_0] - [Cu_f]}{[Cu_0]} \times 100\%$$

Dónde: Cu₀ = concentración de cobre inicial en la solución acuosa; Cu_f = concentración de cobre final en la solución acuosa.

-Aspectos éticos: En el presente trabajo de investigación se ha recopilado información de distintas fuentes como, libros, tesis, artículos científicos, repositorios, bibliotecas virtuales de diversas páginas confiables, donde se ha recolectado toda la información y se ha respetado los derechos de autor al momento de realizar las citas

correspondientes respetando las normas APA 7ma edición. Además, se tuvo consideración la ética medio ambiental, resaltando el respeto hacia los ecosistemas contaminados, ya que por los distintos daños ambientales encontrados, se buscó una alternativa de solución para remediar tales desastres y conservar los ríos afectados, de esa manera también aplicamos el valor de la responsabilidad con nuestras áreas naturales, al tener todas las intenciones de hacernos responsables de los impactos negativos generados, lo cual las empresas que vierten sus residuos en los ríos y lo contaminan, también deberían hacerse responsables y tomar conciencia, al buscar técnicas que puedan remediar sus acciones para que exista una buena calidad de vida para las futuras generaciones.

CAPÍTULO III: RESULTADOS

RESULTADO 1: Evaluación de la biorremediación con levadura de cerveza en los distintos niveles de concentraciones de cobre.

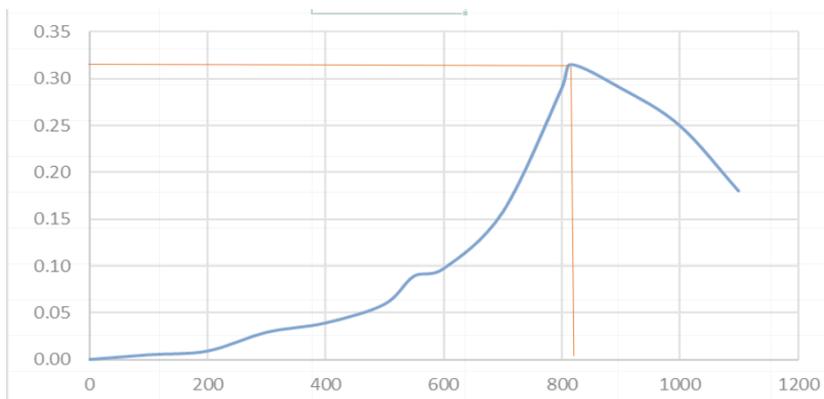
En la tabla 2 se muestra los intervalos para la obtención de la longitud de onda adecuada, para los ensayos de las corridas siguientes, donde se utilizó como concentración stock a 2000 ppm de sulfato de cobre. Teniendo en cuenta los datos de colorimetría para el cobre azulado. Por otro lado, en la figura 1 el espectro adecuado para realizar las corridas o tomar resultados más adecuados es de 815 nm, frente a las diferentes longitudes donde la mayor absorbancia fue de 0,315.

Tabla 2 Lectura de absorbancia respecto a la longitud de onda

Longitud de onda(nm)	Absorbancia
600	0,097
700	0,157
800	0,289
815	0,315
900	0,290
1000	0,250
1100	0,180

Nota: Los valores dados corresponden a la colorimetría establecida para (CusO4).

Figura 1 cinética de crecimiento de absorbancia vs longitud de onda.



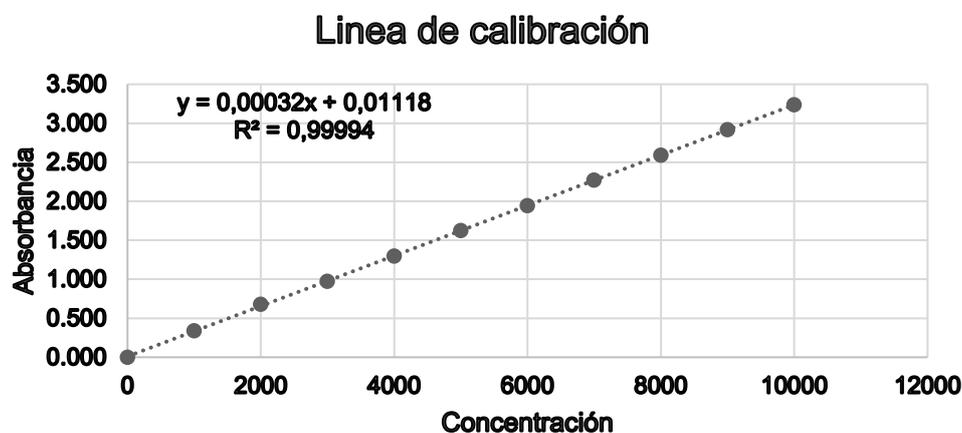
En la tabla 3 se muestra los valores para la obtención de la línea de calibración, estos puntos se unen mediante una recta formando una línea de tendencia con pendiente, donde se obtuvo una ecuación para absorción frente a una concentración establecida, las cuales fueron de 0 a 10000 ppm, determinados por medio de una dilución continua. Por otro lado, en la figura 2 el esquema representa la linealidad de los valores de absorbancia, donde se determinó la ecuación adecuada por presentar un $R^2 = 0,99994$.

Tabla 3 Lectura de absorbancia promedio de solución de sulfato de cobre

Concentración (Cu) ppm	Absorbancia
0	0,000
1000	0,337
2000	0,678
3000	0,973
4000	1,297
5000	1,624
6000	1,942
7000	2,269
8000	2,590
9000	2,919
10000	3,237

Nota: Cada concentración fue determinada anteriormente y evaluado por el espectro a una longitud de onda de 815 nm.

Figura 1 Curva de calibración de Sulfato de Cobre



Nota: Se observa la curva de calibración de sulfato de cobre y donde se obtuvo un valor de $R^2 = 0,99994$, lo cual aseguran la certeza del ajuste de los puntos experimentales a la recta de calibrado. Así mismo, se estableció el modelo correspondiente a la curva de calibración $y = 0,00032x + 0,01118$, el cual permite encontrar cualquier valor de Cu desde una absorbancia determinada.

En la tabla 4 se muestran los resultados de las corridas realizadas con levadura muerta para la variación de absorbancia, donde las biomásas de 0,1, 0,5, 1, 1,5, gramos entraron en contacto con las soluciones de cobre al 2000 ppm, 5000 ppm y 10000 ppm de concentración, las corridas se llevaron a cabo en intervalos de tiempo de 0 a 120 min por cada 15 minutos, tomando alícuotas de 10 mL por corrida de las cuales se analizó 3 mL por triplicado con ayuda de una cubeta, donde se verificó que al pasar un tiempo mayor de 60 minutos la absorbancia disminuye considerablemente, donde se resaltó las características de estas últimas evaluaciones, pues se consideró un tratamiento previo de centrifugado, filtrado y centrifugado más filtrado. Estos aspectos conllevaron a un mejor y mayor alcance de la levadura para adsorber el metal. Este mismo procedimiento se replicó en la tabla 5 donde se cambió la levadura muerta por levadura viva. Teniendo en cuenta un cuidado especial para el manejo de la biomasa viva.

