



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

EFICIENCIA DE *ACTINOMYCETOS* EN LA REMOCIÓN DE METALES PESADOS
PRESENTES EN SUELOS CONTAMINADOS PROCEDENTES DEL DISTRITO DE
QUIRUVILCA

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

AUTOR:

SOLANO SILVA, GIANELLA GREYSSI ODALYS
(0000-0003-3841-8595)

ASESOR

Dr. QUEZADA ALVAREZ, MEDARDO ALBERTO
(0000-0002-0215-5175)

LINEA DE INVESTIGACIÓN

CALIDAD Y GESTIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES

TRUJILLO - PERÚ

2018

DEDICATORIA

Se la dedico a Dios, quien fue mi luz durante estos años de camino que eh recorrido, quien supo guiarme por el buen sendero, me brindo la perseverancia y paciencia para hacer frente a las dificultades que se me presentaron, siempre manteniendo la dignidad y los valores que me inculcaron para ser una mejor persona.

Dedico la tesis a mis padres pues ellos fueron guías y la fortaleza para cumplir mis metas, gracias a ellos por su paciencia, por ser mi motivación y sacrificar tanto para que llegue a mi meta.

A mis asesores: Dr. Medardo Alberto Quezada Alvarez y Mg. Magaly de la Cruz Noriega, grandes profesionales que fueron guía para el desarrollo de la presente tesis, por su apoyo semana tras semana a lo largo de estos ciclos.

Gianella Greyssi Odalys Solano Silva

AGRADECIMIENTO

A mis Padres: Augusto Solano Salinas y Juana Silva Quezada, gracias a ellos soy lo que soy. Gracias por su apoyo incondicional, sus desvelos, enseñanzas, comprensión, por su infinito amor, por ser mi motivación frente a los momentos difíciles, y por sacrificar tanto para que yo pueda llegar a mi meta.

A mis hermanos: Jean y Pool, quienes son mi motivación, inspiración y felicidad, gracias por estar siempre presentes, acompañándome para poder cumplir mis objetivos.

PÁGINA DEL JURADO

Ms. Walter Moreno Eustaquio
Presidente

Dr. José Cruz Monzón
Secretario

Dr. Alberto Quezada Alvarez
VOCAL

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, SOLANO SILVA, GIANELLA GREYSSI ODALYS, identificado con DNI N° 72265933, 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 autentica.

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 información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, 12 de Julio del 2018

SOLANO SILVA, GIANELLA GREYSSI ODALYS

DNI: 72265933

PRESENTACIÓN

Señores miembros del jurado:

En cumplimiento del reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada "**Eficiencia de Actinomyces en la remoción de metales pesados presentes en suelos contaminados procedentes del distrito de Quiruvilca**", la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Ingeniera Ambiental.

Gianella Greysi Odalys Solano silva

INDICE

RESUMEN	X
ABSTRACT	XI
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Realidad problemática	1
1.2 Trabajos previos.....	2
1.3 Teorías relacionadas al tema.....	5
1.4 Formulación del problema	10
1.5 Justificación del estudio.....	10
1.6 Hipótesis	11
1.7 Objetivos.....	11
1.7.1 Objetivo general	11
1.7.2 Objetivos específicos	11
II. MÉTODO.....	12
2.1. Diseño de investigación	12
2.2. Variables y operacionalización	13
2.2.1. Variables.....	13
2.3. Población y muestra.....	14
2.3.1. Población.....	14
2.3.3. Muestra.....	14
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.....	15
2.5. Métodos de análisis de datos.....	17
2.5.1. Muestreo de suelos	17
2.5.2. Aislamiento de actinomicetos	18
2.5.3. Distribución del diseño experimental.....	19
2.6. Aspectos éticos	19
III. RESULTADOS	20
IV. DISCUSIÓN.....	25
V. CONCLUSIONES	28
VI. RECOMENDACIONES	29
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Matriz de toma de datos.....	13
Tabla 2. Operacionalización de variables	14
Tabla 3. Técnicas e instrumentos para recolección de datos	15
Tabla 4. Diseño experimental	19
Tabla 5. Resultado inicial del suelo contaminado	20
Tabla 6. Remoción de plomo (Pb) con actinomycetos.	21
Tabla 7. Valores de remoción del arsénico (As) con actinomycetos.....	22
Tabla 8. Valores de remoción del cobre (Cu) con actinomycetos	23
Tabla 9. Valores de remoción del zinc (Zn) con actinomycetos	24
Tabla 10. Estándares de calidad ambiental para suelo	37
Tabla 11. Factores inter-sujetos	44
Tabla 12. Medias marginales estimadas para tiempo de remoción	44
Tabla 13. Medias marginales estimadas para Concentración de Bacterias	45
Tabla 14. Prueba de Homogeneidad de varianzas de Levene	45
Tabla 15. Análisis multivariante de ANOVA (Pruebas de efectos inter-sujetos)	46
Tabla 16. Comparaciones múltiples para Tiempo de Remoción.....	48
Tabla 17. Subconjuntos homogéneos para eficiencia (%) remoción de plomo.....	49
Tabla 18. Subconjuntos homogéneos para eficiencia (%) remoción de arsénico	50
Tabla 19. Subconjuntos homogéneos para eficiencia (%) remoción de cobre	50
Tabla 20. Subconjuntos homogéneos para eficiencia (%) remoción de zinc	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Eficacia de remoción de plomo (Pb) mediante actinomicetos	21
Figura 2. Eficacia de remoción de arsénico (As) mediante actinomicetos.....	22
Figura 3. Eficacia de remoción de cobre (Cu) mediante actinomicetos	23
Figura 4. Eficiencia de remoción de Pb, As, Cu, Zn.....	24
Figura 5. Residuos estándar para eficiencia (%) en la remoción de plomo (Pb).....	52
Figura 6. Residuos estándar para eficiencia (%) en la remoción de arsénico(As).	52
Figura 7. Residuos estándar para eficiencia (%) en la remoción de cobre (Cu).	53
Figura 8. Eficiencia (%) remoción de plomo (concentración bacteriana vs tiempo)	53
Figura 9. Eficiencia (%) remoción de arsénico (concentración bacteriana vs tiempo)	53
Figura 10. Eficiencia (%) remoción de cobre (concentración bacteriana vs tiempo)	54
Figura 11. Eficiencia (%) remoción de zinc (concentración bacteriana vs tiempo).....	55

RESUMEN

La utilización de microorganismos como técnica de restauración ha logrado obtener resultados sorprendentes al aumentar el vigor de los suelos consecuente de la actividad minera. Por ende, esta investigación tuvo como objetivo demostrar la eficiencia de la concentración de actinomicetos sobre la remoción de metales pesados en suelos contaminados.

El experimento se realizó en la Universidad Nacional de Trujillo. Estuvo constituido por dos tratamientos actinomiceto + suelo contaminado y un control. Los resultados mostrados de la caracterización del suelo se realizó mediante el método de ICP – OES, obteniéndose 23 metales, de los cuales 4 de estos presentan altas concentraciones: plomo(Pb) 747.60, zinc(Zn) 2717.4, arsénico(As) 1120.1 y cobre(Cu) 357.3, estos resultados fueron los valores iniciales antes del tratamiento en donde se emplearon dos diferentes concentraciones: 3×10^7 y 6×10^9 en un periodo de tiempo de 12h, 24h y 36h para evaluar la remoción de metales pesados presentes en suelo contaminado en los diferentes tratamientos.

Se concluye que el tratamiento actinomiceto + suelo contaminado se obtuvieron las mejores respuestas, demostrando que hubo mayor eficiencia a las 36h a una concentración de 6×10^9 UFC/ml, siendo este el valor máximo de remoción Zn (77.41%), As (48.79%) y Pb (33.1%), y como valor mínimo Cu (7.54%).

Palabras claves: Biorremediación, metales pesados, inóculo, *actinomiceto*.

ABSTRACT

The use of microorganisms as a restoration technique has achieved surprising results by increasing the vigor of the soil resulting from mining activity. The objective of this research was to demonstrate the efficiency of the concentration of Actinomycetos on the removal of heavy metals in contaminated soils.

The experiment was carried out at the National University of Trujillo. It was constituted by two actinomyceto treatments + contaminated soil and one control. The results showed of the characterization of the soil was carried out by means of the ICP - OES method, obtaining 23 metals, of which 4 of them present high concentrations: lead (Pb) 747.60, zinc (Zn) 2717.4, arsenic (As) 1120.1 and copper (Cu) 357.3, these results were the initial values before the treatment in which two different concentrations were used: 3×10^7 and 6×10^9 in a period of time of 12h, 24h and 36h to evaluate the removal of heavy metals present in contaminated soil in the different treatments.

It is concluded that the actinomycete treatment + contaminated soil obtained the best responses, showing that there was greater efficiency at 36h at a concentration of 6×10^9 UFC/ml, this being the maximum removal value Zn (77.41%), As (48.79%) and Pb (33.1%), and as a minimum value Cu (7.54%).

Key words: Bioremediation, heavy metals, inoculum, *actinomyceto*.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Realidad problemática

La contaminación por presencia de metales pesados es una realidad que se va incrementando por las diversas actividades antrópicas, entre las cuales, se tiene a la minería como una de las principales fuentes de contaminación.

La minería genera un nivel de contaminación que se ha hecho cada vez más intensiva, provocando efectos nocivos en el medio ambiente y generando riesgos, es así que los principales recursos naturales como el suelo y agua son afectados por presencia de metales pesados, los cuales modifican considerablemente los estilos de vida, dado que las compañías mineras utilizan la tierra y el agua para fines mineros, impidiendo usos productivos y de consumo a futuro. (Benavides *et al.*, 2006, p.51)

La contaminación por metales pesados se genera a partir de la aplicación de agroquímicos, riego de aguas residuales con altas concentraciones de Cd, Cu, Cr, Mg, Hg, Ni, Pb y Zn, complementario a esto es el desinterés por conservar el medio ambiente por parte del estado, lo que indica una sobreexplotación de los recursos naturales asociado a los metales pesados que son nocivos para los ecosistemas y áreas agrícolas. (Benavides *et al.*, 2006, p.51)

La biorremediación permite eliminar o inmovilizar contaminantes lo que hace de esta técnica una alternativa viable que transforma y degrada a niveles mínimos por emplear microorganismos que mejoran las condiciones fisicoquímicas del suelo, calidad para que de esta manera se esté contribuyente al crecimiento y productividad del suelo. (Benavides *et al.*, 2006, p.51)

La compañía minera Quiruvilca se encarga de la extracción de cobre, zinc, plata y otros compuestos, siendo la actividad minera un beneficio para los pobladores, dado que constituye un ingreso económico para las familias de los trabajadores de dichas zonas, siendo así que esta realidad no es ajena a la población ya que se ven involucrados factores económicos y el desinterés de las autoridades locales por mejorar esta situación. Actualmente, existe estudios relacionados a la calidad del

agua como en los ríos motil y el de moche, los cuales están asociados a los efluentes que derivan de la actividad minera, ya que dichos residuos alteran las propiedades del agua.

Sin embargo, aún no se han realizado estudios concernientes al suelo que está expuesto a esta contaminación, por lo que este estudio tuvo como finalidad mejorar la calidad de los recursos, para que a futuro se pueda dar un aprovechamiento adecuado.

1.2 Trabajos previos

Según Herrera (2014, p.3), en el trabajo de investigación **Aislamiento de bacterias resistentes al plomo a partir de suelos contaminados con este metal**, tuvo por objetivo, presentar un estudio sobre la tolerancia del *bacillus lentus*, *sphingomonas paucimobilis*, *bacillus cereus* y *actinomyces* ante la presencia de plomo, mediante el cual se designaron 3 sitios de muestreo asociados a la coloración y presencia de insumos, obteniéndose que el *B. lentus* tuvo la mayor remoción 250 ppm, reduciendo un 27% del Pb soluble.

Por otro lado, Bonilla (2013, p. 18) en su tesis titulada; **Estudio para tratamientos de biorremediación de suelos contaminados con plomo, utilizando el metodo de fitorremediación**, tuvo como objetivo evaluar la capacidad de diversas especies vegetales (Acelga, Amaranto, y Alfalfa), a fin de absorber plomo en suelos contaminados. Para ello, se consideró dos condiciones: Sin adición de nutrientes y abonos teniendo como lugar un invernadero y lo segundo fue la adición de nutrientes en una empresa para su crecimiento. Dentro de la metodología se utilizó la técnica de absorción atómica, demostrando que las tres variedades de plantas estudiadas, presentaron mayor absorción con el adiconamiento del abono orgánico.

Así también Cartaya *et al.*, (2011, p. 1), en su estudio de **Empleo de polímeros naturales como alternativa para la remediación de suelos contaminados por metales pesados**, cuyo interés radica en la aplicación de polímeros naturales (oligogalacturónidos, Ogal) a partir de plántulas de tomates, las cuales fueron

sembrados a ciertos niveles de cobre. Demostrando que el empleo de oligogalacturónidos reduce los efectos de toxicidad por metales pesados, ya que estos generaron algunos cambios en la proporción de metales presentes en el tratamiento con polímeros naturales, obteniéndose así una disminución de los metales en el suelo.

Según Rueda *et al.*, (2009, p. 5), en su trabajo de **Evaluación de la presencia del *gen mer a* implicado en la detoxificación de mercurio a partir de actinomicetos nativos del humedal de la conejera**, tuvieron como objetivo evaluar la capacidad de resistencia y detoxificación de mercurio, a partir del *gen mer A* incluido en el proceso, donde se aplicaron pruebas de sensibilidad teniendo una concentración de $3,68 \times 10^{-3}$ mM y 10 mM de HgCl_2 a una fermentación discontinua, obteniéndose así una máxima producción de biomasa de $2,72 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ a las 72 horas. Por lo que, en la cepa KH7 obtuvo un tamaño entre 50, 90 y 300 Kb, los cuales no fueron incorporados al cromosoma y por ende fueron asociados a la resistencia del metal.

De la misma manera Hernández (2009, p.5), en su tesis de investigación sobre **Aislamiento e identificación de bacterias fijadoras de nitrógeno presentes en la rizosfera de plantas tolerantes a metales pesados**, tuvo como objetivo determinar la capacidad para fijar nitrógeno atmosférico de las bacterias asociadas a la rizosfera de plantas colectadas en jales de las minas de San Martín. Se utilizaron genes 16S rRNA de las bacterias aisladas a partir de los cultivos de enriquecimiento para la identificación de los géneros *Azospirillum*, *Brevundimonas*, *Inquilinus*, *Sphingomonas*, *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*, de los cuales también se identificó Actinomicetos del genero *Agromyces*, demostrando así que existen bacterias que están asociadas a las plantas colectadas en el estado de Zacatecas.

Según Ugarte (2016, p.5), en su estudio de **Evaluación de la capacidad lixivante de actinomicetos aislados de concentrados y relaves mineros en Perú**, tuvo como objetivo determinar la capacidad lixivante con 24 cepas de actinomicetos los cuales fueron aislados de relaves mineros y concentrados. Para ello, se utilizaron cepas en medio Almidón Caseína líquido 1/10 a diferentes niveles de pH, donde se aplicó hierro ferroso(10ppm) y tiosulfato de sodio(1g/L), el cual permitió que las

cepas pudieran crecer a pH 7, obteniéndose como resultado 1% arsénico del relave que fueron solubilizadas por las cepas, mientras que la prueba de lixiviación a una concentración de 500 mL perteneciente a la cepa E1 y AB5 lixiviaron 16.61% y 13.45% del mismo metal, concluyendo que las cepas E1 y AB5 resultando ser eficientes para su adecuación en tratamientos con minerales siendo una alternativa viable para el tratamientos.

