



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

“Influencia de la temperatura y pH con *Serratia marcescens* en biorremoción de plomo (Pb) de la quebrada La Victoria, Santiago De Chuco”

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Ingeniero Ambiental

AUTORES:

Br. Lecca Cballero, Dafne Ariadna. (ORCID: 0000-0002-5224-5961)

Br. Vega Moreno, Eyber Johand. (ORCID: 0000-0003-0762-4003)

ASESOR:

MSC. Valderrama Ramos, Isidoro (ORCID: 0000-0003-4001-3255)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Tratamiento y Gestión de los Residuos.

TRUJILLO-PERÚ

2020

## **Dedicatoria.**

A Dios por protegerme en este camino y fortalecerme espiritualmente para alcanzar mi objetivo, con mucho amor y cariño a mis padres Linder y Lucinda quienes con sus consejos fueron el motor de arranque en perseguir este sueño, a mis hermanos Rosmery, Sohely, Vieler son mis mayores ejemplos a seguir y mis soportes incondicionales y a mis sobrinos Ibsen, Nixie y Nicolás que por su presencia me alegran mi día.

LECCA CABALLERO DAFNE ARIADNA.

A mis padres Manuel y Olivia quienes con su paciencia, esfuerzo y amor me han permitido llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy, gracias por inculcar en mí el ejemplo de trabajo y responsabilidad, de no temer las adversidades porque Dios está siempre a mi lado. A mi hermano Gael por su paciencia y cariño, durante todo este proceso, por estar conmigo en todo momento gracias. A Dios, quien me da la fortaleza en los momentos más difíciles de la vida, por darme las ganas y los días de seguir luchando.

VEGA MORENO EYBER JOHAND.

### **Agradecimiento.**

A nuestra alma mater la Universidad Cesar Vallejo por ser la responsable de nuestra formación académica con valores y un sentido humanista.

A nuestros asesores el Dr. Medardo Alberto, Quezada Álvarez y Msc. Isidoro Valderrama Ramos por su ardua labor en guiarnos en nuestra investigación, a la Dr. Magaly De la Cruz Noriega y al Dr. Luis Alberto Cabanillas Chirinos por sus conocimientos proporcionados fueron piezas fundamentales en el desarrollo de nuestra investigación.

A cada uno de nuestros familiares por la paciencia y su amor, es una gratitud inmensa que expresamos en estas líneas.

## **Página del jurado**

## **Página del jurado**

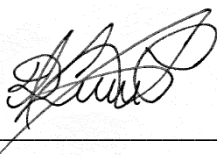
### **Declaratoria de autenticidad.**

Yo, Lecca Caballero Dafne Ariadna con DNI N° 72405373 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.

Asimismo, 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, 17 de diciembre 2019.



---

Lecca Caballero Dafne Ariadna.

DNI: 72405373

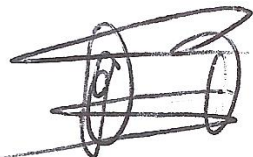
### **Declaratoria de autenticidad.**

Yo, Vega Moreno Eyber Johand con DNI N° 71053833 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.

Asimismo, 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, 17 de diciembre 2019.



---

Vega Moreno Eyber Johand.

DNI: 71053833

## Índice

Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento.....	iii
Página del jurado.....	iv
Declaratoria de autenticidad.....	vi
Índice.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	x
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MÉTODO.....	11
2.1 Tipo y diseño de investigación.....	11
2.2 Operacionalización de las Variables.....	13
2.3 Población y muestra.....	14
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.....	15
2.5 Procedimiento.....	15
2.6 Método de análisis de datos.....	17
2.7 Aspectos éticos.....	17
III. RESULTADOS.....	18
IV. DISCUSIÓN.....	23
V. CONCLUSIONES.....	27
VI. RECOMENDACIONES.....	28
REFERENCIAS.....	29
ANEXOS.....	35



## RESUMEN.

La contaminación por metales pesados es uno de los problemas más comunes en el Perú, los cuales generan un daño en las aguas de los ríos, lagos, entre otros, frente a este problema el objetivo de la presente investigación es determinar la influencia de la temperatura y pH con la bacteria *Serratia marcescens* en la biorremoción de plomo de la quebrada La Victoria, Santiago De Chuco, en donde se tomó como población al volumen total del agua de la quebrada La Victoria, comprendiendo una muestra de 15 L. Se determinó la concentración mínima inhibitoria (MIC) para Pb con la bacteria *Serratia marcescens*, siendo estas: 0.5 ppm, 1.5 ppm, 3.0 ppm y 10 ppm; al mismo tiempo la bacteria fue sometida a pruebas de crecimiento con pH 3, pH 5 y pH 7. Las pruebas de biorremoción se generaron a nivel de laboratorio, empleando biorreactores conteniendo 500 mL de muestra de agua con una concentración inicial de 0.268 mg Pb/L, que estuvo en contacto con el biosorbente bacteriano (*Serratia marcescens*) bajo condiciones constantes de 24 horas por tratamiento, 120 rpm y una concentración de  $10^8$  ufc/mL. Se realizaron 06 tratamientos con 03 repeticiones cada uno tomando como variables al pH y la Temperatura, siendo estas: pH 5, pH 7 y 25 °C, 30 °C, 35 °C respectivamente. Cada tratamiento fue analizado por el método de espectrofotometría de absorción atómica, en el cual el resultado más favorable fue para el pH 5 con una temperatura de 35 °C, dando un porcentaje de remoción del 63.9%, en donde fue el dato más cercano al ECA de categoría 1 A2 (0.05) confirmando que la temperatura y el pH tienen una alta influencia en la bacteria *Serratia marcescens* para los tratamientos de biorremoción.

**Palabras Claves:** Bacteria *Serratia marcescens*, Plomo, Biorremoción.

## ABSTRACT

Heavy metal pollution is one of the most common problems in Peru, which generate damage in the waters of rivers, lakes, among others, against this problem the objective of the present investigation is to determine the influence of temperature and pH with the bacterium *Serratia marcescens* in the lead bioremediation of the La Victoria creek, Santiago De Chuco, where the total volume of the water in the La Victoria creek was taken as a population, comprising a sample of 15 L. The MIC was determined for Pb with the *Serratia marcescens* bacteria, these being: 0.5 ppm, 1.5 ppm, 3.0 ppm and 10 ppm; At the same time the bacteria were subjected to growth tests with pH 3, pH 5 and pH 7. The bioremediation tests were generated at the laboratory level, using bioreactors containing 500 mL of water sample with an initial concentration of 0.268 mg Pb / L, which was in contact with the bacterial biosorbent (*Serratia marcescens*) under constant conditions of 24 hours per treatment, 120 rpm and a concentration of 108 cfu / mL. 06 treatments were carried out with 03 repetitions each taking as variables the pH and the Temperature, these being: pH 5, pH 7 and 25 ° C, 30 ° C, 35 ° C respectively. Each treatment was analyzed by the atomic absorption spectrophotometry method, in which the most favorable result was for pH 5 with a temperature of 35 ° C, giving a removal rate of 63.9%, where it was the closest data to Category 1 A2 RCT (0.05) confirming that temperature and pH have a high influence on the *Serratia marcescens* bacteria for bioremediation treatments.

**Palabras Claves:** Bacteria *Serratia marcescens*, Lead, Biorremoción.

## **I. INTRODUCCIÓN.**

El agua dulce es un servicio fundamental que la naturaleza ofrece a los seres humanos, las aguas subterráneas, ríos y lagos pueden ser fuentes de agua limpia para beber y usos domésticos además también proporcionar agua a las actividades económicas como la industria, la producción de energía, el riego y la ganadería. (Grizzetti et al., 2019, p.3); en las últimas décadas, la escasez de los recursos hídricos, el deterioro de los ecosistemas acuáticos y las repercusiones asociadas a otros ecosistemas se han convertido en los grandes retos mundiales (Aznar, 2018, p.310) es así que entre los principales problemas ambientales se encuentra la contaminación de agua por metales pesados.

En China durante las últimas décadas, la contaminación causada por una variedad de factores, por ejemplo, descarga de aguas residuales industriales y municipales y la contaminación de fuentes no puntuales hace que la acumulación de metales en muchas cuencas sea cada vez más grave, cuenca del río Amarillo (YRB) y la cuenca del río Yangtze (YtRB) tenían los niveles de contaminación más elevados de Pb que otras cuencas, esto corresponde con el rápido desarrollo económico en esas regiones (Han et al., 2017, p.746-747) el estuario Yangtze, es el tercer río más grande del mundo y se ve afectado por escorrentías, se evaluaron los niveles y la distribución espacial de los metales pesados Cu, Zn, Pb, Cd, Hg y As, recogiendo 20 muestras en la desembocadura del río, desde el 2012 al 2016, mostrando una tendencia de disminución general en la concentración con respecto a la distancia de la costa, dando como resultado una alta concentración de metales pesados en zonas fangosas (LI, lei Jiang, 2019, p.514).

En el Perú se registraron 4147 fuentes de contaminación que afecta la calidad de agua, entre los principales contaminantes son; los desechos orgánicos de efluentes urbanos y los provenientes de las industrias pesqueras y acuícolas, también los metales pesados provenientes de las industrias minera, química y metal-mecánica; el volumen del agua utilizada por la actividad mineras es un total de 173.60 (hm<sup>3</sup>/año) (SINIA, 2017, p.14) En el centro-norte del Perú en la región Ancash, los Andes comprenden dos cordilleras paralelas: Cordillera Blanca al este y la Cordillera Negra al oeste, el retiro del glaciar en zona cercana a la cordillera blanca ha dejado grandes cantidades de materiales sulfuro expuesto a la intemperie, oxidándose de manera natural y finalmente contribuyendo a la contaminación del Río Negro que drena sus aguas al río Santa, volviendo la calidad de

agua incompatible para la mayoría de organismos que hace 40 años vivían en abundancia allí (Grande et al., 2019, p.399).

Entre el 2012-2016, la Autoridad Nacional del Agua realizó 394 monitores de calidad de agua superficial en 119 Unidades Hidrográficas, que representa el 75 % respecto del total nacional de 159 unidades hidrográficas (SINIA, 2017, p.14).

La Autoridad Nacional del Agua, ANA en el 2018 identificó fuentes de contaminación con la finalidad de elaborar una red de monitoreo para la vigilancia de la calidad de agua en las micro cuencas de Angasmarca y Piscochaca que abarcan los distritos de Cachicadan, Santa Cruz de Chuca, Angasmarca y Mollebamba las cuales se encuentran ubicadas en la provincia de Santiago de Chuco; se identificó un total de 28 fuentes de contaminación de las cuales 20 corresponden a vertimientos de origen minero, son 1210 usuarios que reciben beneficios de estas aguas para fines agrícolas, pero al mismo tiempo muchas veces se ven perjudicados por la contaminación (ANA, 2018, p.9).

En épocas de estiaje se realizó un monitoreo participativo, estableciendo 20 puntos de muestreo a lo largo de la micro cuenca Piscochaca y Angasmarca, con la finalidad de evaluar la calidad de dichos cuerpos de agua, clasificándola en la categoría 1-A2 Poblacional y Recreacional, en toda la red de monitoreo hubo presencia de As, Al, Cd, Fe, Mn, Pb que en muchos ríos el valor sobrepasaba el ECA establecido (ANA, 2018, p.3).

En el distrito de Mollebamba se encuentra la quebrada La Victoria, un punto monitoreado por la Autoridad Nacional del Agua, está se ubica aguas arriba antes del cruce con el río San Fráncico, que abastece de este recurso a la población de Tulpo; está quebrada posee una gran problemática causada por los vertimientos provenientes de los socavones de extracción de mineral y acopio, que afectan su calidad, sobre todo en épocas de lluvia, sus aguas son claras con color amarillento rojizo del sedimento de piedras del cauce; los resultados del monitoreo en el 2018 en épocas de estiaje se compararon con el ECA de la categoría 1-A2 y se encontraban a un pH de (3.339), en donde los parámetros que excedieron fueron, Cd (0.03451mg/l) Fe (3.838 mg/l) y Pb (0.5647mg/l), los demas parametros evaluados si cumplieron con los ECAS para agua. (ANA, 2018, p.21). En el 2019 se realizó el muestreo, en el cuerpo de agua superficial se detectaron trazas de algunos metales, los parámetros que excedieron el ECA fuerón el pH de (3.76), DQO (36

mg/l) Cd (0.00928 mg/l) Fe (1.303 mg/l) y Pb (0.2650 mg/l), en donde el valor del parámetro más alarmante fue el Plomo, los demás parámetros evaluados si cumplieron con los ECAS para agua. (ANA, 2019). El Plomo, así como otros metales pesados, es considerado como uno de los contaminantes más tóxicos y persistente en el medio ambiente que afecta a la salud humana (Ho et al., 2015, p.402).

Los metales pesados transportados por el agua pueden adsorberse por la vegetación acuática como las algas e introducirlos en la cadena alimenticia, esto conduce a la bioacumulación de metales pesados en los organismos vivos, causando toxicidad y daños, es importante señalar que a pesar de que muchos metales pesados son esenciales a los sistemas biológicos por ejemplo, el cobre y el zinc, su consumo sobre la ingesta diaria tolerable máxima provisional puede causar toxicidad (Kobielska et al., 2018, p.93). Las técnicas convencionales para la eliminación de metales pesados disueltos incluyen precipitación química, adsorción con carbón, intercambio iónico, evaporaciones y procesos de membrana, (Rajasulochana et al., 2016, p.2); sin embargo, estas técnicas tienen varias desventajas, incluyendo la eficiencia del tratamiento, el alto costo operativo y el riesgo secundario de la contaminación ambiental; la biorremediación es una tecnología de fácil aplicación que puede superar sin fallos estas deficiencias (Wang et al., 2018, p.4) ya que es un proceso físico-química que implica la eliminación de diversos contaminantes, tales como metales pesados de la solución por materiales biológicos. Los diferentes tipos de microorganismos, tales como bacterias, algas, hongos y células de levadura tienen la capacidad de eliminar metales pesados a partir de soluciones acuosas, de hecho, los microorganismos interactúan con los iones metálicos presentes en la solución (Nasser et al., 2018, p.3).

Al investigar sobre la eliminación de metales pesados, es importante evaluar su comportamiento junto con las características del adsorbente; en donde los parámetros más importantes de la calidad del agua relacionados con la eliminación de metales pesados son el pH, la temperatura, la presencia de materia orgánica natural (NOM), y la fuerza iónica (Lesley et al., 2019, p.5). En esta investigación se determinó la influencia de la temperatura y pH con la bacteria *Serratia marcescens* en biorremoción de plomo de la quebrada La Victoria perteneciente a Santiago De Chuco, en donde muchos autores señalan que esta bacteria ha sido considerada como herramienta potencial para la eliminación de metales pesados.

Según Queiroz, et al (2018, p.2-10) en su investigación titulada “Medio de crecimiento Rich promueve un aumento en Mn (II) la extracción y producción de óxidos de manganeso por “*Serratia marcescens*”. Se evaluó la actuación de dos cepas diferentes de la bacteria “*Serratia marcescens*” en la eliminación de Mn (II) y los efectos de la (medio K) en la cepa LG1 pigmentada y la cepa CL11 no pigmentada en medio rico en nutrientes, LG1 pigmentada exhibieron mejora del crecimiento y mayor tolerancia Mn (II) (0-2000 mg/L). La biooxidación de Mn por la cepa CL11 no pigmentada puede implicar mecanismos indirectos que alteran el pH del medio, mientras que la cepa LG1 pigmentada puede utilizar un mecanismo directo para la biooxidación mediada por los componentes celulares tales como proteínas intracelulares, estos resultados demuestran el potencial biotecnológico de las dos cepas, concluyendo que se obtuvo una eliminación del 64.25% de Mn (II) en las dos cepas.

Qian, et al (2019, p.1-12) en su artículo de investigación “La reducción de Cu(II) y la producción simultánea de acetato de carbono inorgánico por *Serratia marcescens* biofilms y células de plancton en los sistemas de electrosíntesis microbianas”. Se evaluó los constituyentes de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) y las actividades fisiológicas de la biofilms de las células de plancton y la bacteria *Serratia marcescens* en un sistema electrosíntesis microbiana Q1, las condiciones evaluadas en esta investigación fue una concentración de hasta 80 mg/L de Cu (II), con una corriente catódica potencial de 900 Mv vs. Electrodo de hidrógeno estándar, concluyendo que se consiguió una reducción simultánea de Cu (II)  $6.42 \pm 0.02$  mg / L / h .

Cristani, et al. (2012, p.161-165) en su artículo de investigación “El uso de la bacteria *Serratia marcescens* en la biosorción de metales tóxicos” El objetivo fue evaluar la capacidad de la bacteria *Serratia marcescens* frente a los metales de Pb, Cd y Cr y su uso potencial para la biorremediación de ambientes contaminados con estos metales, se investigó el crecimiento de la bacteria en presencia de distintas concentraciones sub inhibitorias de cada metal analizado y la producción del pigmento rojo prodigiosina con respecto a la cinética de biosorción, se estudió en un corto plazo de 60 a 120 min, concluyendo que las concentraciones de Pb fueron los valores más altos alcanzados comparados con los otros metales analizados, el valor aumentó lentamente de 10 min ( $0.013 \mu\text{g} / \text{g}$ ) hasta un valor máximo de  $0.0213 \mu\text{g} / \text{g}$  a los 60 min.

