



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Reducción de cadmio y plomo en suelos agrícolas contaminados por agroquímicos mediante el uso de *Escherichia Coli* asociado con fibra de coco en el distrito de Supe, Barranca.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Ingeniera Ambiental

AUTORA:

Rosales Vasquez, Dayhanne Rosaly (ORCID: 0000-0003-3217-3961)

ASESOR:

Mg. Aliaga Martínez María Paulina (ORCID: 0000-0003-2767-4825)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

Calidad y Gestión de los Recursos Naturales

LIMA – PERÚ

2018

DEDICATORIA

A Dios por mi existencia y por las bendiciones que me da día a día, a mis padres Silvia Vasquez, y Roberto Rosales, por su apoyo constante y motivación para cumplir mis metas.

A mi padrino Rolando Usurin, que me ilumina y protege desde el cielo.

A mis mejores amigos que me acompañaron en este reto y están junto a mí siempre.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad César Vallejo Lima Norte, escuela profesional de Ingeniería Ambiental por los años de instrucción, por las experiencias y por los logros obtenidos durante mi carrera profesional.

A mi asesora M.C. Ing. María Paulina Aliaga Martínez por guiarme paso a paso en esta última etapa académica, por el apoyo constante brindado incondicionalmente y haberme guiado hasta el final.

A mis docentes por brindarme la enseñanza necesaria para adquirir conocimientos en mi entorno profesional. A mis amigos que conocí en estos años de formación y con los que hoy me encuentro culminando, por el apoyo constante y por no haberme dejado que me rindiera cuando las cosas se pusieron difíciles.

A Dios por todo, porque siempre guía mi camino.

Índice de contenidos

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	vii
ABSTRACT.....	viii
I. INTRODUCCIÓN	9
1.1. Realidad problemática.....	10
1.2. Trabajos previos (Antecedentes).....	12
1.3. Teorías relacionadas al tema.....	22
1.4. Formulación del problema.....	40
1.5. Justificación del problema.....	41
1.6. Hipótesis.....	43
1.7. Objetivos	44
II. MÉTODO.....	45
2.1. Diseño de Investigación	45
2.2. Variable, Operacionalización	47
2.3. Población y Muestra	50
2.3.1. Población	50
2.3.2. Muestra.....	50
2.3.3. Unidad de análisis	50
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad	52
2.4.1. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	52
2.5. Metodología de la Investigación.....	53
2.5.1. Etapas de la investigación	53
2.6. Validez y confiabilidad	65
2.7. Métodos de análisis de datos	69
2.8. Aspectos éticos.....	69
III. RESULTADOS.....	70
IV. DISCUSIÓN.....	87
V. CONCLUSIONES.....	90

VI.	RECOMENDACIONES	92
	REFERENCIAS.....	93
	ANEXOS	97

Índice de tablas

Tabla 1:	D.S. 011-2017-MINAM ECA'S de Suelo	32
Tabla 2:	Clasificación Científica del Escherichia Coli	37
Tabla 3:	Composición de Caldo verde brillante	40
Tabla 4:	Arreglo de Repeticiones.....	46
Tabla 5:	Distribución de muestreo	51
Tabla 6:	Técnicas de recolección de datos	52
Tabla 7:	Materiales.....	54
Tabla 8:	Reactivos	55
Tabla 9:	Base de datos de la confiabilidad de instrumentos	66
Tabla 10 :	Alfa de Cronbach procesado en SPSS.....	67
Tabla 11:	Valores de estadísticos descriptivos para alfa de Cronbash - SPSS	68
Tabla 12:	Resultados de concentraciones de Cadmio (ppm).....	74
Tabla 13:	Resultados de concentraciones de Plomo (ppm).....	75
Tabla 14:	Resultados de Características químicas de las muestras	77
Tabla 15:	Prueba de normalidad para el cadmio – Tratamiento 1	79
Tabla 16:	Prueba de Homogeneidad de varianzas para el cadmio – Tratamiento 1.....	80
Tabla 17:	Prueba de T de STUDENT de muestras emparejadas para el cadmio – Tratamiento.....	81
Tabla 18:	Prueba de normalidad para el cadmio – Tratamiento 1	82
Tabla 19:	Prueba de homogeneidad de varianzas para el plomo- Tratamiento 1	83
Tabla 20:	Prueba de T STUDENT de muestras emparejadas para plomo – Tratamiento 1	84
Tabla 21:	Pruebas de normalidad respecto al pH – Tratamiento 1	84
Tabla 22:	Prueba de homogeneidad de varianzas de pH- Tratamiento 1.....	85

Índice de figuras

Figura 1:	Influencia del pH en la concentración de distintos metales en la solución del suelo	27
Figura 2:	Corte longitudinal del coco, y sus partes.	32
Figura 3:	Estructura de bacterias Gram positivas y Gram negativas.....	35
Figura 4:	Diagrama esquemático de la pared celular de bacterias Gram positiva y Gram negativa .	36
Figura 5:	Imagen microscópica de Escherichia Coli.	37
Figura 6:	Distribución de cama de muestreo.....	50
Figura 7:	Ubicación del Fundo La Venturosa	53
Figura 8:	Localización de puntos de Muestreo en el Área de Excavación regular.	55

Figura 9: Toma de muestras del suelo contaminado.....	56
Figura 10: Figura 8: Toma de muestras de agua, del Río Supe.	57
Figura 11: Muestra de agua con Escherichia Coli.	57
Figura 12: Preparación de Agar Carne y Agar Verde Brillante.	58
Figura 13: Medios de cultivo en el autoclave.	58
Figura 14: Preparación de Agar MacConkey.....	59
Figura 15: Preparación de Agar Escherichia Coli.	59
Figura 16: Preparación de placas Petri.	60
Figura 17: Aplicación de Cloruro de Sodio.....	60
Figura 18: Siembra bacteriana de Escherichia Coli.....	61
Figura 19: Extracción de fibra de coco.	61
Figura 20: Preparación de fibra de coco.....	62
Figura 21: Cama de muestreo.	63
Figura 22: Tratamientos 1A-1B-2A-2B-3A-3B.....	63
Figura 23: Aplicación del Tratamiento.....	64
Figura 24: Resultado de alfa de Cronbach, mediante varianza de ítems.	67
Figura 25: Reducción de Cadmio con E. Coli.....	71
Figura 26: Reducción de Plomo con E. Coli.....	71
Figura 27: Reducción de Cadmio con E. Coli y fibra de coco	72
Figura 28: Reducción de Plomo con E. Coli y fibra de coco	73

Resumen

La presente tesis se desarrolló con la finalidad de aplicar técnicas de biorremediación utilizando Escherichia Coli asociado con fibra de coco para la reducción de cadmio y plomo en suelos agrícolas contaminados por agroquímicos. Las muestras de los suelos contaminados fueron extraídas del distrito de Supe, provincia de Barranca; con presencia de metales pesados que sobrepasaban el Estándar de Calidad Ambiental (ECA) de suelos, según el D.S. 011-2017-MINAM. Se tomaron 5 muestras de suelo inicialmente para la identificación de concentración de cadmio y plomo (ppm), muestras compuestas por 500 gramos de suelos contaminados. La muestra de objeto de estudio fue de 60 kilogramos en donde se aplicó el tratamiento de Escherichia Coli asociado con fibra de coco con tres repeticiones por muestra.

La bacteria, Escherichia Coli fue aislada del Rio Supe, para ser llevada al Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Cesar Vallejo, Lima Norte; en donde se realizaron los cultivos bacterianos por 14 días. Se utilizaron medios de cultivos Agar MacConkey, caldo Verde Brillante, Agar nutritivo y caldo Escherichia Coli, para la confirmación de esta bacteria Gramnegativo. Al obtener Escherichia Coli, se aplicó a las muestras de suelos contaminadas, utilizando como sustrato la fibra de coco.

Se realizó monitoreo de caracterización de suelos, evaluando el pH, CE, y materia orgánica; también realizó análisis de cadmio y plomo por espectrofotometría de absorción atómica; estas evaluaciones se realizaron semanalmente. Así mismo se utilizó como sustrato El tratamiento resulto reducir las concentraciones de cadmio y plomo en la primera semana, se concluyó que el microorganismo Escherichia Coli asociados con fibra de coco, tiene potencial de reducir cadmio y plomo en un corto periodo, pudiendo ser aplicado en otras zonas contaminadas por estos metales pesados que sobrepasan el Estándar de Calidad Ambiental.

Palabras clave: Reducción, Escherichia Coli, Cadmio y Plomo.

Abstract

This thesis was developed with the purpose of applying bioremediation techniques using *Escherichia Coli* associated with coconut fiber for the reduction of cadmium and lead in agricultural soils contaminated by agrochemicals. The samples of the contaminated soils were extracted from the district of Supe, province of Barranca; with presence of heavy metals that exceeded the Environmental Quality Standard (ECA) of soils, according to D.S. 011-2017-MINAM. Five soil samples were taken initially for the identification of concentration of cadmium and lead (ppm), samples composed of 500 grams of contaminated soil. The sample of the study object was 60 kilograms, where the *Escherichia Coli* treatment associated with coconut fiber was applied with three repetitions per sample.

The bacterium, *Escherichia coli*, was isolated from the Rio Supe, to be taken to the Biotechnology Laboratory of the Cesar Vallejo University, North Lima; where the bacterial cultures were carried out for 14 days. MacConkey Agar, Brilliant Green Broth, Nutritious Agar and *Escherichia Coli* broth were used for the confirmation of this gram-negative bacterium. When obtaining *Escherichia Coli*, it was applied to contaminated soil samples, using coconut fiber as a substrate.

Soil characterization monitoring was carried out, evaluating the pH, EC, and organic matter; also carried out analysis of cadmium and lead by atomic absorption spectrophotometry; These evaluations were conducted weekly. It was also used as a substrate The treatment resulted in reducing the concentrations of cadmium and lead in the first week, it was concluded that the microorganism *Escherichia Coli* associated with coconut fiber, has the potential to reduce cadmium and lead in a short period, and can be applied in other areas contaminated by these heavy metals that exceed the Environmental Quality Standard.

Keywords: Reduction, *Escherichia Coli*, Cadmium and Lead.

I. INTRODUCCIÓN

La aplicación de tecnologías limpias y naturales, en la cual se utilizan a microorganismos naturales o genéticamente modificados para degradar y acumular compuestos orgánicos y para recuperar áreas contaminadas, es una buena alternativa para combatir la contaminación de suelo por diversos contaminantes, ya que tiene grandes ventajas con respecto a los métodos físicos y químicos convencionales, puede desarrollarse bajo un menor costo y un menor tiempo.

El empleo de bacterias y hongos en el proceso de remediación, las cuales cuentan con la capacidad de neutralizar y metabolizar metales pesados. La utilización de bacterias son las más empleadas en la remediación de agua y suelo, debido a su eficiencia, sin embargo, también se emplean microorganismos como hongos, algas, y cianobacterias.

La contaminación de suelos contaminados por metales pesados, procedentes de diversas actividades económicas ha incrementado a nivel mundial, teniendo como perdidas grandes hectáreas agrícolas, así mismo disminuye la producción alimenticia y pone en riesgo nuestro recurso natural, tanto que la FAO, ha declarado como un recurso no renovable. Por ese motivo se busca implementar técnicas de remediación que no comprometan otro recurso natural y que no generen una fuente de contaminación.

El estudio se realizará en el distrito de los Olivos, en la urbanización Villa sol, en donde se construirá e implementará una cama de muestreo para aplicar los tratamientos de reducción de cadmio y plomo mediante el microorganismo *Escherichia Coli* asociado con fibra de coco. Esta bacteria pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, bacteria Gram negativa.

En el presente trabajo se presentará la cantidad de concentración reducida de cadmio y cromo mediante el *Escherichia Coli* asociado con fibra de coco.

1.1. Realidad problemática

Alrededor del 25% de la tierra del mundo está completamente destruida por varios factores, como la sobre explotación y la contaminación ambiental. Casi 64 millones de hectáreas de tierra en América del Sur se han degradado para actividades agrícolas, mientras que Estados Unidos ha perdido alrededor de 400.000 hectáreas de tierras de cultivo y China ha perdido 5 millones de hectáreas. (Muñoz, 2007). África tiene 2455 millones de hectáreas de tierras agrícolas, de las cuales 494 millones hectáreas por la degradación de la tierra han sido afectadas, de las cuales el 46 % son erosionadas por agua, el 38 % por erosión eólica, el 12 % por degradación química y el 4, % por degradación física; El 19,4 % de las tierras agrícolas de China está afectado por la contaminación por cadmio, níquel y arsénico (FAO, 2015). Aproximadamente el 70% de los suelos de la tierra, no están aptos para la producción agrícola, ya que tiene ciertas limitaciones que han sido ocasionadas por fuentes antropogénicas y por la naturaleza; por lo que es necesario implementar distintas alternativas para el mejoramiento de su cuidado y preservación. Solo el 11% de la superficie terrestre del mundo se encuentra en condiciones ideales para la producción agrícola, sin restricciones ni problemas de contaminación. Una de las limitantes más representativas, que alteran el suelo de manera más directa y proporcional, es la aplicación de sustancias químicas como abonos, abonos y pesticidas a las tierras agrícolas, causando un 23 % de daños a la tierra. (Kovda, 2002).

En el Perú el 11 por ciento del territorio corresponde a la superficie agropecuaria (sector agrícola y ganadero), la cual representa 7 125,007 hectáreas; el 11 por ciento en la costa, 31 por ciento en la selva y el 57 por ciento en la sierra. Del total de la superficie agropecuaria, el 42 por ciento corresponde al territorio agrícola lo cual de la superficie total del Perú solo el 5 por ciento la representa. (Ministerio de Agricultura y Riego, 2012, p.8). En la encuesta nacional de hogares (ENAH), se registran 2 millones 355 mil productores agropecuarios en el Perú; el 17,2 por ciento en la costa, 62,4 por

ciento en la sierra y 20,4 por ciento en la selva. (Instituto Nacional de Estadísticas Informáticas, 2008, p.23).

En el Perú, el ingreso de sustancias agroquímicas empezó a partir de los años 60, lo cual cambió bruscamente el sistema de control de plagas en nuestro país. Debido a su productividad y utilidad, así como a su facilidad de uso, estos agroquímicos comienzan a ser utilizados con mayor frecuencia y proporción, pero su uso excesivo puede generar problemas de salud, resistencia y tolerancia a enfermedades y plagas diversas en las plantas, las sensibilidades a estos químicos son inofensivas para quienes los han combatido previamente y destruyen cualquier plaga presente en el cultivo. Este problema aumenta la tasa de aplicación de agroquímicos al suelo, provoca contaminación del suelo y degradación ambiental, además de daños a la salud. (Yucra, Gasco, Rubio y Gonzales, 2008, p.5).

La aplicación de Pesticidas permanentemente tiene efectos negativos para el medio ambiente y en el cuidado de la salud, en Lima Metropolitana, se estima que en los últimos veinticinco años el área de suelos agrícolas ha disminuido un 53,3 por ciento; en Lima Norte el área agrícola disminuyó de 11,489 a 6,611 hectáreas.

En Barranca, uno de sus principales distritos como lo es Supe, presenta una problemática en sus tierras que actualmente son fértiles, la mayoría de las cuales están bajo una fuerte presión para aumentar la productividad y hacer frente a algunos problemas epidémicos dañinos, existe el riesgo de pérdida irreversible y degradación de los recursos. Esto ocurre por el uso inadecuado de fertilizantes, pesticidas y plaguicidas en los cultivos.

El análisis de suelo realizado en la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) determinó la presencia de altos niveles de cadmio y plomo en el suelo, los cuales superaban los Estándares de Calidad Ambiental de Suelos (ECA'S) determinado por la Secretaría de Medio Ambiente No. 002-2013 - Máximo Decreto del MINAM.

1.2. Trabajos previos (Antecedentes)

- Cubides (2021) en su investigación **“La bioprospección como disyuntiva para reducir de la contaminación ambiental producida por agroquímicos: aproximación del estado actual en Colombia”** en Colombia, por la Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD, en Colombia, la investigación en biología microbiana es un problema creciente y se han documentado varios estudios de grupos de investigación de varias universidades, pero no se brindan detalles sobre la versatilidad microbiana y el capacidad de estabilidad ambiental del despliegue de estos microorganismos en diversas áreas de desarrollo económico. El propósito de este documento es revisar y recopilar los datos más importantes de los beneficios ambientales clave del uso de microorganismos en varios sectores agrícolas como fertilizantes y nutrientes en el campo de la agricultura medio ambiente, este tipo de desarrollo está representado por el agua y el aire, medidas para proteger y restaurar el medio ambiente mediante la aplicación de microorganismos en las etapas del tratamiento; y garantizar la sostenibilidad ambiental. Asimismo, la condición actual de la bioinvestigación en Colombia se evidencia mediante la verificación de varias publicaciones realizados en el país. Concluyendo, que determinadas tecnologías relevantes para la aplicación de microorganismos y sus metabolitos se están utilizando para reducir la contaminación ambiental causada por malas prácticas agrícolas.
- Marín et al. (2018) en su investigación **“Evaluación del extracto obtenido como lixiviado de fibra de coco (*cocos nucifera*) como bioestimulante en la remediación de un suelo contaminado con petróleo”** en Venezuela, publicado por la Universidad de Oriente, se ha evaluado el uso de melaza de coco (*Cocos nucifera*) como bioestimulante para la recuperación de suelos esteparios pesados y aceitosos. Por medio de procesos determinados se lograron las principales particularidades de extractos, aceites y suelos. El

suelo está contaminado con 100 ml/kg de petróleo pesado. Se prepararon cuatro ensayos de 1 kg cada una, la primera unidad no se trató como estándar, y las tres unidades se trataron con extractos de 150, 100 y 50 ml, cada una hay tres repeticiones al azar. Las unidades se colocaron en estipulaciones inspeccionadas de laboratorio para mediciones de grasa y pH utilizando las normas EPA 9071b y ASTM D4972 cada 7 días hasta cumplir con el Decreto de Normas Venezolanas 2635. El análisis factorial ANOVA mostró que tanto el volumen de extracción utilizado como el tiempo de contacto tuvieron un efecto estadísticamente significativo en la proporción de aceite y el pH al 95 % de nivel de confianza. Todas las muestras de suelo que recibieron el tratamiento de extracción alcanzaron el límite especificado en el Decreto N° 2635 en 28 días.

- Beltrán y Gómez (2016) En su artículo **“Biorremediación de metales pesados como (Cr), mercurio (Hg) y cadmio (Cr), mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: una revisión”** publicada por la Universidad Militar Nueva Granada, Colombia. Manifiesta que los metales pesados como el cromo, mercurio y cadmio son contaminantes muy persistentes, perjudiciales para el medio ambiente y salud pública, sin embargo, se conoce que ciertas bacterias y hongos tienen la capacidad de transformar a estos metales pesados, reducen la concentración del contaminante en el medio contaminado. Sin embargo, con los últimos estudios en biología molecular han demostrado que la aplicación de microorganismos como bacterias empleadas en la biorremediación. En suelos contaminados por metales pesados se han logrado identificar la presencia de diversas bacterias de géneros como: *Enterobacter*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Staphylococcus*, y *Xantomonas*. En el cromosoma bacteriano del microorganismo se encuentran los mecanismos de resistencias a metales que son los plásmidos, en estos plásmidos se han encontrado genes de resistencia a arsénico, plomo, cromo, níquel, cadmio,

mercurio, cobre, antimonio y zinc. Mientras que ciertos microorganismos modificados genéticamente como el *Bacillus* sp, mostro resistencia contra el mercurio. En estudios de biorremediación de cadmio se utilizaron *R. eutropha*, se aisló este microorganismo con el objetivo de producir metalotioneinas, para que pueda almacenar cadmio; también se emplearon a bacterias como *Escherichia Coli* y *Mesorhizobium* sp.

