



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Efectividad de la *Sporosarcina pasteurii* como controlador de material particulado en el distrito de José Leonardo Ortiz

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:
Bachiller en Ingeniería Ambiental

AUTORES:

Eche Espinoza Fabian Alonzo (ORCID: 0000-0001-8467-3015)

Espinal Puicón Cesar Alonzo (ORCID: 0000-0001-9522-3909)

ASESORES:

Dr. Lloclla Gonzáles Herry (ORCID: 0000-0002-0821-7621)

Dr. Ponce Ayala José Elías (ORCID: 0000-0002-0190-3143)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Sistema de gestión ambiental

CHICLAYO – PERÚ

2019

Índice de contenidos

Índice de contenidos	ii
Índice de tablas	iii
Resumen	iv
Abstract.....	v
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. METODOLOGÍA.....	8
III. RESULTADOS y DISCUSIÓN	15
IV. CONCLUSIONES.....	20
V. RECOMENDACIONES.....	21
REFERENCIAS	22
ANEXOS.....	26

Índice de tablas

Tabla 1: <i>Técnicas e instrumentos de recolección de datos</i>	10
Tabla 2: <i>Coordenadas georreferenciadas de los puntos de muestreo</i>	11
Tabla 3: <i>Identificación morfológica</i>	15
Tabla 4: <i>Pruebas bioquímicas</i>	16
Tabla 5: <i>Análisis fisicoquímicos</i>	17

Resumen

La contaminación atmosférica por material particulado es un problema que día a día va aumentando debido a la actividad antropológica sumado a la mala infraestructura de los países sub desarrollados. Los efectos para la salud son muchos relacionados al sistema respiratorio logrando agravar las enfermedades congénitas o en la adquisición de nuevas como asma, bronquitis entre otras.

El presente trabajo de investigación titulado Efectividad de la *Sporosarcina pasteurii* como controlador de material particulado en las calles de José Leonardo Ortiz se realizó con la finalidad de reducir el PM 2.5 y PM 10 de las calles en pésimo estado y sin asfaltar.

Para determinar su efectividad primeramente se cultivó la bacteria, esta está presente en los suelos húmedos, después de cultivar la bacteria se procedió a la identificación bioquímica para verificar que sea la bacteria en investigación. Se observó que es una bacteria Gram positiva con actividad aerobia cuya cualidad principal es la formación de carbonato de calcio (CaCO_3).

Palabras clave: Contaminación atmosférica, enfermedades respiratorias, *Sporosarcina pasteurii*, carbonato de calcio

Abstract

Air Pollution by Particulate Matter is a problem that is increasing day by day due to anthropological activity along with poor infrastructure in underdeveloped countries. The health effects related to the respiratory system are many, aggravating congenital diseases or acquiring new ones—such as asthma and bronchitis. This research, entitled "Efectividad de la *Sporosarcina pasteurii* como controlador de material particulado en las calles de José Leonardo Ortiz", aimed to reduce PM_{2.5} and P₁₁₄₁₀ of the unpaved or in bad state streets. To determine its effectiveness, the bacterium—present in humid soils—was first cultivated. After this, a biochemical identification was carried out to verify that it was the bacterium object of this investigation. It was found to be a Gram-positive bacterium with aerobic activity whose main quality is the formation of calcium carbonate (CaCO₃).

Keywords: air pollution, respiratory diseases, *Sporosarcine paseurii*, calcium carbonate

I. INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la sociedad no tiene límites, cada día se descubren y crean más cosas las que sirven como eslabones de una cadena sin fin; sin embargo, no podemos hablar de un desarrollo sin dejar de lado los impactos positivos como negativos que este acarrea. El gran estropicio a nuestro ecosistema que la actividad humana ha venido dejando con el paso del tiempo, tuvo un crecimiento exponencial desde la revolución industrial, lo que ha provocado una toma de conciencia ambiental por gran parte de la comunidad científica, creación de grupos ecologistas entre otros cuyo fin último es reducir el impacto negativo que causamos a nuestro hogar, el planeta Tierra.

Dentro de esta problemática ambiental uno de los recursos naturales, el suelo, se encuentra cada vez más amenazada ya que esta es contaminada y deteriorada con daños que pueden ser irreversibles; es por eso que debemos de contrarrestar y combatir este problema.

La erosión del suelo es una cuestión que afecta a todos los sectores como el minero, construcción, agrícola, etc. Identificamos este dilema en el distrito de José Leonardo Ortiz, distrito que está muy deteriorado ambientalmente disminuyendo de forma considerable la calidad de vida en esta zona. El flujo vehicular es muy grande en este distrito, muchas líneas y paraderos de transporte público están situadas en esta zona dado que es un punto estratégico por la presencia de diversos comercios mayoristas; sin embargo sabemos que las pistas no presentan asfalto en gran parte de la localidad lo que conlleva a una inestabilidad significativa del suelo que, con las fuertes corrientes de viento el material particulado se suspende en la atmosfera causando daños a la salud de los comerciantes y habitantes así como la reducción del tiempo de vida de los no solo de transporte público, si no particular y transporte pesado.

De tal forma hemos indagado sobre trabajos previos relacionados a esta problemática y posibles soluciones que sirvieron como antecedentes a este trabajo de investigación.

(Krieg, 2014) en su investigación logró aislar la bacteria *Sporosarcina pasteurii* precipitadora de calcita y junto otros elementos se hicieron ladrillos ecológicos los cuales eran elaborados con bacterias.

Investigaciones de (YOON et al, 2001) Nos da una data que nos describe la taxonomía, morfología, fisiología, muestreo y los contaminantes ambientales y las condiciones de cultivo, así como su biología molecular. Esto es un gran aporte ya que nos detalla las condiciones óptimas de desarrollo y cultivo de la bacteria.

En la tesis de (Gonzales, 2013) empleo la bacteria *Sporosarcina Pasteurii* en su investigación lo cual fue de gran importancia y aporte ya que Chile presenta una gran actividad minera y por ende hay un gran uso de maquinarias y tráfico de vehículos lo que trae consigo el levantamiento de la tierra (PM2.5 y PM10).

(MALDONADO, 2012) Explica la funcionalidad y tipos de análisis bioquímicos en los que el factor tiempo varía dependiendo de la actividad metabólica de la bacteria u hongo en estudio.

