



**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

## **FACULTAD DE INGENIERÍA**

### **ESCUELA ACÁDEMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

Capacidad de remoción de arsénico por *Pseudomonas aeruginosa* a  
diferente tiempo y concentración, en aguas contaminadas del Río El Toro  
- Huamachuco

#### **TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO(A) AMBIENTAL**

##### **AUTORES:**

LAYZA AVALOS, CRISTHIANOS JOSUE

POLO SANCHEZ, KATHERINE

##### **ASESOR:**

Msc. WALTER MORENO EUSTAQUIO

##### **LÍNEA DE**

##### **INVESTIGACIÓN**

**CALIDAD Y GESTIÓN DE RECURSOS NATURALES**

**TRUJILLO – PERÚ**

**2018**

## **PÁGINA DEL JURADO**

---

**ING. FERNANDO UGAZ ODAR  
PRESIDENTE**

---

**ING. ISIDORO VALDERRAMA  
RAMOS  
SECRETARIO**

---

**ING. WALTER MORENO EUSTAQUIO  
VOCAL**

## DEDICATORIA

Yo **Polo Sanchez, Katherine** dedico esta tesis principalmente a **Dios** por permitirme llegar a este momento tan especial, protegiéndome durante todo mi camino y darme fuerzas para superar obstáculos y dificultades a lo largo de toda mi vida. A mi mamá **Andrea Sanchez** por ser el pilar más importante, nunca dejo de apoyarme en todo momento, gracias por tu amor, tú esfuerzo, tú dedicación, paciencia, por tu confianza en cada paso que daba. Sobre todo gracias por darme una carrera para mi futuro, todo esto te lo debo a ti. A mi papá **Marino Polo** a pesar de nuestra distancia física, siempre lo he tenido presente en mi vida y sé que estaría orgulloso de la persona en la cual me he convertido. A mi tío **Jaime Polo** porque siempre me apoyo en todo momento, por darme fuerzas y consejos en cada tropiezo de mi vida y me oriento a seguir adelante y poder concluir mi carrera profesional.

Yo **Layza Avalos, Cristhians Josue** le dedico a DIOS porque es él guía de mis caminos, quien me ha dado la fuerza y la voluntad para levantarme en cada tropiezo hasta lograr culminar mi carrera. **A mi Mamá Maria** por ser el pilar más importante y por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional sin importar nuestras diferencias de opiniones. A mi Abuelita Maruja que a pesar de nuestra distancia física, siento que estás conmigo siempre y aunque nos faltaron muchas cosas por vivir juntos, sé que este momento hubiera sido tan especial para ti como lo es para mí. **A mi tía Alersi**, a quien quiero como a una madre, por compartir momentos significativos conmigo y ayudarme en cualquier momento. **A Mariajose**, mi hermana.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por darnos la fuerza necesaria para alcanzar una meta más en nuestras vidas.

A nuestros padres y hermanos por su apoyo incondicional, comprensión y por sus palabras de aliento en continuar con nuestros estudios universitarios.

A los Docentes de la Universidad Cesar Vallejo, que durante nuestra carrera universitaria nos impartieron conocimientos y contribuyeron en alcanzar un éxito más en nuestras vidas.

De manera muy especial a nuestro asesor el Ing. Walter Moreno Eustaquio, por su aporte y apoyo en el desarrollo de la presente tesis.

## **DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD**

Yo, **Polo Sanchez, Katherine** con DNI N° **71250743** a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Ambiental, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompaño es veraz y auténtica.

Así mismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis son auténticos y veraces.

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

Trujillo, 18 de Diciembre del 2018.

---

**Polo Sanchez, Katherine**

**DNI: 71250743**

Yo, **Layza Avalos, Cristhians Josue** con DNI N° **71374993** a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Ambiental, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompaño es veraz y auténtica.

Así mismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis son auténticos y veraces.

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

Trujillo, 18 de Diciembre del 2018.

---

**Layza Avalos, Cristhians Josue**

**DNI: 71374993**

## **PRESENTACIÓN**

Presentamos ante los miembros del jurado la tesis titulada:

Capacidad de remoción de arsénico por *Pseudomonas aeruginosa* a diferente tiempo y concentración, en aguas contaminadas del Río El Toro - Huamachuco, con la finalidad de obtener el grado de Ingenieros Ambientales y cumplir con el reglamento de la Universidad César Vallejo.

Esperando cumplir con los requisitos de aprobación.

**Los Autores**

## INDICE

PÁGINA DEL JURADO.....	2
DEDICATORIA .....	3
AGRADECIMIENTO .....	4
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD.....	5
PRESENTACIÓN.....	7
INDICE.....	8
RESUMEN .....	10
ABSTRACT.....	11
I. INTRODUCCION.....	12
1.1. Realidad Problemática .....	12
1.2. Trabajos previos .....	15
1.3. Teorías relacionadas al tema.....	19
1.3.1. Arsénico.....	19
1.3.2. Toxicidad del Arsénico.....	19
1.3.3. Fuentes de arsénico en el medio ambiente .....	19
1.3.4. Remoción de Arsénico por técnicas de oxidación.....	22
1.3.5. Remediación microbiana.....	23
1.3.6. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	24
1.4. Formulación del problema .....	24
1.5. Justificación del estudio .....	24
1.6. Objetivos .....	26
1.6.1. Objetivo General .....	26
1.6.2. Objetivos Específicos.....	26
II. MATERIAL Y METODOS .....	27
2.1. Diseño de investigación.....	27
2.2. Variables, operacionalización.....	28
2.2.1. Variables.....	28
2.2.2 Operacionalización.....	29
2.3. Población y muestra.....	30
2.3.1. Población.....	30
2.3.2. Muestra .....	30
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos. Validez y confiabilidad .....	30
2.5. Método de análisis de Datos.....	30
2.6. Aspectos éticos.....	30

III.	RESULTADOS .....	31
IV.	DISCUSIÓN.....	37
V.	CONCLUSIONES .....	38
VI.	RECOMENDACIONES.....	39
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	40
VIII.	ANEXOS .....	44