Tabla 4 Determinación de absorbancia para corridas con levadura muerta

Levadura muerta	Concentración (ppm)	2000				5000				10000			
	Biomasa (g)	0,1	0,5	1	1,5	0,1	0,5	1	1,5	0,1	0,5	1	1,5
Tiempo (min)		ABSORBANCIA											
	0	0,686	0,686	0,686	0,686	1,587	1,587	1,587	1,587	3,212	3,212	3,212	3,212
	15	0,566	0,511	0,551	0,521	1,332	1,342	1,377	1,277	2,877	2,852	2,849	2,862
	30	0,515	0,435	0,473	0,423	1,182	1,082	1,112	1,172	2,532	2,483	2,617	2,581
	45	0,461	0,364	0,484	0,375	0,932	0,852	0,972	0,882	2,182	2,171	2,174	2,177
Centrifugado	60	0,359	0,348	0,328	0,317	0,882	0,767	0,856	0,801	1,932	1,687	1,577	1,627
Filtrado	90	0,321	0,327	0,315	0,277	0,732	0,644	0,744	0,759	1,882	1,565	1,562	1,482
Centrifugado + filtrado	120	0,285	0,258	0,279	0,263	0,715	0,508	0,697	0,677	1,432	1,510	1,447	1,349

Nota: El procedimiento del centrifugado + filtrado fue el más óptimo.

Tabla 5 Determinación de absorbancia para corridas con levadura viva

Levadura viva	Concentración (ppm)	2000				5000				10000			
	Biomasa (g)	0,1	0,5	1	1,5	0,1	0,5	1	1,5	0,1	0,5	1	1,5
Tiempo (min)		ABSORBANCIA											
	0	0,680	0,680	0,680	0,680	1,616	1,616	1,616	1,616	3,223	3,223	3,223	3,223
	15	0,700	0,679	0,670	0,590	1,566	1,511	1,251	1,321	2,982	2,787	2,990	3,107
	30	0,650	0,642	0,652	0,582	1,215	1,235	1,273	1,223	1,914	2,114	2,133	2,123
	45	0,500	0,532	0,532	0,512	0,961	0,964	0,997	0,988	1,802	1,923	1,953	1,923
Centrifugado	60	0,450	0,517	0,477	0,645	0,759	0,778	0,758	0,737	1,776	1,774	1,870	1,675
Filtrado	90	0,400	0,492	0,382	0,422	0,481	0,427	0,425	0,427	1,677	1,653	1,587	1,464
Centrifugado + filtrado	120	0,350	0,467	0,247	0,282	0,450	0,350	0,389	0,393	1,350	1,272	1,250	1,157

Nota: El procedimiento del centrifugado + filtrado fue el más óptimo.

En la Tabla 6, Tabla 7, Tabla 8 y Tabla 9 se colocó los valores más sobresalientes de absorbancia de la Tabla 4 respecto a las soluciones de cobre con biomasa muerta de (0,1 g; 0,5 g; 1 g; 1,5g), donde se produjo una mayor disminución del valor inicial de absorbancia para los tiempos de 60, 90 y 120 minutos, finalmente se calculó la concentración final mediante el uso de la línea de tendencia, donde se interpoló haciendo uso de la ecuación de

la recta con los valores ya conocidos de absorbancia para hallar sus respectivas concentraciones.

Tabla 6 Cálculo de concentración final con 0,1 g de biomasa muerta.

Biomasa muerta	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración inicial (ppm)	Concentración final (ppm)
0,1 g	0,686	0,359	2000	1086,938
	0,686	0,321	2000	968,188
	0,686	0,285	2000	855,688
	1,587	0,882	5000	2721,313
	1,587	0,732	5000	2252,563
	1,587	0,715	5000	2199,438
	3,212	1,932	10000	6002,563
	3,212	1,882	10000	5846,313
	3,212	1,432	10000	4440,063

Nota: Se tomó los 3 valores más sobresalientes de cada corrida para la prueba con levadura muerta de 0,1 g, donde relacionaremos los cambios de absorbancia con los cambios de concentración. Apoyados en la ecuación de la recta permitiéndonos verificar la eficacia al momento de reducir la concentración inicial con la toma final.

Tabla 7 Cálculo de concentración final con 0,5 g de biomasa muerta.

Biomasa muerta	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración inicial (ppm)	Concentración final (ppm)
0,5 g	0,686	0,348	2000	1052,5625
	0,686	0,327	2000	986,9375
	0,686	0,258	2000	771,3125
	1,587	0,767	5000	2361,9375
	1,587	0,644	5000	1977,5625
	1,587	0,508	5000	1552,5625
	3,212	1,687	10000	5236,9375
	3,212	1,565	10000	4855,6875
	3,212	1,510	10000	4683,8125

Nota: Tomamos los valores más sobresalientes de cada corrida para la prueba con levadura muerta de 0,5 g, donde relacionaremos los cambios de absorbancia con los cambios de concentración. Apoyados en la ecuación de la recta permitiéndonos verificar la eficacia al momento de reducir la concentración inicial con la toma final.

Tabla 8 Cálculo de concentración final con 1 g de biomasa muerta.

Biomasa muerta	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración inicial (ppm)	Concentración final (ppm)
1 g	0,686	0,328	2000	990,0625
	0,686	0,315	2000	949,4375

0,686	0,279	2000	836,9375
1,587	0,856	5000	2640,0625
1,587	0,744	5000	2290,0625
1,587	0,697	5000	2143,1875
3,212	1,577	10000	4893,1875
3,212	1,562	10000	4846,3125
3,212	1,447	10000	4486,9375

Nota: Tomamos los valores más sobresalientes de cada corrida para la prueba con levadura muerta de 1 g, donde relacionaremos los cambios de absorbancia con los cambios de concentración. Apoyados en la ecuación de la recta permitiéndonos verificar la eficacia al momento de reducir la concentración inicial con la toma final.

Tabla 9 Cálculo de concentración final con 1,5 g de biomasa muerta.

Biomasa muerta	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración inicial (ppm)	Concentración final (ppm)
1,5 g	0,686	0,317	2000	955,6875
	0,686	0,277	2000	830,6875
	0,686	0,263	2000	786,9375
	1,587	0,801	5000	2468,1875
	1,587	0,759	5000	2336,9375
	1,587	0,677	5000	2080,6875
	3,212	1,627	10000	5049,4375
	3,212	1,482	10000	4596,3125
	3,212	1,349	10000	4180,6875

Nota: Tomamos los valores más sobresalientes de cada corrida para la prueba con levadura muerta de 1,5 g, donde relacionaremos los cambios de absorbancia con los cambios de concentración. Apoyados en la ecuación de la recta permitiéndonos verificar la eficacia al momento de reducir la concentración inicial con la toma final.

En la Tabla 10, Tabla 11, Tabla 12 y Tabla 13 se colocó los valores más sobresalientes de absorbancia de la Tabla 5 respecto a las soluciones de cobre con biomasa viva de (0,1 g; 0,5 g; 1 g; 1,5g), donde se produjo una mayor disminución del valor inicial de absorbancia para los tiempos de 60, 90 y 120 minutos, finalmente se calculó la concentración final mediante el uso de la línea de tendencia, donde se interpolo haciendo uso de la ecuación de la recta con los valores ya conocidos de absorbancia para hallar sus respectivas concentraciones.