Por otra parte Kumar, et al (2019, p.121-132) en su artículo titulado “Biosorción activa y pasiva de Pb (II) a partir de biomasa viva y muerta de la bacteria marina *Bacillus xiamenensi* PbRPSD202: cinética y estudios de isothermas” Se evidenció como la cepa bacteriana mostró resistencia a altas concentraciones de Pb (II) (2200 mg/l) por medio de la MIC, por ello, se realizó pruebas bajo diferentes condiciones paramétricas tales como; la concentración inicial de Pb (II), el pH, temperatura, concentración de NaCl, velocidad de agitación, tiempo de tratamiento, la concentración de biomasa, concluyendo que las condiciones óptimas fue de 4% w/v de NaCl, pH 6, temperatura de 35 °C, 140 rpm y 1 g / l dosis biosorbente, obteniendo un porcentaje máximo de 99.19 % con biomasa viva y un 97.18 % con biomasa muerta.

Sayyadi, et al. (2017 p.1-7) en su artículo de investigación “Termodinámica de equilibrio y cinéticos estudios sobre la biosorción de  $Pb^{+2}$  desde solución acuosa de *Bacillus pumilus sp. ASI* aislado del suelo a abandonada mina de plomo” El objetivo de la investigación fue utilizar la bacteria *Bacillus pumilus sp. ASI* como un adsorbente de  $Pb^{+2}$  en soluciones acuosas; se investigó a diversas condiciones experimentales de pH, concentración de metal inicial, tiempo de contacto y la temperatura, concluyendo que el pH óptimo fue 4 y que a mayor concentración de  $Pb^{+2}$  aumenta la adsorción; relacionado a la temperatura la adsorción es un proceso endotérmico, se deduce que en estas condiciones el proceso es espontánea debido a la variación de entropía positiva y la capacidad máxima de biosorción de la biomasa fue de 0.671 mmol/ g.

Rasoul, et al. (2018, p.3-35) en su artículo de investigación “Biosorción de bajos niveles de concentración de plomo (EE) y Cadmio (EE) de la solución acuosa por *Schchromyrcches Cheravisiae*: metodología de superficie de respuesta” Se propuso como objetivo aplicar *Saccharomyces cerevisiae* para biorremover cantidades muy bajas de metales pesados, evaluando primero con el diseño de cribado Taguchi usando tres parámetros; la biomasa, concentración de iones inicial y pH, concluyendo que las condiciones ajustadas del mejor conjunto real fue de pH 5, la concentración de iones de  $Pb^{+2}$  inicial fue de 52.5 g/L y  $32.5 \times 10^7$  CFU de biomasa, se consiguió una absorción máxima 76.9% de ion Pb.

Alipanahpour, et al. (2016, p.4-16) “Biosorción simultánea altamente eficiente de  $Hg^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  y  $Cu^{2+}$  por la levadura en Vivo *Yarrowia lipolytica* 70562 tras superficie optimización metodología de respuesta: estudio cinético y la isoterma”. Se investigó la biosorción de iones metálicos en una solución acuosa a través de *Yarrowia lipolytica*

70562, la corrección y la dependencia de la eficiencia de biosorción a variables eficaces como pH, concentración inicial, tiempo de contacto y la temperatura se estudió por diseño compuesto central bajo metodología de superficie de respuesta, tres respuestas fueron estudiadas simultáneamente por optimización numérica metodología. Concluyendo que a un pH 6.4, a una temperatura de 25 °C se encontró mejores resultados de eficiencia de biosorción, después de alrededor de 8 h, la biosorción óptima para el  $Pb^{2+}$  fue de 99.74% .

Según Choi, et al. (2018, p.275-282) en su artículo de investigación “Optimización de cobre, plomo y cadmio biosorción de la bacteria recién aislada utilizando un diseño de Box-Behnken”, se identificó a la bacteria como *Pseudomonas azotoformans*, determinando la MIC, y utilizando el diseño Box-Behnken para optimizar el proceso de biosorción, con tres factores: pH, concentración inicial del metal y la concentración del biosorbente, concluyendo que el pH 6, con 2 g / L de biomasa y concentración inicial de cada metal 25 mg / L, se obtuvo el mejor resultado que fue la cantidad de metales adsorbidos 78.23% se alcanzó para el Pb .

Lin, et al. (2015, p.1-5) en su artículo de investigación “Bio-remediación de acefato - Pb (II) contaminantes compuestos por *Bacillus subtilis Fzul-33*” En el presente estudio se aisló la bacteria *Bacillus subtilis Fzul-33* para que pueda eliminar simultáneamente acetato plomo y  $Pb^{2+}$ , por ello se llevó a cabo experimentos por lotes para estudiar la influencia del pH, tiempo de la interacción y concentración  $Pb^{2+}$  en el proceso de eliminación, los mecanismos fueron de biodegradación y biomineralización en soluciones acuosas, concluyendo que las condiciones óptimas de pH 5.5, temperatura de 25 ° C y tiempo de contacto de 10 min los parámetros se consiguió eliminar de  $381.31 \pm 11.46$  mg / g  $Pb^{2+}$  .

Gutiérrez (2015, p. 25-75) en su tesis para obtener el grado académico de doctor en Ciencias Biológicas “Estudio de la Bioadsorción de Cadmio y Plomo con Biomasa de *Serratia marcescens* M8a-2T, a Nivel de Laboratorio” diseñaron un proceso de carácter biotecnológico para la biorremoción de cadmio y plomo empleando una cepa aislada en un ambiente minero, que se evaluó su producción y resistencia de estos metales pesados estableciendo condiciones físico-químico óptimos, concluyendo que la bacteria *Serratia marcescens* M8A-2T es resistente a estos metales, llegando a su máxima capacidad de bioadsorción a pH 3 se remueve 92.46 % y a pH 7 donde se removió 96.03 % las



diferencias son mínimas y pueden usarse ambos pH para la remoción; esta cepa es genéticamente estable a no presentar plásmidos, además de tener un riesgo menor a perder la resistencia a metales pesados.

Por otro lado Rodríguez (2018, p.27- 42) en su tesis para obtener el título profesional de Ingeniería Ambiental “Capacidad de remoción de compuestos organofosforados por *Serratia marcescens* en suelos contaminados del Distrito de Moche” se buscó demostrar las capacidades que posee la *Serratia marcescens* con concentraciones de  $10^7$  y  $10^8$  ufc/ml para remover compuestos organofosforados en el suelo, se caracterizaron los parámetros físicos y químicos y encontraron al malathion en una concentración de 62.98 ppm, concluyendo que la capacidad de remoción en el día tres, las bacterias *Serratia marcescens* de concentración  $10^8$  ufc/ml fue mayor que  $10^7$  ufc/ml con un mayor porcentaje de 12.53% de la capacidad degradadora.

Las contaminaciones por metales se consideran contaminantes con densidad mayor de  $5 \text{ g/cm}^3$ , se pueden agrupar en clases esenciales y no esenciales, metales pesados esenciales incluyen Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni y Zn se consideran como micronutrientes esenciales, pero se vuelven tóxicos cuando se toma en cantidades en exceso. No metales pesados esenciales incluyen Pb, Cd y Hg y son altamente tóxicos para los organismos vivos (Ashraf et al., 2019, p.714).

Las principales fuentes de contaminación industrial son la minería, la combustión de carbón, aguas residuales y la eliminación de residuos de productos. La actividad minera produce grandes cantidades de residuos de roca, todavía contienen trazas de metales pesados As, Cu, Cd, Pb, Hg, que se depositan dentro de desechos de las minas y se expone a la intemperie a condiciones de oxidación que conduce a drenaje ácido, esto a su vez moviliza a los metales pesados, que luego penetran en la roca, suelos circundantes y en algunos casos, fuentes de agua potable (Kobielska et al., 2018, p.92).

El plomo es un metal pesado sólido de color azulado, con número atómico 82, es poco soluble en agua, sus estados de oxidación,  $2+$  y  $4+$ , resiste al ataque de los ácidos clorhídrico y sulfúrico, pero con el ácido nítrico se disuelve con lentitud, es anfótero, porque forma sales metálicas del ácido plúmbico, así como sales de plomo de los ácidos y compuestos organometálico, con diversos isótopos, estables y reactivos y altos niveles

de toxicidad. El entra en el cuerpo humano por inhalación, ingestión, contacto dérmico, o transferencia a través de la placenta (Guangming et al., 2015, p.141)

El Estado-Ambiental Agencia de Protección Estados Unidos (USEPA) han enumerado al plomo como una sustancia inorgánica cancerígeno y teratogénico peligrosas que causan grave detrimento de correo efectos en órganos del cuerpo humano incluyendo el hígado, el páncreas, el estómago y el bazo (Siripongvutikorn et al., 2016, p.1), la alta exposición de Pb puede dar lugar a causa de las enfermedades neuro-degenerativas, daños en el sistema nervioso central y periférico, insuficiencia renal, daño a la reproducción, trastorno esquelético, retraso mental, disminución de los niños del intelectual la capacidad y el cáncer (Mohapatra et al., 2017, p.121).

La biorremediación emplea el uso de microorganismos, en virtud de sus propiedades bioconcentrantes y metabólicas, para degradar, secuestrar o eliminar contaminantes ambientales. (Fingerman et al., 2005, p.6).

Los microbios tienen diversos mecanismos de secuestro de metal que sujetan mayores capacidades de biosorción de metal. Los mecanismos para la eliminación de metales pesados son; la adsorción superficial y adsorción intersticial (Lesley et al., 2017, p.24).

Durante la adsorción superficial, los metales pesados migran por difusión desde la solución acuosa a la superficie del adsorbente, la cual contiene una carga superficial opuesta, luego una vez que los iones de metales pesados han pasado a través de la capa límite, que conceden a la superficie del adsorbente y se retiran posteriormente de la solución. Este tipo de adsorción se realiza generalmente mediante fuerzas de Van Der Waals, interacciones dipolares o la unión de hidrógeno. (Lesley, 2019, 24)

Durante la adsorción intersticial, iones de metales pesados se difunden hacia el adsorbente, sin embargo, el ion entra en los poros del adsorbentes y se adsorben en la superficie en el interior del material, los compuestos de grupos fenólicos son capaces de ser reemplazados con protones de iones metálicos, la eliminación de metales pesados es facilitado por carboxilo y grupos hidroxilo, que están unidos por un ion de metal pesado divalente por medio de dos pares de electrones y posteriormente liberar dos  $\text{Na}^+$  y / o iones de  $\text{H}^+$  en la solución. (Lesley, 2019, 24).

Las fuerzas electrostáticas también se han identificado como un factor que contribuye a la adsorción de metales pesados, dependen de pH, por otro lado, está la interacción entre los metales pesados y diversos grupos funcionales en la superficie del biosorbente, los grupos funcionales son sitios de adsorción de metales que incluyen carboxilato (-COO<sup>-</sup>) amida (-NH<sub>2</sub>), fosfato (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>), tioles (-SH), e hidróxido (-OH) (Onyancha et al. 2008). La bioacumulación, biolixiviación, biosorción, biotransformación y biomineralización e interacciones de metal-microbios son algunos mecanismos de biorremediación (Lesley, 2019, p.25).

La biosorción es un proceso que implica la adsorción de iones metálicos, difusión, complejación, la quelación, la coordinación, la micro-precipitación o una combinación de estos procesos, el método de transformada de Fourier de infrarrojos (FTIR) es un ejemplo de una técnica, que se ha empleado en el suministro de información sobre los mecanismos de la biosorción y a una mejor comprensión de las posibles interacciones entre los iones de metales pesados y los grupos funcionales en la estructura de la célula bacteriana (Choi, 2018, p. 276)

La bacteria *Serratia marcescens* es un anaerobio facultativo, Gram negativos, en forma de barra que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, son capaces de crecer bajo condiciones aerobias o anaerobias, los rangos de temperatura son de 10 y 37 °C, pH entre 5 y 9 con un contenido de NaCl de 0 - 4%, las colonias son por lo general color opacas, algo iridiscentes pueden ser de color blanco, rosa o incluso rojo intenso y tienen un tamaño aproximado de 1.5 a 2 mm después de una incubación de 18 horas sobre un medio de cultivo nutritivo sólido (Gutiérrez, 2015, p.22), se pueden encontrar en diversos nichos ecológicos, incluyendo el suelo, el agua, el aire, aguas residuales y productos alimenticios.

La bacteria puede secretar quitina extracelular, nucleasa, lipasa, y varias proteasas, así como producir un agente humectante o tensioactivo llamado serrawettin, que ayuda en la colonización de superficies, también produce ADNasa, gelatinasa, catalasa, nitrilasa, descarboxilasa, acetoina, y lisina; la prodigiosina, es un interesante pigmento rojo, 2-metil-3-amil-6-methoxyprodigiosene, es un antibiótico de tripirrol y un metabolito secundario, se considera que es parte de un mecanismo de protección para el crecimiento bacteriano en condiciones desfavorables, este pigmento es el compuesto más caracterizado debido a su antibacterianos, antifúngicos, antiprotozoarios y propiedades

(Wen et al., 2017, p.217). Su presencia se ha relacionado con la absorción de metales pesados y elementos radiactivos en algunos estudios de biorremediación (Faidah et al., 2015, p.3).

En el Decreto Supremo N° 004-2017 establece los ECA para agua, el parámetro evaluado es el Pb en la Categoría 1: Poblacional y recreacional, Sub Categoría A A2, Aguas que pueden ser potabilizadas con tratamiento convencional, el valor es de 0.05 mg/l.

Nuestro planteamiento de problema es: ¿En qué medida influye la temperatura y pH con la bacteria *Serratia marcescens* en la biorremoción de plomo en la quebrada la Victoria que pertenece a Santiago de Chuco -2019?

La justificación de nuestra investigación se sustenta que en la naturaleza los microorganismos son ubicuos y son superiores a los sitios contaminados con metales pesados (Verma et al., 2019, p.7), por lo tanto, la biorremediación resulta una alternativa eficaz para descontaminar ambientes, su aplicación en el proceso de tratamiento de aguas contaminadas es potencialmente y ambientalmente sostenible para frenar este problema y mejorar la calidad de agua (Bahobil et al., 2017, p.1), también se puede aplicar en grandes volúmenes de aguas, no generan residuos que impacten negativamente al ambiente y es más económica, permite la recuperación del metal mediante el proceso contrario que es la desorción con ácidos o soluciones de sales consiguiendo una alta concentraciones de metales que pueden ser utilizados en otros procesos industriales (Pérez et al., 2006, p.9).

La bacteria *S. marcescens* se usó en esta investigación porque es un buen productor de enzimas y otros compuestos importantes, que poseen la capacidad de eliminar los metales pesados del medio ambiente, no sólo por vías directas sino también implican enzimas, por mecanismos indirectos tales como biosorción (Queiroz et al., 2017, p.3) el agua es proveniente de la quebrada La Victoria, en el distrito de Angasmarca; actualmente se está viviendo un problema social entre la comunidad de Tulpo y las minas informales que contaminan sus aguas y gracias a estudios realizados por el ANA respaldan su teoría que sus aguas se encuentra diez veces más contaminada con Pb de lo que establece el ECA, esta investigación realizada a nivel de laboratorio es un pequeño aporte para solucionar este problema y se pueda llevar a nivel de mayor escala.

Nuestra hipótesis es que, si influye la temperatura y pH con la bacteria *Serratia marcescens* en la biorremoción de plomo de la quebrada La Victoria, Santiago De Chuco-2019.

Para poder alcanzar nuestras metas nos hemos propuesto como objetivo general determinar la influencia de la temperatura y pH con la bacteria *Serratia marcescens* en la biorremoción de plomo de la quebrada La Victoria, Santiago De Chuco. Acompañada de objetivos específicos tales como; Determinar el valor óptimo de pH que permita obtener un mayor porcentaje de biorremoción de plomo en la quebrada La Victoria, Santiago De Chuco y de igual manera determinar el valor óptimo de temperatura que permita obtener un mayor porcentaje de biorremoción de plomo en la quebrada La Victoria, Santiago De Chuco. Finalmente comparar los resultados obtenidos del parámetro en estudio antes y después del tratamiento; con los ECAs para la categoría 1-A2 establecidos en el D. S N°004-2017 MINAM-ANA.

## II. MÉTODO.

### 2.1 Tipo y diseño de investigación.

El presente trabajo de investigación corresponde a un estudio de tipo experimental aplicativo debido a que se centra en lograr un objetivo concreto el cual es la biorremoción del plomo.

El diseño de esta investigación es bifactorial porque se manipulan dos variables independientes; la temperatura y el pH, además de efectuar todas las posibles combinaciones entre ellas.

El diseño se representa en el diagrama a continuación:

<b>Biorremoción del Plomo con <i>Serratia marcescens</i></b>				
		<b>pH</b>		
		pH 1	pH 2	pH 3
<b>Temperatura</b>	T1	T1/pH1	T1/pH2	T1/pH 3
	T2	T2/pH 1	T2/pH 2	T2/pH 3
	T3	T3/pH 1	T3/pH 2	T3/pH 3

Dónde: Se realizarán 9 tratamientos con 3 repeticiones cada uno.

T1= 25 °C                      pH 1= 3

T2= 30 °C                      pH 2= 5

T3= 35 °C                      pH 3= 7

### **Variables, Operacionalización**

#### **Independiente:**

Temperatura

pH

#### **Dependiente:**

Concentración de Plomo.

