



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACÁDEMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE ARSÉNICO POR *PSEUDOMONAS*
AERUGINOSA A DIFERENTE TIEMPO Y CONCENTRACIÓN, EN AGUAS
CONTAMINADAS DEL RÍO GRANDE - HUAMACHUCO

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AMBIENTAL**

AUTOR:

GRADOS RODRÍGUEZ, JACK RANDY

(0000-0001-6880-1638)

ASESOR:

ING. VILLACORTA GONZALEZ, MISAEL YDILBRANDO

(0000-0002-5346-4824)

LÍNEA DE

INVESTIGACIÓN

CALIDAD Y GESTIÓN DE RECURSOS NATURALES

TRUJILLO – PERÚ

2018

DEDICATORIA

Yo, **Grados Rodriguez, Jack Randy** le dedico en primer lugar a Dios por qué me ha acompañado durante el transcurso de mis años de estudio, para superarme tanto personal como profesionalmente, llenando mi vida de bendiciones y rodeándome de personas correctas para superarme cada día más. A mi mamá **María Rodriguez**, que me ha apoyado en todo aspecto en mis caídas y subidas, gracias a ella y a sus sabios consejos y su apoyo inquebrantable por haber hecho de mí una persona de bien en mi camino profesional, gracias por ser mi madre. A mi papá **Carlos Grados**, y a mis hermanos, por ser un ejemplo a seguir por enseñarme que nunca debo rendirme ante las adversidades por más difíciles que se muestren.

AGRADECIMIENTO

Primero que nadie, a Dios por mantenernos con la sabiduría, la fuerza y la firmeza y el habernos permitido alcanzar una meta más en nuestras vidas; a nuestros padres y hermanos por que no han apoyado en todo aspecto y nunca dejaron de darnos ánimos para poder culminar con nuestros estudios superiores.

A la Universidad Cesar Vallejo, por ser la casa de estudios donde hemos obtenido nuestros conocimientos profesionales en la carrera de ingeniería ambiental.

A todos aquellos que durante nuestra carrera universitaria se fueron sumando, para contribuir con un granito de arena, y alcanzar un éxito más en nuestras vidas.

De manera muy especial a nuestro asesor el Mg. Misael Ydilbrando Villacorta Gonzales quién asesoró este esfuerzo con preocupación para el desarrollo de ésta tesis, por su generosidad y disponibilidad de tiempo en cada una de las dificultades que se nos presentaron.

PÁGINA DEL JURADO

Dr. Quezada Álvarez, Medardo Alberto
PRESIDENTE

Msc. Valderrama Ramos Isidoro
SECRETARIO

Mg. Villacorta Gonzalez Misael Ydilbrando
VOCAL

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, **Grados Rodríguez, Jack Randy** con DNI N° **74280711** a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Ambiental, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompaño es veraz y auténtica.

Así mismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis son auténticos y veraces.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, 18 de Diciembre del 2018

Grados Rodriguez, Jack Randy
DNI: 74280711

INDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD	v
PRESENTACIÓN.....	¡Error! Marcador no definido.
INDICE.....	vi
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCION.....	1
1.1. Realidad Problemática	1
1.2. Trabajos previos	3
1.3. Teorías relacionadas al tema.....	5
1.3.1. Arsénico.....	5
1.3.2. Toxicidad de las especies de Arsénico.....	6
1.3.3. El Arsénico en el medio ambiente.....	6
1.3.4. Procesos de remoción de Arsénico	7
1.3.5. Pseudomonas aeruginosa	9
1.3.6. Oxidación microbiana.....	10
1.4. Formulación del problema	10
1.5. Justificación del estudio	10
1.6. Objetivos	12
1.6.1. Objetivo General	12
1.6.2. Objetivos Específicos.....	12
II. MATERIAL Y METODOS	13
2.1. Diseño de investigación.....	13
2.2. Variables, operacionalización.....	14
2.2.1. Variables	14
2.2.2 Operacionalización	15
2.3. Población y muestra.....	16
2.3.1. Población	16
2.3.2. Muestra	16
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos. Validez y confiabilidad	16
2.5. Método de análisis de Datos.....	16
2.6. Aspectos éticos.....	16
III. RESULTADOS	17

IV. DISCUSIÓN.....	23
V. CONCLUSIONES	24
VI. RECOMENDACIONES	25
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	26
V. ANEXOS	30

RESUMEN

Hoy en día es una necesidad la búsqueda de nuevos métodos para la remoción de metales pesados contaminantes, siendo los microorganismos una alternativa para la biorremediación de una manera sustentable y sostenible con el ambiente, el arsénico es un contaminante que se encuentra tanto en el suelo como el agua e ingresa a las cadenas tróficas y genera bioacumulación causando problemas a la salud de los seres vivos. En la presente investigación se tuvo como principal objetivo determinar la capacidad de remoción de arsénico por *Pseudomonas aeruginosa* a diferente tiempo y concentración, en aguas contaminadas del río Grande – Huamachuco. Las muestras de *Pseudomonas aeruginosa* fueron obtenidas y aisladas en agar Centrimide, su identificación se realizó considerando su comportamiento frente a otros tipos de agar: Agar Mac Conkey y Agar Centrimide. Las muestras de agua fueron extraídas en material de vidrio previamente esterilizado y guardados en un recipiente plástico para su conservación durante el traslado al laboratorio de análisis. La concentración bacteriana (UFC) se determinó por medio de la técnica de recuento en placa sobre medio agar Centrimide tras un periodo de incubación de 24 horas a una temperatura promedio de $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$, realizando diluciones en 10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7} . Los resultados muestran mayores porcentajes de remoción de arsénico, en el agua a condiciones naturales, tras la aplicación de 3.15×10^{10} UFC, siendo 55.23%, 57.73% y 61.14% tras periodos de 24, 48 y 72 horas respectivamente. Finalmente se determinó que la mayor capacidad de remoción a una concentración 3.15×10^{10} UFC de *Pseudomonas aeruginosa* logra remover hasta un 61.14 % de arsénico a condiciones naturales en un periodo de 72 días y un 95.36 % en condiciones estériles durante el mismo periodo.

PALABRAS CLAVE: *Pseudomonas aeruginosa*, remoción, arsénico.

ABSTRACT

Nowadays, it is a necessity the research of new methods for the removal of polluting heavy metals, being the microorganisms an alternative for bioremediation in a sustainable way with the environment, arsenic is a polluting agent that is found both in the soil and the water and enters the trophic chains and generates bioaccumulation, inflicting problems to the health of the living beings. In the present investigation, the main objective was to determine the capacity of *Pseudomonas aeruginosa* to remove arsenic at different periods of time and concentrations in polluted waters from the river "Rio Grande" - Huamachuco. The samples of *Pseudomonas aeruginosa* were obtained and separated on Centrimide agar, their identification was made considering their reaction against other types of agar: Mac Conkey Agar and Centrimide Agar. The water samples were extracted in pre-sterilized glasses and stored in a plastic container for its conservation during the transfer to the analysis laboratory. The bacterial concentration (CFU) was determined by the plate count technique on Centrimide agar after an incubation period of 24 hours at an average temperature of 37 ± 2 ° C, making dilutions of 10^{-5} , 10^{-6} and 10^{-7} . The results show higher percentages of arsenic removal in water at natural conditions after the application of 3.15×10^{10} CFU, being these percentages 55.23%, 57.73% and 61.14% after periods of 24, 48 and 72 hours respectively. Finally, it was determined that the highest removal capacity at a 3.15×10^{10} CFU concentration of *Pseudomonas aeruginosa* is 61.14% of arsenic removal at natural conditions in a period of 72 days and 95.36% in sterile conditions during the same period of time.

KEY WORDS: *Pseudomona aeruginosa*, removal, arsenic.

I. INTRODUCCION

1.1. Realidad Problemática

En el Perú, existen dos ciudades caracterizadas por su producción minera tal como el Centro poblado de Quiulacocha en la ciudad de Cerro de Pasco y La Oroya, en la región de Junín. Para el año 2016, la ONG Red Muqui determinó como resultado de la investigación realizada por el médico ambientalista Fernando Osoreo que, en ambas ciudades, la población presenta daño a su salud por la presencia de arsénico en el organismo, así como de otros metales pesados. (López, 2018)

El arsénico está presente en organismos que tienen características orgánicas e inorgánicas así como en cuerpos de agua, minerales, suelo, rocas, atmósfera y en formas metiladas (Basu *et al.*, 2014). Sin embargo, el hombre tiene una responsabilidad grande en el impacto negativo que ocasiona el arsénico por la actividad y producción de formas tóxicas a través de la minería, uso de pesticidas orgánicos, uso de combustibles fósiles, herbicidas y otros productos agrícolas, el uso como ingrediente en la preparación de alimentos para aves de corral y ganado utilizando arsénico (Shankar *et al.*, 2014).