Tabla 10 Cálculo de concentración final con 0,1 g de biomasa viva.

Biomasa viva	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración inicial (ppm)	Concentración final (ppm)
0,1 g	0,68	0,450	2000	1371,313
	0,68	0,400	2000	1215,063
	0,68	0,350	2000	1058,813
	1,616	0,759	5000	2336,938
	1,616	0,481	5000	1468,188
	1,616	0,45	5000	1371,313
	3,223	1,776	10000	5515,063
	3,223	1,677	10000	5205,688
	3,223	1,350	10000	4183,813

Nota: Tomamos los valores más sobresalientes de cada corrida para la prueba con levadura viva de 0,1 g, donde relacionaremos los cambios de absorbancia con los cambios de concentración. Apoyados en la ecuación de la recta permitiéndonos verificar la eficacia al momento de reducir la concentración inicial con la toma final.

Tabla 11 Cálculo de concentración final con 0,5 g de biomasa viva.

Biomasa viva	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración inicial (ppm)	Concentración final (ppm)
0,5 g	0,68	0,517	2000	1580,688
	0,68	0,492	2000	1502,563
	0,68	0,467	2000	1424,438
	1,616	0,778	5000	2396,313
	1,616	0,427	5000	1299,438
	1,616	0,350	5000	1058,813
	3,223	1,774	10000	5508,813
	3,223	1,653	10000	5130,688
	3,223	1,272	10000	3940,063

Nota: Tomamos los valores más sobresalientes de cada corrida para la prueba con levadura viva de 0,5 g, donde relacionaremos los cambios de absorbancia con los cambios de concentración. Apoyados en la ecuación de la recta permitiéndonos verificar la eficacia al momento de reducir la concentración inicial con la toma final.

Tabla 12 Cálculo de concentración final con 1 g de biomasa viva.

Biomasa viva	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración inicial (ppm)	Concentración final (ppm)
1 g	0,68	0,477	2000	1455,688
	0,68	0,382	2000	1158,813
	0,68	0,247	2000	736,938
	1,616	0,758	5000	2333,813

1,616	0,425	5000	1293,188
1,616	0,389	5000	1180,688
3,223	1,870	10000	5808,813
3,223	1,587	10000	4924,438
3,223	1,250	10000	3871,313

Nota: Tomamos los valores más sobresalientes de cada corrida para la prueba con levadura viva de 1 g, donde relacionaremos los cambios de absorbancia con los cambios de concentración. Apoyados en la ecuación de la recta permitiéndonos verificar la eficacia al momento de reducir la concentración inicial con la toma final.

Tabla 13 Cálculo de concentración final con 1,5 g de biomasa viva.

Biomasa viva	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración inicial (ppm)	Concentración final (ppm)
1,5 g	0,68	0,645	2000	1980,688
	0,68	0,422	2000	1283,813
	0,68	0,282	2000	846,313
	1,616	0,737	5000	2268,188
	1,616	0,427	5000	1299,438
	1,616	0,393	5000	1193,188
	3,223	1,675	10000	5199,438
	3,223	1,464	10000	4540,063
	3,223	1,157	10000	3580,688

Nota: Tomamos los valores más sobresalientes de cada corrida para la prueba con levadura viva de 1,5 g, donde relacionaremos los cambios de absorbancia con los cambios de concentración. Apoyados en la ecuación de la recta permitiéndonos verificar la eficacia al momento de reducir la concentración inicial con la toma final.

Estos resultados cumplen con la hipótesis planteada del objetivo específico 1, ya que la biorremediación aplicada con levadura de cerveza determinó una efectividad positiva para distintos niveles de concentración, como se puede observar en los resultados obtenidos de las tablas anteriores lo cual indican que hay disminución en la concentración final, gracias a los ensayos realizados con levadura muerta y viva que adsorbieron el metal del agua contaminada. Finalmente, estos resultados son un ejemplo de la capacidad de adsorción de la levadura *Saccharomyces Cerevisiae* demostrando en la presente investigación su eficacia.

RESULTADO 2: Biomasa viva y muerta para la biorremediación de agua destilada contaminada por cobre.

En la tabla 14 y 15, se menciona la biomasa de 0,5 gramos que tuvo mayor capacidad de adsorción frente al contacto con el metal (Cu), esta biomasa fue evaluada previamente frente a otros pesos como 0,1, 1, 1,5 gramos, estos valores fueron rescatados de una revisión bibliográfica previa mencionado en los antecedentes además se puso a prueba experimentalmente donde la biomasa con mayor efecto de bioadsorción frente al metal contaminante fue de 0,5 gramos tanto en levadura inactiva y viva.

Tabla 14 Determinación de la concentración óptima por biomasa muerta.

Biomasa	Tiempo (min)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración Inicial (ppm)	Concentración Final (ppm)	Eficiencia (%)
0,5	60	0,686	0,348	2000	771,3125	61,43
	90	0,686	0,327			
	120	0,686	0,258			
	60	1,587	0,767	5000	1552,5625	68,95
	90	1,587	0,644			
	120	1,587	0,508			
	60	3,212	1,687	10000	4683,8125	53,16
	90	3,212	1,565			
	120	3,212	1,510			

Nota: Se estableció que para la biomasa muerta de 0,5 gramos la eficiencia es positiva con un valor máximo de 70 % respectivamente.

Tabla 15 Determinación de la concentración óptima por biomasa viva

Biomasa	Tiempo (min)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración Inicial (ppm)	Concentración Final (ppm)	Eficiencia (%)
0,5	60	0,680	0,517	2000	1424,438	28,78
	90	0,680	0,492			
	120	0,680	0,467			
	60	1,616	0,778	5000	1058,813	78,88
	90	1,616	0,427			
	120	1,616	0,350			
	60	3,223	1,774	10000	3940,063	60,6
	90	3,223	1,653			

120 **3,223** **1,272**

Nota: Se estableció que para la biomasa viva de 0,5 gramos la eficiencia es positiva con un valor máximo de 80 % respectivamente.

Estos resultados obtenidos cumplen con la hipótesis del objetivo específico 2, ya que, para tres tipos de ensayos realizados con diferentes biomasa donde a 5000 ppm de concentración y a los 60, 90 y 120 minutos de tiempo transcurrido la concentración disminuyó en un 78,88 % aproximadamente. De estos ensayos la cantidad de biomasa en peso gramos más eficiente fue de 0,5, la cual resaltó en función a la capacidad de retener metal y a su vez generar un cambio de concentración final. Lo cual se obtuvo un tiempo adecuado de 120 minutos de contacto de la biomasa con el metal, por ende, la eficiencia de adsorción será máxima. Estos resultados comprueban la optimización para la biorremediación de agua destilada contaminada por cobre.

RESULTADO 3: Eficiencia de la biorremediación de agua destilada contaminada por cobre mediante la aplicación de levadura de cerveza.