## RESUMEN

La remoción de métodos pesados, está siendo remediada por microorganismos biorremediadores, los cuales son inocuos para el medio ambiente, además el costo de su uso es barato, entre los contaminantes tenemos al arsénico que al ingresar a la cadena trófica causan problemas a la salud de los seres vivos por la bioacumulación que causa en su organismo. En la presente investigación se tuvo como principal objetivo determinar la capacidad de remoción de arsénico por *Pseudomonas aeruginosa* a diferente tiempo y concentración, en aguas contaminadas del río El Toro – Huamachuco. Las muestras de *Pseudomonas aeruginosa* fueron obtenidas y aisladas en agar Centrimide, su identificación se realizó considerando su comportamiento frente a otros tipos de agar: Agar Mac Conkey y Agar Centrimide. Las muestras de agua fueron extraídas en material de vidrio previamente esterilizado y guardados en cooler para su conservación durante el traslado al laboratorio de análisis. La concentración bacteriana (UFC) se determinó por medio de la técnica de recuento en placa sobre medio agar Centrimide tras un periodo de incubación de 24 horas a una temperatura promedio de  $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , realizando diluciones de  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  y  $10^{-7}$ . Los resultados muestran mayores porcentajes de remoción de arsénico, en el agua a condiciones naturales, tras la aplicación de  $3.15 \times 10^{10}$  UFC, siendo 54.36%, 58.20% y 60.88% tras periodos de 24, 48 y 72 horas respectivamente. Finalmente se determinó que la mayor capacidad de remoción a una concentración  $3.15 \times 10^{10}$  UFC de *Pseudomonas aeruginosa* logra remover hasta un 60.88 % de arsénico a condiciones naturales y un 96.72 % en condiciones estériles en un periodo de 72 días.

**PALABRAS CLAVE:** *Pseudomonas aeruginosa*, remoción, arsénico.

## **ABSTRACT**

The removal of heavy metals is being remedied by bioremediating microorganisms, which are harmless to the environment, besides the cost of its use is cheap, among the pollutants we have as the exchange of data to enter the food chain cause problems to the health of living beings due to the bioaccumulation that they cause in their organism. In the present investigation, the main objective was to determine the capacity of arsenic removal by *Pseudomonas aeruginosa* at different time and concentration, in contaminated waters of the El Toro - Huamachuco river. The samples of *Pseudomonas aeruginosa* were the following: MacConkey Agar and Centrimide Agar. The water samples were extracted in glass material previously sterilized and stored in the refrigerator for maintenance during the transfer to the analysis laboratory. The bacterial concentration (CFU) is determined by means of the plate technique on the Centrimide medium after an incubation period of 24 hours at an average temperature of  $37 \pm 2$  °C, making dilutions of  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  and  $10^{-7}$ . The results show the percentages of removal of arsenic, water and natural conditions, the application of  $3.15 \times 10^{10}$  CFU, being 54.36%, 58.20% and 60.88% after periods of 24, 48 and 72 hours respectively. Finally, it was determined that the removal capacity at  $3.15 \times 10^{10}$  CFU of *Pseudomonas aeruginosa* is a remover of up to 60.88% of arsenic at natural conditions and 96.72% under sterile conditions in a period of 72 days.

**KEY WORDS:** *Pseudomonas aeruginosa*, removal, arsenic.

## I. INTRODUCCION

### 1.1. Realidad Problemática

En la actualidad, la minería se encuentra distribuida por todo el Perú, y particularmente en La Libertad hay aproximadamente 505 lagunas que se ubican principalmente en la zona altoandina, pero sólo cinco de ellas se encuentran en la Costa, siendo Pataz, Santiago de Chuco, Bolívar y Sánchez Carrión las provincias con más espejos de agua dulce; sin embargo la explotación minera se concentra en la provincia de Pataz, en los pueblos de Pataz, Retamas, Parcoy y Buldibuyo; Gran Chimú, Otuzco, Santiago de Chuco y Sánchez Carrión. (Corcuera, 2015)

El metal pesado que se encuentra en mayor concentración en este tipo de aguas es el arsénico, que si bien es un elemento natural de la corteza terrestre, que se encuentra distribuido de forma ubicua en el aire, agua y tierra; en concentraciones elevadas por las actividades antropogénicas ocasionadas por la minería ocasiona que la calidad de agua de vea afectada. (Yosim *et. al*, 2015).

El arsénico existe en cuatro estados de oxidación: -3, 0, +3 y +5, de los cuales el estado de oxidación pentavalente es el compuesto arsenical que se encuentra en la mayoría de los organismos y alimentos, además en el agua potable, el arsénico se halla en forma inorgánica como arsenato ( $\text{As}^{+5}$ ) y arsenito ( $\text{As}^{+3}$ ), siendo los estados de oxidación trivalente y pentavalente los de mayor interés en estudios ambientales. (Medina-Pizzali, 2018).

La exposición al arsénico inorgánico a través del consumo de alimentos, agua, aire contaminados, produce graves efectos en la salud humana. Las dosis bajas y las exposiciones a largo plazo del arsénico conducen a una serie de complicaciones médicas denominadas "arsenicosis". La ingestión, inhalación y absorción de la piel son algunas de las rutas cruciales para que el arsénico ingrese al cuerpo humano, ya que los compuestos de arsénico pentavalente y trivalente se absorben y se extienden rápida y extensamente por el tracto gastrointestinal. (Abdul *et. al*, 2015)

Los niveles bajos a moderados de exposición al arsénico (10–300  $\mu\text{g} / \text{L}$ ) a través del agua tienen efectos adversos, como lesiones cutáneas, trastornos circulatorios, complicaciones neurológicas, diabetes, complicaciones respiratorias, disfunción hepática y renal, incluida la mortalidad por enfermedades crónicas. Una estimación de alrededor de 100 millones de

personas en todo el mundo está expuestas a niveles de arsénico superiores a 50  $\mu\text{g} / \text{L}$  a través del agua, pero también a través de procesos industriales (Moon *et. al.*, 2012)

La OMS, considera al arsénico como una de las 10 sustancias químicas más peligrosas para la salud pública. Según la OMS, el límite recomendado de concentración de arsénico en el agua es de 10  $\mu\text{g}/\text{l}$ , aunque este valor de referencia se considera provisional dadas las dificultades de medición y las dificultades prácticas relacionadas con la eliminación del arsénico del agua., además precisa que los efectos a largo plazo del consumo de arsénico inorgánico en niveles superiores a los permisibles (por ejemplo, a través del consumo de agua y alimentos contaminados) se manifiestan en la piel e incluyen cambios de pigmentación, lesiones cutáneas y callosidades en las palmas de las manos y las plantas de los pies (hiperqueratosis), efectos que se producen tras una exposición mínima de aproximadamente cinco años, pudiendo ser precursores de cáncer de piel. (Larios-Meño, 2015)

Las actividades mineras e industriales comúnmente promueven la acumulación de desechos y la lixiviación de contaminantes. En este sentido, varios estudios han abordado los efectos de la eliminación incontrolada y el abandono de los desechos tóxicos expuestos a la intemperie y la erosión en el suelo, los sedimentos y el agua (subterránea), siendo los contaminantes con alta toxicidad y comportamiento geoquímico complejo, los elementos potencialmente Tóxicos (PTE), particularmente el arsénico (As), los que son relevantes ya que requieren tratamientos de remediación costosos. (González-Fernández *et. al.* 2018).

