



**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

Remoción de clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* aislada de suelos  
contaminados con pesticidas

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
Ingeniero Ambiental

**AUTORES:**

Atalaya Escobar, Cristian Absalon ([orcid.org/0000-0002-6712-2075](https://orcid.org/0000-0002-6712-2075))

Lucero Joo, Jim ([orcid.org/0000-0002-9266-0027](https://orcid.org/0000-0002-9266-0027))

**ASESOR:**

Dr. Cruz Monzón, José Alfredo ([orcid.org/0000-0001-9146-7615](https://orcid.org/0000-0001-9146-7615))

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:**

Tratamiento y Gestión de los Residuos

**LÍNEA DE RESPONSABILIDAD SOCIAL UNIVERSITARIA:**

Desarrollo sostenible y adaptación al cambio climático

TRUJILLO – PERÚ

2023

## **DEDICATORIA**

A Dios, por darnos sabiduría y fortaleza en cada momento de nuestras vidas.

A nuestros padres que nos apoyaron, nos enseñaron responsabilidad todos los días, formaron nuestros valores, nunca nos abandonaron y siempre nos animaron a alcanzar todas nuestras metas. A nuestros maestros que han brindado lecciones y conocimientos durante nuestra formación profesional, que es parte esencial de todo el proceso educativo, a nuestros amigos que siempre han creído en nosotros, gracias por sus buenos deseos y sugerencias.

## **AGRADECIMIENTO**

A nuestras familias por su apoyo en cada decisión y proyecto, porque nos motivan académicamente y siempre creen en nuestras capacidades. A nuestros maestros que nos brindaron la mayor cantidad de oportunidades de aprendizaje y, finalmente un gran agradecimiento a la Universidad César Vallejo por la educación de calidad y la preparación para un futuro rentable y competitivo.



**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

### **Declaratoria de Autenticidad del Asesor**

Yo, CRUZ MONZON JOSE ALFREDO, docente de la FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA de la escuela profesional de INGENIERÍA AMBIENTAL de la UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO SAC - TRUJILLO, asesor de Tesis titulada: "Remoción de clorpirifos utilizando Klebsiella Oxitoca aislada de suelos contaminados con pesticidas", cuyos autores son LUCERO JOO JIM, ATALAYA ESCOBAR CRISTIAN ABSALON, constato que la investigación tiene un índice de similitud de 9.00%, verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin, el cual ha sido realizado sin filtros, ni exclusiones.

He revisado dicho reporte y concluyo que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la Tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

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

TRUJILLO, 30 de Noviembre del 2023

Apellidos y Nombres del Asesor:	Firma
CRUZ MONZON JOSE ALFREDO DNI: 18887838 ORCID: 0000-0001-9146-7615	Firmado electrónicamente por: JACRUZM el 08-12- 2023 19:56:23

Código documento Trilce: TRI - 0674778





**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

**Declaratoria de Originalidad de los Autores**

Nosotros, LUCERO JOO JIM, ATALAYA ESCOBAR CRISTIAN ABSALON estudiantes de la FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA de la escuela profesional de INGENIERÍA AMBIENTAL de la UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO SAC - TRUJILLO, declaramos bajo juramento que todos los datos e información que acompañan la Tesis titulada: "Remoción de clorpirifos utilizando Klebsiella Oxitoca aislada de suelos contaminados con pesticidas", es de nuestra autoría, por lo tanto, declaramos que la Tesis:

1. No ha sido plagiada ni total, ni parcialmente.
2. Hemos mencionado todas las fuentes empleadas, identificando correctamente toda cita textual o de paráfrasis proveniente de otras fuentes.
3. No ha sido publicada, ni presentada anteriormente para la obtención de otro grado académico o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados.

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

Nombres y Apellidos	Firma
CRISTIAN ABSALON ATALAYA ESCOBAR DNI: 74220331 ORCID: 0000-0002-6712-2075	Firmado electrónicamente por: CATALAYAE el 30-11-2023 23:30:19
JIM LUCERO JOO DNI: 72463171 ORCID: 0000-0002-9288-0027	Firmado electrónicamente por: JLUCERO el 30-11-2023 23:38:30

Código documento Trilce: TRI - 0674779

## Índice de contenidos

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD DEL ASESOR.....	iv
DECLARATORIA DE ORIGINALIDAD DE LOS AUTORES.....	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS.....	vii
ÍNDICE DE GRÁFICO Y FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	x
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	4
III. METODOLOGÍA.....	13
3.1. Tipo y diseño de investigación .....	13
3.2. Variables y operacionalización.....	15
3.3. Población, muestra y muestreo.....	15
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	16
3.5. Procedimientos .....	16
3.6. Método de análisis de datos .....	19
3.7. Aspectos éticos.....	19
IV. RESULTADOS.....	20
V. DISCUSIÓN.....	23
VI. CONCLUSIONES .....	27
VII. RECOMENDACIONES.....	28
REFERENCIAS	
ANEXOS	

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Matriz de diseño factorial para la degradación del clorpirifos .....	14
<b>Tabla 2.</b> Porcentaje de remoción del clorpirifos. ....	20

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Efecto de la dosis en la remoción de clorpirifos en el tiempo a pH 6 .....	20
<b>Figura 2.</b> Efecto de la dosis en la remoción de clorpirifos en el tiempo a pH 8 .....	21
<b>Figura 3.</b> Efecto del pH en el porcentaje de remoción del clorpirifos .....	22
<b>Figura 4.</b> Efecto del tiempo en la remoción del clorpirifos en solución acuosa .....	22



## RESUMEN

La remoción de pesticidas en suelos contaminados representa un desafío ambiental significativo debido a su persistencia y efectos nocivos sobre la vida humana y los ecosistemas para optimizar la acción de microorganismos con capacidad degradadora. El presente estudio busca determinar cómo la variación en la dosis y el pH del medio fermentativo afecta la capacidad de *Klebsiella Oxitoca* para degradar el clorpirifos en un determinado tiempo. Con el propósito de establecer condiciones óptimas para este proceso, se implementó un diseño experimental, donde se variaron las dosis de *Klebsiella Oxitoca*, así como el pH del medio fermentativo, monitoreando la degradación del pesticida a lo largo del tiempo mediante técnicas cromatográficas GC-MS, espectrofotometría UV-Vis y microbiológicas. Los resultados revelan una clara relación entre la dosis específica de *Klebsiella Oxitoca* y el pH del medio fermentativo en la eficacia de degradación de pesticidas, siendo los valores de  $6 \cdot 10^8$  UFC/mL y pH 6 respectivamente, los que permitieron resultados de remoción máxima del 65,8% a 96 horas. Se determina que estableciendo dosis específicas intermedias y rangos de pH ligeramente ácidos es crucial para maximizar la capacidad de *Klebsiella Oxitoca* en la remoción de pesticidas. Estos hallazgos proporcionan información relevante para futuras estrategias de biorremediación ambiental.

Palabras clave: Pesticidas, *Klebsiella Oxitoca*, pH, clorpirifos, GC-MS.

## ABSTRACT

The removal of pesticides in contaminated soils represents a significant environmental challenge due to its persistence and harmful effects on human life and ecosystems to optimize the action of microorganisms with degrading capacity. The present study seeks to determine how the variation in the dose and pH of the fermentation medium affects the ability of *Klebsiella Oxitoca* to degrade chlorpyrifos in a certain time. With the purpose of establishing optimal conditions for this process, an experimental design was implemented, where the doses of *Klebsiella Oxitoca* were varied, as well as the pH of the fermentative medium, monitoring the degradation of the pesticide over time using GC-MS chromatographic techniques, UV-Vis spectrophotometry and microbiological. The results reveal a clear relationship between the specific dose of *Klebsiella Oxitoca* and the pH of the fermentation medium in the efficiency of pesticide degradation, with the values of  $6 \times 10^8$  CFU/mL and pH 6 respectively, which allowed results of maximum removal of the 65.8% at 96 hours. It is determined that establishing specific intermediate doses and slightly acidic pH ranges is crucial to maximize the capacity of *Klebsiella Oxitoca* in pesticide removal. These findings provide relevant information for future environmental bioremediation strategies.

Keywords: Pesticides, *Klebsiella Oxitoca*, pH, chlorpyrifos, GC-MS.

## I. INTRODUCCIÓN

Actualmente el Clorpirifos se utiliza ampliamente en todo el mundo como un insecticida para controlar diversas plagas de insectos, y sus aplicaciones irregulares sin control durante periodos largos de tiempo sobre los cultivos, donde se ha dado como resultado una contaminación a gran escala del suelo, cuerpos de agua y aire (Huang, et al., 2021, p. 3), se conoce que los compuestos organofosforados son uno de los pesticidas más utilizados y se usan ampliamente como insecticidas para combatir plagas domésticas y agrícolas, además se usan en atención médica y veterinaria (Orias et al., 2020, p. 3).

El clorpirifos es un pesticida de toxicidad moderada de clase II (OMS, et al., 2019, p. 32), en el medio ambiente viene teniendo un efecto negativo, porque es un pesticida que afecta a los cultivos, y además se ha informado que el clorpirifos tiene una vida media en suelos agrícolas de 60 a 120 días, pero puede perdurar hasta 4 años según sus condiciones climáticas y tipo de suelo. (Hernández, et al., 2021, p. 7).

Muchos informes describen varios métodos con pesticidas organofosforados (PO), los tratamientos tradicionales de limpieza de (PO) se basan en reacciones químicas, reciclaje, pirólisis, incineración y vertidos, sin embargo, esto puede conducir a la producción de compuestos nocivos que son costosos e ineficaces (Saengsanga, et al., 2023, p. 2), asimismo, se prefiere la capacidad de los microorganismos para degradar estos compuestos en condiciones bien controladas, ya que se ha descubierto que es mucho más rápida que la hidrólisis química, que es aproximadamente 10 veces más rápida que la degradación física fotólisis (Dar, et al., 2019, p. 5).

El tratamiento de los plaguicidas ha podido desarrollar también otros procesos de oxidación avanzada en la disminución de plaguicidas organofosforados clorpirifos, métodos (Fenton, Foto-Fenton y UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Barliza, et al., 2018, p. 17), la fotocatalisis de dióxido de titanio y los nanocompuestos sintéticos (Soltani-Nezhad, et al., 2020, p. 10), la degradación hidrolítica, irradiaciones ultrasónicas, atmosférica

y carbón activado (Sud, et al., 2020, p. 7), estos métodos fisicoquímicos tienen las características de alta eficiencia y rapidez, sin embargo, estos procesos también son propensos a producir contaminantes secundarios con mayor toxicidad, que son costosos y técnicamente desafiantes (Bhatt, et al., 2020, p. 5).

La biorremediación es uno de los procesos que emplean microorganismos para descomponer compuestos orgánicos en pequeñas moléculas inorgánicas que tienen menor efecto o son no tóxicas (Garzón, et al., 2017, p. 4), los cuales han generado el desarrollo de métodos rentables, de bajo costo, eficientes y amigables con el medio ambiente como es el uso de microorganismos y sus enzimas que nos permitirán degradar y reducir la contaminación a través de vías catabólicas para la obtención de energía y nutrientes como carbono, nitrógeno, fósforo o mediante co-metabolismo, donde se degrada clorpirifos durante la actividad normal de las bacterias, los microorganismos metabólicamente adaptables, abundantes en el suelo y pueden degradar gran parte de contaminantes como aceites, hidrocarburos aromáticos, petróleo y pesticidas (Gómez, et al., 2022, p. 7).

El proceso de metabolismo microbiano de los pesticidas se divide en tres etapas, en la etapa primaria, los pesticidas pueden transformarse mediante reacciones de oxidación, reducción o hidrólisis, generalmente introduciendo grupos polares en la molécula, en la etapa secundaria, las moléculas de biotransformación se conjugan con glutatión, aminoácidos o azúcares, haciendo que los compuestos sean menos tóxicos, más solubles en agua y por tanto más fáciles de eliminar, la etapa terciaria implica la conversión de metabolitos conjugados en conjugados secundarios menos tóxicos (Alvarenga, et al., 2018, p. 3), se ha informado que muchas bacterias que degradan el clorpirifos tiene fallas porque las pruebas de electroforesis alcalina mostraron cambios y daños en el material genético de la bacteria (Prabu, et al., 2021, p. 8).

Como problema de investigación se propuso ¿Cuál es el efecto de la dosis y el pH en la remoción de clorpirifos en solución acuosa usando *Klebsiella Oxitoca*?

La investigación se enfoca en estudiar la remoción del clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* aisladas de suelos contaminados con pesticidas en los distritos de Moche y Barraza en la ciudad de Trujillo, ya que debido a los recientes estudios y cambios ecológicos de los suelos agrícolas tienen un alto nivel de residuos de pesticidas, afectando no solo la fertilidad del suelo, sino también a su producción, aguas subterráneas y aguas superficiales generando un cambio económico en los agricultores para la recuperación de sus suelos, asimismo, la investigación realizada permitirá mostrar un método más rentable para la recuperación de suelos contaminados con clorpirifos, además que es un proceso que utiliza tecnologías limpias y son amigables con el medio ambiente, ayudando a la concientización de la población local, logrando un mejor desempeño en las condiciones sostenibles y económicas, este proyecto de investigación será de ayuda para futuras investigaciones relaciones al tema.

La investigación tuvo como objetivo principal evaluar el efecto de la dosis y el pH en la remoción del clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* de suelos contaminados con pesticidas y como objetivos específicos, evaluar el efecto de la dosis de *Klebsiella Oxitoca* en la remoción de clorpirifos en solución acuosa, evaluar el efecto del pH a las mejores condiciones de dosis de *Klebsiella Oxitoca* en la remoción de clorpirifos en solución acuosa y determinar el tiempo de remoción óptimo a las mejores condiciones de dosis y pH para la remoción de clorpirifos en solución acuosa.

Como hipótesis nos planteamos H0: si los tratamientos que combinan la dosis y el pH no tienen efecto en la remoción del clorpirifos en soluciones acuosas usando *Klebsiella Oxitoca*, y como H1: si los tratamientos que combinan la dosis y el pH tienen efecto en la remoción del clorpirifos en soluciones acuosas usando *Klebsiella Oxitoca*.

## II. MARCO TEÓRICO

Según Huang et al. (2021, p. 10), en su artículo de revisión titulada datos de remoción microbiana y dispositivos catalíticos del pesticida clorpirifos tuvo como objetivo, la biorremediación basada en el metabolismo microbiano, se aislaron y caracterizaron una variedad de especies bacterianas como *Pseudomonas alcaligenes*, *Bacilo*, *Xantomonas*, *Enterobacter*, y *Ochrobactrum*, se estudia principalmente la degradación microbiana y el mecanismo catalítico del clorpirifos, por ello, en esta investigación se llevó a cabo un análisis en profundidad del mecanismo de biodegradación del clorpirifos a través de cepas microbianas, el cual resultó en una degradación del 65,87% en 20 días por un consorcio bacteriano formado por *Pseudomonas Putida*, *Klebsiella sp*, *Pseudomonas Stutzeri*, *Pseudomonas aeruginosa* en un medio que contenía 500 mg/L de clorpirifos, la tasa de degradación de una cepa en las mismas condiciones es inferior al 50%.

Según Elshikh et al. (2022, p. 6), en su artículo titulado enriquecimiento de la biodegradación de clorpirifos utilizando bacterias *Bacillus Cereus* y *Klebsiella Pneumoniae*, de suelos municipales, donde estas bacterias fueron cultivadas en un medio caldo nutritivo y el crecimiento se controló a 600 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Visible, para análisis (HPLC) utilizaron diclorometano para extraer el clorpirifos del sobrenadante libre de células, posteriormente se mezcló 10 ml del sobrenadante de cultivo con 40 ml de diclorometano, se recogió la fase orgánica de diclorometano se unió y se evaporó en atmosfera de N a temperatura ambiente, los desechos finales se disolvieron utilizando 2,0 ml de acetonitrilo y se filtraron utilizando un filtro de jeringa de 0,4  $\mu\text{m}$ , después la muestra se diluyo utilizando acetonitrilo y se inyectó a la concentración óptima, donde la biodegradación optima fue a un pH neutro y las bacterias su degradación máxima fue a los 16 días con un 94,5 %.