(MARTINEZ, 2011) en esta revista científica explican de una forma concisa y clara los mecanismos y aplicaciones de la precipitación de calcio inducida microbiológicamente PCIM. También nos explican cuáles son los mecanismos empleados y su aplicación de estas bacterias precipitadoras de calcita.

Según (Morales, 2011), nos da a conocer la capacidad de reparación del hormigón frente a grietas y la formación de CaCO_3 como solución.

Trasladándonos al Perú, se realizó una tesis basada en la precipitación de calcita cuyo autor (Alarcón, 2019) demostró las capacidades regenerativas de una fisura con determinadas bacterias precipitadoras de calcitas en la cual identificó varias bacterias con estas propiedades y comparó su eficiencia unas de otras.

En este artículo mencionan los pasos a seguir para un correcto muestreo, aislamiento y cultivo de bacterias presentes en el suelo que tiene una amplia gama de usos en los casos de contaminación de las aguas residuales.

(Bonilla [et al.] ,2016), Se revisó la metodología a seguir para hacer una correcta inoculación de los medios puros así el cómo realizar la curva de crecimiento de los consorcios microbianos empleando la espectrometría lo cual nos ayudará a determinar el medio óptimo de crecimiento de las bacterias en unidad de tiempo.

La (FAO.2009). Nos da las características del suelo para determinar su textura y los horizontes del suelo.

En la investigación realizada de PILCO, 2016. Concluyó en su investigación la empresa cementera debido a sus actividades industriales daña gravemente la diversidad de la zona ya que los cerros se deterioran, las partículas de calcita permanecen en el suelo causando que este se vuelva alcalino; sin embargo, los pobladores se adaptan a este cambio sin saber la gran afectación a su salud por el solo hecho de vivir en las zonas aledañas y desarrollar sus actividades cotidianas sin preocupación alguna.

(SOSA, 2019), en su manual de muestreo de suelo nos da las pautas para realizar un correcto muestreo de suelo y su importancia para las actividades que se vayan a realizar con este.

La preocupación del gran impacto que tiene la actividad cementera y ladrillera pertenece a una coyuntura mundial y nuestro país no es ajeno a ella. Diversas tesis que proponen una alternativa sostenible como la de (LINARES, 2014), el cual realizo ladrillos ecológicos incorporando en su fabricación cascara y cenizas de arroz y los resultados obtenidos en las pruebas de ley se concluyó que son de calidad para trabajos de exigencias mínimas.

En el trabajo práctico realizado por (López y Torres, 2006) explicaron de forma experimental y didáctica las funcionalidades de las pruebas bioquímicas, como realizar su correcta lectura y la preparación de los medios.

El uso de bacterias en el sector construcción dio pie a nuevas investigaciones como lo fue el de (FLORES, 2006), explica como la biotecnología se está empleando en el

sector construcción en este caso en estabilizar los suelos para que estos sean capaces de sostener las edificaciones.

(ANDREAS et al. 2006), Es una patente en la que los investigadores desarrollaron un mecanismo para poder inmovilizar las bacterias presentes en alguna superficie y que estas a su vez puedan acelerar su actividad de biomineralización.

Según (VALDERA, 2018). Concluyó que la actividad de esta ladrillera impacta significativamente de forma negativa en el ambiente logrando incluso a emitir 6.3 puntos de radiación ultravioleta sin embargo la concentración de gases contaminantes en la zona fue muy baja puesto que la velocidad del viento dispersa todos estos contaminantes a las zonas siguientes.

En la tesis de (BENAVIDES et al. 2012). Realizó las pruebas bioquímicas de *Bacillus pasteurii* logrando sintetizar información relevante para realizar comparaciones con otros resultados e indicando el comportamiento de esta bacteria.

Basándonos en las investigaciones anteriores elaboramos un marco teórico que nos dará ciertas definiciones de procedimientos o evaluaciones que realizaremos.

Textura de suelo

La textura de suelo indica el contenido de partículas en diferentes medidas o tamaños los cuales determinan el tipo de suelo que tendremos ya sea arcilla, arena o limo. Según la (FAO, 2009) muchos sistemas nacionales que describen que el tamaño de las partículas y las clases texturales del suelo adoptan los mismos nombres (p.26).

Muestreo de suelo

El muestreo de suelos sirve para determinar las condiciones físicas, químicas, biológicas y microbiológicas de un determinado terreno. Usualmente se emplea en el ámbito agrícola donde el saber estas condiciones del suelo son esenciales para el desarrollo de determinados cultivos y su crecimiento óptimo. Para este trabajo se realizó el muestreo de suelo para poder obtener la bacteria ya que esta se encuentra en el aspecto microbiológico en el suelo.

Según el manual de técnicas de toma y remisión de muestras de suelo indica que este proceso es fundamental para la transferencia de información de suelo.

Pruebas bioquímicas

Las pruebas bioquímicas son análisis los cuales son usados para determinar características metabólicas de microorganismos, estas pruebas nos permiten identificar de forma clara y precisa los microorganismos ya sean bacterias u hongos. En el manual de identificación bioquímica MALDONADO, Francelys las formas de identificación son al instante o toman poco tiempo cuya lectura fluctúa entre unos segundos o pocas horas mientras que otras pueden llegar a tomar hasta 48 horas.

Una de las pruebas bioquímicas que se emplearán serán la de UREA (Agar urea de Christensen) que permite ver si es que la bacteria encontrada presenta actividad ureásica, de ser así se determina que es ureasa positiva (López y Torres, 2006)

Pruebas morfológicas

Es la identificación de las características físicas de la bacteria pudiendo identificar su forma ya sean bacilos, cocos o espirilos. Para FLORES, (2006), menciona que hay que tener en cuenta 2 factores o criterios al momento de la identificación morfológica de las bacterias. La primera es ver si son células individuales o si están agrupadas, están se ven en el microscopio y el segundo criterio es ver el crecimiento de las colonias en el medio de cultivo de forma física, es decir con el ojo humano.