Así también Pacheco (2016, p.20), en su estudio, **Determinación de la capacidad biofertilizante de actinomicetos en presencia de metales pesados**, cuyo objetivo fue evaluar la capacidad biofertilizante del actinomyceto en plantas frente a metales pesados, donde se utilizaron 24 cepas de actinomycetos aplicando pruebas bioquímicas en las cuales se seleccionaron 5 cepas del genero *Streptomyces* por su buen rendimiento, poniendo a prueba la aplicación de los tratamientos con semillas de *Lactuca sativa*(lechuga) y *Medicago sativa*(alfalfa) en, Cd Fe, Cu y Zn a 10, 50, 100 y 200 ppm, obteniéndose 80% de remoción de Zn a comparación del Cu con 15% en restauración de suelos contaminados por metales pesados.

Según su estudio Avelino (2013, p. 15), en su trabajo sobre la **Eficacia de la fitoextracción para la remediación de suelos contaminados en villa de pasco**, tuvo como objetivo determinar las especies fitoextractoras más eficaces para remediar los suelos contaminados por elementos metálicos, para ello se utilizaron el *Sonchus Oleraceus* (especie A), *Lepidium bipinnatifidum* (especie B), *plantago orbignyana* (especie C) y el *Bidens triplinervia* (especie D), por lo que se analizaron: cadmio, arsénico, , plomo y zinc asociados a las 6 puntos de muestreo, donde la (especie A), presento mayor eficacia en la absorción de arsénico, la (especie B),tiene mayor eficacia al absorber cadmio, (especie C), absorbió gran cantidad de plomo y (especie D), resulto ser más eficiente para remover el zinc , tendiendo gran capacidad para tratamiento de suelos contaminados por metales.

Según Jiménez (2017, p. 10), en su estudio sobre **Biorremediación con inoculos de *pleurotus ostreatus* para recuperar suelos contaminados con metales pesados en la florida Cajamarca**, tuvo por objetivo presentar un estudio aplicando inoculos de *pleurotus ostreatus* en suelos contaminados con metales pesados para

aplicar técnicas de biorremediación. Parte de la metodología consistió en 4 tratamientos durante seis meses, en donde la dosificación del suelo contaminado por metales pesados e inoculos de pleurotus ostreatus disminuyo un 65.7% perteneciente al T4(tratamiento 4) de plomo en el suelo, siendo este un tratamiento estimable a emplear.

1.3 Teorías relacionadas al tema

1.3.1 Marco teórico

1.3.1.1 Metales pesados

Los metales son aquellos cuyo peso específico es mayor que 4.5 g/cm^3 , y se encuentran entre los números 22 al 34, 40 al 52, 72 al 84, además de las series lantánida y actínida, y tienen una respuesta biológica específica. Los más comunes en el suelo son Fe, Cu, Zn, Pb, Ni, As, Hg y Cd. (Murphy et al., 1982, pág.993)

Los metales pesados forman un grupo de elementos, los cuales algunos resultan esenciales (Se, Cu, Zn), debido que a ciertos niveles pueden resultar tóxicos para el suelo y la salud de las poblaciones humanas y los ecosistemas naturales. El nivel de toxicidad de un suelo se debe por la presencia de metales pesados y otros elementos asociados debido a las concentraciones de sus fases, es decir, la disolución del suelo y las formas reversiblemente absorbidas. (Guzman, 2007, p.51)

Las actividades de minería y fundición implican la obtención de minerales, a partir de la etapa preliminar, el traslado de los residuos y la disposición de los productos semi – procesados. Esto atribuye que las operaciones ejecutadas puedan producir una contaminación por la presencia de metales, a su vez el polvo que se genera puede ser precipitado en los suelos a incontables kilómetros de distancia. En zonas mineras, el suelo presenta altas concentraciones de cobre, arsénico, cadmio, níquel, hierro y selenio. (Guzmán, 2007, p. 53)

1.3.1.2 Procesos dinámicos de los metales pesados presentes en el suelo

Se esquematizan cuatro caminos distintos que pueden seguir los metales pesados incorporados el suelo. (Guzman, 2007, p. 53)

- **Vía 1:** El suelo queda retenido en las capas superficiales en función a la disolución del suelo, es decir son fijados mediante procesos de adsorción, compuestos de coordinación y precipitación.
- **Vía 2:** Se incorporan en las cadenas tróficas o son absorbidas por las plantas.
- **Vía 3:** Se transfiere a la atmosfera por medio de la volatilización.
- **Vía 4:** Las aguas subterráneas y superficiales entran en contacto con el suelo al moverse.

1.3.1.3 Biorremediación

La biorremediación es el empleo de organismos vivos, generalmente procariontes, hongos o plantas que tienen la capacidad de desintoxicar sistemas contaminados. Por ejemplo, algunas plantas adaptadas a suelos que contienen metales son capaces de acumular altas concentraciones de metales tóxicos, tales como cinc, níquel, plomo y cadmio. Además, los ecologistas de restauración pueden utilizar plantas para repoblar los sitios contaminados por actividad minera y otras actividades humanas, después recolectar las plantas para eliminar los metales del ecosistema. (Campbell *et al.*, 2007, p. 47)

La Agencia de protección Ambiental (2002, p.6) define la biorremediación como el proceso en el que se manipula los sistemas biológicos a fin de generar cambios en el ambiente. Este proceso utiliza como alternativa la biotecnología, el cual busca solucionar los problemas de contaminación a partir de la aplicación de microorganismos (actinobacterias), las cuales son capaces de degradar o minimizar aquellos compuestos que crean un desequilibrio en el medio ambiente.

La biorremediación va depender del medio que se utilice para la restauración del suelo, clasificándose en:

- **Fitorremediación:** Empleo y/o aplicación de plantas cuya capacidad tiende a remover, equilibrar y retener aquellos compuestos orgánicos y metales pesados presentes en el suelo.
- **Biorremediación animal:** Es la aplicación de animales cuyo fin es adaptarse fácilmente en medios severamente contaminados.
- **Biorremediación microbiana:** Utilización de actinobacterias las cuales tienen la capacidad de mejorar la calidad del suelo. (Guzman, 2007, p. 56)

Entre los beneficios que muestra la biorremediación mediante pruebas fisicoquímicas, se encuentran:

- Reducción del precio de operación.
- Los contaminantes son exterminados, por lo que no se aplica un tratamiento adicional.
- La técnica de remediación puede ser aplicada en la misma zona (in situ) o por medio de biorreactores. (Guzman, 2007, p. 56)

El empleo de métodos biológicos tiene como fin remediar un ambiente contaminado, debido que estos métodos ofrecen una alta especialidad para la eliminación de metales a partir de la resistencia y los tratamientos *ex situ* o *in situ*.

1.3.1.4 Actinomycetos

Los actinomycetos son actinobacterias Gram positivas, las cuales están presentes en el medio ambiente, y tienen propiedades quitinolíticas, debido a su alto contenido de guanina y citosina dentro de su DNA, esto las diferencia de otras bacterias y hongos Gram positivas. (Arroyo, 2002, p. 60)

1.3.1.5 Características

Los actinomycetos son mesófilos, por lo que el rendimiento en su crecimiento dependerá de la temperatura entre 25°C a 30°C, no obstante, a temperaturas mayores a 55°C solo algunas especies se adaptan, entre ellas tenemos: *Streptomyces* sp, *Thermoactinomyces* sp y *Thermomonospora* sp.

Estas al ser expuestas a altas temperaturas pueden dañar al microorganismo si existe presencia de humedad. (Adegboye *et al*, 2012, p. 42)

Presentan un olor característico a suelo húmedo, esto se da por la producción de terpenoides mediante un metabolito (geosmina), diferenciándolas por el color de sus enzimas extracelulares y pigmentos. (Arroyo, 2002, p. 65)

Además, los actinomicetos tienen la capacidad de retener nitrógeno, debido a su buena proporción en los de suelos, permitiendo adecuarse mediante un intercambio gaseoso.

La baja concentración de oxígeno puede afectar a estos microorganismos, debido que solo algunas especies son microaerofílicas, por lo tienden a soportar bajas presiones al encontrarse en el suelo. (Koneman, 2001, p. 49)

1.3.1.6 Condiciones de crecimiento

Los actinomicetos se pueden encontrar en un tipo de suelo neutro o alcalino, lo que facilita para el crecimiento y desarrollo a partir de la adaptación del pH entre 6 a 8. Parte del mecanismo de estas bacterias es que tienen un óptimo crecimiento entre 25°C y 30°C, sin embargo, al ser expuestas a altas temperaturas de 55°C no resultan ser muy eficientes durante su crecimiento: *Streptomyces* sp., *Thermoactinomyces* sp. y *Thermonospora* sp. (Prescott, 2002, p. 56)

Los actinomicetos crecen en medios de cultivo sólidos y líquidos, de los cuales están compuestos a base de nutrientes tales como: agar nutritivo, agar sangre, entre otros, por ende, el crecimiento del actinomiceto depende del metabolismo en el que se desarrolla sus esporas o pigmentos requiriendo una base de suplementos tales como: avena, peptona, almidón, quitina coloidal y sales inorgánicas. (Franco, 2008, p. 58)

El periodo de incubación expuesto a un medio sólido tarda entre 3 a 4 días, pero en otros casos este proceso suele tardar de 7 a 14 días para el desarrollo

de micelos aéreos maduros con esporas e, inclusive, puede tardar un mes aproximadamente el proceso de incubación. (Bergey, 2000, p. 73)

Por lo contrario, se evidencia agrupaciones filamentosas o “pellets” en un medio líquido, así como también un sedimento algodonoso como una película en la 10 superficie, dejando transparente el medio (Prescott, 2002, p. 56)

1.3.1.7 Actividades biológicas

La remoción de materia orgánica sucede por la capacidad metabólica ejerce el actinomyceto, debido a sus enzimas extracelulares, las cuales generan (ligninolíticas e hidrolíticas), haciendo que la capacidad de esta bacteria asimile gran parte del compuesto a degradar o descomponer aquellas sustancias recalcitrantes derivadas del compuesto contaminante procedente de la materia orgánica en el suelo. (Sylvia *et al.*, 2005, p. 35)

Los actinomycetos descomponen un amplio surtido de substratos, especialmente importantes en la degradación de residuos recalcitrantes.

1.3.1.8 Fisiología y estructura

Los actinomycetos se basan principalmente en las características macroscópicas y microscópicas del microorganismo, así como en pruebas bioquímicas y moleculares. (Adegboye et al., 2012, p. 46)

Los actinomycetos en medios sólidos en función al crecimiento de sus colonias se desarrolla durante los 3 o 4 días de incubación, así mismo el micelio aéreo 21 maduro tarda de 7 a 14 días en desarrollarse, mientras que algunas cepas tienen un crecimiento lento el cual hace que se prolongue en un mes retardando el proceso de incubación. (Adegboye et al., 2012, p. 46)

Los componentes del genero actinomyces son bacilos grampositivos anaerobios estrictos o facultativos. (Murray *et al.*, 1999, p 63)

1.4 Formulación del problema

¿Influye la concentración de actinomicetos en la remoción de metales pesados presentes en suelos contaminados procedentes del distrito de Quiruvilca?

1.5 Justificación del estudio

La minería últimamente ha venido en aumento, generando así efectos nocivos en los recursos naturales por la presencia de metales pesados, los cuales son altamente contaminantes, ya sea por la afectación a los diversos componentes ambientales como son el recurso agua, suelo (infiltraciones) y aire ocasionando un riesgo tanto para el ambiente y la salud de la población.

Es por ello que la biorremediación es una alternativa viable para el tratamiento de los suelos contaminados con metales pesados, permitiendo así mejorar la calidad del suelo y su rendimiento productivo. Esta investigación beneficiará en gran parte a la población, ya que se reducirá los niveles de exposición a metales pesados.

El motivo principal para la elaboración de este proyecto es el adecuado tratamiento, debido a que el uso de microorganismos en temas de biorremediación es debido a su acción específica, baja toxicidad, alta biodegradabilidad, la eficacia en los extremos de temperatura, el pH, la salinidad y la capacidad de asimilar compuestos tóxicos y degradarlos en menos nocivos para el medio ambiente, Por lo tanto, los efluentes que derivan de la actividad minera, alterarían las propiedades del suelo.

Sin embargo, aún no se han realizado estudios de biorremediación concernientes a la contaminación del suelo que está expuesto a metales, por lo que el presente trabajo de investigación no tiene estudios relacionados a las variables y se desconoce la intensidad de esta relación aplicada a nuestra realidad, de esta manera se obtuvo resultados los cuales servirá como sustento para futuras investigaciones relacionadas a la eficiencia de los *actinomicetos* aplicándolo en otro tipo de metales.

1.6 Hipótesis

H_i: A mayor concentración de actinomicetos, mayor es la eficiencia en la remoción de metales pesados presentes en suelos contaminados procedentes del distrito de Quiruvilca.

1.7 Objetivos

1.7.1 Objetivo general

- Demostrar la eficiencia de la concentración de actinomicetos sobre la remoción de metales pesados presentes en suelos contaminados procedentes del distrito de Quiruvilca.

1.7.2 Objetivos específicos

- Caracterizar los metales pesados presentes en la muestra de suelo procedente de Quiruvilca.
- Evaluar la capacidad de remoción de metales pesados por diferentes concentraciones de actinomicetos en suelos contaminados procedentes de Quiruvilca.
- Comparar los resultados evaluándolos estadísticamente con ANOVA.

II. MÉTODO

2.1. Diseño de investigación

La investigación tuvo un diseño experimental factorial, el cual cuenta con dos variables, una de ellas a 2 niveles y la otra a 3 niveles, con 3 repeticiones y con un grupo control, teniendo una relación causal multivariada, debido que existe relación entre la variable independiente y dependientes.

Esquema:

GC ----- → Y

GE ----- → , C, t ----- → X

Donde:

GC: Grupo control

GE: Grupo experimental

C: Representa las diferentes concentraciones de actinomicetos (C₁, C₂).

t: Representa el tiempo de remoción de los metales (t₁, t₂, t₃).

2.1.1 Tipo de estudio

La investigación fue **experimental**, porque se basó en la manipulación de variables en condiciones altamente controladas, replicando un fenómeno concreto y observando el grado en que las variables implicadas y manipuladas producen un efecto determinado en la remoción de metales pesados, **cuantitativo**, porque se midió las variables antes y después de cada tratamiento, y **aplicativo** por que usa el conocimiento de las ciencias básicas para la solución de un problema práctico (Hernández *et. al.* 2010).

2.1.2 Matriz de diseño de muestras

Tabla 1. Matriz de toma de datos

Grupo		Concentración	Tiempo		
			Niveles		
			t ₁	t ₂	t ₃
Control		C ₀			
Experimental	Niveles	C ₁	C _{1/t₁}	C _{1/t₂}	C _{1/t₃}
		C ₂	C _{2/t₁}	C _{2/t₂}	C _{2/t₃}

Fuente: Elaboración Propia

Donde:

C₀ = Caracterización del suelo.