La presencia de arsénico ha sido marcada en el suministro de agua subterránea en varias regiones en más de 70 países y se estima que más de 150 millones de personas están expuestas al arsénico, predominantemente pertenecientes a áreas rurales (Shankar *et al.* 2014). Además, la Organización Nacional del Agua realizó un monitoreo a los ríos y lagunas de Huamachuco, el cual determinó la presencia de metales pesados en altas concentraciones provenientes principalmente de la minería formal e informal, entre los cuales tenemos a los ríos ubicados cerca a la minera Barrick y la que se está dando por la minería informal que se viene desarrollando en las faldas del cerro El Toro, por donde discurren las aguas del río, las mismas que son utilizadas en las partes bajas para riego y consumo humano y de animales (Vega, 2012).

La tecnología de tratamiento para la eliminación de arsénico incluye electrodiálisis, intercambio iónico, ultrafiltración, etc., que produce rechazos de agua enriquecidos con arsénico, pero los desperdicios que se generan generalmente se almacenan y se arrojan o se desechan en los alrededores cercanos, lo que podría conducir a la lixiviación del arsénico en el suelo y en el sistema de agua, lo que hace que el agua subterránea sea más susceptible a las concentraciones de arsénico, siendo el manejo de residuos ricos en arsénico de estos sistemas una preocupación ambiental importante, buscándose identificar nuevas técnicas sostenibles para abordar la eliminación de residuos de arsénico en el medio ambiente acuático (Shivakshi *et. al.*, 2017).

Siendo necesaria hoy en día la búsqueda de nuevos métodos de remoción que además de cumplir su cometido, también sean amigables con el medio ambiente, por lo que una alternativa es la utilización de microorganismos, ya que estos son inocuos para el medio ambiente, siendo un reto emergente identificar y explotar las potencialidades metabólicas microbianas en el tratamiento de agua contaminada con arsénico, ya que varios estudios evaluaron la efectividad de los tratamientos biológicos como alternativa a los métodos de tratamiento físico-químicos comúnmente aplicados (Crognale *et. al.*, 2017); ya que, en diferentes ambientes acuáticos ricos en arsénico, muchos microorganismos han desarrollado mecanismos para tolerar altas concentraciones de arsénico y / o utilizarlo para el metabolismo respiratorio, en particular, pueden mediar las reacciones de reducción, oxidación, metilación y desmetilación del arsénico. (Huang 2014).

El objetivo de este trabajo fue determinar la capacidad de remoción de arsénico por *Pseudomonas aeruginosa* a diferente tiempo y concentración, en aguas contaminadas del río El Toro – Huamachuco.

Se justifica el trabajo porque Huamachuco es una zona minera, que viene siendo contaminada mayormente por la minería informal, debido a que sus trabajadores no cuentan con implementos de seguridad adecuados, y que los desechos que producen no son tratados adecuadamente, por lo tanto, son eliminados sin ningún tratamiento previo, produciendo que éstos contaminen los suelos volviéndolo infértiles, el agua de los ríos o canales volviéndolos no aptos para consumo humano, y el aire dañino, haciendo que las personas enfermen, debido a la presencia de metales pesados como plomo, mercurio, arsénico, etc.

## 1.2.Trabajos previos

**AWASTHI et. al. (2018)**, en su publicación “Un consorcio de alga (*Chlorella vulgaris*) y bacteria (*Pseudomonas putida*) para la mejora de la toxicidad por arsénico en el arroz: Un enfoque prometedor y viable”, evaluaron el potencial de mejora de la toxicidad por arsénico (As) de un consorcio de Rhizobacterium (*Pseudomonas putida*) y alga (*Chlorella vulgaris*) durante la exposición de arsenato (AsV) a las plantas de arroz (*Oryza sativa*) durante 15 d. La mejora mediada por el consorcio de la toxicidad de As fue evidente a través del mejoramiento del crecimiento de las plantas de arroz (longitud de raíces y brotes y biomasa) y la reducción del estrés oxidativo [como nivel de radicales superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y daño a la membrana], el cual se atribuyó a la disminución significativa en la acumulación de As en la raíz ( $94\text{mgkg}^{-1}$  dw) y brote ( $51\text{mgkg}^{-1}$  dw) en plántulas inoculadas con el consorcio (*P. putida* + *C. Vulgaris*), en comparación con As solo Plantas expuestas ( $156$  y  $98\text{mgkg}^{-1}$  dw, respectivamente).

**RAMOS et. al. (2018)**, en su publicación “Bioadsorción de metales pesados con biomasa aislada de Jales mineros”, se evaluó la capacidad de adsorción del arsénico por cepas bacterianas aisladas de residuos mineros. Las morfologías que presentaban las cepas bacterianas fueron bacilos, cocos y filamentos. Primero, se seleccionaron cinco cepas bacterianas, C7, C9, C11, C20 y C21, las cuales se cultivaron para la producción de biomasa; segundo, la biomasa se expuso a soluciones de arsénico con concentraciones conocidas durante 60 y 120 minutos; y finalmente se determinó la capacidad de remoción de arsénico por las cepas bacterianas empleando la técnica del arsenator. Los resultados mostraron que la cepa C7 presenta capacidad de remoción de arsénico, registrándose un porcentaje de remoción del 33% a los 60 minutos de contacto con la solución de arsénico y de un porcentaje de remoción del 66% a los 120 minutos contacto con la solución de arsénico; mientras que la cepa C20 no muestra evidencia de su capacidad de remoción.

**NORIEGA et. al. (2018)**, en su publicación “Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias resistentes a metales pesados de desechos mineros”, se aisló y caracterizó cepas bacterianas de residuos mineros con potencial aplicación en tecnologías para la remoción de metales pesados. Se evaluó el crecimiento en cultivos expuestos a  $NaAsO_2$  a concentraciones de 4, 6 y 12 mM y en cultivos expuestos a  $HgNO_3 \cdot H_2O$  a concentraciones de 0.1, 0.5 y 1 mM. Se realizaron lecturas de absorvancia a una longitud de onda de 600 nm en cultivos de

48 horas. Los resultados mostraron que las bacterias aisladas de jales mineros presentan mecanismos de resistencia cuando se exponen a diferentes concentraciones de arsénico y mercurio. Se identificaron 4 cepas tolerantes a mercurio y 4 cepas tolerantes a arsénico. No obstante, se obtuvo una baja comunidad microbiana debido a los altos niveles de contaminación en el sitio de estudio.