El arsénico es una de los metaloides más contaminantes del medio ambiente, su distribución se debe a procesos naturales y el problema es su distribución rápida en el medio. Las concentraciones de arsénico en valores superiores a los permitidos tanto en el agua como en el suelo, se han convertido en un problema mundial, debido a que su exposición permanente a este elemento puede ocasionar daños crónicos a la salud.

Como resultado de las actividades humanas, principalmente industriales, surge la contaminación del ambiente con metales tóxicos, así mismo fuentes como la actividad agrícola y la eliminación de residuos. Estos contaminantes son vertidos a la atmósfera y en los sistemas acuáticos y terrestres como solutos o partículas y pueden alcanzar concentraciones elevadas, cerca al sitio de descarga. Estos metales ocasionan efectos sobre el funcionamiento de los ecosistemas haciéndolos variar de manera significativa afectando el aspecto económico y de salud pública, en el Perú existen varios efluentes contaminados con metales pesados como el arsénico (Ara, 2013).

Ahora es una necesidad la búsqueda de nuevos métodos para su remoción, siendo así los microorganismos presentan una alternativa para la biorremediación de una manera sustentable y amigable con el ambiente.

El arsénico encontrado en sus estados trivalente y pentavalente son más móviles en el medio; sin embargo, el arsenito (As^{-2}) es el estado más tóxico para los organismos vivos. (Alarcón et al., 2013)

Las características fisicoquímicas y biológicas, así como las bacterias juegan un rol importante en el estado de oxidación del arsénico, muchas de ellas tienen la capacidad de oxidar arsénico (III) a arsénico (V), algunas especies bacterianas lo utilizan como un mecanismo de defensa (Stolz *et al.*, 2010).

Dependiendo de la forma química en que se encuentre el arsénico, un compuesto es considerado tóxico para los humanos, se consideran dos grupos de compuestos: orgánicos e inorgánicos. Los más tóxicos son compuestos inorgánicos del arsénico y se encuentran principalmente en el agua, donde están mayormente en forma de pentóxido de arsénico (As_2O_5) o trióxido de arsénico (As_2O_3). El efecto tóxico del arsénico está relacionado con el estado de oxidación, el estado físico, la solubilidad, el tamaño de las partículas en el polvo, la velocidad de absorción en las células, la capacidad de absorción o eliminación, la solubilidad en el medio biológico. Una variedad de enfermedades por cáncer como de hígado, pulmones y piel, así como a diabetes, se han asociado a la exposición a compuestos de arsénico inorgánico (Basu *et al.*, 2014).

En 12 distritos de Perú se recogieron 139 muestras de suministros de agua y se analizaron las concentraciones de arsénico, encontrándose que un 86% de las muestras de agua subterránea superó el límite máximo de 10 mg/L de concentración establecido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el agua potable. (George, *et al.*, 2014)

La Organización Nacional del Agua en un monitoreo a los ríos y lagunas de Huamachuco ha determinado que se encuentran infestados de metales pesados provenientes principalmente de la minería formal e informal, especialmente el río Shisircucho, en las cercanías donde opera la minera Barrick Misquichilca y Río Alto se han encontrado altas concentraciones de Arsénico.

El objetivo de este trabajo fue determinar la capacidad de remoción de arsénico por *Pseudomonas aeruginosa* a diferente tiempo y concentración, en aguas contaminadas del río Grande – Huamachuco.

Se justifica el trabajo porque la contaminación en las aguas de Huamachuco son causantes de enfermedades, la mayoría de personas que resultan con estas secuelas son los que trabajan en actividades mineras y consumen agua de los ríos o canales, del mismo modo contaminan al ecosistema; los suelos los vuelven improductivos, al agua lo convierte no apta para tomarla y al aire en veneno. La presencia de metales pesados como: el plomo, mercurio, cadmio, arsénico entre otros, en el ambiente contribuye en aumentar la problemática mencionada.

1.2.Trabajos previos

PELLIZARI, et al. (2014), en su publicación “Degradación de arsénico por *Pseudomona aeruginosa* para biorremediación de agua. Estudio preliminar” realizó un estudio para investigar la resistencia al arsénico en cultivos puros de *Pseudomona aeruginosa*, aislada en aguas subterráneas y evaluar la remoción de este contaminante. Las cepas se cultivaron en caldo de sales y 1 mgAs/L. se observó la formación de biofilm. Se concluyó que la remoción de arsénico final del experimento fue de 60% en el que se evaluó durante 3 meses.

ROSAS et al. (2013), en su publicación, **Impacto del arsénico en el ambiente y su transformación por microorganismos**, realizó investigaciones para determinar cómo se distribuye el arsénico en el medio agrícola. Encontró arsénico en el agua extraída de pozos para uso agrícola con concentraciones que variaron de 7 a 740 mg/L. Las concentraciones de arsénico en el suelo están en las fracciones del limo y arcilla llegando a 30 mg/g, el arsénico frecuentemente se encuentra en la fracción de arcilla mezclada con oxihidróxidos de hierro y aluminio amorfo.

MONDAL et al. (2010), en su trabajo, “Impacto del arsénico en el ambiente y su transformación por microorganismos”, utilizando un reactor de biocolumna, con la bacteria *Ralstonia eutropha* MTCC 2487, que pertenece al grupo de las bacterias reductoras, las cuales se inmovilizaron en carbón activado granular, lo utilizó en el tratamiento de aguas residuales para acumular el arsénico (III), logrando retener concentraciones de arsénico (V) como de arsénico (III) en cantidades proporcionales. El arsénico removido del agua por bioadsorción, logro una eficiencia del 99%, después de tres días de operación, excelente

eficiencia demostrada por este sistema. El problema resaltado por los autores fue la disposición final del arsénico acumulado y saturado en el agua de regeneración de la columna.

BAG *et al.*, (2010), En su trabajo, “BioDetoxification of arsenic laden ground water through a packed bed column of a continuous flow reactor using immobilized cells. Soil Sediment Contaminat”. Aislaron de agua contaminada con arsénico, la bacteria *Rhodococcus equi*, la cual fue usada para el tratar arsénico que contaminaba el agua sintética como de agua naturalmente, el cual fue retenido en una cama de celulosa en un reactor a escala de laboratorio, obtuvieron una eficiencia máxima de remoción de arsénico (As_2O_3) del 95% de concentraciones variables entre las 50 a 100 ppb.

GAURI *et al.*, (2011) en su obra, “Removal of arsenic from aqueous solution using pottery granules coated with cyst of *Azotobacter* and portland cement”, realizaron estudios en laboratorio, utilizando gránulos de porcelana cubiertos con *Azetobacter* logrando buena eficiencia, hicieron comparación de remoción de arsénico entre lo gránulos de cemento que contenían la bacteria impregnada y los que solo contenían la bacteria. Obtuvieron mayor rendimiento en la remoción (96%) con los gránulos que contenían cemento y bacteria que los que solo contenían bacteria (65%). Los gránulos de cemento actuaron como agente adsorbente.

TRELLES (2013), en su tesis “Biosorción de arsénico en medio acuoso empleando biomasa vegetal inerte”, evidenciaron la capacidad para remover arsénico en medio acuoso a concentraciones bajas (25 y 1000 $\mu g/l$) de ocho especies vegetales analizadas. Las especies analizadas mostraron capacidad de bioabsorción variable la cual depende de la especie, la cantidad de masa de la especie y la concentración de arsénico presente. Obtuvieron resultados de remoción variables entre 23.1% hasta 78.9%.

MEZA (2017). En su trabajo de tesis “Estudio de la adsorción de arsénico presente en soluciones acuosas empleando materiales adsorbentes a base de quitosano modificado”, publicado en la Revista de la Sociedad Química del Perú, demostró que la adsorción de arsénico (III) es influenciado por el pH y masa del adsorbente; la adsorción favorable de arsénico (III) se obtiene a pH 7, con 30 mg de adsorbente y de arsénico (V) a pH 4 y 20 mg. La especiación que sufren los adsorbatos y modificaciones que este factor causa en la carga

superficial de los adsorbentes, explican el efecto del pH, siendo la especiación el efecto determinante.