En la tabla 16 y tabla 17 se encontró mayor eficiencia respectivamente, con la concentración de 5000 ppm de Cu mezclada con 0,5 g de biomasa a 120 minutos de contacto, donde la concentración final fue de 1058,813 ppm, al calcular se obtuvo una capacidad de remoción del 80 % aproximadamente. La cantidad de peso ideal dentro de los ensayos realizados con 0,1, 0,5 y 1 gramos, fue de 0,5 gramos, donde se estableció un tiempo óptimo de contacto donde resalta de los demás el de 120 minutos, a su vez la concentración del contaminante influye en los resultados más positivos, cabe resaltar que no se consideró la biomasa de 1,5 gramos ya que la absorbancia no fue favorable obteniendo una eficiencia menor al 40%, como se puede observar con la biomasa de 1 gramo dando una eficiencia del 45%.

Tabla 16 Concentración y porcentaje óptimo de Cu removido por levadura viva

Biomasa	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración Inicial (ppm)	Concentración Final (ppm)	Eficiencia (%)
0,1	0,68	0,450	2000	1060,815	46,95
	0,68	0,400			
	0,68	0,350			
0,5	1,616	0,778	5000	1058,813	78,78
	1,616	0,427			
	1,616	0,350			
1	3,223	1,870	10000	3871,313	61,28
	3,223	1,587			
	3,223	1,250			

Nota: Se estableció que, para las biomاسas de 0,1, 0,5 y 1 gramo la eficiencia es positiva para el objeto de estudio.

Tabla 17 Concentración y porcentaje óptimo de Cu removido por levadura muerta

Biomasa	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración Inicial (ppm)	Concentración Final (ppm)	Eficiencia (%)
0,1	0,686	0,359	2000	855,688	57,25
	0,686	0,321			
	0,686	0,285			
0,5	1,587	0,767	5000	1552,5625	69,48
	1,587	0,644			
	1,587	0,508			
1	3,212	1,577	10000	4486,9375	55,13
	3,212	1,562			
	3,212	1,447			

Nota: Se estableció que, para las biomاسas de 0,1, 0,5 y 1 gramo la eficiencia es positiva para el objeto de estudio.

Se muestra en la tabla 18 y tabla 19 los tiempos más resaltantes en función al cambio de absorbancia, para tres tipos de concentraciones, donde a 5000 ppm y a los 60, 90 y 120 min de tiempo transcurrido, la absorbancia por parte del espectro disminuyo en un 78,8 % aproximadamente, respecto a la absorbancia inicial, obteniendo en estos tramos de tiempo una eficiencia máxima de adsorción.

Tabla 18 Determinación del tiempo óptimo para mayor porcentaje de eficiencia de biomasa viva

Tiempo (min)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración (ppm)	Eficiencia (%)
60	0,680	0,450		
90	0,680	0,400	2000	46,95
120	0,680	0,350		
60	1,616	0,778		
90	1,616	0,427	5000	78,8
120	1,616	0,350		
60	3,223	1,870		
90	3,223	1,587	10000	61,28
120	3,223	1,250		

Nota: Se estableció que para los minutos 60, 90 y 120 la eficiencia es positiva para el objeto de estudio.

Tabla 19 Determinación del tiempo óptimo para mayor porcentaje de eficiencia de biomasa muerta

Tiempo (min)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración (ppm)	Eficiencia (%)
60	0,686	0,359		
90	0,686	0,321	2000	57,25
120	0,686	0,285		
60	1,587	0,767		
90	1,587	0,644	5000	69,48
120	1,587	0,508		
60	3,212	1,577		
90	3,212	1,562	10000	55,13
120	3,212	1,447		

Nota: Se estableció que para los minutos 60, 90 y 120 la eficiencia es positiva para el objeto de estudio.

Estos resultados obtenidos no cumplen con la hipótesis del objetivo general, ya que, en todos los resultados obtenidos se resaltó que la biomasa y el tiempo se relacionan directamente pero no hubo reducción significativa de todas las concentraciones finales, de esta manera la eficiencia no fue del 50% para todas las concentraciones evaluadas, por ello, queda a recomendación llevar un mayor tiempo de interacción entre una mayor cantidad de biomasa (0,5<) y el contaminante para establecer si se logra tener una eficiencia mayor o igual al 50% por parte de la levadura en contacto con el metal.

CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Limitaciones

El presente trabajo presentó ciertas limitaciones, la primera limitación fue el acceso a las investigaciones detalladas e información desactualizada, pero se logró realizar la búsqueda de estudios adecuados para la investigación. La segunda limitación fue la obtención de muestras de campo, ya que para conseguir las aguas contaminadas por cobre se necesitan ciertos permisos sobre monitoreo y realizar viajes al lugar donde se encuentra la zona afectada por metales, por ello no se pudo adquirir las muestras.

Interpretación comparativa

Respecto al objetivo general se tiene la determinación de la eficiencia de la biorremediación de agua destilada contaminada por cobre mediante la aplicación de levadura de cerveza, donde identificamos que la adsorción por levadura de cerveza viva tiene como porcentaje de eficacia un 80% y levadura muerta 70% de capacidad de remoción, determinando una eficiencia alta de biorremediación. Estos resultados fueron comparados con la investigación de Ortiz (2018) quien utilizó el método de espectrofotometría por absorción atómica y encontró una reducción de concentración en un 76.33%, para levadura viva asimismo la eficiencia de remoción con levadura muerta fue de 79.24%, se tuvo una mayor incidencia de remoción, con estos resultados se evidencia similitudes ya que concuerda con lo que se obtuvo en la presente investigación, en que el uso del hongo *Saccharomyce Cerevisiae* reduce de manera significativa la concentración de contaminantes.

Teniendo como primer objetivo específico la evaluación de la biorremediación con levadura de cerveza en los distintos niveles de concentraciones de cobre, donde se observó

que al tiempo de (60, 90, 120) minutos de contacto de la biomasa con el agua destilada fueron los óptimos para mayor remoción del metal en promedio de 75%, resaltando la filtración como característica fundamental en cada tiempo óptimo, estos resultados fueron comparados con Amaya et al. (2018) lo cual indican en su investigación que a los 40 minutos se obtuvo una capacidad del 50% de adsorción de la levadura en las concentraciones de metales, lo cual el tratamiento se realizó mediante la espectrofotometría de emisión atómica y utilizaron lías de fermentación para la obtención de la levadura. Estos resultados coinciden con nuestra investigación porque se corrobora que la levadura tiene una potente bioadsorción de cobre en ensayos de laboratorio, resaltando que es necesario determinar correctamente el tiempo ya que, de ello dependerá el porcentaje de bioadsorción.

Respecto al segundo objetivo específico se tiene la determinación de la biomasa viva y muerta para la biorremediación del agua destilada contaminada por cobre, donde la cantidad de biomasa apropiada para una concentración de agua contaminada fue de 0.5 g de biomasa para 5000 ppm de concentración de cobre de las muestras de agua. Con 75% de reducción para una correcta biorremediación depende directamente de los niveles de concentración del contaminante frente a la biomasa que interactúa, estos resultados fueron comparados con Ortiz (2018), en su investigación mediante el método de espectrofotometría por absorción atómica, demostró que la relación de *S. cerevisiae* y concentración cobre en muestras alteradas a nivel de laboratorio, disminuye significativamente la concentración inicial de la final, Así para el indicador 1 gr/100 ml de levadura reduce la concentración en un 76.33%, así mismo, para el indicador 1.5 gr/100 ml obtuvo una eficiencia de remoción del 79.24%, para estos parámetros se tuvo una mayor incidencia de remoción a mayor biomasa. Estos resultados no coinciden con nuestra investigación, debido a que a menor

cantidad de biomasa se obtiene mayor adsorción. Por otra parte, se encuentra que la investigación guarda una relación positiva y significativa al utilizar la levadura como bioadsorbente de metales.