- Para García (2015) en su tesis **“Estudio de factibilidad para la industrialización de la fibra de coco en el recinto La Tolita, Pampa de Oro”** de la Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador. Señala que la fibra de coco empleada como sustrato es muy excelente, debido a su alta competencia de retractor de humedad. La fibra de coco también se emplea en la hidroponía debido a su alta relación carbono y nitrógeno.
- Según Azario (2014) en su investigación para la obtención del Grado académico de Magister en Salud Ambiental, nombrada **“Estudio de la toxicidad de metales contaminantes en el crecimiento de *Escherichia Coli*: efecto del cadmio, plomo y cromo en la solución”**, de la Universidad Nacional del Litoral, Santa Fé, Argentina. Utilizo *Escherichia Coli* (ATCC 35218), empleando como caldo de cultivo el medio Luria-Bertani, en el experimento se utilizó cloruro de cadmio como reactivo a diferentes concentraciones: 10, 25, 50, 100 y 200 ppm. Este cultivo fue incubado a 37°C, para determinar la velocidad de crecimiento se utilizó el espectrofotómetro. Como resultado se obtuvo que el *Escherichia Coli*, en su curva de crecimiento no se vio afectado por presencia de cadmio en sus diferentes concentraciones, se determinó que el *Escherichia Coli* es tolerante al cadmio, también se determinó que en el mismo estudio se aplicó cromo (III) y cromo (VI) la diferencia fue que el cromo hexavalente inhibe el crecimiento del *Escherichia Coli*, mientras que el cromo trivalente no modifica el crecimiento bacteriano.

- Torres (2014) en su investigación **“Tratamiento de aguas residuales mediante la combinación de técnicas avanzadas de oxidación y biofiltros”** en la Gran Canaria” por la Universidad de las Palmas de Gran Canaria, el agua de los pozos de monitoreo de las estaciones de servicio encuestadas se caracterizó por niveles más altos de contaminación por diésel y concentraciones más bajas de compuestos aromáticos. Los compuestos alifáticos del diésel se mineralizan al 79% mediante el proceso Fenton. Los resultados mostraron que el método foto-Fenton no mejoró significativamente la eficiencia de mineralización de los compuestos grasos. La fragancia se mineralizó de manera más eficiente por el método fotométrico de Fenton que por el método de Fenton, lo que se observó en agua contaminada con benceno, tolueno y xileno, y en muestras sintéticas de combustible diesel y gasolina, donde predominan las concentraciones saborizantes. es un 34% más eficiente que el proceso. Fenton en la mineralización de compuestos orgánicos presentes en aguas contaminadas con benceno, tolueno y xileno. La fotorreacción de Fenton puede degradar el 90% de los hidrocarburos presentes en el agua contaminada por diesel y gasolina, permitiendo que el TPH caiga por debajo del estándar ecuatoriano (20 mg/L).
- Betancur, *et.al.* (2013) en su artículo de **“Biorremediación de suelo contaminado con pesticidas: caso DDT, Colombia (2013)”**, publicado por la revista Gestión y ambiente, manifiestan que las bacterias de Gram negativa y Gram positiva como son los Bacillus, Pseudomonas, Alicalingenes e Hydrogenomonas tiene la capacidad de degradar insecticidas orgánoclorados como el DDT; en investigaciones anteriores se evaluaron tipo de bacterias morfológicamente diferentes entre ellas: Staphylococcus sp., Micrococcus sp., Bacillus sp. y Pseudomonas sp, las cuales fueron asociadas directamente a la degradación de microbiana de DDT. Así mismo el artículo sostiene que las bacterias emplean como nutrientes a los contaminantes, es de tal forma que degradan ciertas sustancias tóxicas.

- Según Lorenzetti, *et.al.* (2012) en su artículo **“Aguas contaminadas y biorremediación de suelos con cobre. Las cepas mutantes de *Escherichia Coli* presentan diferente capacidad depuradora del metal”** de la Universidad Nacional La Plata, Argentina. Establece como objetivo tratar adecuadamente las muestras de suelos que fueron contaminadas por conveniencia con cobre, luego pasarlo por un medio líquido y finalmente aplicar las bacterias y estas capturen el cobre. Las muestras que fueron extraídas de una zona sin cultivos, extraída de una profundidad de 20 cm, fue tratada por luego ingresara a la estufa a 37.5°C. Estas muestras fueron contaminadas intencionalmente con sulfato de cobre CuSo₄, en pequeñas muestras de 10 gr se agregaron 75, 150 y 300µmoles de CuSo₄ proporcionalmente. Para la extracción de cobre se emplearon 4 tipos de ácidos: ácido sulfúrico (H₂SO₄), ácido nítrico (HNO₃), ácido tricloro acético (TCA, C₂HCL₃O₂) y ácido clorhídrico (HCL), todos a una concentración de 100 ml.

Para la investigación se utilizaron Cepas de *Escherichia Coli*: AN387 y ANN001 derivada de la primera. Para el crecimiento bacteriológico se usó el medio de cultivo Luria Broth, a partir de ahí se empezó con el cultivo de cada cepa por 24 horas, a 37°C. La muestra trabajada con ácido clorhídrico (HCL), fueron las que obtuvieron una mejor extracción, en 30 minutos cada una solubilizaba aproximadamente 90% del cobre; mientras que las cepas de *Escherichia Coli* mostraron un considerable nivel de prendimiento cuando el sobrenadante presenta un pH mayor a 5, con una sola erradicación bacteriana de *Escherichia Coli*, se logra extraer el 90% del metal. Mientras que con una solución TSO con contenido CuSo₄, para recuperar la misma cantidad de metal se requiere de realizar 3 extracciones bacterianas correlativas. Así mismo los medios de cultivos que se utilizaron para el crecimiento bacteriano fueron en Sigma-Aldrich y Luria Broth. Se determinó que las cepas de *Escherichia Coli*, tienen pocos requerimientos nutricionales

y logran un rápido crecimiento, debido a estos factores se logró obtener una gran cantidad de biomasa en un corto periodo.

- Panigatti *et al.* (2011) en su investigación de biorremediación para efluentes contaminados de cromo hexavalente emplea microorganismos como *Escherichia Coli*. Con el propósito de estudiar la aplicación de *Escherichia coli* en la desintoxicación de aguas residuales que contienen Cr(VI) de plantas de procesamiento de metales. Se revisó el desarrollo y crecimiento de *Escherichia coli* con diferentes cantidades de Cr(VI) en distintos momentos y bajo diferentes circunstancias de operación. Se investigó la bioabsorción de cromo en diversos portadores con el uso de cepas probadas y se evaluaron los efectos de la existencia de metales como zinc, níquel y plomo. Las bacterias pueden reducir el Cr(VI) en concentraciones de hasta 200 mg. L-1. Se ha comprobado la adaptabilidad de esta cepa a la reducción biológica y detoxificación de metales pesados. La presencia de otros metales como el plomo, el níquel y el zinc ralentiza el tratamiento, pero no lo impide por completo. Los resultados obtenidos muestran la posibilidad de utilizar *E. coli* en el tratamiento biológico de aguas residuales industriales que contienen Cr(VI).
- Según Bracho *et.al.* (2004) evalúa la degeneración de hidrocarburos aromáticos por bacterias aisladas de suelos los contaminados por petróleo; mediante su estudio de apartamiento bacteriano el cual se realizó inocular 1 g de suelo en 30 ml de solución nutritiva mínima y antraceno al 0,05 % p/v en viales de 150 ml, agitando continuamente a 37 °C durante 10 días, hasta que se logre una turbidez, la cual indica el crecimiento bacteriano. Se evaluó la suficiencia degeneradora de las bacterias apartadas sobre naftaleno, antrágeno, fenantreno y dibenzotiofeno (DBT) mediante de la técnica de Kiyohara. En el proceso de evaluación la temperatura del suelo empleada fue de 36 °C Y 37°C, el pH varió entre 7,1 y 7,4. Se aislaron 37 cepas bacterianas en total (100%), 78.57% degradaron fenantreno y 71.42% dibenzotiofeno, así

mismo de las 37 cepas bacterianas se clasificaron por tipos de acuerdo a sus propiedades fisiológicas, morfológicas y bioquímicas como: Micrococcus 2 (5,40%), Staphylococcus 6 (16,21%), Bacillus 9 (24,32%), y Pseudomonas 20 (54,05%). Los cocos Gram positivos, como los géneros Micrococcus y Staphylococcus, determinaron suficiencia degenerativa en un nivel de sustratos mayor que el correspondiente a los bacilos Pseudomonas y bacillus; el 88,8% y 100% de los cocos fueron capaces de reducir el DBT y fenantreno, caso contrario del 83,3% y 71,4% de los bacilos Gram positivos y del 50% y 78,57% de los bacilos Gram negativos, respectivamente. Así mismo esto no concluye que metabolicen un considerable porcentaje de hidrocarburos.

- Ramos (2018) en su tesis titulada **“Determinación de la calidad bacteriológica en aguas de regadío y cultivos de vegetales de tallo bajo ubicados al margen izquierdo del río Yura, Arequipa 2018”** en la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Arequipa, midió y verifico la presencia de todos los microorganismos (Salmonella, Escherichia coli , coliformes, coliformes fecales) empleo 44 niveles bajos de 7 especies diferentes (papas, guisantes, habas, cebollas, ajo, alfalfa) y orégano y 48 ensayos de agua de riego, para analizar muestras, identificar y representar valores consistentes utilizo la técnica de tubos múltiples, con la Tabla de Conteos de Coliformes Más Probables y Escherichia coli, en el caso de Salmonella, siembra en tubos que contenían selenio-cistina en caldo, cajas Petri y pruebas bioquímicas en agar Salmonella-Shigella. Realizando la comparación entre los resultados obtenidos y el Reglamento Supremo 015-2015-MINAM, las muestras del agua de riego evidencian que este tipo de agua es apta para el riego de hortalizas, sin embargo, el 6,25% de las muestras de coliformes totales resultaron insuficientes, el 4,17% contra coli fecal y el 12,5% para E. coli presentes en las zonas de Yura y Matagrayo excedieron los límites máximos permisibles por lo cual fueron consideradas

no aptas. Se evaluaron también las propiedades fisicoquímicas como pH y temperatura en los canales de riego.

- Para Del Carpio (2017) evaluó el proceso de bioadsorción de Pb (II) y Cd (II) empleando como biomasa a E. Coli aisladas del río Huatanay en Cusco; las cepas obtenidas de E. Coli se identificaron como RHC-05, RHC-06 Y RHC-07, las cuales se sometieron a evaluaciones de resistencias de Pb (II) y Cd (II); las cepas RHC-05 Y RHC-06 resultaron más sólidos a estos contaminantes. La cepa RHC-06 tuvo mayor resistencia al plomo y cadmio, duplicó la producción de biomasa de la cepa RHC-05 en 31mg/L. En el proceso de bioadsorción, las cepas RHC-05 yRHC-06 se evaluaron mediante el modelo Freundlich, que determino que para el Pb la cepa RCH-06 se asemejo un 75%, determinando que el catión plomo en solución acuosa con pH 6,4 con biomasa E. coli, no solo desarrollo mecanismo de bioadsorción de metales, sino también intercambio iónico, como la microprecipitación. Para la evaluación de cadmio se determinó que se ajusta 96.9% al modelo Langmuir. En los análisis de Espectrofotometría de infrarrojo y microscopía electrónica de barrido, se determinó que la cepa RHC-06 es capaz de relacionarse con ambos metales, mediante interacciones físico-químicas.
- Gutiérrez, S. (2015) en su tesis “**Estudio de la Bioadsorción de Cadmio y Plomo con Biomasa de Serratia marcescens M8a-2T, a Nivel de Laboratorio**” de la Universidad Mayor de San Marcos, Lima; se realizó una evaluación para seleccionar una cepa como biosorbente microbiano, 122 aislamientos en el medio de extracción se sometieron a reacción y se analizaron en cuanto a viabilidad, tasa de crecimiento y eficiencia de producción de biomasa para metales de tipo pesado. Con respecto a estos parámetros, se seleccionaron una cepa de Serratia marcescens denominada M8A-2T y una cepa de Pseudomonas aeruginosa representada ATCC 9027 para mejorar los parámetros químicos y físicos de reducción de plomo y cadmio, así como la naturaleza de la resistencia física y genética. 27 cepas

son resistentes a los metales pesados, 2 cepas son resistentes al zinc hasta 80 000 ppm, 20 cepas son resistentes al níquel 16 000 ppm, 1 cepa es resistente al cromo 36 000 ppm, 23 cepas son resistentes al cadmio 800 ppm, 80 cepas son resistentes al plomo 32 000 ppm.

- Pucho (2015) en su investigación titulada **“Determinación de la calidad bacteriológica de las lagunas artificiales del Parque Selva Alegre y del parque acuático de Tingo del departamento y provincia de Arequipa, durante los meses diciembre enero 2015”** por la Universidad Mayor de San Marcos, Arequipa, en donde se tuvo como objetivo evaluar de la calidad microbiana del agua en lagunas artificiales con fines recreativos para pobladores de las zonas arequipeñas y arequipeñas del Parque Acuático Tingo y Parque Selva Alegre, donde se determinaron criterios microbiológicos de acuerdo al DS No. 002-2008-MINAM (Aguas recreativas, contacto auxiliar). Los números totales de coliformes, coliformes fecales, Escherichia coli y Enterococcus faecalis se determinaron utilizando el método Número de mayor probabilidad (NMP). Se tomaron muestras de dos lagunas artificiales: Laguna del Parque Selva Alegre y Laguna del Parque Acuático de Tingo con un total de 54 muestras. El número total de bacterias coliformes en heces en las lagunas artificiales del Parque Selva Alegre y Parque Acuático Tingo no superó las 4.000 NMP/100 millas (vegetación total), se detectó la presencia de E. coli y un parámetro supera el valor especificado en el Decreto N° 002-2008 -Máximo del MINAM, es decir 158 NMP/100 ml (Parque Laguna Selva Alegre) y 87 NMP/100 ml (Parque Acuático Laguna Tingo) cuando el precio El valor aceptado es el No.
- Rayo (2014) en su investigación titulada **“Determinación de la calidad bacteriológica en los efluentes de la planta de tratamiento de aguas residuales de Chilpina - Arequipa y cultivos Hortícolas (abril-junio 2014)”** por la Universidad Mayor de San Marcos, Arequipa, en donde se tuvo como objetivo determinar la calidad de las bacterias en el sistema de drenaje

de Chili en la ciudad de Arequipa y plantando el jardín en abril de 2014, determinando la presencia de coliformes completos, paseos coliformes, *Escherichia coli*, enterococci y salmonella sp en 1 muestra de pimientos párpicos de aguas residuales y 5 aguas. Muestras de canales de riego en 56, 400, 770, 1000 y 1080 m de la PTA Chirpina, mientras que 30 muestras 5 especies (perejil, espinacas, selección, zanahorias y papas) inmediatamente adyacentes a los pulmones analizados para el área de perros de jardín, las provincias de Arequipa, departamentos y áreas de Arequipa, por lo que se ha identificado su calidad bacteriana, de acuerdo con lo que se determina en la mina DS No. 003-2010; D. N ° C. No. 002-2008 - MINAM y NTS No. 071 - MINSA / DUGA-V.0.1 A Chile para Aguzar de muestras, 18x10 NMP / 100 ml se registran para colífices, correspondientes a estándares fijos. En las muestras de canales de riego 17x105 y 13x107 de NMP / 100 ml, el coli total se reconoce como el valor mínimo y máximo; 40x10 y 50x104 NMP / 100 taburete de heces; 6x103 y 9x104; NMP / 100 para E. Coli y 70x105 y 74x105 NMP / 100 ml Enterococos, en consecuencia, mientras que su ausencia se determina para la Salmonella S Salmonella SP, diciendo que estas aguas no son adecuadas para el riego, porque superan los estándares de calidad ambiental para la jardinería. Las muestras de perejil de los canales de riego 1 (56 m) mostraron los valores máximos para el coliforme total, E. coli de 93x102, <3-9, 27x103 NMP / 100, a diferencia de otros cultivos presentados una presentación uniforme en su valor. Aunque el Sr. Salmonella SP se define en todos los patrones, se concluye la cultura de cría, no corresponden al hecho de que establece un estándar inadecuado con el consumo de personas de consumo.

- Arenas, S. (1999) en su Tesis “**Aislamiento y caracterización de bacterias de ambientes contaminados por petróleo en la Refinería La Pampilla**” de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima; evaluaron el aislamiento de 262 cepas bacterianas, de muestras de suelos y agua contaminados, de las cuales se seleccionaron 55 cepas bacterianas que

fueron la de mayor emulsificantes y se evaluó la actividad y capacidad degradativa. Se conoció que el 100% de las bacterias crecieron sobre el medio de petróleo y mostraron crecimiento y desarrollo eficiente a las escalas de 2, 3,4 y 5 de Mc Farland. Los microorganismos que se evaluaron para el aislamiento fueron las Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas mendocina, Pseudomonas aureofasciens, listonella dansels, Bacillus shaericus, Escherichia Coli, Bacillus brevis y Acinetobacter.

1.3. Teorías relacionadas al tema.

La agricultura, se ha convertido en los últimos tiempos en una actividad creciente de sus demandad, por el aumento de productos alimenticios de exportación. Sin embargo, su aumento de producción ha generado que el uso y aplicación de sustancias agroquímicas aumenten para lograr sus objetivos

1.3.1. Agricultura

Actividad económica que se encarga de la producción y de la seguridad alimentaria del mundo, el cual hace uso del recurso suelo. Esta actividad se realiza mediante ciertos conjuntos de técnicas que labran la tierra para la producción de alimentos. (FAO, 2006)

1.3.2. Biotecnología Ambiental y biorremediación.

Aplicación de tecnologías limpias y naturales, en la cual se utilizan a microorganismos naturales o genéticamente modificados para degradar y acumular compuestos orgánicos; para recuperar áreas contaminadas. (Torres, 2013)

Métodos de restauración de suelos contaminados por cualquier material o elemento extraño que afecte negativamente al suelo; este método utiliza el potencial metabólico de los microorganismos (hongos y bacterias) para

eliminar o neutralizar contaminantes; Es activo por microorganismos para descomponer y cambiar moléculas orgánicas, transformando las moléculas en tamaños más pequeños y no tóxicos. (Torres y Zuluga, 2009)

El proceso de biorremediación es amplio y pueden clasificarse de acuerdo al microorganismo que se empleen para la degradación o recuperación de contaminantes en los siguientes tipos:

- **Fitorremediación**

Aplicación conforme al uso de especies vegetales para mover, neutralizar, capturar y degradar contaminantes, entre ellos metales pesados y compuestos orgánicos. Sin embargo, para elegir una especie o planta se debe de tomar en cuenta las propiedades hiperacumuladoras y su nivel de tolerancia a los contaminantes; no todas las plantas son tolerantes a sustancias tóxicas. Diversas investigaciones han referido que en el proceso de fitorremediación, la mayor parte del contaminante se hiperacumula en la raíz, seguido por el tallo; así mismo se conoce que entre las plantas más utilizadas en fitorremediación son el *Helianthus annuus*, *Zea Maíz L.*, *Inga sp*, *Triticum sp* entre otras. (Torres, 2003)

- **Biorremediación animal**

Método que emplea animales para la degradación de agentes contaminantes, estos animales son capaces de desarrollarse en un medio altamente tóxico y poseen en su interior microorganismos que son capaces de lograr la degradación y acumulación de diferentes contaminantes, como es el caso de las lombrices californianas. (Atlas, 1995)

- **Biorremediación microbiana**

Utilización de bacterias y hongos en el proceso de remediación, las cuales cuentan con propiedad de neutralizar y metabolizar metales pesados. La utilización de bacterias son las más empleadas en la remediación de agua y

suelo, debido a su eficiencia, sin embargo, también se emplean microorganismos como hongos, algas, y cianobacterias. (Torres, 2003)

1.3.3. Contaminación

La introducción o liberación de cualquier producto químico o mezcla de sustancias en un lugar no deseado (aire, agua o suelo) puede alterar la estructura y causar daños al medio ambiente para la salud. (MINAM, 2016)

1.3.4. Metales Pesados

Metales con alta masa atómica como plomo, cadmio, cromo, arsénico, mercurio; son cinco veces más densos que el agua; En bajas concentraciones, pueden ser nocivos para los organismos y tienden a acumularse en la cadena alimentaria. (Herrera, 2017)

1.3.5. Contaminación por metales pesados

Los metales pesados, catalogados como sustancias tóxicas debido a su tendencia de ser acumulados y concentrados en diversos organismos; son identificados como las sustancias más preocupantes por los daños irreversibles que ocasionan en los organismos más vulnerables, impiden la fotosíntesis en el fitoplancton y prohíbe el desarrollo y crecimiento de zooplancton.