#### **Constante:**

Tiempo: 24 horas

Revoluciones por minuto: 120 rpm. (Medido con un Tacómetro)

Concentración de la bacteria  $10^8$  (ufc/ml)

## 2.2 Operacionalización de las Variables.

VARIABLES		DEFINICIÓN CONCEPTUAL.	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
Independiente	Temperatura	Medida objetiva de que tan caliente o frío es un objeto, el cual puede ser medido con un termómetro o un calorímetro; dado que es un medio para determinar la energía interna contenida de un sistema dado. (Andrew, 2018).	La temperatura será medida y controlada en una incubadora para los tratamientos de 30°C y 35°C, mientras que para el caso del tratamiento de 25°C será controlada con aire acondicionado.	°C	Cuantitativa de intervalo.
	Ph	Medida de la concentración de iones de hidrogeno, de acidez o alcalinidad de la solución, la cual se encuentra en una escala que generalmente varia de 0 a 14. (Anne, 2019).	Se ajustará el pH inicial de las soluciones mediante la adición de 0.1 M de HCl y 0.1 M de NaOH. (Bahobil, 2017)	Unidad de pH	Cuantitativa de intervalo.
Dependiente	Concentración de Plomo	La concentración es la proporción de soluto en una solución, ya sea solvente o solución total(Helmenstine, 2019)	$\%R = \frac{C_0 - C_f}{C_0} \times 100\%$ <p> <math>C_0</math>: concentración inicial de plomo en la disolución (mol/l)  <math>C_f</math>: Concentración final de plomo en la disolución.  <math>\%R</math>: Porcentaje de remoción.         </p>	% Porcentaje de remoción.	Cuantitativa de razón

## 2.3 Población y muestra.

### Población

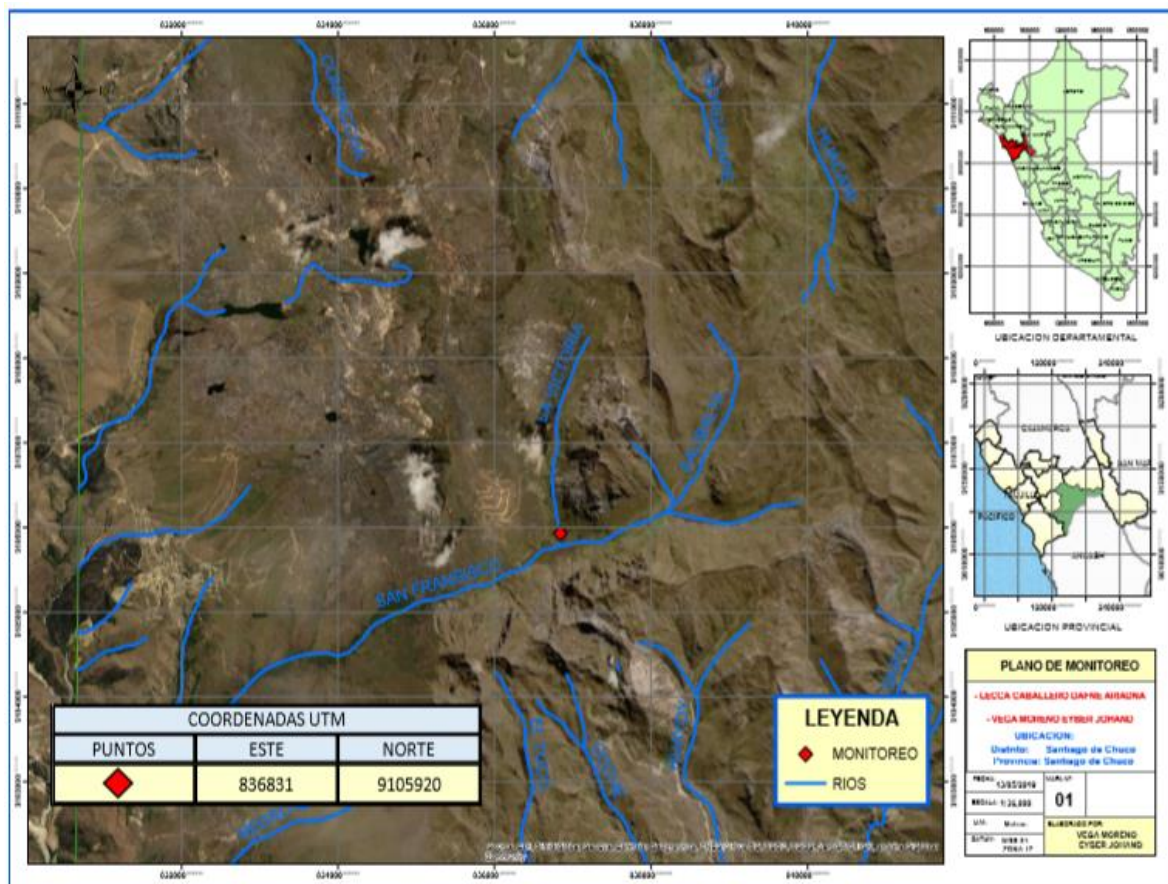
Nuestra población corresponde todo el volumen total del agua superficial de la Quebrada La Victoria, ubicada en el distrito de Mollebamba, provincia de Santiago de Chuco.

### Unidad de Análisis

La unidad de análisis estuvo comprendida por 500 ml de la muestra de agua proveniente de la Quebrada La Victoria, para el grupo control y cada grupo experimental.

### Muestra.

Es de tipo intencional o conveniencia, de acuerdo al Protocolo Nacional para el Monitoreo de la Calidad de los Recursos Hídricos Superficiales, (Resolución Jefatural N° 010-2016-ANA), se tomó 15 litros de de las siguientes coordenadas : UTM (ESTE: 174318, NORTE: 9105352) en la zona 18 L.



Fuente: Elaboración propia.

- La muestra para la *Serratia marcescens* tuvo una concentración de  $10^8$  (ufc/ml)



## **2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.**

### **-Técnicas e instrumentos de recolección de datos.**

Se utilizaron técnicas e instrumentos de recolección de datos para mayor confiabilidad de los resultados, es así que en la etapa de recolección de muestra se utilizó la técnica observación de campo y el instrumento guía de observación de campo, de acuerdo al Protocolo Nacional para el Monitoreo de la Calidad de los Recursos Hídricos Superficiales (Resolución Jefatural N° 010-2016-ANA), para la identificación de la bacteria *Serratia marcescens* la técnica es el análisis documental y el instrumento es una ficha de investigación y en el Análisis de la muestra de agua de la Quebrada La Victoria antes y después de su tratamiento, la técnica es el análisis documental y el instrumento es una ficha de investigación, para concluir con el porcentaje de remoción.

### **-Validez y confiabilidad.**

El desarrollo de la tesis se realizó en el laboratorio del Centro de Investigación de la Universidad Cesar Vallejo, donde todos los equipos están calibrados y el material en buen estado, para el espectrofotómetro de adsorción atómica se realizó una recta de calibrado, todos los datos reportados al final se verificarán con la única finalidad de que dicho documento no contenga ningún error para que no altere los resultados finales de la investigación.

## **2.5 Procedimiento.**

### **1. Recolección de la Muestra**

Para la recolección de la muestra se basó en el Protocolo Nacional para el Monitoreo de la Calidad de los Recursos Hídricos Superficiales (Resolución Jefatural N° 010-2016-ANA), con un GPS se tomó las coordenadas muestreadas (Anexo N° 1).

### **2. Análisis de plomo.**

Los análisis del plomo se realizaron por el método de espectrofotometría de adsorción atómica (Anexo N° 2).

### **3. Identificación de la bacteria *Serratia marcescens*.**

Para identificar a la bacteria *Serratia marcescens* fue necesario verificar la pureza del cultivo mediante la coloración Gram, observando su forma bacilar y la respuesta negativa a la tinción luego se sometió a una caracterización según el Manual de Bergey'S y Silva Martínez (Anexo N° 3).

### **4. Determinación de la concentración inhibitoria mínima (MIC) de la bacteria *Serratia marcescens*.**

Para determinar la MIC se reactivó la bacteria *S. marcescens*, después en una solución madre de  $Pb(NO_3)_2$  de 1000 ppm se diluyeron distintas concentraciones que oscilan entre 0.5 ppm, 1.5 ppm, 3.0 ppm y 10 ppm la bacteria se sembró por superficie en placas Petri con Agar Nutritivo y se incubó a 35 °C durante 24 horas, el control positivo fue el crecimiento de la bacteria *S. marcescens* en medio Agar nutritivo sin metal. (Anexo N° 4).

### **5. Capacidad de Biorremoción de la bacteria *Serratia marcescens*.**

Con la finalidad de demostrar la capacidad de biorremoción de la bacteria *S. marcescens* se realizó el tratamiento a condiciones de laboratorio, el pH de la muestra de agua tuvo un valor de 6.20 y la temperatura fue  $20 \pm 2$ , se trabajó en un biorreactor (Anexo N° 5).

### **6. Determinación del Crecimiento de la bacteria *Serratia marcescens* con los tres pH; 3, 5, 7**

Para determinar el crecimiento de la bacteria *Serratia marcescens*, se realizó una siembra por suspensión, cada tubo de ensayo contenía 9 ml de caldo BHI y se le adiciono 1 ml de la bacteria *Serratia marcescens*, se ajustó los pH a 3, 5 y 7, después de 24 horas se observó su crecimiento (Anexo N° 6).

### **7. Tratamiento de biorremoción con la bacteria *Serratia marcescens***

A la muestra proveniente de la quebrada La Victoria se realizó un pretratamiento, filtración, para cada tratamiento se agregó el 10% de Caldo de cerebro-corazón, los pH 5 y 7 fueron ajustados con una solución Buffer, se esterilizó a 121 °C por 15 minutos, después se adicionó la concentración de la bacteria  $10^8$  ufc/mL a cada biorreactor, la temperatura de 25 °C se controló con el aire acondicionado del laboratorio y la temperatura de 30 °C y 35 °C se

controlaron en la incubadora, se dejó actuar por 24 horas, finalizando la muestra se centrifugó y se filtró con un filtro de jeringa 0.20  $\mu\text{m}$  para poder analizar en el equipo de espectrofotometría de adsorción atómica.

## **8. Contraste de resultados.**

Finalizando se procedió a realizar un análisis estadístico, el cual permitió contrastar la hipótesis propuesta y de esta manera determinar si influye la temperatura y pH con la bacteria *Serratia marcescens* en la biorremoción de plomo de la quebrada La Victoria, Santiago De Chuco.

### **2.6 Método de análisis de datos**

El análisis estadístico de los resultados obtenidos se llevó a cabo mediante el paquete estadístico Excel y SPSS versión 25, mediante las siguientes etapas:

**Etapas N° 1:** En una hoja de cálculo elaborada por el investigador en el Programa Microsoft Excel se procesaron los datos antes y después de cada tratamiento del agua proveniente de la quebrada La Victoria.

**Etapas N° 2:** Los resultados obtenidos en la investigación se digitalizaron en el software estadístico SPSS versión 25, como herramienta para encontrar los efectos de las variables dependientes sobre la independiente, influencia de la temperatura y el pH el porcentaje de biorremoción de plomo.

**Etapas N° 3:** Para contradecir la hipótesis, se utilizó la prueba de hipótesis con un nivel de significancia de 0.05 (5%).

### **2.7 Aspectos éticos**

Nos sometemos a principios de ética influyentes en el presente trabajo de investigación dentro del lapso de tiempo en que se ejecute y concluya el proyecto, no realizaremos ninguna violación de las normas, las leyes o cualquier otro documento que este sujeto al desarrollo de la investigación. De cualquier otra manera tendremos en cuenta los siguientes criterios:

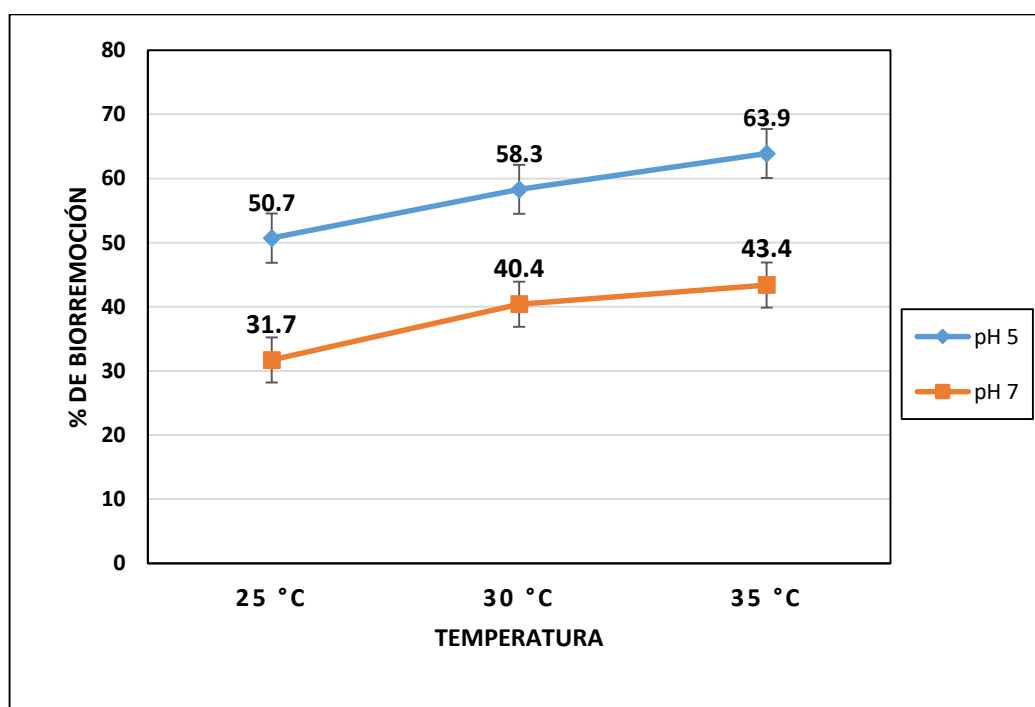
- La tesis no presentara plagio.
- Resultados veraces.
- Respeto a la privacidad.
- Respeto por las convicciones políticas, religiosas y morales.

### III. RESULTADOS.

En la presente investigación se monitoreó en las coordenadas establecidas por el ANA para la quebrada la Victoria el valor del plomo fue analizado por el método de espectrofotometría de absorción atómica y se obtuvo un valor de concentración inicial 0.268 mg Pb/L, se realizó tratamientos previos con la finalidad de obtener mejores resultados uno de ello fue determinar la capacidad de biorremoción de la bacteria *S. marcescens* (Anexo N° 4) y también se determinó la concentración mínima inhibitoria (MIC) de la bacteria frente a distintas concentraciones de plomo (Anexo N°5).

Los resultados de los 18 tratamientos referidos a la concentración final de plomo se muestran en el (Anexo N° 7).

En la **Figura N° 1** se muestra el promedio de los tratamientos; los porcentajes de biorremoción de Pb de la quebrada La Victoria influenciados con pH y temperatura, se trabajó por triplicado, los tratamientos se realizaron dentro de 24 horas con una concentración de la bacteria  $10^8$  ufc/ml con 120 rpm, el promedio más óptimo fue a pH 5 con temperatura 35 ° C.



Fuente: Elaboración propia.

**Figura N° 1: Promedio de porcentajes de biorremoción de plomo de los tratamientos experimentales.**

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

**Tabla N° 1: Prueba de Normalidad.**

		Shapiro-Wilk			
		pH	Estadístico	Gl	Sig.
% de biorremoción	5	,949	9	,681	
	7	,872	9	,129	
	Temperatura	Estadístico	Gl	Sig.	
	25	,794	6	,052	
	30	,877	6	,254	
	35	,811	6	,074	

En la Tabla N° 1, se evalúa el pH y la Temperatura empleando la prueba de Shapiro – Wilk, método utilizado para muestras menores a 50, en donde se analizó el cuadro de significancia de los resultados de dichas variables para comprobar si nuestros datos son Normales, los cuales muestran valores mayores al 5%, indicando una aceptación en nuestra Hipótesis Nula, dándonos a entender que nuestras muestras poseen una distribución normal.

**Tabla N° 2: Prueba de igualdad de Levene de varianzas de error<sup>a,b</sup>**

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
% de biorremoción	Se basa en la media	,852	5	12	,539

En la Tabla N° 2 se analizan nuestras varianzas utilizando la Prueba de igualdad de Levene, basándonos únicamente en la fila del promedio y en la casilla de significancia, con la finalidad de demostrar que nuestros valores tienden a ser homogéneos, de tal manera observamos que la prueba nos arroja un valor mayor al 5%, aceptando nuestra hipótesis nula, indicando que nuestras varianzas son homogéneas.