Implicancias

El presente trabajo de investigación tiene como finalidad contribuir de manera positiva a todas las zonas afectadas por metales pesados producto de actividades mineras, a través, de la técnica de adsorción con levadura de cerveza. Pero a pesar de todos los estudios que se han realizado, las empresas mineras siguen contaminando y vertiendo sus residuos en los ríos, lo cual las autoridades y los causantes de tal daño no se hacen responsables, por ello, se requiere que el gobierno tome medidas más estrictas con las compañías que no cumplen con las disposiciones que las entidades de fiscalización ambiental les solicitan. Pon ende, las municipalidades, empresas privadas, organizaciones no gubernamentales, entre otras, deben difundir y sensibilizar a toda la población acerca del respeto de los ecosistemas para conseguir su preservación y evitar su degradación. Así mismo, con los resultados encontrados en la investigación permitirán que futuros proyectos realicen análisis y estudios con más detalle para que de esa manera se pueda recuperar los ecosistemas acuáticos contaminados y a su vez colaborar con nuestro medio ambiente.

Conclusiones:

La determinación de la eficiencia de la biorremediación del agua destilada contaminada por cobre mediante la aplicación de levadura de cerveza, donde la biomasa viva tiene como porcentaje de eficacia un 80% y levadura muerta 70% de capacidad de remoción, determinando una buena eficiencia de biorremediación de cobre en aguas contaminadas. Por ello, la biomasa viva y muerta son alternativas viables para remover este metal del agua

destilada contaminada. Queda como recomendación el análisis de la mezcla de las dos biomásas de levadura, biomasa viva y muerta en interacción de aguas con metal, y verificar su capacidad de adsorción. Sin embargo, se necesita más estudios a nivel piloto con mayor cantidad de concentraciones y de levadura para investigar la factibilidad del método y llevarlo a gran escala o a las industrias contaminantes de cobre.

Se concluye que en los últimos minutos (60, 90, 120) de contacto de la biomasa con el agua contaminado fueron los óptimos porque se obtuvo mayor remoción del metal ya que, mientras más tiempo de exposición de la levadura con el agua destilada contaminada de cobre, mayor es la adsorbancia, resaltando la filtración como característica fundamental en cada tiempo óptimo. Queda a posterior análisis del lector llevar a cabo pruebas con mayor tiempo de exposición, tanto por la levadura en contacto con el cuerpo de agua contaminado, y a su vez modificar, verificar una mayor y repetida filtración donde el contaminante quede separado y adsorbido dentro del cuerpo de la biomasa.

Se determinó la cantidad de biomasa apropiada que fue de 0.5 g, disminuyendo la concentración de cobre de las muestras de agua destilada. Se concluye que el peso de levadura adecuada para una correcta biorremediación depende directamente de los niveles de concentración del contaminante, para este caso de estudio el óptimo fue de 5000 ppm. Recomendamos replicar los ensayos con biomásas mayores a 0.5 g y concentraciones mayores a 5000 ppm donde tengan una proporción equivalente a los datos analizados, tener a su vez consideración las características y métodos mencionados en el presente análisis. Sin embargo, queda modificar las concentraciones futuras de biomasa para la interacción de cuerpos de agua destilada contaminada por otro metal en mayor o menor concentración para evaluar su efectividad de adsorción.

En la presente investigación se buscó proponer una alternativa de solución para remediar el agua destilada contaminada por cobre, con la finalidad de que sea ejecutada en los ecosistemas contaminados por industrias que generan este metal contaminante y se pueda lograr un ambiente más adecuado para futuras generaciones salvaguardando los recursos hídricos. Concluyendo así que esta investigación sirve como futuro proyecto para descontaminar localidades, regiones, ciudades, lagos y ríos donde con ayuda de las entidades de los gobiernos locales, regionales y municipales. Además, este método de biorremediación se podría llevar a la práctica de manera in situ en cuerpos de agua contaminados por metales.

Referencias

- Aconsa. (2020). Metales pesados en el agua potable: ¿deben preocuparnos? ¿se pueden minimizar? <https://aconsa-lab.com/metales-pesados-en-el-agua-potable/>
- Amaya Bejar, A.; Bazán Paredes, E.; Rueda Feijóo, L. y Solano Cruz, A. (2018). Capacidad de adsorción de metales pesados por *Saccharomyces cerevisiae* en un efluente minero de Shorey, distrito de Quiruvilca, La libertad. Repositorio Institucional de la Universidad César Vallejo, 1-63. https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/33463/amaya_ba.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Barrera Fagua, J. y Colorado Farfán, S. (2017). Remoción de metales tóxicos en un efluente sintético con la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Repositorio Institucional de la Universidad Escuela Colombiana de Carreras Industriales, 4-46. <https://repositorio.ecci.edu.co/bitstream/handle/001/1934/Trabajo%20de%20grado.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Bernal, C. (2010). *Metodología de la investigación*. Colombia: Pearson. <https://abacoenred.com/wp-content/uploads/2019/02/El-proyecto-de-investigaci%C3%B3n-F.G.-Arias-2012-pdf.pdf>
- Blanco, C. (2011). *Encuesta y Estadística. Métodos de investigación cuantitativa en ciencias sociales y comunicación* (1era ed.). Argentina: Editorial Brujas. <http://104.207.147.154:8080/bitstream/54000/1319/1/Blanco-%20metodos%20de%20investigaci%C3%B3n.pdf>
- Cajal Flores, Alberto. (2022). *Saccharomyces cerevisiae*. Lifeder. <https://www.lifeder.com/saccharomyces-cerevisiae/>
- Casas Rodríguez, S. (2018). *Saccharomyces cerevisiae* y *Aspergillus oryzae*: estimuladores y modificadores de la fermentación y crecimiento microbiano ruminal. Artículo de revisión. *Revista de Producción Animal*, 30 (2). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-79202018000200001
- Cegarra Sánchez, J. (2011). *Metodología de la investigación científica*. Ediciones Díaz de Santos.

https://books.google.com/books/about/Metodolog%C3%ADa_de_la_investigaci%C3%B3n_cient.html?id=-XG4KMFNnP4C

Congreso de la República (2005). Ley N° 28611- Ley General del Ambiente. Diario El Peruano, 1-37. <https://sinia.minam.gob.pe/normas/ley-general-ambiente>

Congreso de la República (2009). Ley N° 29338- Ley de Recursos Hídricos. Diario El Peruano, 1-37. <https://sinia.minam.gob.pe/normas/ley-recursos-hidricos-0>

Coronel, C., y Valdez, J. (2018). La levadura *Saccharomyces cerevisiae*: De la Cerveza a la Biología de Sistemas. Bitácora Digital, 1 (9), 1-9. <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/Bitacora/article/view/24262>