ESTRADA (2016), en su tesis, “Disminución de arsénico mediante un filtro de diatomita del agua de afloramiento subterráneo en el campamento Cedro-Pataz”, concluye que el arsénico del agua obtenida del afloramiento subterráneo en el Campamento Cedro-Pataz. 4, disminuye significativamente de concentración, usando un filtro de diatomita a 15 cm de altura de lecho y granulometría de 70 mesh, a nivel laboratorio. Se concluye además que el ensayo que tuvo estas condiciones, consiguió disminuir hasta 0.00386 ppm de Arsénico, cumpliendo así el Límite Máximo Permisible para este parámetro (0,01 ppm) y de igual forma, logrando cumplir con los Estándares Nacionales de Calidad Ambiental para el Agua (D.S. 015-2015 MINAN).

LIÑAN (2016), es su artículo, “Remoción de arsénico en agua por raíces de cebolla, *Allium cepa*, bajo condiciones de laboratorio”, encontró que a los tres días de exposición de las raicillas al metal pesado las unidades que experimentaron una ligera disminución fueron los del grupo B y C, con una remoción del 8% y 8,5% respectivamente. La mayor remoción se determinó a los seis días de exposición y fue de 67%, que correspondió a la unidad experimental B con un nivel de concentración de arsénico de 0,1mg/L. En la unidad experimental C se encontró una remoción del 28,5% y en la D la remoción de arsénico fue la más baja 4,25%. A los 12 días de exposición la remoción casi fue similar a la obtenida a los seis días de exposición al metal pesado.

1.3. Teorías relacionadas al tema

1.3.1. Arsénico

El arsénico (As) es un elemento natural encontrado en la corteza terrestre, distribuido en aire, agua y suelo; siendo en su forma inorgánica más perjudicial. (OMS, 2018)

El arsénico está considerado como una amenaza considerable para la salud pública, en su mayoría encontrado en aguas subterráneas. Las principales fuentes de contaminación con arsénico son por el consumo de aguas contaminadas por

este metal, cultivos regados con aguas contaminadas y alimentos preparados con dichas aguas.

Se presenta en la naturaleza es su forma reducida como arsenito (Arsénico III) siendo el más abundante y más tóxico, muy soluble en agua, en su forma oxidada como arseniato (Arsénico V), menos tóxico y poco soluble en agua o como metaloide (Arsénico 0). (Stolz, et al., 2010)

1.3.2. Toxicidad de las especies de Arsénico

El arsénico (As) es esenciales para el crecimiento y el metabolismo, se requiere en pequeñas cantidades en el organismo, en concentraciones elevadas es tóxico. De acuerdo a su presentación química el arsénico es tóxico para los seres humanos, existen dos grupos de compuestos: inorgánicos y orgánicos. Son más tóxicos los compuestos inorgánicos y se encuentran contaminando las aguas, en el cual se presentan principalmente en forma trióxido de arsénico (As_2O_3) o pentóxido de arsénico (As_2O_5). (Krumova *et al.*, 2008).

1.3.3. El Arsénico en el medio ambiente

El arsénico generalmente se encuentra dispersado en el agua, aire y el suelo mediante las aguas de escorrentía, tormentas de polvo y por su fácil dispersión está muy extendida (Gillispie *et al.*, 2015). Cuando se presenta en forma natural por razones geológicas, las aguas subterráneas pueden contener elevados niveles de concentración, como es el caso de Bangladesh, India, China, Taiwán, Mongolia, Chile, Argentina, México y numerosos lugares de Estados Unidos de Norteamérica (OMS, 2018)

Los seres humanos producen contaminación de arsénico cuando queman carbón mineral, en los procesos industriales de fundición de metales, durante la extracción minera en la liberación del arsénico de los minerales y recientemente la industria de semiconductores. La humanidad se encuentra amenazada por la contaminación con arsénico, sobre todo la contaminación del agua, el arsénico tiene facilidad de incorporarse en la cadena alimenticia favoreciendo su distribución y difusión en el reino vegetal y animal (Krumova *et al.*, 2008).

1.3.4. Procesos de remoción de Arsénico

Remoción Química.- La remoción de arsénico del agua se realiza por los diversos tratamientos que existen, como los métodos químicos se realizan mediante la oxidación que transforma el arsénico (III) muy soluble en agua a arsénico (V) de poca solubilidad en agua, el arsénico (III) presenta una carga eléctrica neutra a pH de 4 a 10 mientras que el arsénico (V) presenta carga un comportamiento eléctrico negativo y puede reaccionar formando compuestos insolubles en agua, lo cual hace más eficiente su remoción.

Por técnicas convencionales se puede retirar el arsénico del agua, aprovechando las propiedades físico-químicas a nivel de la superficie incluyendo: filtración, ósmosis inversa, adsorción, intercambio iónico y sedimentación precipitación coprecipitación, coagulación. Elegir un tratamiento exige considerar su eficiencia, costos, tamaño de población beneficiaria, condiciones de mercado, entre otros (Basu *et al.*, 2014).

La oxidación de arsénico (III) a arsénico (V) casi siempre se realiza utilizando oxígeno, ozono, hipoclorito, cloro, permanganato, peróxido de hidrógeno y radiación UV; también, se pueden formar subproductos perjudiciales por estos procesos químicos, los cuales son difíciles de remover del agua. Una alternativa es la oxidación biológica, por su alta resistencia y tolerancia que presentan los microorganismos y a la capacidad que presentan para transformar las formas inorgánicas del arsénico. La oxidación microbiana representa una buena opción por la eliminación de contaminación secundaria que puede ayudar en la conservación del medio ambiente (Basu *et al.*, 2014).

Degradación enzimática.- En los lugares contaminados las sustancias nocivas son degradadas utilizando enzimas. La biotecnología aplicada es utilizada por décadas, compañías biotecnológicas ofrecen bacterias modificadas genéticamente que producen enzimas de degradación que se encuentran en el mercado.

Remediación microbiana.- Consiste en el uso de microorganismos directamente en las áreas contaminadas, estos microorganismos deben ser inoculados, o ya existir en el lugar o traídos de otros ecosistemas y para acelerar el proceso se les administra nutrientes.

El desarrollo tecnológico de la biorremediación se está avanzando en el mejoramiento de estos microorganismos:

- Bacterias *Pseudomonas* transgénicas que tienen la capacidad de degradar compuestos tóxicos en menos nocivos a aquellos que contienen cloro (como el vinil cloruro).
- Bacterias capaces de degradar una marea negra ocasionada por los derrames de petróleo y puedan limpiar el agua contaminada.
- Bacterias que tienen la capacidad de transformar las formas altamente tóxicas de mercurio en otras menos tóxicas y volátiles.
- Bacterias que reducen metales tóxicos del suelo en otras menos tóxicas o insolubles, como la reducción de cromo (Cr).
- Microorganismos que tienen capacidad de degradar explosivos potentes y peligrosos para el medio, como el TNT.
- Bacterias capaces de eliminar el azufre de los combustibles derivados del petróleo o carbón y favorecer la combustión limpia.
- Bacteria *Deinococcus radiodurans*, que resiste condiciones extremas de radiación, agentes oxidantes o sequedad, para limpiar el suelo y aguas subterráneas de elementos radiactivos.
- *Cianobacterias* modificadas con genes de bacterias *Pseudomonas* que tienen la capacidad de degradar diferentes hidrocarburos o pesticidas.
- Bacterias transgénicas utilizadas para extraer de residuos de fábricas o de minas metales valiosos, o para eliminar vertidos de petróleo, o el azufre que producen las centrales energéticas de carbón causante de la lluvia ácida.

1.3.5. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa es un bacilo Gram-negativo, aerobio, con motilidad unipolar. Es un patógeno oportunista en humanos y también en plantas. Están conformadas por una sola célula en forma de bastón razón por la cual reciben nombre de bacilos. Es un microorganismo común en el medio ambiente que puede encontrarse en el agua, aguas residuales, las heces y el suelo.

Nombre científico: *Pseudomonas aeruginosa*

Clase: *Gamma Proteo bacteria*

Familia: *Pseudomonadaceae*

Categoría: Especie

Clasificación superior: *Pseudomonas*

Especie: *P. aeruginosa*; (Schroeter 1872); Migula 1900.

Es común que la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* sea la causa principal de las infecciones que se presentan en ambientes hospitalarios y, en ocasiones, pudiera desatar una epidemia.

Pseudomonas aeruginosa puede remover arsénico total y tolerarlo en altas concentraciones. (Pellizzari et al., 2015).

Efectos sobre la salud humana

Pseudomonas aeruginosa, rara vez causa enfermedades graves en personas sanas que no presentan predisposición, causan infecciones en partes dañadas, como quemaduras y heridas quirúrgicas, el aparato respiratorio de personas con enfermedades subyacentes o las lesiones físicas en los ojos, formando colonias, y causar lesiones destructivas o septicemia y meningitis en el organismo invadido (Bartram et al., 2003).