El material particulado PM 2.5 y PM 10 son causantes de la morbilidad respiratoria en las personas por el solo hecho de inhalarlas. Martínez (2011) nos explica basado en su investigación que en las zonas urbanas de la ciudad de Medellín presentan una mayor incidencia en las enfermedades al sistema respiratorio; la tos, dificultad al respirar y la congestión nasal son algunos de los síntomas relacionados a las partículas PM 10.

Actualmente se vienen realizando investigaciones para darle solución a problemas como es el caso del material particulado, es por eso que la biotecnología no se puede dejar de lado.

Para aplicar la bacteria *Sporosarcina pasteurii* primero se tiene que encontrar la bacteria, esta se encuentra en mayor proporción en los suelos húmedos o pantanosos; sin embargo, están presentes en el subsuelo de varios ecosistemas (Fujita y Takahara 2000). Para la obtención de la bacteria tendremos que tomar muestras de suelo aleatoriamente y luego proceder a cultivarlos en medios nutritivos y posteriormente realizar pruebas bioquímicas con Agar sangre para identificar la bacteria *Sporosarcina pasteurii*.

Trasladándonos a la realidad lambayecana encontramos que no somos ajenos a la contaminación atmosférica por PM 2.4 y PM10; frete a este problema nos planteamos la siguiente pregunta:

¿Cuál es la efectividad de la *Sporosarcina pasteurii* como controlador de material particulado en las calles José Leonardo Ortiz?

Para justificar nuestra investigación desarrollaremos un cristizador de material particulado presente en las pistas sin asfaltar a fin de que la población tenga una mejor calidad de vida, ya que actualidad las calles de José Leonardo Ortiz se encuentran en pésimo estado. Estas vías transitadas por vehículos y transeúntes forman parte de una problemática aun mayor relacionado a la contaminación atmosférica y es que las partículas del suelo son muy livianas y pequeñas por lo que las hacen más susceptibles a su transportación mediante los fuertes vientos que José Leonardo Ortiz presenta. Es por eso, basados en esta problemática, hemos creído conveniente darle una solución sostenible y ecológica empleando microorganismos eficientes, la *Sporosarcina pasteurii*.

Para poder guiar nuestra investigación nos planteamos los siguientes objetivos:

Objetivo general:

Evaluar la efectividad de la bacteria *Sporosarcina pasteurii* en la producción de calcita (CaCO_3) para la reducción de material particulado presente en las calles del distrito José Leonardo Ortiz.

Objetivos específicos:

Identificar la bacteria *Sporosarcina pasteurii* dentro de un medio de cultivo para su posterior análisis.

Realizar pruebas bioquímicas de la bacteria *Sporosarcina pasteurii*.

Realizar pruebas fisicoquímicas de las muestras de suelo y de las calles de José Leonardo Ortiz.

Elaborar la solución bacteriana para cristalizar el polvo en el distrito de José Leonardo Ortiz.

Hipótesis

H0: La bacteria *Sporosarcina pasteurii* controlará el material en suspensión en las calles de José Leonardo Ortiz

H1: La bacteria *Sporosarcina pasteurii* no es efectiva para controlar el material en suspensión en las calles de José Leonardo Ortiz

Variables

Variable independiente:

Eficiencia de la bacteria *Sporosarcina pasteurii*

Variable dependiente:

Concentración de material particulado

II. METODOLOGÍA

2.1 Tipo y diseño de investigación

2.1.1. Tipo de investigación: Es una investigación aplicada puesto que tomando como referencia trabajos de investigaciones previas se pretende darle solución a un problema con un enfoque en la búsqueda y consolidación de conocimientos y así contribuir al desarrollo científico y cultural.

2.1.2. Diseño de investigación: Cuasi experimental

Esta investigación es cuasi experimental ya que no se puede tener un control total de todas las variables con las que trabajarán. De las muestras seleccionadas a una de ellas se le designará como muestra control en la que no se le realizará ningún tratamiento y será comparada con la muestra en la que se le aplicará la solución con la bacteria *Sporosarcina pasteurii*.

El diseño cuasi experimental está formulado de la siguiente forma:

GE: 01 – X – 02

GC: 03 – 04

Dónde:

GE: Grupo experimental

GC: Grupo control

01 y 03: Pre test aplicado al grupo experimental y control

02 y 04: Post test aplicado al grupo experimental y control

X: Tratamiento (Solución bacteriana de *Sporosarcina pasteurii*)

2.2 Población, muestra y muestreo

2.2.1 Población

La población estudiada son las bacterias Gram positivas de la forma bacilos.

2.2.2 Muestra

La muestra con la que se trabajará será la bacteria *Sporosarcina pasteurii* que en taxonomías antiguas se encuentra con el nombre de *Bacillus pasteurii*.

2.2.3 Muestreo

En el muestreo de suelos aplicaremos el que se usa en todos los trabajos con suelos que consta de tomar sub muestras de 10 a 15 cm del suelo en varios puntos de forma aleatoria y luego hacer un consolidado de todas ellas.

2.3 Técnicas e instrumentos de validación de datos, validez y confiabilidad

2.3.1. Técnica

Las técnicas que se utilizara es la observación estructurada ya que se realizara métodos de caracterización morfológica como la concentración de la colonia, forma, tamaño, color, de la bacteria *Sporosarcina pasteurii*; otra de las técnicas es las pruebas bioquímica donde se reconocerá su taxonomía de dicha bacteria.

2.3.2. Instrumentos de recolección de datos

Documentos científicos

Tesis relacionadas a la *Sporosarcina pasteurii* y precipitación de calcita.

Instrumentos que permitan registrar datos y resultados que se obtendrán en el laboratorio como lo son:

- Microscopio
- Autoclave
- Estufa
- Peachímetro
- Conductímetro
- Balanza analítica

Tabla 1: *Técnicas e instrumentos de recolección de datos*

Etapa	Lugar	Técnicas	Instrumento
Recolección de muestras	Áreas verdes de la Universidad Cesar Vallejo-Pimentel	Observación, toma de muestra y georreferenciación	Técnicas de muestro. GPS Libreta de apuntes
Análisis fisicoquímicos	Laboratorio	Manipulación de instrumentos y observación	Peachímetro Conductímetro
Enriquecimiento de bacteria	Laboratorio	Dilución seriada y observación	Tubos de ensayo
Sembrado y aislamiento	Laboratorio	Sembrado , observación morfológica y tinción Gram	Agar nutritivo y agar TSA Microscopio
Conteo de colonias	Laboratorio	Contar colonias	Contador de colonias
Identificación bioquímica	Laboratorio	Sembrado y observación	Prueba Catalasa y ureasa

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: En este cuadro se detalla en donde tomamos las muestras, realizamos los análisis, las técnicas e instrumentos para validar nuestros datos desde el inicio de la parte experimental.