**ALANIZ-ANDRADE *et. al.* (2017)**, en su publicación “Tolerancia al arsénico en cultivos bacterianos aislados de suelo contaminado con metales”, se analizó la tolerancia al arsénico de diez aislamientos bacterianos de un sitio contaminado con metal, y se observó una alta tolerancia en ambos sólidos (40 mM - 300 mM de arseniato de dihidrógeno de sodio y 4 mM de arsenito de sodio) y líquido medios (7,2 mM y 11,3 mM arsenito). Los aislamientos tolerantes al arsénico se identificaron mediante análisis de amplificación del gen bioquímico y que codifica el ARNr 16S como miembros del género *Bacillus*, *Micrococcus* y *Acinetobacter*. Un estudio de resistencia a los antibióticos reveló una alta prevalencia de resistencia a los betalactámicos y una prevalencia moderada de nitrofurantoína, vancomicina y ceftriaxona, lo que sugiere que la resistencia múltiple a los antibióticos de los aislamientos está probablemente relacionada con la tolerancia al arsénico a través de un plásmido o un mecanismo de resistencia codificado cromosómicamente.

**ZHANG *et. al.* (2016)**, en su publicación “Transformación redox del arsénico por *Pseudomonas* sp. HN-2 aislado de suelo contaminado con arsénico en Hunan, China”, utilizó una cepa bacteriana reductora mesófila, gramnegativa, [As (III)] - oxidante y arseniato [As (V)], *Pseudomonas* sp. HN-2, aislada de un suelo contaminado con As; la cual en condiciones aeróbicas, oxida el 92.0% (61.4  $\mu\text{mol/L}$ ) de arsenito a arsenato dentro de las 3 horas de incubación; mientras que la reducción de As (V) a As (III) ocurre en condiciones anóxicas. Se concluyó, que *Pseudomonas* sp. HN-2 se encuentra entre las primeras bacterias del suelo que muestran ser capaces tanto de la oxidación aeróbica As (III) como de la reducción anóxica As (V), además es un eficiente oxidante de As (III) y reductor de As (V) y tiene el potencial de impactar la movilidad del arsénico en ambientes tanto anóxicos como aeróbicos.

**DUQUE (2016)**, en su publicación “Evaluación de la degradación de arsénico con cepas bacterianas aisladas de relaves mineros, en el Cantón Ponce Enríquez”, evaluó la degradación de arsénico con cepas bacterianas aisladas de relaves mineros del cantón Ponce Enríquez de la provincia de Azuay. A partir de las muestras de relaves, se aisló 47 cepas

bacterianas que fueron sometidas a pruebas de resistencia a arsénico, para lo cual se usó como medio de cultivo OGYE Agar Bacto adicionando arsenito y arsenato a diferentes concentraciones. La capacidad de oxidación o reducción de arsénico fue evaluada mediante pruebas cualitativas con nitrato de plata. Se obtuvo 8 cepas que resistieron concentraciones de 30mM de arsenito y arsenato, las cuales se identificaron como bacilos Gram negativos de los géneros *Pseudomonas*, *Vibrio* y *Pasteurella*. El 100% de las bacterias identificadas fueron capaces de reducir el arsenato a arsenito en un periodo de 5 días. Se concluyó que las bacterias aisladas son extremotolerantes debido a su crecimiento en un medio con altos niveles de arsénico, que además pueden reducirlo como un mecanismo de detoxificación.

**CASAS-FLORES et. al. (2015)**, en su publicación “Comunidad de microorganismos termoacidófilos y resistentes al arsénico aislados de un perfil profundo de montones de minas”, aislaron microorganismos de dos muestras de pilas, que se cultivaron en medios específicos para acidófilos quimiolitotróficos (pH 1-2) y termófilos moderados (48 °C). Para el ensayo de tolerancia al arsénico, los cuatro medios con la biomasa más alta se seleccionaron para analizar la resistencia a As; se eligió un cultivo (Q63h) para analizar la actividad biooxidativa, utilizando una muestra de montón que contenía calcopirita y covellita, encontrándose que 0.5 g/L de As no afecta la biomasa viva o la actividad biooxidativa en los sulfuros de Cu, pero disuelve el Cu, mientras que As precipita como ácido arsénico ( $H_3AsO_4 \cdot \frac{1}{2}H_2O$ ). La comunidad tolerante al arsénico, identificada por el análisis de secuencia del gen 16S rDNA, estaba compuesta por tres grupos metabólicos principales: quimiolitotrofos (*Leptospirillum*, *Sulfobacillus*); quimiolitoheterotrofos como *Acidovorax temperans*, *Pseudomonas alcaligenes* y *P. mendocina* y organoheterotrofos como *Sphingomonas* spp., *Leptospirillum* spp. y *S. thermosulfidooxidans* fueron los taxones dominantes en los cultivos Q63–66 de la muestra más profunda del montón más antiguo y de mayor temperatura. Se concluyó que, hay resistencia al arsénico en la comunidad microbiana, por lo tanto, se utilizaron cebadores específicos para amplificar los genes ars (sistema de resistencia al arsénico), aio (arsenito oxidasa) o arr (reducción respiratoria del arsenato) de la muestra de ADN total.

**PELLIZARI et. al. (2015)**, en su publicación “Degradación de arsénico por *Pseudomonas aeruginosa* para biorremediación de agua. Estudio preliminar”, investigó la resistencia al arsénico en cultivos puros de *Pseudomonas aeruginosa*, aislada de aguas subterráneas de Presidencia Roque Sáenz Peña, provincia de Chaco y evaluó la posibilidad de su uso para la

remoción de este contaminante presente en las aguas subterráneas. Las cepas fueron inmovilizadas en piedra natural y se cultivaron en caldo de sales y 1 mgAs/L. Se observó la resistencia al arsénico y la formación de biofilm, logrando la interacción entre las células, roca y arsénico. La remoción de arsénico se evaluó durante 3 meses y el porcentaje de eliminación de arsénico al final del experimento fue 60%.

**ABBAS et. al. (2014)**, en su publicación “Aislamiento y caracterización de bacterias resistentes al arsénico a partir de aguas residuales”, realizaron el aislamiento de bacterias resistentes al arsénico de las aguas residuales. Solo tres aislamientos bacterianos (MNZ1, MNZ4 y MNZ6) pudieron crecer en altas concentraciones de arsénico. Las concentraciones inhibitorias mínimas de arsénico contra MNZ1, MNZ4 y MNZ6 fueron 300 mg /L, 300 mg /L y 370 mg /L respectivamente. Las cepas aisladas mostraron un crecimiento máximo a 37 ° C y un pH de 7.0 en el control, pero en el caldo Luria Bertani con estrés de arsenita, el crecimiento bacteriano es más bajo que el control. Todas las cepas fueron arsenitantes oxidantes. Todas las cepas se caracterizaron bioquímicamente y se realizó ribotipificación (16S rRNA) con el propósito de identificación que confirmó que MNZ1 era homólogo a *Enterobacter* sp. mientras, que MNZ4 y MNZ6 mostraron su máxima homología con *Klebsiella pneumoniae*. Se concluye que, los aislados bacterianos pueden explotarse para la biorremediación de desechos que contienen arsénico, ya que parecen tener el potencial de oxidar el arsenito (más tóxico) en forma de arseniato (menos tóxico).