Según Shabbir et al. (2018, p. 7), en su artículo titulado eliminación de pesticidas organofosforados aplicando bacterias aisladas del alcantarillado domésticas que tiene como objetivo 3 cepas bacterianas, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter ludwigii* y *Enterobacter cloacae*, posteriormente se aislaron de aguas residuales domésticas, el estudio del pesticida residual se realizó por espectrofotómetro UV-Vis, donde se registra el espectro de absorbancia del sobrenadante donde se considera los niveles de 229 y 290 nm absorbancia máximas para el cálculo de la remoción de clorpirifos, para los análisis cromatográficos el clorpirifos residual extraído con acetónitrilo y se concentra a un evaporador al vacío, la absorbancia del pesticida clorpirifos se rastreó mediante una inoculación de células bacterianas, los resultados donde se cultivó por 3 días a una temperatura de 37 °C a un pH neutro, mostrando una erradicación de clorpirifos del 90%.

Según Farhan et al. (2021, p. 8), en su artículo titulado degradación del pesticida clorpirifos utilizando bacterias nativas de suelos agrícolas de algodón se basó en evaluar el aislamiento bacteriano mediante ribotipado (ARNr 16s), donde determinó a la cepa *Bacillus cereus* fue resistente hasta 125 mg L<sup>-1</sup> de Clorpirifos y degradó con éxito el 88 % del pesticida organofosforado clorpirifos en 8 días a un pH alcalino 8 con una temperatura promedio de 30 a 40 grados centígrados, los análisis cromatográficos demostraron que el pesticida clorpirifos se degradó primero en ácido dietiltiofosfórico y 3,5,6- tricloro-2-piridinol (TCP) mediante hidrólisis, el anillo de TCP se rompió y se mineralizado sin dejar ningún subproducto, la bacteria *Bacillus cereus* puede emplearse para degradar clorpirifos sin producir metabolitos tóxicos.

Según Malla et al. (2023, p. 8), en su artículo tuvo como objetivo principal, realizar una vía de biodegradación común para cada plaguicida basada en la espectrometría de masas de cromatografía de gases y genómica integrada (GC-MS), en líneas generales, esta investigación arroja una luz sobre el papel de los microbios en la degradación de pesticidas, desarrollar un ensamblaje bacteriano (C3), fueron identificadas como *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum* y *Bacilo shackletonii*, que consta de tres aislados morfológicamente distintos (A, B

y C) que podrían degradar efectivamente el clorpirifos, la cipermetrina y el glifosato, los resultados indican que el consorcio recientemente desarrollado es un candidato potencial y prometedor para la desintoxicación o eliminación de clorpirifos, cipermetrina y glifosato de una manera segura, económica y ecológica, los resultados fueron 94,93% para clorpirifos, 89,4 de cipermetrina y 87,01 % de glifosato.

Según Dubey et al. (2023, p. 3), en su artículo titulado, capacidad degradadora del pesticida clorpirifos utilizando una cepa bacteriana de suelo contaminado por ceniza volcánica de una central térmica de carbono, esta investigación tuvo como objetivo utilizar la bacteria *Sinibacillus Fusiformis* como única fuente de carbono para degradar el clorpirifos durante 15 días a un pH neutro con una temperatura a 30°C y 120 rpm, el enriquecimiento bacteriano fue con medio mínimo de sales y suplementado con 50 ppm de clorpirifos, la dosis bacteriana inoculada fue de 8,98 g L<sup>-1</sup> donde se midió en un espectrofotómetro a una densidad de 600 nm, la extracción de los residuos del clorpirifos fue mediante hexano y acetona en una proporción de 1-1 para ser analizados por GC – MS, los resultados dieron que la bacteria degradó un 16,54 % del pesticida organofosforado.

Según Liu et al. (2023, p. 4), en su artículo titulado instrumentos de biodeterioro del pesticida organofosforado clorpirifos utilizando bacterias nativas de suelos de cultivo identificada como *Bacillus Cereus*, tuvo como objetivo principal degradar el clorpirifos, el método de enriquecimiento de la bacteria se realizó con la prueba de incubación en botella agitadora, utilizo agua destilada para regular la dosis bacteriana a la DO<sub>600</sub>= 1,0 luego las suspensiones, las suspensiones se inocularon en medio mínimo de sales de 50 ml con una dosis de clorpirifos de 25 ppm a una temperatura de 25° C y 150 rpm y se muestrearon a tiempos de 12, 24, 48, 72 y 96 horas los resultados obtenidos en la curva de degradación aumento constante y fue más del 80%, la mejor degradación fue a un pH neutro las enzimas principales fueron intracelulares con un alcance de degradación de 49,6 % en 30 minutos, se utilizaron análisis HPLC.



Según Akbar et al. (2016, p. 5), en su artículo de investigación titulada capacidad degradadora del pesticida organofosforado clorpirifos utilizando bacterias nativas de suelos agrícolas contaminados con pesticidas y aumento del nivel de crecimiento de las plantas, en su investigación las muestras de suelo fueron extraídas de la localidad de Jhang y Faisalabad provincia de Punjab Pakistán, su metodología se basó en remover clorpirifos en una solución acuosa utilizando matraces de 250 ml, que tenían 100 mL de MMS suplementado con 100 mg L-1 de clorpirifos posteriormente se inoculó con suspensión de células bacteriana por triplicado a una temperatura de 30° c a una agitación de 150 rpm durante 10 días y el aumento de bacterias se evaluó OD.600, la extracción de residuo del pesticida clorpirifos fue usando 1.0 ml metanol: H<sub>2</sub>O: ácido acético (80:20:0,5, v/v), se rastreó a 230 nm y los tiempos fueron a 18.4 y 16.1 minutos en los análisis HPLC, los resultados determinaron que la cepa *Achromobacter xylosoxidans* tuvo una remoción del pesticida clorpirifos en una solución acuosa del 84,4 % y la cepa *Achromobacter* un 76,8%.

Según Asamba et al. (2022, p. 4), en su artículo de investigación titulada degradación del organofosforado clorpirifos utilizando bacterias nativas de suelos de granja lecheras contaminados con pesticidas en el distrito de Najuru, Kenia, su objetivo principal fue degradar el pesticida con el método de espectrofotómetro UV-Vis a 600 nm, su aislamiento determinó las bacterias *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Alicialigenes*, *Stenotrophomonas* y *Acromobacter*, la eficacia de las 4 bacterias se determinó mediante los análisis GC-MS donde tuvo una concentración inicial de 25 ppm de clorpirifos a una temperatura de 30°C durante 16 días a un pH óptimo, los resultados *Lysinibacillus* sp., de 87,16%, *Extenotrofomona maltofila* 82,04%, *Pseudonomas putida* 89,52% y *Archromobacter insuavis* 91,08 % 10<sup>7</sup>

Según Li et al. (2018, p. 3), en su artículo de investigación tuvo por objetivo utilizar la ionización por pulverización de electrones de cromatografía líquida de ultra alto rendimiento junto con la espectrometría de masas de tiempo de vuelo (UPLC/ESI-Q-TOF/MS), donde se realizó una evaluación a gran escala de la actividad degradante de insecticidas organofosforados (OP) de 121 cepas de *Lactobacillus*

fueron altamente degradados a los tres OP de uso común dimetoato, forato y ometoato, la mayoría de las bacterias analizadas mostraron alguna actividad de degradación, entre ellos, la cepa *L. plantarum P9*, debido a la alta eficiencia de descomposición de la OPP, el insecticida biodegradable más potente fue el forato, este trabajo revela nuevos recursos bacterias del ácido láctico para utilizarlas en la descomposición de pesticidas.

Según Briceño et al. (2020, p. 7), en su artículo de investigación, tuvo por objetivo la eliminación de plaguicidas mediante esta tecnología de biopurificación, que fue realizada por los análisis de HPLC, que se basa en la capacidad de adsorción y degradación de una biomezcla orgánica biológicamente activa compuesta, en donde seleccionaron y caracterizaron diferentes tipos de bacterias resistentes a pesticidas aisladas de la biomezcla de un sistema de biorremediación recubierto continuamente con una mezcla de insecticidas y pesticidas, desarrollándose seis cepas en presencia de Clorpirifos e iprodiona, donde, las cepas de *Achromobacter* y *Pseudomonas* muestran un buen potencial como bacterias degradadoras de Clorpirifos que obtuvieron un valor de 29 y 56 % en 120 horas, asimismo, la *Pseudomona sp.* logró degradar un 28 y el 42 % del pesticida organofosforado.

Según Cycón et al. (2017, p. 14), en su artículo de revisión sistemática, titulado bioestimulación como estrategia para recuperar suelos infectados con pesticidas, su objetivo se centra en la degradación microbiana de los plaguicidas más utilizados durante muchos años, como los insecticidas organoclorados y organofosforados, sin embargo, es importante recalcar que estas bacterias pertenecen a los géneros, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Brucella*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Catellibacterium*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Pichia*, *Rhodococcus*, *Sphingomonas*, *Stenotrophomonas*, *Streptomyces*, *Verticillum*, debido a que tienen un alto potencial para la remoción de tierras de cultivo contaminadas por pesticidas.

Según Wang et al. (2022, p.3), de acuerdo con su artículo de revisión tuvo como objetivo el aislamiento de ocho cepas bacterianas capaces de degradar el epoxiconazol (EPX) del suelo contaminado con pesticidas, en las que la cepa F1 mostró el mejor efecto, esta cepa fue identificada como *Pseudomonas sp.16S rRNA* por secuenciación del gen y análisis fisiológico y bioquímico, estos resultados muestran que la cepa F1 tiene una alta capacidad para resolver EPX, eliminando el 92,1 % de EPX en 6 días es una candidata prometedora para la biorremediación simultánea del suelo contaminado con EPX y la producción segura de alimentos.

Según Fuentes et al. (2017, p. 5), de acuerdo con su artículo de revisión tuvo como objetivo investigar la eliminación simultánea de tres pesticidas (lindano, clordano y metoxicloro) de diferentes tipos de sistemas utilizando un consorcio local de *Streptomyces*, en donde se observó crecimiento microbiano satisfactorio en sistemas líquidos, junto con la eliminación de lindano (40,4%), metoxicloro (99,5%) y clordano (99,8%), en un microcosmos de suelo estéril, la colonia puede crecer sin diferencias apreciables en suelos de diferentes texturas, tanto contaminados como no contaminados por la mezcla de OP, donde el consorcio de *Streptomyces* pudo eliminar todas las NP del microcosmos del suelo estéril.

Según Nagle et al. (2020, p. 4), este estudio de investigación tuvo como objetivo investigar el resultado de una combinación de tres bacterias nativas (*Corynebacterium sp.*, *Sphingobacterium gobiense* y *Kocuria flava*) y gusanos (a 5 y 10 individuos/kg de suelo) y su asociación en las tasas de eliminación de clorpirifos en suelos contaminados en Sudán, este grupo de bacterias solo tuvo la mayor influencia (73,83%) en la tasa de remoción de clorpirifos, seguido por el grupo de bacterias con mayor densidad (71,22%), asimismo, las lombrices de tierra en sí tuvieron el menor efecto sobre la tasa de degradación de clorpirifos (64,27% y 66,49% para concentraciones altas y bajas, respectivamente), en base a este hallazgo, el consorcio bacteriano local representa un agente de biorremediación prometedor para el tratamiento de suelos contaminados con clorpirifos.

Según Vilema et al. (2019, p. 48), de acuerdo con su artículo tuvo como objetivo la utilización de suelos de brócoli contaminados con pesticidas, en este proyecto se aislaron microorganismos autóctonos resistentes a los pesticidas y capaces de degradarlos, el estudio se utilizó el insecticida organofosforado LORSBAN 480 a 2 concentraciones diferentes (800-1600 ppm), se aislaron e identificaron 3 tipos de bacterias capaces de descomponer este plaguicida, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, se encontró que *Bacillus cereus* demostró una mayor eficiencia de degradación en 30 días obtuvo un (96%), por su parte las bacterias *Bacillus thuringiensis* y *Pseudomonas sp.*, obtuvo (73% descomposición), asimismo, las diferencias observadas muestran significación estadística donde se encontraron que las cepas bacterianas aisladas del suelo pueden aumentar su concentración bacteriana en un ambiente contaminado con pesticidas y degradarlo de manera eficaz.

Según Brito et al. (2018, p. 15), de acuerdo a su estudio tuvo por objetivo evaluar los tres géneros de hongos *Penicillium*, *Phanerochaete* y *Trichoderma* como biorremediación o reducción en diferentes cantidades del DDT organoclorado, un insecticida que es un persistente en suelos, según el método de aislamiento bacteriano, se han identificado cepas de *Penicillium*, *Phanerochaete* y *Trychoderma*, que son los agentes destructores de plaguicidas y organoclorados en estudios previos.

Según Palomino et al. (2022, p. 19-31), en su investigación, su propósito es evaluar los hongos y bacterias en suelos contaminados con pesticidas para determinar la biorremediación, las cepas bacterianas utilizadas en el tratamiento biológico de suelos contaminados con pesticidas son 33% *Pseudomonas sp.*, 17% *Bacillus sp.*, 13% *Cinetobacter sp.* y *paenicilus sp.*, 8% *stenotrophomonas sp.* y 4% *novosphingobium sp.*, *Rhizobium sp.*, *en sphingomonad sp.*, el uso de hongos dio un 27% *Tramates versicolor*, 20% *Pharnerochaete*, 7% *Tricholoma giganteum*, *Penicillium micznskiy*, *Trichoderma viride*, *P. ostreatusena* y *C. cladosporioides*, y con un 6% *Aspergillus niveus*, *Sclerotium cepivorum* y *B. antennata*, los pesticidas biodegradables son 77% insecticida, 13% fungicida y 10% herbicida.

Según Caballero et al. (2019, p. 14), en su tema de investigación informa que las *Pseudomonas* son consideradas como una de las especies bacterianas más importantes en biorremediación debido a su probada degradabilidad, las especies más estudiadas en este campo son *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomona putida* y *Pseudomonas fluorescens*, estas especies se caracterizan por su resistencia a los cambios y su capacidad para metabolizar determinados compuestos utilizándolos como única fuente de carbono, por otro lado, solo la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* ha sido identificada como un peligro para la salud.

Según Ambreen et al. (2021, p. 3), en su artículo de investigación titulada alternativas nuevas para degradar el pesticida organofosforado clorpirifos por cepas bacterianas que fueron aisladas de suelos agrícolas del distrito Mianwali, Pakistán, la bacteria *Bacillus Turingiensico* pudo remover casi el 99,9% de organofosforado clorpirifos en una dosis de 200mg/L-1, respectivamente en caldos M-9, sin ninguna fuente de carbón adicional como los nutrientes de glucosa , en un tiempo determinado de 9 días de incubación.

Según Hadibarata et al. (2023, p. 4), en su artículo de investigación titulado mecanismos para la bioremoción del pesticida clorpirifos utilizando *halófila hortaea* sp., determinó el pH óptimo 9 y la concentración bacteriana de  $3,8 \times 10^{16}$  UFC/mL como mejores condiciones de bioremoción del organofosforado obteniendo un porcentaje del 91,1% en un medio líquido.

Según Khalid et al. (2016, p. 5), en su artículo de investigación titulado biodegradación utilizando bacterias *Pseudomonas Kilonensis* para la degradación de clorpirifos, el efecto del pH en la remoción fue notoria ya que los pH 3, 4 y 5 obtuvieron 9,3%, 10% y 11,3% y a pH 6, 7 y 8 tuvieron mejor remoción 23%, 73,3% y 87%, esto indica que la bacteria actúa mejor a un pH alcalino donde el pH 8 son las mejores condiciones.

Según Ibrahim et al. (2021, p. 7), en su artículo de investigación, para remover clorpirifos utilizó bacterias *Bacillus subtilis*, *Bacilo licheniforme* y *Pseudomonas putida*, todas las bacterias mostraron cambios significativos con una dosis estandarizada de  $1 \cdot 10^8$  UFC/mL alcanzando un 93,20%, 92,71% y 99,75% en 21 días de tratamiento en un medio líquido.