2.3.3. Validez y confiabilidad

La validez y confiabilidad de este trabajo de investigación está basada en el marco teórico elaborado de trabajos previos con esta bacteria en los que nos indica cuales son los resultados de los análisis realizados para una posterior comparación con nuestros datos obtenidos. Los resultados que hemos obtenido fueron realizados con métodos aplicados en la microbiología como es la tinción Gram, identificación bioquímica.

2.4 Procedimiento

Primera etapa: recolección de muestra

Las recolecciones de muestra se realizaron en el campus de la universidad cesar vallejo ubicada la carretera Pimentel km. 3.5, Chiclayo. Se realizó la recolección de muestra en la universidad ya que la bacteria *sporosarcina pasteurii* se encuentra en lugares húmedos y es por ello que se consideró las áreas verdes de dicha universidad de las cuales se recolectaron 3 muestras

La recolección de muestras (suelo) aplicaremos el que se usa en todos los trabajos con suelos que consta de tomar sub muestras de 10 a 15 cm del suelo en varios puntos de forma aleatoria y luego hacer un consolidado de todas ellas.

Tabla 2: *Coordenadas georreferenciadas de los puntos de muestreo*

Muestras	Norte	Este
Muestra 1	9249641	623690
Muestra 2	9249726	623794
Muestra 3	9249665	623771
Muestra 4 (JLO)	64520.1 (SUR)	795021

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: En la tabla 2 se evidencian cuáles son las coordenadas tomadas con GPS, en total se tomaron 3 muestras las cuales fueron geo referenciadas. En la muestra 4 podemos observar que se hizo una aclaración en relación a que la coordenada de este punto fue tomada con puntos de Sur y Este.

Segunda etapa: Análisis fisicoquímico

Se realizaron los 2 análisis fisicoquímicos del suelo, el primer análisis se le realizó a la muestra de universidad cesar vallejo, el segundo análisis se realizó a la muestra de suelo de las calles de José Leonardo Ortiz.

Entre los análisis que se midieron son el pH, conductividad eléctrica, textura y color en el laboratorio los cuales sirven para saber en qué estado se encuentran dichas muestras.

La primera muestra es para saber si el suelo se encuentra en el rango de pH 9-10 ya que en ese estado se encuentra la dicha bacteria a identificar.

La segunda muestra es para saber el estado en que se encuentran las calles de José Leonardo Ortiz para así comparar la muestra base con la muestra inoculada con la bacteria.

Tercera etapa: Sembrado, aislamiento e identificación de la bacteria

Para el sembrado se preparó agar nutritivo y agar TSA con concentración de urea; paso seguido se sembró en cajas Petri, se procedió a realizar la tinción Gram de las cepas para su respectiva caracterización morfológica, y para después aislar en viales con el mismo agar de procedencia.

Cuarta etapa: Pruebas bioquímicas

Para realizar las pruebas bioquímicas se tomaron en cuenta procedimientos como la Catalasa y Ureasa.

La prueba de la Catalasa sirve para comprobar la presencia de la enzima catalasa en preparaciones de microorganismos, esta enzima descompone el peróxido de

hidrogeno (H₂O₂); se realizó esta prueba ya que en dicha prueba el peróxido de hidrogeno se forma como uno de los productos finales del metabolismo aeróbico.

Preparación: se agregó 1 gota de peróxido de hidrogeno en una lámina y con un asa bacteriología se transfirió parte de una colonia a la gota de peróxido de hidrogeno las cuales sus resultados de esta prueba es que si existe una producción instantánea de burbujas constituye una reacción + y si no es una reacción –.

La prueba de la Ureasa en esta prueba la enzima cataliza el hidrolisis de urea de dióxido de carbono y amoniacó.

Preparación: se utiliza el caldo de agar de Stuart, se agrega en un tubo de ensayo y se procede a sembrar con una asa bacteriológica parte de colonia a identificar, se incuba a 35°C durante 18 horas.

Los organismos que se hidrolizan la urea rápidamente pueden producir reacciones positivas en 1 o 2 horas. Lo cual paso con la bacteria estudiada en este proyecto de investigación. El color rojo es + la cual hidrolisis de urea y si el color es amarillo es -.

Método de análisis

La medición: se organizó y ordeno los datos que se obtuvieron al medir los parámetros de las muestras para el aislamiento de la bacteria y de la muestra de las calles de José Leonardo Ortiz

La Observación: se observó de manera directa las muestras y las bacterias haciendo uso del microscopio mediante la tinción Gram

La experimentación: a través de la inoculación de la bacteria *Sporosarcina pasteurii* se podrá corroborar la efectividad para controlar el material particulado en las calles de José Leonardo Ortiz

Comparación: se comparan las muestras de suelo de las calles de José Leonardo Ortiz con las muestras ya inoculadas; también se procederá a comparar las pruebas bioquímicas obtenidas por los autores presentes de esta investigación las pruebas obtenidas de otra investigación de BENAVIDES, Germán y HERMIDA, Ana. p69.

2.5 Aspectos éticos

Para el desarrollo de esta investigación se tomó en cuenta los principios éticos más pertinentes para nuestro estudio; haciéndose lustre la autonomía; la privacidad y los derechos de autor.

La información fue utilizada únicamente para el estudio, siendo real y respetando los derechos de autor, citando según la norma vigente, evitando que se puedan mancillar la información de trabajos tomados.