**MELLANO et. al. (2011)**, en su publicación “Distribución de genes de resistencia a arsénico en bacterias aisladas de sedimentos con concentraciones variables del metaloide”, tuvo el objetivo de relacionar la presencia de los genes *arsCBA* en bacterias aisladas desde zonas con distintas concentraciones de arsénico presente en los sedimentos de diferentes sectores del río Camarones (Región Arica y Parinacota). Se aislaron 34 cepas bacterianas arseniato-resistentes, a las cuales se les determinó los niveles de tolerancia a As(V) y As(III); la actividad reductora de arseniato, mediante la técnica semi-cuantitativa con AgNO<sub>3</sub> y la detección de genes *ars*, por PCR. El 100% de las cepas fueron tolerantes a As(V) y As(III) y presentaron el gen *arsC*, siendo capaces de reducir As(V) a As(III). El gen *arsB* se detectó en el 86% de las cepas presentes en los sedimentos con mayor concentración de arsénico (Illapata) y 71% el *arsA*; mientras que en las cepas provenientes de sedimentos con menores concentraciones, los genes *arsB* y *arsA* se detectaron en el 80% y 40%, para las cepas provenientes de Esquiña y el 50% y 25% para las de Desembocadura.

Se concluyó que, la frecuencia de detección de genes *arsCBA* está directamente relacionada con la concentración de arsénico presente en los diferentes sedimentos analizados.

### **1.3. Teorías relacionadas al tema**

#### **1.3.1. Arsénico**

El arsénico es un metaloide, que está disponible de forma ubicua en el medio ambiente terrestre y se considera un factor de riesgo para la salud mundial. Esencialmente, el arsénico se concentra en la corteza terrestre, los lechos de roca y se filtra gradualmente en el agua potable, y una de las formas más estables de arsénico es el isótopo  $^{75}\text{As}$  y  $-3$ ,  $0$ ,  $+3$  y  $+5$  son algunos de los estados de valencia comunes del arsénico. Al ser un metaloide, el arsénico existe en varias formas alotrópicas como la forma elemental, sulfuro y carbonato. Las dosis bajas y las exposiciones a largo plazo de arsénico conducen a una variedad de complicaciones médicas denominadas "Arsenicosis". (McCarty et al 2011).

#### **1.3.2. Toxicidad del Arsénico**

Varios estudios han sugerido claramente que el arsénico es un potente tóxico para la reproducción. Dado que el arsénico es uno de los compuestos tóxicos que pueden atravesar fácilmente cualquier barrera como la barrera placentaria y el BBB y ejerce sus efectos tóxicos a través de diversos mecanismos perjudiciales, se pueden esperar los efectos tóxicos del arsénico en el sistema reproductivo. Además, la creciente literatura sobre la toxicidad reproductiva y del desarrollo inducida por el arsénico sugiere fuertemente la toxicidad del arsénico en múltiples órganos (Flora y Agrawal, 2017). Un estudio realizado por Webb *et al.* (2014) sugiere que durante el desarrollo prenatal y postnatal temprano puede causar daño permanente al embrión / feto en crecimiento y la descendencia. Los estudios también han demostrado que la exposición gestacional a niveles moderados de arsénico conduce a una alteración de la programación fetal del sistema glucocorticoide. (Lee et al., 2015).

#### **1.3.3. Fuentes de arsénico en el medio ambiente**

La principal fuente del As en el ambiente (hidrosfera, biosfera y atmósfera) es la liberación de As a partir de minerales enriquecidos con As. Las fuentes de As pueden ser naturales, como la disolución de compuestos As adsorbidos en

minerales de pirita en el agua por factores geoquímicos y antropogénicos, por medio del uso de herbicidas, fertilizantes, insecticidas, fosfatados, industrias de semiconductores, minería y fundición, procesos industriales, combustión de carbón, conservantes de la madera, etc. (Bundschuh *et. al.*, 2011).

#### **1.3.3.1. Agua subterránea / agua potable**

De acuerdo con las directrices de la OMS, el límite recomendado de arsénico en el agua potable es de  $0.01 \text{ mg L}^{-1}$ ; sin embargo, los niveles de As en el agua superficial no contaminada y en el agua subterránea varían típicamente de 1 a  $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ . Las concentraciones de agua subterránea de As se reportan en un rango muy menor en El Toro de  $0.5\text{--}5000 \text{ mg L}^{-1}$  que cubren la contaminación natural en más de 70 países. La contaminación del agua potable es la fuente principal de As para el ser humano, pero para la población que no está expuesta al consumo elevado de As, el consumo de alimentos cultivados en suelos contaminados o agua contaminada de As, representan las principales fuentes de ingesta de As para los humanos, causando un problema que afecta a millones de personas en El Toros área. (Bhattacharya *et al.*, 2012).

#### **1.3.3.2. Aguas dulces**

En los sistemas de agua dulce (ríos y lagos), la variación en la concentración de As está en el rango de  $0.15\text{--}0.45 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  dependiendo de la fuente, la disponibilidad y la geoquímica de las cuencas. Básicamente las concentraciones en el agua de As de varios ríos contaminados varían entre 0,1 y  $2,1 \text{ mg L}^{-1}$  con un promedio de  $0,8 \text{ mg L}^{-1}$ , lo que podría deberse a la fuente de contaminación, recarga de la superficie, flujo de la base y litología fundamental. Las entradas geotérmicas, la evaporación y la contaminación del agua subterránea son la causa principal de altas concentraciones de As en los ríos, además la actividad minera contribuye en las altas concentraciones de As en los ríos. Sin embargo, las directrices de la OMS para fines de riego, el límite permitido de As en agua es de  $0,10 \text{ mg L}^{-1}$ . (Singh *et. al.*, 2015).

### **1.3.3.3. Aguas marinas**

En el agua de mar, la concentración de As suele ser inferior a  $2 \mu\text{g L}^{-1}$ , y las concentraciones en aguas del Atlántico y del Pacífico profundo se encuentran entre  $1.0$  a  $1.8 \text{ mg L}^{-1}$ . Las concentraciones de As en aguas estuarinas son más uniformes que las aguas marinas abiertas. (Singh *et. al.*, 2015).