Según Liu et al. (2016, p. 4), en su artículo de investigación, tuvo como objetivo, la degradación del pesticida clorpirifos mediante la bacteria *Pseudomonas putida*, se evaluaron desde un pH 2 a 7, donde hubo una remoción en todas las condiciones de pH, pero la máxima fue a pH ácido 3 con un 97% de remoción durante un tiempo de 180 minutos, indicando que la bacteria *Pseudomonas putida* a condiciones de pH neutro tiende a perder la eficacia de remoción.

### **III. METODOLOGÍA**

#### **3.1. Tipo y diseño de investigación**

##### **3.1.1. Tipo de Investigación**

La investigación desarrollada fue de tipo básica, porque nos permitió ampliar los conocimientos del comportamiento, también abordamos un problema real y nos ayudó a expandir nuestros intelectos sobre el tema de estudio.

##### **3.1.2. Diseño de Investigación**

El diseño aplicado fue experimental factorial, en el que se consideraron 2 variables, todas a 2 niveles, y con un grupo control, donde existió una relación causal multivariada, debido a que hubo relación entre la variable independiente y dependiente.

**Tabla N° 1.** Matriz de diseño factorial para la remoción del clorpirifos

Grupo	pH	Dosis Cel/mL	<u>Remoción de clorpirifos</u>			
			6 Hrs.	24 Hrs.	48 Hrs.	96 Hrs.
Control	6	D1	pH 6 D1	pH 6 D1	pH 6 D1	pH 6 D1
		D2	pH 6 D2	pH 6 D2	pH 6 D2	pH 6 D2
	8	D1	pH 8 D1	pH 8 D1	pH 8 D1	pH 8 D1
		D2	pH 8 D2	pH 8 D2	pH 8 D2	pH 8 D2
Experimental	6	D1	pH 6 D1 [R1]	pH 6 D1 [R1]	pH 6 D1 [R1]	pH 6 D1 [R1]
			pH 6 D1 [R2]	pH 6 D1 [R2]	pH 6 D1 [R2]	pH 6 D1 [R2]
			pH 6 D1 [R3]	pH 6 D1 [R3]	pH 6 D1 [R3]	pH 6 D1 [R3]
	6	D2	pH 6 D2 [R1]	pH 6 D2 [R1]	pH 6 D2 [R1]	pH 6 D2 [R1]
			pH 6 D2 [R2]	pH 6 D2 [R2]	pH 6 D2 [R2]	pH 6 D2 [R2]
			pH 6 D2 [R3]	pH 6 D2 [R3]	pH 6 D2 [R3]	pH 6 D2 [R3]
	8	D1	pH 8 D1 [R1]	pH 8 D1 [R1]	pH 8 D1 [R1]	pH 8 D1 [R1]
			pH 8 D1 [R2]	pH 8 D1 [R2]	pH 8 D1 [R2]	pH 8 D1 [R2]
			pH 8 D1 [R3]	pH 8 D1 [R3]	pH 8 D1 [R3]	pH 8 D1 [R3]
	8	D2	pH 8 D2 [R1]	pH 8 D2 [R1]	pH 8 D2 [R1]	pH 8 D2 [R1]
			pH 8 D2 [R2]	pH 8 D2 [R2]	pH 8 D2 [R2]	pH 8 D2 [R2]
			pH 8 D2 [R3]	pH 8 D2 [R3]	pH 8 D2 [R3]	pH 8 D2 [R3]

Fuente: Elaboración propia



### **3.2. Variables y operacionalización**

Las variables independientes consideradas en la investigación, fueron los niveles de pH, y la dosis bacteriana, asimismo, como variable dependiente fue, la concentración del clorpirifos.

En la operacionalización se trabajó con los indicadores de las variables independientes a dos niveles de pH (6-8), asimismo, se trabajó con dos dosis ( $1,5 \times 10^8$  y  $6 \times 10^8$  Cel / mL), del mismo modo, la operacionalización de la variable dependiente se trabajó con un indicador de dosis de clorpirifos (ver anexo 1).

### **3.3. Población, muestra y muestreo**

La población estuvo constituida por suelos de cultivo de vegetales de tallo corto contaminado con pesticidas (clorpirifos) de los distritos de Barraza con coordenadas 8.11592285S y 78.9847023W y Moche con coordenadas 8.14437652S y 78.99708258W.

La muestra estuvo constituida por 2 kg del suelo de cultivo de vegetales contaminado con clorpirifos.

El muestreo fue aleatorio simple, porque nos permitió obtener una muestra representativa de una población, basada en una determinada probabilidad de elección de los individuos que la conforman, el objetivo fue crear una muestra aleatoria que refleje las características de la población, evitando el sesgo de selección que puede afectar la validez de los resultados.

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

Las técnicas que se utilizaron fueron la observación experimental y el instrumento, asimismo, estuvo constituida por una ficha de recolección de datos experimentales, donde se registró el pH y la dosis bacteriana que se utilizó en cada uno de los experimentos, adicionalmente se realizaron análisis cuantitativos para determinar la remoción del clorpirifos.

La validación del instrumento fue en función a cada uno de los datos que se registraron y fue validado por juicio de expertos.

### **3.5. Procedimientos**

#### **1. Selección de suelos contaminados**

Se visitaron los campos de cultivo de los distritos de Barraza y Moche, donde obtuvimos información sobre el uso del pesticida clorpirifos en los campos de cultivo; esta información nos ayudó a elegir la zona y lugar en donde se recolectaron las muestras para el aislamiento de bacterias resistentes al clorpirifos.

Las muestras de suelo fueron recolectadas de los campos de cultivo donde se evidenció el uso frecuente del insecticida clorpirifos; y se tomó una muestra por cada punto.

#### **2. Recolección de las muestras de Suelo**

Para la recolección de las muestras de suelos se tuvieron en consideración las recomendaciones propuestas en la “Guía Técnica para Muestreo de Suelos” elaborado en el 2017 por la Universidad Nacional Agraria y Catholic Relief Services (CRS); este documento mencionó que las muestras debieron estar constituidas por 1 Kg de suelo; y se tomó la muestra entre los 0 a 20 cm para lo cual se hizo uso de espátulas y previamente se retiró la maleza presente en la superficie del suelo.

Todas las muestras se identificaron y se almacenaron en coolers para su traslado hacia los laboratorios de la Universidad César Vallejo.

### 3. Pretratamiento de las muestras de suelo

Las muestras de suelo se dejaron secar parcialmente al aire durante la noche y luego se tamizaron con malla de 3 mm.

### 4. Aislamiento de bacterias presentes en el suelo contaminado

Se realizó una primera selección en 2 medios de cultivos líquidos como son: el medio mínimo de sales suplementado con nitrógeno (MMSN) y el caldo nutritivo (CN); ambos medios suplementados con 50 mg/L de clorpirifos; Se tomaron 10 g de muestra de suelo y se colocaron en un matraz con 90 ml del medio de cultivo líquido estéril (MMS y CN); posteriormente se incubaron los matraces a 35°C x 24 horas y en condiciones de agitación (200rpm); terminado el periodo de incubación se sembró por estría en placas de agar nutritivo suplementados con 50 mg/L de clorpirifos; estas placas se incubaron a 35°C x 24 horas y se obtuvieron bacterias resistentes al clorpirifos.

### 5. Prueba de resistencia al clorpirifos

Las colonias obtenidas en el proceso anterior se resembraron en placas de agar nutritivo suplementados con 50, 100, 250, 500, 750 mg/L de clorpirifos; estas placas se incubaron a 35°C x 24 horas; pasado el periodo de incubación, se seleccionaron las colonias resistentes a pesticidas que crecen en la mayor concentración, donde se purificaron y se utilizaron en los ensayos de remoción.

Sobre la base del crecimiento de la colonia, se seleccionó una colonia para experimentos posteriores en base a la mayor resistencia que presente al clorpirifos y que no sea potencialmente infectiva y patógena para las personas.

## 6. Identificación de las bacterias resistentes al clorpirifos

Las colonias se identificaron mediante el sistema de identificación microbiológica VITEK.2 presente en el Instituto de Investigación en Ciencia y Tecnologías de la Universidad Cesar Vallejo.

## 7. Pruebas experimentales

Las pruebas experimentales se trabajaron a condiciones de pH 6 y pH 8; y con 2 dosis bacterianas ( $1,5 \times 10^8$  y  $6 \times 10^8$  Cel / mL), en 4 biorreactores. Para llegar a la dosis bacteriana se realizó una suspensión de la bacteria en SSFE y se midió su absorbancia a 660 nm. para compararlo con los patrones de Mac Farland.

Para cada prueba experimental se utilizaron un biorreactor que contuvo 450 ml de MMS suplementado con glucosa al 1%, al que se le añadió 50 ml de una dosis de  $1,5 \times 10^8$  y  $6 \times 10^8$  Cel / mL y como contracción final tuvo 500 mg/L de clorpirifos; a esta solución final se le reguló el pH a 6 y 8 según el experimento; las condiciones del trabajo de los biorreactores fueron a temperatura ambiente y se tomaron muestras a 6, 24, 48 y 96 horas a fin de determinar el pH, la dosis bacteriana y la remoción del clorpirifos.

Los experimentos se realizaron por triplicado y se tomaron muestras a 6, 24, 48 y 96 horas, posteriormente se determinó el porcentaje de remoción del clorpirifos.

## 8. Determinación de remoción mediante espectrofotometría UV-Vis y GC – MS

Para la determinación de la concentración del plaguicida residual, se tomaron 10 ml de muestra para centrifugarla a 600rpm en una centrifuga refrigerada a 4 °C durante 5 minutos, se separó el sobrenadante y se le añadió 1 ml de acetonitrilo, del cual se extrajo el pesticida residual y se realizaron las mediciones en un espectrofotómetro de UV-vis (Singh et al., 2003; Shabbir et al., 2018), las mediciones de las absorbancias se

realizaron a 290 nm., considerando los valores iniciales obtenidos en el tiempo 0 hora como los valores máximos para el cálculo de la eliminación de clorpirifos según la siguiente formula:

$$\text{Porcentaje de remoción} = \frac{A-B}{A} \times 100$$

**Donde**

A = Absorbancia del plaguicida en MMS + Glucosa 1% (0 horas)

B = Absorbancia del pesticida tratado con microbios en MMS + Glucosa 1% en un tiempo determinado (6, 24, 48 y 96 horas)

### **3.6. Método de análisis de datos**

Los datos fueron recolectados utilizando el programa Microsoft Excel y para el análisis estadístico se utilizó un software estadístico SPSS versión 27, prueba post hoc de tukey, significancia del 5%.

El contraste de resultados para la prueba de hipótesis se realizó con el análisis de varianza más conocida como (ANOVA), el cual nos permitió contrastar la hipótesis tentativa si la dosis y el pH tuvo efecto en la remoción del clorpirifos en soluciones acuosas usando *Klebsiella Oxitoca*, y como hipótesis nula, si la dosis y el pH no tuvieron efecto en la remoción del clorpirifos en soluciones acuosas usando *Klebsiella Oxitoca*.

### **3.7. Aspectos éticos**

En la investigación desarrollada, se siguieron los lineamientos éticos establecidos por el vicerrectorado de investigación - UCV, propuestos en su documento lineamiento éticos para la ejecución de proyectos de investigación, el cual contempla la confidenciales, la autenticidad, respeto por la biodiversidad y la honestidad, asimismo, en la investigación, no hubo ninguna afectación a los ecosistemas ni se puso en peligro las especies. (**Ver anexos 3 y 4**)

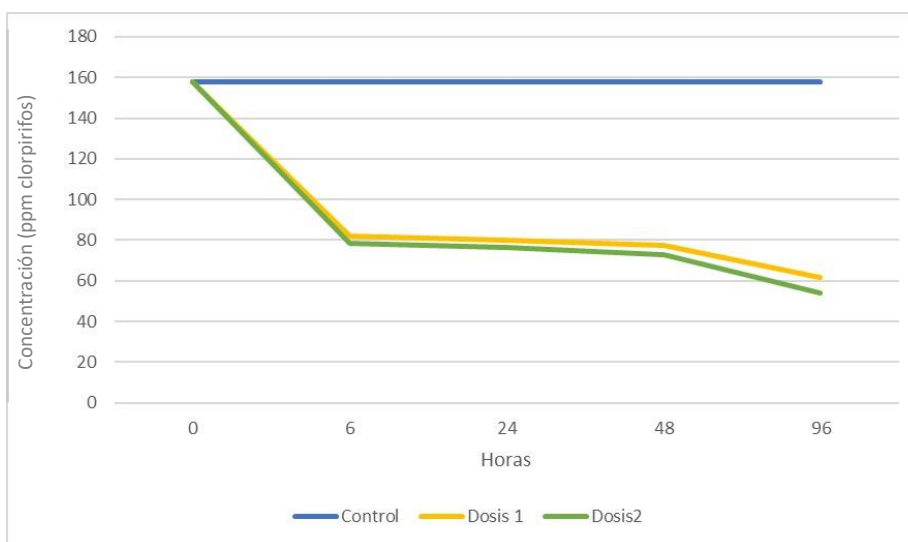
#### IV. RESULTADOS

**Tabla N° 2:** Porcentaje de remoción del clorpirifos

	N° Réplicas	% Remoción Promedio			
		6 h	24 h	48 h	96 h
Testigo		0,0	0,0	0,0	0,0
(pH6/[D1])	3	47,8	49,4	51,0	60,8
(pH6/[D2])	3	50,1	51,7	53,8	65,8
(pH8/[D1])	3	27,3	41,6	46,0	54,5
(pH8/[D2])	3	45,4	47,0	49,4	59,8

Fuente: Elaboración propia.

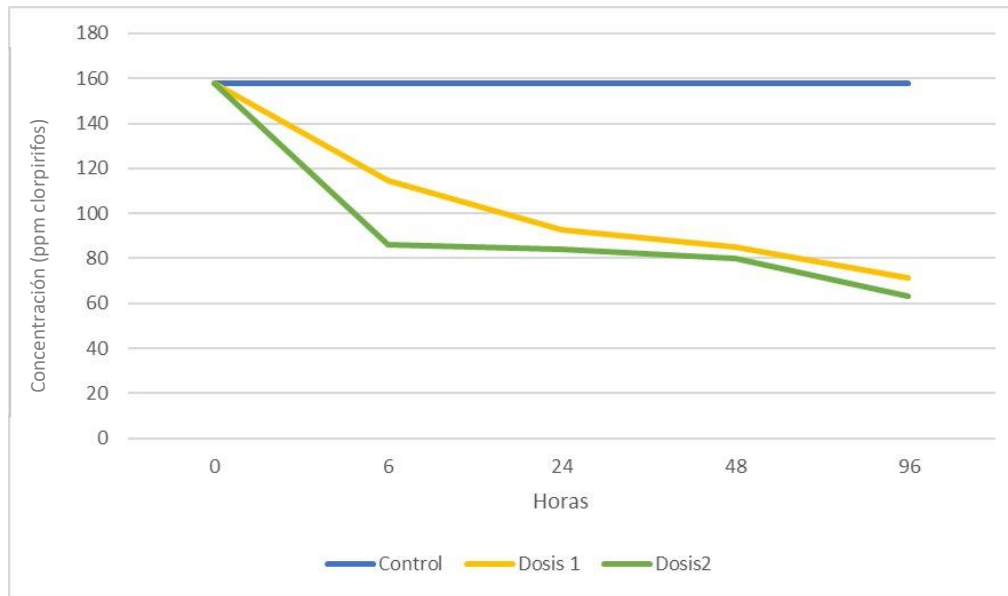
**Interpretación:** En la siguiente tabla se visualiza el porcentaje de remoción del clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca*, el máximo valor de remoción fue a las 96 horas.