III. RESULTADOS y DISCUSIÓN

Objetivo 1: Cultivar, aislar e identificar la bacteria *Sporosarcina pasteurii*

Los resultados que se obtuvieron para dar respuesta al primer objetivo que es cultivar, aislar e identificar la bacteria *Sporosarcina pasteurii* son los siguientes:

Para la identificación morfológica se adquirieron placas Petri con dos tipos de agar: el agar nutritivo con la concentración de urea y tiza, y el agar PSA con concentración de urea:

Tabla 3: Identificación morfológica

Cepas (Agar)	Concentración	Características microscopias	Características macroscópicas
Agar Nutritivo	Urea	-bacilos Gram positivo	Colonias redondas Consistencia cremosa Color crema
	Tiza	- bacilos Gram positivo	Colonias redondas pequeñas Consistencia cremosa Color blanco
Agar TSA	Urea	-bacilos Gram positivo y Gram negativo	Colonias ovaladas, pequeñas Consistencia cremosa color crema

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: Se realizaron observaciones a través del microscopio para determinar la morfología de la bacteria así como se realizó la observación macroscópica para visualizar las características visibles de las colonias formadas.

Tras la identificación morfológica siguiendo los pasos de la ficha técnica de la bacteria *Sporosarcina pasteurii* (ver anexo "Ficha técnica de *Sporosarcina pasteurii*) y al comparar con la investigación de (Benavides y Hermida) 2008 se interpreta que en la cepa con el Agar nutritivo + urea está presente la bacteria *Sporosarcina pasteurii* así como en el Agar TSA + urea.

Objetivo 2: Realizar pruebas bioquímicas de la bacteria *Sporosarcina pasteurii*

Los resultados que se obtuvieron para dar respuesta a segundo objetivo que es realizar pruebas bioquímicas de la bacteria *Sporosarcina pasteurii* son los siguientes:

Para ello se tomó en cuenta la investigación de (Benavides y Hermida) 2008 para así comparar los resultados de las pruebas bioquímicas. También se tomó como muestras a las placas con agar nutritivo + urea y la placa de agar TSA + urea ya que estas dos muestras hacen referencia a la *Sporosarcina pasteurii* por sus características morfológicas.

Tabla 4: Pruebas bioquímicas

Muestra	CATALASA	UREASA
Agar nutritivo + urea	+	+
Agar TSA	+	+

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: Los resultados obtenidos por la prueba de catalasa para el Agar nutritivo + urea fue positivo y para la prueba de ureasa también dio el mismo resultado es decir se logró identificar la bacteria a través de estas dos pruebas.

Al realizarse las pruebas bioquímicas a las dos muestras (Agar nutritivo + urea) y (Agar TSA + urea) se comprobó la identificación de la bacteria *Sporosarcina pasteurii* teniendo como referencia la investigación de (Benavides y Hermida) 2008 (ver anexo “Identificación bioquímica de *Bacillus pasteurii*”)

Objetivo 3: Realizar análisis fisicoquímico de las muestras de suelo y de las calles de José Leonardo Ortiz

Los resultados que se obtuvieron para dar respuesta al tercer objetivo que es realizar pruebas fisicoquímicas de las muestras de suelo y de las calles de José Leonardo Ortiz son los siguientes:

Se realizaron análisis fisicoquímicos a las muestras como: pH, conductividad eléctrica, textura y % de humedad, ya que al identificar estos parámetros fisicoquímicos podemos corroborar lo que se ha investigado con las muestras de esta investigación.

Tabla 5: Análisis fisicoquímicos

MUESTRA	pH	CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA	TEXTURA	HUMEDAD %
Muestra 1 (UCV)	8.5	851.6 us/cm	Franco arenoso	85.7%
Muestra 2 (JLO)	8.6	686.7 us/cm	Arenoso	10.34%

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: Se pudo evidenciar que las muestras presentan una relación inversamente proporcional entre la conductividad eléctrica y el pH de cada muestra. Por otro lado existe una relación directamente proporcional entre la conductividad eléctrica y el porcentaje de humedad; es decir a mayor cantidad de agua hay una mayor concentración de sales.

Al realizar estas pruebas fisicoquímicas de las muestras se corrobora que se ha elegido correctamente la muestra 1 ya que con lo investigado se tenía como referencia que la bacteria *Sporosarcina pasteurii* estaba presente en suelos húmedos y con un rango de pH de 9-10; y la muestra 2 para corroborar en qué estado se encuentran las calles de José Leonardo Ortiz las cuales dan como resultado un suelo con menos cantidad de agua y por ende una mayor cantidad de arena.

Objetivo 4: Elaborar la solución bacteriana para cristalizar el polvo en el distrito de José Leonardo Ortiz.

Para elaborar la solución bacteriana se seguirán los siguientes pasos: “Cultivar las bacterias seleccionadas en matraces conteniendo 50 ml del medio B4: 5 g/L acetato de calcio, 1g/L de extracto de levadura, 1g/L de glucosa, pH 8.0” (García, Pilar [et al], 2018, p.3.)

DISCUSIÓN

Los resultados de (BENAVIDE y HERMIDA) obtenidos tras la siembra con el Agar nutritivo fueron similares a los de esta investigación en la que se empleó el Agar nutritivo más urea y TSA más urea. Esta similitud en el crecimiento de la bacteria *Sporosarcina pasteurii* pudo haber sido generada por las características que esta presenta tales como la actividad ureásica por medio de la cual, ésta emplea la urea como su fuente de energía, es decir, cataliza la degradación de la urea y produce nitrógeno.

González (2013) en su trabajo de investigación denominado, *Sporosarcina pasteurii*, una alternativa sustentable para estabilizar suelos arenosos no cohesivos de Chile, utiliza y menciona a la solución Tris (pH9) y el Agar Nutritivo como medio para cultivar la bacteria *Sporosarcina pasteurii* mencionando que este es el único medio para cultivar la bacteria. Al realizar los análisis de cultivo y aislamiento en nuestro proyecto de investigación utilizamos Agar Nutritivo y Agar TSA ambos con un porcentaje de urea y obtuvimos un buen resultado identificando así la bacteria *Sporosarcina pasteurii* por lo tanto a lo dicho por Gonzales (2013) resaltamos que la bacteria no solo puede cultivarse en Agar Nutritivo si no que puede sembrarse en medios de cultivos idénticos a este como lo es el Agar TSA incluyendo un porcentaje de urea.

GARCÍA, Pilar (2018) en su trabajo de investigación titulado consolidación de material de construcción por proceso de biomineralización elaboró un medio de cultivo para diversas bacterias presentes en el suelo que tengan actividad ureasa. Tomando como referencia estas pautas no se pudo determinar bien una sola bacteria puesto que el medio nutritivo empleado era para el crecimiento de bacterias presentes en el suelo en general por lo que se experimentó con otros métodos para la obtención únicamente de la *Sporosarcina pasteurii*.