1.3.6. Oxidación microbiana

Las bacterias mediante diferentes reacciones de oxidación-reducción pueden obtener energía; debido a su gran diversidad metabólica, un número importante de microorganismos utilizan el arsénico, en su forma oxidada de arseniato o en la forma reducida de arsenito, para su metabolismo.

Existen especies de microorganismos que de forma natural degradan al arsénico mediante diferentes mecanismos que incluyen reacciones enzimáticas de oxidación-reducción, metilación, quelación, exclusión e inmovilización. La comprensión del metabolismo a nivel molecular y genético del arsénico es muy importante para el desarrollo de técnicas eficientes en la biorremediación del arsénico, lo que representará la eliminación de metales pesados de una forma amigable con el ambiente (Krumova, 2008).

Los microorganismos que transforman el arsénico (III) y arsénico (V) son diversos en su filogenia y fisiología (Cavalca *et al.*, 2013). Existen tres principales sistemas enzimáticos para la transformación del arsénico: arsenito oxidasa, arseniato reductasa y arseniato reductasa citoplasmática.

1.4. Formulación del problema

¿Cuál es la capacidad de remoción de Arsénico por *Pseudomonas aeruginosa* a diferente tiempo y concentración, en aguas contaminadas del río Grande - Huamachuco”?

1.5. Justificación del estudio

El arsénico es un contaminante que se encuentra en aguas y suelos, ingresa a las cadenas tróficas y genera bioacumulación causando problemas a la salud humana.

Las aguas utilizadas al consumo proceden de ríos, acuíferos superficiales o profundos con concentraciones variables de arsénico que raramente exceden la cantidad recomendada por la W.H.O. que es de 10 µg/l. Se han encontrado altas concentraciones de arsénico en aguas de los ríos cercanos a las actividades mineras, formales o informales.

El objetivo de este trabajo es contribuir al conocimiento de las causas de la contaminación de arsénico en aguas de consumo humano y el método posible de remediación.

“Los suelos contaminados por los metales pesados debido a la actividad industrial, agropecuaria, minera, así como el uso indiscriminado de fertilizantes químicos, que luego con las lluvias y escorrentías se incorporan a los ríos, luego a los vegetales, animales y alimentos, alteran la sostenibilidad de la cadena trófica, ocasionando serios problemas a la salud humana y animal”. (WAISBERG, M. et al 2013, p. 95-117) La presencia de metales pesados como: el plomo, mercurio, cadmio, arsénico entre otros, en el ambiente contribuye en aumentar la problemática mencionada.

Los problemas que afectan al país en cuanto a contaminación de las aguas continentales no han sido resueltas por el decreto Ley N° 29338, ley de recursos hídricos y su reglamento, la Constitución Política del Perú, dispone la obligación del estado de promover la conservación de la diversidad biológica y el uso racional y sostenido de los recursos naturales.

La Asociación Marianista de Acción Social (AMAS), la Universidad Nacional de Trujillo y las rondas campesinas el 2010, realizaron un estudio de la cuenca de los ríos Perejil (Otuzco), Chuyugual (Sánchez Carrión) y Caballomoro (Santiago de Chuco) en las que reportan la contaminación por metales pesados. El proyecto minero Lagunas Norte da origen a las tres cuencas. Estudios demuestran que la actividad minera genera drenajes ácidos con índices altos de fosfatos y nitratos que contaminan el río Chuyugual, también se encontraron elevadas cantidades de arsénico y mercurio. La población demanda la intervención de las autoridades correspondientes para solucionar el problema que ocasionan las actividades mineras formales e informales desarrolladas en el Cerro El Toro y zonas aledañas, en el aspecto social y ambiental.

La contaminación en las aguas de Huamachuco son causantes de enfermedades, la mayoría de personas que resultan con estas secuelas son los que trabajan en actividades mineras y consumen agua de los ríos o canales, del mismo modo contaminan al ecosistema; los suelos los vuelven improductivos, al agua lo convierte no apta para tomarla y al aire en veneno.

1.6.Objetivos

1.6.1. Objetivo General

Determinar la capacidad de remoción de arsénico por *Pseudomonas aeruginosa* a diferente tiempo y concentración, en aguas contaminadas del río Grande – Huamachuco.

1.6.2. Objetivos Específicos

- Determinar la concentración de arsénico presente en las aguas del Rio Grande - Huamachuco.
- Analizar la capacidad de remoción de arsénico en las aguas del río Grande Huamachuco por acción de 1.05×10^{10} UFC de *Pseudomona aeruginosa* en periodos de 24, 48, 72 horas a condiciones naturales y estériles.
- Analizar la capacidad de remoción de arsénico en las aguas del río Grande Huamachuco por acción de 2.1×10^{10} UFC de *Pseudomona aeruginosa* en periodos de 24, 48, 72 horas a condiciones naturales y estériles.
- Analizar la capacidad de remoción de arsénico en las aguas del río Grande Huamachuco por acción de 3.15×10^{10} UFC de *Pseudomona aeruginosa* en periodos de 24, 48, 72 horas a condiciones naturales y estériles.
- Comparar la concentración de arsénico del agua del rio grande Huamachuco con los estándares de calidad ambiental.

II. METODO

2.1. Diseño de investigación

Tratamiento	Combinación	Repeticiones	Resultados
1	ACN+PA1+TR1	2	2
2	ACN+PA2+TR1	2	2
3	ACN+PA3+TR1	2	2
4	ACN+PA1+TR2	2	2
5	ACN+PA2+TR2	2	2
6	ACN+PA3+TR2	2	2
7	ACN+PA1+TR3	2	2
8	ACN+PA2+TR3	2	2
9	ACN+PA3+TR3	2	2
10	ACE+PA1+TR1	2	2
11	ACE+PA2+TR1	2	2
12	ACE+PA3+TR1	2	2
13	ACE+PA1+TR2	2	2
14	ACE+PA2+TR2	2	2
15	ACE+PA3+TR2	2	2
16	ACE+PA1+TR3	2	2
17	ACE+PA2+TR3	2	2
18	ACE+PA3+TR3	2	2
TOTAL			36

ACN: Agua en condiciones naturales (200mL)

ACE: Agua en condiciones estériles (200mL)

PA1: Concentración de *Pseudomonas aeruginosa* (1.01×10^{10} ufc)

PA2: Concentración de *Pseudomonas aeruginosa* (2.1×10^{10} ufc)

PA3: Concentración de *Pseudomonas aeruginosa* (3.15×10^{10} ufc)

TR1: Tiempo de remoción (24 h)

TR2: Tiempo de remoción (48 h)

TR3: Tiempo de remoción (72 h)

2.2. Variables, operacionalización

2.2.1. Variables

a. Variable Independiente

- Concentraciones de **inóculo** de *Pseudomonas aeruginosa* (1.05×10^{10} ; 2.1×10^{10} ; 3.15×10^{10} UFC)
- Tiempo de remoción: 24, 48 y 72 horas

b. Variable Dependiente

- Remoción de Arsénico. (%)

2.2.2 Operacionalización

CONCEPTO O VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES
Concentración de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Especie de bacterias Gram-negativas, aeróbicas, con motilidad unipolar. Están conformadas por una sola célula en forma de bastón razón por la cual reciben nombre de bacilos.	El recuento de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> viables se realizó por el método de diseminación en placa, usando como medio de crecimiento Agar Centrimide,	UFC
Tiempo	Periodo durante el cual se desarrolla un evento.	Se tomó el tiempo desde el inicio de la experimentación, repitiéndose en tres oportunidades cada 24 horas	Horas
Remoción de Arsénico	Se refiere a la cantidad de iones arsénicos en soluciones acuosas presentes después de un tratamiento, expresadas en miligramos por cada litro de solución (ppm)	Se calculó restando de la concentración inicial M_0 , la concentración resultante M_i después del tratamiento	Porcentaje

2.3.Población y muestra

2.3.1. Población

Se ha considerado a la población el agua del Río Grande, Huamachuco.

2.3.2. Muestra

La muestra considerada para realizar los análisis y tratamientos con *Pseudomonas aeruginosa* de acuerdo a la investigación propuesta fue de 5 litros de agua extraídas del punto de toma con coordenadas latitud: -7.640296, longitud: -78.034312 del río Grande, Huamachuco.

2.4.Técnicas e instrumentos de recolección de datos. Validez y confiabilidad

El instrumento para la recolección de datos fue validado por tres expertos con grado de magister o doctor, especialistas técnicos en procesamientos microbiológicos o químicos, especialistas en desarrollo de investigación.