**Tabla N° 3: Pruebas de efectos inter – sujetos**

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	2141,060 <sup>a</sup>	5	428,212	90,584	,000
pH	1655,426	1	1655,426	350,190	,000
Temperatura	480,296	2	240,148	50,801	,000
Error	56,727	12	4,727		
Total	43840,843	18			

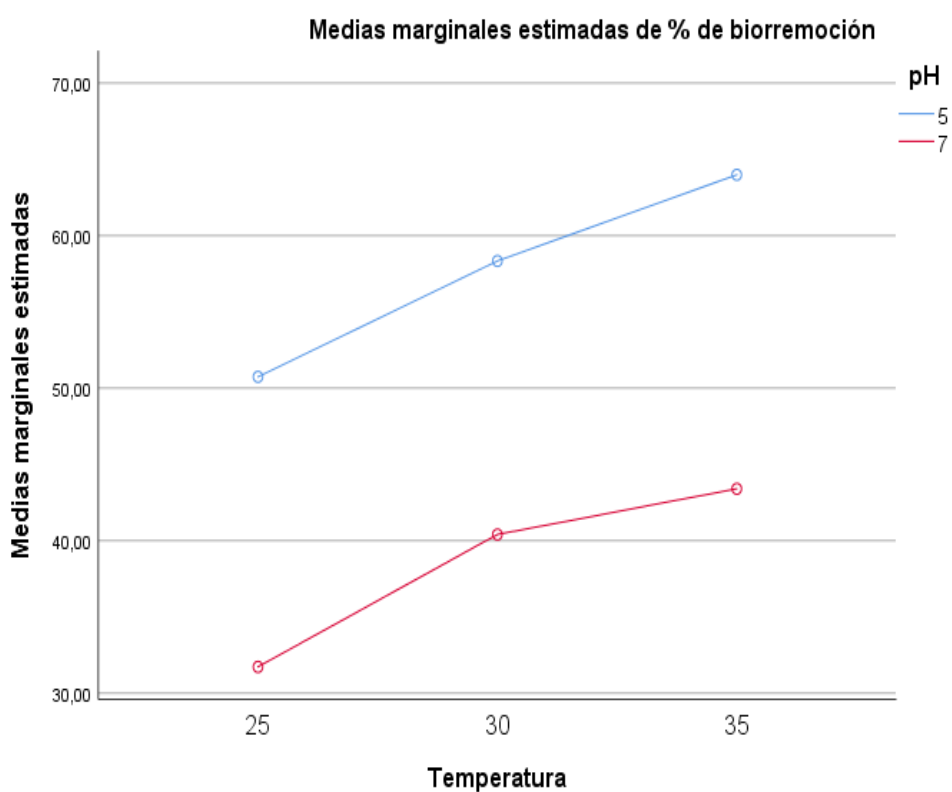
En la Tabla N° 3, prueba de efectos inter – sujetos se analiza si el pH, la Temperatura o ambos en forma conjunta contribuyen a una mayor remoción, en los cuales los valores significativos son menores al 5%, dándonos a entender que son altamente significativos, por esa razón se rechaza nuestra hipótesis nula, comprobando que nuestros tratamientos poseen una diferencia significativa de al menos uno.

**Tabla 4: Prueba Post hoc – Tukey para Plomo.  
% de biorremoción**

HSD Tukeya,b				
Temperatura	N	Subconjunto		
		1	2	3
25	6	41,2333		
30	6		49,3700	
35	6			53,6933
Sig.		1,000	1,000	1,000

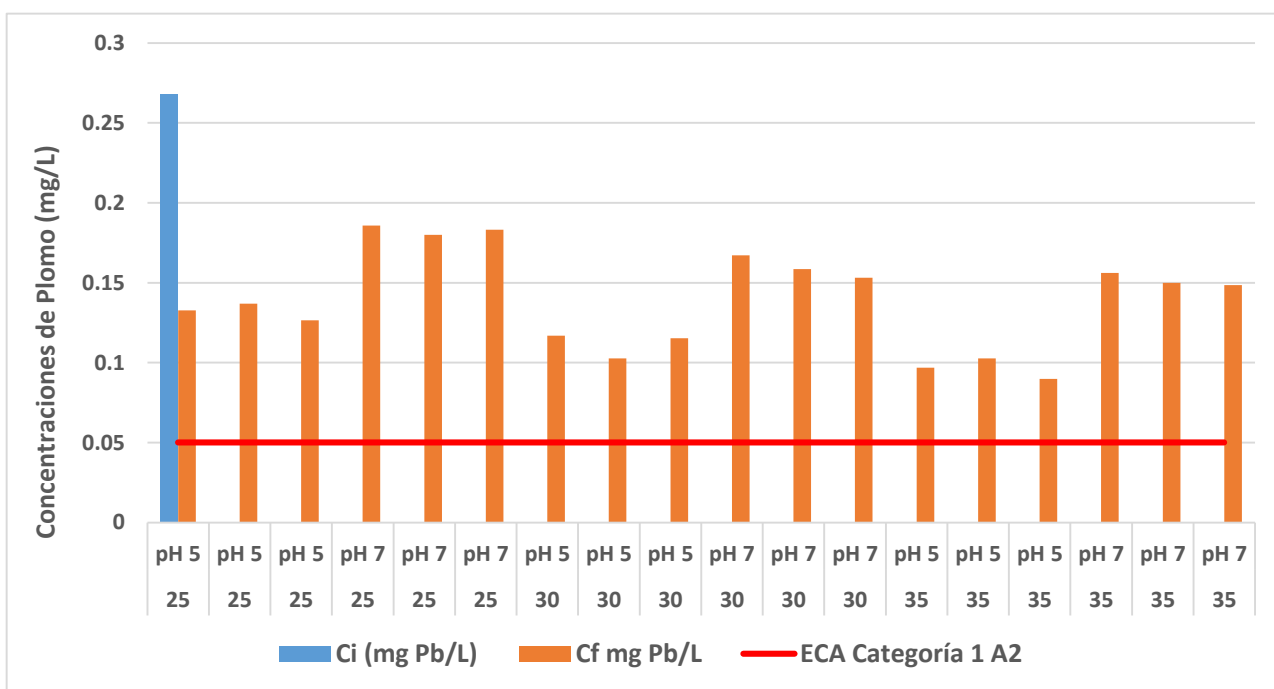
La prueba Tukey HSD es utilizada para la identificación de los mejores resultados, en el cual para esta prueba estadística se exige como mínimo 3 niveles por factor; como se puede observar la aplicación de esta prueba se dio solo para la temperatura, ya que en el pH 3 la bacteria *S. marcescens* no creció por lo tanto solo se trabajó con 2 niveles, en esta tabla se muestra que el mejor subconjunto es el tercero, con un valor de 53.69 % para la temperatura de 35 ° C con efecto positivo sobre la biorremoción de Pb.

En el **Figura N° 2**, Medias marginales estimadas se analiza las temperaturas de 25 °C, 30 °C y 35 °C con los pH 5 y 7 en relación al promedio del porcentaje de biorremoción de los tratamientos, de esta manera para comprobar cuál es la combinación más eficaz de dichas variables; como se puede observar en el gráfico, la temperatura 35 °C con el pH 5 logró obtener una mayor media marginal del porcentaje de biorremoción que los otros tratamientos, a comparación de la temperatura 25 °C con el pH 7 la cual obtuvo la media marginal más baja de todos los tratamientos.



**Figura N° 2 Medias marginales estimadas de % de biorremoción.**

En el **Figura N° 3**, se evalúa a la concentración inicial; el cual hace referencia a la muestra de agua sin haberle efectuado un tratamiento, en relación con las distintas concentraciones finales, los cuales fueron los resultados de los tratamientos realizados en el proceso de la investigación; al mismo tiempo se realiza una comparación con el ECA de categoría 1 A2 (0.05 mg/l), para demostrar si las concentraciones de los tratamientos obtenidos logran alcanzar dicho ECA establecido; de esta manera se observa que la concentración más cercana a 0.05 mg/l, es la concentración del pH 5 con la temperatura de 35 °C el cual es 0.0899 mg Pb/L.



**Fuente:** Elaboración propia.

**Figura N° 3: Biorremoción de la concentración de Pb con todos los tratamientos comparados con los ECA.**



#### IV. DISCUSIÓN.

La quebrada la Victoria se encuentra dentro de la red de Monitoreo de la calidad de agua por la Autoridad Nacional del Agua en la provincia de Santiago de Chuco, su último reporte de plomo ha superado los valores del ECA; en el 2018 se reportó un valor de 0.5647mg/L y en el 2019 fue de 0.2650 mg/L, en nuestra investigación para verificar estos datos se monitoreó en las mismas coordenadas ya establecidas por el ANA, en donde el laboratorio reportó un valor de 0.268 mg/L, el cual sigue siendo muy alarmante.

Para biorremover la concentración inicial del plomo con la bacteria *S. marcescens*, se entendió el proceso de biosorción de la bacteria *S. marcescens*, nos basamos en la idea del autor (Choi, 2018) que nos ofrece en su artículo de investigación, donde nos señala que el paso crucial en el proceso de biosorción de metales pesados, es la selección de especies microbianas con alta tolerancia a metales pesados, es así que muchos autores realizan pruebas de tolerancia de plomo a los microorganismos antes de someterlos a los procesos de biosorción, (Kumar, 2019) uso bacteria marina *Bacillus xiamenensis* y (Choi, 2018) uso bacterias *Pseudomonas*, entre otros.

Realizamos también la prueba de tolerancia, en donde primero identificamos a la bacteria como *Serratia marcescens* (Anexo N° 3), y está toleró valores de 0.5 ppm, 1.5 ppm, 3 ppm y 10 ppm de Pb (Anexo N° 5), el autor (Queiroz, 2018) uso a la bacteria *Serratia marcescens*, en dos formas distintas, LG1 pigmentada y CL11 no pigmentada, ambas mostraron buena tolerancia a Mn (II) hasta 2000 mg/L bajo dos tipos diferentes de condiciones nutricionales, determinó que sus resultados se deben a que el Mn tiene una menor toxicidad; (Cristani, 2012) demuestra lo contrario, dado que la bacteria *S. marcescens* toleró la presencia de los metales Pb, Cd y Cr e interactúa con ellos, coincidimos con este autor ya que la bacteria toleró distintos valores de Pb, esto se debe a que la bacteria indica una fuerte adaptativa y potencial de supervivencia y su capacidad de utilizar una amplia gama de nutrientes. (Szewzyk, 1993)

Se demostró la capacidad de biorremoción de Pb con la bacteria *Serratia marcescens* con un porcentaje de biorremoción del 29.8% a condiciones de laboratorio (Anexo N° 4), distintos autores han demostrado su eficiencia de la bacteria como (Qian, 2018) que utilizó la bacteria para reducir Cu (II), (Queiroz, 2018) para eliminación de Mn (II) eliminó el 64.25 % y

(Cristani, 2012) demostró la capacidad de la bacteria *Serratia marcescens* para eliminar distintas concentraciones Pb, Cd y Cr.

Es importante evaluar el comportamiento de metales pesados junto con características del adsorbente (Lesley, 2019), de igual manera (Choi, 2018) argumenta que el mecanismo de biosorción todavía no se entiende completamente ya que este proceso se determina por factores fisiológicos, químicos, físico químicos, la fuerza iónica es decir, la química de iones metálicos, pH, temperatura, concentración de metal, tiempo de contacto, la composición de la pared celular y las características fisiológicas del microorganismos, basándonos en el concepto de estos dos autores decidimos evaluar la influencia de parámetros tales como pH y temperatura.

La influencia que causa el pH en todos los resultados se muestra en el (Anexo N° 7), el pH es uno de los parámetros más importantes que afectan a la solubilidad de los iones metálicos y los grupos funcionales en las paredes celulares de los microorganismos (Guangming, 2015), se evaluó los pH 3, 5 y 7; para las pruebas de pH 3 (Anexo N° 6) la bacteria *Serratia marcescens* no creció, esto comprueba la teoría de (Sayyadi, 2017) que a  $\text{pH} < 2$  la estructura del biosorbente es dañada por ello causa una tasa de biosorción más baja; el potencial biosorbente de cationes de metales por lo general mejora con el aumento de pH del sistema de sorción, pero no en una relación de línea ya que a valores de pH muy altos son propensos a precipitar complejos metálicos (Rasoul, 2018), por esta razón se trabajó con pH 5 y 7 con un valor neutro y el otro ácido porque generalmente existen en su estado catiónico y tienden a ser más estables y solubles en fuentes móviles, a media que el pH se eleva se comienzan a formar hidróxidos y otros aniones que pueden estar presente en el agua (Lesley, 2019)

El mejor porcentaje de biorremoción fue de 63.9 % con pH 5, comparado con el pH 7 se logró un 43.4% del porcentaje de biorremoción, (Bahobil, 2017) nos habla en su investigación que los mejores porcentajes de remoción se logran entre pH 5 y 6. de igual manera (Rasoul, 2018) que trabajó con *Saccharomyces cerevisiae*, logró un mejor porcentaje de remoción a pH 5. (Sayyadi, 2017) ha enfatizado la autenticidad de un hecho innegable que demuestra que uno de los factores más importante que afectan a la biosorción de iones metálicos es la acidez de la solución, el pH está directamente relacionada con la capacidad de competencia de iones de hidrogeno con iones metálicos a los sitios sobre la superficie del biosorbentes, es por ello que se obtiene mejores porcentajes de remoción.

La influencia que causa la temperatura en los resultados se muestra en la Figura N° 1 a altas temperaturas ha mejorado el proceso de biorremoción, los promedios de porcentajes han aumentado de 50.7 % con temperatura de 25 °C hasta un 63.9 % con temperatura de 35 °C en solución de pH 5; de igual manera a temperatura de 25 °C se obtuvo un porcentaje de biorremoción de 31.7 % al aumentar la temperatura hasta 35 °C se logró un 43.4 % con pH 7, según (Chen et al., 2010) muchos mecanismos se han identificado para la eliminación de metales pesados con temperaturas altas, incluye la superficie de reacción de complejación y diversas formas de intercambio iónico, (Malkoc y Nuhoglu, 2005) atribuye a una mayor movilidad de los metales pesados con el aumento del número de sitios de adsorción durante la ruptura de bonos (Weng et al., 2014) el proceso de biosorción se muestra de proceder más rápidamente a temperatura más altas debido a una mayor fuerza de difusión a través de la capa límite y una velocidad de difusión aumentando dentro del adsorbente.

La combinación más eficaz es pH 5 y temperatura 35 °C se logró un 63.9% de porcentaje de biorremoción de Plomo, Figura N° 2, de igual manera (Kumar, 2019) empleó la bacteria marina *Bacillus xiamenensi* cinética con pH 5, temperatura de 35 °C logrando porcentajes de remoción altos 99.19 % con biomasa viva y un 97.18 % con biomasa muerta.

Las variables constantes en nuestra investigación fue la agitación de 120 rpm medido con un tacómetro en los biorreactores, una agitación moderada ya que proporciona homogeneidad en la mezcla de la bacteria, mientras que a alta velocidad de agitación, los fenómenos de vórtice pueden ocurrir para obstaculizar la unión de iones Pb (II) en la superficie de la biomasa bacteriana según (Kumar, 2019), por otro lado la concentración de la bacteria  $10^8$  ufc/mL y el tiempo de 24 horas se determinó en base de la investigación de (Rodríguez, 2018) porque uso la bacteria *Serratia marcescens* y en estas condiciones obtuvo mayor porcentaje de eliminación de malathion.

Las concentraciones finales de los tratamientos de biorremoción de Pb, no lograron disminuir a valores menores que 0.05 mg/L establecido por el ECA Decreto Supremo N° 004-2017 Figura N° 3, pero el valor más cercano fue 0.0899 con pH 5 y temperatura de 35 °C, según (Rasoul, 2018) para tener resultados óptimos, es necesario examinar las diferentes variables independientes de forma simultánea; incluyendo dosis de biomasa, dosis de iones metálicos, concentración solución de pH, temperatura, tiempo de contacto, la viabilidad de la biomasa y la agitación.

Para entender los mecanismos de retención de Pb de la bacteria *Serratia marcescens*, contradecimos el concepto de (Nasser, 2019) que las principales desventajas del uso de células vivas es que necesitan un suministro de nutrientes, los metales pesados pueden ser muy tóxicos para su proceso metabólico, la temperatura y pH puede afectar en su crecimiento bacteriano y la recuperación de los metales puede ser más complicado, pero no se aplica a la bacteria *S. marcescens* porque la cepa es genéticamente estable, al no presentar plásmidos hay un menor riesgo de perder la resistencia a metales pesado.

La capacidad de la bacteria *Serratia marcescens* en la retención de Pb debe atribuirse a un mecanismo de defensa bacterianas, tales como metal-thioneines, activos en la regulación del transporte de metal en y fuera de las células bacterianas, teniendo en cuenta la vitalidad o mortal de células en presencia de los metales, para el mecanismo de biosorción planteo la hipótesis, que según el comportamiento químico de los metales analizados Pb Cd Cr, que el mecanismo de biosorción por *S. marcescens* podría ser debido a la absorción por metal-thioneines o sideróforos producidos por las células bacterianas y se llevarán a cabo a través de procesos de quelación intracelular (Critani, et al. 2010).

Por otro lado (Queiroz, et al, 2019) el mecanismo que puede haber sido utilizado por las bacterias *Serratia marcescens* para la eliminación del Mn (II), la cepa pigmentada LG1 nos dice que ha promovido mecanismos directos de bio-oxidación de Mn, mediada por los componentes celulares, tales como la proteínas que no secretan el extracelulaer medio y las no pigmentadas CL11 puede haber utilizado los medios de mecanismos indirectos para Mn biooxidación a través de la producción de microbiano particular o el crecimiento bacteriano que alterado el pH del medio.

## V. CONCLUSIONES.

1. Concluimos que las variables pH y temperatura si influyen en la biorremoción de plomo en la quebrada La Victoria, Santiago de Chuco.
2. Se concluye que con el valor de pH 5 se obtuvo mayor porcentaje de biorremoción de plomo de un 63.9%, comparado con pH 7 ya que se obtuvo un 43.4% de porcentaje de biorremoción de plomo.
3. Se concluye que a temperatura 35 °C se obtuvo un mayor porcentaje de biorremoción de plomo de un 63.9%, comparado con las temperaturas de 30 °C y 25 °C.
4. Concluimos que al realizar la comparación de la biorremoción de plomo empleando la bacteria *Serratia marcescens*, ninguno de los 12 tratamientos logró alcanzar los ECAs establecidos para la categoría 1-A2, pero el más cercano a este parámetro fue el tratamiento con el pH 5 y la temperatura 35 °C, alcanzando una concentración final de 0.0899 mg Pb/L.

## VI. RECOMENDACIONES.

- Se recomienda que para obtener mejores porcentajes de biorremoción se debe evaluar las otras variables que influyen en el proceso de biosorción, tal es caso de la cantidad de biosorbente, tiempo de los tratamientos, otros valores de pH, otros valores de temperatura y tiempo de agitación.
- Se recomienda que se realice el proceso de desorción en la bacteria *Serratia marcescens* para conseguir la cantidad de plomo absorbida y se pueda emplear en otros procesos industriales.
- Se recomienda que esta investigación se pueda llevar a mayor escala, se pueda aplicar a mayores volúmenes de agua para demostrar que la bacteria *Serratia marcescens* sigue siendo efectiva en el proceso de biorremoción de plomo.