**Figura N° 1:** Efecto de la dosis en la remoción de clorpirifos en el tiempo a pH 6

Fuente: Elaboración propia

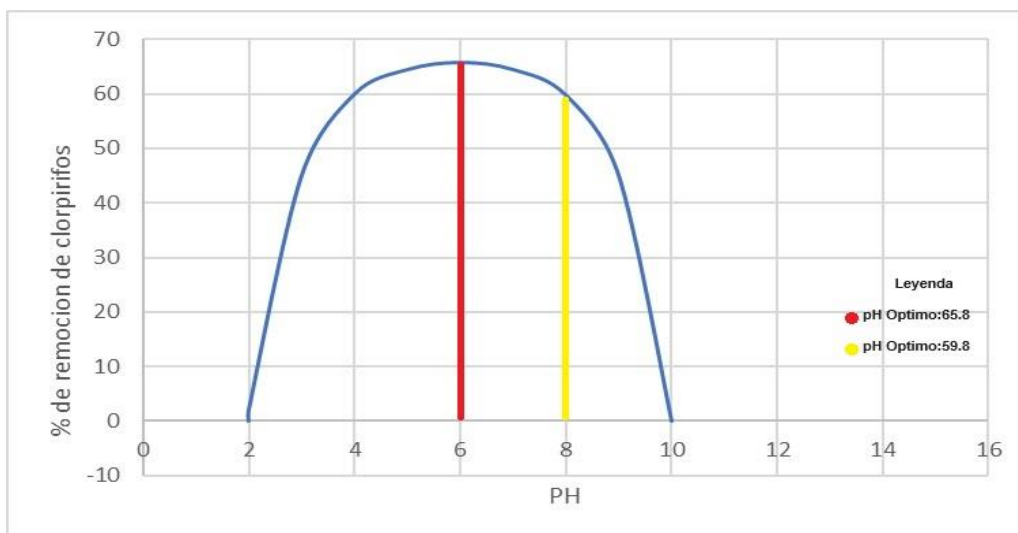
**Interpretación:** En la figura 1 se observó que la dosis 2 logró la máxima remoción de 103,5 ppm de clorpirifos, donde al inicio tuvo como control 157,8 ppm y al final 53,8 ppm.



**Figura Nº 2:** Efecto de la dosis en la remoción de clorpirifos en el tiempo a pH 8.

**Fuente:** Elaboración propia

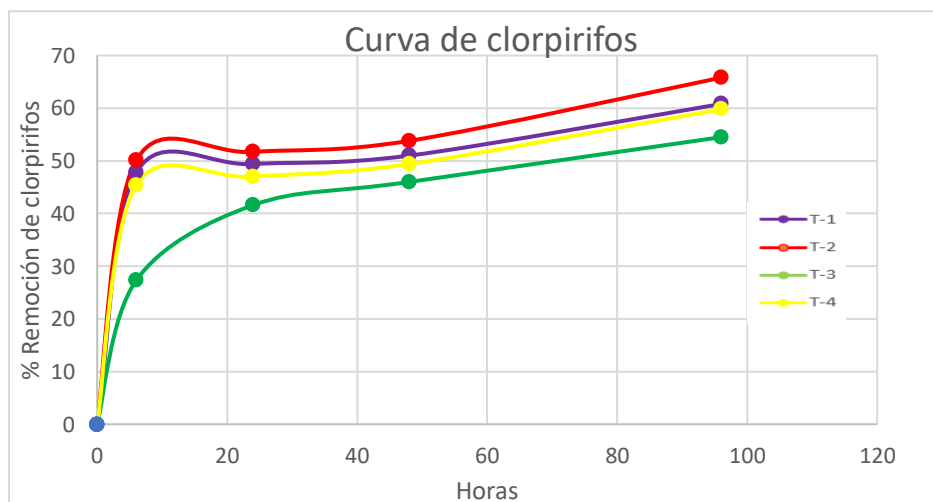
**Interpretación:** En la figura 2 se observó que la dosis 2 logró la máxima remoción de 94,6 ppm de clorpirifos, donde al inicio tuvo como control 157,8 ppm y al final 63,2 ppm.



**Figura N° 3:** Efecto del pH en el porcentaje de remoción del clorpirifos

**Fuente:** Elaboración propia

**Interpretación:** En la figura 3 se observó que el pH influyó en la remoción del Clorpirifos en solución acuosa.



**Figura N° 4:** Efecto del tiempo en la remoción del clorpirifos en solución acuosa.

**Fuente:** Elaboración propia.

**Interpretación:** En la figura 4 se visualiza que las mejores condiciones se dan en el tratamiento 2, el análisis de varianza resulto ser significativo ( $p < 0.05$ ).



## V. DISCUSIÓN

El manejo inadecuado de los pesticidas ha resultado en su liberación al medio ambiente, incluidos los recursos hídricos, por ello, se han realizado esfuerzos para desarrollar tecnologías y métodos más económicos, así como, la biorremediación, que garanticen el tratamiento efectivo de los residuos de pesticidas, la eficacia de la biorremediación, depende de su capacidad para remover pesticidas, la cual está determinada principalmente por la composición microbiana.

En la tabla N° 2 se evaluó el efecto de la dosis y el pH en la remoción del clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* de suelos contaminados con pesticidas en solución acuosa, posteriormente, se demostró que, el mejor porcentaje promedio de remoción de clorpirifos fue 65,8 % a 96 horas, esto demuestra que, a mayor tiempo, mayor porcentaje de remoción de clorpirifos y el menor fue de 27,3 % a 6 horas, determinando que el pH 6 trabaja mejor a dosis 2 (D2) y el pH 8 tiende a remover menos a dosis uno (D1), lo cual concuerda con lo reportado por Shabbir (2018), dado que, en su investigación se enfocó en remover el pesticida clorpirifos con un consorcio de bacterias nativas, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter ludwigii* de aguas residuales domésticas, mostrando una erradicación de clorpirifos del 90 % a un pH neutro, del mismo modo, Farhan (2021), utilizó bacterias nativas *Bacillus Cereus* de suelos agrícolas de algodón, dando un resultado de degradación de 88 % del pesticida organofosforado a un pH alcalino de 8 en un tiempo determinado de 8 días, asimismo, Briceño (2020), en su investigación tuvo como objetivo, eliminar el clorpirifos con bacterias nativas *Acromobacter*, donde tuvo una capacidad máxima de 56 % a 120 horas, asimismo, Akbar (2016), degradó el pesticida organofosforado clorpirifos utilizando bacterias nativas de suelos agrícolas contaminados con pesticidas, a una temperatura de 30°C y niveles de pH 6 y 8 con una dosis inicial de pesticida organofosforado de (100 mg L<sup>-1</sup>), para determinar la remoción del pesticida clorpirifos en una solución acuosa las cepas bacterianas fueron *Achromobacter xylosoxidans* con un 84,4 % y la *Achromobacte* con un 76,8 %, por otro lado, Malla (2023), en su investigación aisló bacterias nativas, donde hizo un consorcio con las cepas *Bacilo Shackletonii*, *Lactobacillues rhamnosus* y

*Lactobacillus plantarum*, para la biodegradación del pesticida clorpirifos, obteniendo un 94,93 %, determinando que este método es amigable con el medio ambiente y económico.

En la figura 1 y figura 2, podemos visualizar el efecto de la dosis en el tiempo, la bacteria *Klebsiella Oxitoca* tuvo como valor inicial del pesticida clorpirifos de 157,8 ppm, la figura 1 está a un nivel de pH 6, donde la mejor dosis fue la de  $6 \times 10^8$  Cel / mL, a las 96 horas, llegó a una concentración de 53,8 ppm, teniendo una remoción de 65,8 %, en la figura 2, está a un nivel de pH 8, siendo la mejor dosis fue la de  $6 \times 10^8$  Cel / mL, a las 96 horas, llegó a una concentración de 63,2 ppm, consiguiendo una remoción de 59,8 %, esto determina que la dosis dos (D2), tiene mejor eficiencia para degradar más rápido el pesticida organofosforado clorpirifos en una solución acuosa, asimismo, Liu (2023), en su investigación, reguló la dosis bacteriana a la DO. 600 = 1,0 en un tiempo de 96 horas, la curva de degradación aumentó constantemente y fue más del 80 %, la mejor degradación fue a un pH neutro, las enzimas principales fueron intracelulares con un alcance de degradación de 49,6 % en 30 minutos, asimismo Li (2018), en su investigación aislaron 121 cepas bacterianas donde *Lactobacillus plantarum*, tuvo altos niveles de degradación para pesticidas organofosforados, en las cuales utilizaron una dosis bacteriana de ( $1 \times 10^7$  cfu / ml) , las lecturas de OD600 fueron a 24 horas, obteniendo una degradación de 35,52 %, asimismo Wang (2022), en su investigación, donde se aisló ocho bacterias de suelo, la que mostró mejor efecto de degradación para el pesticida epoxiconazol, fue la *Pseudomona sp.*, a una temperatura de 30° C con un pH neutro y un DO.600 de 0,5 y una dosis de pesticida de 20 mg L-1, a un tiempo de 6 días eliminó un 92,1 %, por otro lado, Hadibarata (2023) en su artículo titulada mecanismos para la bioremoción del pesticida clorpirifos utilizando *halófila hortaea sp*, determinó el pH 9 y la concentración bacteriana de  $3,8 \times 10^{16}$  UFC/mL, como mejores condiciones de bioremoción del organofosforado obteniendo un porcentaje del 91,1 % en un medio líquido.

En la figura 3, se evaluó el efecto del pH a las mejores condiciones de dosis de *Klebsiella Oxitoca* en la remoción de clorpirifos en solución acuosa, el mayor porcentaje de remoción fue de 65,8 % a pH 6, esto demuestra que mientras más ácido sea el pH mayor remoción de clorpirifos habrá, mientras que a pH 8 solo removió un 59.8 % del pesticida clorpirifos, debido a que el pH es más alcalino, asimismo, Asamba (2022), en su investigación, su objetivo principal fue degradar el pesticida, donde tuvo mejores resultados a un pH neutro, a una temperatura de 30° C durante 16 días, donde las bacterias *Lysinibacillus sp* 87,16 %, *Extenotrofomona maltofila* 82,04 %, *Pseudonomas putida* 89,52 % y *Archromobacter insuavis* 91,08 % de degradación del pesticida organofosforado, asimismo Nagle (2020), en su investigación, tres cepas bacterianas *Corynebacterium sp.*, *Sphingobacterium gobiense* y *Kocuria flava*, trabajaron a un pH de 7,3, obteniendo la mayor influencia de degradación de 73,83 % de remoción de clorpirifos, asimismo Cycon (2017), en su investigación de revisión sistemática, determina que la *Pseudomona Aeruginosa* y la *Pseudomona Fluorescente*, tienden a degradar mejor a un pH 6,5 con una temperatura de 35° C, a una dosis de 50 mg / L de clorpirifos, alcanzando una remoción de más del 80 % en 20 días, de igual manera la bacteria *Alcaligenes Faecalis*, trabajó mejor a un pH 8 con una temperatura de 28° C , a una dosis de 100 mg / L de clorpirifos, degradando por completo en 10 días, por otro lado, Khalid (2016) utilizó bacterias *Pseudomonas Kilonensis* para la degradación de clorpirifos, el efecto del pH en la remoción fue notoria ya que los pH 3, 4 y 5 obtuvieron un 9,3 %, 10 % y 11,3 % y a pH 6, 7 y 8 tuvieron mejor remoción 23 %, 73,3 % y 87 %, esto indica que la bacteria *Pseudomonas Kilonensis*, actúa mejor a un pH alcalino donde el pH 8 son las mejores condiciones, del mismo modo, Liu (2016), degradó el pesticida clorpirifos mediante la bacteria *Pseudomonas putida*, se evaluaron desde un pH 2 a 7, donde hubo una remoción en todas las condiciones de pH, pero la máxima fue a pH ácido 3 con un 97 % de remoción durante un tiempo de 180 minutos, indicando que la bacteria *Pseudomonas putida* a condiciones de pH neutro tiende a perder la eficacia de remoción.

En la figura 4, se evaluó el efecto del tiempo en la remoción del clorpirifos, a las mejores condiciones de dosis y pH en solución acuosa, utilizando *Klebsiella Oxitoca*, se demostró que, a 96 horas fue la remoción máxima, removiendo un total de 65,8 % de clorpirifos, y las mejores condiciones fueron, el pH 6 y la dosis 2 (D2), al igual que Huang (2021), que tuvo una degradación, del 65,87 %, en 20 días por un consorcio bacteriano formado por *Pseudomonas Putida*, *Klebsiella sp*, *Pseudomonas Stutzeri*, *Pseudomonas aeruginosa*, por otro lado Elshikh (2022), en su investigación utilizó las bacterias *Bacillus cereus* y *Klebsiella Pneumoniae*, para degradar el pesticida organofosforado clorpirifos, obteniendo un 94,5 % de degradación máxima en un tiempo de 16 días a un pH neutro, por otro lado, Dubey (2023), en su investigación utilizó la bacteria *Sinibacillus Fusiformis*, para degradar el clorpirifos durante 15 días a un pH neutro con una temperatura de 30°C, donde el consorcio bacteriano degradó un 16,54 %, del mismo modo, Ambreen (2021), en su investigación, logró remover en 9 días, el 99 % del organofosforado clorpirifos, utilizando la bacteria *Bacillus Turingiensico*, de igual manera, Ibrahim (2021), para remover clorpirifos utilizó bacterias *Bacillus subtiles*, *Bacilo licheniforme* y *Pseudomonas putida*, todas las bacterias mostraron cambios significativos con una dosis estandarizada de  $1 \times 10^8$  UFC/mL alcanzando un 93,20 %, 92,71 % y 99,75 % en 21 días de tratamiento en un medio líquido.

## VI. CONCLUSIONES

1. A dosis altas de *Klebsiella Oxitoca*, se observa un mejor efecto de remoción del clorpirifos en solución acuosa alcanzando una remoción máxima del 65,8%.
2. Se determinó que a las mejores condiciones de dosis de *Klebsiella Oxitoca* y a pH ligeramente ácido se alcanza los mejores valores de remoción de clorpirifos, respecto a pH básico se obtienen niveles de remoción de 59,8%.
3. Se demostró que a las mejores condiciones evaluadas el mejor tiempo para la degradación del clorpirifos en solución acuosa usando *Klebsiella Oxitoca*, fue de 96 horas.

## **VII. RECOMENDACIONES**

La evaluación de las condiciones experimentales del proceso de biodegradación aún necesita ser explorada en profundidad para optimizar la acción de microorganismos con capacidad degradadora.

Es necesario realizar más pruebas experimentales para determinar hasta qué punto puede llegar la degradación máxima del clorpirifos.

Respecto al daño ambiental que pueda generar este pesticida en el suelo, es muy importante realizar análisis de muestras de suelo cada cierto tiempo y hacer un seguimiento a la zona, de esta manera estaríamos reduciendo la contaminación de suelos con pesticidas organofosforados.

Finamente es importante organizar charlas y talleres para promover la sensibilización de la población local sobre temas ambientales relacionados con el adecuado manejo, disposición y mantenimiento de los pesticidas organofosforados como el clorpirifos.

## REFERENCIAS

- AKBAR, S., & SULTAN, S., 2016. Soil bacteria showing a potential of chlorpyrifos degradation and plant growth enhancement. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(3), 563–570. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.04.009>
- ALVARENGA, N., BIROLI, W.G., MEIRA, E.B., LUCAS, S.C.O., DE MATOS, I.L., NITSCHKE, M., ROMÃO, L.P.C. y PORTO, A.L.M., 2018. Biotransformation and biodegradation of methyl parathion by Brazilian bacterial strains isolated from mangrove peat. *Biocatalysis and agricultural biotechnology* [En línea], vol. 13, ISSN 1878-8181. DOI 10.1016/j.bcab.2017.12.015. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2017.12.015>.
- AMBREEN, S., & YASMIN, A. (2021). Novel degradation pathways for Chlorpyrifos and 3, 5, 6-Trichloro-2-pyridinol degradation by bacterial strain *Bacillus thuringiensis* MB497 isolated from agricultural fields of Mianwali, Pakistan. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 172(104750), 104750. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104750>
- ASAMBA, M. N., MUGENDI, E. N., OSHULE, P. S., ESSUMAN, S., CHIMBEVO, L. M., & ATEGO, N. A. (2022). Molecular characterization of chlorpyrifos degrading bacteria isolated from contaminated dairy farm soils in Nakuru County, Kenya. *Heliyon*, 8(3), e09176. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09176>

BALDEON CHAUPIS, P.R. y PEREZ NARVAEZ, L.A., 2020. *Remoción de agroquímicos organoclorados mediante la asociación de nanopartículas de Hierro y Penicillium Digitatum en los suelos agrícolas de San Diego-SMP, 2020.* S.I.: Universidad César Vallejo. En Línea. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12692/102252>

BARLIZA COLORADO, V.D. y TORRES CHISINO, D.L., 2018. *Evaluación de los procesos de oxidación avanzada: fenton, Uv/H2O2 y foto-fenton para la degradación de clorpirifós en aguas residuales a nivel laboratorio en la universidad de Cartagena.* S.I.: Fundación Universidad de América. En Línea. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.11839/7202>

BHATT, P., RENE, E.R., KUMAR, A.J., ZHANG, W. y CHEN, S., 2020. Binding interaction of allethrin with esterase: Bioremediation potential and mechanism. *Bioresource technology* [En línea], vol. 315, no. 123845, ISSN 0960-8524. DOI 10.1016/j.biortech.2020.123845. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123845>.