Algunos microorganismos son capaces de tolerar ciertas sustancias tóxicas; ciertas bacterias son capaces de transportar estos metales pesados como medio de crecimiento para bacterias y como mantiene el equilibrio intracelular del organismo. (Del Carpio, 2017)

1.3.6. Contaminación de suelo por cadmio y plomo

El uso de productos químicos como pesticidas, fertilizantes, insecticidas y productos químicos de uso continuo en la agricultura como fosfatos y

herbicidas nitrogenados; provoca la presencia de cadmio y otros contaminantes en los suelos agrícolas, provoca cambios químicos en el suelo y cambios en las propiedades físicas que conducen a la pérdida de tierras de cultivo.

El desarrollo de la agricultura en los últimos años ha llevado a un mayor uso de productos químicos como insecticidas, insecticidas y herbicidas diseñados para matar y destruir insectos, gusanos y enfermedades y malezas. La materia prima para la producción de agroquímicos es la roca fosfórica, que contiene una gran cantidad de metales pesados, entre ellos zinc, plomo y cadmio, que cuando se utilizan para las plantas se adhieren fácilmente al suelo y se evaporan. La presencia de cadmio y plomo en el suelo conduce a problemas graves en tierras agrícolas, como la pérdida de la fertilidad, reduciendo la materia orgánica, especialmente la baja capacidad de intrusión, que afecta directamente a las propiedades de los materiales de la tierra. Cadmio y Comportius pertenecen a un grupo de metal serio, perjudicial para la salud humana y para el medio ambiente que los agricultores están expuestos a las empresas. (Herrera, 2017)

La contaminación del suelo se define como la introducción de elementos y sustancias extrañas en el suelo que modifican las propiedades químicas, físicas y biológicas del suelo. Tiene efectos adversos sobre los organismos del suelo y sus consumidores o puede propagarse a otros sistemas (Martínez Sánchez et al., 2005).

Prieto et al (2009) manifiesta que el cadmio y cromo son elementos que pertenecen al grupo de los metales pesados, los cuales tienden a bioacumularse en los cultivos, y son perjudiciales para la salud cuando se incorporan en el organismo.

Torres (2002) expresa que la presencia de cadmio afecta la capacidad de autogeneración del suelo, al acumularse las sustancias contaminadas el suelo se convierte en un recurso toxico que contamina y afecta a los

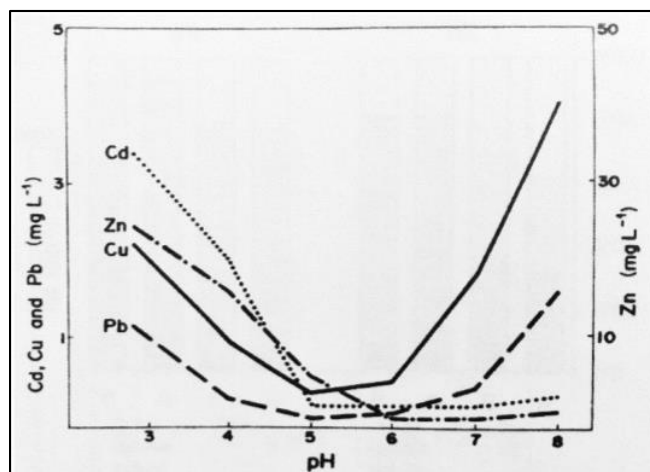
organismos vivos presentes en el suelo, altera la calidad de suelo y pone en riesgo la salud de las personas al entrar en contacto directo ya que el cadmio y cromo son perjudiciales para la salud.

1.3.7. Movilización de metales pesados

Los metales pesados pueden ser capturados y retenidos en el suelo, sin embargo, pueden ser movilizados mediante mecanismos biológicos y químicos. La movilización de estos metales depende de diversos factores del suelo como el pH, C.E, materia orgánica entre otros. La toxicidad del contaminante depende de la concentración presente en el medio, y también de la movilidad.

La movilidad de los metales pesados en el suelo, depende principalmente del pH, C.E. y materia orgánica; el cadmio se une a la materia orgánica del suelo y por este medio ingresa a las plantas.

En suelos alcalinos el cadmio se inmoviliza; la fijación de cadmio aumenta en suelos con materia orgánica alta, mayor cantidad capacidad de intercambio catiónico. En suelos ácidos la materia orgánica controla la solubilidad de los metales pesados. (Sánchez, 2016) **(Figura 1)**



Fuente: Kabata-Pendias, 2000

Figura 1: Influencia del pH en la concentración de distintos metales en la solución del suelo

1.3.8. Cadmio

Es un elemento químico de símbolo Cd, número atómico 48, de color blanco azulado, duro y relativamente raro en la superficie terrestre, perteneciente al grupo de los metales pesados y que se acumula en el medio ambiente. Es uno de los metales más singulares y, junto con el plomo y el mercurio, forma los llamados "Tres Grandes" de los metales pesados (Volesky, 1990).

El cadmio es utilizado para la elaboración de pinturas, tintes, baterías de cadmio debido a su gran resistencia a la corrosión, fabricación de fertilizantes fosfatados, un 9% se emplean como pigmentos, 1.2% como estabilizador de plásticos, además también se puede encontrar en conductores eléctricos, productos de cloruro de polivinilo (PVC), llantas y radiadores para autos.

Este metal ingresa al medio ambiente a través de diversas fuentes naturales y antropogénicas, se encuentra naturalmente presente en diferentes concentraciones en la roca de fosfato extraída para ser utilizada como fertilizante. Así mismo en la fusión de los minerales de zinc, plomo y cobre; el cadmio es liberado por la quema de combustibles fósiles de biomasa y emisiones volcánicas. (Pérez y Azcona, 2012)

La exposición a altos niveles de cadmio en seres humanos produce efectos negativos en la salud, afectan directamente a los pulmones, causa irritación bronquial y pulmonar. Se considera que el metal tiene una elevada toxicidad aguda basada en ensayos con animales a corto plazo en ratas. La exposición continua a largo plazo al cadmio ocasiona enfermedades renales, también se reportan efectos adversos en el hígado, los huesos, el sistema inmunológico,

la sangre y el sistema nervioso. La exposición humana al cadmio puede ser por el consumo de agua contaminada o el consumo de plantas cultivadas en sitios contaminados con cadmio. (La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, 2001)

1.3.9. Plomo

Elemento químico de la tabla periódica de elementos, de símbolo Pb, número atómico 82. Forma parte del grupo de los metales pesados, un metal gris azulado que se encuentra naturalmente en pequeñas cantidades en la capa izquierda del suelo. El plomo también proviene de actividades humanas como la quema de combustibles fósiles, la minería, la producción de pinturas y los agroquímicos.

Es un metal tóxico que se encuentra en la corteza terrestre, presente en altas concentraciones en el aire, el suelo y el agua, y supone un grave problema ambiental porque altera las propiedades físicas y biológicas de la tierra. Estudio del medio ambiente en el que se encuentra. El plomo tiene como una fuente principal a la actividad minera y metalurgia, el uso en fabricación de baterías también es significativo. (ATSDR, 2018)

La contaminación por plomo tiene grandes consecuencias entre ellas afecta directamente la salud de las personas expuestas a este contaminante por medio de productos o medios que tenga grandes concentraciones de esta sustancia, uno de los más vulnerables llega a ser los agricultores que aplican plaguicidas a las tierras agrícolas para combatir las plagas y enfermedades; sin imaginarse las consecuencias. (Organización Mundial de la Salud, 2018) El plomo, en sí mismo no se degrada, cuando es liberado a la atmosfera puede trasladarse a grandes distancias antes de depositarse en el suelo y agua, cuando el plomo se deposita en el suelo se adhiere a las partículas del suelo.

Así mismo cuando se ingiere alimentos o bebidas que contengan plomo, las personas se exponen a contraer enfermedades crónicas, también el estar

expuesto a la fabricación de pinturas, baterías, agroquímicos y fundiciones de metales sin ningún tipo de equipos de protección personal (EPP'S) afectan la salud. (ATSDR, 2018)

1.3.10. Contaminante

Cualquier químico que no esté relacionado con las propiedades del suelo cuando se libera en el medio ambiente puede afectar negativamente el uso de los recursos, alterando la salud humana y el medio ambiente. (Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos, 2016)

1.3.11. Suelo

Recurso natural, es el soporte de la vida, este recurso según la FAO ha sido considerado como un recurso no renovable, debido a las grandes proporciones de suelos perdidos por efecto de la contaminación ambiental. (FAO, 2015)

El suelo es el alimento de la vida, hecho de minerales muertos y materia orgánica. Es una parte física de la tierra y se considera un líquido constituido por microorganismos, suelo, agua, materia orgánica e inorgánica y es importante para la producción, es decir se considera renovable, requiere buen manejo y cuidado de los recursos naturales para ser explotados de manera ecológicamente beneficiosa (AMBIENTUM, 2014).

El suelo es un medio inherente que realiza múltiples competencias en la superficie terrestre, proporcionando ayudas mecánicas y nutrientes para el desarrollo de plantas y microbios. El suelo consta de cinco componentes principales: minerales, aire, agua, materia orgánica y organismos (Eweis, 1998).

1.3.12. Suelo agrícola

El suelo es un medio inherente que realiza varias funciones en la superficie de la Tierra, brindando soporte mecánico y nutricional para el desarrollo de

plantas y microbios. El suelo se compone de cinco componentes principales: minerales, aire, agua, materia orgánica y organismos vivos (Eweis, 1998).

1.3.13. Características físicas del suelo

1.3.13.1. Materia orgánica:

Parte orgánica que es esencial para el suelo, producto de la descomposición de los microorganismos, residuos de las plantas y degradación de estas; la materia orgánica representa el 5% de nitrógeno total, también tiene otros elementos como el fósforo, magnesio, calcio, azufre, y micronutrientes. (Meneses et al., 2006)

1.3.13.2. Humedad

La humedad es necesaria para el crecimiento de los microorganismos en el suelo, al mismo tiempo se debe de mantener un porcentaje de humedad adecuada porque si la humedad fuese excesiva podría reducir la disponibilidad del oxígeno. En algunos procesos de biorremediación suelen perder humedad debido a la evaporación por tal motivo es necesario realizar riegos periódicamente. Lo recomendable es mantener la humedad de los suelos en un rango de 40% a 85%, lo ideal es 70%.

1.3.13.3. pH

Unidad de medida que indica el rango de acidez o alcalinidad de una solución, por la cual se mide la cantidad de iones de hidrógeno presentes en la solución.

Para mantener el crecimiento de microorganismos degradadores de contaminantes, el pH debe estar entre 6-8. A valores de pH superiores a 6,5, minimizan la disolución y migración de metales pesados y crean condiciones óptimas para la biodegradación. Si el pH del suelo es muy bajo, se utilizará cal como materia prima de calcio.

1.3.13.4. Temperatura

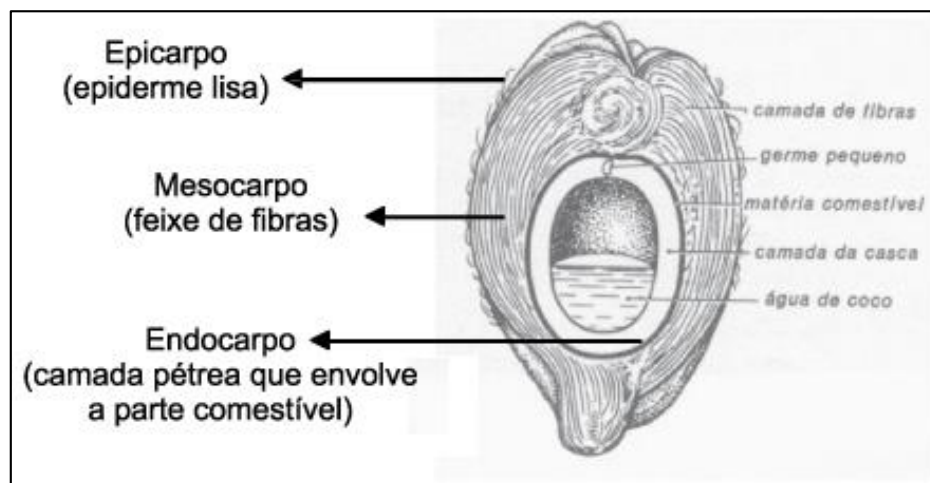
La temperatura, factor importante en la degradación de metales pesados, debido a que el crecimiento y desarrollo de los microorganismos están en función de esta. En el rango de 10°C a 45°C, la actividad microbiana se duplica cada 10°C, siendo el rango óptimo para el proceso de biorremediación. (EPA, 2003)

1.3.14. Compost

Técnica de remediación de suelos, es un abono orgánico en la cual se emplea residuos orgánicos que son degradados por medio de un proceso biológico aerobio, en donde los microorganismos actúan en medio de estiércol de animales y residuos orgánicos; este abono ayuda a mejorar la estructura del suelo y absorción de nutrientes. (Gallardo, 2013)

1.3.15. Fibra de Coco

Material orgánico procedente del coco, se emplea como componente de sustrato para el suelo. Tiene una alta capacidad de retención de agua, mejora la estabilidad del pH y conductividad eléctrica del medio; tiene un gran nivel de porosidad y alta capacidad de aireación. (Paulitz, 2001) **(Figura 2)**



Fuente: Ferreira et al., 1998.

Figura 2: Corte longitudinal del coco, y sus partes.

1.3.16. Estándar de Calidad Ambiental (ECA) para Suelos D.S. 011-2017-MINAM

Decreto 011-2017-MINAM Supremo por el que se dictan normas de calidad ambiental de suelos; Se establecen herramientas de gestión ambiental para medir el estado de calidad del medio ambiente, estas ECA determinan concentraciones de elementos y sustancias presentes en el medio ambiente sin perjudicar la salud y el riesgo. (Ministerio del Ambiente 2017) **(Tabla 1)**

Tabla 1: D.S. 011-2017-MINAM ECA'S de Suelo

Parámetros en mg/kg PS ⁽²⁾	Usos del Suelo ⁽¹⁾			Métodos de ensayo ^{(7),(8)}
	Suelo Agrícola ⁽³⁾	Suelo Residencial/ Parques ⁽⁴⁾	Suelo Comercial ⁽⁵⁾ / Industrial/ Extractivo ⁽⁶⁾	
ORGÁNICOS				
Hidrocarburos aromáticos volátiles				
Benceno	0,03	0,03	0,03	EPA 8260 ⁽⁹⁾ EPA 8021
Tolueno	0,37	0,37	0,37	EPA 8260 EPA 8021
Etilbenceno	0,082	0,082	0,082	EPA 8260 EPA 8021
Xilenos ⁽¹⁰⁾	11	11	11	EPA 8260 EPA 8021
Hidrocarburos poliaromáticos				
Naftaleno	0,1	0,6	22	EPA 8260 EPA 8021 EPA 8270
Benzo(a)pireno	0,1	0,7	0,7	EPA 8270
Hidrocarburos de Petróleo				
Fracción de hidrocarburos F1 ⁽¹¹⁾ (C6-C10)	200	200	500	EPA 8015
Fracción de hidrocarburos F2 ⁽¹²⁾ (>C10-C28)	1200	1200	5000	EPA 8015
Fracción de hidrocarburos F3 ⁽¹³⁾ (>C28-C40)	3000	3000	6000	EPA 8015
Compuestos Organoclorados				
Bifenilos policlorados - PCB ⁽¹⁴⁾	0,5	1,3	33	EPA 8082 EPA 8270
Tetracloroetileno	0,1	0,2	0,5	EPA 8260
Tricloroetileno	0,01	0,01	0,01	EPA 8260
INORGÁNICOS				
Arsénico	50	50	140	EPA 3050 EPA 3051
Bario total ⁽¹⁵⁾	750	500	2 000	EPA 3050 EPA 3051
Cadmio	1,4	10	22	EPA 3050 EPA 3051
Cromo total	**	400	1 000	EPA 3050 EPA 3051
Cromo VI	0,4	0,4	1,4	EPA 3060 EPA 7199 ó DIN EN 15192 ⁽¹⁶⁾
Mercurio	6,6	6,6	24	EPA 7471 EPA 6020 ó 200.8
Plomo	70	140	800	EPA 3050 EPA 3051
Cianuro Libre	0,9	0,9	8	EPA 9013 SEMWW-AWWA-WEF 4500 CN F o ASTM D 7237 y/d ISO 17690:2015

Fuente: El Peruano, 2017

1.3.17. Microorganismos utilizados en la biorremediación

La relación metal-microorganismos, son interrelaciones estudiada principalmente por la biotecnología con el objetivo de implementar nuevas técnicas de reducción y remoción de contaminantes. Los microorganismos son capaces de inmovilizar metales pesados, debido a sus propiedades de resistencia y tolerancia. Los procesos de inmovilización de metales pesados por microorganismos reciben el nombre de: Biosorción, bioacumulación, biotransformación y biomineralización.

Cuando un metal se acerca a la superficie de un microorganismo, lo primero

que encuentra es una capa de polisacáridos o glicoproteínas, además de la pared celular microbiana. A pH neutro, algunos de estos grupos pueden ionizarse para formar una matriz cargada negativamente a través de la cual debe moverse el metal. Después de ingresar a la célula, el metal irá a la membrana plasmática, donde se retiene, no altera las funciones de la célula, pero después de unirse al metal, puede afectar el metabolismo metabólicamente. (Di Toro et.al., 2010)

1.3.18. Resistencia de los microorganismos a los metales pesado

La toxicidad de los metales pesados depende de la concentración total del metal, así como de factores fisicoquímicos como el pH, la materia orgánica y factores biológicos como la bioacumulación, la bioabsorción y la solubilidad. (Castillo, 2005)

Hay varios microorganismos resistentes y resistentes a los metales pesados en la diversidad microbiana. Los microorganismos tolerantes se caracterizan por la presencia o ausencia de metales pesados, mientras que los microorganismos resistentes tienen un mecanismo de neutralización codificado genéticamente.