## REFERENCIAS

ALIPANAHPOUR, Ebrahim. [et al]. Highly efficient simultaneous biosorption of Hg<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup> by Live yeast *Yarrowia lipolytica* 70562 following response surface methodology optimization: Kinetic and isotherm study. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* [en línea]. 48. 25 de Abril del 2017. [Fecha de consulta: 24 de Mayo del 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2016.12.035> ISSN: 1226-086X

ANA. Mesa Tematica “Recuperación de la calidad del agua en las microcuencas de Angasmarca y Piscochaca-Provincia Santiago de Chuco ”: En Informe Técnico N°021-2018-ANA-AAA-HCH-ALA-SCH-AT.SCH/RONF: setiembre del 2018. Santiago de chuco. pág. 150.

ANA.Monitoreo Participativo de la calidad del Agua superficil ,en las microcuencas de Angasmarca y Piscochaca,Octubre 2018:En Informe Técnico N° 002 2019-ANA-AAA-HCH-ALA.SCH-AT.SCH/ROBF: enero 2019.Santiago de Chuco.pag 105.

ANA.Monitoreo Participativo de la calidad del Agua superficil ,en las microcuencas de Angasmarca y Piscochaca,Octubre 2019:En Informe Técnico N° 14 2019-ANA-AAA-HCH-ALA.SCH-AT.SCH/ROBF: junio 2019.Santiago de Chuco.pag 105.

ASHRAF, Sana. [et al]. Phytoremediation: Environmentally sustainable way for reclamation of heavy metal polluted soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety* [en línea].180. 21 de febrero del 2019. [Fecha de consulta:10 de Junio del 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.068> ISSN: 0147-6513

AZNAR, José [et al]. The worldwide research trends on water ecosystem services. *Ecological Indicators*. [en línea] 99. April 2019. [Fecha de consulta: 24 de Mayo del 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.12.045> ISSN: 1470-160X

BAHOBIL, A. [et al]. Fungi biosorption of cadmium and mercury heavy metal ions Isolated from some localities contaminated in KSA. *International Journal of Microbiology actual y Ciencias Aplicadas* [en línea] 6. no. 6. 10 de junio 2017 [Fecha de consulta: 24 de Mayo del 2019] Disponible en : <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.603.253> ISSN: 2319-7706

BARAKAT, M. A. New trends in removing heavy metals from industrial wastewater. *Arabian Journal of Chemistry*. [en línea] October 2011. [Fecha de Consulta: 6 de Octubre 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.07.019> ISSN: 1878-5352

Bergey Manual of Determinate Bacteriology. 9th Editio. USA: Editorial Williams& Wilkins;1994. Holy J, Krieg N, Sneath P,Staley J, Williams S.

CHOI, Ana. [et al]. Optimization of copper, lead and cadmium biosorption onto newly isolated bacterium using a Box-Behnken design. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. [en línea]. March 2018. [Fecha de consulta: 24 de Mayo del 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.12.008> ISSN: 0147-6513

CRISTANI, M. [et al]. Possible use of *Serratia marcescens* in toxic metal biosorption (removal). *Environmental Science and Pollution Research*. [en línea] 24 June 2011 [Fecha de consulta: 18 de Octubre del 2019] Disponible en : doi: 10.1007/s11356-011-0539-8. ISSN: 0944-1344

FAIDAH, Hani S. [et al]. *Serratia marcescens* as Opportunistic Pathogen and the Importance of Continuous Monitoring of Nosocomial Infection in Makah City, Saudi Arabia. *Scientific Research Publishing*. [en línea] September 2015. [Fecha de consulta: 18 de Octubre del 2019] Disponible en: <https://www.scirp.org/journal/ojmm> ISSN Print: 2165-3372

FINGERMAN, Milton y NAGABHUSHANAM, Rachakonda. Bioremediation of Aquatic and Terrestrial Ecosystems: CRC Press LLC. [en línea] 1.<sup>ra</sup> ed: ProQuest Ebook, 2005 [Fecha de consulta: 18 de Abril del 2019] <https://www.crcpress.com/Bioremediation-of-Aquatic-and-Terrestrial-Ecosystems/FingermanNagabhushanam/p/book/9781578083640#googlePreviewContainer> ISBN:9781578083640

GALLEGO, Alejandrina. Química Basica [en línea] 1.<sup>ra</sup>ed. Madrid. UNED, 2018 [fecha de consulta: 14 de Julio del 2018]. Disponible en : [www.uned.es/publicaciones](http://www.uned.es/publicaciones) ISBN 978-84-362-6784-6

GRANDE, JA.[et al]. The Negro River (Ancash-Peru): three cases Environment and not result . *Science of The Total Environment*. [en línea] 648 .January 2019. [Fecha de consulta: 4 de Junio del 2019 ] Disponible en : <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.068> ISSN 0048-9697



GRIZZETTI, B. [et al] Relationship between ecological services and condition of ecosystems in rivers Europeans, lakes and coastal waters. *Science of The Total Environment* [en línea] 671. 25 June 2019 [Fecha de consulta: 21 de Junio del 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.155> ISSN: 0048-9697

GUANGMING, Ren [et al]. Characteristics of Bacillus sp. PZ-1 and its biosorption to Pb(II). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. [en línea] 29 March 2015. [Fecha de consulta: 18 de Mayo del 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.03.033> ISSN: 0147-6513

GUTIÉRREZ, Suasana. 2015. *Estudio de la Bioadsorción de Cadmio y Plomo con Biomasa de Serratia marcescens M8a-2T, a Nivel de Laboratorio*. [en línea]. Lima. Tesis Para optar el Grado Académico de Doctor en Ciencias Biológicas: Universidad Nacional Mayor De San Marcos [consulta: 10 de abril de 2019] disponible en : [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/4126/Guti%C3%A9rrez\\_ms.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/4126/Guti%C3%A9rrez_ms.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

HAN, Lanfang. [et al] Lead contamination in sediments in the past 20 years: A challenge for China: *Science of The Total Environment*. [en línea] 640. 641 [Fecha de consulta: 2 de Junio del 2019 ] Disponible en : <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.330> ISSN 0048-9697

HELMENSTINE, Anne. *ThoughtCo*. [en línea] 8 de mayo 2019 [Fecha de consulta: 2 de Junio del 2019 ] <https://www.thoughtco.com/definition-of-concentration-605844>

HO, Chang. [et al]. Bioremediation of lead by ureolytic bacteria isolated from soil at abandoned metal mines in South Korea. *Ecological Engineering*. [en línea] January 2015. [Fecha de Consulta: 10 de Octubre 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.10.009> ISSN: 0925-8574

HO KANG, Chang. [et al]. Bioremediation of lead by ureolytic bacteria isolated from soil at abandoned metal mines in South Korea. *Ecological Engineering*. [en línea]. January 2015. [Fecha de consulta: 24 de Mayo del 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.10.009> ISSN: 0925-8574

KOBIELSKA, Paulina. [et al]. Metal–organic frameworks for heavy metal removal from water. *Coordinación Química Revisiones*. [en línea]. marzo de 2018. [Fecha de consulta: 25

de Mayo del 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2017.12.010> ISSN: 0010-8545

KUMAR, Ranjan. [et al]. Active and passive biosorption of Pb(II) using live and dead biomass of marine bacterium *Bacillus xiamenensis* PbRPSD202: Kinetics and isotherm studies. *Journal of Environmental Management*. [en línea] 1 October 2019 [Fecha de Consulta: 5 de Julio 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.06.073> ISSN: 0301-4797

LESLEY, Joseph. [et al]. Removal of heavy metals from water sources in the developing world using low-cost materials: A review. *Chemosphere*. [en línea] August 2019. [Fecha de Consulta: 2 de Julio 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.198> ISSN: 0045-6535

LI, lei Jiang [et al] Heavy metals inter-annual variability and distribution in the Yangtze River estuary sediment, *China. Marine Pollution Bulletin*. [en línea] 141, April 2019 [Fecha de consulta: 05 de Mayo del 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.03.008> ISSN: 0025-326X

LIN, Wenting. [et al]. Bio-remediation of acetate–Pb(II) compound contaminants by *Bacillus subtilis* FZUL-33. *Journal of Environmental Sciences*. [en línea]. July 2016. [Fecha de consulta: 22 de Octubre del 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jes.2015.12.010> ISSN: 1001-0742

MANDAL, Paramita. An insight of environmental contamination of arsenic on animal health. *Emerging Contaminants*. [en línea] March 2017. [Fecha de consulta: 18 de Agosto del 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2017.01.004> ISSN: 2405-6650

NASSER, Mohamed. Performance of *Streptomyces rimosus* biomass in biosorption of heavy metals from aqueous solutions. *Microchemical Journal*. [en línea] September 2018. [Fecha de Consulta: 2 de Octubre 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.05.009> ISSN: 0026-265X

SAYYADI, Shayan. [et al]. Thermodynamic, equilibrium and kinetic studies on biosorption of Pb<sup>+2</sup> from aqueous solution by *Bacillus pumilus* sp. AS1 isolated from soil at abandoned lead mine. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. [en línea] November 2017

[Fecha de Consulta: 10 de Junio 2019] Disponible en:  
<https://doi.org/10.1016/j.jtice.2017.09.005> ISSN: 1876-1070

SALEH, Taw. [et al]. Adsorption of lead ions from aqueous solution using porous carbon derived from rubber tires: *Experimental and computational study. Journal of Colloid and Interface Science.* [en línea] November 2017 [Fecha de Consulta: 25 de Junio 2019] Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2013.01.037> ISSN: 0021-9797

PÉREZ, Lizandra. [et al]. Biosorption of heavy metals: characteristics of the process. *Biosorption of heavy metals: characteristics of the process.* [en línea] Marzo 2018 [Fecha de Consulta: 10 de Julio 2019] Disponible en: <http://www.rccb.uh.cu> ISSN: 2307-695X

QIAN, Yitong. [et al]. Reduction of Cu(II) and simultaneous production of acetate from inorganic carbon by *Serratia Marcescens* biofilms and plankton cells in microbial electrosynthesis systems. *Science of The Total Environment.* [en línea] 20 May 2019 [Fecha de Consulta: 5 de Julio 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.267> ISSN: 0048-9697

QUEIROZ, Pollyana. [et al]. Rich growth medium promotes an increased on Mn(II) removal and manganese oxide production by *Serratia marcescens* strains isolates from wastewater. *Biochemical Engineering Journal.* [en línea] 15 December 2018. [Fecha de Consulta: 5 de Julio 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.09.018> ISSN: 1369-703X

RAJASULOCHANA. P, PREETHY. V. New trends in removing heavy metals from industrial wastewater. *Resource-Efficient Technologies.* [en línea] 17 July 2010. [Fecha de Consulta: 4 de Octubre 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.07.019> ISSN 2405-6537

RASOUL, Mohammad. [et al]. Biosorption of low concentration levels of Lead (II) and Cadmium (II) from aqueous solution by *Saccharomyces cerevisiae*: Response surface methodology. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology.* [en línea] July 2018 [Fecha de Consulta: 09 de Junio 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.05.001> ISSN: 1878-8181

RODRÍGUEZ. Diana. Capacidad de remoción de compuestos organofosforados por *Serratia marcescens* en suelos contaminados del Distrito de Moche 2018. Tesis para obtener el título profesional de ingeniera ambiental. Trujillo disponible en:

[http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/28204/rodr%C3%ADguez\\_td.pdf?sequence=4&isAllowed=y&fbclid=IwAR0vKyGMN7AhvEuV2voUaqFOYiDWfaKd5r2xwE2Q44Q5SLCsCDg78Z6rXQ](http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/28204/rodr%C3%ADguez_td.pdf?sequence=4&isAllowed=y&fbclid=IwAR0vKyGMN7AhvEuV2voUaqFOYiDWfaKd5r2xwE2Q44Q5SLCsCDg78Z6rXQ)

SILVA F, Martinez P. Complejo Enterobacter cloacae. Rev Chilna Infectol.2018;35 (3):297-298 D17

SAYYADI, shayan. [et al]. Thermodynamic, equilibrium and kinetic studies on biosorption of Pb+2 from aqueous solution by Bacillus pumilus sp. AS1 isolated from soil at abandoned lead mine. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. [en línea] November 2017 [Fecha de Consulta: 10 de Junio 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2017.09.005> ISSN: 1876-1070

THOUGHTCO. Andrew Zimmerman Jones. 07 de diciembre del 2018. Disponible en: <https://www.thoughtco.com/temperature-definition-in-science-2699014>

THOUGHTCO. Anne Maria Helmenstine. 07 de mayo del 2019. Disponible en: <https://www.thoughtco.com/definition-of-ph-in-chemistry-604605>

VERMA, Samakshi. [et al]. The bioremediation of heavy metals by a microbial process. *Enviromental Technology & Innovation* [en línea] 14. Mayo 2019. [Fecha de consulta: 24 de Mayo del 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100369> ISSN 2352-1864

WANG, Nana. [et al]. Comparative studies on Pb(II) biosorption with three spongy microbe-based biosorbents: *Journal of Hazardous Materials*. [en línea] 5 July 2019. [Fecha de Consulta: 3 de Octubre 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.03.056> ISSN: 0304-3894

WEN, Ta Do. [et al]. Response surface optimization of microbial prodigiosin production from *Serratia marcescens*. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. [en línea] March 2011. [Fecha de consulta: 20 de Octubre del 2019] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2010.05.009> ISSN 1876-1070



## ANEXOS

### Anexo N°1: Monitoreo de la Calidad de Agua de la quebrada La Victoria.



Inspección de la quebrada La Victoria junto al Sr. Preciliano Pereda Córdova, funcionario de la Oficina Agraria –GRA La Libertad.



**Anexo N°2: Análisis por el método de espectrofotometría de absorción atómica al Agua procedente de la Quebrada La Victoria.**



**SERVICIOS DE ANÁLISIS Y ASESORÍA**  
**DELTA S.R.L.**

**REPORTE DE ANALISIS**

SOLICITANTE : LECCA CABALLERO DAFNE ARIADNA Y VEGA MORENO  
EYBER

MUESTRA : AGUA DE LA QUEBRADA LA VICTORIA

PROCEDENCIA : ANGASMARCA

FECHA DE INGRESO : 24 DE SETIEMBRE DE 2019

PARAMETRO	MÉTODO	RESULTADOS
pH	ELECTROMÉTRICO	6.20
PLOMO mg Pb/L	ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA.	0.268

Trujillo 27 de Setiembre de 2019

ING. NOÉ COSTILLA SÁNCHEZ  
JEFE DE LABORATORIO  
PERITO QUÍMICO / CIP 18715



**Anexo N° 3: Identificación de la bacteria *Serratia marcescens*, caracterización bioquímica.**

**L&M**

LABORATORIOS

LABORATORIO LOAYZA MURAKAMI SAC

**INFORME DE ENSAYO**

N° 04-0919

Pág. 03 de 03

Código de Laboratorio	02102019-01	
Código de Cliente	TESIS-01	
Item de Ensayo	Cepa	
Fecha de Muestreo	--	
Hora de Muestreo	--	
Parámetro	Medio de Cultivo	Resultados
Coloración Gram	-	Gram Negativos
Fermentación de Azúcares	Agar TSI	A/A
Producción de H <sub>2</sub> S	Agar TSI	Negativo
Producción de Gas	Agar TSI	Positivo
Producción de descarboxilación	Agar LIA	K/K
Producción de Citrato	Agar Citrato	Negativo
Prueba de la Ureasa	Agar Úrea	Negativo
Prueba de Rojo de Metilo	Caldo RM	Negativo
Prueba de Voges Prokauer	Caldo VP	Positivo
Prueba de Movilidad	Agar SIM	Positivo
Prueba de Indol	Triptona	Negativo

Observación.-

La bacteria identificada corresponde *Serratia marcescens*



Responsable de la Calidad  
Adler Herrera Ocampo  
C.B.P. 7980

SGC I&M F-P-21/01 ver 00  
Fecha: 08-09-18

Jr. Ayacucho Nro. 570 2do Piso - Cercado Trujillo - La Libertad - Trujillo - Trujillo  
Celular: 948326553 Teléfono: 044-250043  
Email: laboratoriojmm@gmail.com - web: www.laboratorioslym.com

04-0919-Dafne y Eyber





ANEXO 02. Observación microscópica de *S. marcescens* teñida mediante coloración Gram.