En la ficha técnica de la *Sporosarcina pasteurii* elaborada por YOON et al. *Sporosarcina pasteurii* (Miquel 1889) nos indica que para identificar a esta bacteria se emplea el agar sangre más urea. Sin embargo pudimos lograr determinar que no era la única forma de identificarla bioquímicamente es decir existen más métodos bioquímicos para la identificación de esta.

IV. CONCLUSIONES

1. Mediante el medio de cultivo Agar nutritivo más urea y TSA más urea se aisló e identificó morfológicamente a la bacteria *Sporosarcina pasteurii*.
2. Se realizaron dos pruebas bioquímicas (Catalasa y ureasa) para su identificación basado en su metabolismo.
3. Los resultados obtenidos de las pruebas fisicoquímicas de las muestras de suelo de la UCV y de la calle de José Leonardo Ortiz mostraron una gran diferencia entre ellas la conductividad eléctrica y el porcentaje de humedad.
4. Se realizó la solución bacteriana
5. No se pudo determinar matemáticamente la efectividad de esta solución en la muestra de suelo de José Leonardo Ortiz sin embargo se evidencia a simple vista ciertos cambios como es la compactación de esta muestra.

V. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar estos trabajos de investigación en laboratorios que estén a disposición de los autores para que así las pruebas no se confundan, ni se contaminen con otras pruebas o análisis ya que son fáciles de contaminarse y alterar sus resultados.
2. Para realizar los diferentes análisis en este proyecto de investigación se recomienda tener disponibilidad de tiempo, ya que en los diferentes análisis realizados siempre existen contratiempos como, la contaminación de cepas bacteriológicas haciendo de estas innecesarias, es por ello que el tiempo es un factor muy importante para la realización de esta investigación.
3. Para no tener alteraciones en los resultados se recomienda guardar los datos obtenidos de manera ordenada y rápida para así no confundirlas.
4. En las investigaciones acerca de bacterias se recomienda adquirir la ficha técnica de estas para así saber todo acerca del microorganismo a estudiar y no tener confusiones con otros microorganismos.
5. Las pruebas bioquímicas realizadas deben ser comparadas con investigaciones certeras para así obtener resultados verdaderos ya que puede haber confusiones con otras bacterias.
6. Se recomienda realizar un posterior análisis molecular de la bacteria *Sporosarcina pasteurii* para la confirmación de la bacteria y así mismo compararlas con el banco de genes.

REFERENCIAS

ANDREAS, León, ZUSANNE, Victoria y PIETER, Marinus. Immobilization of bacteria to a geological material. WO 2007/069884 Al. 15 de diciembre de 2006

Disponible en <https://patentimages.storage.googleapis.com/23/c7/56/633db2235b4f11/WO2007069884A1.pdf>

ASENJO Alarcón, Dennis. 2019. *Influencia de la incorporación del aditivo bacteriano en la reparación en el proceso de fisuración controlada del concreto*. Tesis [Ingeniería civil]. Cajamarca: Universidad Nacional de Cajamarca, 2019. [Fecha de consulta: 25 de octubre de 2019]

Disponible en <http://repositorio.unc.edu.pe/handle/UNC/3243?show=full>

BENAVIDES, Germán y HERMIDA, Ana. Aislamiento e identificación de la flora bacteriana nativa del suelo de los páramos Cruz Verde y Guasca. Tesis (Microbiólogo industrial). Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de ciencias. [Fecha de consulta: 01 de diciembre de 2019]

Disponible en <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/8610>

BONILLA, Mónica [et al], ed. Manual de microbiología básica. Cuajimalpa: 2016. 29pp, 52pp.

ISBN 978-607-28-0975-8

Disponible en http://www.cua.uam.mx/pdfs/conoce/libroselec/23Manual%20de%20microbiologia_09diciembre2016.pdf

CHAPARRO, Sandra [et al]. Soil bacteria that precipitate calcium carbonate: mechanism and applications of the process. Revista colombiana del funcionamiento

biológico, químico y físico del suelo. 16 de Setiembre del 2017. [Fecha de consulta: 24 de Octubre del 2019].

Disponible en

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28122018000200277

DOSIER, Ginger. Methods for making construction material using enzyme producing bacteria. 2014. Disponible en <https://patents.google.com/patent/US8728365B2/en>

FLORES, Jairo. Estabilización de suelos con biocemento. Bogotá: Universidad de los Andes, Escuela de Ingeniería Civil.2006

Disponible en <http://hdl.handle.net/1992/9048>

GONZALES, Mariano. 2013. *Sporosarcina pasteurii, una alternativa sustentable para estabilizar suelos arenosos no cohesivos de Chile*. Santiago-Chile: s.n., 2013.

Disponible en

http://repositorio.unab.cl/xmlui/bitstream/handle/ria/1724/Gonzalez_M_Sporosarcina%20pasteurii,%20una%20alternativa_2013.pdf?sequence=3

GARCÍA, Pilar [et al]. Revista TECNIA. Enero-Julio 2018, vol. 28, n° 1. [Fecha de consulta: 30 de octubre de 2019]. Consolidación de material de construcción por proceso de biomineralización.

Disponible en <http://revistas.uni.edu.pe/index.php/tecnia/article/download/183/215>

La FAO. La guía para la descripción de suelos. [En línea]. 2009. [Fecha de consulta: 01 de diciembre de 2019].p26

Disponible en <http://www.fao.org/3/a-a0541s.pdf>

LINARES Ocmin, Claudio. Elaboración de ladrillos ecológicos a partir de residuos agrícolas (cáscara y ceniza de arroz), como material sostenible para la construcción. Iquitos - Loreto – 2014. Tesis (Licenciado en gestión ambiental). Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Facultad de Agronomía. 2015

Disponible en <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/3253>

LÓPES, Leonor y TORRES, Carola. Trabajo práctico: identificación bacteriana. Argentina: Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Agroindustrias, 2006.