2.5.Método de análisis de Datos

Los datos obtenidos durante la experimentación están ordenados en tablas permitiendo un mayor entendimiento y facilitando la aplicación de las pruebas estadísticas de normalidad y análisis de varianza (ANOVA), con lo cual se contrastó la hipótesis planteada y se determinó si existe o no efecto de la *Pseudomona aeruginosa* en la remoción de arsénico de las aguas del río Grande – Huamachuco.

2.6.Aspectos éticos

- La presentación de la información son reales garantizando el respeto a los autores citados anteriormente.
- Se respetara las normas medio ambientales, evitando contaminación que cause daño al ser humano o a la ecología.

III. RESULTADOS

Tabla 1: Porcentaje de remoción de Arsénico por acción de diferentes concentraciones de *Pseudomona aeruginosa*, en las aguas del río Grande – Huamachuco en condiciones naturales.

Tratamiento	Concentración (<i>Pseudomona aeruginosa</i> UFC)	Tiempo de Remoción (hrs)	Repetición 1 (%)	Repetición2 (%)	Promedio (%)
1	1.05×10^{10}	24	2.73	5.45	4.09
2	2.1×10^{10}	24	22.73	18.64	20.68
3	3.15×10^{10}	24	53.64	56.82	55.23
4	1.05×10^{10}	48	9.09	11.36	10.23
5	2.1×10^{10}	48	28.18	28.64	28.41
6	3.15×10^{10}	48	58.64	56.82	57.73
7	1.05×10^{10}	72	16.82	14.55	15.68
8	2.1×10^{10}	72	42.73	42.27	42.50
9	3.15×10^{10}	72	62.73	59.55	61.14

Fuente: Propia

Interpretación: Los mayores porcentajes de remoción de arsénico, en las aguas del río Grande – Huamachuco en condiciones naturales, fueron obtenidos por acción de 3.15×10^{10} UFC de *Pseudomona aeruginosa*, tras un periodo de 72 horas, la remoción más significativa que podemos observar en la tabla es de 61.14%.

Tabla 2: Porcentaje de remoción de Arsénico por acción de diferentes concentraciones de *Pseudomona aeruginosa*, en las aguas del río Grande – Huamachuco en condiciones estériles.

Tratamiento	Concentración (<i>Pseudomona aeruginosa</i> UFC)	Tiempo de Remoción (hrs)	Repetición 1 (%)	Repetición 2 (%)	Promedio (%)
10	1.05×10^{10}	24	27.27	24.09	25.68
11	2.1×10^{10}	24	49.09	45.91	47.50
12	3.15×10^{10}	24	79.55	77.73	78.64
13	1.05×10^{10}	48	29.55	32.27	30.91
14	2.1×10^{10}	48	54.55	52.27	53.41
15	3.15×10^{10}	48	81.82	79.55	80.68
16	1.05×10^{10}	72	36.36	33.64	35.00
17	2.1×10^{10}	72	63.64	62.27	62.96
18	3.15×10^{10}	72	95.45	95.27	95.36

Fuente: Propia

Interpretación: los mayores porcentajes de remoción de arsénico en las aguas del río Grande – Huamachuco en condiciones estériles, fueron obtenidos a partir de la aplicación de 3.15×10^{10} UFC de *Pseudomona aeruginosa*, tras periodos de 24, 48 y 72 horas, en lo cual podemos observar que los porcentajes de remoción más significativos es de 78.64%, 80.68% y 95.36% respectivamente.

Tabla 3: Análisis estadístico de normalidad para la concentración bacteriana

		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Concentración bacteriana	1.05 x 10 ¹⁰	0.949	6	0.736
	2.1 x 10 ¹⁰	0.970	6	0.893
	3.15 x 10 ¹⁰	0.902	6	0.384

Fuente: IBM SPSS statistics 23

Interpretación: En el cuadro de prueba de normalidad se evalúa el valor del estadístico Shapiro-Wilk, en la que se obtuvo el valor $p > 0.05$ por lo tanto cumple con la prueba de normalidad para el factor de concentración bacteriana, con este resultado podemos dar contraste la hipótesis del estudio.

Tabla 4: Prueba de normalidad para el tiempo de remoción.

		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	Gl	Sig.
Tiempo de Remoción	24	0.975	6	0.924
	48	0.970	6	0.894
	72	0.975	6	0.924

Fuente: IBM SPSS statistics 23

Interpretación: En el cuadro de prueba de normalidad se obtuvo un valor $p > 0.05$ por lo tanto aceptamos la prueba de normalidad para el tiempo de remoción.

Tabla 5: Prueba de homogeneidad de varianza en la concentración bacteriana.

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,343	2	15	,715

Fuente: IBM SPSS statistics 23

Interpretación: Obteniendo un valor $p > 0.05$ aceptamos la prueba de homogeneidad de varianza para la concentración bacteriana.

Tabla 6: Prueba de homogeneidad de varianzas Tiempo de Remoción

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,018	2	15	,982

Fuente: IBM SPSS statistics 23

Interpretación: Obteniendo un valor $p > 0.05$ aceptamos la prueba de homogeneidad de varianza para el tiempo de remoción.

Tabla 7: Análisis de varianza factorial multivalente (ANOVA) de los datos obtenidos en agua natural.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Concentración	3484.81	2	1742.41	100.20	0.00	6.94
Tiempo	260.06	2	130.03	7.48	0.04	6.94
Error	69.56	4	17.39			
Total	3814.43	8				

Fuente: IBM SPSS statistics 23

Interpretación: Se muestra el p – valor superior a 0.05 para la concentración y el tiempo de remoción, por lo tanto aceptamos que al menos uno de los tratamientos aplicados en el agua a condiciones naturales es diferente.

Tabla 8: Prueba Post Hoc Tukey para la concentración bacteriana en agua Natural.

Concentración Bacteriana	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
1.05×10^{10}	3	10,0000		
2.1×10^{10}	3		30,5300	
3.15×10^{10}	3			58,0333
Sig.		1,000	1,000	1,000

Fuente: IBM SPSS statistics 23.

Interpretación: Para el caso de las tres concentraciones evaluadas sobre la remoción de arsénico, En la prueba HSD Tukey Vemos que el mejor promedio es 58.03 de concentración Bacteriana 3.15×10^{10} (UFC) ya que presenta mucha diferencia entre los demás promedios.

Tabla 9: Prueba HSD Tukey para el tiempo de remoción de arsénico.

Tiempo de Remoción	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
24	3	26,6667
48	3	32,1233
72	3	39,7733
Sig.		,794

Fuente: IBM SPSS statistics 23.

Interpretación: Para el caso de los tres tiempos usados en la remoción de arsénico, en la prueba HSD tukey no se observa diferencias en los tratamientos.

Tabla 10: Análisis de varianza factorial multivalente (ANOVA) de los datos obtenidos en agua Estéril.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Concentración	4452.30	2	2226.15	278.23	0.00	6.94
Tiempo	299.71	2	149.86	18.73	0.01	6.94
Error	32.00	4	8.00			
Total	4784.01	8				

Fuente: IBM SPSS statistics 23

Interpretación: Obtenemos que nuestro valor $p < 0.05$ para la concentración y el tiempo de remoción, por lo tanto aceptamos la existencia de una diferencia significativa entre los niveles de la variables estudiadas.

Tabla 11: Prueba Post Hoc Tukey para la concentración bacteriana en agua Estéril.

Concentración Bacteriana	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
1.05 x 10 ¹⁰	3	30,5300		
2.1 x 10 ¹⁰	3		54,6233	
3.15 x 10 ¹⁰	3			84,8933
Sig.		1,000	1,000	1,000

Fuente: IBM SPSS statistics 23

Interpretación: Para el caso de las tres concentraciones evaluadas sobre la remoción de arsénico en agua estéril, la prueba HSD Tukey Vemos que el mejor promedio es 84.89 de concentración Bacteriana **3.15 x 10¹⁰** (UFC) ya que presenta mucha diferencia entre los demás promedios.

Tabla 12: Prueba HSD Tukey para el tiempo de remoción de arsénico.

Tiempo de Remoción	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
24	3	50,6067
48	3	55,0000
72	3	64,4400
Sig.		,815

Fuente: IBM SPSS statistics 23

Interpretación: Para el caso de los tres tiempos usados en la remoción de arsénico, en la prueba HSD Tukey muestra que la acción de los tratamientos no tiene ninguna diferencia.