Las bacterias producen quelantes para unir metales y minimizar su toxicidad. Las células capturan cationes de metales pesados de diversas formas, una de las cuales atraviesa la membrana citoplasmática bacteriana. Cuando el gen que codifica el sistema de transporte rápido muta, se obtienen células resistentes a metales pesados. (Marrero, Díaz y Coto, 2010)

Formación de complejos extracelulares, enzimas redox para metales pesados y síntesis de proteínas de unión como la metalotioneína y las fitoquelinas. (Rajendran et al. 2003)

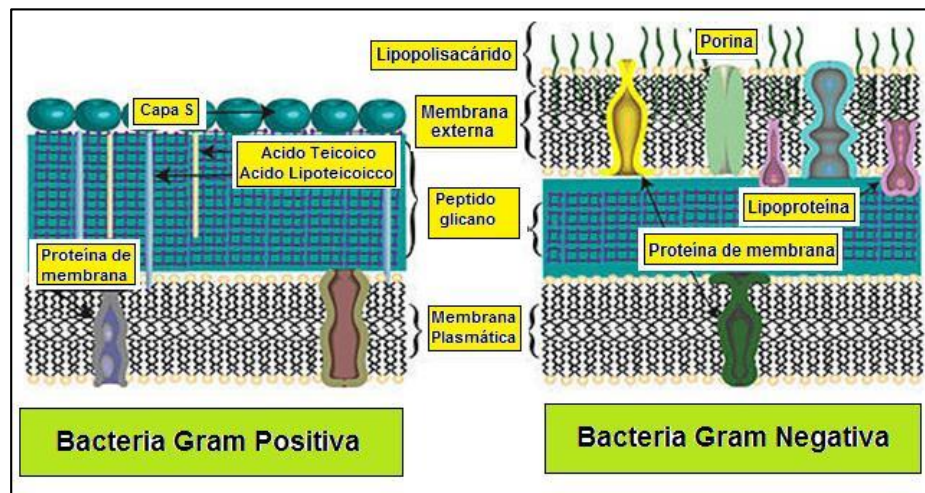
1.3.19. Bacterias

Microorganismos unicelulares, pertenecientes a la clase procariontes, las bacterias son los organismos más simples y abundantes presentes en el medio ambiente (agua, aire y suelos), son de gran importancia en la

naturaleza, se presentan en el ciclo natural del carbono, nitrógeno, entre otros; son capaces de transformar sustancias orgánicas a inorgánicas. Las bacterias desarrollan mecanismos de tolerancia ante metales pesados; los mecanismos son capaces de neutralizar la toxicidad del metal, modificación del estado redox del metal y transportadores de la membrana que expulsan los metales pesados del citoplasma. (Duruibe y Ogwuegbu, 2007)

La pared celular divide las bacterias en bacterias grampositivas y gramnegativas. La pared celular se debe a la presencia de una capa de peptidoglicano que la hace porosa y rígida. El peptidoglicano es un polímero lineal de unidades sustituidas de N-acetilglucosamina y ácido N-acetiluramínico.

(Figura 3)



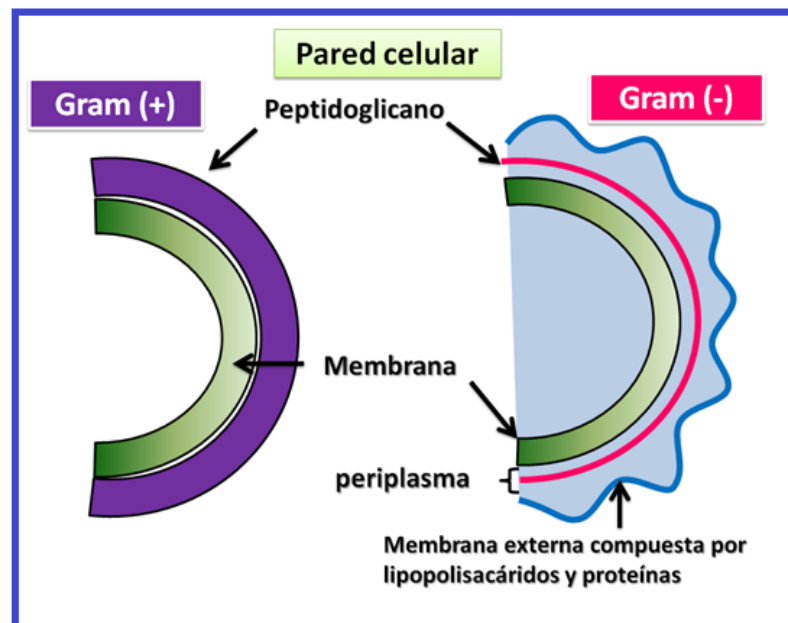
Fuente: <https://www.google.com.pe/search?q=membrana+celular+de+e.+coli&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiro6eL->

Figura 3: Estructura de bacterias Gram positivas y Gram negativas

Las bacterias grampositivas tienen paredes celulares cargadas negativamente, aunque también portan una pequeña cantidad de carga positiva. Los sitios aniónicos son carboxilato de peptidoglicano y fosfato de ácido teicoico, y los sitios catiónicos son ácido teicoico, dextrano y peptidoglucano. Las células gramnegativas son de color rosa a safranina en

la tinción de Gram con iones metálicos unidos a la membrana externa. Los cationes estabilizan la estructura molecular de la membrana, la unión de iones metálicos reduce la carga repulsiva de las moléculas de lipopolisacáridos y aniones de proteínas.

Los peptidoglicanos están compuestos por azúcares como la N-acetilglucosamina y el ácido N-acetilmurámico, e incluyen un subconjunto de los aminoácidos L-alanina, ácido glutámico, ácido D-glutámico o lisina o ácido diaminopimérico (DAP). (Valls y De Lorenzo, 2002) (**Figura 4**)



Fuente: Madigan, 2003.

Figura 4: Diagrama esquemático de la pared celular de bacterias Gram positiva y Gram negativa

1.3.20. Escherichia coli

Bacteria de Gram negativo, del genero Escherichia, productora de vitamina B y K, reduce nitratos a nitritos. Estas bacterias colonizan el intestino del hombre a pocas horas después del nacimiento y se le considera un

microorganismo de flora intestinal, aunque ciertas cepas pueden ser patógenas y traer efectos secundarios que afecten la salud del ser humano. La temperatura para el desarrollo de *Escherichia Coli*, debe ser mínima 2.5°C hasta una temperatura máxima de 45°C. (Ocaña, 2016)

Esta bacteria se ha empleado en pocos estudios de tratamientos de biorremediación de agua y suelos, estos microorganismos han desarrollado mecanismos de resistencia capaces de tolerar la presencia de metales pesados (Silver y Phung, 2005)

Los componentes celulares de las bacterias capturan iones neutralizando la toxicidad del contaminante, así mismo las enzimas varían el estado redox de los metales como cromo, cadmio y plomo, reduciendo finalmente los transportadores de la membrana expulsando los contaminantes del citoplasma celular. Las cepas de *Escherichia Coli* modificadas genéticamente han sido capaces de bioacumular metales en solución, como níquel y cadmio. (Deng *et.al*, 2003) **(Figura 4) (Tabla 2)**



Fuente: Food consulting, 2018

Figura 5: Imagen microscópica de *Escherichia Coli*.

Tabla 2: Clasificación Científica del *Escherichia Coli*

Nombre binomial	
<i>Escherichia Coli (E. Coli)</i>	
Reino:	Bacteria
Filo:	Proteobacteria

Clase:	Gammaproteobacteria
Orden:	Enterobacteriales
Familia:	Enterobacteriaceae
Género:	Escherichia
Especie:	E. Coli (E. Freundi)

Fuente. Elaboración propia, 2018.

Del Carpio (2017) nos expresa las características del Escherichia Coli:

- Bacilo de Gram negativo.
- Reduce nitratos y nitritos.
- No forma esporas.
- Produce vitamina V y K.
- Bacteria no exigente.
- Fermenta glucosa y lactosa con producción de gas.
- Anaerobio.

1.3.21. Tiempo de permanencia de Escherichia Coli

Un factor que amenaza la supervivencia de patógenos intestinales como E. coli O157:H7 en el suelo es la presencia de carbono, que puede ser altamente letal debido a las bajas concentraciones de carbono y la presencia de comunidades microbianas de criaturas nativas. Muchos estudios han demostrado que E. coli O157:H7 puede ingresar a semillas y raíces y luego migrar y propagarse a otros tejidos (Ávila et al., 2010).

La transferencia se puede hacer de la raíz a la hoja. El núcleo basal es el sitio secretor y el punto de entrada en el que las bacterias inician la colonización y, por lo tanto, a medida que las bacterias permanecen más tiempo en la planta, aumentan sus posibilidades de ingresar a la plántula en desarrollo (Lugtenberg et al. 2001).

Según Ocaña (2016), las plántulas de colonias de *Escherichia coli* O157:H7 se cultivaron en suelo modificado con estiércol y se encontró que estas bacterias persistían en el suelo durante 2 semanas.

1.3.22. Cultivo de Escherichia Coli

1.3.23. Medios de cultivos

Material alimenticio en el que crecen microorganismos, suelen ser en gel o solución que contienen nutrientes que permiten desarrollar a los microorganismos en condiciones favorables. De gran aporte para la identificación de clases de bacterias. Los medios de cultivos suelen contener carbono, nitrógeno, azufre, fosforo y sales orgánicas. (Sánchez, 2017)

1.3.24. Agar MacConkey

Medio de cultivo selectivo, utilizado para identificar bacterias de Gramnegativos; este medio contiene lactosa, azúcar y un pH neutro. Todas las especies de las familias de enterobacteriaceae se desarrollan en este medio. (Laboratorio Britania, 2015)

1.3.25. Caldo Verde Brillante

Medio de cultivo utilizado para el crecimiento de bacterias de Gram negativas, para la familia enterobacteriaceae, entre ellos el *Escherichia Coli* y *Salmonella*, es empleado para la confirmación de presencia de *Escherichia Coli* en el medio. El resultado del crecimiento son colonias amarillas

verdosas. (Neogen Latinoamérica, 2018) (Tabla 3)

Tabla 3: Composición de Caldo verde brillante

Fórmula	Litro
Digerido enzimático de gelatina	10 g
Lactosa	10 g
Bilis de buey	20 g
Verde brillante	0.0133 g

Fuente: Elaboración propia, 2018.

1.4. Formulación del problema.

1.4.1. Problema general.

- ¿Cuál es la eficiencia del *Escherichia Coli* asociado con fibra de coco, en la reducción de cadmio y plomo en suelos contaminados por agroquímicos, en el distrito de Supe, Barranca?

1.4.2. Problema específico.

- ¿Cómo mejora la calidad de suelo la aplicación de *Escherichia Coli* asociado con fibra de coco, en la reducción de cadmio y plomo del suelo contaminado por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca?
- ¿Cómo modifica el pH y CE, el tratamiento de reducción de cadmio y plomo al usar *Escherichia Coli* asociado con fibra de coco en suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca?

- ¿Cuál será la concentración de cadmio y plomo en el suelo contaminado por agroquímicos al término del tratamiento con *Escherichia Coli* con asociado con fibra de coco?

1.5. Justificación del problema.

a) Justificación Teórica

La propuesta de aplicación de *Escherichia Coli* asociado con fibra de coco en suelos contaminados servirá para conocer cuál es la eficiencia del *Escherichia Coli* en la reducción de cadmio y plomo, debido a que existen ciertos antecedentes que afirman que la bacteria *Escherichia Coli* es una de las más eficientes en la degradación de compuestos tóxicos de suelos contaminados, ya que estas bacterias degradan y reducen metales pesados neutralizándolos y disminuyendo el tamaño de las moléculas de los contaminantes. La efectividad de estas bacterias en la reducción de contaminantes depende de la duración de la exposición al compuesto, las condiciones ambientales en las que crecen y su flexibilidad fisiológica. (Golovleva et al. 1990)

b) Justificación Ambiental

La biorremediación es una gran alternativa para remediar el agua y suelo contaminado de una manera sostenible, este proceso es mucho más barato que un proceso térmico o lavado de suelos. El uso de microorganismos para remediar medios contaminados se viene empleando debido a que estudios han demostrado la capacidad que tienen las bacterias, hongos, micro algas y levaduras en reducir y degradar ciertos contaminantes inorgánicos. La aplicación de *Escherichia Coli* en suelos contaminados con metales pesados se da debido a su capacidad de reducir cadmio y zinc. Estos microorganismos cuentan con un mecanismo de resistencia que tolera

metales pesados, las bacterias capturan iones y neutralizan la toxicidad del contaminante y por medio de la membrana expulsan contaminantes del citoplasma. (Cervantes, 2006)

Los microorganismos degradadores de hidrocarburos más importantes, tanto en aguas como en suelos son: Bacillus, Pseudomonas sp., Flavobacterium, Achromobacter, Escherichia Coli, Alcalige arthrobacter, Acinetobacter, y Nocard. (Leahy y Cowel 1990)

El uso de técnicas de biorremediación, como la aplicación de bacterias en sitios contaminados, representa grandes ventajas con respecto a los métodos físicos y químicos convencionales, ya que puede desarrollarse bajo un menor costo y casi en la mayoría no requiere de un tratamiento secundario, así mismo las técnicas de biorremediación resultan ser más eficientes al momento de reducir niveles altos de contaminantes tóxicos. (Volke, 2002)

c) Justificación Económica

La necesidad de incrementar la productividad agrícola hace que haya una agricultura intensiva, los fertilizantes si bien pueden aumentar la productividad y los plaguicidas pueden controlar ciertas plagas a largo plazo puede ocasionar la pérdida de este recurso limitado. A nivel mundial la aplicación de productos químicos con metales pesados, reduce la capacidad de producción alimentaria, contamina aire, agua y suelo, afecta directamente la salud humana ya que al acumularse en el cuerpo altera el sistema nervioso y ocasiona enfermedades crónicas. (FAO, 2015)

d) Justificación Social

Es de gran importancia la remediación de suelos agrícolas, debido a que es la única fuente de ingresos de los agricultores en La venturosa. El tratamiento de suelos favorecerá a los agricultores y tendrán como alternativa soluciones

ecológicas, a un bajo costo y accesibles. El mejoramiento de la calidad de suelo les garantizara una mejor calidad de vida.

1.6. Hipótesis

1.8.1 Hipótesis General:

- H_0 : No existe eficiencia del Escherichia Coli asociado con fibra de coco en la reducción de cadmio y plomo en suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca
- H_1 : Existe eficiencia del Escherichia Coli asociado con fibra de coco en la reducción de cadmio y cromo en suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca

1.8.2 Hipótesis Especifica:

H_0 : ¿El uso del Escherichia Coli asociado con fibra de coco no mejora la calidad del suelo contaminado por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca?

H_1 : El uso del Escherichia Coli asociado con fibra de coco si mejora la calidad del suelo contaminado por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca.

H_0 : ¿El uso del Escherichia Coli asociado con fibra de coco no modifica el pH y CE del suelo contaminado por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca?

H_1 : ¿El uso del Escherichia Coli asociado con fibra de coco si modifica el pH y CE del suelo contaminado por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca?

H₀: La concentración de cadmio y plomo en suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca; no reducirá al término del tratamiento de Escherichia Coli asociado con fibra de coco.

H₁: La concentración de cadmio y plomo en suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca; si reducirá al término del tratamiento de Escherichia Coli asociado con fibra de coco.

1.7. Objetivos

- **Objetivo General**

Determinar la eficiencia de la Escherichia Coli asociado con fibra de coco en la reducción de cadmio y plomo en suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca.

- **Objetivos Específicos**

Determinar cómo mejora el uso de la Escherichia Coli asociado con fibra de coco la calidad del suelo contaminado por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca.

Determinar cómo modifica del pH y CE el tratamiento de reducción de cadmio y plomo al usar Escherichia Coli asociado con fibra de coco en suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca.

Determinar la concentración de cadmio y plomo al terminar el tratamiento de Escherichia Coli asociado con fibra de coco en los

suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca.

II. MÉTODO

2.1. Diseño de Investigación

La investigación realizada, es con diseño experimental y explicativo; la cual manipula dos variables de estudio, para que el investigador pueda controlar el aumento y disminución de las variables y los efectos del estímulo aplicado.

Un experimento realizará una alteración en el valor de la variable independiente para poder observar los efectos en la variable dependiente, esto será monitoreado para controlar y describir las causas y efectos que produce el tratamiento.

Considera también que ante la aplicación de un pre prueba y post prueba con un determinado grupo se le destina una prueba anticipada como estímulo o como un tratamiento experimental, para posteriormente aplicarlo. (Hernández, 2014)

El presente trabajo es un estudio con un diseño experimental, que incluye antes y después de las pruebas, ya que se aplicarán estímulos al suelo contaminado para determinar si la solución propuesta puede responder a los estímulos sugeridos.

El formato general se diagrama de la siguiente manera:

RG1	X1	01
RG2	X2	02
RG3	X3	03
...
...
RG $k+1$...	0 $k+1$

X: Tratamiento experimental

0: Post prueba de los grupos

RG: Pre prueba.

En la presente investigación para determinar la eficiencia de reducción de cadmio y plomo utilizando al Escherichia Coli asociado con fibra de coco (sustrato) en suelos contaminados con agroquímicos se realizaron con 3 repeticiones por tratamiento semanalmente, la evaluación se llevó a cabo durante 4 semanas consecutivas a fin de evaluar el proceso de desarrollo del Escherichia Coli en la reducción de cadmio y plomo. (Tabla 4)

Tabla 4: Arreglo de Repeticiones

Tiempo de Evaluación	TRATAMIENTO					
	E. COLI			E. COLI + FIBRA DE COCO		
Muestreo 1	R-1A	R-2A	R-3A	R-1B	R-2B	R-3B
Muestreo 2	R-1A	R-2A	R-3A	R-1B	R-2B	R-3B
Muestreo 3	R-1A	R-2A	R-3A	R-1B	R-2B	R-3B
Muestreo 4	R-1A	R-2A	R-3A	R-1B	R-2B	R-3B

Fuente: Elaboración Propia, 2018

M1: A 7 días de sembrada el Escherichia Coli, para verificar su crecimiento.

M2: A 14 días de sembrada el Escherichia Coli.

M3: A 21 días

M4: A 31 días.

Así mismo para determinar la eficiencia del tratamiento se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de eficiencia} = \frac{(C_i - C_f) \times 100}{C_i}$$

Formula 1: Cálculo del porcentaje de eficiencia

Dónde:

C_i: Concentración inicial del metal (ppm)

C_f: Concentración final del metal (ppm)

% e: Porcentaje de eficiencia

2.2. Variable, Operacionalización

- **Variable Independiente:** Uso de Escherichia Coli asociado con fibra de coco.
- **Variable Dependiente:** Reducción de cadmio y plomo en suelos contaminados por agroquímicos.

OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala de Unidad
Variable Independiente: <i>Uso de Escherichia Coli asociado con fibra de coco.</i>	Escherichia Coli: Bacterias de gran negativas utilizadas como degradadoras de contaminantes tóxicos.(Leahy y Cowel, 1990)	Proceso de observación en el comportamiento del Escherichia Coli asociado con fibra de coco, registrándose el periodo del tratamiento mediante análisis de espectroscopia de cadmio y plomo. La fibra de coco ayudara a que el Escherichia Coli reduzca mayor concentración de cadmio y plomo en el suelo; ambos tratamientos ayudaran a aumentar materia orgánica y estabilizar el contaminante para que el Escherichia Coli pueda degradar el cadmio y plomo.	Escherichia Coli	Cantidad de Unidades formadora de colonias (UFC) de E. coli	UFC
	Fibra de Coco Material orgánico que se emplea como componente de sustrato para el suelo. Tiene una alta capacidad de retención de agua, mejora la estabilidad del pH y conductividad eléctrica del medio; tiene un gran nivel de porosidad y alta capacidad de aireación. (Paulitz, 2001)		Escherichia coli con fibra de coco.	Cantidad de Unidades formadora de colonias (UFC)	UFC
	Uso de Escherichia Coli asociada fibra de coco: Aplicación de sustrato junto con Escherichia Coli, bacteria de Gram negativa para poder reducir la concentración de cadmio y plomo, bacterias degradadoras de metales pesados. (Elein, 2010)		Características Fibra de coco	Cantidad de fibra de coco.	gramos
			Peso	Kg.	

OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala de medición
Variable Dependiente: <i>Reducción de cadmio y plomo en suelos contaminados por agroquímicos.</i>	<p>Reducción de cadmio y plomo en suelos contaminados:</p> <p>Disminuir la concentración de cadmio y plomo, metal pesado que se encuentra en el suelo que ya ha afecto la calidad y condición del suelo, el cual se encuentra presente en el suelo por el uso de sustancias agroquímicas. (Beltran, 2001)</p>	<p>La concentración de cadmio y plomo presente en el suelo agrícola será medida al inicio y al final del experimento, así mismo se evaluará el pH, CE y materia orgánica, serán monitoreado semanalmente.</p> <p>La técnica de determinación de cadmio y plomo en el suelo será a través de la espectrofotometría, la cual se realizara semanalmente con tres repeticiones por tratamiento, este análisis de suelos determinara las concentraciones de cadmio y plomo que se reducirán semanalmente.</p>	Cadmio en suelo.	Concentración inicial de cadmio (ppm)	ppm
				Concentración de cadmio final (ppm)	ppm
			Plomo en suelo.	Concentración inicial de plomo	ppm
				Concentración de plomo final (ppm).	ppm
			Características químicas del suelo.	pH	Acido- Alcalino
				CE	(dS/m)
				Materia Orgánica	Bajo, medio y moderado

2.3. Población y Muestra

2.3.1. Población

La población está conformada por las áreas contaminadas con cadmio y plomo, de suelo agrícola en el fundo La Venturosa, en el distrito de Supe.

El suelo agrícola está contaminado por el uso de agroquímicos empleados para los cultivos.

2.3.2. Muestra

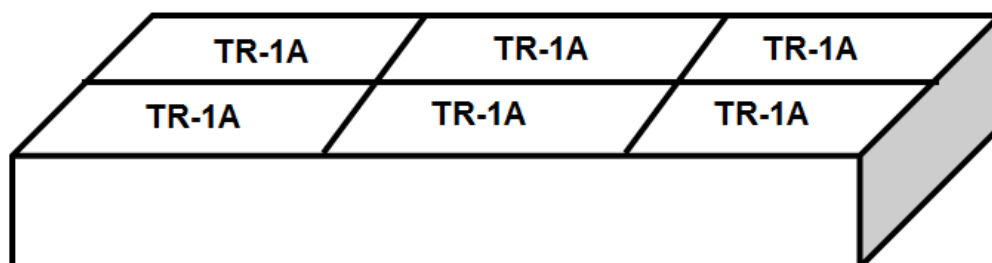
La muestra de la investigación es por conveniencia, donde la muestra se autoselecciona debido a la disponibilidad y conveniencia del investigador. (Hernández, 2014)

Las muestras del suelo fueron tomadas por conveniencia, debido a la disponibilidad del tiempo y periodo de la investigación.

La muestra de suelo consiste en 6 m², la que estará establecida en una cama de muestra para la aplicación de cada tratamiento, se trabajará con 60 kilogramos de tierra. **(Figura 6)**

2.3.3. Unidad de análisis

Suelos contaminados por cadmio y plomo.



Fuente: Elaboración Propia, 2018

Figura 6: Distribución de cama de muestreo

Dónde:

TR-A: Tratamiento con *Escherichia Coli*

TR-B: Tratamiento de *Escherichia Coli* con Fibra de coco.

Se tendrá 4 muestra de suelo, con 3 repeticiones por cada tratamiento para determinar la reducción del cadmio y plomo.

Se recolectaran 1/2 kilo de tierra de cada tratamiento con 3 repeticiones, para determinar las concentraciones (ppm) de cadmio y plomo presente en el suelo.
(Tabla 5)

Tabla 5: Distribución de muestreo

Día de evaluación	TRATAMIENTO					
	E. COLI			E. COLI + FIBRA DE COCO		
Concentración	10 UFC			10 UFC / 200gr de fibra de coco		
7 días	R-1A	R-2A	R-3A	R-1B	R-2B	R-3B
14 días	R-1A	R-2A	R-3A	R-1B	R-2B	R-3B
21 días	R-1A	R-2A	R-3A	R-1B	R-2B	R-3B
31 días	R-1A	R-2A	R-3A	R-1B	R-2B	R-3B

Fuente: Elaboración propia, 2018.

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

2.4.1. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

Tabla 6: Técnicas de recolección de datos

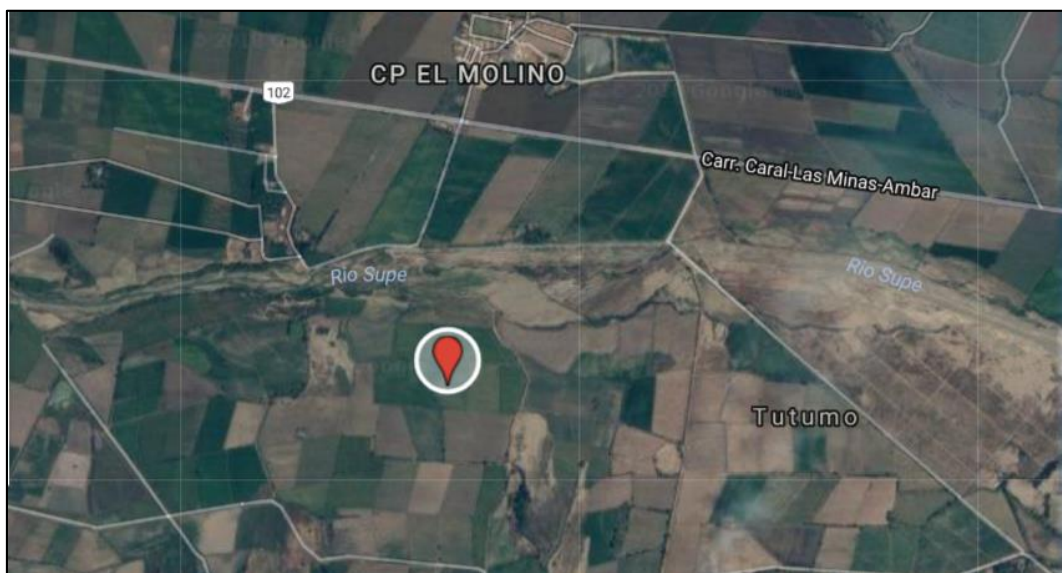
ETAPAS	FUENTES	TECNICA	INSTRUMENTOS
Toma de muestra del suelo agrícola en condiciones iniciales	MINAM	Observación y análisis de la muestra inicial en laboratorio	Ficha de campo para muestreo de suelos, ficha de parámetros físicos y químicos inicial de suelos.
Preparación de terreno y aplicación de los tratamientos.	Área de experimentación e Investigador	Observación	Hojas de campo donde se anotaran los datos e información de acuerdo las observaciones que se muestren en campo.
Toma de información durante el desarrollo	Investigador	Observación	Ficha de seguimiento de parámetros físico y químicos del suelo.
Recolección de muestra de suelo.	Laboratorio acreditado e investigador	Observación	Ficha de parámetros físicos y químicos final de suelos.
Análisis de resultados finales	Laboratorio acreditado e investigador	Observación	Procesamiento de datos en Excel y SPSS 10 de los resultados finales.

Fuente: Elaboración propia, 2018.

2.5. Metodología de la Investigación

2.5.1. Etapas de la investigación

Para llevar a cabo la presente investigación se tomaron muestras de suelo del fundo la venturosa, ubicado en el distrito de supe, Provincia de Barranca al norte de Lima. **(Figura 7)** Se usó el software Google Maps para la respectiva localización.



Fuente: Elaboración propia, 2018.

Figura 7: Ubicación del Fundo La Venturosa

La biorremediación es ex-situ, ya que las muestras fueron trasladadas a una cama de muestreo ubicada en el distrito de Los olivos, que fue acondicionada para llevar a cabo el estudio; en donde se realizaron los tratamientos y muestreos. Se armó una cama con 6 separaciones, 3 repeticiones por tratamiento

Mendoza (2015) estableció en su tesis titulada “Eficiencia de pseudomonas aeruginosa en la reducción de plomo y cadmio de suelos contaminados por la minería san mateo de Huanchor” un arreglo de repeticiones para la evaluación de muestras, y el tiempo de duración del monitoreo de los tratamientos.

Siguiendo una metodología establecida ya mencionada la presente investigación se realizó en 31 días, realizando análisis semanalmente, en el cual se evaluaron las concentraciones de cadmio y plomo en ppm.

I. Exploratoria: Obtención de Escherichia Coli y elaboración de fibra de coco.

Los equipos y materiales utilizados para el cultivo de Escherichia Coli se especifican en la Tabla 7 y Tabla 8.

Tabla 7: Materiales

Materiales	Cantidad
Frascos esterilizados	03 unidades
Papel aluminio	01 unidad
Papel Craft	01 unidad
Botella de alcohol 1lt	02 unidades
Frascos de agua destilada 1 lt	12 unidades
Ligas	01 caja
Encendedor	01 unidad
Vaso precipitado	03 unidades
Matraz	03 unidades
Tubos de ensayo	12 unidades
Campana de Durham	12 unidades
Placas Petri	40 unidades
Porta objeto	20 unidades
Cubre objeto	20 unidades
Mechero	01 unidad
Asa de siembra	01 unidad
Balanza analítica	01 unidad
Magnetos	02 unidades
Espátula	01 unidad
Incubadora	01 unidad
Autoclave	01 unidad
Horno esterilizado	01 unidad
Pipeta	02 unidades
Trípode	01 unidades

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Tabla 8: Reactivos

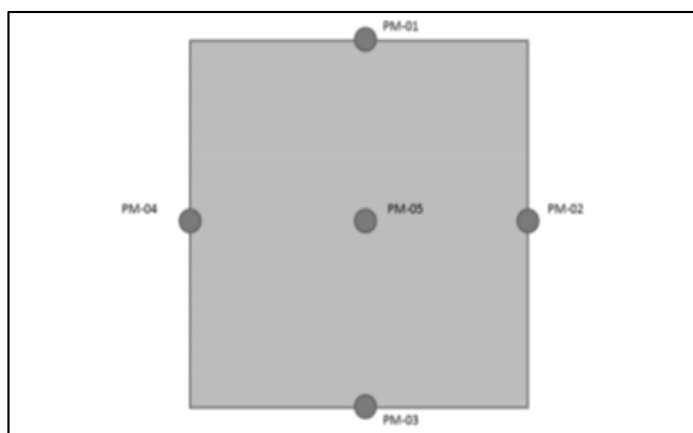
Reactivos	Cantidad
Agar E. Coli	20 gr
Agar Nutritivo	20gr
Agar verde brillante	20 gr
Agar carne	20 gr

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Para el diseño de cultivo de bacterias se llevó a cabo mediante procedimiento de cultivos y asilamiento de bacterias utilizado en estudios de microbiología de la Universidad de Antioquia, Colombia.

Toma de muestra de suelo

Para llevar a cabo el muestreo de suelos inicial e identificar la concentración de cadmio y plomo (ppm) inicial, se utilizó la guía de muestreo de suelos establecida por el Decreto Supremo N°011-2017-MINAM, Estándares de calidad ambiental para suelo. **(Figura 8)**



Fuente: MINAM, 2017.

Figura 8: Localización de puntos de Muestreo en el Área de Excavación regular.

Según la Guía para el muestreo de suelos del marco del Decreto Supremo N°002-2013-MINAM, se recolectaron muestras de 500gr de suelo para llevarlas a analizar la concentración de cadmio y plomo (ppm), en el laboratorio de la Universidad Nacional Agraria La Molina, de la facultad de Agronomía. Para la extracción de muestras se cavaron 30 cm de profundidad y se procedió a retirar las muestras en bolsas ziploc. **(Figura 9)**



Fuente: Elaboración Propia 2018

Figura 9: Toma de muestras del suelo contaminado.

Aislamiento de Escherichia Coli

Se extrajeron muestras de agua del río Supe para realizar el aislamiento de estos microorganismos para producir colonias aisladas en frascos esterilizados, los cuales fueron llevados al laboratorio de Biotecnología, de la Universidad Cesar vallejo, Lima Norte. **(Figura 10)**



Fuente: Elaboración Propia, 2018.

Figura 10: Figura 8: Toma de muestras de agua, del Río Supe.

En el Laboratorio de Biotecnología Ambiental de la Escuela profesional de Ingeniería Ambiental de la Universidad Cesar Vallejo Lima Norte, se realizó el aislamiento de *Escherichia Coli*. **(Figura 11)**



Fuente: Elaboración Propia, 2018.

Figura 11: Muestra de agua con *Escherichia Coli*.

Para el aislamiento de *Escherichia Coli*, se utilizaron medios de cultivos: Agar verde brillante y Agar de carne, debido a que estos son empleados para identificación de

bacterias de Gram negativos, luego se aplicó el Agar MacConkey el cual también es utilizado para las bacterias de tipo enterobacter y el Agar EMB conocido como azul de metileno también se aplican para Escheriachia Coli.

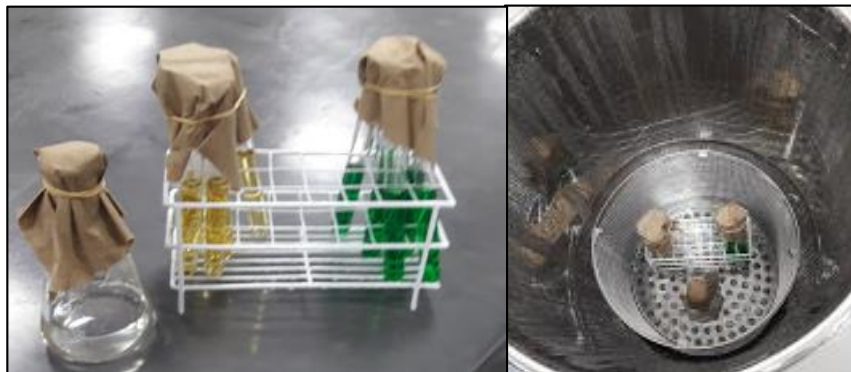
Las muestras con MacConkey, formaron colonias rosadas, mientras que las muestras con EMB formaron colonias purpuras con alos verde brillantes. **(Figura12)**



Fuente: Elaboración Propia, 2018.

Figura 12: Preparación de Agar Carne y Agar Verde Brillante.

Los medios de cultivos fueron preparados en tubos de ensayos con campanas Durham, fueron esterilizados en autoclave por 20 minutos, a una temperatura de 120°C. **(Figura 13)**



Fuente: Elaboración Propia, 2018.

Figura 13: Medios de cultivo en el autoclave.

Siembra de cultivo E. coli

Al retirar los medios de cultivos, de la autoclave, estos fueron llevados a la incubadora por 48 horas a una temperatura de 37.5°C. Al terminar el periodo de incubación, se preparó el agar MacConkey en una proporción de 7gr en 200mL y el agar EMB en 4,9gr en 100mL, luego se colocó en la placa Petri y comenzó con la siembra. **(Figura 14)**



Fuente: Elaboración Propia, 2018.

Figura 14: Preparación de Agar MacConkey

Para la confirmación de presencia de Escherichia Coli se utilizó Agar Escherichia Coli, 3,7gr en 100mL de agua destilada. **(Figura 15)**



Fuente: Elaboración Propia, 2018.

Figura 15: Preparación de Agar Escherichia Coli.

Luego del aislamiento de Escherichia Coli, se procedió con el cultivo en placa Petri con agar MacConkey y Agar Nutritivo. **(Figura 16)**



Fuente: Elaboración Propia, 2018.

Figura 16: Preparación de placas Petri.

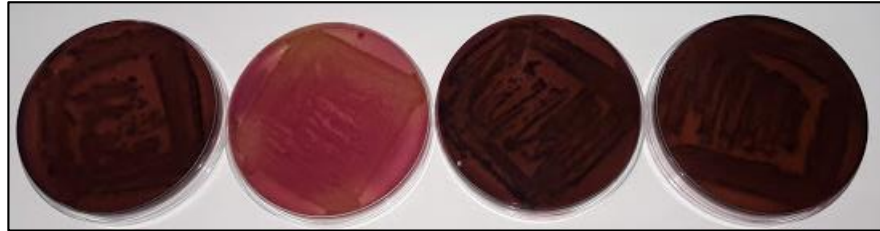
Para realizar este procedimiento, en la placa Petri colocamos una gota de cloruro de sodio (NaCl) al 0.9%, flameamos el asa de siembra al rojo vivo y tomamos la muestra de Escherichia Coli y la colocamos en la placa Petri, extendiendo el inoculo haciendo líneas paralelas, luego volvemos a flamear el asa de siembra para volver a esparcir el inoculo en líneas verticales y horizontal hasta que cubran toda la placa. **(Figura 17)**



Fuente: Elaboración Propia, 2018.

Figura 17: Aplicación de Cloruro de Sodio

En el cultivo de las placas con Agar, se utilizó el método de siembra por estrías en rozando la superficie, sin raspar; este método de siembra logra conseguir colonias separadas para un mejor análisis. **(Figura 18)**



Fuente: Elaboración Propia, 2018.

Figura 18: Siembra bacteriana de Escherichia Coli

Elaboración de Fibra de coco como sustrato

Para elaborar la fibra de coco, se extrae la cascara externa e interna del coco, también conocida como epicarpio y mesocarpio; se utilizó 20 cocos para obtener 3 kilogramos de fibra de coco. **(Figura 19)**



Fuente: Elaboración Propia, 2018.

Figura 19: Extracción de fibra de coco.

Así mismo luego de obtener la fibra de coco, en un recipiente se agregó 1 kilogramo de arena fina con 3 kilogramos de fibra de coco y 1 litro de agua. **(Figura 20)**



Fuente: Elaboración Propia, 2018.

Figura 20: Preparación de fibra de coco.

Se dejó reposar por 24 horas para luego aplicarlo a las muestras de suelo contaminados y utilizarlo como sustrato.