---

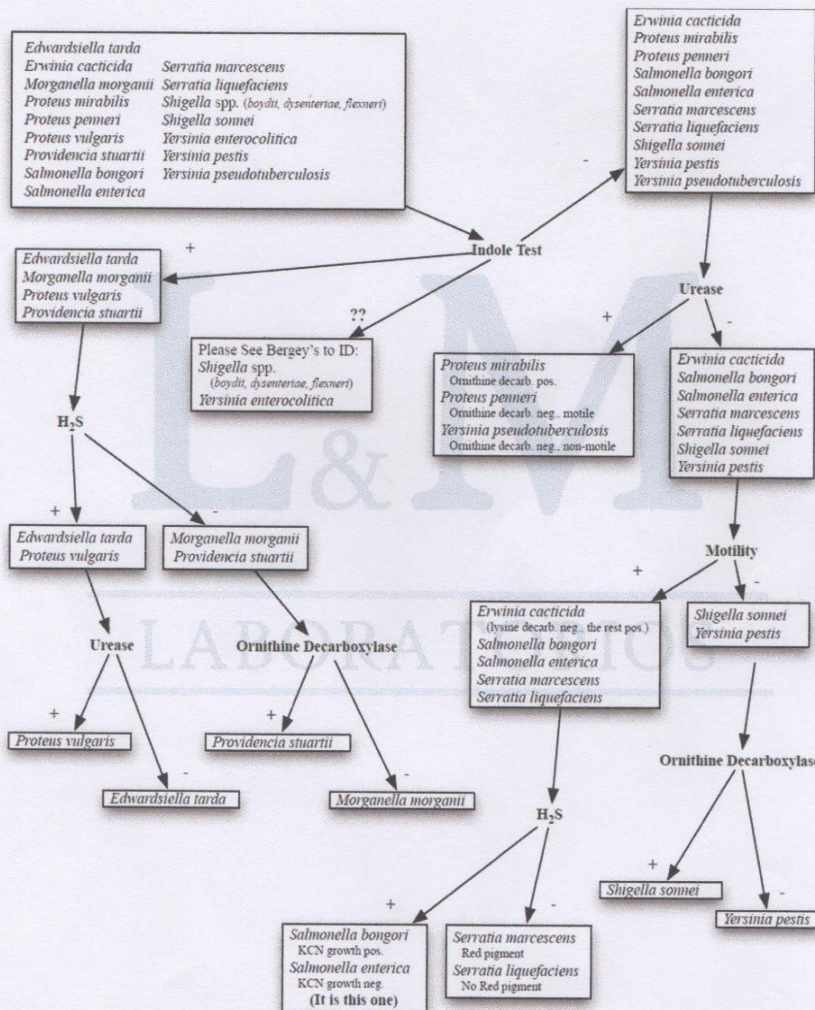
Jr. Ayacucho Nro. 570 2do Piso - Cercado Trujillo – La Libertad - Trujillo – Trujillo  
Celular: 948326553      Teléfono: 044-250043  
Email: laboratoriojlm@gmail.com - web: www.laboratorioslym.com

**Observación microscópica de la bacteria *S. marcescens* teñida mediante la coloración Gram.**



FAMILIA Enterobacteriaceae

Lactosa Negativas



ANEXO 03. Pruebas metabólicas para la determinación de *S. marcescens* según Berge's.

Jr. Ayacucho Nro. 570 2do Piso - Cercado Trujillo - La Libertad - Trujillo - Trujillo  
 Celular: 948326553 Teléfono: 044-250043  
 Email: laboratoriojimm@gmail.com - web: www.laboratorioslym.com

Pruebas metabólicas para la determinación de *S. marcescens* según Berge's.

LABORATORIO LOAYZA MURAKAMI SAC

	Indol	Citrato de Sirmors	H <sub>2</sub> S TSI	Lisina descarboxilasa	Lisina deaminasa	Motilidad	Glucosa Acidez	Glucosa gas	Lactosa	Sacarosa
<i>Escherichia coli</i>	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+
<i>Shigella dysenteriae</i>	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Salmonella sp.</i>	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-
<i>Salmonella typhi</i>	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>Serratia marcescens</i>	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+
<i>Proteus mirabilis</i>	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+
<i>Providencia rettgeri</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-
<i>Providencia stuartii</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+

ANEXO 04. Pruebas metabólicas para la determinación de *S. marcescens* según Silva y Martínez.

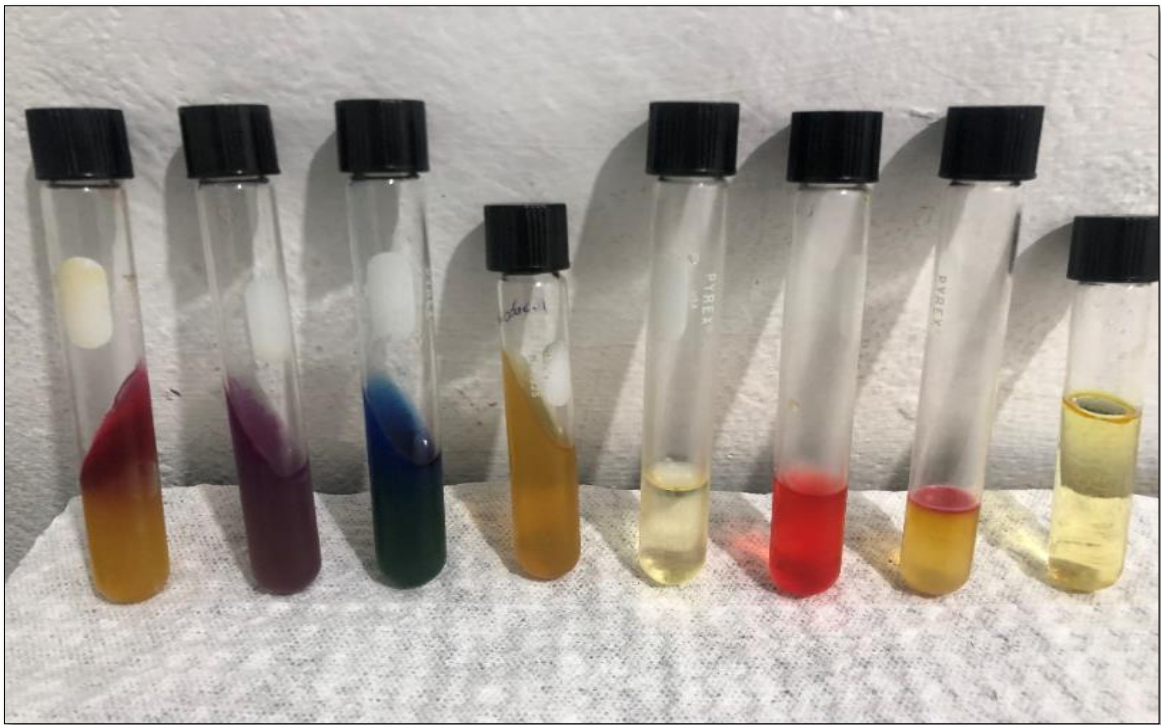
Jr. Ayacucho Nro. 570 2do Piso - Cercado Trujillo - La Libertad - Trujillo - Trujillo  
 Celular: 948326553 Teléfono: 044-250043  
 Email: laboratoriojlm@gmail.com - web: www.laboratorioslym.com

Pruebas metabólicas para la determinación de *S marcescens* según Silva y Martínez.

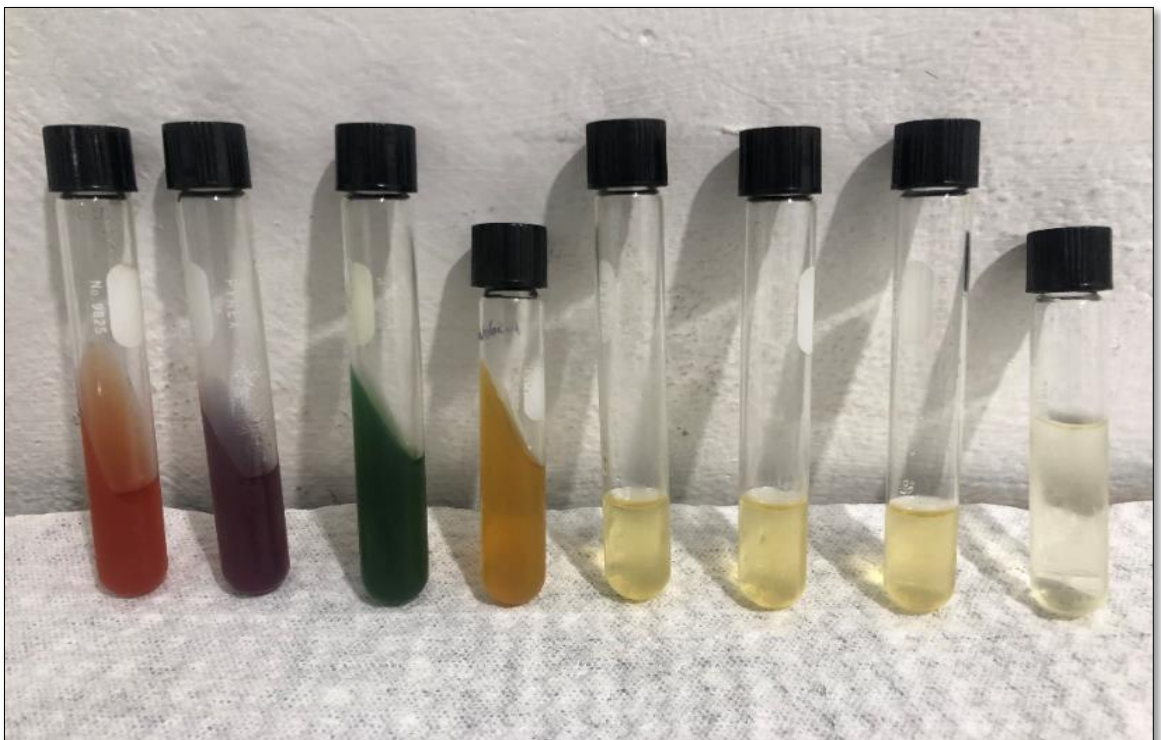


## Caracterización bioquímica de *S. marcescens*.

### A. Antes de la siembra.



### B. Después de la siembra



#### **Anexo N° 4: Capacidad de biorremoción de la bacteria *Serratia marcescens*.**

<b>TRATAMIENTO.</b>	<b>mg Pb/L</b>
Concentración Inicial de Pb en la Quebrada La Victoria.	0.268
Concentración Final de Pb después del tratamiento con la bacteria <i>Serratia marcescens</i> .	0.1960

En la tabla se muestra la concentración inicial de Pb (0.268 mg/L) de la quebrada La Victoria; con la finalidad de demostrar la capacidad de remoción de la bacteria *S. marcescens* se realizó este tratamiento a condiciones de laboratorio, el pH de la quebrada tuvo en un valor de 6.20 y la temperatura de trabajo fue  $20 \pm 2$  dando como resultado un porcentaje de remoción del 29.8%.

#### **Anexo N° 5: Determinación de la concentración mínima inhibitoria (MIC) para Pb con la bacteria *Serratia marcescens*.**

Concentración del metal. (ppm)	El control bacteriano.	Crecimiento /muerto.	La producción de pigmento/inhibición.
0.5 ppm	+	+	+
1.5 ppm	+	+	+
3.0 ppm	+	+	+
10 ppm	+	+	+

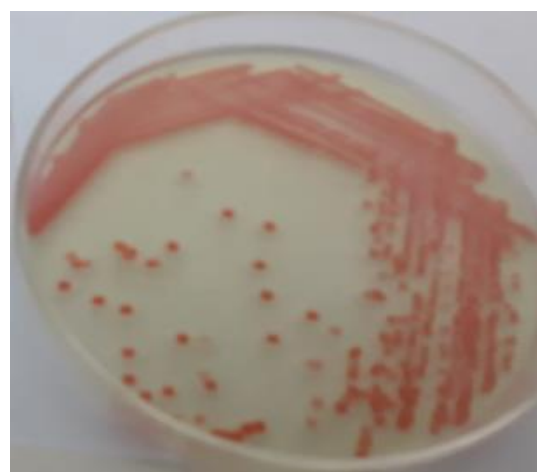
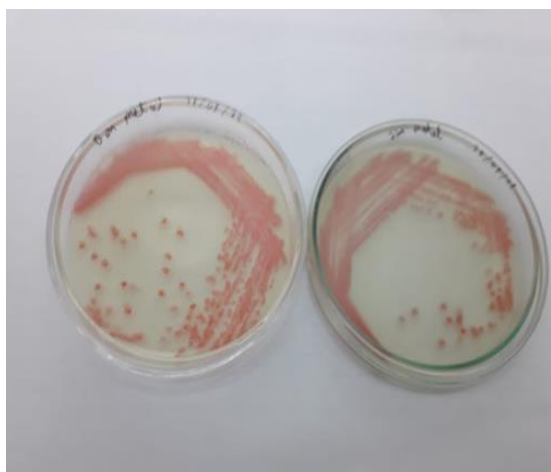
+: Crecimiento y producción de pigmento bacteriana

-: muerte bacteriana y la inhibición de pigmento

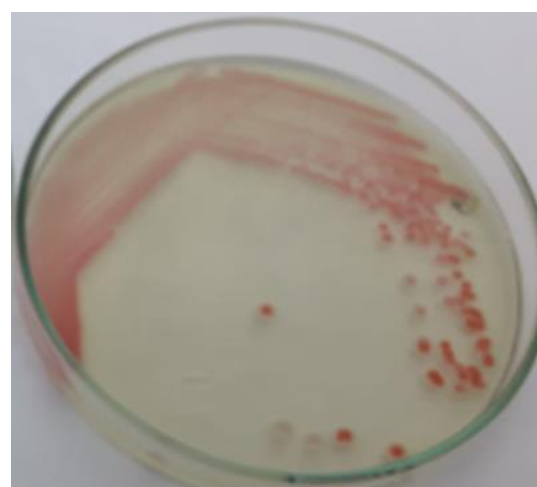
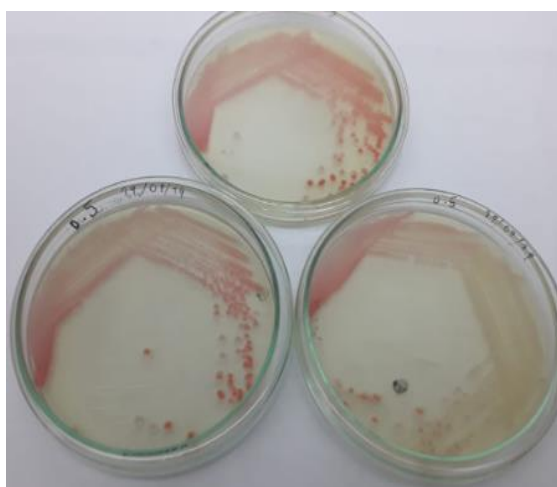
La bacteria *S. marcescens* mostró resultados muy favorables, se ha adaptado para sobrevivir sin ningún impacto en su crecimiento y metabolismo se ha vuelto resistente al metal, según (Kumar, 2019) y (Nanda, 2019) nos dice que las bacterias resistentes de plomo tienen un mayor potencial para eliminar Pb (II) desde el entorno contaminado a través de biosorción.

**Determinación de la concentración mínima inhibitoria (MIC) de la bacteria *Serratia marcescens* a distintas concentraciones de Plomo.**

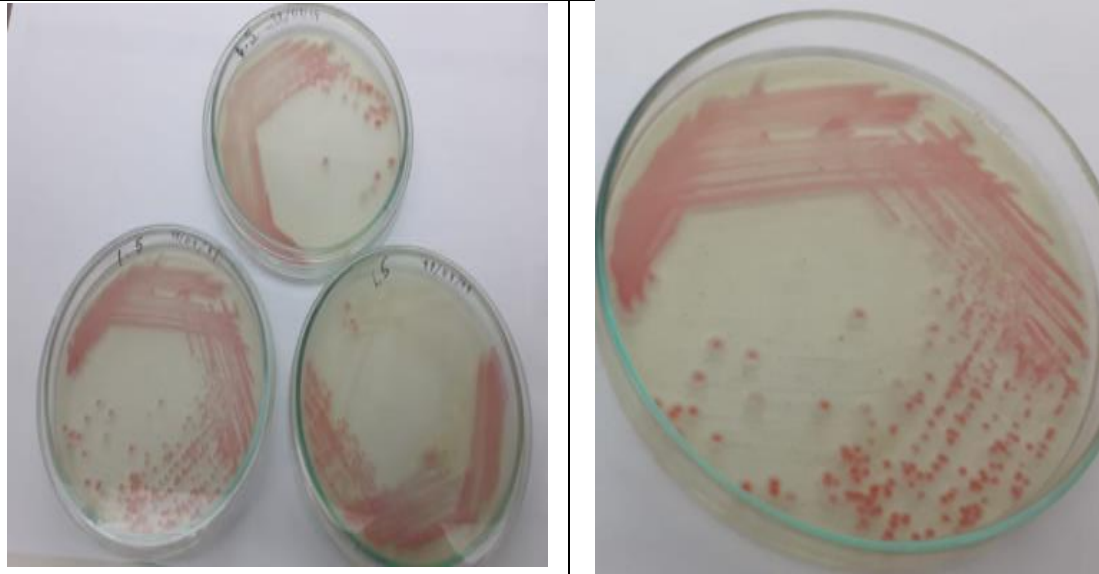
Prueba en blanco de la bacteria *S. marcescens* para la MIC.



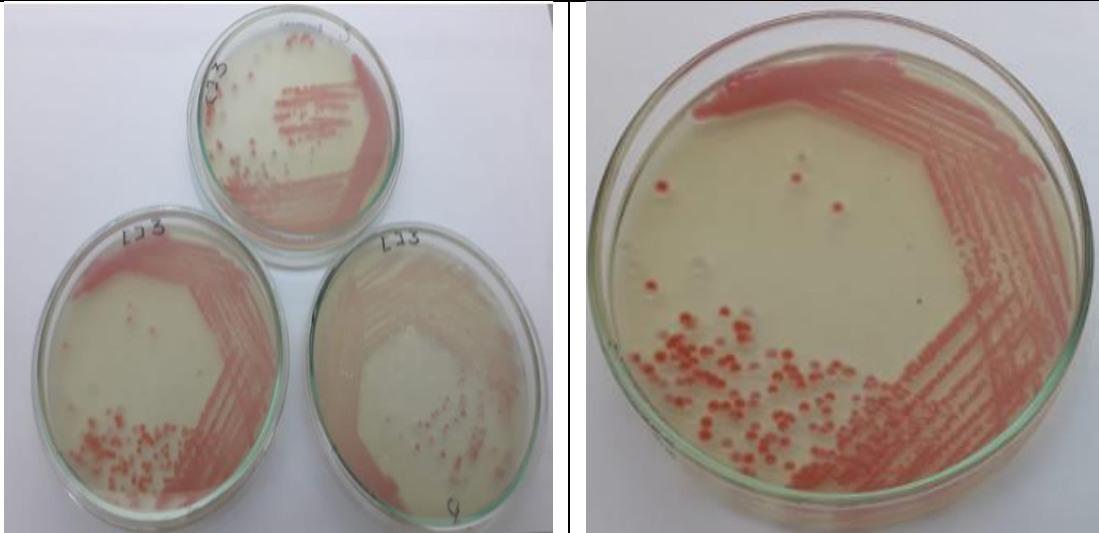
Tolerancia de la bacteria *S. marcescens* a 0.5 ppm de concentración de Plomo.