BRICEÑO, G., LAMILLA, C., LEIVA, B., LEVIO, M., DONOSO-PIÑOL, P., SCHALCHLI, H., GALLARDO, F. y DIEZ, M.C., 2020. Pesticide-tolerant bacteria isolated from a biopurification system to remove commonly used pesticides to protect 30rgan resources. *PloS one* [En línea], vol. 15, no. 6, ISSN 1932-6203. DOI 10.1371/journal.pone.0234865. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0234865>.



BRITO, F. y MARILIN, T., 2018. *Biorremediación con Penicillium spp, Phanerochaete spp y Trychoderma spp de suelos contaminados con DDT. Moyobamba – 2016.* S.I.: Universidad Nacional de San Martín. Fondo Editorial. En Línea. Disponible en: <https://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/2844264>

CABALLERO, L.R. y IVONNE, V., 2019. *Uso de Pseudomonas para biorremediar suelos contaminados con plaguicidas organofosforados.* S.I.: Universidad Científica del Sur. En línea. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12805/779>

CYCOÑ, M., MROZIK, A. y PIOTROWSKA-SEGET, Z., 2017. Bioaugmentation as a strategy for the remediation of pesticide-polluted soil: A review. *Chemosphere* [En línea], vol. 172, ISSN 0045-6535. DOI 10.1016/j.chemosphere.2016.12.129. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.129>.

DAR, M.A., KAUSHIK, G. y VILLARREAL-CHIU, J.F., 2019. Pollution status and bioremediation of chlorpyrifos in environmental matrices by the application of bacterial communities: A review. *Journal of environmental management* [En línea], vol. 239, ISSN 0301-4797. DOI 10.1016/j.jenvman.2019.03.048. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.03.048>.

DUBEY, S., & DHANYA, M. S. (2023). Chlorpyrifos degrading potential of a Bacterial isolate from Thermal Power Plant Soil. *Research journal of chemistry and environment*, 27(2), 6–9. <https://doi.org/10.25303/2702rjce006009>

ELSHIKH, M.S., ALARJANI, K.M., HUESSIEN, D.S., ELNAHAS, H.A.M. y ESTHER, A.R., 2022. Enhanced Biodegradation of Chlorpyrifos by *Bacillus cereus* CP6 and *Klebsiella pneumoniae* CP19 from municipal waste 32rgan. *Environmental research* [En línea], vol. 205, no. 112438, ISSN 0013-9351. DOI 10.1016/j.envres.2021.112438. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2021.112438>.

FARHAN, M., AHMAD, M., KANWAL, A., BUTT, Z.A., KHAN, Q.F., RAZA, S.A., QAYYUM, H. y WAHID, A., 2021. Biodegradation of chlorpyrifos using isolates from contaminated agricultural soil, its kinetic studies. *Scientific reports* [En línea], vol. 11, no. 1, ISSN 2045-2322. DOI 10.1038/s41598-021-88264-x. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-88264-x>.

FUENTES, M.S., RAIMONDO, E.E., AMOROSO, M.J. y BENIMELI, C.S., 2017. Removal of a mixture of pesticides by a *Streptomyces* consortium: Influence of different soil systems. *Chemosphere* [En línea], vol. 173, ISSN 0045-6535. DOI 10.1016/j.chemosphere.2017.01.044. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.01.044>.

GARZÓN, J.M., RODRÍGUEZ MIRANDA, J.P. y HERNÁNDEZ GÓMEZ, C., 2017. Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. *Universidad y salud* [En línea], vol. 19, no. 2, ISSN 0124-7107. DOI 10.22267/rus.171902.93. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.22267/rus.171902.93>.

GÓMEZ, G. y MARCELA, A., 2022. Degradación del insecticida clorpirifos por *Pseudomona aeruginosa*, rizobacteria aislada de cultivo de papa (*Solanum tuberosum*). [En línea], [consulta: 27 junio 2023]. Disponible en: <http://repositorio.uan.edu.co/handle/123456789/6376>.

HADIBARATA, T., KRISTANTI, R. A., BILAL, M., YILMAZ, M., & SATHISHKUMAR, P. (2023). Biodegradation mechanism of chlorpyrifos by halophilic bacterium *Hortaea* sp. B15. *Chemosphere*, 312(137260), 137260. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.137260>

HUANG, Y., ZHANG, W., PANG, S., CHEN, J., BHATT, P., MISHRA, S. y CHEN, S., 2021. Insights into the microbial degradation and catalytic mechanisms of chlorpyrifos. *Environmental research* [En línea], vol. 194, no. 110660, ISSN 0013-9351. DOI 10.1016/j.envres.2020.110660. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2020.110660>.

KHALID, S., HASHMI, I., & KHAN, S. J. (2016). Bacterial assisted degradation of chlorpyrifos: The key role of environmental conditions, trace metals and organic solvents. *Journal of Environmental Management*, 168, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.11.030>

IBRAHIM, S., GUPTA, R. K., WAR, A. R., HUSSAIN, B., KUMAR, A., SOFI, T., NOURELDEEN, A., & DARWISH, H. (2021). Degradation of chlorpyrifos and polyethylene by endosymbiotic bacteria from citrus mealybug. *Saudi Journal of*

<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.03.058>

LI, C., MA, Y., MI, Z., HUO, R., ZHOU, T., HAI, H., KWOK, L.-Y., SUN, Z., CHEN, Y. y ZHANG, H., 2018. Screening for *Lactobacillus plantarum* strains that possess organophosphorus pesticide-degrading activity and metabolomic 34rgano34 of phorate degradation. *Frontiers in microbiology* [En línea], vol. 9, ISSN 1664-302X. DOI 10.3389/fmicb.2018.02048. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2018.02048>.

LIU, C., ZHAO, C., WANG, L., DU, X., ZHU, L., WANG, J., MO KIM, Y., & WANG, J. (2023). Biodegradation mechanism of chlorpyrifos by *Bacillus* sp. H27: Degradation enzymes, products, pathways and whole 34rgano sequencing 34rgano34 . *Environmental Research*, 239(117315), 117315. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.117315>

MALLA, M.A., DUBEY, A., KUMAR, A., PATIL, A., AHMAD, S., KOTHARI, R. y YADAV, S., 2023. Optimization and elucidation of organophosphorus and pyrethroid degradation pathways by a novel bacterial consortium C3 using RSM and GC-MS-based metabolomics. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* [En línea], vol. 144, no. 104744, ISSN 1876-1070. DOI 10.1016/j.jtice.2023.104744. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtice.2023.104744>.

NAGLA, A.M.A., SULIEMAN, H.N.A., AHMED, M.A.H., ABD, E.S.A.I. y AZHARI, O.A., 2020. Bacterial and vermi-remediation of soil contaminated with chlorpyrifos insecticide. *African journal of biotechnology* [En línea], vol. 19, no. 1,

ISSN 1684-5315. DOI 10.5897/ajb2019.16962. Disponible en:  
<http://dx.doi.org/10.5897/ajb2019.16962>.

ORIAS VÁSQUEZ, M., 2020. Intoxicación por organofosforados. *Revista Médica Sinergia* [En línea], vol. 5, no. 8, ISSN 2215-4523. DOI 10.31434/rms. V5i8.558. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.31434/rms.v5i8.558>.

PALOMINO PARIONA, E., 2022. *Biorremediación con hongos y bacterias en suelo contaminados con pesticidas 2022: Revisión sistémica*. S.I.: Universidad César Vallejo. En Línea. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12692/105333>

PRABU, M. R., KUMAR, S. D., & MURUGAN, A. (2021). 35rgano35 f chlorpyrifos on Bacillus Cereus op3 soil bacteria isolated from rhizosphere. *Journal of advanced scientific research*, 12(04), 143–153. <https://doi.org/10.55218/jasr.202112419>

QUILLCA ALDAZABAL, Y.X. y ROJAS ARIZA, Y., 2022. *Bioremediación de suelos contaminados con compuestos orgánicos: fitorremediación y vermiremediación. Revisión sistemática 2022*. S.I.: Universidad César Vallejo. En Línea. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12692/94256>

SAENGSANGA, T., & PHAKRATOK, N. (2023). Biodegradation of chlorpyrifos by soil bacteria and their effects on growth of rice seedlings under pesticide-contaminated soil. *Plant, soil and environment*, 69(5), 210–220. <https://doi.org/10.17221/106/2023-pse>

SHABBIR, M., SINGH, M., MAITI, S., KUMAR, S. y SAHA, S.K., 2018. Removal enactment of 35rgano-phosphorous pesticide using bacteria isolated from

domestic sewage. *Bioresource technology* [En línea], vol. 263, ISSN 0960-8524. DOI 10.1016/j.biortech.2018.04.122. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.122>.

SOLTANI-NEZHAD, F., SALJOOQI, A., MOSTAFAVI, A. y SHAMSPUR, T., 2020. Synthesis of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/CdS-ZnS nanostructure and its application for photocatalytic degradation of chlorpyrifos pesticide and brilliant green dye from aqueous solutions. *Ecotoxicology and environmental safety* [En línea], vol. 189, no. 109886, ISSN 0147-6513. DOI 10.1016/j.ecoenv.2019.109886. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109886>.

SUD, D., KUMAR, J., KAUR, P. y BANSAL, P., 2020. Toxicity, natural and induced degradation of chlorpyrifos. *Journal of the Chilean Chemical Society* [En línea], vol. 65, no. 2, [consulta: 27 junio 2023]. ISSN 0717-9324. DOI 10.4067/s0717-97072020000204807. Disponible en: <https://www.scielo.cl/pdf/jcchems/v65n2/0717-9707-jcchems-65-02-4807.pdf>.

*THE WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and guidelines to classification, 2019 edition.* (2020, mayo 1). Who.int; World Health Organization. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240005662>

VILEMA, V. y ARABEL, V., 2019. Evaluación de la capacidad de microorganismos edáficos para degradar pesticidas (lorsban 480). [En línea], [consulta: 27 junio 2023]. Disponible en: <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/2795154>.

WANG, Y., SHEN, Z., FENG, F., CHEN, X., SONG, L., WAN, Q., MA, L., GE, J., CHENG, J., REN, L. y YU, X., 2022. Isolation, characterization and application of the epoxiconazole-degrading strain *Pseudomonas* sp. F1 in a soil-vegetable system. *Chemosphere* [En línea], vol. 305, no. 135463, ISSN 0045-6535. DOI 10.1016/j.chemosphere.2022.135463. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135463>.

## ANEXOS

**Anexo N°1: Tabla de operacionalización de variables**

Variable	Descripción Conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala de Medición
Variable Independiente  pH	El pH mientras sea más alcalino, será mejor la remoción del clorpirifos.	El pH medido en unidades de pH.	Niveles de pH.	pH=6  pH=8	0 – 14
Dosis Bacteriana	Cantidad de microorganismos eficientes para la remoción del clorpirifos.	La dosis bacteriana medida en absorbancia. (curva de crecimiento)	Dosis de bacterias.	D1= $1,5 \times 10^8$ Cel / mL D2= $6 \times 10^8$ Cel / mL	Unidades de absorbancia.
Variable dependiente  Concentración de clorpirifos	Es un insecticida organofosforado considerado como moderadamente tóxico y su persistencia en el suelo varía desde cinco días a veinte años. Se ha evidenciado que el insecticida clorpirifos no sólo actúa sobre su grupo de acción, sino que involucra a los organismos de su entorno afectándolos de manera significativa.	La concentración de clorpirifos será medido en función a la curva de remoción	Concentración de clorpirifos en ppm	C1: 500 ppm	Porcentaje %

Fuente: Elaboración propia.





Anexo N°2

Evaluación por juicio de expertos

UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO													
FICHA OBSERVACIÓN													
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN													
"Biodegradación de clorpirifos utilizando <i>Klebsiella Oxitoca</i> aislada de suelos contaminados con pesticidas"													
Línea de Investigación													
Tratamiento y gestión de los residuos sólidos													
Datos generales													
Facultad de Ingeniería y Arquitectura				Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental				Universidad Cesar Vallejo					
Departamento				Provincia				Distrito					
La Libertad				Trujillo				Victor Larco					
Muestreo de suelo													
Código de la muestra	Fecha de toma de muestra	Procedencia			Tipo de suelo			Condiciones de tratamiento					
CR1	19/07/2023	Barraza			Agrícola			Laboratorio de UCV					
CR2	19/07/2023	Moche			Agrícola			Laboratorio de UCV					
Aislamiento bacteriano													
Peso de la muestra (gramos)			Identificación de la bacteria				Tolerancia al pesticida clorpirifos (ppm)						
10			<i>Klebsiella Oxitoca</i>				750						
Tratamiento													
Dosis		1,5 x 10 <sup>8</sup>						6 x 10 <sup>8</sup>					
pH		6			8			6			8		
Tiempo (horas)		0	24	96	0	24	96	0	24	96	0	24	96
Interpretación													
Responsable de la prueba		Firma			Verificado por				Firma				
Atalaya Escobar Cristian Absalon					MsC. Luis Alberto Cabanillas Chirinos								
Jim Lucero Joo					Dra. Magaly de la Cruz Noriega								
					MsC. Nicole Alejandra Terrones Rodriguez								



## Evaluación por juicio de expertos

Respetado juez: Usted ha sido seleccionado para evaluar el instrumento "Biodegradación de Clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* aislada de suelos contaminados con pesticidas" La evaluación del instrumento es de gran relevancia para lograr que sea válido y que los resultados obtenidos a partir de éste sean utilizados eficientemente; aportando al quehacer psicológico. Agradecemos su valiosa colaboración.

### Datos generales del juez

Nombre del juez:	Magaly de la Cruz Noviega
Grado profesional:	Maestría ( ) Doctor ( <input checked="" type="checkbox"/> )
Área de formación académica:	Clínica ( ) Social ( ) Educativa ( <input checked="" type="checkbox"/> ) Organizacional ( )
Áreas de experiencia profesional:	Docencia
Institución donde labora:	Universidad César Vallejo - UCV - TRUJILLO
Tiempo de experiencia profesional en el área:	2 a 4 años ( ) Más de 5 años ( <input checked="" type="checkbox"/> )
Experiencia en Investigación Psicométrica: (si corresponde)	

Propósito de la evaluación: Validar el contenido del instrumento, por juicio de expertos.

### Datos de la escala

Nombre de la Prueba:	Ficha de observación de datos de la "Biodegradación de clorpirifos utilizando <i>Klebsiella Oxitoca</i> aislada de suelos contaminados con pesticidas"
Autores:	Atalaya Escobar, Cristian Absalón y Lucero Joo, Jim
Procedencia:	Trujillo
Administración:	Atalaya Escobar, Cristian Absalón y Lucero Joo, Jim
Tiempo de aplicación:	10 minutos
Ámbito de aplicación:	A nivel de laboratorio Vitek Ciencia y Tecnología - UCV
Significación:	Lo determina 1 variable dependiente y 2 variables dependientes <ul style="list-style-type: none"> <li>Variable dependiente: Dosis de clorpirifos en ppm</li> <li>Variable independientes: pH y dosis Bacteriana</li> </ul>

### Soporte teórico

Escala/ÁREA	Subescala (dimensiones)	Definición
Dosis de clorpirifos en ppm	500ppm	Es un insecticida organofosforado considerado como moderadamente tóxico, se ha evidenciado que el insecticida Clorpirifos no solo actúa sobre su grupo de acción, sino que involucra a los organismos de su entorno afectándolos de manera significativa.
pH	6-8	El pH mientras sea más alcalino, será mejor la biodegradación del Clorpirifos.
Dosis bacteriana	$1,5 \times 10^8$ y $6 \times 10^8$ Cel / mL	Cantidad de microorganismos eficientes para la biodegradación del Clorpirifos.