C₁ = Concentración de actinomicetos a 3×10^7

C₂ = Concentración de actinomicetos a 6×10^9

t₁ = Tiempo de remoción 12 horas

t₂ = Tiempo de remoción 24 horas

t₃ = Tiempo de remoción 36 horas

Teniendo un total de experimentos de: $3 \times 3 \times 2$ con un total de 18 experimentos.

2.2. Variables y operacionalización

2.2.1. Variables

Variable independiente:

- Eficiencia de Actinomyces

Variable dependiente:

- Remoción de metales pesados

Tabla 2. Operacionalización de variables

Variable		Definición	Dimensiones	Sub variables	Indicadores	Escala de Medición
Independiente	Eficiencia de Actinomicetos	Actinobacterias Gram positivas, las cuales están presentes en el medio ambiente. (Arroyo, 2002, p. 60)	Inoculo de actinomicetos	-Tiempo -Concentración	Horas ufc/mL	Cuantitativa de razón
Dependiente	Remoción de Metales Pesados	Disminución de los componentes metálicos presentes en el suelo. (Murphy <i>et al.</i> , 1982, pág.993)	Metales pesados	Concentración	mg/kg (ppm)	Cuantitativa de razón

Fuente: Elaboración propia

2.3. Población y muestra

2.3.1. Población

Estuvo constituida por 1 hectárea de suelo de la boca mina codiciada perteneciente a la compañía minera Quiruvilca, la cual se ubica a 3,95 km de la población.

2.3.2. Unidad de análisis

Suelo contaminado perteneciente a la compañía minera Quiruvilca.

2.3.3. Muestra

La muestra fue de tipo intencional o conveniencia, ya que para la extracción de las muestras de suelos se seleccionó 6 puntos de muestreo de los cuales se recolecto 3 kg por cada calicata a una profundidad de 0 a 30 cm, pero antes se procedió a limpiar el área escogida a fin de eliminar piedras y rastros de vegetales que interfieran en las determinaciones respectivas.

Luego se homogenizo todas las muestras recolectadas, y se utilizó 1.5 kg del suelo contaminado por tratamiento y por repetición.

Las concentraciones utilizadas para el tratamiento por actinomicetos fue de: 3×10^7 y 6×10^9 (ufc/mL), los cuales se adicionaron al suelo contaminado por cada ensayo.

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

Tabla 3. Técnicas e instrumentos para recolección de datos

Etapa	Fuente	Técnicas	Instrumentos	Resultados
Ubicación e identificación del lugar de estudio.	Compañía minera Quiruvilca	Observación	Cuaderno de apuntes (anexo n° 2).	Lugar de estudio ubicado e identificado.
Recolección de la muestra de suelo minero.	Suelos de la Compañía minera Quiruvilca.	Experimental	Cadena de custodia de muestra de suelo.	Recolección de 1 hectárea de suelo minero.
Análisis de la muestra de suelo minero antes de la aplicación del tratamiento.	Suelos de la Compañía minera Quiruvilca.	Experimental	Ficha de registro de análisis de laboratorio.	Metales pesados del suelo identificados.
Aplicación de tratamientos con actinomicetos	Laboratorio de la Universidad César Vallejo.	Experimental	Cuaderno de apuntes (anexo n° 2).	Generación y aplicación de actinomicetos en el suelo minero.
Análisis de la muestra del suelo minero después de la aplicación de los tratamientos.	Muestra de suelo minero después de los tratamientos.	Experimental	Ficha de registro de análisis de laboratorio.	Verificación de la remoción o no de metales pesados del suelo minero.
Interpretación y análisis.	Gabinete.	Análisis de resultados	Cuaderno de apuntes (anexo n° 2).	Datos obtenidos procesados e interpretados.

Fuente: Elaboración propia, 2017

2.4.1 Instrumentos de recolección de datos

Los instrumentos que se utilizó son los siguientes:

- Fichas de evaluación en campo para muestreo de suelos (anexo n°1).
- Técnica para la recolección de datos del Post test a partir del tratamiento por Actinomyces (anexo n°2).
- Guía para muestreo de suelos contaminados de acuerdo al D.S. N°002 – 2013 - MINAM.
- Empleo de software: Google maps, Microsoft Excel y SPSS ver. 22.

Así mismo se tuvo el siguiente procedimiento:

1° Caracterización de la muestra: La muestra de suelo se homogenizo para un análisis previo al experimento, para determinar los metales pesados presentes en la muestra y la concentración en la que se encuentran presentes.

2° Preparación de los inóculos: Se estandarizo el crecimiento del inóculo (Actinomyces), para preparar las concentraciones de 3×10^7 y 6×10^9 ufc/mL las cuales fueron proporcionadas por el laboratorio de la Universidad Cesar Vallejo, luego cada concentración se adiciono en los respectivos tratamientos.

3° Determinación de metales pesados: Cada tratamiento se realizó a un tiempo (12hrs, 24hrs y 36hrs) y concentración (3×10^7 y 6×10^9 ufc/mL), se extrajo 10 gr de muestra por cada nivel, las cuales fueron enviadas al laboratorio acreditado.

4° Contraste de resultados: Al final se procedió a ser análisis de varianza (ANOVA), el cual permitió contrastar la hipótesis propuesta y de esta manera determinar si existe o no eficiencia en la remoción de metales pesados presentes en suelos contaminados procedentes del distrito de Quiruvilca.

2.4.2 Validez y confiabilidad de instrumentos

La validación del instrumento fue en función a cada uno de los datos que se registraron en una base de datos, los cuales fueron verificadas con la finalidad que el documento

emitido no tenga errores que alteren los resultados finales en relación al tratamiento que se aplicó en esta investigación.

Respecto a la confiabilidad del instrumento fue a partir del pre y post análisis de las muestras, las cuales se llevaron a cabo en un laboratorio acreditado por INACAL.

2.5. Métodos de análisis de datos

El análisis estadístico de los resultados obtenidos se llevó a cabo mediante el paquete estadístico Excel y SPSS ver. 22, mediante las siguientes etapas:

- Primera etapa, los resultados del monitoreo de los suelos contaminados antes y después de cada tratamiento fueron procesados en las hojas de cálculo elaboradas por el investigador en el Programa Microsoft Excel, de manera que resulte disponible para la siguiente etapa.
- Segunda etapa, los datos recolectados en el Excel de los parámetros metales pesados para los suelos contaminados con las dos concentraciones de actinomicetos a diferentes tiempos se digitalizaron en el software estadístico SPSS ver. 22, como herramienta para encontrar los efectos de las variables dependientes sobre la independiente.
- Tercera etapa, se contrastó la hipótesis, utilizando la prueba de hipótesis con un nivel de significancia de 0,05 (5%).

2.5.1. Muestreo de suelos

- Se llevó a cabo según la guía de muestreo de suelos en el Marco del Decreto Supremo N° 002 – 2013 – MINAM.
- Dentro de la boca mina codiciada, las muestras de suelo con presencia de metales pesados de seis puntos diferentes, utilizando una pala plana, limpiando previamente la superficie para proceder a extraer las muestras de manera aleatoria.
- Se depositó las muestras en una manta de polietileno para su homogenización.

2.5.1.1. Muestreo en calicatas

- Se realizó las excavaciones para remover el suelo y se procedió abrir calicatas de aproximadamente 10x10x30 cm por debajo del área de muestreo seleccionado y limpio.
- Se usó una pala para quitar el espesor en donde se tomó la muestra.
- En la toma de muestras para las pruebas de laboratorio se recolecto aproximadamente 3 kilogramos de suelo contaminado.
- Las muestras fueron tomadas seleccionando el suelo más contaminado, lo que se evidencio por la coloración del mismo.
- Posteriormente las muestras fueron empacadas en bolsas ziplock para ser transportadas al laboratorio.

2.5.2. Aislamiento de actinomicetos

Se utilizó la técnica del extendido en placa para el siguiente proceso:

- Inicialmente se extrajo una muestra de suelo de jardín.
- Se agregó 1 g de la muestra en un tubo de ensayo conteniendo solución salina estéril.
- Se realizó diluciones entre 10^{-1} y 10^{-6} en una bacteria de tubos con 9ml de solución salina estéril.
- De cada dilución se tomó 100 uL con una micropipeta y se vertio en placas con agar soya tripticasa (TSA).
- Se verifico que la dilución este a pH 7 con NaOH 5M.
- A partir de ello, se extendió en las 6 placas con una aza Drigalsky.
- Incubar a 30°C por un tiempo de 24 a 72 horas hasta la aparición de colonias.

Para la identificación de actinomicetos:

- De las colonias se seleccionaron los actinomicetos para observarlos al microscopio con tinción Gram.
- Se saca con la aza bacteriológica del tubo de ensayo que contiene la bacteria luego se agrega a una lámina porta objetos, también se agrega unas gotas de agua y se deja secar por unos minutos.
- Se agrega cristal violeta solo unas gotas cubriendo la muestra por un minuto, luego se enjuaga con agua.

- Se adiciona lugol en la muestra también por un minuto y finalmente se enjuaga.
- Se agrega safranina que lo pinta un color rosado solo por 30 segundos y luego se enjuaga y finalmente se observa en el microscopio para ver si es actinomiceto.
- Si al observar en el microscopio que es de un color rosado y que tiene una forma de enzimas extracelulares entonces se dice que si es la bacteria.

2.5.3. Distribución del diseño experimental

- Para el presente trabajo, se tuvo 3 tratamientos y 3 repeticiones, utilizando matraces con capacidad de 100 ml.
- La dosificación para cada matraz será diferente con actinomiceto, pero la concentración suelo contaminado, será la misma para las 3 repeticiones experimentales, los cuales se distribuyen de acuerdo al diseño.

Tabla 4. Diseño experimental

Grupo control	Grupo Experimental			Suelo Contaminado (g)
1000g suelo contaminado	Repeticiones			
Tiempo de remoción (horas)	1	2	3	
12	3×10^7 actinomiceto	3×10^7 actinomiceto	3×10^7 actinomiceto	+ 10
	6×10^9 actinomiceto	6×10^9 actinomiceto	6×10^9 actinomiceto	
24	3×10^7 actinomiceto	3×10^7 actinomiceto	3×10^7 actinomiceto	
	6×10^9 actinomiceto	6×10^9 actinomiceto	6×10^9 actinomiceto	
36	3×10^7 actinomiceto	3×10^7 actinomiceto	3×10^7 actinomiceto	
	6×10^9 actinomiceto	6×10^9 actinomiceto	6×10^9 actinomiceto	

Fuente: Elaboración propia

2.6. Aspectos éticos

Toda información que se presenta en la investigación y todos los estudios que se realizarán posteriormente será confidencial y veraz, también se guardó privacidad de la identidad de las personas que participaron en el transcurso de la investigación. Además, se aseguró el respeto por la biodiversidad y la honestidad con la que se trabajó.

III. RESULTADOS

3.1.1. Resultados del Pre-análisis del suelo contaminado con metales pesados

Después de haber realizado la recolección de información y procesamiento de datos de los tratamientos aplicados con actinomicetos, se llegó a obtener los resultados del pre-análisis mediante la extracción de muestras completamente al azar, en donde se empleó (DS.002-2013 MINAM, Guía para muestreo de suelos), para así saber cuáles son los valores iniciales de los compuestos metálicos presentes en el suelo, los cuales se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 5. Resultado inicial del suelo contaminado

Ensayo	L.D.M. (mg/kg)	Resultados (mg/kg)
Plata (Ag)	0.07	36.82
Aluminio (Al)	1.4	327.1
Arsénico (As)	0.1	1120.1
Boro (B)	0.2	2.9
Bario (Ba)	0.2	5.1
Berilio (Be)	0.03	<0.03
Calcio (Ca)	4.7	11733.9
Cadmio (Cd)	0.04	19.05
Cerio (Ce)	0.2	0.7
Cobalto (Co)	0.05	7.69
Cromo (Cr)	0.04	0.15
Cobre (Cu)	0.1	357.3
Hierro (Fe)	0.2	>20000
Mercurio (Hg)	0.1	0.8
Potasio (K)	4.3	358.4
Litio (Li)	0.3	<0.3
Magnesio (Mg)	4.4	68.5
Manganeso (Mn)	0.05	52.46
Molibdeno (Mo)	0.2	1.0
Sodio (Na)	2.3	17.2
Níquel (Ni)	0.06	1.75
Fósforo (P)	0.3	42.1
Plomo (Pb)	0.06	747.60
Antimonio (Sb)	0.2	59.2
Selenio (Se)	0.3	10.3
Estaño (Sn)	0.1	7.2
Estroncio (Sr)	0.1	6.5
Titanio (Ti)	0.03	4.32
Talio (Tl)	0.3	0.6
Vanadio (V)	0.04	0.90
Zinc (Zn)	0.2	2717.4

L.D.M.: Limite de detección del método

Resultados de suelo en base seca

Interpretación:

De acuerdo a la tabla 5 se detalla los resultados de la caracterización del suelo donde se encontraron valores de 23 parámetros, en donde 4 de estos presentan altas concentraciones como son: arsénico(As) 1120.1, cobre (Cu) 357.3, plomo (Pb) 747.60, zinc (Zn) 2717.4, lo cual indica presencia de contaminación.

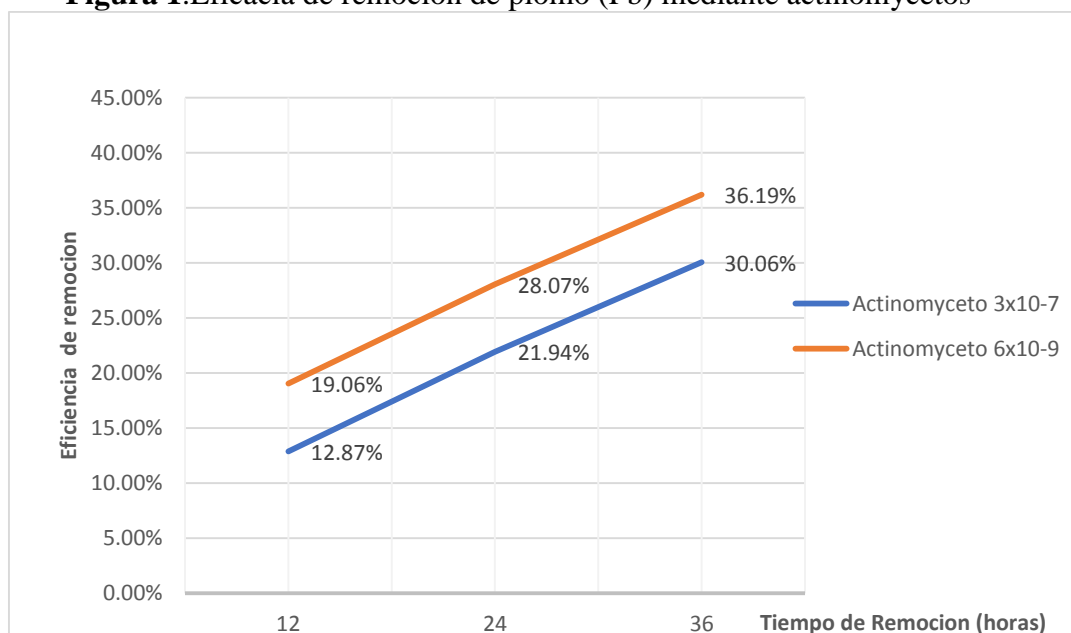
Además, sabemos que la capacidad metabólica del actinomiceto tarda en adaptarse en un suelo contaminado, lo que permite que para la aplicación de cada tratamiento se tomó los metales que contenían mayor concentración por lo tanto la remoción de metales pesados es baja al iniciar el tratamiento, pero conforme va aumento las horas se aprecia mejores resultados, tal como se aprecia en las siguientes tablas 6, 7, 8 y 9.