Disponible en <http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp6.pdf>

MALDONADO, Francelys. Cultivario. Universidad de Carabobo. Facultad de Ciencias de la Salud. [Fecha de consulta: 30 de octubre de 2019]

Disponible en https://www.academia.edu/34722131/Pruebas_bioqu%C3%ADmicas_del_laboratorio?auto_download=true&email_work_card=view-paper

MARTINEZ, Elkin. Morbilidad respiratoria asociada con la exposición a material particulado en el ambiente. Revista de la Facultad Nacional de Salud Pública. Agosto-octubre 2011, n°4. [Fecha de consulta: 15 de octubre de 2019]. Disponible en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5079531>

ISSN 2323-0118

MAU, Silvia [et al]. Aislamiento de bacterias del suelo y su potencial utilización en sistemas de tratamiento de aguas residuales. *Revista De Ciencias Ambientales*. Abril 2012, vol. 42(2). [Fecha de consulta: 1 de noviembre de 2019].

Disponible en <https://doi.org/10.15359/rca.42-2.4>

ISSN 1409-2158

MORALES, Laura [et al]. *Crecimiento de Cristales de CaCo₃, como resultado de la actividad microbológica en suelos*. Revista de la sociedad española de mineralogía. 15, Almería-España: s.n., 2011, Revista de la Sociedad Española de mineralogía. Agosto 2011, n° 15. [Fecha de consulta: 24 de octubre de 2019].

Disponible en: http://www.ehu.eus/sem/macla_pdf/macla15/Macla15_141.pdf

PILCO Apaza, Olga. Impacto socio ambiental de la empresa Cemento Sur en la comunidad de San Antonio de Chucura del distrito de Caracoto. Tesis (licenciado en antropología). Puno Universidad Nacional del Altiplano, Facultad de Ciencias Sociales, 2016.

SOSA, Domingo. Técnica de tomas y remisión de muestras de suelo. Instituto Nacional de Tecnologías Agropecuaria. [Fecha de consulta: 17 de octubre de 2019]

Disponible en https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-tcnicas_de_toma_y_remisin_de_muestras_de_suelos.pdf

Disponible en <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/2859>

VALDERA Sánchez, Walter. Evaluación de los niveles de contaminación del material macro particulado generado en la producción de ladrillo artesanal de arcilla en el sector Chacupe alto carretera Chiclayo a Monsefú. Tesis (Magister en ciencias con mención ingeniería ambiental). Chiclayo: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Escuela de Postgrado, 2018. [Fecha de consulta: 28 de noviembre de 2019]

Disponible en <http://repositorio.unprg.edu.pe/handle/UNPRG/2619>

YOON et al. *Sporosarcina pasteurii* (Miquel 1889). 2001. DSMZ. 02 de abril del 2019. [Fecha de consulta: 20 de setiembre de 2019]

Disponible en http://bacdive.dsmz.de/index.php?site=pdf_view&id=11981&doi=doi:10.13145/bacdiv/e11981.20190402.