**Dimensiones del instrumento:**

Primera dimensión:

Objetivos de la Dimensión: Evaluar el efecto de la dosis de *Klebsiella Oxitoca* en la biodegradación de Clorpirifos en solución acuosa

Indicadores	Ítem	Claridad	Coherencia	Relevancia	Observaciones/ Recomendaciones
1.5 x 10 <sup>8</sup>	4	4	4	4	Ninguna
6 x 10 <sup>8</sup>	4	4	4	4	Ninguna

**Dimensiones del instrumento:**

Segunda dimensión:

Objetivos de la Dimensión: Evaluar el efecto del pH a las mejores condiciones de *Klebsiella Oxitoca* en la biodegradación de Clorpirifos en solución acuosa

INDICADORES	Ítem	Claridad	Coherencia	Relevancia	Observaciones/ Recomendaciones
pH 6	4	4	4	4	Ninguna
Ph8	4	4	4	4	Ninguna



**Dimensiones del instrumento:**

Tercera dimensión:

Objetivos de la Dimensión: Determinar el tiempo de degradación óptimo a las mejores condiciones de dosis y pH para la biodegradación de Clorpirifos en solución acuosa

Indicadores	Ítem	Claridad	Coherencia	Relevancia	Observaciones/ Recomendaciones
0 horas	4	4	4	4	Ninguna
24 horas	4	4	4	4	Ninguna
96 horas	4	4	4	4	Ninguna

*[Handwritten Signature]*

DNI: 7821 4853

CBP: 5640



## Evaluación por juicio de expertos

Respetado juez: Usted ha sido seleccionado para evaluar el instrumento "Biodegradación de Clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* aislada de suelos contaminados con pesticidas" La evaluación del instrumento es de gran relevancia para lograr que sea válido y que los resultados obtenidos a partir de éste sean utilizados eficientemente; aportando al quehacer psicológico. Agradecemos su valiosa colaboración.

### Datos generales del juez

Nombre del juez:	Luis Alberto Ceballos Chirinos
Grado profesional:	Maestría ( X )      Doctor ( )
Área de formación académica:	Clínica ( )      Social ( ) Educativa ( X )      Organizacional ( )
Áreas de experiencia profesional:	Agroindustrias
Institución donde labora:	Laboratorio VITEK ciencia y tecnología -UCV
Tiempo de experiencia profesional en el área:	2 a 4 años ( ) Más de 5 años ( X )
Experiencia en Investigación Psicométrica: (si corresponde)	



Propósito de la evaluación: Validar el contenido del instrumento, por juicio de expertos.

### Datos de la escala

Nombre de la Prueba:	Ficha de observación de datos de la "Biodegradación de clorpirifos utilizando <i>Klebsiella Oxitoca</i> aislada de suelos contaminados con pesticidas"
Autores:	Atalaya Escobar, Cristian Absalón y Lucero Joo, Jim
Procedencia:	Trujillo
Administración:	Atalaya Escobar, Cristian Absalón y Lucero Joo, Jim
Tiempo de aplicación:	10 minutos
Ámbito de aplicación:	A nivel de laboratorio Vitek Ciencia y Tecnología - UCV
Significación:	Lo determina 1 variable dependiente y 2 variables dependientes <ul style="list-style-type: none"> <li>• Variable dependiente: Dosis de clorpirifos en ppm</li> <li>• Variable independientes: pH y dosis Bacteriana</li> </ul>

### Soporte teórico

Escala/ÁREA	Subescala (dimensiones)	Definición
Dosis de clorpirifos en ppm	500ppm	Es un insecticida organofosforado considerado como moderadamente tóxico, se ha evidenciado que el insecticida Clorpirifos no solo actúa sobre su grupo de acción, sino que involucra a los organismos de su entorno afectándolos de manera significativa.
pH	6-8	El pH mientras sea más alcalino, será mejor la biodegradación del Clorpirifos.
Dosis bacteriana	$1,5 \times 10^8$ y $6 \times 10^8$ Cel / mL	Cantidad de microorganismos eficientes para la biodegradación del Clorpirifos.



**Presentación de instrucciones para el juez:**

A continuación, a usted le presento el cuestionario elaborado por Atalaya escobar cristian absalon y Lucero Joo Jim en el año 2023. De acuerdo con los siguientes indicadores califique cada uno de los ítems según corresponda.



Categoría	Calificación	Indicador
<b>CLARIDAD</b> El ítem se comprende fácilmente, es decir, su sintáctica y semántica son adecuadas.	1. No cumple con el criterio	El ítem no es claro.
	2. Bajo Nivel	El ítem requiere bastantes modificaciones o una modificación muy grande en el uso de las palabras de acuerdo con su significado o por la ordenación de estas.
	3. Moderado nivel	Se requiere una modificación muy específica de algunos de los términos del ítem.
	4. Alto nivel	El ítem es claro, tiene semántica y sintaxis adecuada.
<b>COHERENCIA</b> El ítem tiene relación lógica con la dimensión o indicador que está midiendo.	1. totalmente en desacuerdo (no cumple con el criterio)	El ítem no tiene relación lógica con la dimensión.
	2. Desacuerdo (bajo nivel de acuerdo)	El ítem tiene una relación tangencial /lejana con la dimensión.
	3. Acuerdo (moderado nivel)	El ítem tiene una relación moderada con la dimensión que se está midiendo.
	4. Totalmente de Acuerdo (alto nivel)	El ítem se encuentra está relacionado con la dimensión que está midiendo.
<b>RELEVANCIA</b> El ítem es esencialmente importante, es decir debe ser incluido.	1. No cumple con el criterio	El ítem puede ser eliminado sin que se vea afectada la medición de la dimensión.
	2. Bajo Nivel	El ítem tiene alguna relevancia, pero otro ítem puede estar incluyendo lo que mide éste.
	3. Moderado nivel	El ítem es relativamente importante.
	4. Alto nivel	El ítem es muy relevante y debe ser incluido.

Leer con detenimiento los ítems y calificar en una escala de 1 a 4 su valoración, así como solicitamos brindes sus observaciones que considere pertinente

1 No cumple con el criterio
2. Bajo Nivel
3. Moderado nivel
4. Alto nivel



**Dimensiones del instrumento:**

Primera dimensión:

Objetivos de la Dimensión: Evaluar el efecto de la dosis de *Klebsiella Oxitoca* en la biodegradación de Clorpirifos en solución acuosa

Indicadores	Ítem	Claridad	Coherencia	Relevancia	Observaciones/ Recomendaciones
1.5 x 10 <sup>8</sup>	4	4	4	4	Ninguna
6 x 10 <sup>8</sup>	4	4	4	4	Ninguna

**Dimensiones del instrumento:**

Segunda dimensión:

Objetivos de la Dimensión: Evaluar el efecto del pH a las mejores condiciones de *Klebsiella Oxitoca* en la biodegradación de Clorpirifos en solución acuosa

INDICADORES	Ítem	Claridad	Coherencia	Relevancia	Observaciones/ Recomendaciones
pH 6	4	4	4	4	Ninguna
Ph8	4	4	4	4	Ninguna




**Dimensiones del instrumento:**

Tercera dimensión:

Objetivos de la Dimensión: Determinar el tiempo de degradación óptimo a las mejores condiciones de dosis y pH para la biodegradación de Clorpirifos en solución acuosa

Indicadores	Ítem	Claridad	Coherencia	Relevancia	Observaciones/ Recomendaciones
0 horas	4	4	4	4	Ninguna
24 horas	4	4	4	4	Ninguna
96 horas	4	4	4	4	Ninguna

  
DNI: 93243681  
CBP 8282



## Evaluación por juicio de expertos

Respetado juez: Usted ha sido seleccionado para evaluar el instrumento "Biodegradación de Clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* aislada de suelos contaminados con pesticidas" La evaluación del instrumento es de gran relevancia para lograr que sea válido y que los resultados obtenidos a partir de éste sean utilizados eficientemente; aportando al quehacer psicológico. Agradecemos su valiosa colaboración.

### Datos generales del juez

Nombre del juez:	Nicole Alejandra Ferreras Rodríguez	
Grado profesional:	Maestría ( X )	Doctor ( )
Área de formación académica:	Clínica ( )	Social ( )
	Educativa ( )	Organizacional ( X )
Áreas de experiencia profesional:	Agroindustria	
Institución donde labora:	Universidad César Vallejo - Laboratorio VITEK	
Tiempo de experiencia profesional en el área:	2 a 4 años ( X )	Más de 5 años ( )
Experiencia en Investigación Psicométrica: (si corresponde)		



Propósito de la evaluación: Validar el contenido del instrumento, por juicio de expertos.

### Datos de la escala

Nombre de la Prueba:	Ficha de observación de datos de la "Biodegradación de clorpirifos utilizando <i>Klebsiella Oxitoca</i> aislada de suelos contaminados con pesticidas"
Autores:	Atalaya Escobar, Cristian Absalón y Lucero Joo, Jim
Procedencia:	Trujillo
Administración:	Atalaya Escobar, Cristian Absalón y Lucero Joo, Jim
Tiempo de aplicación:	10 minutos
Ámbito de aplicación:	A nivel de laboratorio Vitek Ciencia y Tecnología - UCV
Significación:	Lo determina 1 variable dependiente y 2 variables dependientes <ul style="list-style-type: none"> <li>Variable dependiente: Dosis de clorpirifos en ppm</li> <li>Variable independientes: pH y dosis Bacteriana</li> </ul>

### Soporte teórico

Escala/ÁREA	Subescala (dimensiones)	Definición
Dosis de clorpirifos en ppm	500ppm	Es un insecticida organofosforado considerado como moderadamente tóxico, se ha evidenciado que el insecticida Clorpirifos no solo actúa sobre su grupo de acción, sino que involucra a los organismos de su entorno afectándolos de manera significativa.
pH	6-8	El pH mientras sea más alcalino, será mejor la biodegradación del Clorpirifos.
Dosis bacteriana	$1,5 \times 10^8$ y $6 \times 10^8$ Cel / mL	Cantidad de microorganismos eficientes para la biodegradación del Clorpirifos.



**Presentación de instrucciones para el juez:**

A continuación, a usted le presento el cuestionario elaborado por Alalaya escobar cristian absalon y Lucero Joo Jim en el año 2023. De acuerdo con los siguientes indicadores califique cada uno de los ítems según corresponda.



Categoría	Calificación	Indicador
<b>CLARIDAD</b> El ítem se comprende fácilmente, es decir, su sintácticas y semántica son adecuadas.	1. No cumple con el criterio	El ítem no es claro.
	2. Bajo Nivel	El ítem requiere bastantes modificaciones o una modificación muy grande en el uso de las palabras de acuerdo con su significado o por la ordenación de estas.
	3. Moderado nivel	Se requiere una modificación muy específica de algunos de los términos del ítem.
	4. Alto nivel	El ítem es claro, tiene semántica y sintaxis adecuada.
<b>COHERENCIA</b> El ítem tiene relación lógica con la dimensión o indicador que está midiendo.	1. totalmente en desacuerdo (no cumple con el criterio)	El ítem no tiene relación lógica con la dimensión.
	2. Desacuerdo (bajo nivel de acuerdo)	El ítem tiene una relación tangencial /lejana con la dimensión.
	3. Acuerdo (moderado nivel)	El ítem tiene una relación moderada con la dimensión que se está midiendo.
	4. Totalmente de Acuerdo (alto nivel)	El ítem se encuentra está relacionado con la dimensión que está midiendo.
<b>RELEVANCIA</b> El ítem es esencialmente importante, es decir debe ser incluido.	1. No cumple con el criterio	El ítem puede ser eliminado sin que se vea afectada la medición de la dimensión.
	2. Bajo Nivel	El ítem tiene alguna relevancia, pero otro ítem puede estar incluyendo lo que mide éste.
	3. Moderado nivel	El ítem es relativamente importante.
	4. Alto nivel	El ítem es muy relevante y debe ser incluido.

Leer con detenimiento los ítems y calificar en una escala de 1 a 4 su valoración, así como solicitamos brindes sus observaciones que considere pertinente

1 No cumple con el criterio
2. Bajo Nivel
3. Moderado nivel
4. Alto nivel





**Dimensiones del instrumento:**

Primera dimensión:

Objetivos de la Dimensión: Evaluar el efecto de la dosis de *Klebsiella Oxitoca* en la biodegradación de Clorpirifos en solución acuosa

Indicadores	Ítem	Claridad	Coherencia	Relevancia	Observaciones/ Recomendaciones
1.5 x 10 <sup>8</sup>	4	4	4	4	Ninguna
6 x 10 <sup>8</sup>	4	4	4	4	Ninguna

**Dimensiones del instrumento:**

Segunda dimensión:

Objetivos de la Dimensión: Evaluar el efecto del pH a las mejores condiciones de *Klebsiella Oxitoca* en la biodegradación de Clorpirifos en solución acuosa

INDICADORES	Ítem	Claridad	Coherencia	Relevancia	Observaciones/ Recomendaciones
pH 6	4	4	4	4	Ninguna
Ph8	4	4	4	4	Ninguna

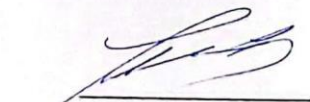


**Dimensiones del instrumento:**

Tercera dimensión:

Objetivos de la Dimensión: Determinar el tiempo de degradación óptimo a las mejores condiciones de dosis y pH para la biodegradación de Clorpirifos en solución acuosa

Indicadores	Ítem	Claridad	Coherencia	Relevancia	Observaciones/ Recomendaciones
0 horas	4	4	4	4	Ninguna
24 horas	4	4	4	4	Ninguna
96 horas	4	4	4	4	Ninguna

  
DNI: 70555704  
CBP: 14827



## Anexo N°3

### Consentimiento Informado (\*)

Título de la investigación: Remoción de clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* aislada de suelos contaminados con pesticidas.

Investigadores: Atalaya Escobar, Cristian Absalón y Lucero Joo, Jim

#### Propósito del estudio

Le invitamos a participar en la investigación titulada “Remoción de clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* aislada de suelos contaminados con pesticidas”, cuyo objetivo es obtener el grado de Título en Ingeniería Ambiental. Esta investigación es desarrollada por estudiantes de pregrado de la carrera profesional Ingeniería Ambiental de la Universidad César Vallejo del campus Trujillo, aprobado por la autoridad correspondiente de la Universidad y con el permiso de la institución Universidad Cesar Vallejo.

Describir el impacto del problema de la investigación.

La investigación se enfoca en estudiar la remoción del clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* aislada de suelos contaminados con pesticidas en los distritos de Moche y Barraza en la ciudad de Trujillo, ya que debido a los recientes estudios y cambios ecológicos de los suelos agrícolas tienen un alto nivel de residuos de pesticidas, afectando no solo la fertilidad del suelo, sino también a su producción, aguas subterráneas y aguas superficiales generando un cambio económico en los agricultores para la recuperación de sus suelos, asimismo, la investigación realizada permitirá mostrar un método más rentable para la recuperación de suelos contaminados con clorpirifos, además que es un proceso que utiliza tecnologías limpias y son amigables con el medio ambiente, ayudando a la concientización de la población local, logrando un mejor desempeño en las condiciones sostenibles y económicas, este proyecto de investigación será de ayuda para futuras investigaciones relaciones al tema.

#### Procedimiento

Si usted decide participar en la investigación se realizará lo siguiente (enumerar los procedimientos del estudio):

1. Se realizará una encuesta o entrevista donde se recogerán datos personales y algunas preguntas sobre la investigación titulada:” Remoción de clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* aislada de suelos contaminados con pesticidas.”.
2. Esta encuesta o entrevista tendrá un tiempo aproximado de 10 minutos y se realizará en el ambiente de la institución Las respuestas al cuestionario o guía de entrevista serán codificadas usando un número de identificación y, por lo tanto, serán anónimas.

Obligatorio a partir de los 18 años





Participación voluntaria (**principio de autonomía**):

Puede hacer todas las preguntas para aclarar sus dudas antes de decidir si desea participar o no, y su decisión será respetada. Posterior a la aceptación no desea continuar puede hacerlo sin ningún problema.