IV. DISCUSIÓN

En la Tabla 1. luego de realizar los tratamientos a diferentes periodos de tiempo de remoción y diferente concentraciones de *Pseudomona aeruginosa*, se observa que en el agua a condiciones estériles hay una mejor remoción de arsénico, ya que hay una única interacción entre la *Pseudomona aeruginosa* y el metal arsénico; por otro lado, la remoción de arsénico del agua a condiciones naturales es mucho menor, pudiéndose deber a la presencia de diferentes microorganismos tales como micro algas que se alimentan de *Pseudomona aeruginosa*, impidiendo el óptimo desarrollo de la bacteria para lograr una mejor remoción lo que indicaría que en estas condiciones están presentes otros microorganismos que interfieren en la actividad o supervivencia de la *Pseudomona aeruginosa*, ya que, según refiere Pellizari et al (2014) de presentarse diferentes microorganismos en un medio, las razones de la supervivencia de uno responden a su capacidad para utilizar los nutrientes en una competencia entre las especies de modo que prolifera la mejor adaptada al medio, o a la presencia de depredadores y virus que juegan roles similares a los depredadores.

El mayor porcentaje de remoción de arsénico en las aguas del río Grande – Huamachuco en condiciones estériles, fue obtenido a partir de la aplicación de 3.15×10^{10} UFC de *Pseudomona aeruginosa*, tras un periodo de 72 horas, en lo cual podemos observar que el porcentaje de remoción más significativo es de 95.36% como se observa en la Tabla 2, Coincidiendo con Pellizari *et al* (2014) en su investigación, en la que desarrolló un biorreactor con *Pseudomona aeruginosa*, removiendo hasta 60% de arsénico tras un periodo de tiempo de 93 días, esto puede deberse a la diferente concentración de *Pseudomona aeruginosa* aplicada para el tratamiento.. Por otro lado se ha determinado que la remoción se debe a la oxidación del arsenito (As^{+3}) muy soluble en agua, a arseniato (As^{+5}) poco soluble en agua por la *Pseudomona aeruginosa* que utiliza esta transferencia de electrones como energía para su metabolismo.

V. CONCLUSIONES

- Se encontró que *Pseudomona aeruginosa* tiene la capacidad de remoción de arsénico a diferente tiempo y concentración.
- Se determinó la concentración de arsénico presente en el agua del Rio grande-Huamachuco, encontrándose como valor de 2.2 ppm de dicho metal contaminante.
- Se analizó y determinó la capacidad de remoción de arsénico presente en las aguas del Rio Grande-Huamachuco, encontrándose que la concentración de 1.05×10^{10} UFC de *Pseudomona aeruginosa* logra remover hasta un 4.09 % de arsénico a condiciones naturales en un periodo de 24 horas y un 25.68 % en condiciones estériles durante el mismo periodo.
- Se analizó y determinó la capacidad de remoción de arsénico presente en las aguas del Rio Grande-Huamachuco, encontrándose que la concentración de 2.1×10^{10} UFC de *Pseudomona aeruginosa* logra remover hasta un 28.41 % de arsénico a condiciones naturales en un periodo de 48 horas y un 53.41 % en condiciones estériles durante el mismo periodo.
- Se analizó y determinó la capacidad de remoción de arsénico presente en las aguas del Rio Grande-Huamachuco, encontrándose que la concentración de 3.15×10^{10} UFC de *Pseudomona aeruginosa* logra remover hasta un 61.14 % de arsénico a condiciones naturales en un periodo de 72 días y un 95.36 % en condiciones estériles durante el mismo periodo.
- Después de haber realizado el experimento podemos observar que los resultados obtenidos tanto en las aguas del río Grande a condiciones naturales como estériles no sobrepasan los estándares de calidad ambiental.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda que en las investigaciones futuras se trabaje con una mayor concentración de arsénico para observar una mayor remoción por *Pseudomonas aeruginosa*.
- Para realizar estudios más precisos se recomienda aumentar la cantidad de concentración de UFC de *Pseudomonas aeruginosa* para tener una comprensión más amplia de la acción de esta bacteria en la contaminación del agua.
- Se recomienda que se realicen, de forma periódica, estudios con *Pseudomonas aeruginosa* con otros metales pesados para determinar la máxima remoción que se puede obtener a través de experimentos basados en dicha bacteria.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ALARCÓN, et al. Arsénico en Agua [en línea] México: Centro de Investigación en Materiales avanzados, 2013 [Fecha de consulta: 19 de abril de 2018] Disponible en: <https://cimav.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1004/1056/1/Libro%202013-Arsenico%20en%20el%20Agua%20con%20ISBN.pdf> ISBN: 978-607-8272-14-3.

ARA. Resistencia y degradación del arsénico por la comunidad bacteriana de las aguas del río Maure. Revista Ciencia y Desarrollo, 2013.

APAZA. “Remoción de Arsénico (V) en medio acuoso utilizando sillar revestido con óxidos e Hierro”, Tesis para optar el grado académico de: Maestro en Química del Medio Ambiente, Universidad Católica Santa María, Arequipa. 2016.

BARTRAM. et al., Heterotrophic plate counts and drinking-water safety: the significance of HPCs for water quality and human health. Serie de la OMS Emerging Issues in Water and Infectious Disease. Londres (Reino Unido), IWA Publishing, 2003.

BASU. et al., A review on sources, toxicity and remediation technologies for removing arsenic from drinking water. [s.l.], *Res. Chem. Intermed.* 2014. [447-485].

CAMPOS. et al. Isolation of Arsenic resistance bacteria from volcanic rocks of Quebrada Camarones, Parina Region, Chile. *Gayana* 71, [150-155].

DASTIDAR. Modeling arsenite oxidation by chemoautotrophic *Thiomonas arsenivorans* strain b6 in a packed-bed bioreactor. *Sci. Total Environ.* 2012. [113-121].

DELGADO. et al. *Corynebacterium glutamicum* as a model bacterium for the bioremediation of arsenic. *Int. Microbiol.* (9), 207-215. 2006

ESTRADA. “Disminución de arsénico mediante un filtro de diatomita del agua de afloramiento subterráneo en el campamento Cedro-Pataz”, Tesis para obtener el título profesional de Ingeniería Ambiental. Trujillo: Universidad Cesar Vallejo, 2016.

ESPINO. et al. “Microbial responses to environmental arsenic”. *Biometals*, 2009. DOI: 10.1007/s10534-008-9195-y

GAURI. et al. Removal of arsenic from aqueous solution using pottery granules coated with cyst of *Azotobacter* and portland cement: Characterization, kinetics and modeling. 2011. *Bioresour. Technol.* 102: 6308-6312.

GARELICK. et al. Arsenic pollution sources, rev. (197) 17-60. 2008.

GEORGE. et al. Exposición al arsénico en el agua potable: una gran amenaza inadvertida para la salud en Perú. *Boletín de la Organización Mundial de la Salud* [en línea]. Vol. 22, n.º8, Agosto de 2014 [Fecha de consulta: 01 de mayo de 2018] Disponible en: www.eho.int/bulletin/volumes/92/8/13-128496-ab/es/

GILLISPE, et al., Soil pollution due to irrigation with arsenic contaminated groundwater: *Current state of science*.2015

INSTITUTO TECNOLOGICO GEOMINERO DE ESPAÑA. Estudio metodológico de los procesos de contaminación bacteriológica de las aguas subterráneas, aplicación a los acuíferos del norte de España, 1990. Tomo I [Fecha de consulta: 18 de noviembre de 2018]. Disponible en:

http://info.igme.es/SidPDF/021000/835/Tomo%201%20Informe%20te%C3%B3rico/21835_002.pdf.

KRUMOVA. et al., Isolation and identification of arsenic – transforming bacteria from arsenic contaminated sites in Bulgaria. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* [en línea]. Vol. 22, 2008 [Fecha de consulta: 15 de abril de 2018] Disponible en: www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/13102818.2008.10817541?src=recsys ISSN: 1314-3530.

LIÑAN. Remoción de arsénico en agua por raíces de cebolla, *Allium cepa*, bajo condiciones de laboratorio *Removal of arsenic in water by roots of onion, Allium cepa, under laboratory*

conditions Revista científica de la Facultad de Ciencias Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Tacna, 36(2): 27 - 32, Revista Rebiol.2016. ISSN: 2313-3171

LÓPEZ. Contaminación minera en Perú: informe médico reveló presencia de metales pesados en menores [en línea]. *Wayka.pe*. 30 de octubre de 2016 [fecha de consulta: 09 de mayo de 2018]. Disponible en: <https://wayka.pe/presencia-metales-pesados-en-ninos-de-los-andes/>

MEZA. Estudio de la Adsorción de Arsénico presente en soluciones acuosas empleando materiales adsorbentes a base de Quitosano modificado. Tesis para optar el grado académico de Magister en Química, Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú, 2017.