Tabla 6. Valores de remoción de plomo (Pb) con actinomicetos.

Tiempo de Remoción (horas)	Concentración de Bacterias (UFDC/ml)	Concentración (mg/kg)				Eficiencia (%)
		1 Rep	2 Rep	3 Rep	X	
12	3×10^7	650.41	652.7	651.01	651.37	12.87
	6×10^9	605.56	603.8	606.02	605.13	19.06
24	3×10^7	583.13	582.93	584.77	583.61	21.94
	6×10^9	538.27	536.07	539	537.78	28.07
36	3×10^7	523.32	523,7	522.41	522.87	30.06
	6×10^9	478.16	477.92	475.02	477.03	36.19

Elaborado: Autor

Figura 1. Eficacia de remoción de plomo (Pb) mediante actinomicetos



Interpretación:

Los valores encontrados en la figura 1, se detalla la eficiencia de la concentración de actinomicetos para la remoción de plomo, donde podemos ver cómo es que influye de manera directa el tiempo de 12, 24 y 36 horas ya que a mayor tiempo hay un aumento en la remoción de plomo. Donde nos indica que en un rango de 36 horas bajo una concentración de 6×10^9 UFC/ml existe una remoción de 36.19% (477,03), lo cual indica que cumple con el ECA del suelo (1200mg/kg).

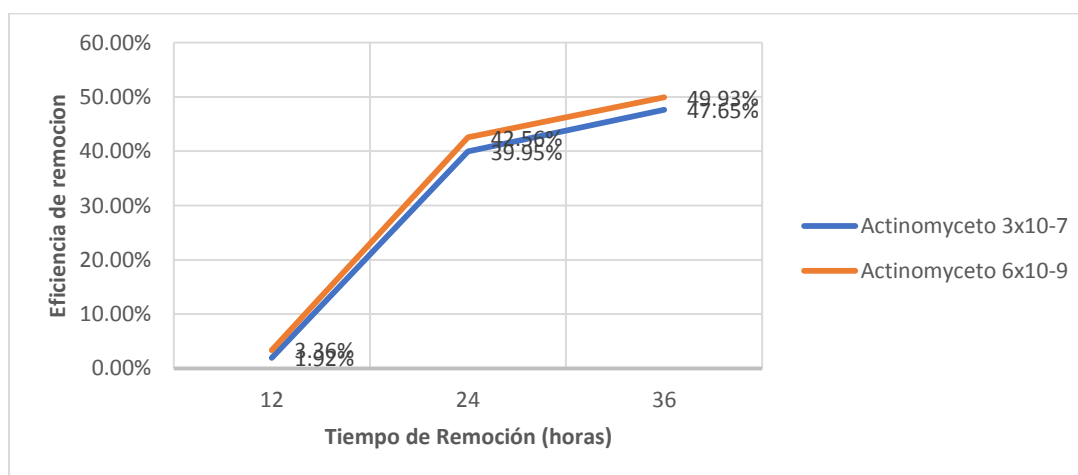
Como se mencionó anteriormente, el crecimiento de la bacteria debido a su proceso lento no permite remover con facilidad los metales pesados.

Tabla 7. Valores de remoción del arsénico (As) con actinomicetos

Tiempo de Remoción (horas)	Concentración de Bacterias (UFDC/ml)	Concentración (mg/kg)				Eficiencia (%)
		1 Rep	2 Rep	3 Rep	X	
12	3×10^7	1098.06	1099.37	1098.22	1098.55	1.92%
	6×10^9	1082.86	1081.99	1082.58	1082.48	3.36%
24	3×10^7	672.79	673	672.02	672.60	39.95%
	6×10^9	643.5	642.9	643.91	643.44	42.56%
36	3×10^7	586.1	586.19	586.76	586.35	47.65%
	6×10^9	560.1	561.64	560.8	560.85	49.93%

Elaborado: Autor

Figura 2. Eficacia de remoción de arsénico (As) mediante actinomicetos



Fuente: Propia

Interpretación:

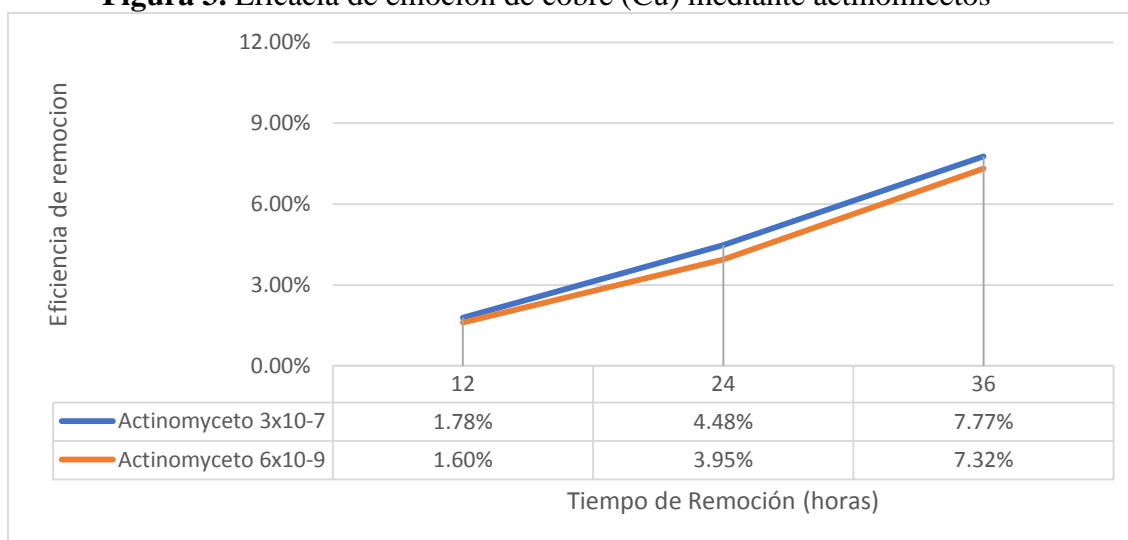
Los valores encontrados en la figura 2, evidencia que a un tiempo de 24 horas con una concentración de actinomicetos de 6×10^9 UFC/ml la remoción de arsénico es más factible, con un 42,56% mientras que en la misma concentración actinomicetos desde 6×10^9 UFC/ml en un rango de 36 horas, re mueve un 49,93%. Esto se debe a que la bacteria se adapta de acuerdo como pasan las horas acelera su metabolismo, lo cual indica que los valores no sobrepasan el ECA de suelo (140mg/kg).

Tabla 8. Valores de remoción del cobre (Cu) con actinomicetos

Tiempo de Remoción (horas)	Concentración de Bacterias (UFDc/ml)	Concentración (mg/kg)				Eficiencia (%)
		1 Rep	2 Rep	3 Rep	X	
12	3×10^7	350.45	350.99	351.4	350.95	1.78%
	6×10^9	351.66	352.01	351.05	351.57	1.60%
24	3×10^7	341.8	341.21	340.88	341.30	4.48%
	6×10^9	343.06	343.8	342.72	343.19	3.95%
36	3×10^7	329.31	330.8	328.54	329.55	7.77%
	6×10^9	331.49	331	330.94	331.14	7.32%

Elaborado: Autor

Figura 3. Eficacia de emoción de cobre (Cu) mediante actinomicetos



Fuente: Propia

Interpretación:

Los valores encontrados en esta figura, nos permite apreciar el porcentaje de remoción del cobre con 7,77% bajo una concentración de 3×10^7 UFC/ml, esto se debe a que la capacidad

de remoción del actinomiceto tarda en adaptarse a este metal, lo que implica un nivel bajo de remoción, donde la mayor remoción es en el rango de 36 horas con (329.55), mientras que a las 12 horas se evidencia una remoción mínima con (350.95), lo que indica que el factor tiempo influye de manera directa en la remoción de metales.

Tabla 9. Valores de remoción del zinc (Zn) con actinomicetos

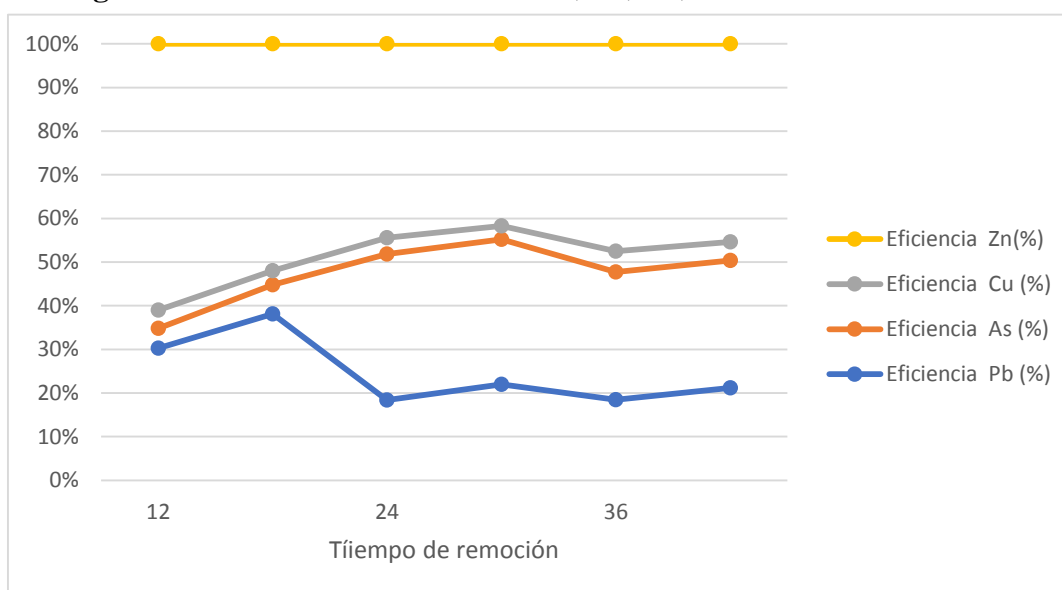
Tiempo de Remoción (horas)	Concentración de Bacterias (UFDC/ml)	Concentración (mg/kg)				Eficiencia (%)
		1 Rep	2 Rep	3 Rep	X	
12 horas	3×10^7	2012.58	2011.4	2013.02	2012.33	25.95%
	6×10^9	2010.04	2010.6	2009.9	2010.18	26.03%
24 horas	3×10^7	1277.18	1276.45	1277.81	1277.15	53.00%
	6×10^9	1268.91	1268	1268.4	1268.44	53.32%
36 horas	3×10^7	616.58	615.4	617.83	616.60	77.31%
	6×10^9	611.96	611.07	609.9	610.98	77.52%

Elaborado: Autor

Interpretación:

Según el análisis que se aprecia en la tabla 9, se observa que en el tiempo de remoción de 36 horas tuvo mayor eficiencia bajo una concentración de 6×10^9 UFC/ml el cual indica que a más tiempo esta expuesta la muestra de suelo, la remoción de metales pesados por tratamiento será más significativo, dado que el grado de remoción se mantuvo constante a una concentración de 3×10^7 UFC/ml y 6×10^9 UFC/ml, debido que el factor tiempo influye en la remoción de este metal.

Figura 4. Eficiencia de remoción de Pb, As, Cu, Zn



Interpretación

Los valores encontrados en esta figura, nos permiten apreciar que el Zn tuvo mayor eficiencia llegando a 77 % de remoción, a diferencia del Pb con 20% demostrando que los resultados obtenidos serian poco eficientes si se aplican a este metal.

IV. DISCUSIÓN

Los actinomicetos son bacterias que constituyen un conjunto de microorganismos los cuales se distribuyen en una variedad de ecosistemas naturales, por lo que representan una opción viable para la aplicación de nuevas biotecnologías mediante el aprovechamiento de sus capacidades metabólicas. El presente estudio se emplearon cepas de actinomicetos las cuales fueron sometidas a una variedad de pruebas para determinar sus características e identificación y luego pasar al estudio de interés.

Las pruebas involucradas tanto micro y macroscópica en la caracterización del actinomiceto representan una herramienta de suma importancia para los tratamientos en función a los niveles de concentración y tiempo de remoción.

El estudio realizado por Pacheco, 2016 reporto que la eficiencia de la bacteria para la remoción de plomo consideró un periodo de tiempo de 24 horas en donde la muestra fue inoculada en erlenmeyeren obteniendo un valor de remoción del 27.27%, lo que indica que la bacteria cuenta con un importante potencial biorremediador. Por otro lado, el tratamiento propuesto por Pacheco es viable, ya que logra remover significativamente el plomo, pero acorde con el presente estudio (tabla 6) se realizó el tratamiento con actinomicetos, pero en un periodo de 12h, 24h y 36 h para evidenciar que el tiempo de cada tratamiento influye en la remoción de este metal, teniendo un 33.1% confirmando que la aplicación del actinomiceto es factible para biorremediar el suelo contaminado.

En la figura 1, se visualiza que se ha tomado una muestra control con 3 repeticiones, en donde se evidencia una tendencia, el cual permite apreciar que hay una ligera disminución en los valores de las tres corridas con respecto al plomo. Teniendo como valor más bajo a las 12 horas a una concentración de 3×10^7 UFC/ml (12.87%), 24 horas a una concentración de 3×10^7 UFC/ml (21.94%) y 36 horas como valor máximo a una concentración de 3×10^7 UFC/ml (30.06%), mientras que a una concentración de 6×10^9 UFC/ml, se obtuvo como valor mínimo 19.06% en 12 horas, 28.07% en 24 horas y

36.19% en 36 horas como valor máximo, lo que indica poca interacción debido que la bacteria tarda en adaptarse por su mismo metabolismo que se adhiere a las condiciones expuestas.

Los resultados encontrados se basan en los análisis realizados y en la eficiencia obtenida del Actinomyceeto en relación de los tratamientos a diferentes concentraciones, si bien se logra disminuir el valor inicial del arsénico en la presente investigación como se observa en la tabla 7, donde se obtuvo una influencia en la remoción para cada tratamiento, pudiendo observar que de las 3 repeticiones, en la figura 2 se visualiza que se mantiene constante en las 12 horas con una concentración de 3×10^7 UFC/ml, y 6×10^9 UFC/ml, lo que indica que conforme aumenta las horas del tratamiento el metabolismo del Actinomyceeto acelera su proceso tendiendo a remover con mayor facilidad el arsénico, ya que a las 24 horas y 36 horas el porcentaje de remoción fue incrementando con un valor mínimo de 47.65% y 49.93% máximo. De acuerdo con la normativa D.S. N° 002-2013 ECA Suelo establece dentro sus valores para el arsénico 140 mg/kg en el cual el valor obtenido de la muestra control fue 1120.1 mg/kg determinando que sobrepasa el límite establecido según la normativa, por ende, se aplicó el tratamiento bajo dos concentraciones 3×10^7 UFC/ml y 6×10^9 UFC/ml.