### **1.3.3.4. Concentración de arsénico en el suelo**

Según la Agencia de Protección Ambiental de EE. UU., el límite permisible de As en el suelo es de  $24 \text{ mg kg}^{-1}$ . En el caso del suelo, también hay numerosas vías para propagar la contaminación de As. Las principales fuentes de su contaminación en el suelo se identifican para incluir muchas actividades hechas por el hombre, por ejemplo, el uso de fertilizantes fosfatos, herbicidas, insecticidas, industrias de semiconductores, minería y fundición, procesos industriales, combustión de carbón, conservantes de madera, etc. (Stafilov *et. al.*, 2010).

### **1.3.3.5. Concentración de arsénico en alimentos**

El arroz es un alimento básico para más de la mitad de la población mundial, ya que es una buena fuente de carbohidratos, tiamina, vitamina B6 y algunos elementos esenciales como el magnesio, el zinc y el cobre, curiosamente, muchos de los países productores de arroz sufren de contaminación por arsénico en sus aguas subterráneas o en su suelo; sin embargo, el arroz puede acumular niveles peligrosos de elementos tóxicos como el arsénico, debido a su gran consumo diario, se acumula en el cuerpo humano y representa una seria amenaza. También se ha informado que las verduras y los productos cárnicos son una buena fuente de exposición al arsénico para los seres humanos. La cantidad de arsénico ingerido diariamente por los seres humanos a través de los alimentos depende en gran medida de la cantidad de alimentos en la dieta. (Shraim, 2014)

### **1.3.4. Remoción de Arsénico por técnicas de oxidación**

Estas técnicas utilizan varios procesos y son las siguientes:

#### **1.3.4.1. Oxidación y filtración**

El propósito principal de la oxidación es convertir el As III soluble en As V, que luego es seguido por la precipitación de As V; esto es esencial para el agua subterránea anaeróbica porque As III es la forma predominante de arsénico a pH neutro. En general, la oxidación y la filtración se refieren a los procesos diseñados para eliminar el hierro y el manganeso que se producen de forma natural. Por lo tanto, para la eliminación de As en el agua, la tecnología de oxidación / precipitación es muy efectiva. La oxidación de As III en As V se lleva a cabo mediante oxidantes químicos tradicionales (Ox) como el cloro ( $\text{Cl}_2$ ), el dióxido de cloro ( $\text{ClO}_2$ ), el ozono ( $\text{O}_3$ ), el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), la cloroamina ( $\text{NH}_2\text{Cl}$ ), el permanganato ( $\text{MnO}_4^-$ ), y ferrato ( $\text{FeO}_4^{2-}$ ). (Criscuoli *et. al.*, 2012)

#### **1.3.4.2. Oxidación fotoquímica**

El oxidante químico más ampliamente probado en presencia de hierro natural en el campo es la oxidación asistida por luz UV de As III. La velocidad de oxidación de As III en el agua se puede aumentar por irradiación UV en presencia de oxígeno. La luz UV/solar ayuda a generar radicales hidroxilo a través de la fotólisis de las especies de Fe III: ( $\text{FeOH}_2^+$ ) y en presencia de radicales hidroxilo y  $\text{O}_2$ , la velocidad de oxidación se vuelve más rápida. (Ryu *et. al.*, 2013)

#### **1.3.4.3. Oxidación biológica**

Es relativamente un nuevo método de oxidación de hierro y manganeso como método de tratamiento para la eliminación de As. Los métodos de tratamiento biológico explotan procesos biológicos naturales que permiten que ciertas plantas y microorganismos ayuden en la remediación de metales en el suelo y las aguas subterráneas. Este

proceso se basa en el hecho de que las aguas subterráneas contaminadas generalmente reducen y contienen concentraciones de hierro y manganeso. En el sistema de tratamiento, se ha encontrado que ocurre la siguiente secuencia de reacciones: (i) oxidación de Mn II a Mn IV y Fe II a Fe III, (ii) oxidación de As III a As V, (iii) precipitación de óxidos de manganeso, (iv) abiótico oxidación de As III por los óxidos de manganeso, y (v) sorción de As V por los óxidos de manganeso, donde los pasos (i) y (ii) son bióticos y los pasos (iii) a (v) son abióticos. Por lo tanto, las bacterias desempeñan un papel importante tanto en la oxidación de As III como en la generación de superficies reactivas de óxido de manganeso para la eliminación de As III y As V disueltos. (Singh *et. al.*, 2015).

#### **1.3.4.4. Oxidación in situ**

La oxidación in situ se puede lograr bombeando el agua oxigenada en el acuífero subterráneo para reducir el contenido de As en el agua subterránea bombeada. Su potencial para la eliminación de As se investiga en muy pocos estudios, aunque los resultados muestran que las concentraciones de As pueden reducirse en la zona de aguas subterráneas antes de la extracción de agua (Van Halem *et al.*, 2010).

#### **1.3.5. Remediación microbiana**

Los microorganismos se utilizan en áreas contaminadas, los cuales deber ser inoculados o existir en el lugar para acelerar la remediación. Los cuales realizan lo siguiente:

- Bacterias *Pseudomonas* transgénicas con capacidad de degradar compuestos tóxicos en menos nocivos.
- Bacterias capaces de degradar una marea negra ocasionada por los derrames de petróleo y puedan limpiar el agua contaminada.
- Bacterias que tienen la capacidad de transformar las formas altamente tóxicas de mercurio en otras menos tóxicas y volátiles.

- Bacterias que reducen metales tóxicos del suelo en otras menos tóxicas o insolubles, como la reducción de cromo (Cr).
- Microorganismos que tienen capacidad de degradar explosivos potentes y peligrosos para el medio, como el TNT.
- Bacterias capaces de eliminar el azufre de los combustibles derivados del petróleo o carbón y favorecer la combustión limpia.
- Bacteria *Deinococcus radiodurans*, que resiste condiciones extremas de radiación, agentes oxidantes o sequedad, para limpiar el suelo y aguas subterráneas de elementos radiactivos.
- *Cianobacterias* modificadas con genes de bacterias *Pseudomonas* que tienen la capacidad de degradar diferentes hidrocarburos o pesticidas.
- Bacterias transgénicas utilizadas para extraer de residuos de fábricas o de minas metales valiosos, o para eliminar vertidos de petróleo, o el azufre que producen las centrales energéticas de carbón causante de la lluvia ácida.

### 1.3.6. *Pseudomonas aeruginosa*

Es un bacilo Gram-negativo, aerobio, con motilidad unipolar. Es un patógeno oportunista en humanos y también en plantas. Están conformadas por una sola célula en forma de bastón razón por la cual reciben nombre de bacilos. Es un microorganismo común en el medio ambiente que puede encontrarse en el agua, aguas residuales, las heces y el suelo. (Pellizzari et al., 2015).