II. Experimental: Tratamiento de Escherichia coli en suelo contaminados con cadmio y plomo.

a) Preparación muestras:

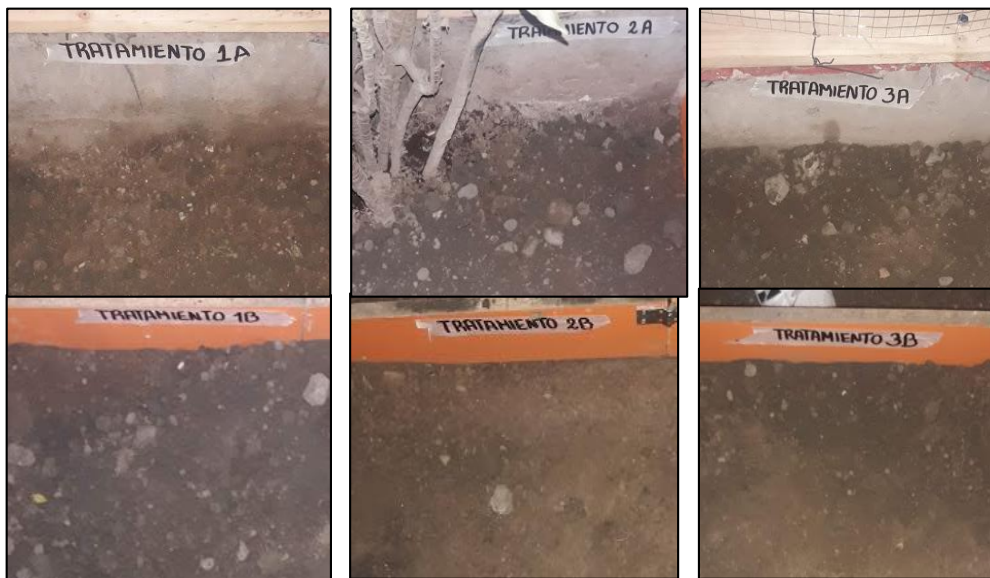
Se trasladaron 10 kg por cada muestra de suelo, y se colocaron en una cama rectangular de la cual se realizaron respectivos análisis.

Una vez armado este sistema, se llevó a cabo la aplicación del tratamiento con Escherichia Coli para la reducción de cadmio y plomo, para luego realizar monitoreo del proceso de biorremediación. **(Figura 21 y 22)**



Fuente: Elaboración Propia, 2018.

Figura 21: Cama de muestreo.



Fuente: Elaboración Propia, 2018.

Figura 22: Tratamientos 1A-1B-2A-2B-3A-3B

Luego de haber realizado la cama de muestreo, se llevará a cabo el acondicionamiento y monitoreo de tierra. Se aplicará *Escherichia coli* en el suelo con abono orgánico para la reducción de cadmio y plomo, en un medio líquido. **(Figura 23)**



Fuente: Elaboración Propia, 2018.

Figura 23: Aplicación del Tratamiento

Para luego monitorear semanalmente los parámetros físicos del medio pH, CE, humedad y materia orgánica; y concentración de cadmio y plomo (ppm).

Mantenimiento del tratamiento

Para llevar a cabo el mantenimiento del tratamiento se consideró, el riego, y manejo de muestra.

EL riego se realizó diario en horas de la mañana, se realizaron removimiento de tierra en las camas de muestreo antes de sacar una muestra para analizar.

2.6. Validez y confiabilidad

Se presentó el proyecto de investigación con la tabla de validación de instrumentos a los expertos, los instrumentos son: ficha de muestreo, y registros de parámetros físicos y químicos de los resultados. La confiabilidad se determinó con el valor obtenido del alfa de Cron Bach.

Tabla 9: Base de datos de la confiabilidad de instrumentos

Base de datos																																
Especialistas	Instrumento1										Instrumento 2										Instrumento 3										Total	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
F-1	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	80	80	80	80	80	85	85	85	85	85	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	2625
F-2	80	80	80	80	80	85	85	85	85	85	80	80	80	80	80	85	85	85	85	85	80	80	80	80	80	80	85	85	85	85	85	2475
F-3	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	80	80	80	80	80	85	85	85	85	85	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	2625
Varianza	33,33	33,33	33,33	33,33	33,33	8,33	8,33	8,33	8,33	8,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	33,33	33,33	33,33	33,33	33,33	33,33	8,33	8,33	8,33	8,33	8,33	416,67

Fuente: Elaboración propia, 2018

K	30
$\sum Vi$	416,667
Vt	7500.000

$$\alpha = \frac{k}{k-1} \left[1 - \frac{\sum Vi}{Vt} \right]$$

K= Números de Ítems

$\sum Vi$ = Suma de varianza de los Ítems

Vt= Varianza total

Formula 2: Alfa de cronbach mediante varianza de ítems

En la tabla 9, se obtuvo como resultado el alfa de Cronbach, el valor de 0,9770, demostrando así que los instrumentos empleados en la investigación son confiables. **(Figura 24)**

$$\alpha = \frac{30}{30-1} \left[1 - \frac{416,667}{7500,00} \right]$$

$$\alpha = 0,9770$$

Fuente: Elaboración propia, 2018

Figura 24: Resultado de alfa de Cronbach, mediante varianza de ítems.

Tabla 10 : Alfa de Cronbach procesado en SPSS

Estadísticos de fiabilidad	
Alfa de Cronbach	N de elementos
,977	30

Fuente, Elaboración propia, 2018.

Tabla 11: Valores de estadísticos descriptivos para alfa de Cronbach - SPSS

Estadísticos descriptivos		
	N	Varianza
1,	3	33,333
2,	3	33,333
3,	3	33,333
4,	3	33,333
5,	3	33,333
6,	3	8,333
7,	3	8,333
8,	3	8,333
9,	3	8,333
10,	3	8,333
1,	3	,000
2,	3	,000
3,	3	,000
4,	3	,000
5,	3	,000
6,	3	,000
7,	3	,000
8,	3	,000
9,	3	,000
10,	3	,000
1,	3	33,333
2,	3	33,333
3,	3	33,333
4,	3	33,333
5,	3	33,333
6,	3	8,333
7,	3	8,333
8,	3	8,333
9,	3	8,333
10,	3	8,333
Suma	3	7500,000
N válido (según lista)	3	

Fuente: Elaboración propia, 2018.

2.7. Métodos de análisis de datos

Los datos obtenidos en la fase experimental y de monitoreo fueron analizados a través del programa SPSS, para verificar si cumple con el comportamiento de distribución normal, donde los valores de P-Valor resulta ser mayor a 0.05, indicando que los datos están en el rango de 97.7% de confiabilidad.

Se utilizará este programa para tener análisis más fiables, para elaborar tablas de comparación según los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para suelo D.S. N°011-2017-MINAM. **(Tabla 1)**

Para la comparación de medias de tratamientos se utilizó estadística diferencial y se determinara por T de Student.

2.8. Aspectos éticos

El investigador manifiesta que todos los datos, información y contenido en la presente investigación son veraces y de autoría propia, cumpliendo con el principio de autenticidad que todo profesional debe de tener.

III. RESULTADOS

3.1. Eficiencia del Escherichia Coli asociado con fibra de coco en la reducción de cadmio y plomo en suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca.

3.1.1. Las muestras de suelos contaminados fueron llevado al laboratorio de la Universidad Agraria La Molina, Facultad de Agronomía para ser evaluada mediante un análisis de espectrofotometría (**Anexo 7**), para determinar las concentraciones iniciales de cadmio y plomo presentes en el suelo.

La muestra testigo determino que el valor de cadmio presente en el suelo fue de 6.78ppm, sobrepasando el Estándar de Calidad Ambiental (ECA) para suelos establecido en el Decreto Supremo N° 001-217-MINAM, el cual establece un valor máximo de 1.4 ppm de cadmio y 70 ppm de plomo para suelos agrícolas.

Luego de la aplicación del tratamiento mediante Escherichia Coli asociado con fibra de coco, se evaluaron las muestras semanalmente, para determinar la reducción de cadmio y plomo en el suelo.

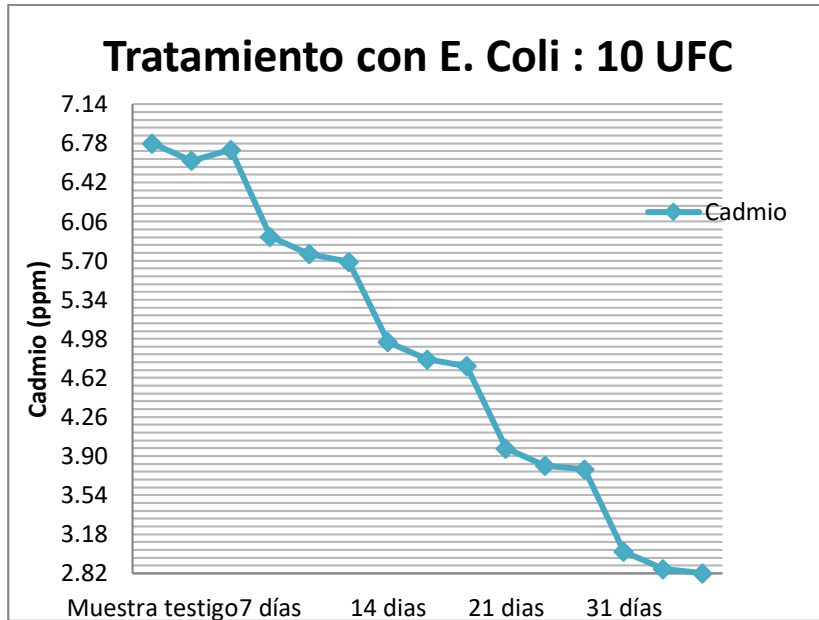
En el tratamiento que solo se utilizó Escherichia Coli como microorganismo reductor en la primera semana se logró reducir la concentración de cadmio y plomo (ppm), el cadmio disminuyo de 6.78ppm a 5.92ppm, mientras que el plomo disminuyo de 80.05 ppm a 79.85 ppm.

Al término del tratamiento que duro 31 días, obtuvo como resultado final una concentración de 2.82 ppm de cadmio y 78.76 ppm de plomo.

En el **grafico 1** se observa la reducción de concentraciones de cadmio (Cd) presentes en la muestra de suelo con sus tres repeticiones, durante el

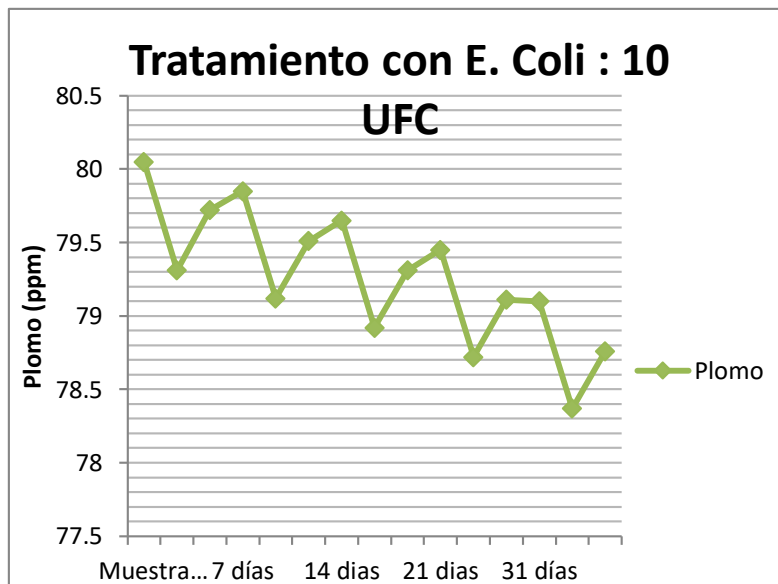
tratamiento con Escherichia Coli. Los resultados obtenidos en las evaluaciones fueron similares en los tiempos evaluados.

Figura 25: Reducción de Cadmio con E. Coli



En el **grafico 2** se observa la reducción de concentraciones de plomo (Pb) presente en la muestra de suelo, durante el tratamiento con Escherichia Coli (10 UFC).

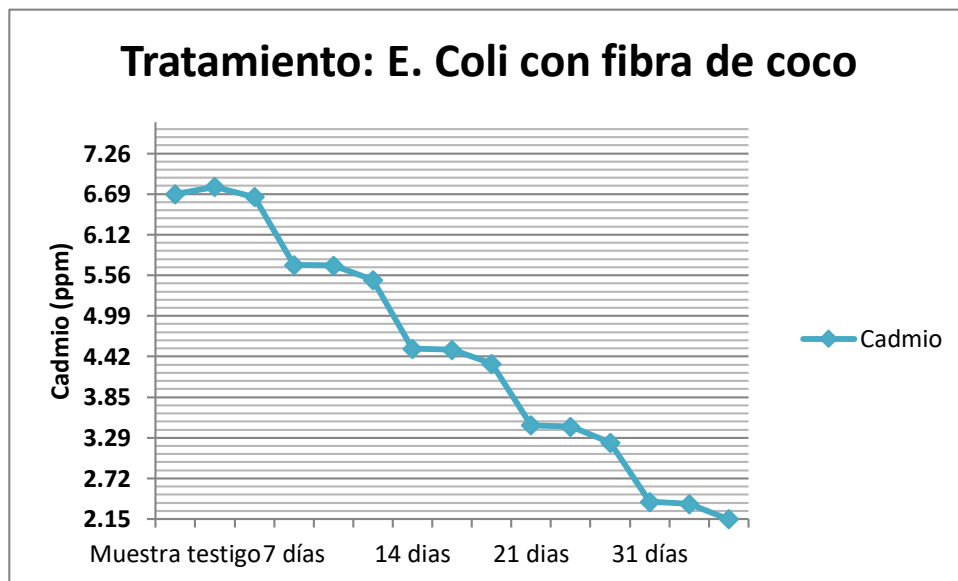
Figura 26: Reducción de Plomo con E. Coli



Mientras que el segundo tratamiento, el cual se empleó Escherichia Coli (10 UFC) con fibra de coco (200 gramos), extraída del epicarpio y mesocarpio del coco; los resultados fueron mejores, ya que la cantidad de concentración de metales (ppm) fueron mayores al primer tratamiento. Al igual que el primer tratamiento, se evaluó por 31 días y se monitoreo semanalmente.

En el **grafico 3** se observa los resultados de las concentraciones de cadmio (ppm) presentes en las muestras evaluadas del segundo tratamiento. El cadmio disminuyo de 6.69 ppm a 2.15 ppm, este tratamiento resulto más eficiente que el primero. En este tratamiento se utilizó fibra de coco para ayudar a mejorar la calidad y aumentar materia orgánica.

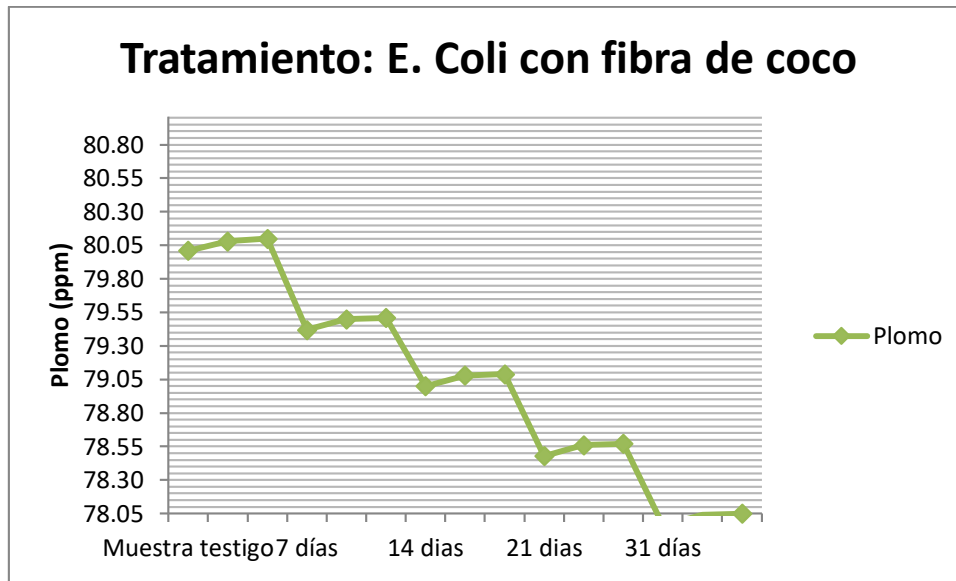
Figura 27: Reducción de Cadmio con E. Coli y fibra de coco



En el **grafico 4** se observa los resultados finales de las concentraciones de plomo en ppm del segundo tratamiento: Escherichia Coli con fibra de coco.

Las concentraciones de plomo en las muestras evaluadas descendieron paulatinamente, logrando un buen resultado de 80.01 ppm a 77.96 ppm.

Figura 28: Reducción de Plomo con E. Coli y fibra de coco



En la **tabla 12** se puede observar los resultados obtenidos de cadmio y la **tabla 13** los resultados de plomo, durante los 31 días de evaluación.

Tabla 12: Resultados de concentraciones de Cadmio (ppm)

CONCENTRACION DE TRATAMIENTO	TESTIGO		SEMANA 1		SEMANA 2		SEMANA 3		SEMANA 4	
	Muestra	Cadmio (ppm)	Muestra	Cadmio (ppm)	Muestra	Cadmio (ppm)	Muestra	Cadmio (ppm)	Muestra	Cadmio (ppm)
10UFC E. COLI	Muestra 1A	6.78	Muestra1A	5.92	Muestra 1A	4.95	Muestra 1A	3.97	Muestra 1A	3.02
	Muestra 2A	6.62	Muestra 2A	5.76	Muestra 2A	4.79	Muestra 2A	3.81	Muestra 2A	2.86
	Muestra 3A	6.72	Muestra 3A	5.69	Muestra 3A	4.73	Muestra 3A	3.78	Muestra 3A	2.82
10UFC E. COLI + 200gr Fibra de Coco	Muestra 1B	6.69	Muestra 1B	5.70	Muestra 1B	4.53	Muestra 1B	3.46	Muestra 1B	2.39
	Muestra 2B	6.79	Muestra 2B	5.69	Muestra 2B	4.51	Muestra 2B	3.44	Muestra 2B	2.36
	Muestra 3B	6.65	Muestra 3B	5.49	Muestra 3B	4.32	Muestra 3B	3.22	Muestra 3B	2.15

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Tabla 13: Resultados de concentraciones de Plomo (ppm)

CONCENTRACION DE TRATAMIENTO	TESTIGO		SEMANA 1		SEMANA 2		SEMANA 3		SEMANA 4	
	Muestra	Plomo (ppm)	Muestras	Plomo (ppm)	Muestra	Plomo (ppm)	Muestra	Plomo (ppm)	Muestra	Plomo (ppm)
10UFC E. COLI	Muestra 1A	80.05	Muestra1A	79.85	Muestra 1A	79.65	Muestra 1A	79.45	Muestra 1A	79.10
	Muestra 2A	79.31	Muestra 2A	79.12	Muestra 2A	78.92	Muestra 2A	78.72	Muestra 2A	78.37
	Muestra 3A	79.72	Muestra 3A	79.51	Muestra 3A	79.31	Muestra 3A	79.11	Muestra 3A	78.76
10UFC E. COLI + 200gr Fibra de Coco	Muestra 1B	80.01	Muestra 1B	79.42	Muestra 1B	79.00	Muestra 1B	78.48	Muestra 1B	77.96
	Muestra 2B	80.08	Muestra 2B	79.50	Muestra 2B	79.08	Muestra 2B	78.56	Muestra 2B	78.04
	Muestra 3B	80.10	Muestra 3B	79.51	Muestra 3B	79.09	Muestra 3B	78.57	Muestra 3B	78.05

Fuente: Elaboración propia, 2018.