Riesgo (**principio de No maleficencia**):

Indicar al participante la existencia que NO existe riesgo o daño al participar en la investigación. Sin embargo, en el caso que existan preguntas que le puedan generar incomodidad. Usted tiene la libertad de responderlas o no.

Beneficios (**principio de beneficencia**):

Se le informará que los resultados de la investigación se le alcanzará a la institución al término de la investigación. No recibirá ningún beneficio económico ni de ninguna otra índole. El estudio no va a aportar a la salud individual de la persona, sin embargo, los resultados del estudio podrán convertirse en beneficio de la salud pública.

Confidencialidad (**principio de justicia**):

Los datos recolectados deben ser anónimos y no tener ninguna forma de identificar al participante. Garantizamos que la información que usted nos brinde es totalmente Confidencial y no será usada para ningún otro propósito fuera de la investigación. Los datos permanecerán bajo custodia del investigador principal y pasado un tiempo determinado serán eliminados convenientemente.

**Problemas o preguntas:**

Si tiene preguntas sobre la investigación puede contactar con el Investigadores

Atalaya escobar, Cristian Absalón email: catalayae@ucvvirtual.edu.pe

Lucero Joo, Jim email: jlucero@ucvvirtual.edu.pe

Docente asesor Dr. Cruz Monzón, José Alfredo email: jacruz@ucvvirtual.edu.pe

**Consentimiento**

Después de haber leído los propósitos de la investigación autorizo participar en la investigación mencionada.

Nombre y apellidos: Cristian Absalón Atalaya Escobar,

Fecha y hora: 17/11/2023 hora: 10:00 am

*Para garantizar la veracidad del origen de la información: en el caso que el consentimiento sea presencial, el encuestado y el investigador debe proporcionar: Nombre y firma. En el caso que sea cuestionario virtual, se debe solicitar el correo desde el cual se envía las respuestas a través de un formulario Google.*





## Consentimiento Informado (\*)

Título de la investigación: Remoción de clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* aislada de suelos contaminados con pesticidas.

Investigadores: Atalaya Escobar, Cristian Absalón y Lucero Joo, Jim

### Propósito del estudio

Le invitamos a participar en la investigación titulada “Remoción de clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* aislada de suelos contaminados con pesticidas”, cuyo objetivo es obtener el grado de Título en Ingeniería Ambiental. Esta investigación es desarrollada por estudiantes de pregrado de la carrera profesional Ingeniería Ambiental de la Universidad César Vallejo del campus Trujillo, aprobado por la autoridad correspondiente de la Universidad y con el permiso de la institución Universidad Cesar Vallejo.

Describir el impacto del problema de la investigación.

La investigación se enfoca en estudiar la remoción del clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* aislada de suelos contaminados con pesticidas en los distritos de Moche y Barraza en la ciudad de Trujillo, ya que debido a los recientes estudios y cambios ecológicos de los suelos agrícolas tienen un alto nivel de residuos de pesticidas, afectando no solo la fertilidad del suelo, sino también a su producción, aguas subterráneas y aguas superficiales generando un cambio económico en los agricultores para la recuperación de sus suelos, asimismo, la investigación realizada permitirá mostrar un método más rentable para la recuperación de suelos contaminados con clorpirifos, además que es un proceso que utiliza tecnologías limpias y son amigables con el medio ambiente, ayudando a la concientización de la población local, logrando un mejor desempeño en las condiciones sostenibles y económicas, este proyecto de investigación será de ayuda para futuras investigaciones relaciones al tema.

### Procedimiento

Si usted decide participar en la investigación se realizará lo siguiente (enumerar los procedimientos del estudio):

1. Se realizará una encuesta o entrevista donde se recogerán datos personales y algunas preguntas sobre la investigación titulada:” Remoción de clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* aislada de suelos contaminados con pesticidas.”.
2. Esta encuesta o entrevista tendrá un tiempo aproximado de 10 minutos y se realizará en el ambiente de la institución Las respuestas al cuestionario o guía de entrevista serán codificadas usando un número de identificación y, por lo tanto, serán anónimas.

Obligatorio a partir de los 18 años





Participación voluntaria (**principio de autonomía**):

Puede hacer todas las preguntas para aclarar sus dudas antes de decidir si desea participar o no, y su decisión será respetada. Posterior a la aceptación no desea continuar puede hacerlo sin ningún problema.

Riesgo (**principio de No maleficencia**):

Indicar al participante la existencia que NO existe riesgo o daño al participar en la investigación. Sin embargo, en el caso que existan preguntas que le puedan generar incomodidad. Usted tiene la libertad de responderlas o no.

Beneficios (**principio de beneficencia**):

Se le informará que los resultados de la investigación se le alcanzará a la institución al término de la investigación. No recibirá ningún beneficio económico ni de ninguna otra índole. El estudio no va a aportar a la salud individual de la persona, sin embargo, los resultados del estudio podrán convertirse en beneficio de la salud pública.

Confidencialidad (**principio de justicia**):

Los datos recolectados deben ser anónimos y no tener ninguna forma de identificar al participante. Garantizamos que la información que usted nos brinde es totalmente Confidencial y no será usada para ningún otro propósito fuera de la investigación. Los datos permanecerán bajo custodia del investigador principal y pasado un tiempo determinado serán eliminados convenientemente.

**Problemas o preguntas:**

Si tiene preguntas sobre la investigación puede contactar con el Investigadores

Atalaya escobar, Cristian Absalón

email: catalayae@ucvvirtual.edu.pe

Lucero Joo, Jim

email: jlucero@ucvvirtual.edu.pe

Docente asesor Dr. Cruz Monzón, José Alfredo

email: jacruz@ucvvirtual.edu.pe

**Consentimiento**

Después de haber leído los propósitos de la investigación autorizo participar en la investigación mencionada.

Nombre y apellidos: Jim Lucero Joo

Fecha y hora: 17/11/2023 hora: 10:00 am

*Para garantizar la veracidad del origen de la información: en el caso que el consentimiento sea presencial, el encuestado y el investigador debe proporcionar: Nombre y firma. En el caso que sea cuestionario virtual, se debe solicitar el correo desde el cual se envía las respuestas a través de un formulario Google.*





## Anexo N°4

### Consentimiento Informado del Apoderado\*\*

Título de la investigación: Remoción de clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* aislada de suelos contaminados con pesticidas.

Investigadores: Atalaya Escobar, Cristian Absalón y Lucero Joo, Jim.

#### Propósito del estudio

Estamos invitando a su hijo (a) a participar en la investigación titulada “Remoción de clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* aislada de suelos contaminados con pesticidas.”, cuyo objetivo es el grado de Título en Ingeniería Ambiental esta investigación es desarrollada por estudiantes de pregrado, de la carrera profesional Ingeniería Ambiental de la Universidad César Vallejo del campus de Trujillo, aprobado por la autoridad correspondiente de la Universidad y con el permiso de la institución Universidad Cesar Vallejo.

Describir el impacto del problema de la investigación.

La investigación se enfoca en estudiar la remoción del clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* aislada de suelos contaminados con pesticidas en los distritos de Moche y Barraza en la ciudad de Trujillo, ya que debido a los recientes estudios y cambios ecológicos de los suelos agrícolas tienen un alto nivel de residuos de pesticidas, afectando no solo la fertilidad del suelo, sino también a su producción, aguas subterráneas y aguas superficiales generando un cambio económico en los agricultores para la recuperación de sus suelos, asimismo, la investigación realizada permitirá mostrar un método más rentable para la recuperación de suelos contaminados con clorpirifos, además que es un proceso que utiliza tecnologías limpias y son amigables con el medio ambiente, ayudando a la concientización de la población local, logrando un mejor desempeño en las condiciones sostenibles y económicas, este proyecto de investigación será de ayuda para futuras investigaciones relaciones al tema.

#### Procedimiento

Si usted acepta que su hijo participe y su hijo decide participar en esta investigación (enumerar los procedimientos del estudio):

1. Se realizará una encuesta o entrevista donde se recogerán datos personales y algunas preguntas sobre la investigación titulada:” Remoción de clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* aislada de suelos contaminados con pesticidas.”.
2. Esta encuesta o entrevista tendrá un tiempo aproximado de 10 minutos y se realizará en el ambiente de la institución Las respuestas al cuestionario o guía de entrevista serán codificadas usando un número de identificación y, por lo tanto, serán anónimas.

\* Obligatorio hasta menores de 18 años, consentimiento informado cuando es firmado por el padre o madre. Si fuese otro tipo de apoderado sería consentimiento por sustitución.





Participación voluntaria (**principio de autonomía**):

Su hijo puede hacer todas las preguntas para aclarar sus dudas antes de decidir si desea participar o no, y su decisión será respetada. Posterior a que su hijo haya aceptado participar puede dejar de participar sin ningún problema.

Riesgo (**principio de No maleficencia**):

La participación de su hijo en la investigación NO existirá riesgo o daño en la investigación. Sin embargo, en el caso que existan preguntas que le puedan generar incomodidad a su hijo tiene la libertad de responderlas o no.

Beneficios (**principio de beneficencia**):

Mencionar que los resultados de la investigación se le alcanzará a la institución al término de la investigación. No recibirá ningún beneficio económico ni de ninguna otra índole. El estudio no va a aportar a la salud individual de la persona, sin embargo, los resultados del estudio podrán convertirse en beneficio de la salud pública.

Confidencialidad (**principio de justicia**):

Los datos recolectados de la investigación deben ser anónimos y no tener ninguna forma de identificar al participante. Garantizamos que la información recogida en la encuesta o entrevista a su hijo es totalmente Confidencial y no será usada para ningún otro propósito fuera de la investigación. Los datos permanecerán bajo custodia del investigador principal y pasado un tiempo determinado serán eliminados convenientemente.

**Problemas o preguntas:**

Si tiene preguntas sobre la investigación puede contactar con el Investigadores

Atalaya escobar, Cristian Absalón

email: catalayae@ucvvirtual.edu.pe

Lucero Joo, Jim

email: jlucero@ucvvirtual.edu.pe

Docente asesor Dr. Cruz Monzón, José Alfredo

email: jacruz@ucvvirtual.edu.pe

**Consentimiento**

Después de haber leído los propósitos de la investigación autorizo que mi menor hijo participe en la investigación.

Nombre y apellidos: Viky Lily Escobar Huamán

Fecha y hora: 17/11/2023 Hora: 10:00 am





## Consentimiento Informado del Apoderado\*\*

Título de la investigación: Remoción de clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca aislada* de suelos contaminados con pesticidas.

Investigadores: Atalaya Escobar, Cristian Absalón y Lucero Joo, Jim.

### Propósito del estudio

Estamos invitando a su hijo (a) a participar en la investigación titulada “Remoción de clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* aislada de suelos contaminados con pesticidas.”, cuyo objetivo es el grado de Título en Ingeniería Ambiental esta investigación es desarrollada por estudiantes de pregrado, de la carrera profesional Ingeniería Ambiental de la Universidad César Vallejo del campus de Trujillo, aprobado por la autoridad correspondiente de la Universidad y con el permiso de la institución Universidad Cesar Vallejo.

Describir el impacto del problema de la investigación.

La investigación se enfoca en estudiar la remoción del clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* aislada de suelos contaminados con pesticidas en los distritos de Moche y Barraza en la ciudad de Trujillo, ya que debido a los recientes estudios y cambios ecológicos de los suelos agrícolas tienen un alto nivel de residuos de pesticidas, afectando no solo la fertilidad del suelo, sino también a su producción, aguas subterráneas y aguas superficiales generando un cambio económico en los agricultores para la recuperación de sus suelos, asimismo, la investigación realizada permitirá mostrar un método más rentable para la recuperación de suelos contaminados con clorpirifos, además que es un proceso que utiliza tecnologías limpias y son amigables con el medio ambiente, ayudando a la concientización de la población local, logrando un mejor desempeño en las condiciones sostenibles y económicas, este proyecto de investigación será de ayuda para futuras investigaciones relaciones al tema.

### Procedimiento

Si usted acepta que su hijo participe y su hijo decide participar en esta investigación (enumerar los procedimientos del estudio):

1. Se realizará una encuesta o entrevista donde se recogerán datos personales y algunas preguntas sobre la investigación titulada:” Remoción de clorpirifos utilizando *Klebsiella Oxitoca* aislada de suelos contaminados con pesticidas.”.
2. Esta encuesta o entrevista tendrá un tiempo aproximado de 10 minutos y se realizará en el ambiente de la institución Las respuestas al cuestionario o guía de entrevista serán codificadas usando un número de identificación y, por lo tanto, serán anónimas.

\* Obligatorio hasta menores de 18 años, consentimiento informado cuando es firmado por el padre o madre. Si fuese otro tipo de apoderado sería consentimiento por sustitución.







Participación voluntaria (**principio de autonomía**):

Su hijo puede hacer todas las preguntas para aclarar sus dudas antes de decidir si desea participar o no, y su decisión será respetada. Posterior a que su hijo haya aceptado participar puede dejar de participar sin ningún problema.

Riesgo (**principio de No maleficencia**):

La participación de su hijo en la investigación NO existirá riesgo o daño en la investigación. Sin embargo, en el caso que existan preguntas que le puedan generar incomodidad a su hijo tiene la libertad de responderlas o no.

Beneficios (**principio de beneficencia**):

Mencionar que los resultados de la investigación se le alcanzará a la institución al término de la investigación. No recibirá ningún beneficio económico ni de ninguna otra índole. El estudio no va a aportar a la salud individual de la persona, sin embargo, los resultados del estudio podrán convertirse en beneficio de la salud pública.

Confidencialidad (**principio de justicia**):

Los datos recolectados de la investigación deben ser anónimos y no tener ninguna forma de identificar al participante. Garantizamos que la información recogida en la encuesta o entrevista a su hijo es totalmente Confidencial y no será usada para ningún otro propósito fuera de la investigación. Los datos permanecerán bajo custodia del investigador principal y pasado un tiempo determinado serán eliminados convenientemente.

**Problemas o preguntas:**

Si tiene preguntas sobre la investigación puede contactar con los Investigadores

Atalaya escobar, Cristian Absalón

email: catalayae@ucvvirtual.edu.pe

Lucero Joo, Jim

email: jlucero@ucvvirtual.edu.pe

Docente asesor Dr. Cruz Monzón, José Alfredo

email: jacruz@ucvvirtual.edu.pe

**Consentimiento**

Después de haber leído los propósitos de la investigación autorizo que mi menor hijo participe en la investigación.

Nombre y apellidos: Miria Lucero Joo Requena

Fecha y hora: 17/11/2023 Hora: 10:00 am





Anexo N°5

Resultado de reporte de similitud de Turnitin

Documento	Programa de similitud	Resultado (%)
<b>Remoción de clorpirifos utilizando <i>Klebsiella</i> <i>Oxitoca</i> aislada de suelos contaminados con pesticidas.</b>	Turnitin	%

Fuente: Elaboración Propia



**Anexo N°6: Ficha de campo de Barraza**

FICHA DE CAMPO – BARRAZA						
<b>FECHA:</b> 19/07/2023						
<b>RESPONSABLES DEL MUESTREO:</b> Jim Lucero Joo / Cristian Absalón Atalaya Escobar				<b>HORA:</b> 12:30 p.m.		<b>FIRMA:</b>
IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	N° de la muestra		TIPO DE MUESTRA	CANTIDAD DE MUESTRA/PROFUNDIDAD		ÁREA
	01		Suelo Agrícola	1 kg / 30 cm		15 x15 m <sup>2</sup>
LOCALIZACIÓN	LUGAR DE MUESTREO	COORDENADAS GPS	CODIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO FOTOGRAFICO	DESCRIPCIONES DE ACCESO AL LUGAR	
					DESCRIPCIÓN FÍSICA/COLOR Y OLOR	ACTIVIDADES EN LA ZONA CERCANA AL PUNTO DE MUESTREO
	Barraza- Trujillo	8.11592285S 78.9847023W	CR1	01	Marrón con olor a humedad.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Siembra de apio, cilantro, repollo, poro</li> <li>• Ladrilleras</li> </ul>
TIEMPO (HORAS)	Se realizó la extracción de la muestra en 20 minutos.					
HERRAMIENTAS DE MUESTREO	TIPO DE MUESTREO		TIPO DE RECIPIENTE	MATERIAL DEL RECIPIENTE		
	Aleatorio		Bolsa Ziploc	PET		
OBSERVACIONES	Se observó que al momento de muestrear el suelo estaba húmedo.		El encargado nos comentó que utiliza el clorpirifos para controlar el gusano de tierra.	La última vez que utilizaron Clorpirifos fue hace 6 mes antes de sacar la muestra.		