Cota Ruiz, K.; Nuñez Gastelum, J.; Delgado Rios, M. y Martínez Martínez, A. (2019). Biorremediación: Actualidad de conceptos y aplicaciones. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud, 1-08. <http://www.colech.edu.mx/cont/descargables/biotecnia.pdf>

Cruz Marín, A., Martín Delgado, J. y Torres Cuervo, A. (2015). Evaluación de bioadsorción de cobre en aguas utilizando la levadura. Repositorio de la Universidad de Distrital Francisco José de Caldas, 1-73. <http://repository.udistrital.edu.co/bitstream/11349/7617/2/Mart%C3%ADnDelgadoJes%C3%BAEfr%C3%A9n2015.pdf>

Darwin. (2020). *¿Qué es la biorremediación?* <https://darwinbioprospecting.com/2020/04/17/que-es-la-biorremediacion/>

Dávila Parras, F. (2019). Remediación de sedimentos contaminados con Manganeso (Mn) y Zinc (Zn) utilizando *Saccharomyces cerevisiae* aislada del río San Pedro ubicado en Cananea, Sonora. Repositorio Institucional de la Universidad de Sonora, México, 1-105. <http://148.225.114.120/bitstream/20.500.12984/3353/1/davilaparrafernandaaliciam.pdf>

Di Paola, M. y Vicién, C. (2010). Biorremediación: vinculaciones entre investigación, desarrollo y legislación. Revista CONICET, 1-33. <http://www.ceur-conicet.gov.ar/archivos/publicaciones/Biorremediacion2.pdf>

- Díaz Visitación, A.; Rojas Colmenares, K. y Baldera Velásquez. (2019). Determinación de la capacidad de biosorción de Hierro (Fe) usando biomasa *Saccharomyces uvarum* y *S. cerevisiae* a partir del desecho del proceso industrial de la cerveza, en el tratamiento del agua de la quebrada Juninguillo la Mina, Moyobamba. Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de San Martín, 1-95. <https://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/11458/3302/1/SANITARIA%20-%20Karla%20Cynthia%20Rojas%20Colmenares%20%26%20Victor%20Manuel%20Baldera%20Velasquez.pdf>
- Díaz, M.; Estrada, C.; Hernández, L.; Méndez, A.; Montiel, C.; Ruiz, C.M y Tristán, K. (2021). Biorremediación. 1-12. https://issuu.com/diazjacintomc/docs/3.6_biotecnolog_a_proambiental_3.6_a_biorremediacion#:~:text=Fue%20en%201946%2C%20cuando%20Claude,fuente%20de%20energ%C3%ADa%20y%20carbono.
- Duany-Timosthe, S., Arias-Lafargue, T., Bessy-Horruitiner, T., y Rodríguez-Heredia, D. (2022). Bioadsorbentes no convencionales empleados en la remoción de metales pesados. Revisión. *Revista Tecnología Química*, 42 (1). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852022000100094
- Fernández Chiara, J. y Guzmán Ponce, K. (2019). Bioadsorción de Cromo (VI) con *Saccharomyces cerevisiae* inmovilizada, como residuo de la elaboración de la cerveza, para su aplicación en biorremediación de aguas contaminadas de la industria del curtido, Arequipa 2016. Repositorio Institucional de la Universidad Católica de Santa María, 1-140. <https://repositorio.ucsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12920/9027/42.0218.IB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Fernández Villalon, L., Calzado Lamela, O., Cascaret Carmenaty, D., y Pérez Silva, R. (2018). Factores de mayor influencia en la adsorción de metales pesados por biomasa seca de *Kluyveromyces Marxianus* CCEBI 2011. *Revista Tecnología Química*, 38 (2). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852018000200011

- Garzón, J.; Rodríguez, J. y Hernández, C. (2017). Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. *Revista Universidad y Salud*, 19(2), 309-318. <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:NGlNW1rVhIEJ:www.scielo.org.co/pdf/reus/v19n2/0124-7107-reus-19-02-00309.pdf&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=pe>
- Gómez Castelán, A. (2020). Remoción de Pb (II) (II), Cr (III) y Cr (VI) presentes en muestras de agua grado reactivo mediante el uso de *Pseudomonas putida* y *Saccharomyces cerevisiae*. Repositorio Institucional de la Universidad Autónoma Metropolitana, 1-138. <https://core.ac.uk/download/344929143.pdf?fbclid=IwAR3UIYQeY72qWmf3FYL1YRunGQRyf7XIQWWUdsg8oDSgUrKhSQ4ep-HJCjM>
- Gómez, M. (2006). Introducción a la metodología de la investigación científica (1era ed.). Editorial Brujas. https://books.google.com/books/about/Introducci%C3%B3n_a_la_metodolog%C3%ADa_de_la_in.html?id=9UDXPe4U7aMC
- González, E., Ahumada, R., Medina, V., Neira, J., González, U. (2004). Espectrofotometría de absorción atómica con tubo en la llama: aplicación en la determinación total de cadmio, plomo y zinc en aguas frescas, agua de mar y sedimentos marinos. *Química Nova*, 27(6). <https://www.scielo.br/j/rmat/a/tqtxfjrCfBWW4VwtMgPLHpr/?lang=es&format=pdf>
- Miguel Gallo, Y., y Rodríguez Rico, L. (2017). Influencia del pH y la temperatura en la adsorción de fenol en agua utilizando ceniza de bagazo de caña de azúcar. *Revista de química teórica y aplicada*, 74 (579), 176-179. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6142343>
- MINAM (2017). Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM- Aprueban Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua y establecen Disposiciones Complementarias. Diario El Peruano, 1-10. <https://sinia.minam.gob.pe/normas/aprueban-estandares-calidad-ambiental-eca-agua-establecen-disposiciones->

- Pabón, S., Benitez, R., Sarria, R., y Gallo, G. (2021). Contaminación del agua por metales pesados, métodos de análisis y tecnologías de remoción. Una revisión. *Entre Ciencia e Ingenieria*, 14 (27), 9-18. <https://doi.org/10.31908/19098367.1734>
- Polo Bravo, C., & Sulca Quispe, L. (2019). Metales pesados: fuentes y sutoxicidad sobre la salud humana. *Ciencias*, 2(1), 20–36. <https://doi.org/10.33326/27066320.2018.1.842>
- Quezada Lucio, N. (2021). Metodología de la investigación. Editorial Macro. <https://g.co/kgs/MFneZ5>
- Ríos Ramírez, R. (2017). Metodología para la investigación y redacción (1era ed.). Servicios académicos intercontinentales Eumed.net. <https://g.co/kgs/PBYBbg>
- Rodríguez Heredia, D. (2017). Intoxicación ocupacional por metales pesados. *Medisan*, 21 (12). <http://scielo.sld.cu/pdf/san/v21n12/san122112.pdf>
- Rodríguez, M.; Quezada, M. (2019). Remoción de cromo en efluente de curtiembre por consorcio de levaduras del género *Saccharomyces* y *Pichia*. *Revista Universidad César Vallejo*, 11(2), 81-91. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/7611624.pdf>
- Rodríguez-Gonzales, A., Zárate-Villarroe, S., & Bastida-Codina, A. (2022). Biodiversidad bacteriana presente en suelos contaminados con hidrocarburos para realizar biorremediación. *Revista De Ciencias Ambientales*, 56(1), 178-208. <https://doi.org/10.15359/rca.56-1.9>
- Ruiz, J. (2017). Unidad 1. Introducción a la Biorremediación. Repositorio de la Universidad Abierta y a Distancia de México, 1-39. <https://issuu.com/jazinaruizhernandez/docs/unidad1.introduccionlabiorremediacion>
- Sánchez, F., y Moreira C. (2022). Análisis de la cinética de adsorción de cobre (II) con diferentes materiales: Una revisión bibliográfica. *Colón Ciencias*, 9(1), 81-90. <http://portal.amelica.org/ameli/journal/215/2152932008/2152932008.pdf>
- Aguilar, P. (2017). Levadura, características generales, con foco en *Saccharomyces cerevisiae*. *UNSAM*, 1-57. <http://iib.unsam.edu.ar/archivos/docencia/licenciatura/biotecnologia/2017/MicroBiologia/1510097815.pdf>