MONDAL. et al. Treatment of arsenic contaminated water in a laboratory scale up-flow biocolumn reactor. *J. Hazardous Mat.* (153) 136-145. 2008

ORGANIZACIÓN Mundial de la Salud. (OMS). 15 de febrero de 2018. Disponible en: www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/arsenic

PELLIZARI, et al. “Degradación de arsénico por *Pseudomona aeruginosa* para biorremediación de agua. Estudio Preliminar. Universidad Nacional del Chaco Austral. Argentina. 2014. ISSN: 0718-8706

ROSAS. et al. Arsenic concentrations in water, soil, milk and forage in Comarca Lagunera, Mexico. *Water Air Soil Pollut.* 112: 133-149. 1999

SHANKAR. et al. Arsenic contamination of groundwater: A review of sources, prevalence, health risks, and strategies for mitigation. *Sci. World J.* México, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/304524>.

SINGH. et al. Health risk assessment of heavy metals via dietary intake of foodstuffs from the wastewater irrigated site of a dry tropical area of India. *Food and Chemical Toxicology*, 48(1), 2012, p. 611-619.

STOLZ. et al., Microbial arsenic metabolism: New twists on an old poison. *Microbe* [en línea]. Vol. 5, n.º2, 2010[Fecha de consulta: 05 de mayo de 2018] Disponible en: www.monobasinresearch.org/research/arsenic/Microbe.2010.pdf&ved=2ahUKEwiyoemwejdAhUJzlkKHRLICCgQFjAAegQIBhAB&usg=AOvVaw298wTOsmEOe6mCdPkdQrs.

TRELLES. “Biosorción de arsénico en medio acuoso empleando biomásas vegetales inertes”. Tesis (Maestro en ciencias, con mención en tratamiento de aguas y reusó de desechos elaborado).universidad nacional de ingeniería. Lima - Perú 2013.

TSAI. et al. Arsenic metabolism by microbes in nature and the impact on arsenic remediation. *Curr. Opin. Biotechnol.* (20): 659-667. 2009

VALENZUELA. et al. Isolation of arsenite-oxidizing bacteria from arsenic-enriched sediments from Camarones River, Northern Chile. (82), p. 593-596. 2009

WAISBERG. et al. Molecular and celular mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicology*, 3(4), 2013, p. 95-117.

V. ANEXOS

Anexo 01: Instrumento de Recolección de datos

FICHA DE OBSERVACIÓN									
Título de investigación	<input style="width: 100%;" type="text"/>								
Investigadores	<input style="width: 100%;" type="text"/>								
	<input style="width: 100%;" type="text"/>								
	<input style="width: 100%;" type="text"/>								
I. DATOS GENERALES									
Material biológico	<input style="width: 200px;" type="text"/>	Medio de cultivo	<input style="width: 200px;" type="text"/>						
Temperatura	<input style="width: 200px;" type="text"/>	Tiempo de cultivo	<input style="width: 200px;" type="text"/>						
II. DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIÓN DE MATERIAL BIOLÓGICO									
		UFC/ml							
	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	Promedio					
	10 ⁻⁵								
	10 ⁻⁶								
	10 ⁻⁷								
III. DETERMINACIÓN DE REMOCIÓN DE ARSÉNICO									
Volumen bacteriano (ml)	Pseudomona aeruginosa (UFC/ml)	Tiempo de Remoción (horas)	[] Arsénico Inicial	[] Arsénico Final en condiciones naturales (ppm)		% Remoción CN	[] Arsénico Final en condiciones estériles (ppm)		% Remoción CE
				R1	R2		R1	R2	
5		24							
		48							
		72							
10		24							
		48							
		72							
15		24							
		48							
		72							
EQUIPO		CÓDIGO							
Estufa									
Espectrofotómetro de absorción atómica									

Anexo 02: Procedimiento Experimental

➤ Material de estudio

- a) **Material Biológico:** Las muestras de *Pseudomonas aeruginosa* fueron obtenidas ya aisladas en agar Centrimide.

- b) **Agua del río Grande- Huamachuco:** Se recolectaron 5 litros de agua del río Grande-Huamachuco y se determinó su contenido de arsénico.

➤ Preparación de la muestras

- a) **Material Biológico:** La identificación se realizó considerando su comportamiento frente a otros tipos de agar:
 - Agar Mac Conkey
 - Agar Centrimide

- b) **Agua del río Grande- Huamachuco:** Las muestras fueron recolectadas en material de vidrio esterilizado con capacidad de 1 litro, siendo trasladadas hasta la ciudad de Trujillo en un cooler para su conservación.

➤ Tratamiento

- a) **Pseudomona aeruginosa:** La concentración celular (UFC/mL) se determinó por medio de la técnica de recuento en placa sobre medio agar Centrimide (aislamiento selectivo para *Pseudomonas aeruginosa*), realizando diluciones seriadas en base diez desde 10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7} . El tiempo de incubación fue de 24 h a una temperatura promedio de $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$. La bacteria crece con colonias verde amarillentas, fluorescentes (sobre todo bajo luz de 366 nm, linterna MICROKIT), o bien marrones. Se puede confirmar con tiras de citocromo oxidasa KOT050.

La obtención de cultivos puros se realizó a partir de las placas con diferentes concentraciones de arsénico donde se aislaron los cultivos puros de cada morfotipo colonial, en tubos de ensayo con medio Mueller Hinton y arsenito de sodio (200 ug/mL), se incubó a 25°C hasta su desarrollo, luego se conservó en refrigeración.

- b) Agua del río Grande – Huamachuco:** Las muestras de agua tratadas se diferenciaron según las condiciones en las que se aplicaran los tratamientos, siendo 9 tratamientos en aguas a condiciones naturales y los otros 9 aplicados en condiciones estériles.

➤ **Evaluación:**

La evaluación de remoción de arsénico se realizó mediante la técnica de espectrofotometría de absorción atómica con la cual se determinó la concentración inicial de arsénico del agua del río Grande-Huamachuco y las concentraciones posteriores a la aplicación de los tratamientos.

Anexo 03: Determinación de la concentración de *Pseudomona aeruginosa* a través del método de recuento en placa.

100 ul

$$10^{-5} = >300 / >300$$

$$10^{-6} = 127 / 172 \rightarrow \text{promedio (155)}$$

$$10^{-7} = 23 / 18 \rightarrow \text{promedio (21)}$$

1mL

$$10^{-5} = >300 / >300$$

$$10^{-6} = 155 * 10 \rightarrow 1550 \text{ ufc/mL}$$

$$10^{-7} = 21 * 10 \rightarrow 210 \text{ ufc/mL}$$

Muestra = ufc/mL *invertido Dilución

$$\text{Muestra} = 210 * 10^{-7}$$

$$\text{Muestra} = 21 * 10^8 \text{ ufc/mL}$$

Como se ha inoculado a cada matraz 5mL, 10mL, 15mL

Entonces tenemos la siguiente concentración.

$$M = 21 * 10^8 \text{ ufc/mL} * 5\text{mL} \rightarrow 1,05 * 10^{10} \text{ UFC}$$

$$M = 21 * 10^8 \text{ ufc/mL} * 10\text{mL} \rightarrow 2,1 * 10^{10} \text{ UFC}$$

$$M = 21 * 10^8 \text{ ufc/mL} * 15\text{mL} \rightarrow 3,15 * 10^{10} \text{ UFC}$$