En los hallazgos encontrados en la tabla 8 se observó que el actinomyceeto presente en el suelo contaminado no presentó un crecimiento conforme avanza el tiempo (12, 24, 36 horas), esto debido a que el actinomyceeto no logró adaptarse al cobre a comparación de los otros metales, por lo que no se evidencia un crecimiento prolongado en el suelo de la boca mina, por ende al realizar el tratamiento hubo una ligera disminución poco significativa ya que demuestra que el tratamiento no es muy eficiente para la remoción de cobre. Así mismo en la figura 3, muestra el porcentaje de remoción de cobre donde se observa que mayor remoción se obtuvo a las 36 horas (7.77%) con la aplicación de dosis de 3×10^7 UFC/ml. En menos cuantía los actinomyceetos removieron Cu con 7.32%, por lo tanto, se puede decir que el tratamiento 3 fue el que obtuvo mejor avance en la eficiencia del actinomyceeto ya que tienden a disminuir las concentraciones iniciales de la caracterización previa. Esto mismo encontró Hernandez (2009) pero usando actinomicetos del genero *Agromyces* en los tres tratamientos donde de la cepa mostro inconsistencia cuando se realizaron las pruebas de ensayo, demostrando que dos de las

tres repeticiones no evidenciaron un crecimiento pronunciado en la se descartó que esta especie pueda aplicarse para el tratamiento de remoción de Cu.

A partir de los resultados obtenidos en los análisis de metales pesados por ICP –OES, los mismos que se evidencian en la tabla 9, en la que determinó que existe una mayor remoción de Zn teniendo como valor inicial 2717.4 ppm, antes de aplicarse el tratamiento. A partir de estos valores se realizó 3 tratamientos para evaluar la eficiencia del actinomiceto como removedor de este metal, llegando a reducir 610.98 ppm a las 36 horas demostrando ser mayor eficiente de acuerdo aumenta el tiempo de exposición en la muestra contaminada bajo una concentración de 6×10^9 UFC/ml, así mismo el porcentaje de remoción que se evidencia en la figura 4 se obtuvo 77.52%, lo que contrasta la cercanía de valores con la investigación de Avelino (2013) quien utilizo 4 diferentes especies en donde su valor promedio fue 1, 2939 ppm siendo la especie D con mayor concentración perteneciente a una muestra de suelo contaminado, la cual determino que existe influencia directa en la aplicación por cada tratamiento teniendo una remoción de 85,3% de Zn.

V. CONCLUSIONES

- Se concluye que la concentración del actinomiceto tiende a influir en la remoción de los metales pesados a partir de diferentes concentraciones (3×10^7 UFC/ml y 6×10^9 UFC/ml) entre 12h, 24h y 36h del tratamiento, demostrando mayor eficiencia a las 36h bajo una concentración de 6×10^9 , ya que el valor máximo de remoción fue Zn (77.41%), As (48.79%) y Pb (33.1%), mientras que el valor mínimo Cu (7.54%), lo cual es de importancia señalar que el actinomiceto proporciona un tratamiento eficiente para la remoción de metales pesados.
- El suelo procedente de Quiruvilca presento una concentración alta de Pb (747.60), As (1120.1), Cu (357.3) y Zn (2717.4), valores que superan el ECA del D.S. N°002-2013-MINAM.
- Se concluye que el actinomiceto tiene un proceso lento en su crecimiento, demostrando que el tiempo del tratamiento influye en la remoción del metal, en relación a la concentración de la bacteria, removiendo el Pb (477.03 ppm), As (560.85 ppm), Cu (331.14 ppm) y Zn (610.98 ppm).
- Se comparó estadísticamente los datos de los análisis del tratamiento, encontrándose diferencia significativa en cada uno de los niveles establecidos, demostrando que la concentración del actinomicetos influye en la remoción de metales pesados.

VI. RECOMENDACIONES

- Tener en cuenta en la aplicación del tratamiento con actinomicetos el pH para ver si influye en la remoción de los metales.
- Realizar un estudio económico que permita evaluar la viabilidad de la investigación a fin de utilizar microorganismos (actinomicetos) como tratamiento de suelos, sin utilizar agentes contaminantes o químicos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MOBOLAJI FELICIA, Adegboye Y OLUBUKOLA OLURANTI, Babalola. *Taxonomy and ecology of antibiotic producing actinomycetes.* Department of Biological Sciences, North West University: A review Revista: science and technology. Africa: vol. 7(15), pp 2255-2261. ISSN 1991-637X.2012.

ARROYO ORBEGOSO, Alexis. *Producción de enzimas pectinasas por Actinomycetos en cultivo sumergido utilizando pectina y cascara de naranja.* Tesis [Tesis Doctoral], Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2002.p. 47

AVELINO CARHUARICRA, Carmen. *Eficacia de la fitoextracción para la remediación de suelos contaminados en villa de pasco.* Tesis [Tesis para optar el grado académico de maestro en investigación], Lima: Universidad Nacional del Callao, 2013.p.67

BENAVIDES LOPEZ, Joaquín, QUINTERO, Gladys M y OSTOS ORTIZ, Olga. *Aislamiento e Identificación de diez cepas bacterianas desnitrificantes a partir de un suelo agrícola contaminado con abonos nitrogenados proveniente de una finca productora de cebolla en la Laguna de Tota, Boyacá, Colombia.* Artículo de investigación: Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Colombia, 2006.p.55

BONILLA, Sara. *Estudio para tratamientos de biorremediación de suelos contaminados con plomo, utilizando el método de fitorremediación.* Tesis [Tesis para optar el título de Ingeniero Ambiental], Quito, Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana, 2013.p. 35

CAMPBELL, Neil y REECE, Jane. *Biología.* 7a. Madrid: Medica Panamericana. Vol. II. ISBN:978 84 7903 998 1, 2007.p. 67

CARTAYA, Omar E. REYNALDO, Inés. PENICHE, Carlos Y GARRIDO, María L. *Empleo de polímeros naturales como alternativa para la remediación de suelos*

contaminados por metales pesados. Rev.Int. Contam. Ambie, Cuba: 27(1). pp 41-46, 2010.

COVARRUBIAS, Sergio y PEÑA CABRIALES, Juan. *Contaminación Ambiental por metales pesados en México: Problemática y Estrategias de Fitorremediación*. Instituto politécnico Nacional. Rev. Int. Contam. Ambie. 33[Especial Biotecnología e ingeniería ambiental], Mexico. pp 7-21, 2016.

FRANCO M. *Evaluación de caracteres PGPR en actinomicetos e interacciones de estas rizobacterias con hongos formadores de micorrizas*. Tesis [tesis doctoral]. Granada (AND): Granada Univ.; 2008.p.6

GUZMAN ALCALÁ, Marta. *La contaminación de suelos y aguas: su prevención con nuevas sustancias naturales*. [libro] España: Universidad de Sevilla.ISBN: 978 84 472 0926 2, 2007.p. 244

HERNÁNDEZ PINEDA, Rosario. *Presencia de hongos micorrízicos arbusculares y contribución de Glomus intraradices en la absorción y translocación de zinc y cobre en girasol (Helianthus annuus L) crecido en un suelo contaminado con residuos de mina*. Tesis [Tesis para obtener el grado de Doctor en ciencias], Tecomán: Universidad de Colima., 2004.p.6

HERNÁNDEZ MENDOZA, Emma. *Aislamiento e identificación de bacterias fijadoras de nitrógeno presentes en la rizosfera de plantas tolerantes a metales pesados*. Departamento de Microbiología, Instituto Politécnico Nacional. Tesis [Tesis para optar el grado de maestría en ciencias], Mexico, D.F, 2009.p. 55

HERRERA VARGAS, Juan. *Aislamiento de bacterias resistentes al plomo a partir de suelos contaminados con este metal*. Tesis [Tesis Doctoral], Costa Rica, 2014.p. 103

KONEMAN, Elmer W. *Diagnostico microbiológico: Texto y Atlas a Color*. 6 edic.: Medica panamericana, 2001.pp. 1647-1696

MURPHY, C.B y SPIEGEL, S.J. *Bioaccumulation and toxicity of heavy metals and related trace elements*. Artículo de revista: Water Pollution Control Federation, 6 edic. Vol. 53, 1982. p. 993

MURRAY, Patrick. ROSENTHAL, Ken y PFALLER, Michael. *Microbiología Médica*. 2 edic. Madrid: Harcourt Brace. ISBN: 978 84 8174 927 4. 1999.p.67

PACHECO HUERTA, Sara. *Determinación de la capacidad Biofertilizante de Actinomicetos en presencia de metales pesados*. Tesis [Tesis Doctoral], Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia. 2016. p. 320

PRESCOTT, L. *Microbiology*. 5 ed. Boston: McGraw Hill Boston. ISBN: 978 968 7988 48 1. 2002. pp. 524 - 528

RUEDA, Carolina. AIKAWA, Marcia. PRADA, Luis y CORREA, María. *Evaluación de la presencia del gen mer A implicado en la detoxificación de mercurio a partir de actinomicetos nativos del humedal de La Conejera*. Revista colombiana de Biotecnología. Vol. XI, ISSN: 0123 3475. 2009.pp.105-113.

SYLVIA D, FURTHMANN J, HARTEL P, ZUBERER D. *Principles and Applications of Soil Microbiology*. 2 ed. New Jersey: Peason Prentice Hall; 2005. p.36

UGARTE ÑAÑEZ, Daniel. *Evaluación de la capacidad lixiviante de Actinomicetos aislados de concentración y relaves mineros en Perú*. Tesis [Tesis para obtener el título de licenciado en biología], Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia, 2016.p. 57

VIII. ANEXOS


ANEXO N° 1: Ficha de evaluación en campo para muestreo de suelos

		FICHA DE EVALUACIÓN EN CAMPO PARA MUESTREO DE SUELOS		
TÍTULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN				
“Eficiencia de Actinomicetos en la remoción de metales pesados presentes en suelos contaminados procedentes del distrito de Quiruvilca”				
FACULTAD DE INGENIERÍA	ESCUELA DE INGENIERÍA AMBIENTAL	UNIVERSIDAD CESAR VALLEJO - TRUJILLO		
DATOS GENERALES				
Lugar en estudio: Boca mina Codiciosa		Fecha de Obtención: 23/04/2018		
Departamento: La Libertad		Fecha de Análisis: 27/04/2018		
Distrito: Quiruvilca				
DATOS DEL PUNTO DE MUESTREO				
Puntos de Muestreo	Código de muestra	Coordenadas (UTM)		Observaciones
		X	Y	
A	PT-01	725146	9235818	
B	PT-02	725117	9235729	
C	PT-03	725124	9236084	
D	PT-04	725131	9236095	
E	PT-05	725121	9236075	
F	PT-06	725141	9236025	
Descripción de la superficie: Sin vegetación				
Tipo de muestreo: Muestras Superficiales (0 – 30 cm)			Área de estudio: 1 ha	

Técnica de muestreo: Calicatas		Material empleado: Libreta de campo Cámara fotográfica Palana Termómetro Bolsas herméticas Etiquetas Balde de 1 L Wincha	
Tiempo (Horas): 10:00 a.m.			
Descripción Física(color/ olor)	Plomo		
	Plomo		
	Plomo		
	Plomo		
	Plomo		
	Plomo		
VERIFICADO POR: Dr. Alberto Quezada Alvarez	FIRMA	Responsable de la prueba: Solano Silva Gianella Greysi	FIRMA

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 2: Ficha técnica para la recolección de datos del Post test a partir del tratamiento por Actinomycetos

 UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO		FICHA TECNICA A PARTIR DE LA APLICACIÓN DE ACTINOMYCETOS				
TÍTULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN						
“Eficiencia de Actinomycetos en la remoción de metales pesados presentes en suelos contaminados procedentes del distrito de Quiruvilca”						
FACULTAD DE INGENIERÍA	ESCUELA DE INGENIERÍA AMBIENTAL	UNIVERSIDAD CESAR VALLEJO - TRUJILLO				
DATOS GENERALES						
Lugar en estudio: Boca mina Codiciosa			Fecha de Obtención: 23-04-18			
Departamento: La Libertad						
Distrito: Quiruvilca						
Lugar de análisis: Servicios Analíticos Generales SAG						
DESPUES DE LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO – POST TEST						
Metal(mg/kg)	Peso (g)	Tiempo(h)			Concentración UFC/ml	
		12	24	36	C ₁	C ₂
Plomo (Pb)	10				3x10 ⁷	6x10 ⁹
Arsénico (As)	10				3x10 ⁷	6x10 ⁹
Cobre (Cu)	10				3x10 ⁷	6x10 ⁹
Zinc (Zn)	10				3x10 ⁷	6x10 ⁹

Material a emplear: <input type="checkbox"/> Microscopio <input type="checkbox"/> Placas Petri <input type="checkbox"/> Mechero <input type="checkbox"/> Medios de cultivos (TSA, EMB, MSA, TSA+MnSO4) <input type="checkbox"/> Asas bacteriológicas <input type="checkbox"/> Porta objetos <input type="checkbox"/> Charola para tinción <input type="checkbox"/> Piseta <input type="checkbox"/> Nefelometro de mcfarland <input type="checkbox"/> Puente de vidrio			
VERIFICADO POR: Dr. Alberto Quezada Alvarez	FIRMA	Responsable de la prueba: Solano Silva Gianella Greysi	FIRMA

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N°3

MATERIALES POR EQUIPOS

- Microscopio
- Colorantes para tinción de Gram
- Asas micológicas
- Tripié
- Charola de metal
- Vaso de precipitados de 250 ml
- Frasco gotero con verde malaquita (5%), safranina (0.5%) y lactofenol azul de algodón
- Placas de TSA
- Incubadoras a 28 y 37°C

MATERIAL DE LABORATORIO

- Mecheros
- Asas bacteriológicas
- Porta objetos
- Cubre objetos
- Charola para tinción
- Puente de vidrio para tinción

- Pinzas largas de punta roma
- Piseta

ANEXO N°4:

Tabla 10.Estándares de calidad ambiental para suelo

N°	Parámetros	Usos del Suelo			Método de ensayo
		Suelo Agrícola	Suelo Residencial/ Parques	Suelo Comercial/ Industrial/ Extractivos	
I Orgánicos					
1	Benceno (mg/kg MS)	0,03	0,03	0,03	EPA 8260-B EPA 8021-B
2	Tolueno (mg/kg MS)	0,37	0,37	0,37	EPA 8260-B EPA 8021-B
3	Etilbenceno (mg/kg MS)	0,082	0,082	0,082	EPA 8260-B EPA 8021-B
4	Xileno (mg/kg MS)	11	11	11	EPA 8260-B EPA 8021-B
5	Naftaleno (mg/kg MS)	0,1	0,6	22	EPA 8260-B
6	Fracción de hidrocarburos F1 (C5-C10) (mg/kg MS)	200	200	500	EPA 8015-B
7	Fracción de hidrocarburos F2 (C10-C28) (mg/kg MS)	1 200	1 200	5 000	EPA 8015-M
8	Fracción de hidrocarburos F3 (C28-C40) (mg/kg MS)	3 000	3 000	6 000	EPA 8015-D
9	Benzo(a) pireno (mg/kg MS)	0,1	0,7	0,7	EPA 8270-D
10	Bifenilos policlorados - PCB (mg/kg MS)	0,5	1,3	33	EPA 8270-D
11	Aldrin (mg/kg MS) _(a)	2	4	10	EPA 8270-D
12	Endrín (mg/kg MS) _(a)	0,01	0,01	0,01	EPA 8270-D
13	DDT (mg/kg MS) _(a)	0,7	0,7	12	EPA 8270-D
14	Heptacloro (mg/kg MS) _(a)	0,01	0,01	0,01	EPA 8270-D
II Inorgánicos					
15	Cianuro libre (mg/kg MS)	0,9	0,9	8	EPA 9013-A/APHA-AWWA-WEF 4500 CN F
16	Arsénico total (mg/kg MS) _(a)	50	50	140	EPA 3050-B EPA 3051
17	Bario total (mg/kg MS) _(a)	750	500	2 000	EPA 3050-B EPA 3051
18	Cádmio total (mg/kg MS) _(a)	1,4	10	22	EPA 3050-B EPA 3051
19	Cromo VI (mg/kg MS)	0,4	0,4	1,4	DIN 19734
20	Mercurio total (mg/kg MS) _(a)	6,6	6,6	24	EPA 7471-B
21	Plomo total (mg/kg MS) _(a)	70	140	1 200	EPA 3050-B EPA 3051