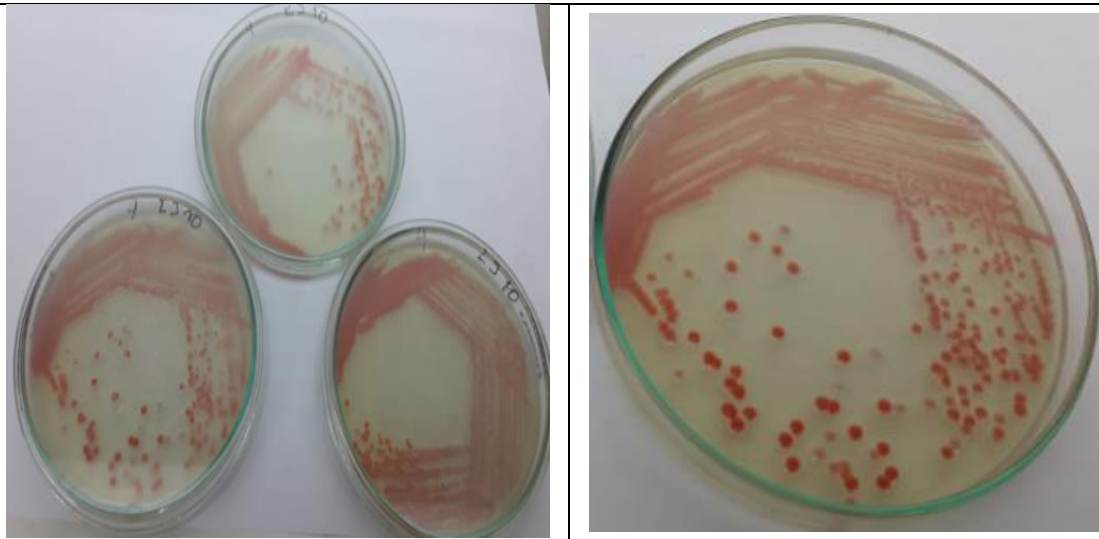
Tolerancia de la bacteria *S. marcescens* a 1.5 ppm de concentración de Plomo.



Tolerancia la bacteria *S. marcescens* a 3 ppm de concentración de Plomo.



Tolerancia la bacteria *S. marcescens* a 10 ppm de concentración de Plomo.





**Anexo N° 6: Pruebas de crecimiento de la bacteria *Serratia marcescens* con los distintos pH.**

Tiempo 24 horas	pH 3	pH 5	pH 7
Crecimiento de la bacteria <i>Serratia marcescens</i> .	-	+	+
	-	+	+
	-	+	+

+: Crecimiento de la bacteriana *Serratia marcescens*

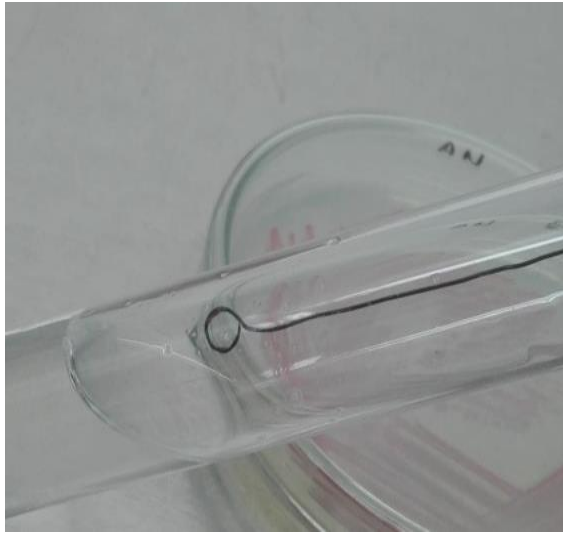
-: Muerte de la bacteriana *Serratia marcescens*

En el tabla se muestra el crecimiento de la bacteria *Serratia marcescens* a distintos pH 3, 5 y 7, estas pruebas se realizaron por triplicado con la finalidad de comprobar si la bacteria crecía en estos tres medios para que posteriormente se pueda trabajar en el tratamiento de biorremoción; como se puede observar en el pH 3 no hubo crecimiento debido a que es un medio muy ácido, nos basamos en la teoría de Krieg, 1984 quien nos manifiesta que todas las bacterias *Serratia marcescens* son capaces de crecer en un rango a pH entre 5 y 9 , Sayyadi, 2017 nos manifiesta que a pH muy ácidos se daña la estructura de los biosorbentes , por consiguiente, en los tratamientos solo se utilizó el pH 5 y 7.

- Procedimiento para determinar el crecimiento de la bacteria *Serratia marcescens* a distintos pH.



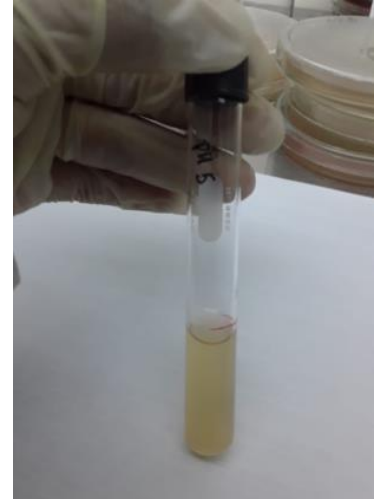
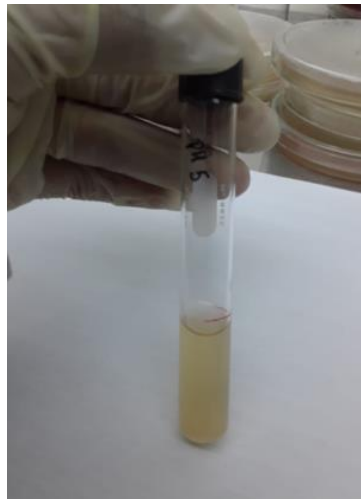
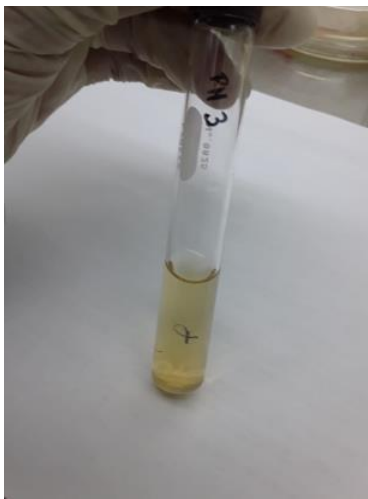
Sembrado por incorporación de la bacteria *Serratia marcescens*.



No creció la bacteria *Serratia marcescens* después de 24 horas.

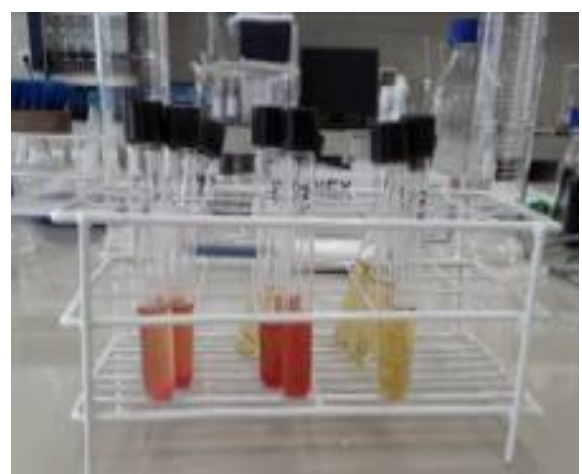
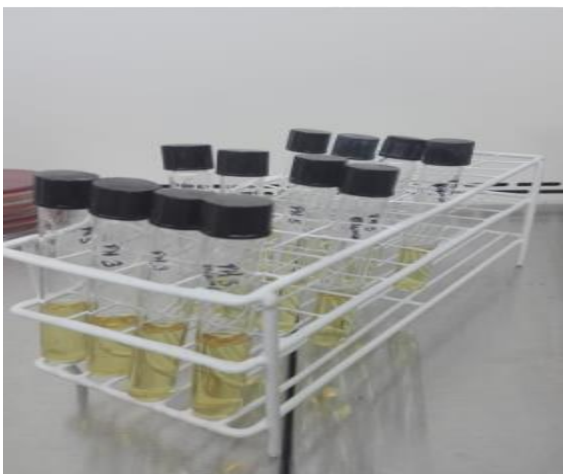
Creció la bacteria *Serratia marcescens* después de 24 horas.

Creció la bacteria *Serratia marcescens* después de 24 horas.



Se trabajó por triplicado y un piloto.

Después de 72 horas se observa el crecimiento de la bacteria .

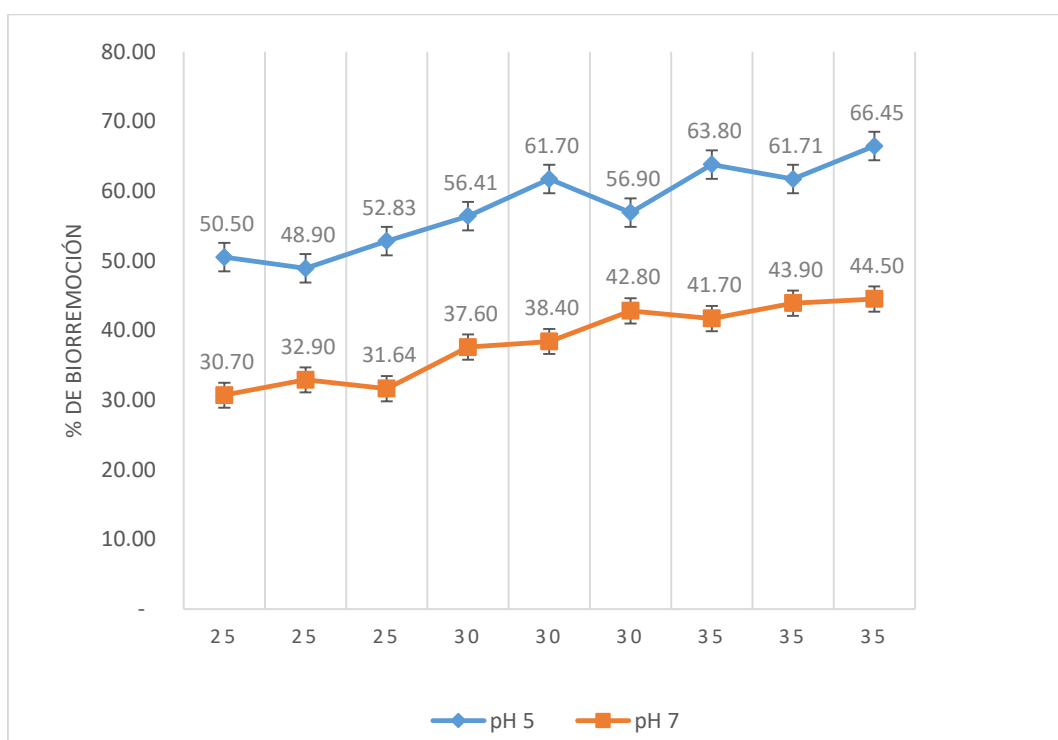




**Anexo N° 7: Interacción entre las variables independientes y constantes en la biorremoción de Pb de la Quebrada La Victorita.**

Variables Independientes		Variables Controladas		Concentración Inicial (mg Pb/L).	Concentración Inicial (mg Pb/L).		
					Tratamientos		
Temperatura	pH	Tiempo	Revolución por minuto (rpm)		1	2	3
25 °C	5	24 horas	120 rpm	0.268	0.1326	0.1369	0.1264
	7			0.268	0.1857	0.1799	0.1832
30 °C	5			0.268	0.1168	0.1026	0.1153
	7			0.268	0.1672	0.1586	0.1532
35 °C	5			0.268	0.0968	0.1026	0.0899
	7			0.268	0.1562	0.15	0.1485

En el Gráfico donde se muestra los porcentajes de biorremoción de plomo influenciados con las variables de pH y temperatura.



Fuente: Elaboración propia.

## Anexo N° 8: Recta de Calibrado para el equipo espectrofotometría de absorción atómica.

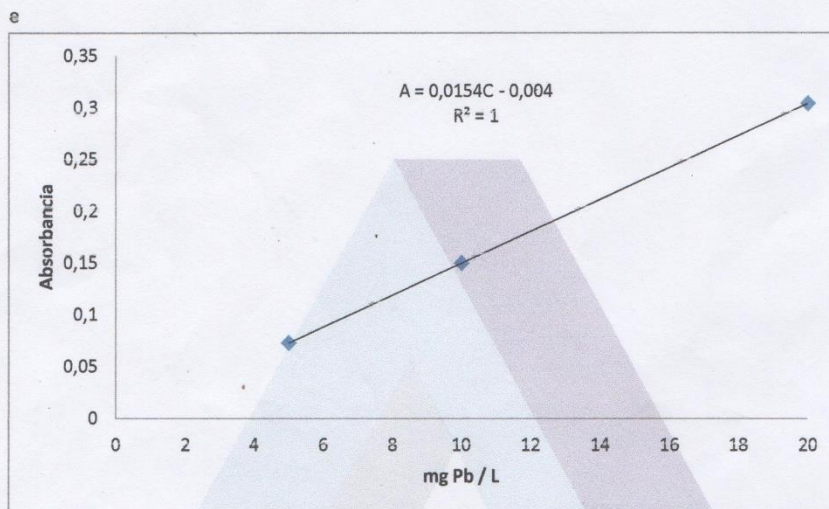


### SERVICIOS DE ANÁLISIS Y ASESORÍA **DELTA**S S.R.L

La curva de calibración para el plomo

SOLUCIÓN	ppm de Plomo	Absorbancia
ESTÁNDAR 1	5.0	0.073
ESTÁNDAR 2	10.0	0.150
ESTÁNDAR 3	20.0	0.304

CURVA DE CALIBRACIÓN DEL PLOMO



Equipo de espectrofotometría de absorción atómica

Marca de Perkin Elmer Modelo AAnalyst 300



Urb. Monserrate 5 'Etapa Mz. D2 Lote 9 - Trujillo - La Libertad R.U.C. 20482155058  
Telef.: 044-280011 - 949 960633 - 949 564849. E-mail: deltas09@yahoo.com

**Anexo N° 9: Resultados del laboratorio donde se demuestra la Capacidad de biorremoción de la bacteria *Serratia marcescens*.**



**SERVICIOS DE ANÁLISIS Y ASESORÍA**  
**DELTA S.R.L.**

**REPORTE DE ANALISIS**

SOLICITANTE : LECCA CABALLERO DAFNE ARIADNA Y VEGA MORENO  
EYBER

MUESTRA : TRATADA CON BACTERIA *Serratia marcescens*

PROCEDENCIA : LABORATORIO DE UCV

FECHA DE INGRESO : 30 DE SEPTIEMBRE DE 2019

MUESTRA	mg Pb/L (A)
INICIAL	0.1960

(A) Espectrofotometría de absorción atómica.


Trujillo 1 de octubre de 2019

ING. NOÉ COSTILLA SÁNCHEZ  
JEFE DE LABORATORIO  
PERITO QUÍMICO / CIP 18715





**Anexo N° 10: Prueba para comprobar que la bacteria *Serratia marcescens* es la que remueve el plomo.**



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

---

### REPORTE DE ANALISIS

SOLICITANTE : LECCA CABALLERO DAFNE ARIADNA. VEGA MORENO EYBER JOHAND

MUESTRA : TRATADA CON BACTERIAS *Serratia marcescens*

PROCEDENCIA : LABORATORIO DE UCV

FECHA DE INGRESO : 30 DE OCTUBRE DE 2019


MUESTRA	mg Pb / L (A)
5 INICIAL	0.200
5 FINAL	0.200
7 INICIAL	0.190
7 FINAL	0.200

(A) MÉTODO DE ABSORCIÓN ATÓMICA A LA LLAMA

TRUJILLO04 DE NOVIEMBRE DE 2019



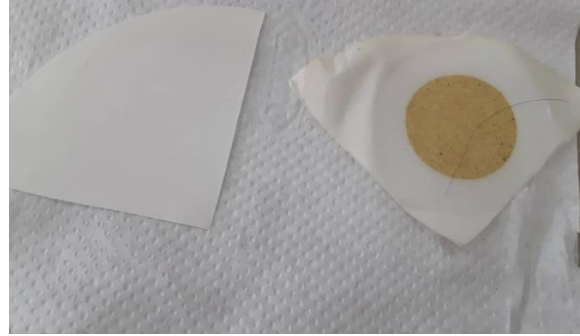
ING. NOÉ COSTILLA SÁNCHEZ  
JEFE DE LABORATORIO  
CIP 18715 / PERITO QUÍMICO



Urb. Monserrate 5 ª Etapa Mz. D2 Lote 9 - Trujillo - La Libertad R.U.C. 20482155058  
Telef.: 044-280011 - 949 960633 - 949 564849. E-mail: deltas09@yahoo.com

Se efectuó el tratamiento sin la incorporación de la bacteria *Serratia marcescens*.