Anexo 04: Evidencias fotográfica

I. AISLAMIENTO DE LA BACTERIA

Foto N° 1: Bacteria Pseudomona aeruginosa en medio agar centrimide

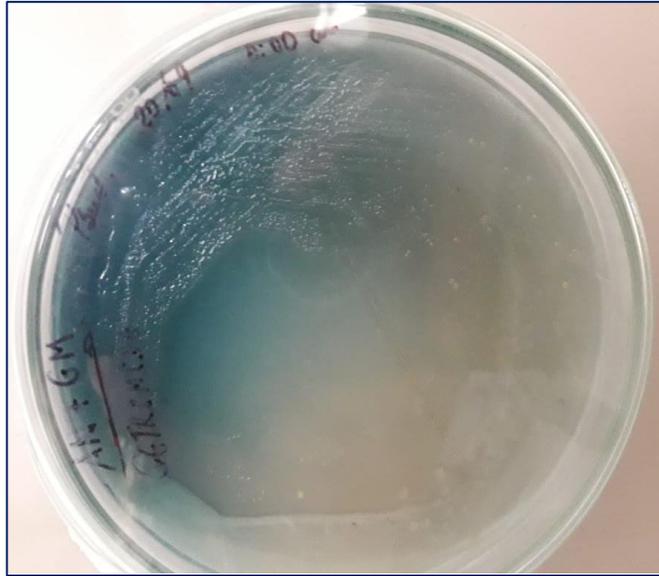


Foto N° 2: Bacteria Pseudomona aeruginosa en medio agar mack Conkey

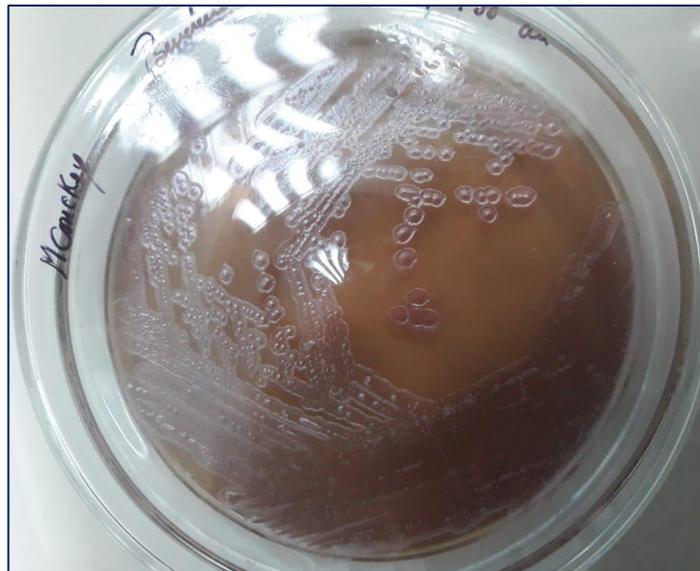


Foto N° 3: visualización de colonias de bacterias *Pseudomona aeruginosa*

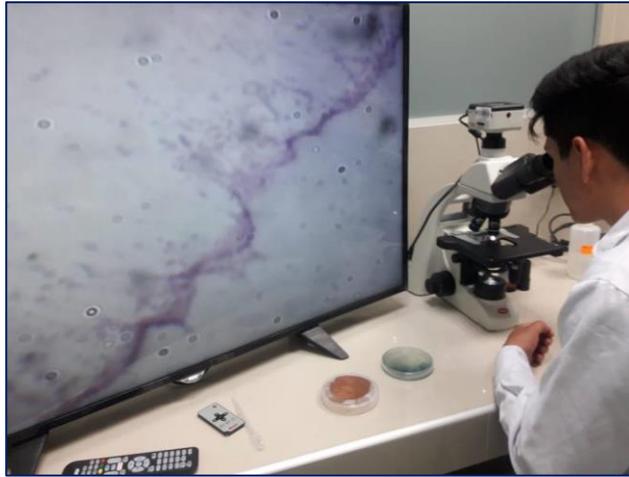


FOTO N° 4: Aplicación del Agar Centrimide en las placas

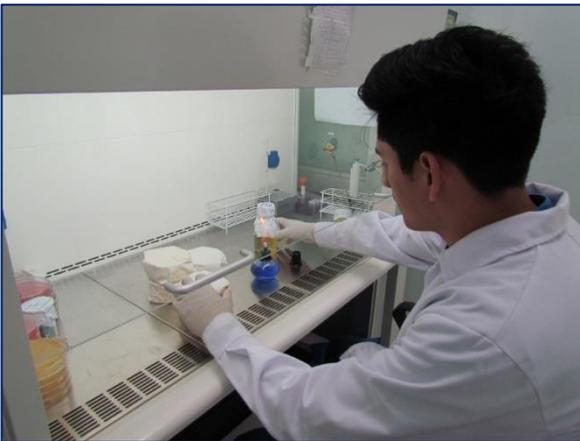


Foto N° 4-5 recuento bacteriano en placas para hallar la concentración UFC.

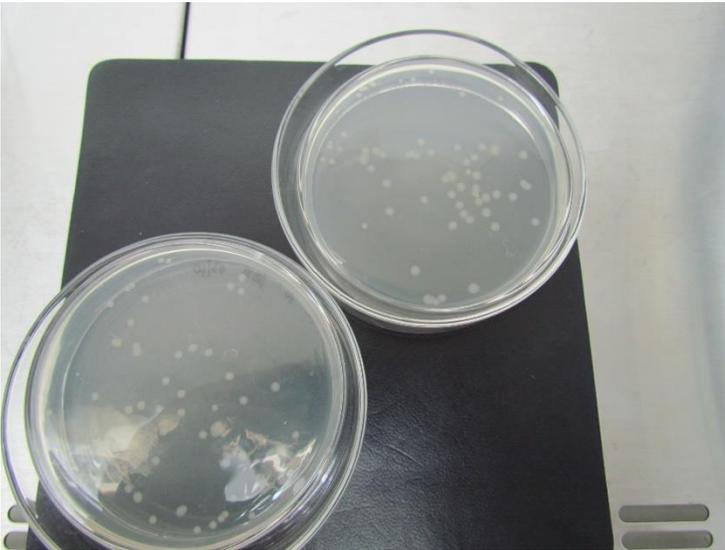


Foto N° 6, 7 Y 8: reporte de análisis de laboratorio.

Parámetro	Unidades	Resultado
Arsénico	Ppm	0.22

TRUJILLO 23 DE OCTUBRE 2018

ING. JOSÉ RIVERO CORCUERA

LABORATORIO DE ANÁLISIS Rivelab

Jr. Pizarro N°137 – Oficina N°108
Trujillo- Perú

rivelabperu@hotmail.com
joferime@hotmail.com

Cel.: #955805353
RPM: #942101890
Fijo: 044 346297



SERVICIOS DE ANÁLISIS Y ASESORÍA DELTAS S. R. L.

REPORTE DE ANALISIS

SOLICITANTE : GRADOS RODRIGUEZ JACK
MUESTRA : AGUA DEL ELRIO GRANDE – HUAMACHUCO
INGRESO DE MUESTRA : 23 DE OCTUBRE DEL 2018

Muestra	Horas	mL	ppm As
ARCN	24	5	2.98
ARCN	24	10	21.32
ARCN	24	15	54.97
ARCN	48	5	10.15
ARCN	48	10	30.41
ARCN	48	15	57.89
ARCN	72	5	15.13
ARCN	72	10	44.95
ARCN	72	15	61.95
ARE	24	5	29.31
ARE	24	10	52.75
ARE	24	15	83.28
ARE	48	5	25.93
ARE	48	10	53.18
ARE	48	15	84.62
ARE	72	5	36.18
ARE	72	10	65.38
ARE	72	15	97.74

(A) METODO DE ABSORCION ATOMICA

TRUJILLO 27 DE OCTUBRE 2018


ING. WDE CASTILLA SANCHEZ
JEFE DE LABORATORIO
CIF 18715 / PERITO QUIMICO



Urb. Monserrate 5ª Etapa Mz.D2 Lote 9-Trujillo-La Libertad. Ruc: 20482155058
Tlf: 044-280011-949960633-949564849. E-mail: deltas@yuboo.com



SERVICIOS DE ANÁLISIS Y ASESORÍA DELTAS S. R. L.

REPORTE DE ANALISIS

SOLICITANTE : GRADOS RODRIGUEZ JACK
MUESTRA : AGUA DEL RIO GRANDE- HUAMACHUCO
INGRESO DE MUESTRA : 23 DE OCTUBRE DEL 2018

Muestra	Horas	mL	ppm As
ARCN	24	5	5.71
ARCN	24	10	19.59
ARCN	24	15	53.74
ARCN	48	5	10.48
ARCN	48	10	29.82
ARCN	48	15	58.51
ARCN	72	5	17.72
ARCN	72	10	46.49
ARCN	72	15	59.81
ARE	24	5	26.94
ARE	24	10	49.82
ARE	24	15	86.62
ARE	48	5	28.41
ARE	48	10	51.53
ARE	48	15	80.39
ARE	72	5	34.51
ARE	72	10	68.92
ARE	72	15	95.69

(A) METODO DE ABSORCION ATOMICA

TRUJILLO 27 DE OCTUBRE 2018


ING. NOE CASTILLA SANCHEZ
JEFE DE LABORATORIO
CIP 18715 / PERITO QUIMICO



Urb. Monserrate 5ª Etapa Mz.D2 Lote 9-Trujillo-La Libertad. Ruc: 20482155058
Tlf: 044-280011-949960633-949564849. E-mail: deltas09@yahoo.com