Fuente: MINAM

ANEXO N°5: Caracterización de suelo contaminado



SAG

LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA
CON REGISTRO N° LE-047



**INFORME DE ENSAYO N° 122236-2018
CON VALOR OFICIAL**

II. RESULTADOS:

Producto declarado	Suelo		
Muestra analizada	Suelo		
Fecha de muestreo	2018-04-23		
Hora de inicio de muestreo (H)	18:00		
Condiciones de la muestra	Conservada		
Código del Cliente	90-01		
Código del Laboratorio	18042183		
Problema	L.D.M.	Unidades	Resultados
Metales			
Aluminio (Al)	0.07	mg/kg	36.62
Bario (Ba)	1.4	mg/kg	227.1
Cadmio (Cd)	0.1	mg/kg	1120.1
Cromo (Cr)	0.3	mg/kg	2.0
Cobalto (Co)	0.2	mg/kg	5.1
Copelo (Cu)	0.03	mg/kg	-0.03
Cálcio (Ca)	6.7	mg/kg	11733.9
Cádmio (Cd)	0.08	mg/kg	16.05
Cerita (Ce)	0.2	mg/kg	0.7
Cobalto (Co)	0.05	mg/kg	2.49
Cromo (Cr)	0.04	mg/kg	0.15
Cobalto (Co)	0.1	mg/kg	32.3
Hierro (Fe)	0.1	mg/kg	>20000
Níquel (Ni)	0.1	mg/kg	0.8
Fósforo (P)	4.3	mg/kg	358.4
Litio (Li)	0.3	mg/kg	-0.3
Magnesio (Mg)	8.4	mg/kg	66.5
Manganeso (Mn)	0.03	mg/kg	32.46
Mercurio (Hg)	0.2	mg/kg	1.0
Sodio (Na)	3.3	mg/kg	17.2
Níquel (Ni)	0.00	mg/kg	1.75
Fósforo (P)	0.3	mg/kg	42.1
Plomo (Pb)	0.05	mg/kg	217.88
Antimonio (Sb)	0.2	mg/kg	59.2
Selenio (Se)	0.3	mg/kg	33.3
Estadío (Sn)	0.1	mg/kg	7.2
Estadío (Sn)	0.1	mg/kg	6.5
Plata (Ag)	0.03	mg/kg	4.12
Talio (Tl)	0.3	mg/kg	0.6
Vanadio (V)	0.04	mg/kg	0.90
Zinc (Zn)	0.2	mg/kg	271.4

L.D.M.: Límite de detección del método.
Resultados de Suelo en base seca.

Lima, 20 de Mayo del 2018.

[Firma]
Quim. Bebeth Y Fajardo León
 C.Q.P. N° 648
 Asesor Técnico Químico

**EXPERTS
WORKING
FOR YOU**

1° Nivel de calidad en la acreditación INACAL DA.
 SAG: Environmental Protection Agency, SEM, American Society for Testing and Materials, NIP, Bureau Veritas France.
DISCLAIMER: Este informe es propiedad parcial o total del proveedor de servicios y no debe ser utilizado como evidencia de un resultado de prueba sin el consentimiento escrito del Servicio Analítico General S.A.C. • Los resultados emitidos en este documento son un informe para la muestra recibida en el presente informe. • La muestra será conservada de acuerdo al periodo de validez del presente informe con un máximo de 90 días de haber ingresado las muestras al laboratorio. Luego de este periodo, • Por cualquier otro motivo del presente informe, comunicarse al correo: info@serviciosanaliticos.com. • Cualquier modificación al presente informe o cualquier otro documento emitido por el laboratorio, deberá ser comunicada al correo: info@serviciosanaliticos.com.

SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.C.

Laboratorio Av. Saenz Peña N° 1985 Urb. Dos de Mayo - Lima • Oficina Administrativa Pisco Cueros N.º 2079 - Lima
 • Central Telefónica (01) 425-8282 • Web: www.sagperu.com • Contacto Electrónico: sagperu@protonmail.com

ANEXO N°6: Evidencias fotográficas



Imagen 01: Identificación del área de estudio



Imagen 02: Muestreo de suelo por calicatas de 10x10x30

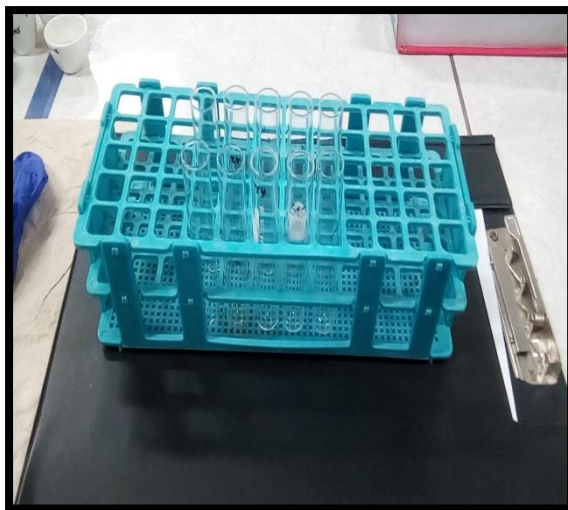


Imagen 03: Codificación de los tubos de ensayo

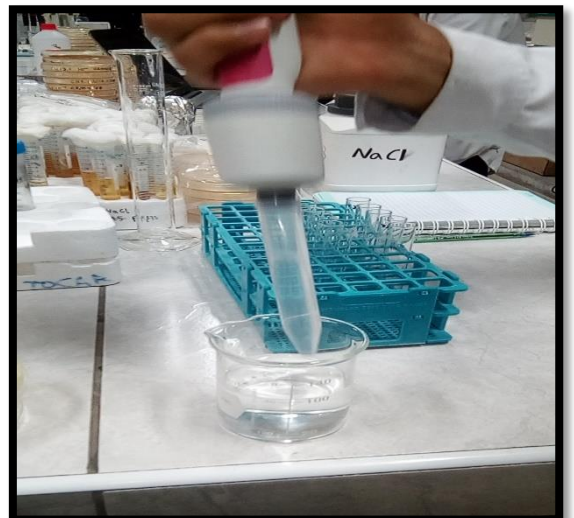


Imagen 04: Solución salina para el aislamiento



Imagen 05: Esterilización de material (Autoclave)