- Dirección General de Salud Ambiental del Ministerio de Salud. (2011). Reglamento de la Calidad del Agua para Consumo Humano. *MINSA*.
http://www.digesa.minsa.gob.pe/publicaciones/descargas/Reglamento_Calidad_Agua.pdf
- Rojas, A. (2019). Grupo México: la polémica multinacional detrás de uno de los peores desastres de la industria minera en el país. *BBC NEWS MUNDO*.
<https://www.bbc.com/mundo/noticias-america-latina-49201982>
- SONAMI. (2020). Agua en minería 2019-2020 [Informe]. *Sociedad Nacional de Minería*.
<https://www.sonami.cl/v2/wp-content/uploads/2022/05/Agua-en-Mineria-2019-2020-VF.pdf>
- Castro, M. (2020). Ecuador: contaminación en afluentes del río Napo apunta a la minería. *Mongabay Latam*. <https://es.mongabay.com/2020/03/mineria-de-rio-afecta-afluentes-rio-tena-en-ecuador/>
- Telma, M. (2017). Décadas de contaminación: ríos cargados de metales pesados recorren las tierras altas de Bolivia. *Mongabay Latam*. <https://es.mongabay.com/2017/03/bolivia-oruro-rios-mineria/>
- Télam. (2020). El río Uruguay tiene contaminación por metales y bacterias, según un informe de la CARU. *Télam Agencia Nacional de Noticias*.
<https://www.telam.com.ar/notas/202002/433146-rio-uruguay-contaminacion-metales-bacterias-caru-agua-calidad.html>
- Castro, M. (2019). Contaminación de los ríos: causas, consecuencias y ejemplos. *Lifeder*.
<https://www.lifeder.com/contaminacion-rios/>
- El Andino. (2016). Grave contaminación del río Aconcagua por derrame de concentrado de cobre de la División Andina. *El Andino*. <https://www.elandino.cl/grave-contaminacion-del-rio-aconcagua-por-derrame-de-concentrado-de-cobre-de-la-division-andina/>
- Ampudia, M. (2014). Lago Titicaca muerto por metales pesados. *ProActivo*.
<https://proactivo.com.pe/lago-titicaca-muerto-por-metales-pesados/>

Chávez, R. (2022). Los niños de los ríos de colores y la contaminación en el Titicaca. *Ojo Público*. <https://ojo-publico.com/3894/los-ninos-los-rios-colores-la-contaminacion-el-titicaca>

Espinoza, M. y Zambrano S. (2019). Eficiencia de microorganismos (*Saccharomyces* sp, *Lactobacillus* spp, *Rhodospseudomonas* spp) en el tratamiento de aguas residuales de la ESPAM MFL. *Repositorio de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí* Manuel Félix López, 1-72. <https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1215/1/TTMA82.pdf>

Congreso de la República (2017). Ley de Recursos Hídricos Ley N° 29338. *MINAM*, 1-40. <https://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2017/04/Ley-N%C2%B0-29338.pdf>

Anexo 1

Tabla 20 Matriz de Operacionalización de Variables

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador	Instrumentos de medida
Variable Independiente: Levadura de cerveza	La levadura tiene como propiedad adsorber iones con carga positiva debido a sus grupos funcionales	Cultivado para su activación, muerte y secado para su medida en gramos	Peso de la masa en gramos	Balanza analítica
Variable Dependiente: Eficiencia de la biorremediación	Consiste en usar microorganismos para remover metales de medios acuosos contaminados	Análisis mediante espectrofotometría de absorción atómica y comparación de valores en stock	Cambio de absorbancia	Espectrofotómetro

Anexo 2

Ecuaciones

✚ Fórmula para la Ecuación de la recta:

$$A = m(C) + b$$

A= Absorbancia

C = concentración

m = pendiente

b = constante

✚ Despejando la concentración:

$$C = \frac{A - b}{m}$$

Para los ensayos con concentración stock de 2000, 5000, 10000 (ppm)

$$C = \frac{A - b}{m}$$

Ejemplo:

$$C = \frac{0.780 - 0.6185}{0.00007}$$

$$C = 1350 \text{ ppm}$$

Anexo 3

PANEL FOTOGRÁFICO



Figura 2 Preparación de materiales para autoclavar



Figura 3 Pesaje del Agar Papa Dextrosa



Figura 4 Dilución del medio de cultivo en calor



Figura 5 Autoclavado de materiales y medio de cultivo



Figura 6 Segunda preparación del medio de cultivo



Figura 7 Segundo autoclavado de materiales y medio de cultivo



Figura 8 *Preparación de levadura*



Figura 9 *Vertimiento del Agar en las placas petri*



Figura 10 Aplicando la técnica de estriado de la biomasa en el medio de cultivo

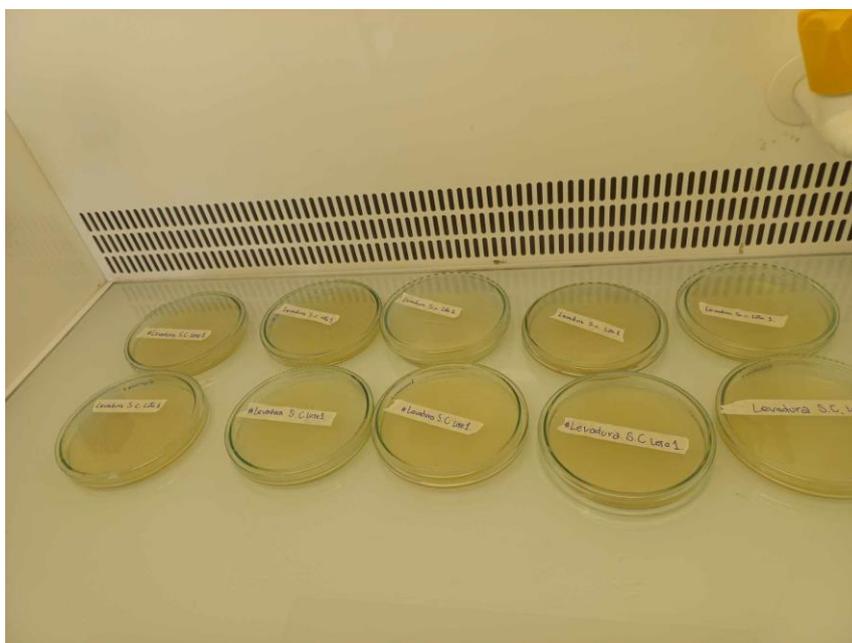


Figura 11 Sembrado y rotulado de levadura en placas petri



Figura 12 Acondicionamiento de placas en la estufa digital



Figura 13 Sembrado de levaduras después de 5 días



Figura 14 Separación de levadura del medio de cultivo



Figura 15 Preparación de formaldehído al 1%



Figura 16 Lavado de levadura con desionizada



Figura 17 Centrifugado para la separación de la biomasa



Figura 18 Tercer y último lavado de levadura

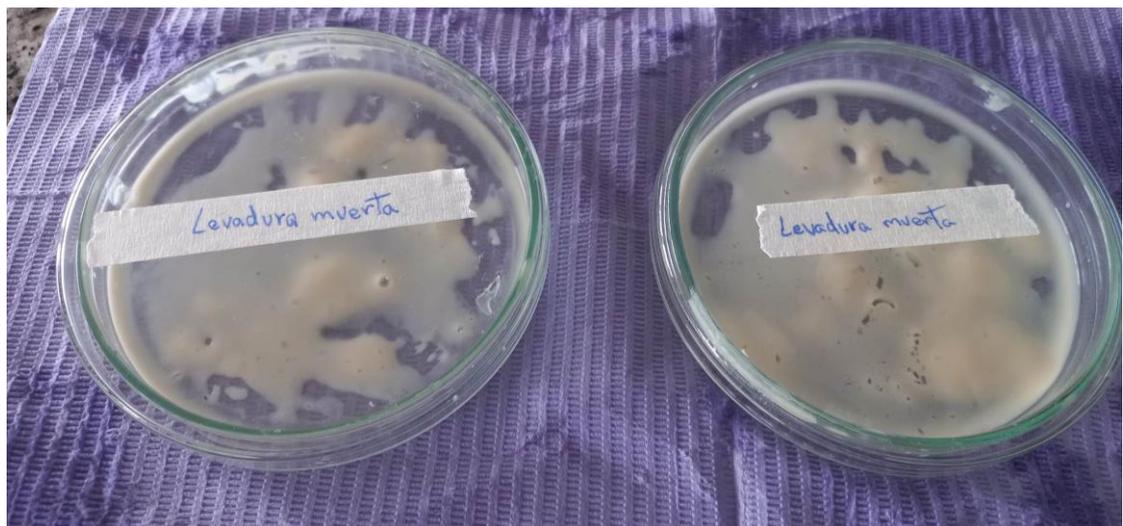


Figura 19 Levadura muerta lista para ser llevada al horno



Figura 20 Retirar levadura inerte de la placa para su pesaje



Figura 21 Preparación de concentraciones de cobre en agua destilada



Figura 22 Evaluación de longitud de onda

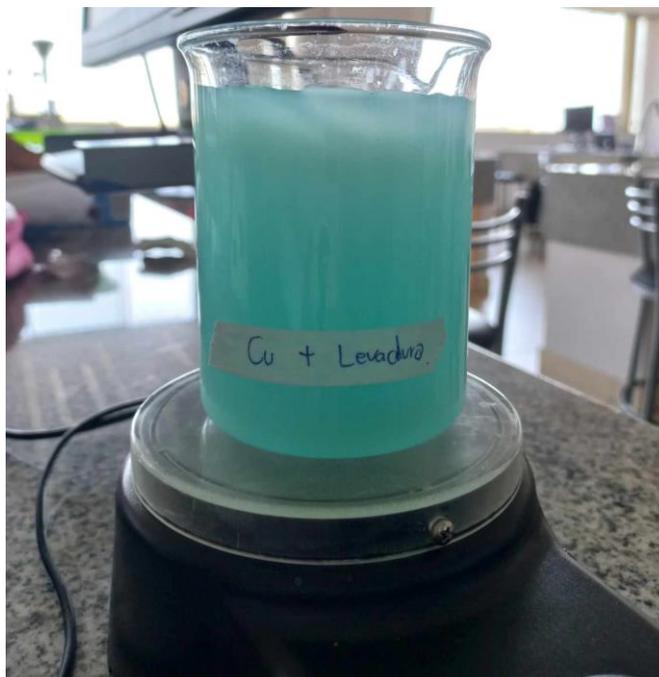


Figura 23 Levadura muerta con cobre en el agitador magnético



Figura 24 Concentraciones de cobre en diferentes tiempos

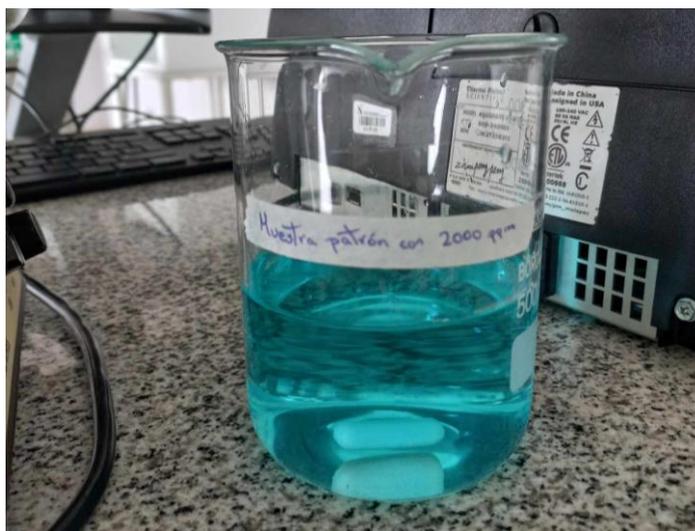


Figura 25 Muestra patrón de cobre



Figura 26 Evaluación de corridas de absorción

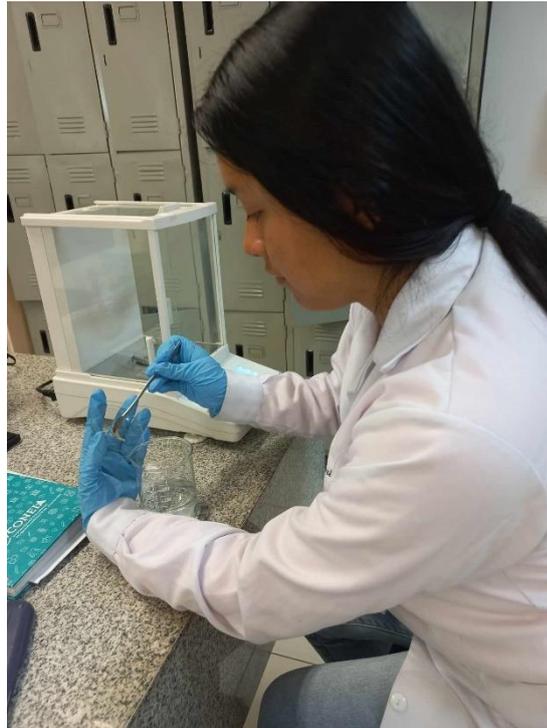


Figura 27 Mezcla de levadura viva con agua destilada



Figura 28 Filtrado de muestras contaminadas



Figura 29 Segundo filtrado de concentraciones



Figura 30 Muestras de concentraciones filtradas en diferentes tiempos