3.2. Determinar cómo el uso de la Escherichia Coli asociado con fibra de coco mejora la calidad del suelo contaminado por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca.

Para determinar si la fibra de coco mejoraría la calidad del suelo contaminado, se aplicó fibra de coco en una dosis de 200gr en cada muestra, siendo evaluada semanalmente.

En la **tabla 15**, se verifica los resultados obtenidos de los parámetros químicos del suelo como el pH, C.E. y materia orgánica.

Mediante la aplicación de un microorganismo reductor de cadmio y plomo, y con ayuda de un sustrato elaborado a base de fibra de coco; la calidad de suelo mejoro. La calidad del suelo se basa en el mejoramiento de los parámetros químicos evaluados debido al estímulo aplicado en cada muestra.

El aumento de materia orgánica a un valor moderado y la modificación del pH ácido a uno casi neutro, mejorara la calidad del suelo. Estos resultados favorecen al suelo y son de gran ayuda en la reducción de contaminantes, debido a que estas características ayudan a estabilizar al contaminante para que el Escherichia Coli pueda cumplir su función reducir las concentraciones de cadmio y plomo presentes en las muestras contaminadas.

Tabla 14: Resultados de Características químicas de las muestras

Tiempo	Muestras	pH	C.E (dS/m)	M.O
Muestra testigo	Muestra 1A	3.6	3.94	1.275
	Muestra 2A	3.6	3.85	1.975
	Muestra 3A	3.6	3.91	1.759
	Muestra 1B	3.6	3.95	1.285
	Muestra 2B	3.6	3.79	1.899
	Muestra 3B	3.6	3.88	1.859
Tiempo 1 7 DIAS	Muestra 1A	4.4	3.77	2.132
	Muestra 2A	4.4	3.69	2.338
	Muestra 3A	4.4	3.79	2.611
	Muestra 1B	4.6	3.78	2.149
	Muestra 2B	4.6	3.71	2.405
	Muestra 3B	4.6	3.68	2.553
Tiempo 2 14 DIAS	Muestra 1A	4.9	3.67	2.202
	Muestra 2A	4.9	3.60	2.408
	Muestra 3A	4.9	3.70	2.681
	Muestra 1B	5.1	3.70	2.239
	Muestra 2B	5.1	3.63	2.495
	Muestra 3B	5.1	3.63	2.643
Tiempo 3 21 DIAS	Muestra 1A	5.4	3.60	2.250
	Muestra 2A	5.4	3.53	2.458
	Muestra 3A	5.4	3.63	2.731
	Muestra 1B	5.6	3.63	2.289
	Muestra 2B	5.6	3.58	2.535
	Muestra 3B	5.6	3.58	2.693
Tiempo 4 31 DIAS	Muestra 1A	5.9	3.58	2.350
	Muestra 2A	5.10	3.50	2.558
	Muestra 3A	5.11	3.60	2.831
	Muestra 1B	6.3	3.61	2.389
	Muestra 2B	6.3	3.56	2.635
	Muestra 3B	6.3	3.56	2.793

Fuente: Elaboración propia, 2018.

3.3. Determinar cómo modifica del pH y CE el tratamiento de reducción de cadmio y plomo al usar Escherichia Coli asociado con fibra de coco en suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca.

En la **tabla 15**, se verifica los resultados obtenidos de los parámetros químicos del suelo como el pH, C.E. y materia orgánica.

Se determinó que el Escherichia Coli, microorganismo utilizado para reducción de cadmio y plomo, en conjunto con la fibra de coco empleado como sustrato, mejoraron el pH del suelo ya que el pH inicial era ácido con un valor bajo mediante el tratamiento se aumentó el pH para lograr la inmovilización del cadmio y plomo para lograr la reducción de estos contaminantes presentes en el suelo, la materia orgánica aumento mediante el estímulo aplicado y la conductividad eléctrica reducida a un valor adecuado.

3.4. Determinar la concentración de cadmio y plomo al terminar el tratamiento de Escherichia Coli asociado con fibra de coco en los suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca.

En la **tabla 12 y tabla 13**, se demuestra el valor final de concentración de cadmio y plomo al término del tratamiento.

Las muestras de Escherichia Coli con fibra de coco fueron las que obtuvieron mayor reducción de metales; sin embargo, no llegaron a reducir lo que el Estándar de Calidad ambiental (ECA) requiere, 1.4 ppm en cadmio y 70ppm en plomo para suelos agrícolas.

3.5. Prueba de Hipótesis

Para la prueba de hipótesis se realizó mediante el cálculo estadístico t-student. Se utilizará la hipótesis general planteada:

Tabla 15: Prueba de normalidad para el cadmio – Tratamiento 1

Pruebas de normalidad							
	TRATAMIENTO	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
CADMIO	TESTIGO	,232	3	.	,980	3	,726
	TIEMPO 1	,267	3	.	,951	3	,576
	TIEMPO 2	,282	3	.	,936	3	,510
	TIEMPO 3	,331	3	.	,865	3	,281
	TIEMPO 4	,314	3	.	,893	3	,363

a. Corrección de significación de Lilliefors

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Prueba de hipótesis

H1: Los datos en una distribución normal proceden

H0: Los datos en una distribución normal no proceden

Regla de decisión

sig > 0,05. Rechazamos la **HO**:

Resultado

El valor de significancia de la prueba de normalidad es sig > 0,05. Rechazamos HO, por lo que aceptamos que los datos de H1 provienen de una distribución normal.

Tabla 16: Prueba de Homogeneidad de varianzas para el cadmio – Tratamiento 1

Prueba de homogeneidad de varianzas			
CADMIO			
Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,211	4	10	,926

Prueba de hipótesis

H1: Se asume que existe igualdad de varianzas.

H0: Se asumen que no existe igualdad de varianzas

Regla de decisión

sig >0,05. Rechazamos la **HO**:

Resultado

El valor de significación para la homogeneidad de la prueba de varianza es sig > 0.05. Rechazamos HO, por lo que aceptamos H1 suponiendo varianzas iguales.

Tabla 17: Prueba de T de STUDENT de muestras emparejadas para el cadmio – Tratamiento

Prueba de muestras emparejadas									
		Diferencias emparejadas					t	gl	Sig. (bilateral)
		Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
					Inferior	Superior			
Par 1	TESTIGO - TIEMPO 1	,91667	,09815	,05667	,67285	1,16048	16,176	2	,004
Par 2	TESTIGO - TIEMPO 2	1,88333	,09238	,05333	1,65386	2,11281	35,313	2	,001
Par 3	TESTIGO - TIEMPO 3	2,85333	,07506	,04333	2,66689	3,03978	65,846	2	,000
Par 4	TESTIGO - TIEMPO 4	3,80667	,08083	,04667	3,60588	4,00746	81,571	2	,000

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Prueba de hipótesis

H1: Existe eficiencia del Escherichia Coli asociado con fibra de coco en la reducción de cadmio y plomo en suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca.

H0: No existe eficiencia del Escherichia Coli asociado con fibra de coco en la reducción de cadmio y plomo en suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca.

Regla de decisión

sig <0,05. Rechazamos la **H0**

Resultado

En la tabla, los valores son menos significativos que 0,05, por lo que rechazamos H0 y aceptamos H1. Eficacia de Escherichia coli con coco en la reducción de cadmio y plomo en suelos contaminados con agroquímicos en el distrito de Supe. Barranca.

Tabla 18: Prueba de normalidad para el cadmio – Tratamiento 1

Pruebas de normalidad							
	TRATAMIENTO	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
PLOMO	TESTIGO	,192	3	.	,966	3	,881
	TIEMPO 1	,185	3	.	,958	3	,595
	TIEMPO 2	,151	3	.	,968	3	,985
	TIEMPO 3	,129	3	.	,949	3	,495
	TIEMPO 4	,133	3	.	,925	3	,763

a. Corrección de significación de Lilliefors

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Prueba de hipótesis

H1: Los datos proceden de una distribución normal

H0: Los datos no proceden de una distribución normal

Regla de decisión

sig > 0,05. Rechazamos la **HO**:

Resultado

La significancia de la prueba de normalidad, posee un valor de **sig** > 0,05. Rechazamos la **HO**, entonces aceptamos la **H1** Los datos proceden de una distribución normal.

Tabla 19: Prueba de homogeneidad de varianzas para el plomo- Tratamiento 1

Prueba de homogeneidad de varianzas			
PLOMO			
Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,001	4	10	1,000

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Prueba de hipótesis

H1: Se asumen que existe igualdad de varianzas

H0: Se asumen que no existe igualdad de varianzas

Regla de decisión

sig >0,05. Rechazamos la **HO**:

Resultado

La significancia de la prueba de homogeneidad de varianzas, posee un valor de **sig** >0,05. Rechazamos la **HO**, entonces aceptamos la **H1** Se asumen que existe igualdad de varianzas.

Tabla 20: Prueba de T STUDENT de muestras emparejadas para plomo – Tratamiento 1

Prueba de muestras emparejadas									
		Diferencias emparejadas					t	gl	Sig. (bilateral)
		Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
					Inferior	Superior			
Par 1	TESTIGO - TIEMPO 1	,20000	,01000	,00577	,17516	,22484	34,641	2	,001
Par 2	TESTIGO - TIEMPO 2	,40000	,01000	,00577	,37516	,42484	69,282	2	,000
Par 3	TESTIGO - TIEMPO 3	,60000	,01000	,00577	,57516	,62484	103,923	2	,000
Par 4	TESTIGO - TIEMPO 4	,95000	,01000	,00577	,92516	,97484	164,545	2	,000

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Prueba de hipótesis

H1: Existe eficiencia del Escherichia Coli asociado con fibra de coco en la reducción de cadmio y plomo en suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca.

H0: No existe eficiencia del Escherichia Coli asociado con fibra de coco en la reducción de cadmio y plomo en suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca.

Regla de decisión

sig <0,05. Rechazamos la **H0**

Resultado

Todos los valores de la tabla son inferiores a 0,05, por lo que descartamos H0 y aceptamos H1. La bacteria Escherichia coli en coco fue efectiva en la reducción de cadmio y plomo en suelos contaminados con agroquímicos en Supe, Barranca.

Tabla 21: Pruebas de normalidad respecto al pH – Tratamiento 1

Pruebas de normalidad							
	TRATAMIENTO	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
PH	TESTIGO	,205	3	.	,862	3	,295
	TIEMPO 1	,175	3	.	,782	3	,389
	TIEMPO 2	,189	3	.	,893	3	,489
	TIEMPO 3	,209	3	.	1,000	3	,495
	TIEMPO 4	,204	3	.	,876	3	,475

a. Corrección de significación de Lilliefors

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Prueba de hipótesis

H1: Los datos proceden de una distribución normal

H0: Los datos no proceden de una distribución normal

Regla de decisión

sig > 0,05. Rechazamos la **HO**:

Resultado

La significancia de la prueba de normalidad, posee un valor de **sig** > 0,05. Rechazamos la **HO**, entonces aceptamos la **H1** Los datos proceden de una distribución normal.

Tabla 22: Prueba de homogeneidad de varianzas de pH- Tratamiento 1

Prueba de homogeneidad de varianzas			
PH			
Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,000	4	10	1,000

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Prueba de hipótesis

H1: Se asumen que existe igualdad de varianzas

H0: Se asumen que no existe igualdad de varianzas

Regla de decisión

sig >0,05. Rechazamos la **H0**:

Resultado

La significancia de la prueba de homogeneidad de varianzas, posee un valor de **sig** >0,05. Rechazamos la **H0**, entonces aceptamos la **H1** Se asumen que existe igualdad de varianzas.

IV. DISCUSIÓN

En la presente investigación durante el proceso de biorremediación de suelos, en la reducción de cadmio y plomo empleando *Escherichia Coli*, se da mediante la degradación del contaminante, el microorganismo empleado captura el contaminante y lo neutraliza; contrastando con Beltrán y Gómez (2016), quien sustenta en su artículo “**Biorremediación de metales pesados cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg), mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: una revisión**” publicada por la Universidad Militar Nueva; manifiesta que el *Escherichia Coli* es una bacteria acumuladora de metales pesado.

Sin embargo, Ocaña (2016) expresa en su Tesis Doctoral “**Penetración y permanencia de *Escherichia Coli* y *Salmonella* en plantas y frutos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill)**” que el *Escherichia Coli* no es un microorganismo acumulador de metales pesados, si no degradativo, debido a su corta persistencia en el suelo, mediante su investigación demostró que el *Escherichia Coli* puede estar hasta 2 semanas en el suelo ya que estas bacterias son los huéspedes principales de las raíces de plantas.

En el proceso de reducción de cadmio y plomo mediante la aplicación de *Escherichia Coli* con fibra de coco, se concluyó que el *Escherichia Coli* si es un microorganismo reductor de metales pesados, sin embargo, en la investigación se demostró que redujo una mayor cantidad de cadmio a comparación del plomo. Con la presencia de cadmio en el medio el microorganismo no se vio afectado sin embargo su proceso de reducción fue más óptimo a mayor concentración.

En el proceso de remediación de suelos contaminados por agroquímicos, se comprobó que el *Escherichia Coli* es tolerante al cadmio y plomo, ya que las muestras se encontraban contaminadas con estos metales pesados. Según estudios realizados el *Escherichia Coli* solo es tolerante a ciertos metales pesados y contaminantes. Como lo demuestra Azario (2014) en su tesis para la obtención del Grado académico de Magister en Salud Ambiental, titulada “**Análisis de la toxicidad de metales contaminantes sobre el crecimiento de *Escherichia***

Coli: efecto del cromo, plomo y cadmio en la solución”, de la Universidad Nacional del Litoral, Santa Fé, Argentina. Utilizo *Escherichia Coli* (ATCC 35218), determinó que el *Escherichia Coli* es tolerante al cadmio, también se determinó que en el mismo estudio se aplicó cromo (III) y cromo (VI) la diferencia fue que el cromo hexavalente inhibe el crecimiento del *Escherichia Coli*, mientras que el cromo trivalente no modifica el crecimiento bacteriano.

Confirmando que el *Escherichia Coli* no es tolerante a todos los metales pesados, sin embargo, si es tolerante al cadmio, plomo y cromo trivalente.

A pesar que la biorremediación es un tema muy tocado, aun no se ha profundizado completamente, la bacteria *Escherichia Coli* no tiene muchos antecedentes con respecto a biorremediación de suelos, unos de las razones es el tiempo de permanencia en el medio y costo sin embargo resulta efectivo y beneficioso, por a su corto periodo de permanencia. Esto no resultaría ser un problema ya que el microorganismo cumple con su función de reducir, neutralizar y se eliminaría del medio cumpliendo su ciclo de vida.

Para el tratamiento aplicado en la investigación se aplicó *Escherichia Coli* y fibra de coco, la fibra de coco fue empleada como sustrato por que mejora la estabilidad del pH y conductividad eléctrica del suelo, algunos antecedentes afirman el mejoramiento de la calidad de suelo al emplear fibra de coco como sustrato, como lo expresa García (2015) en su tesis **“Estudio de factibilidad para la industrialización de la fibra de coco en el recinto La Tolita, Pampa de Oro”** de la Universidad Politécnica Salesiana, Sede Guayaquil, Ecuador. Señala que la fibra de coco empleada como sustrato es muy excelente, debido a su alta capacidad de retención de humedad y alta relación de carbón y nitrógeno. Lo cual se demostró en la investigación ya que la fibra de coco aumento materia orgánica, modifico convenientemente el pH y C.E; mejorando la calidad del suelo.

En el estudio realizado se confirma lo sustentado por García (20015) que la fibra de coco modifica y mejora la calidad de suelo.

A pesar que la biorremediación es un tema muy tocado, aun no se ha profundizado completamente, la bacteria *Escherichia Coli* no tiene muchos antecedentes con respecto a biorremediación de suelos. Una de las razones es el tiempo de permanencia en el medio, sin embargo, resulta efectivo y beneficioso. Esto no resultaría ser un problema ya que el microorganismo cumple con su función de reducir, neutralizar y se eliminaría del medio el contaminante cumpliendo su ciclo de vida.

V. CONCLUSIONES

1. El tratamiento de Escherichia Coli asociado con fibra de coco, resulto ser eficiente en la reducción de cadmio y plomo en el suelo contaminado, demostrado en la **tabla 12 y tabla 13**, que expresa que las concentraciones de cadmio y plomo han disminuido en el periodo del tratamiento aplicado durante 31 días. Disminuyendo una concentración que sobrepasa los estándares de calidad ambiental en suelos agrícolas; determinando que fue más eficiente en reducir cadmio que plomo. Los microorganismos empleados para el tratamiento actuaron como agentes reductores sobre metales pesados, cadmio y plomo.
2. El tratamiento de Escherichia Coli asociado con fibra de coco para la reducción de cadmio y plomo si modifica y mejora la calidad del suelo; mediante el sustrato utilizado mejoró el pH acido a uno casi neutro, y aumento materia orgánica a un nivel medio. Es de importancia que el suelo tenga un buen porcentaje de materia orgánica, lo que significa que tiene los nutrientes adecuados y necesarios para el uso de suelo agrícola.
3. El tratamiento de Escherichia Coli con fibra de coco empleado en la presente investigación logró modificar los parámetros químicos del suelo como el caso del pH, C.E y materia orgánica del suelo. Estos microorganismos y sustrato empleados en el suelo modificaron y mejoraron los parámetros químicos del medio contaminado; se logró reducir las concentraciones de cadmio y plomo del suelo. La fibra de coco utilizada como sustrato ayudo a aumentar el pH, ya que cuando el pH de un suelo acido aumenta se puede realizar la inmovilización de los metales y proseguir con la reducción de estos.
4. Las concentraciones de cadmio y plomo presentes en las muestras contaminadas descendieron, sin embargo, no se logró disminuir las concentraciones de estos metales a la concentración deseada, según el estándar de calidad ambiental para

el suelo agrícola la concentración de cadmio presente en el suelo debe ser menor a 1.4ppm y la concentración de plomo menor a 70ppm.

VI. RECOMENDACIONES

1. El presente trabajo evaluó tres características químicas del suelo: pH, C.E. y materia orgánica para determinar cómo mejoraría la calidad del suelo contaminado; se dio a conocer que el tratamiento aplicado en las muestras contaminadas por cadmio y plomo si mejoran las características químicas del suelo. Sin embargo, se recomienda evaluar otras características del suelo como: humedad, temperatura, porosidad, aireación, entre otras características que influyan en la reducción de contaminantes.
2. Realizar un monitoreo y estudio solo con fibra de coco, para conocer cómo funciona como sustrato solo en el suelo sin la intervención de un tratamiento adicional.
3. Aumentar el periodo de evaluación y monitoreo de las bacterias aplicadas al suelo contaminado, realizar mediciones quincenales, así mismo aplicarlo in-situ.
4. Implementar una evaluación de caracterización microbiológica del suelo que contaminado que ha sido tratado con Escherichia Coli asociado con abono orgánico.