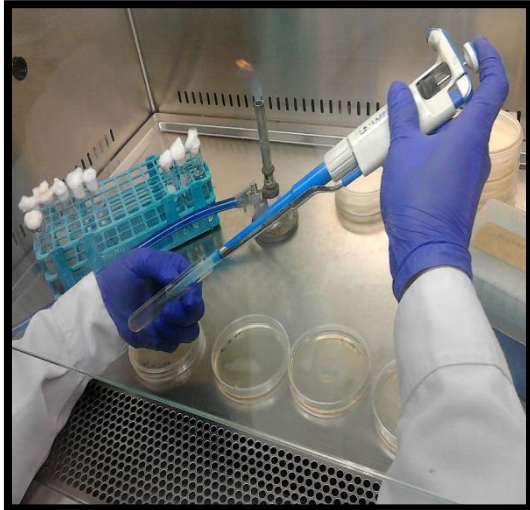


Imagen 06: Siembra por superficie

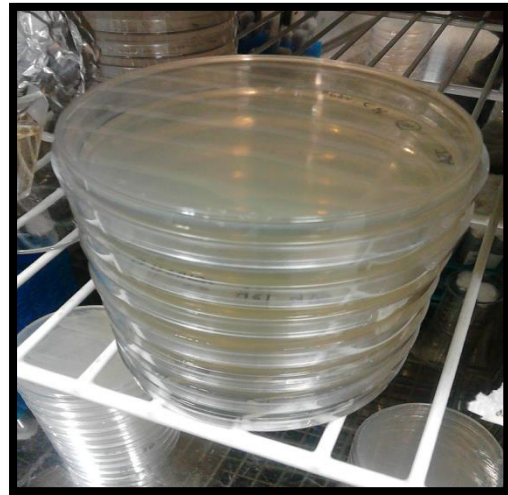


Imagen 07: Incubación por 24h



Imagen 08: Placa inoculada con muestra diluida de suelo

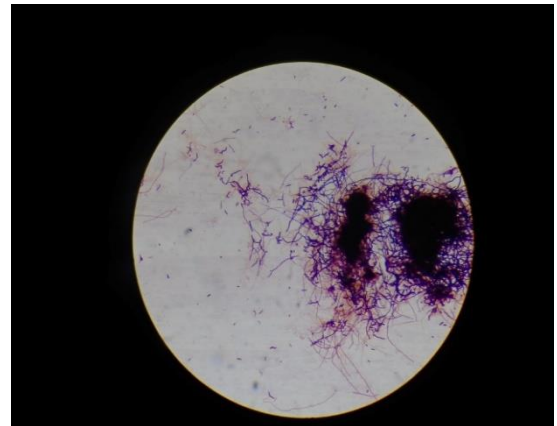


Imagen 09: Identificación microscópica

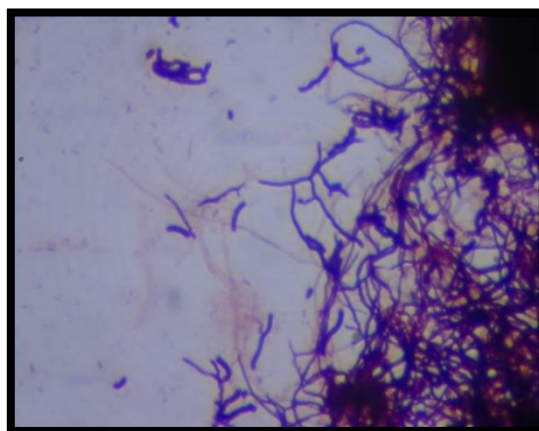


Imagen 10: Identificación macroscópica



Imagen 11: Purificación de colonias
TSA

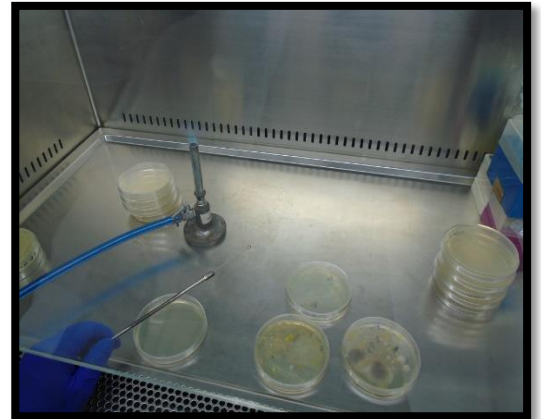


Imagen 12: Extracción de la Bacteria

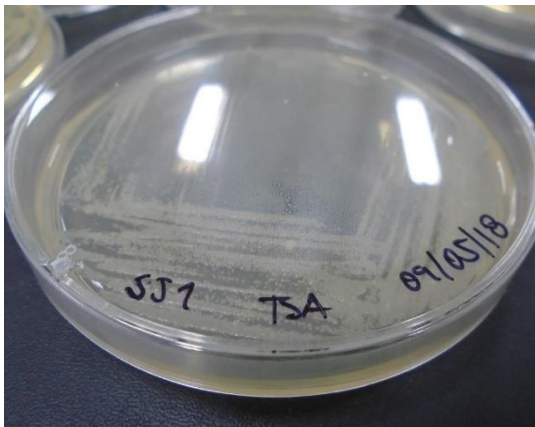


Imagen 13: Actinomicetos SJ1
Técnica Estriado



Imagen 14: Actinomicetos SJ4

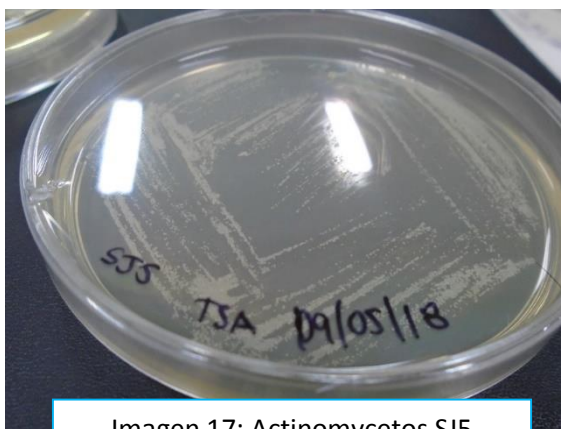


Imagen 17: Actinomicetos SJ5

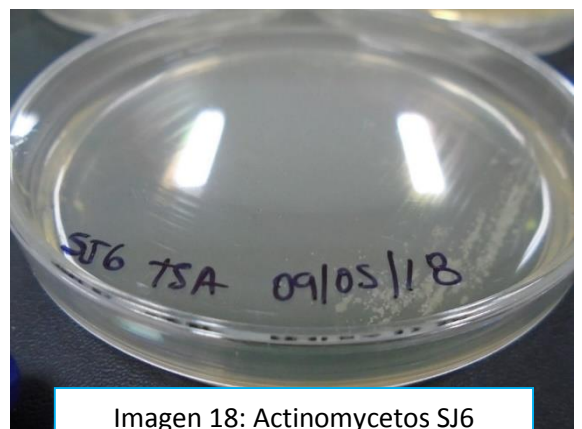
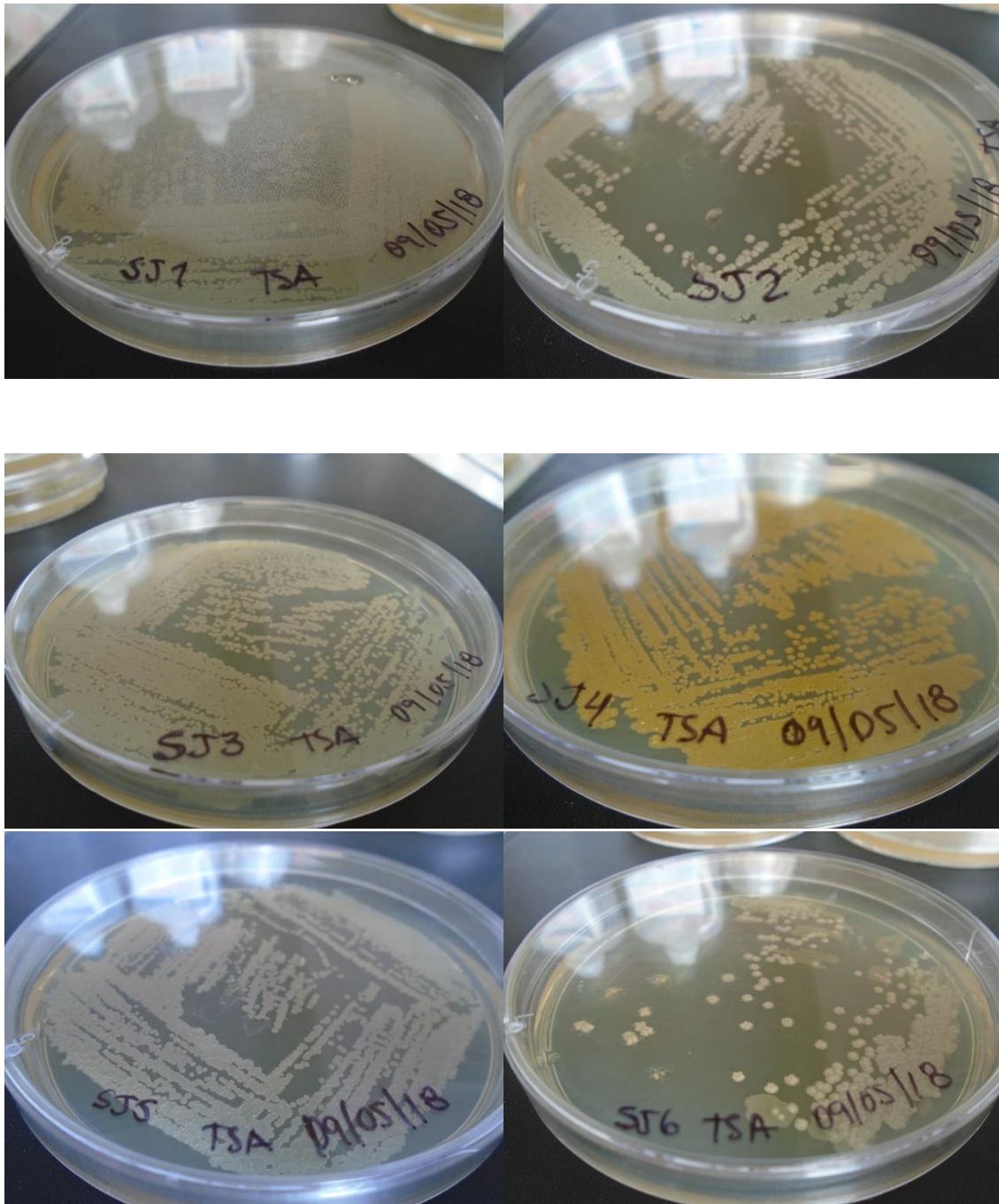


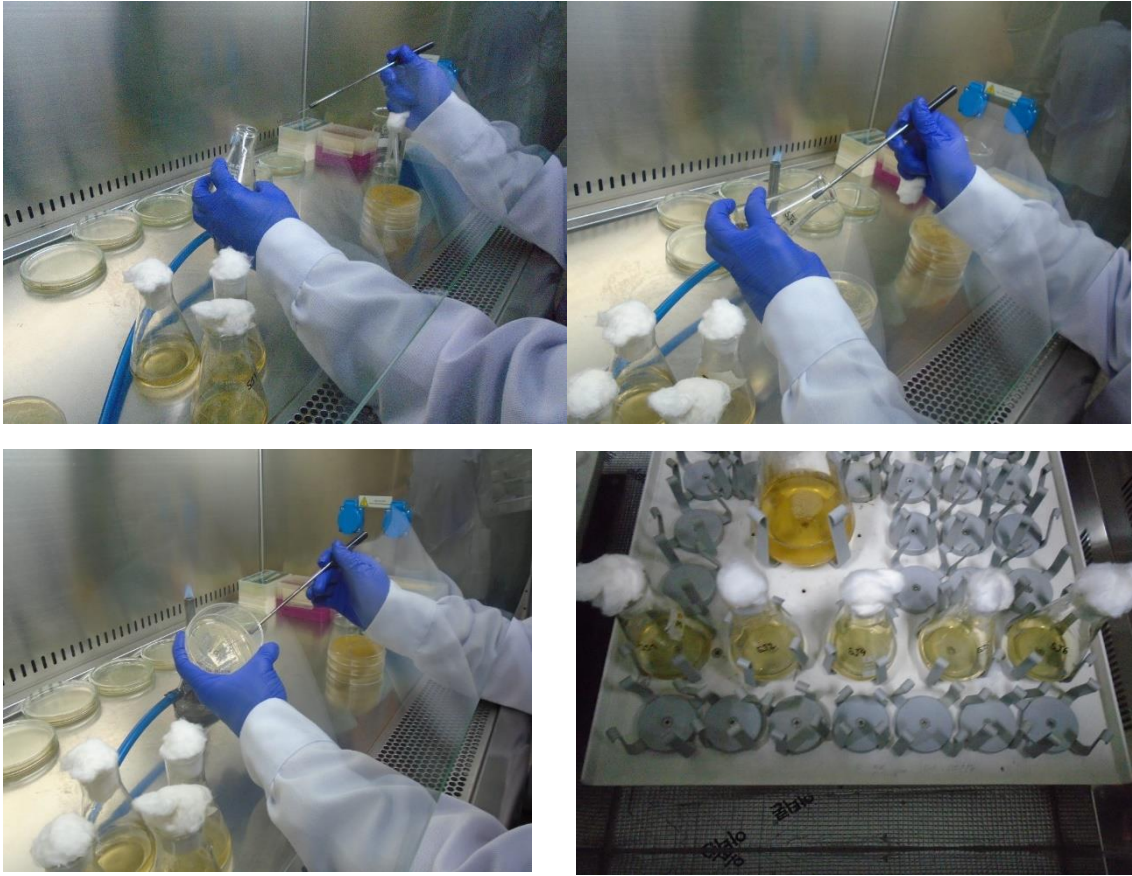
Imagen 18: Actinomicetos SJ6

Para seleccionar a la cepa que se utilizará en estudios posteriores, se sembrarán las cepas con el mejor crecimiento en caldo Triptic Soy Broth (TSB).

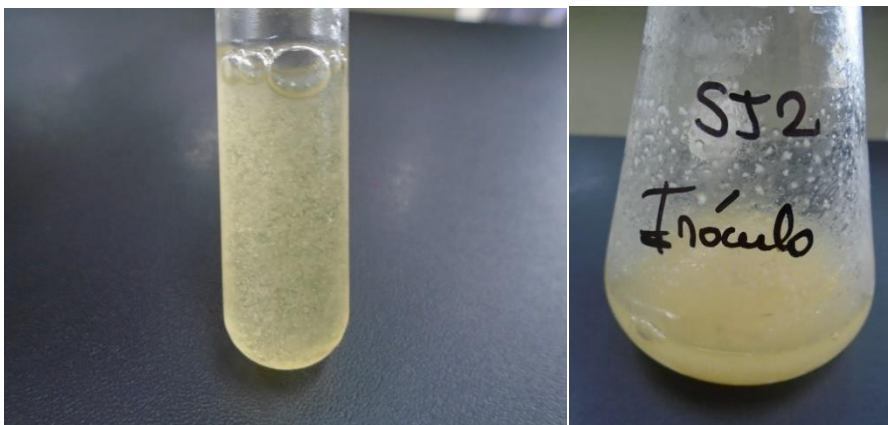
Para esto se preparó caldo TSB y se repartió 30 ml en 5 matraces de 125 ml. Luego se añadieron las cepas SJ1, SJ2, SJ4, SJ5 y SJ6. La cepa SJ3 era similar en morfología que la SJ5, por lo que se seleccionó solo la SJ5.



Una vez listos los matraces con el medio de cultivo TSB, se inocularon asépticamente en una cámara de bioseguridad, y luego se colocaron en una incubadora de agitación orbital a 30°C y 250 rpm.



Se seleccionó la cepa SJ2, de esta cepa se realizó los tratamiento. Para esto, se preparó 18 matraces de 125 ml con 25 ml de medio TSB. De estos matraces se separó uno como inóculo y se le agregó 1 ml de un cultivo en caldo de la cepa SJ2, que se mantuvo en un tubo de ensayo.



ANEXO N°7: Resultados estadísticos

Tabla 11. Factores inter-sujetos

		Etiqueta de valor	N
Tiempo de Remoción	1,00	12 horas	6
	2,00	24 horas	6
	3,00	36 horas	6
Concentración de Bacterias	1,00	3×10^7	9
	2,00	6×10^9	9

Tabla 12. Medias marginales estimadas para tiempo de remoción

Variable dependiente	Tiempo de remoción	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
Eficiencia (%) remoción de plomo	12 horas	15,963	,069	15,813	16,114
	24 horas	25,000	,069	24,850	25,150
	36 horas	33,107	,069	32,956	33,257
Eficiencia (%) remoción de arsénico	12 horas	2,640	,021	2,595	2,685
	24 horas	41,252	,021	41,207	41,297
	36 horas	48,792	,021	48,747	48,837
Eficiencia (%) remoción de cobre	12 horas	1,692	,072	1,534	1,849
	24 horas	4,215	,072	4,058	4,372
	36 horas	7,543	,072	7,386	7,701
Eficiencia (%) remoción de zinc	12 horas	25,987	,013	25,959	26,014
	24 horas	53,162	,013	53,134	53,189
	36 horas	77,412	,013	77,384	77,439

Interpretación:

En la tabla 12 se presentan las medias de la eficiencia % de remoción de metales pesados para las combinaciones de los tres niveles de la variable tiempo de remoción.

Tabla 13.Medias marginales estimadas para Concentración de Bacterias

Variable dependiente	Concentración de bacterias	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
Eficiencia (%) remoción de plomo	3x10 ⁷	21,610	,056	21,487	21,733
	6x10 ⁹	27,770	,056	27,647	27,893
Eficiencia (%) remoción de arsénico	3x10 ⁷	29,842	,017	29,805	29,879
	6x10 ⁻⁹	31,947	,017	31,910	31,984
Eficiencia (%) remoción de cobre	3x10 ⁷	4,676	,059	4,547	4,804
	6x10 ⁹	4,291	,059	4,163	4,420
Eficiencia (%) remoción de zinc	3x10 ⁷	52,086	,010	52,063	52,108
	6x10 ⁹	52,288	,010	52,265	52,310

Interpretación:

En la tabla 13 se presentan las medias de la eficiencia % de remoción de metales pesados para las combinaciones de los dos niveles de la variable Concentración de Bacterias.

Tabla 14.Prueba de Homogeneidad de varianzas de Levene

	F	df1	df2	Sig.
Eficiencia (%) remoción de plomo	1,159	5	12	,383
Eficiencia (%) remoción de arsénico	,568	5	12	,724
Eficiencia (%) remoción de cobre	1,492	5	12	,263
Eficiencia (%) remoción de zinc	,800	5	12	,571

Interpretación:

Se observa que el P valor (sig.) resultante de la prueba de Levene fue mayor que el nivel de significancia (0.05), indicando así que los resultados fueron obtenidos sobre la base de un muestreo aleatorio de una población con varianzas iguales.

Tabla 15. Análisis multivariante de ANOVA (Pruebas de efectos inter-sujetos)

Origen	Variable dependiente	Tipo III de suma de cuadrados	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	Eficiencia (%) remoción de plomo	1053,305 ^a	210,661	7368,629	,000
	Eficiencia (%) remoción de arsénico	7376,400 ^b	1475,280	573542,97	,000
	Eficiencia (%) remoción de cobre	104,141 ^c	20,828	665,913	,000
	Eficiencia (%) remoción de zinc	7942,374 ^d	1588,475	1624576,4	,000
Interceptación	Eficiencia (%) remoción de plomo	10972,730	10972,730	383810,92	,000
	Eficiencia (%) remoción de arsénico	17180,401	17180,401	6679205,4	,000
	Eficiencia (%) remoción de cobre	361,805	361,805	11567,478	,000
	Eficiencia (%) remoción de zinc	49022,067	49022,067	5013205,0	,000
TIEMPO	Eficiencia (%) remoción de plomo	882,547	441,273	15435,132	,000
	Eficiencia (%) remoción de arsénico	7355,377	3677,689	1429771,00 0	,000
	Eficiencia (%) remoción de cobre	103,374	51,687	1652,516	,000
	Eficiencia (%) remoción de zinc	7942,148	3971,074	4061325,42 6	,000
CONCENTBAC TERIANA	Eficiencia (%) remoción de plomo	170,755	170,755	5972,782	,000
	Eficiencia (%) remoción de arsénico	19,929	19,929	7747,810	,000
	Eficiencia (%) remoción de cobre	,665	,665	21,264	,001
	Eficiencia (%) remoción de zinc	,184	,184	188,205	,000
TIEMPO * CONCENTBAC TERIANA	Eficiencia (%) remoción de plomo	,003	,001	,049	,952
	Eficiencia (%) remoción de arsénico	1,093	,547	212,542	,000
	Eficiencia (%) remoción de cobre	,102	,051	1,636	,235

	Eficiencia (%) remoción de zinc	,042	,021	21,551	,000
Error	Eficiencia (%) remoción de plomo	,343	,029		
	Eficiencia (%) remoción de arsénico	,031	,003		
	Eficiencia (%) remoción de cobre	,375	,031		
	Eficiencia (%) remoción de zinc	,012	,001		
Total	Eficiencia (%) remoción de plomo	12026,377			
	Eficiencia (%) remoción de arsénico	24556,831			
	Eficiencia (%) remoción de cobre	466,322			
	Eficiencia (%) remoción de zinc	56964,453			
Total corregido	Eficiencia (%) remoción de plomo	1053,648			
	Eficiencia (%) remoción de arsénico	7376,431			
	Eficiencia (%) remoción de cobre	104,517			
	Eficiencia (%) remoción de zinc	7942,385			

Interpretación:

En la tabla 15 se observa los efectos principales que ejercen la variable tiempo, la variable concentración bacteriana y el efecto de interacción entre ambas variables sobre la variable dependiente eficiencia % de remoción de metales pesados (Pb, As, Cu, Zn); siendo dichos efectos significativos aun nivel de significancia de (0.05); lo que sugiere que cada variable manipulada logra un efecto positivo sobre la eficiencia % de remoción de metales pesados trabajándose de manera independiente y al igual que trabajándose combinadamente; no llegando a mostrarse el efecto de interacción para la remoción de plomo y cobre.

Los valores de R cuadrado sugieren que el modelo empleado explica en un 99.7% el efecto producido por las variables tiempo y concentración bacteriana sobre la eficiencia % de remoción de metales pesados.

Realizado el análisis de varianza, encontrándose diferencia significativa; se procede a realizar la prueba pos hoc de HSD Tukey; a fin de determinar entre que niveles de las variables se está produciendo dicha diferencia.