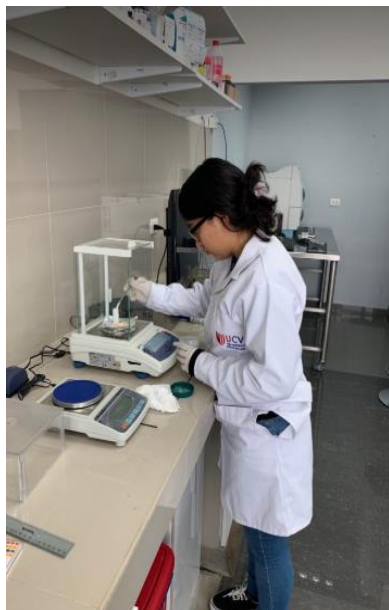
Se filtró la muestra de agua proveniente de la quebrada La Victoria con bomba al vacío.



Se pesó el 10 % del Caldo BHI.

Se ajustó el pH con la adición de 0.1 M de HCL y 0.1 M de NaOH.

Todos los frascos de vidrio contenidos con el 10 % de caldo BHI y el agua de la quebrada La Victoria fueron esterilizados en un Autoclave.





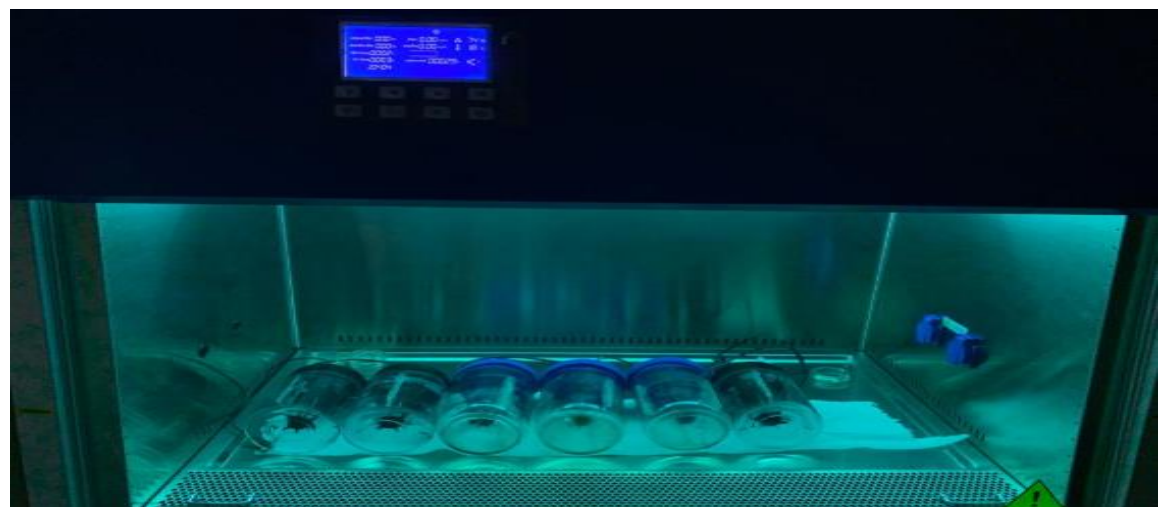
Reactivación de la bacteria *Serratia marcescens*.



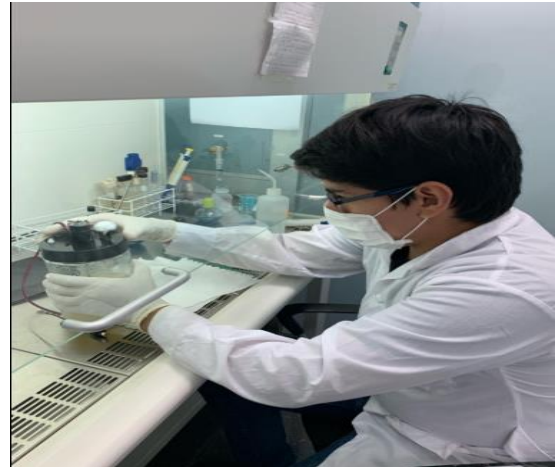
Preparación de la solución salina.



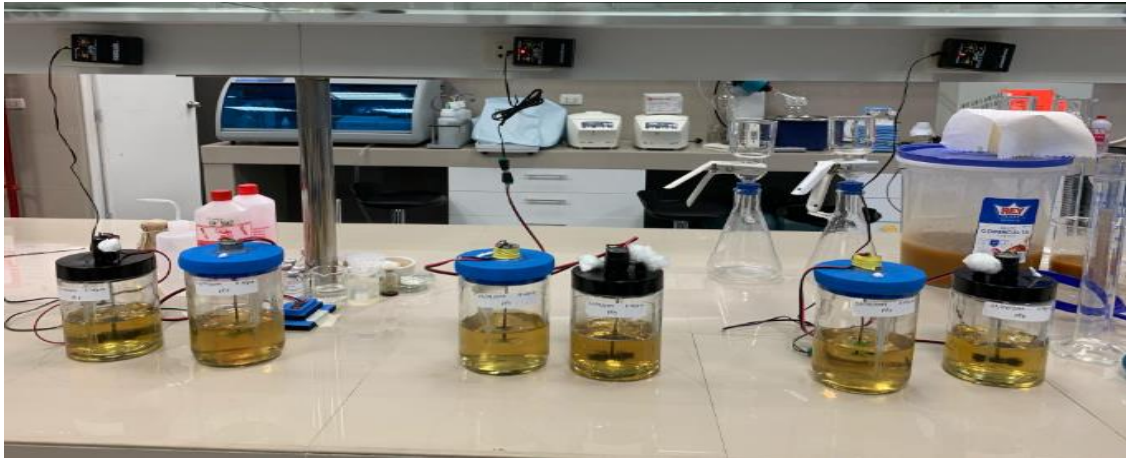
Desinfección de los biorreactores.



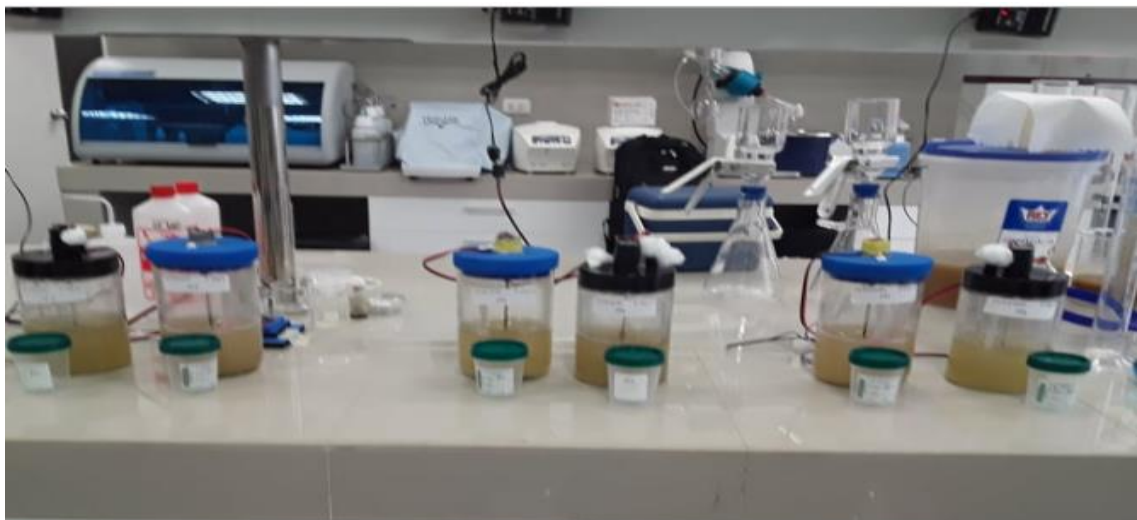
Se empleó el método McFarland Standard para agregar la bacteria *Serratia marcescens*.



Incorporación de la bacteria *Serratia marcescens* a los 6 biorreactores



Después de 24 horas se recogió la muestra de los biorreactores.

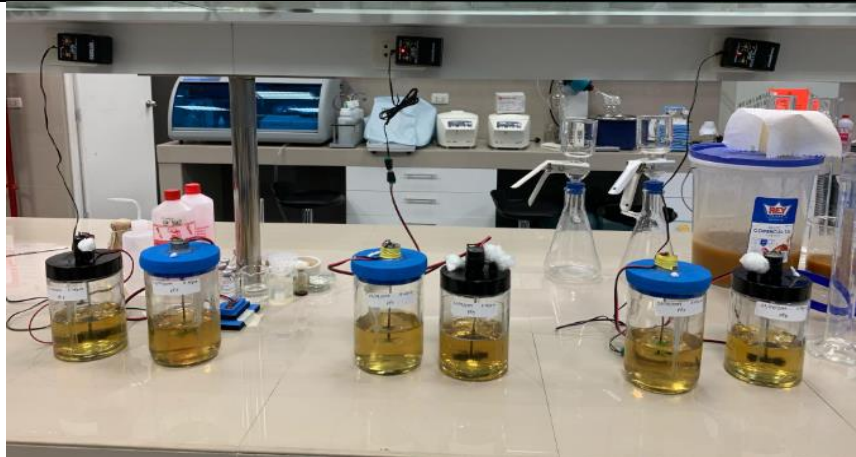




Se empleó el método McFarland Standard para agregar la bacteria *Serratia marcescens*.



Incorporación de la bacteria *Serratia marcescens* a los 6 biorreactores

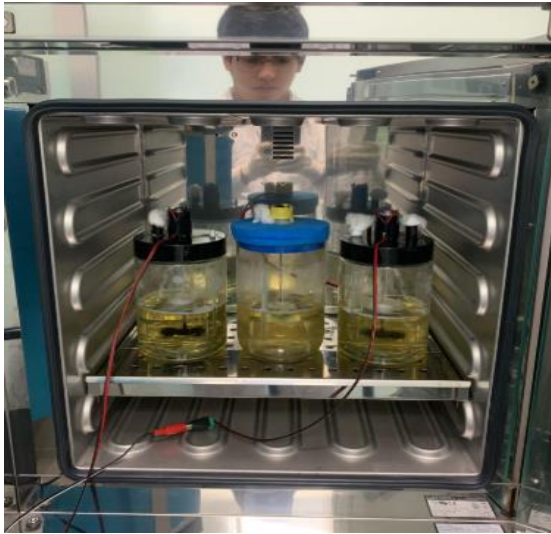


Después de 24 horas se recogió la muestra de los biorreactores.

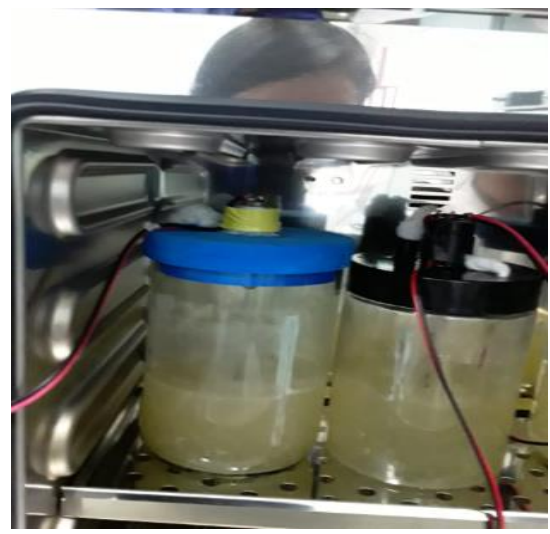




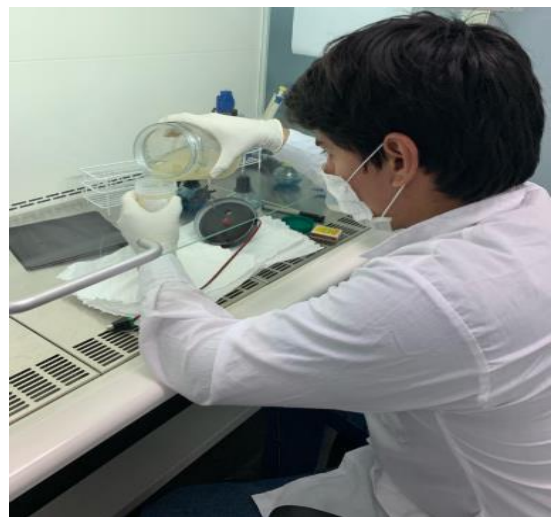
Se trabajó a temperatura de 30 °C y 35 °C en una incubadora (MEMMERT)



Después de 24 horas se procedió a desconectar los biorreactores.



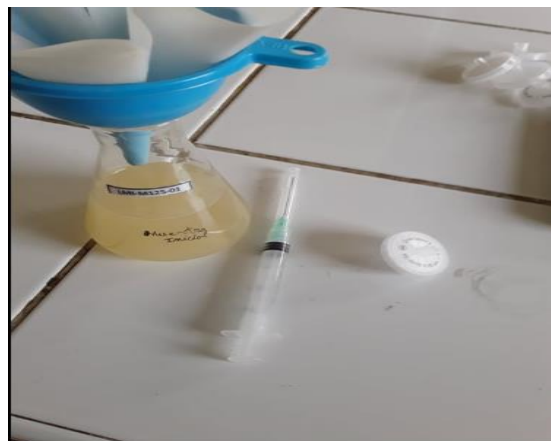
Se recolectó la muestra en frascos esterilizados.



Se centrifugó la muestra.



Se filtró con un filtro de jeringa 0.20 µm



### Anexo N° 11: Medición de los biorreactores con un tacómetro.

Se realizó la medición a tres biorreactores con el tacómetro para determinar la revolución por minuto, el promedio de las mediciones fue de 120 rpm.





Anexo N° 12: Resultados del laboratorio a temperatura de 25 ° C se codificó las muestras 0.1, 0.2, 0.3 corresponde a los pH 5 y 0.4, 0.5 y 0.6 corresponde a pH 7.



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

### REPORTE DE ANALISIS

SOLICITANTE : LECCA CABALLERO DAFNE ARIADNA Y VEGA MORENO  
EYBER

MUESTRA : TRATADA CON BACTERIA *Serratia marcescens*

PROCEDENCIA : LABORATORIO DE UCV

FECHA DE INGRESO : 18 DE OCTUBRE DE 2019

MUESTRA	mg Pb/L (A)
0.1	0.1326
0.2	0.1369
0.3	0.1264
0.4	0.1857
0.5	0.1799
0.6	0.1832

(A) Espectrofotometría de absorción atómica.

Trujillo 21 de noviembre de 2019

ING. NOÉ COSTILLA SÁNCHEZ  
JEFE DE LABORATORIO  
PERITO QUÍMICO / CIP 18715



Urb. Monserrate 5 Etapa Mz. D2 Lote 9 - Trujillo - La Libertad R.U.C. 20482155058  
Telef.: 044-280011 - 949 960633 - 949 564849. E-mail: deltas09@yahoo.com

Anexo N° 13: Resultados del laboratorio a temperatura de 35 ° C se codificó las muestras 0.1, 0.2, 0.3 corresponde a los pH 5 y 0.4, 0.5 y 0.6 corresponde a pH 7.



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

### REPORTE DE ANALISIS

SOLICITANTE : LECCA CABALLERO DAFNE ARIADNA Y VEGA MORENO  
EYBER

MUESTRA : TRATADA CON BACTERIA *Serratia marcescens*

PROCEDENCIA : LABORATORIO DE UCV

FECHA DE INGRESO : 20 DE NOVIEMBRE DE 2019

MUESTRA	mg Pb/L (A)
0.1	0.0968
0.2	0.1026
0.3	0.0899
0.4	0.1562
0.5	0.15
0.6	0.1485

(A) Espectrofotometría de absorción atómica.

Trujillo 26 de noviembre de 2019

ING. NOÉ COSTILLA SÁNCHEZ  
JEFE DE LABORATORIO  
PERITO QUÍMICO / CIP 18715



Urb. Monserrate 5 \*Etapa Mz. D2 Lote 9 - Trujillo - La Libertad R.U.C. 20482155058  
Telef.: 044-280011 - 949 960633 - 949 564849. E-mail: deltas09@yahoo.com



**Anexo N° 14: Resultados del laboratorio a temperatura de 30 °C se codificó las muestras 0.1, 0.2, 0.3 corresponde a los pH 5 y 0.4, 0.5 y 0.6 corresponde a pH 7.**



## SERVICIOS DE ANÁLISIS Y ASESORÍA **DELTA**S S.R.L

### REPORTE DE ANALISIS

SOLICITANTE : LECCA CABALLERO DAFNE ARIADNA Y VEGA MORENO  
EYBER

MUESTRA : TRATADA CON BACTERIA *Serratia marcescens*

PROCEDENCIA : LABORATORIO DE UCV

FECHA DE INGRESO : 26 DE NOVIEMBRE DE 2019

MUESTRA	mg Pb/L (A)
0.1	0.1168
0.2	0.1026
0.3	0.1153
0.4	0.1672
0.5	0.1586
0.6	0.1532

(A) Espectrofotometría de absorción atómica.

Trujillo 29 de noviembre de 2019

ING. NOÉ COSTILLA SÁNCHEZ  
JEFE DE LABORATORIO  
PERITO QUÍMICO / CIP 18715



Urb. Monserrate 5 Etapa Mz. D2 Lote 9 - Trujillo - La Libertad R.U.C. 20482155058  
Telef.: 044-280011 - 949 960633 - 949 564849. E-mail: deltas09@yahoo.com

Anexo N° 15: Plano de los tres biorreactores.