### Anexo N°7: Extracción de la muestra de Barraza



Fuente: Elaboración propia



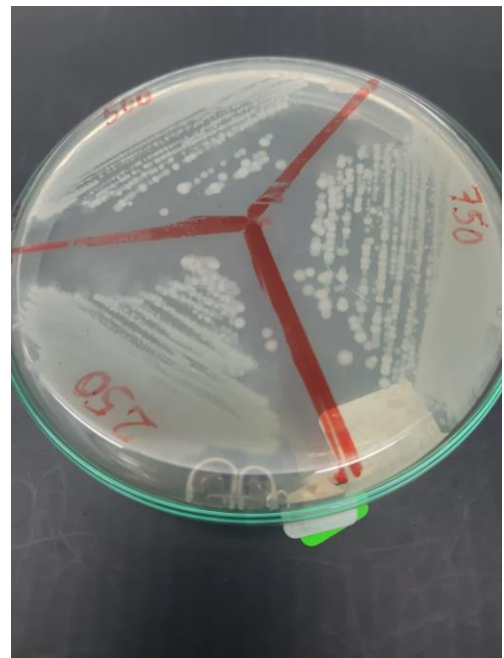
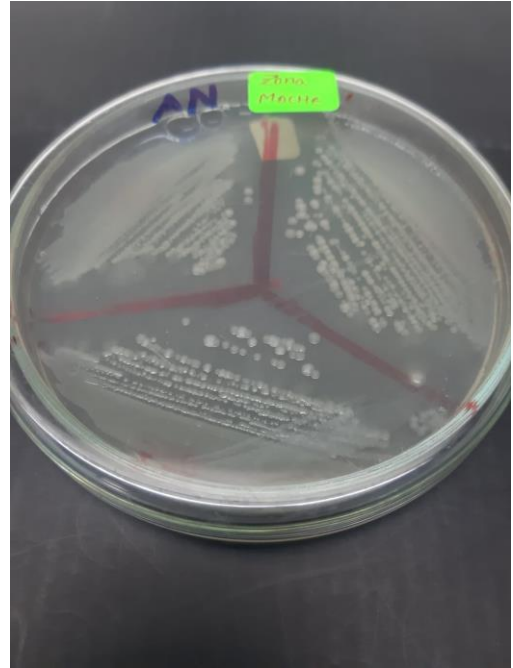
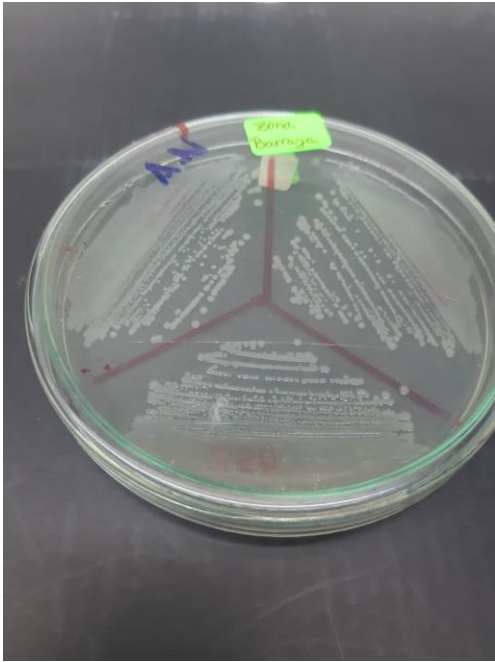
**Anexo N°8: Ficha de campo de Moche**

FICHA DE CAMPO – MOCHE						
<b>FECHA:</b> 19/07/2023						
<b>RESPONSABLES DEL MUESTREO:</b> Jim Lucero Joo / Cristian Absalón Atalaya Escobar			<b>HORA:</b> 5:50 p.m.		<b>FIRMA:</b>	
IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	N° de la muestra		TIPO DE MUESTRA	CANTIDAD DE MUESTRA/PROFUNDIDAD	ÁREA	
	02		Suelo Agrícola	1 kg / 30 cm	15 x15 m <sup>2</sup>	
LOCALIZACIÓN	LUGAR DE MUESTREO	COORDENADAS GPS	CODIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO FOTOGRAFICO	DESCRIPCIONES DE ACCESO AL LUGAR	
					DESCRIPCIÓN FÍSICA/COLOR Y OLOR	ACTIVIDADES EN LA ZONA CERCANA AL PUNTO DE MUESTREO
	Moche- Trujillo	8.14437652S 78.99708258W	CR2	02	Marrón con olor a humedad	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Siembra de maíz amarillo.</li> <li>• Restaurantes de comida criolla.</li> </ul>
TIEMPO (HORAS)	Se realizó la extracción de la muestra en 20 minutos.					
HERRAMIENTAS DE MUESTREO	TIPO DE MUESTREO		TIPO DE RECIPIENTE	MATERIAL DEL RECIPIENTE		
	Aleatorio		Bolsa Ziploc	PET		
OBSERVACIONES	Se observó que al momento de muestrear el suelo estaba un poco húmedo.		El encargado nos comentó que utiliza el clorpirifos para controlar el gusano de tierra.	La última vez que utilizaron Clorpirifos fue hace 1 mes antes de sacar la muestra.		

Anexo N°9: Extracción de la muestra de Moche



**Anexo N°10: *Klebsiella Oxitoca* tolerantes al clorpirifos (método por estría)**



**Anexo N°11: Tabla de resultados de absorbancia de clorpirifos mediante espectrofotometría UV-Vis.**

6 horas				
	Absorbancia	Concentración ppm	Clorpirifos en matraz	% Remoción
blanco	0,355	157,7	100,0	-----
1 (pH6/[C1])	0,370	82,2	52,1	47,9
2 (pH6/[C1])	0,369	82,0	52,0	48,0
3 (pH6/[C1])	0,373	82,8	52,5	47,5
1 (pH6/[C2])	0,386	80,0	50,7	49,3
2 (pH6/[C2])	0,337	74,8	47,4	52,6
3 (pH6/[C2])	0,381	81,1	51,4	48,6
1 (pH8/[C1])	0,524	116,4	73,8	
2 (pH8/[C1])	0,516	114,6	72,7	27,3
3 (pH8/[C1])	0,508	112,8	71,5	28,5
1 (pH8/[C2])	0,394	87,5	55,5	44,5
2 (pH8/[C2])	0,389	86,4	54,8	45,2
3 (pH8/[C2])	0,381	84,6	53,6	46,4

24 horas				
	Absorbancia	Concentración ppm	Clorpirifos en matraz	% Remoción
blanco	0,357	158,6	100,0	-----
1 (pH6/[C1])	0,360	80,0	50,4	49,6
2 (pH6/[C1])	0,365	81,1	51,1	48,9
3 (pH6/[C1])	0,358	79,5	50,1	49,9
1 (pH6/[C2])	0,340	75,5	47,6	52,4
2 (pH6/[C2])	0,349	77,5	48,9	51,1
3 (pH6/[C2])	0,345	76,6	48,3	51,7
1 (pH8/[C1])	0,424	94,2	59,4	40,6
2 (pH8/[C1])	0,417	92,6	58,4	41,6
3 (pH8/[C1])	0,410	91,1	57,4	42,6
1 (pH8/[C2])	0,390	86,6	54,6	45,4
2 (pH8/[C2])	0,375	83,3	52,5	47,5
3 (pH8/[C2])	0,370	82,2	51,8	48,2

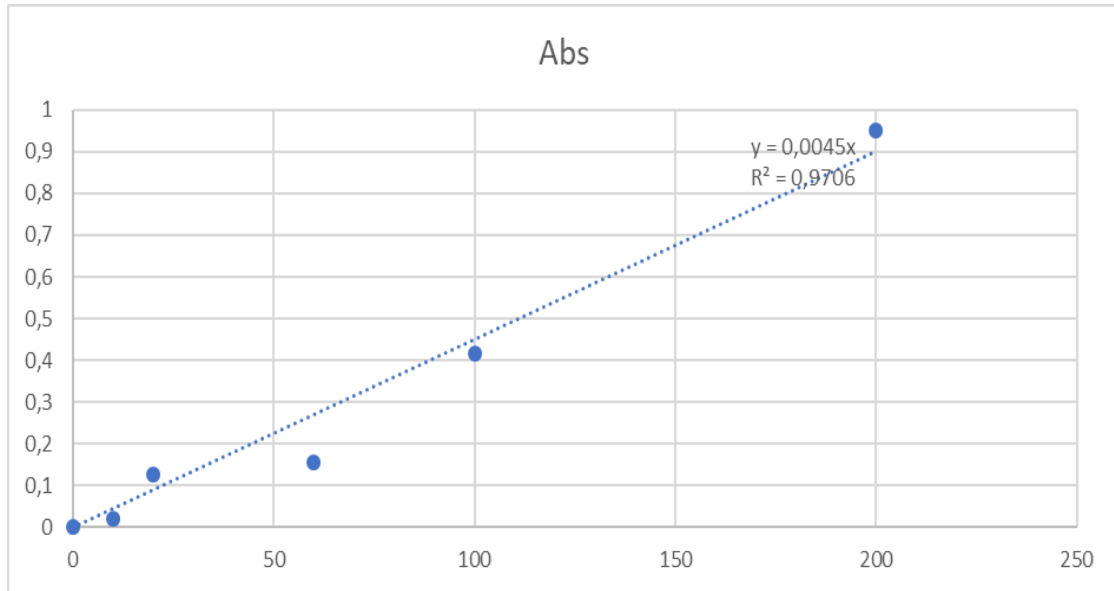


48 horas				
	Absorbancia	Concentración ppm	Clorpirifos en matraz	% Remoción
blanco	0,355	157,7	100,0	-----
1 (pH6/[C1])	0,350	77,7	49,3	50,7
2 (pH6/[C1])	0,345	76,6	48,6	51,4
3 (pH6/[C1])	0,348	77,3	49,0	51,0
1 (pH6/[C2])	0,329	73,1	46,4	53,6
2 (pH6/[C2])	0,340	75,5	47,9	52,1
3 (pH6/[C2])	0,315	70,0	44,4	55,6
1 (pH8/[C1])	0,390	86,6	54,9	45,1
2 (pH8/[C1])	0,388	86,2	54,7	45,3
3 (pH8/[C1])	0,373	82,8	52,5	47,5
1 (pH8/[C2])	0,359	79,7	50,5	49,5
2 (pH8/[C2])	0,351	78,0	49,5	50,5
3 (pH8/[C2])	0,368	81,7	51,8	48,2

96 horas				
	Absorbancia	Concentración ppm	Clorpirifos en matraz	% Remoción
blanco	0,354	157,3	100,0	-----
1 (pH6/[C1])	0,288	64,0	40,7	59,3
2 (pH6/[C1])	0,263	58,4	37,1	62,9
3 (pH6/[C1])	0,282	62,6	39,8	60,2
1 (pH6/[C2])	0,250	55,5	35,3	64,7
2 (pH6/[C2])	0,228	50,6	32,2	67,8
3 (pH6/[C2])	0,249	55,3	35,2	64,8
1 (pH8/[C1])	0,326	72,4	46,0	54,0
2 (pH8/[C1])	0,322	71,5	45,5	54,5
3 (pH8/[C1])	0,318	70,6	44,9	55,1
1 (pH8/[C2])	0,294	65,3	41,5	58,5
2 (pH8/[C2])	0,272	60,4	38,4	61,6
3 (pH8/[C2])	0,288	64,0	40,7	59,3



**Anexo N°12: Figura lineal del estándar de clorpirifos, para determinar la constante**



**Anexo 13: Preparación del medio de cultivo**



Se pesó 4,20 gr de agar Bushnell  
Hass Broth



Luego se agregó 300 ml de agua  
ultra pura y se removió hasta  
homogenizar el medio de cultivo



Luego los 300 ml de medio de cultivo se agregaron a un contenedor más grande y se añadió 1 L de agua ultrapura



Se agregaron 85 ml de medio de cultivo a cada frasco.



Y se llevó a una autoclave para esterilizarlo, a una temperatura de 121 ° C durante 30 minutos



Luego de esterilizarse se agregó 10 ml del stock de clorpirifos a cada frasco



Se realizó una suspensión bacteriana a dos dosis,  $1,5 \cdot 10^8$  y  $6 \cdot 10^8$



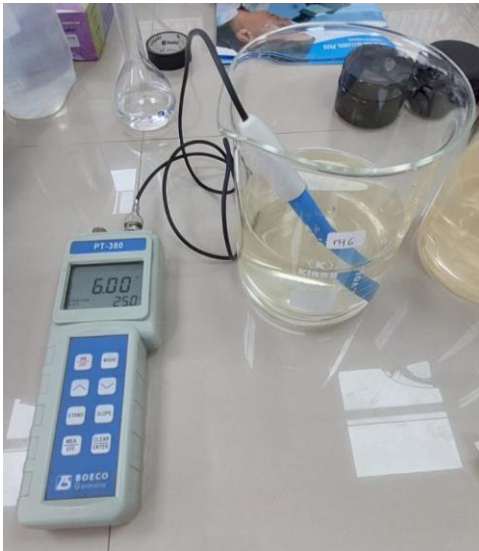
Según la escala de MacFarland, se trabajó con una densidad óptica de 0,5 y 2.



Finalmente se agregaron 5 ml de bacterias (*Klebsiella Oxitoca*) a cada frasco, menos a dos frascos que fueron los blancos de pH 6 y pH 8, estos blancos solo contenían 90 ml de medio de cultivo y 10 ml de clorpirifos.



Finalmente, todos los frascos se pusieron en agitación constante a 110 rpm.



pH 6



pH 8



Realizando las lecturas por Espectrofotometría UV-Vis a 290 nm.

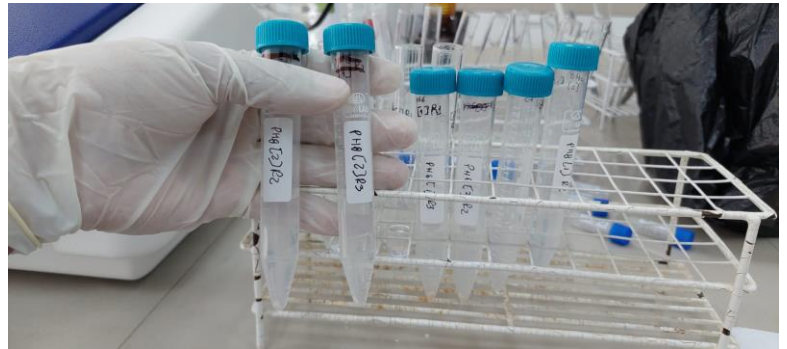




Diferentes concentraciones trabajadas para la curva del estándar del clorpirifos.

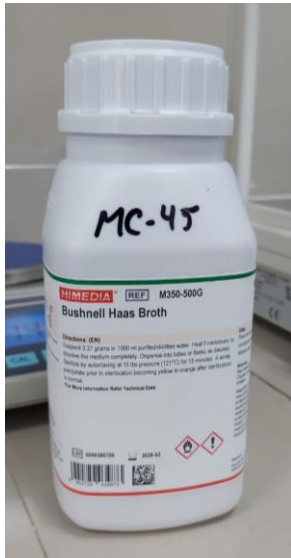


Envolviendo las fiolas con papel de aluminio.



Muestras listas para ser centrifugadas a 6000 rpm durante 5 minutos en el equipo BOECO C28A – MERA COMPANY





Acetonitrilo al 99,8 %



Pesticida comercial clorpirifos

480 g/L

Agar Bushnell Haas Broth utilizado para la parte experimental de nuestra investigación.



Nombre del equipo:

Sistema Automatizado de Microbiología – VITEK 2

Que nos sirvió para la identificación de la bacteria