## 1.4. Formulación del problema

¿Cuál es la capacidad de remoción de Arsénico por *Pseudomonas aeruginosa* a diferente tiempo y concentración, en aguas contaminadas del río El Toro – Huamachuco?

## 1.5. Justificación del estudio

La contaminación causada por arsénico debido a su biocumulación en el organismo provoca graves daños en la salud humana, debido a que en las áreas cercanas a las actividades mineras formales e informales, se ha encontrado niveles que exceden los

10 ug/L de arsénico en aguas procedentes de ríos y acuíferos. Por ello, la presencia de metales pesados como: el plomo, mercurio, cadmio, arsénico, etc., contribuyen en el aumento de la contaminación.

Por otro lado, aunque en el país existe un decreto Ley N° 29338, ley de recursos hídricos y su reglamento y la Comisión Política del Perú, al día de hoy no vienen siendo acatados por los sectores mineros, ya que en el 2010, la Asociación Marianista de Acción Social (AMAS), la Universidad Nacional de Trujillo y las rondas campesinas, realizaron un estudio de la cuenca de los ríos Perejil (Otuzco), Chuyugual (Sánchez Carrión) y Caballomoro (Santiago de Chuco), reportándose la contaminación por metales pesados, así mismo, estudios han demostrado que la actividad minera produce drenajes ácidos con índices elevados de fosfatos y nitratos que contaminan el río Chuyugual, encontrándose también se concentraciones elevadas de arsénico y mercurio. Por lo que la población exige que las autoridades soluciones el problema ocasionado por las actividades mineras formales e informales desarrolladas en el Cerro El Toro y zonas aledañas, en el aspecto social y ambiental.

Huamachuco viene siendo contaminado, lo que está produciendo en las personas enfermedades, siendo las más afectadas los pobladores que trabajan en las actividades mineras y consumen agua de los ríos o canales, del mismo modo el ecosistema está contaminado, los suelos improductivos y el agua no apta para tomarla y al aire en veneno.

El objetivo de este trabajo es contribuir dilucidar las causas de la contaminación de arsénico en aguas de consumo humano y el método que se podría usar para su remediación.

## 1.6. Objetivos

### 1.6.1. Objetivo General

- Determinar la capacidad de remoción de arsénico por *Pseudomonas aeruginosa* a diferente tiempo y concentración, en aguas contaminadas del Río El Toro – Huamachuco.

### 1.6.2. Objetivos Específicos

- Determinar la concentración de arsénico presente en las aguas del Río El Toro - Huamachuco.
- Analizar la capacidad de remoción de arsénico en las aguas del río El Toro Huamachuco por acción de  $1.05 \times 10^{10}$  UFC de *Pseudomonas aeruginosa* en periodos de 24, 48, 72 horas a condiciones naturales y estériles.
- Analizar la capacidad de remoción de arsénico en las aguas del río El Toro Huamachuco por acción de  $2.1 \times 10^{10}$  UFC de *Pseudomonas aeruginosa* en periodos de 24, 48, 72 horas a condiciones naturales y estériles.
- Analizar la capacidad de remoción de arsénico en las aguas del río El Toro Huamachuco por acción de  $3.15 \times 10^{10}$  UFC de *Pseudomonas aeruginosa* en periodos de 24, 48, 72 horas a condiciones naturales y estériles.
- Comparar la concentración de arsénico del agua del río El Toro Huamachuco con los estándares de calidad ambiental.

## II. MATERIAL Y METODOS

### 2.1. Diseño de investigación

Tratamiento	Combinación	Repeticiones	Resultados
1	ACN+PA1+TR1	2	2
2	ACN+PA2+TR1	2	2
3	ACN+PA3+TR1	2	2
4	ACN+PA1+TR2	2	2
5	ACN+PA2+TR2	2	2
6	ACN+PA3+TR2	2	2
7	ACN+PA1+TR3	2	2
8	ACN+PA2+TR3	2	2
9	ACN+PA3+TR3	2	2
10	ACE+PA1+TR1	2	2
11	ACE+PA2+TR1	2	2
12	ACE+PA3+TR1	2	2
13	ACE+PA1+TR2	2	2
14	ACE+PA2+TR2	2	2
15	ACE+PA3+TR2	2	2
16	ACE+PA1+TR3	2	2
17	ACE+PA2+TR3	2	2
18	ACE+PA3+TR3	2	2
<b>TOTAL</b>			<b>36</b>

**ACN:** Agua en condiciones naturales (200mL)

**ACE:** Agua en condiciones estériles (200mL)

**PA1:** Concentración de *Pseudomonas aeruginosa* ( $1.01 \times 10^{10}$  ufc)

**PA2:** Concentración de *Pseudomonas aeruginosa* ( $2.10 \times 10^{10}$  ufc)

**PA3:** Concentración de *Pseudomonas aeruginosa* ( $3.15 \times 10^{10}$  ufc)

**TR1:** Tiempo de remoción (24 h)

**TR2:** Tiempo de remoción (48 h)

**TR3:** Tiempo de remoción (72 h)

## 2.2. Variables, operacionalización

### 2.2.1. Variables

#### a. Variable Independiente

- Concentraciones de **inóculo** de *Pseudomonas aeruginosa* ( $1.05 \times 10^{10}$  ;  $2.1 \times 10^{10}$  ;  $3.15 \times 10^{10}$  UFC )
- Tiempo de remoción: 24, 48 y 72 horas

#### b. Variable Dependiente

- Remoción de Arsénico. (%)

### 2.2.2 Operacionalización

CONCEPTO O VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES
<b>Concentración de <i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>	Bacilo Gram-negativas, aeróbica, con motilidad unipolar.	El recuento de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> viables se realizó por el método de diseminación en placa, usando como medio de crecimiento Agar Centrimide,	UFC
<b>Tiempo</b>	Periodo durante el cual se desarrolla un evento.	Se tomó el tiempo desde el inicio de la experimentación, repitiéndose en tres oportunidades cada 24 horas	Horas
<b>Remoción de Arsénico</b>	Cantidad de iones arsénicos en soluciones acuosas presentes después de un tratamiento, expresadas en miligramos por cada litro de solución (ppm)	Se calculó restando de la concentración inicial $M_0$ , la concentración resultante $M_i$ después del tratamiento	Porcentaje

## **2.3.Población y muestra**

### **2.3.1. Población**

Agua del Río El Toro, Huamachuco.

### **2.3.2. Muestra**

La muestra considerada para realizar los análisis y tratamientos con *Pseudomonas aeruginosa*, fue de 5 litros de agua extraídas del punto de toma con coordenadas latitud: -7.493623, longitud: -78.245890 del río El Toro, Huamachuco.