ANEXOS

Anexo 1: Flujograma

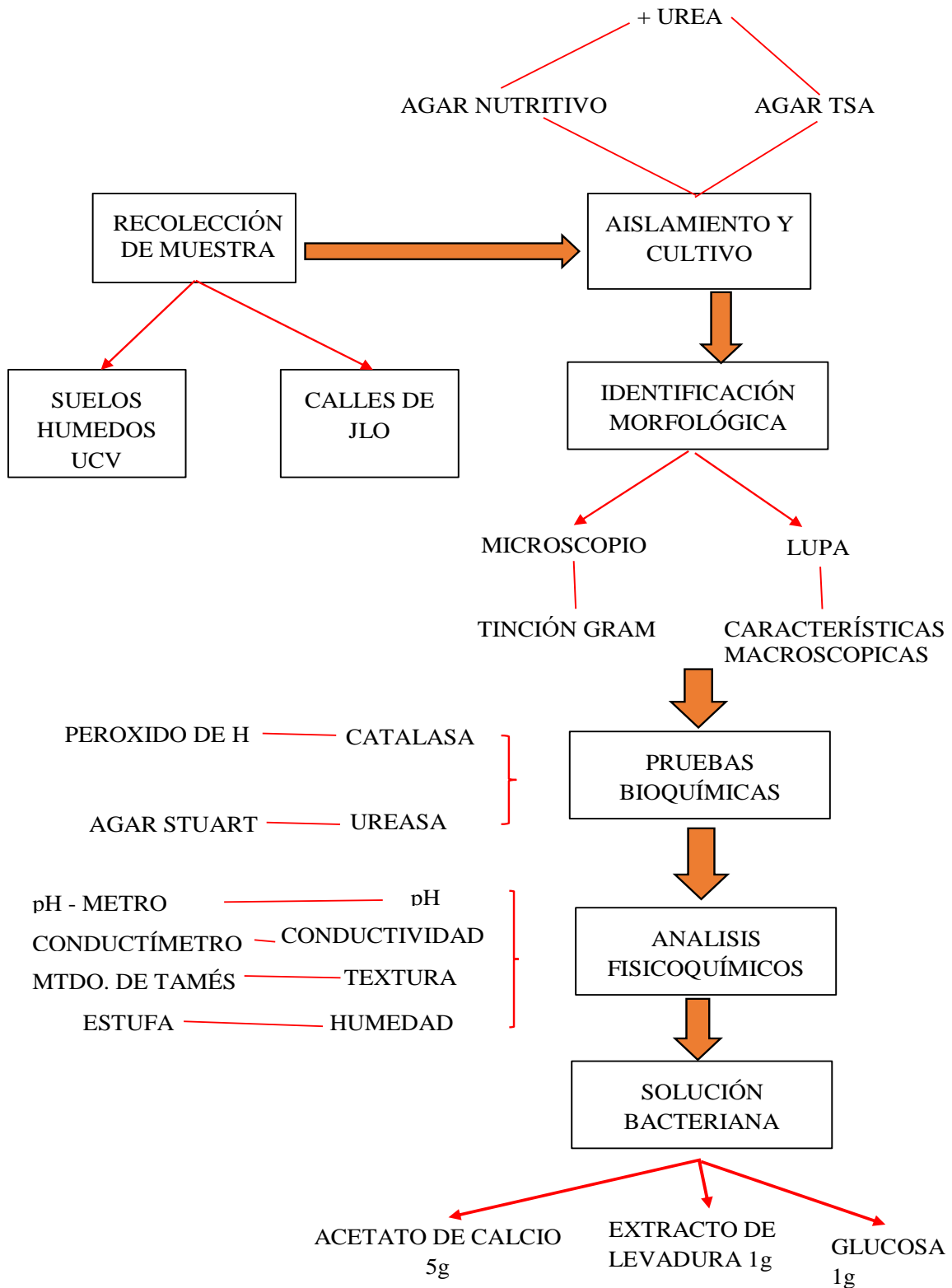


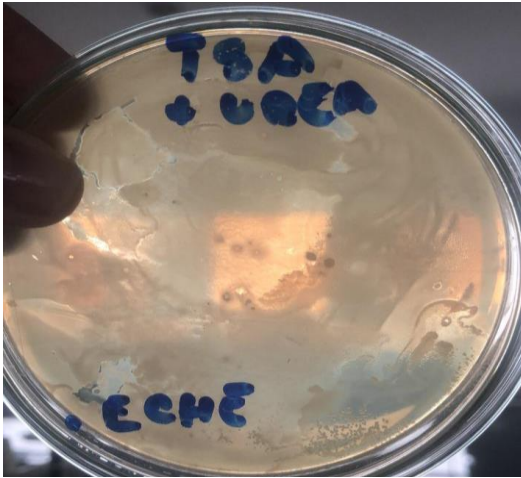
Figura 2: Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIÓN	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
X – Variable independiente <i>Sporosarcina pasteurii</i>	La <i>Sporosarcina pasteurii</i> es una bacteria con la capacidad de precipitar calcita y solidificar arena dada una fuente de calcio y área a través de un proceso de precipitación de calcita microbiológicamente inducida. Gonzales (2013)	Para corroborar la efectividad de la <i>Sporosarcina pasteurii</i> se procederá a un correcto muestreo, aislamiento y cultivo de bacterias presentes en suelos húmedos para realizar posteriormente un estabilizador líquido que será aplicada en las calles de J.L.O.	Tiempo	Horas	Intervalo
			Producción	Mililitros	Razón
Y – Variable dependiente Material particulado	Se denomina material particulado a la mezcla de partículas líquidas y sólidas de sustancias orgánicas e inorgánicas que se encuentran en suspensión en el aire. El material particulado forma parte del aire; son causantes de la morbilidad respiratoria en las personas por el solo hecho de inhalarlas. Martínez (2011)	Para corroborar si el material particulado ha sido controlado por la bacteria <i>Sporosarcina pasteurii</i> se procederá a determinar la consistencia del suelo y posteriormente comparar el suelo con el estabilizador líquido con el que no tiene	Concentración	Microgramo/metro cúbico	Razón

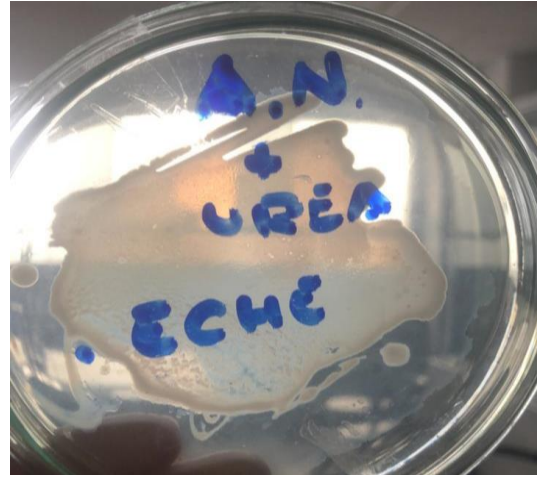
Anexo 3: Identificación bioquímica de *Bacillus pasteurii*

X	L	SU	M	C	MN	ME	I	SO	S	R
-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-
F	G	Ma	GE	UREA	RM	LIA	TSI	CI	AL	CA
+	-	-	+	+	-	-	Alk/Ad	-	-	+

Fuente: Benavides y Hermida (2008)



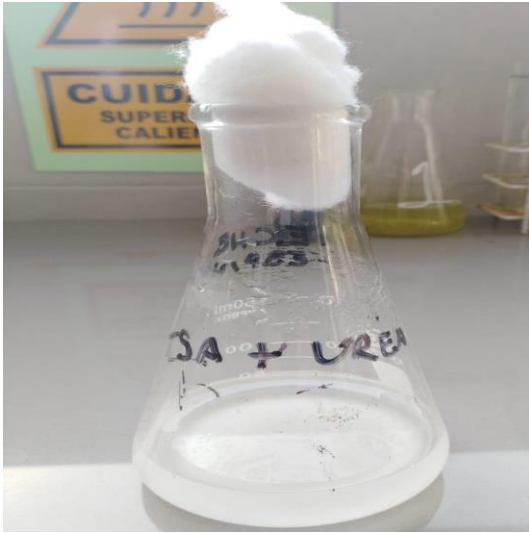
Crecimiento bacteriano en TSA. + urea



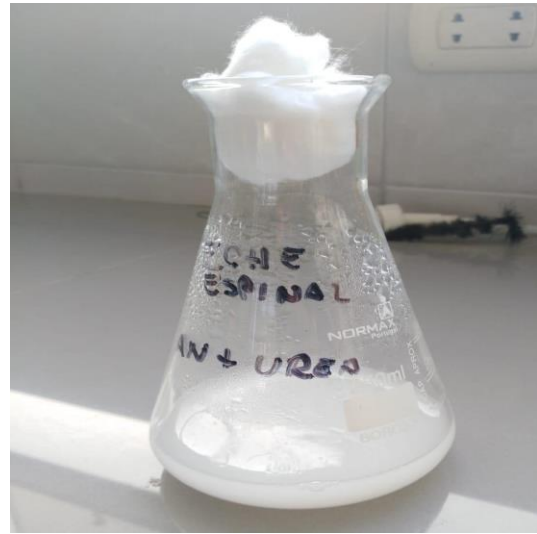
Crecimiento bacteriano en A.N. + urea



Extracción de muestra de suelo UCV-Chiclayo



Medio TSA + urea



Medio A.N. + urea



Sembrado de bacterias en placa Petri