Pruebas post hoc

Tabla 16. Comparaciones múltiples para Tiempo de Remoción

HSD Tukey

Variable dependiente	(I) Tiempo de remoción	(J) Tiempo de remoción	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
Eficiencia (%) remoción de plomo	12 horas	24 horas	-9,0367*	,09762	,000	-9,2971	-8,7762
		36 horas	-17,1433*	,09762	,000	17,4038	-16,8829
	24 horas	12 horas	9,0367*	,09762	,000	8,7762	9,2971
		36 horas	-8,1067*	,09762	,000	-8,3671	-7,8462
	36 horas	12 horas	17,1433*	,09762	,000	16,8829	17,4038
		24 horas	8,1067*	,09762	,000	7,8462	8,3671
Eficiencia (%) remoción de arsénico	12 horas	24 horas	-38,6117*	,02928	,000	38,6898	-38,5335
		36 horas	-46,1517*	,02928	,000	46,2298	-46,0735
	24 horas	12 horas	38,6117*	,02928	,000	38,5335	38,6898
		36 horas	-7,5400*	,02928	,000	-7,6181	-7,4619
	36 horas	12 horas	46,1517*	,02928	,000	46,0735	46,2298
		24 horas	7,5400*	,02928	,000	7,4619	7,6181
Eficiencia (%) remoción de cobre	12 horas	24 horas	-2,5233*	,10211	,000	-2,7957	-2,2509
		36 horas	-5,8517*	,10211	,000	-6,1241	-5,5793
	24 horas	12 horas	2,5233*	,10211	,000	2,2509	2,7957
		36 horas	-3,3283*	,10211	,000	-3,6007	-3,0559
	36 horas	12 horas	5,8517*	,10211	,000	5,5793	6,1241
		24 horas	3,3283*	,10211	,000	3,0559	3,6007
Eficiencia (%) remoción de zinc	12 horas	24 horas	-27,1750*	,01805	,000	27,2232	-27,1268
		36 horas	-51,4250*	,01805	,000	51,4732	-51,3768
	24 horas	12 horas	27,1750*	,01805	,000	27,1268	27,2232
		36 horas	-24,2500*	,01805	,000	24,2982	-24,2018

36 horas	12 horas	51,4250*	,01805	,000	51,3768	51,4732
	24 horas	24,2500*	,01805	,000	24,2018	24,2982

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = .001.

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

Interpretación:

La tabla 16 de comparaciones múltiples de Tukey muestra los distintos arreglos que se generan para cotejar las diferencias existentes entre los niveles de la variable nutrientes; encontrándose diferencia significativa a un valor P (0.05).

Tabla 17. Subconjuntos homogéneos para eficiencia (%) remoción de plomo

HSD Tukey^{a,b}

Tiempo de Remoción	N	Subconjunto		
		1	2	3
12 horas	6	15,9633		
24 horas	6		25,0000	
36 horas	6			33,1067
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = .029.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6.000.

b. Alfa = .05.

Interpretación:

En la tabla 17 de subconjuntos homogéneos para eficiencia (%) de remoción de plomo se observa la formación de tres subconjuntos diferenciados para cada nivel de la variable tiempo empleada; siendo el subconjunto 3 con el tratamiento de 36 horas el que presenta la mayor eficiencia (%) de remoción de plomo con un valor de 33.1%.

Tabla 18. Subconjuntos homogéneos para eficiencia (%) remoción de arsénico

HSD Tukey^{a,b}

Tiempo de Remocion	N	Subconjunto		
		1	2	3
12 horas	6	2,6400		
24 horas	6		41,2517	
36 horas	6			48,7917
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = .003.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6.000.

b. Alfa = .05.

Interpretación:

En la tabla 18 de subconjuntos homogéneos para eficiencia (%) de remoción de arsénico se observa la formación de tres subconjuntos diferenciados para cada nivel de la variable tiempo empleada; siendo el subconjunto 3 con el tratamiento de 36 horas el que presenta la mayor eficiencia (%) de remoción de arsénico con un valor de 48.79%.

Tabla 19. Subconjuntos homogéneos para eficiencia (%) remoción de cobre

HSD Tukey^{a,b}

Tiempo de Remocion	N	Subconjunto		
		1	2	3
12 horas	6	1,6917		
24 horas	6		4,2150	
36 horas	6			7,5433
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = .031.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6.000.

b. Alfa = .05.

Interpretación:

En la tabla 19 de subconjuntos homogéneos para eficiencia (%) de remoción de cobre se observa la formación de tres subconjuntos diferenciados para cada nivel de la variable tiempo empleada; siendo el subconjunto 3 con el tratamiento de 36 horas el que presenta la mayor eficiencia (%) de remoción de cobre con un valor de 7.54%.

Tabla 20.Subconjuntos homogéneos para eficiencia (%) remoción de zinc

HSD Tukey^{a,b}

Tiempo de Remocion	N	Subconjunto		
		1	2	3
12 horas	6	25,9867		
24 horas	6		53,1617	
36 horas	6			77,4117
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = .001.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6.000.

b. Alfa = .05.

Interpretación:

En la tabla 20 de subconjuntos homogéneos para eficiencia (%) de remoción de zinc se observa la formación de tres subconjuntos diferenciados para cada nivel de la variable tiempo empleada; siendo el subconjunto 3 con el tratamiento de 36 horas el que presenta la mayor eficiencia (%) de remoción de zinc con un valor de 77.41%.

ANEXO N°8: Residuos observados* pronósticos* estándar y normalidad

Con respecto al criterio de la normalidad de los datos, si la nube de puntos se ubica muy cerca de la línea, se dice que los datos siguen una distribución normal; en la figura se observa que la tendencia es lineal; existiendo concordancia entre el valor observado y el pronosticado.

Figura 5. Residuos estándar para eficiencia (%) en la remoción de plomo (Pb).

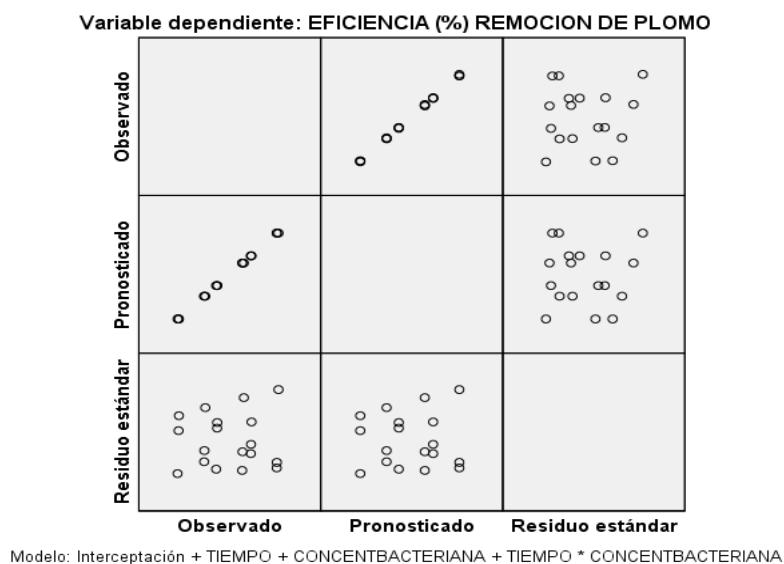


Figura 6. Residuos estándar para eficiencia (%) en la remoción de arsénico(As).

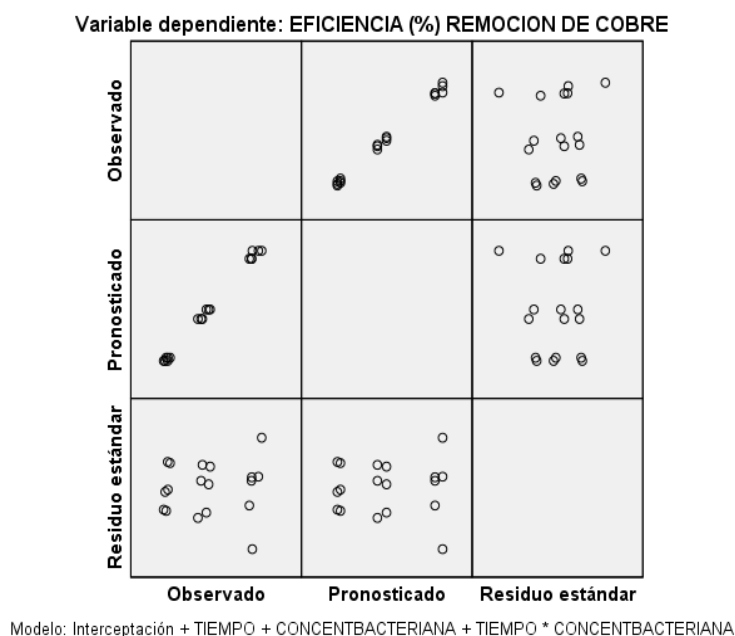
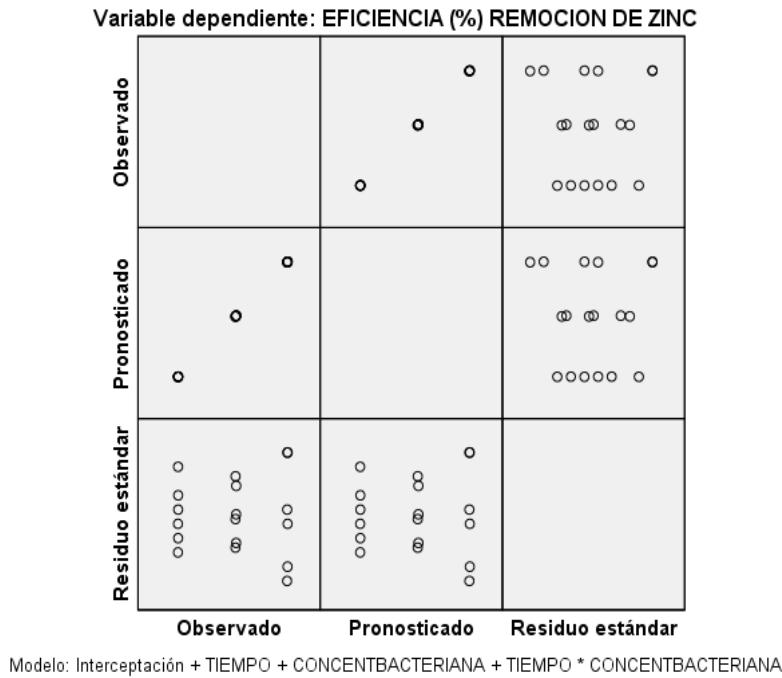


Figura 7. Residuos estándar para eficiencia (%) en la remoción de cobre (Cu).



ANEXO N°9: Gráficos de perfil

Figura 8. Eficiencia (%) remoción de plomo (concentración bacteriana vs tiempo)

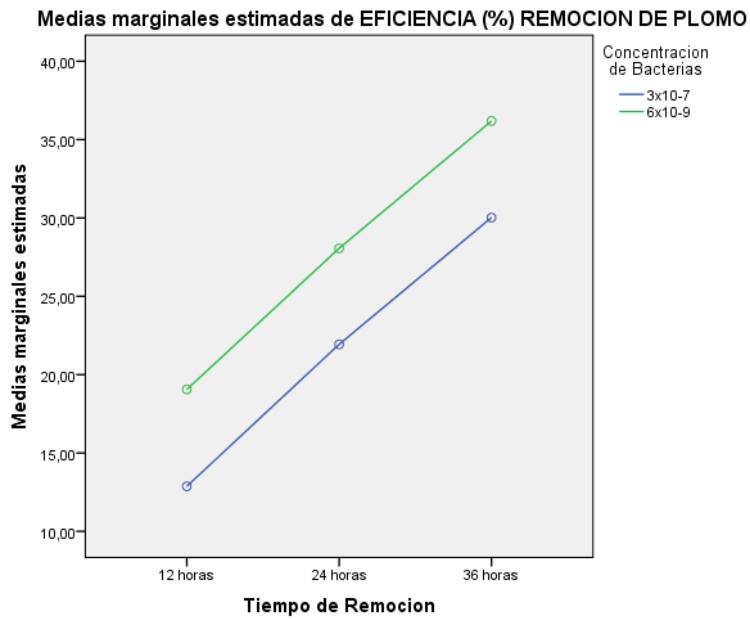


Figura 9. Eficiencia (%) remoción de arsénico (concentración bacteriana vs tiempo)

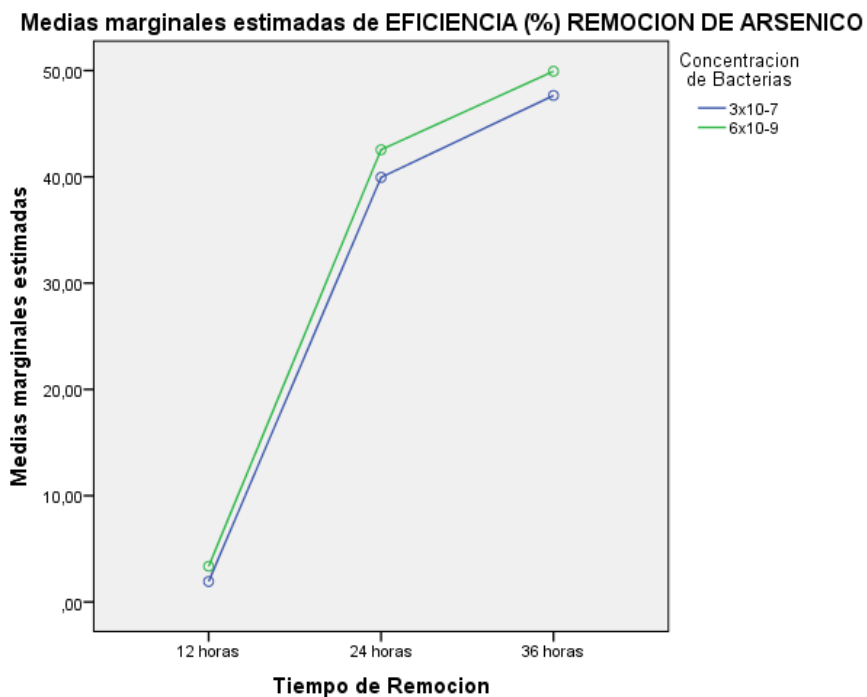


Figura 10. Eficiencia (%) remoción de cobre (concentración bacteriana vs tiempo)

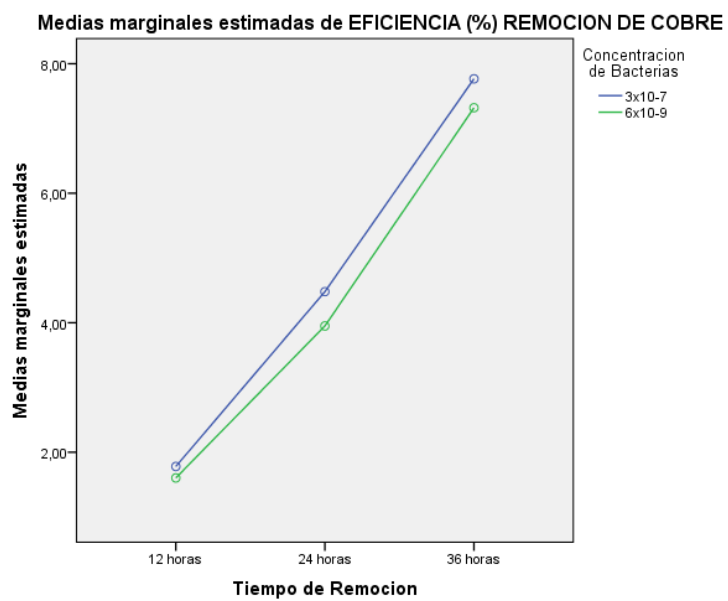


Figura 11. Eficiencia (%) remoción de zinc (concentración bacteriana vs tiempo).