REFERENCIAS

- ARENAS, S. Aislamiento y caracterización de ambientes contaminados por petróleo en la Refinería La Pampilla. Tesis (Licenciado de Ciencias Biológicas). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú, Lima. 1999. 81pp
- AZARIO, Raúl. Análisis de la toxicidad de metales contaminantes sobre el crecimiento de Escherichia Coli: efecto del cromo, plomo y cadmio en la solución. Tesis (Magister en Ciencias ambientales). Santa Fe: Universidad Nacional del Litoral. Argentina.2014. 120pp.
- BELTRAN, Mayra, GOMEZ, Alida. Biorremediación de metales pesados cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg) mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: Una revisión. Revista Facultad de ciencias básicas. [en línea]. 2016, vol.12, n.2 [citado el: 17 de julio de 2018], pp. 172-197. Disponible en: <https://revistas.unimilitar.edu.co/index.php/rfcb/article/viewFile/2027/1835>. ISSN 1900-4699.
- BETANCUR, Bibiana, PINO, Nancy, PEÑUELA, Gustavo y CARDONA, Santiago. Biorremediación de suelo contaminado con pesticidas: caso DDT. Revista gestión y ambiente. [en línea]. 2013, vol.16, n.3 [citado el: 22 de mayo de 2018], pp. 119-135. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/33349/1/33173-186773-1-PB.pdf>.
- DEL CARPIO, Carla. Estudio de bioadsorción de Pb(II) y Cd(II) usando como biomasa a Escherichia Coli asilada de las aguas contaminadas del río Huatanay de la ciudad del Cusco. Tesis (Doctor en ciencias y tecnologías medioambientales). Universidad Nacional de San Agustín. Perú, Arequipa. 2017. 176pp.

- Degradación de hidrocarburos aromáticos por bacterias aisladas de suelos contaminados con petróleo en el estado Zulia, Venezuela. [En línea]. Zulia: Centro de Investigaciones Biológicas, 2004. Vol.38 n.3 [Fecha de consulta: 31 de diciembre de 2017].

Disponible

en

<http://produccioncientificaluz.org/index.php/boletin/article/view/31/31>

- FAO. El suelo es un recurso no renovable, su conservación es esencial para la seguridad alimentaria y nuestro futuro sostenible. [En línea]. Roma, Italia: FAO, 2015. [Fecha de consulta: 10 de agosto de 2015]. Disponible en <http://www.fao.org/3/a-i4373s.pdf>
- GARCIA, Silvia. Estudio de factibilidad para la industrialización de la fibra de coco en el recinto La Tolita, Pampa de Oro - Esmeraldas. Tesis (Ingeniería Industrial). Universidad Politécnica Salesiana. Ecuador, Guayaquil. 2015.117pp
- GUTIERREZ, Susana. Estudio de la Bioadsorción de Cadmio y Plomo con Biomasa de *Serratia marcescens* M8a-2T, a Nivel de Laboratorio. Tesis (Doctorado en ciencias biológicas). Lima: Universidad Nacional Mayo de San Marcos, 2015.
- Hernández, Roberto., Fernández, Carlos y Baptista, María. Metodología de la Investigación. [en línea.]. 5ªed. México: Mc Graw-Hill, 2010 [Fecha de consulta: 23 de septiembre de 2017]. Disponible en https://www.esup.edu.pe/descargas/dep_investigacion/Metodologia%20de%20la%20investigaci%C3%B3n%205ta%20Edici%C3%B3n.pdf

ISBN: 978-607-15-0291-9

- Instituto Nacional de Estadísticas Informáticas. (Perú). IV Censo Nacional Agropecuario (IV CENAGRO). [En línea]. Julio, 2013. Disponible en <http://www.minagri.gob.pe/portal/43-sector-agrario/suelo>
- KOVDA. El suelo y su uso agrícola. Eurosur. [En línea] 2002. [Citado el: 09 de setiembre de 2015.] http://www.eurosur.org/medio_ambiente/bif93.htm.
- LORENZETTI, Yanina, GRILLO, Mariana, SCARAVAGLIO, Omar, CERIONI, Luciana, VOLENTINI, Sabrina y RODRIGUEZ, Luisa. Biorremediación de suelos y aguas contaminadas con cobre. Cepas mutantes de Escherichia Coli presentan diferente capacidad depuradora del metal. [En línea]. 2012. VIII Congreso de Medio Ambiente de la AUGM 2012. Disponible en <http://www.congresos.unlp.edu.ar/index.php/CCMA/7CCMA/paper/view/1088/365>.
- MINISTERIO del Ambiente. (Perú). Guía muestreo de suelo. Decreto supremo N^o 002-2013. Disponible en http://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2014/04/GUIA-MUESTREO-SUELO_MINAM1.pdf
- PÉREZ, Perla y AZCONA María. Los efectos del cadmio en la salud. Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas [en línea]. Julio – setiembre 2015. [Fecha de consulta: 02 de setiembre de 2017] Disponible en <http://www.redalyc.org/comocitar.oa?id=47324564010>
- SILVA, Sandra y CORREA, Francisco. Análisis de la contaminación del suelo: revisión de la normativa y posibilidades de la regulación económica. Semestre Económico [en línea] 2009, 12 (Enero-Junio) : [Fecha de consulta: 27 de noviembre de 2017] Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=165013122001> ISSN 0120-6346

- TORRES, Duilio. El papel de los microorganismos en la biodegradación de compuestos tóxicos. Ecosistemas [en línea] 2003, XII (mayo-agosto) : [Fecha de consulta: 18 de julio de 2018] Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=54012219>

ISSN 1132-6344

- TORRES, Katerine y ZULUAGA, Tatanian. Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos. Tesis (Ingeniería Química). Universidad Nacional de Colombia. Colombia, Medellín. 2009. 92pp.
- YUCRA, Sandra; GASCO, Manuel; RUBIO, Julio y GONZALES, Gustavo F. Exposición ocupacional a plomo y pesticidas organofosforados: efecto sobre la salud reproductiva masculina. Rev. Perú. med. exp. salud publica [en línea]. 2008, vol.25, n.4 [citado el: 17 de julio de 2018], pp.394-402. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342008000400009&lng=es&nrm=iso.

ISSN 1726-4634.

ANEXOS

Anexo 1: Validación de Instrumentos



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

I. DATOS GENERALES DEL EXPERTO

1.1. Apellidos y Nombres: Suarez Pineda Haydee
 1.2. Cargo e institución donde labora: Asesor de tesis
 1.3. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Caracteriza con físico del salto
 1.4. Autor(A) de Instrumento: Daymann Rojas Vargas

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE					MINIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE				
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.									X				
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.									X				
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.									X				
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.									X				
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales									X				
6. INTENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.										X			
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.										X			
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.										X			
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.										X			
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.										X			

III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

X

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN :

82.5 %

Lima, 7 noviembre del 201

Sotelo
FIRMA DEL EXPERTO INFORMANTE

DNI No. 07088154 Telf.: 949049887

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

I. DATOS GENERALES DEL EXPERTO

1.1. Apellidos y Nombres: Suarez Avites Haydee
 1.2. Cargo e institución donde labora: Asesora de Tesis
 1.3. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Memorandum de concatoracion de cd en el Saad
 1.4. Autor(A) de Instrumento: Dyname Rosales Vasquez

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE					MINIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE				
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.											X		
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.											X		
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.											X		
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.											X		
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales											X		
6. INTENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.											X		
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.											X		
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.											X		
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.											X		
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.											X		

III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

X

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN :

90 %

Lima, 7 noviembre del 201

Suarez
FIRMA DEL EXPERTO INFORMANTE

DNI No 07088154 Telf.: 949079887

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

I. DATOS GENERALES DEL EXPERTO

1.1. Apellidos y Nombres: Moreno Bardales Katherine Rosmary
 1.2. Cargo e institución donde labora: Ing. Ambiental
 1.3. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Muestra del Suelo Zonal - final
 1.4. Autor(A) de Instrumento: Rafael Rosales Vasquez

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE					MINIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE				
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.									X				
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.									X				
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.									X				
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.									X				
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales									X				
6. INTENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.										X			
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.										X			
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.										X			
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.										X			
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.										X			

III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

X

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN :

82.5 %

Lima, 7 de Noviembre del 201

Katherine Rosmary Moreno Bardales
 FIRMA DEL EXPERTO INFORMANTE

DNI No. 20270165 Tel.: 992 366 836

 KATHERINE ROSMERY
 MORENO BARDALES
 INGENIERA AMBIENTAL
 Reg. CIP N° 204885

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

I. DATOS GENERALES DEL EXPERTO

1.1. Apellidos y Nombres: Moreno Barales Katherine (Moreno) Rosmery
 1.2. Cargo e institución donde labora: Ingeniera Ambiental
 1.3. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Caracterización físicos del suelo
 1.4. Autor(A) de Instrumento: Dyhanne Rosales Uscavez

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE					MINIMAMENTE ACEPTABLE					ACEPTABLE				
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100		
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.									X						
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.									X						
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.									X						
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.									X						
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales.									X						
6. INTENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.										X					
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.										X					
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.										X					
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.										X					
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.										X					

III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

- El instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación
- El instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

X

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN :

82.5 %

Lima, 7 de noviembre del 201

Katherine Rosmery Moreno Barales
 FIRMA DEL EXPERTO INFORMANTE

DNI No. 70.27.0652 Telf: 99 2 8 06 036

 KATHERINE ROSMERY
 MORENO BARALES
 INGENIERA AMBIENTAL
 Reg. CIP N° 204085

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

I. DATOS GENERALES DEL EXPERTO

1.1. Apellidos y Nombres: Moreno Bardales Katherine Rosmery
 1.2. Cargo e institución donde labora: Ingeniera Ambiental
 1.3. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Monitoreo de concentraciones de Cd en el suelo
 1.4. Autor(A) de Instrumento: Dylian Rusy Rosales Vasquez

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE					MINIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE				
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.									X				
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.									X				
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.									X				
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.									X				
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales									X				
6. INTENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.										X			
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.										X			
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.										X			
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.										X			
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.										X			

III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

X

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN :

82.5 %

Lima, 7 de Noviembre del 201

Katherine Rosmery
FIRMA DEL EXPERTO INFORMANTE

DNI No. 70270655. Telf: 9422306036

 KATHERINE ROSMERY
 MORENO BARDALES
 INGENIERA AMBIENTAL
 Reg. CIP N° 204865

Anexo 2: Ficha de Monitoreo

CARACTERISTICAS FISICAS DEL SUELO			
Realizado por:		Evaluador:	
Datos de campo			
Ubicación		Fecha	
Periodo		Hora	

Datos de Laboratorio						
Tratamiento	<i>Escherichia Coli</i>			<i>Escherichia Coli + fibra de coco</i>		
Parámetros	R1	R2	R3	R1	R2	R3
pH						
Conductividad eléctrica						
Materia Orgánica						

Anexo 3: Monitoreo de Cadmio y Plomo

Monitoreo Cd y Pb						
Datos del sitio de muestreo						
Realizado por:						
Ubicación						
Nº de muestra		Volumen (Kg)				
Fecha		Hora				
Muestreo de suelos						
Tratamiento	Concentración de Cd (ppm)			Concentración de Pb (ppm)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Escherichia Coli						
Escherichia Coli con fibra de coco						

Anexo 4: Muestra Inicial y Final de cadmio y plomo

MUESTRA INICIAL - FINAL DE CADMIO Y PLOMO						
Realizado por:						
Ubicación						
Nº de muestra		Volumen (Kg)				
Fecha		Hora				
Muestreo de suelos						
Tratamiento	Concentración de Cd (ppm)			Concentración de Pb (ppm)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Escherichia Coli						
Escherichia Coli con fibra de coco						



Electrode Quality Certificate

Electrode: HI1131B Parameter: pH SN: 03021D0N Recommended for: HI5222

Description: Glass body, refillable, combination pH electrode

Hanna Instruments certifies that this electrode has been produced, calibrated and tested to meet all applicable Hanna procedures, using standards and reference instruments, the accuracy of which is traceable to the National Institute of Standards (NIST) in the USA or to internationally acceptable national physical standards. The standards and reference instruments used in calibration and testing are supported by a calibration system which meets requirements of ISO9001.

Standard Reference Materials: pH: 185h, 186g, 187e, 189c, 191d, 2193a [NIST]

External/Internal reference devices*: KΩ/MΩ: SN#148047ADH [Megohmmeter]

Tests performed using reference devices:

mV (@ 25 °C):	Offset (7.01 pH) [mV]:	0.0	
	Tolerance [mV]:	± 10	
	Reading [mV]:	- 1.0	PASSED
	Slope (4.01 pH) [mV]:	177.5	
	Tolerance [mV]:	170.4 - 177.5	
mV response time (4.01 pH - 7.01 pH)***:	Reading [mV]**:	174.0	PASSED
	Standard time [s]:	< 1	PASSED
Glass impedance (@ 25 °C):	Tolerance [s]:	+ 1	
	Tolerance [MΩ]:	100 - 300	PASSED
Reference impedance (@ 25 °C):	Maximum value [KΩ]:	10	PASSED

**) All references are periodically checked and are used only if are inside certification interval.*

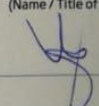
***) Offset compensated.*

****) Evaluated for 90 % of step.*

Quality control and testing criteria have been met.

Date: 2016-01-14

Inspector: Jarca Vestita / Engineer
(Name / Title of Signatory)

Signature: 

Anexo 6: Solicitud de préstamo de laboratorio de biotecnología

Lima, 09 de mayo del 2018

Solicitud: Préstamo de laboratorio

Ing. Veronica Tello Mendivil

Yo, Dayhane Rosaly Rosales Vasquez, identificada con N° de DNI 72739000, estudiante de la Universidad Cesar Vallejo Lima Norte, del X ciclo de la carrera de Ing. Ambiental, me presento ante usted para solicitarle:

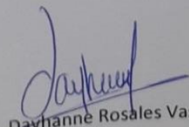
El préstamo del laboratorio de biotecnología para poder realizar mi desarrollo de tesis titulado "Reducción de Cadmio en suelos agrícolas contaminados por agroquímicos mediante el uso de Escherichia Coli", para poder realizar el cultivo de la bacteria. Por ellos requiero el uso del laboratorio con los equipos y materiales correspondientes:

- | | |
|-------------------------|------------------------------------|
| ✓ Centrifuga | ✓ Bagueta |
| ✓ Autoclave | ✓ Frasco gotero |
| ✓ Incubadora | ✓ Porta objeto |
| ✓ Horno de esterilizado | ✓ Cubre objeto |
| ✓ Vaso precipitado | ✓ Probeta |
| ✓ Placa Petri | ✓ Fiola |
| ✓ Asa de siembra | ✓ Pinza para tubo de ensayo |
| ✓ Pipeta | ✓ Espátula |
| ✓ Embudo | ✓ Trípode |
| ✓ Matraz | ✓ Rejilla |
| ✓ Balon de base plana | ✓ Soporte universal |
| ✓ Pera de decantación | ✓ Mechero |
| ✓ Tubo de ensayo | ✓ 4 Frasco de boro silicato 500 ml |

Así mismo le solicito que el préstamo del laboratorio sea de manera continua por las noches a partir del 11 de mayo del 2018, hasta el término del curso de desarrollo de tesis, ya que se tiene que monitorear el crecimiento de las bacterias, y por temas laborales mi disponibilidad por la noche.

De ante mano su agradecimiento por el apoyo, espero pueda acceder a mi solicitud.

Atentamente


Dayhane Rosales Vasquez
Estudiante de Ing. Ambiental

Anexo 7: Análisis Inicial del plomo



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN SUELO

SOLICITANTE : DAYHANNE ROSALES VASQUEZ

PROCEDENCIA : LIMA/ BARRANCA/ SUPE

REFERENCIA : H.R. 63565

BOLETA : 1543

FECHA : 29/05/2018

Lab	Número Muestra		Pb. ppm
	Claves		
3024	Muestra 1		80.05
3025	Muestra 2		79.31
3026	Muestra 3		79.72



Sady García Bendezú
Dr. Sady García Bendezú
Jefe del Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM
Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622
e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN SUELO

SOLICITANTE : DAYHANNE ROSALES VASQUEZ

PROCEDENCIA : LIMA/ BARRANCA/ SUPE

REFERENCIA : H.R. 63548

BOLETA : 1538

FECHA : 25/05/2018

Lab	Número Muestra	Cd. ppm
	Claves	
3024	Muestra 1 A	6.78
3025	Muestra 2	6.62
3026	Muestra 3	6.72



Dr. Sady Garcia Bendezu
Jefe del Laboratorio

Anexo 9: Matriz de consistencia

Problema General	Objetivo General	Hipótesis General		Variable independiente	
¿Cuál es la eficiencia del <i>Escherichia Coli</i> asociado con fibra de coco, en la reducción de cadmio y plomo en suelos contaminados por agroquímicos, en el distrito de Supe, Barranca?	Determinar la eficiencia de la <i>Escherichia Coli</i> asociado con fibra de coco en la reducción de cadmio y plomo en suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca.	H ₀ : No existe eficiencia del <i>Escherichia Coli</i> asociado con fibra de coco en la reducción de cadmio y plomo en suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca	H ₁ : Existe eficiencia del <i>Escherichia Coli</i> asociado con fibra de coco en la reducción de cadmio y cromo en suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca	<i>Uso de Escherichia Coli asociado con fibra de coco</i>	Cantidad de Unidades formadora de colonias (UFC) de <i>E. coli</i>
					Peso
Problemas específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Especificas		Variable Dependiente	Indicadores
Cómo mejora la calidad de suelo la aplicación de <i>Escherichia Coli</i> asociado con fibra de coco, en la reducción de cadmio y plomo del suelo contaminado por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca?	Determinar cómo mejora el uso de la <i>Escherichia Coli</i> asociado con fibra de coco la calidad del suelo contaminado por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca.	H ₀ : El uso del <i>Escherichia Coli</i> asociado con fibra de coco no mejora la calidad del suelo contaminado por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca?	H ₁ : El uso del <i>Escherichia Coli</i> asociado con fibra de coco si mejora la calidad del suelo contaminado por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca.	<i>Reducción de cadmio y plomo en suelos contaminados por agroquímicos</i>	Concentración inicia y final de cadmio (ppm)

<p>¿Cómo modifica el pH y CE, el tratamiento de reducción de cadmio y plomo al usar <i>Escherichia Coli</i> asociado con fibra de coco en suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca?</p>	<p>Determinar cómo modifica el pH y CE el tratamiento de reducción de cadmio y plomo al usar <i>Escherichia Coli</i> asociado con fibra de coco en suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca.</p>	<p>H₀: ¿El uso del <i>Escherichia Coli</i> asociado con fibra de coco no modifica el pH y CE del suelo contaminado por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca?</p>	<p>H₁: El uso del <i>Escherichia Coli</i> asociado con fibra de coco si modifica el pH y CE del suelo contaminado por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca?</p>		
<p>¿Cuál será la concentración de cadmio y plomo en el suelo contaminado por agroquímicos al término del tratamiento con <i>Escherichia Coli</i> con asociado con fibra de coco?</p>	<p>Determinar la concentración de cadmio y plomo al terminar el tratamiento de <i>Escherichia Coli</i> asociado con fibra de coco en los suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca.</p>	<p>H₀: La concentración de cadmio y plomo en suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca; no reducirá al término del tratamiento de <i>Escherichia Coli</i> asociado con fibra de coco.</p>	<p>H₁: La concentración de cadmio y plomo en suelos contaminados por agroquímicos en el distrito de Supe, Barranca; si reducirá al término del tratamiento de <i>Escherichia Coli</i> asociado con fibra de coco.</p>		

Fuente: Elaboración propia, 2018.