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

El instrumento fue validado por tres expertos con grado de magister o doctor, especialistas y/o técnicos en procesamientos microbiológicos o químicos, especialistas en desarrollo de investigación.

## **2.5.Método de análisis de Datos**

Los datos obtenidos están ordenados en tablas para un mayor entendimiento de la aplicación de las pruebas estadísticas de normalidad y análisis de varianza (ANOVA), con lo cual se contrastó la hipótesis planteada y se determinó si existe o no efecto de la *Pseudomonas aeruginosa* en la remoción de arsénico de las aguas del río El Toro – Huamachuco.

## **2.6.Aspectos éticos**

- La presentación de la información son reales garantizando el respeto a los autores citados anteriormente.
- Se respetó las normas medio ambientales, evitando contaminación que cause daño al ser humano o a la ecología.

### III. RESULTADOS

**Tabla 1: Porcentaje de remoción de Arsénico por acción de diferentes concentraciones de *Pseudomonas aeruginosa*, en las aguas del río El Toro – Huamachuco en condiciones naturales.**

Tratamiento	Concentración ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UFC)	Tiempo de Remoción (hrs)	Repetición 1 (%)	Repetición2 (%)	Promedio (%)
1	$1.05 \times 10^{10}$	24	2.98	5.71	4.35
2	$2.10 \times 10^{10}$	24	21.32	19.59	20.46
3	$3.15 \times 10^{10}$	24	54.97	53.74	54.36
4	$1.05 \times 10^{10}$	48	10.15	10.48	10.32
5	$2.10 \times 10^{10}$	48	30.41	29.82	30.12
6	$3.15 \times 10^{10}$	48	57.89	58.51	58.20
7	$1.05 \times 10^{10}$	72	15.13	17.72	16.43
8	$2.10 \times 10^{10}$	72	44.95	46.49	45.72
9	$3.15 \times 10^{10}$	72	61.95	59.81	60.88

Fuente: Propia

**Interpretación:** Los mayores porcentajes de remoción de arsénico, en las aguas del río El Toro – Huamachuco en condiciones naturales, fueron obtenidos por acción de  $3.15 \times 10^{10}$  UFC de *Pseudomonas aeruginosa*, tras un periodo de 72 horas, la remoción más significativa que podemos observar en la tabla es de 60.88%.

**Tabla 2: Porcentaje de remoción de Arsénico por acción de diferentes concentraciones de *Pseudomonas aeruginosa*, en las aguas del río El Toro – Huamachuco en condiciones estériles.**

Tratamiento	Concentración ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UFC)	Tiempo de Remoción (hrs)	Repetición 1 (%)	Repetición 2 (%)	Promedio (%)
10	$1.05 \times 10^{10}$	24	29.31	26.94	28.13
11	$2.10 \times 10^{10}$	24	52.75	49.82	51.29
12	$3.15 \times 10^{10}$	24	83.28	86.62	84.95
13	$1.05 \times 10^{10}$	48	25.93	28.41	27.17
14	$2.10 \times 10^{10}$	48	53.18	51.53	52.36
15	$3.15 \times 10^{10}$	48	84.62	80.39	82.51
16	$1.05 \times 10^{10}$	72	36.18	34.51	35.35
17	$2.10 \times 10^{10}$	72	65.38	68.92	67.15
18	$3.15 \times 10^{10}$	72	97.74	95.69	96.72

Fuente: Propia

**Interpretación:** los mayores porcentajes de remoción de arsénico en las aguas del río El Toro – Huamachuco en condiciones estériles, fueron obtenidos a partir de la aplicación de  $3.15 \times 10^{10}$  UFC de *Pseudomonas aeruginosa*, tras periodos de 24, 48 y 72 horas, en lo cual podemos observar que los porcentajes de remoción más significativos es de 84.95%, 82.51% y 96.72% respectivamente.

**Tabla 3: Análisis estadístico de normalidad para la concentración bacteriana**

		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Concentración bacteriana	1.05 x 10 <sup>10</sup>	0.967	6	0.724
	2.1 x 10 <sup>10</sup>	0.984	6	0.885
	3.15 x 10 <sup>10</sup>	0.911	6	0.372

Fuente: IBM SPSS statistics 23

**Interpretación:** En el cuadro de prueba de normalidad se evalúa el valor del estadístico Shapiro-Wilk, en la que se obtuvo el valor  $p > 0.05$  por lo tanto cumple con la prueba de normalidad para el factor de concentración bacteriana, con este resultado podemos dar contraste la hipótesis del estudio.

**Tabla 4: Prueba de normalidad para el tiempo de remoción.**

		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	Gl	Sig.
Tiempo de Remoción	24	0.982	6	0.941
	48	0.924	6	0.893
	72	0.980	6	0.940

Fuente: IBM SPSS statistics 23

**Interpretación:** En el cuadro de prueba de normalidad se obtuvo un valor  $p > 0.05$  por lo tanto aceptamos la prueba de normalidad para el tiempo de remoción.

**Tabla 5: Prueba de homogeneidad de varianza en la concentración bacteriana.**

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
0,356	2	15	0,714

Fuente: IBM SPSS statistics 23

**Interpretación:** Obteniendo un valor  $p > 0.05$  aceptamos la prueba de homogeneidad de varianza para la concentración bacteriana.

**Tabla 6: Prueba de homogeneidad de varianzas Tiempo de Remoción**

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
0,025	2	15	0,975

Fuente: IBM SPSS statistics 23

**Interpretación:** Obteniendo un valor  $p > 0.05$  aceptamos la prueba de homogeneidad de varianza para el tiempo de remoción.

**Tabla 7: Análisis de varianza factorial multivalente (ANOVA) de los datos obtenidos en agua natural.**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Concentración	3475.78	2	1767.85	100.13	0.00	6.91
Tiempo	254.11	2	128.12	7.35	0.03	6.91
Error	67.64	4	16.27			
Total	3707.53	8				

Fuente: IBM SPSS statistics 23

**Interpretación:** Se muestra el p-valor superior a 0.05 para la concentración y el tiempo de remoción, por lo tanto aceptamos que al menos uno de los tratamientos aplicados en el agua a condiciones naturales es diferente.

**Tabla 8: Prueba Post Hoc Tukey para la concentración bacteriana en agua Natural.**

Concentración Bacteriana	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
$1.05 \times 10^{10}$	3	10,3617		
$2.1 \times 10^{10}$	3		32,0967	
$3.15 \times 10^{10}$	3			57,8117
Sig.		1,000	1,000	1,000

Fuente: IBM SPSS statistics 23.

**Interpretación:** Para el caso de las tres concentraciones evaluadas sobre la remoción de arsénico, En la prueba HSD Tukey vemos que el mejor promedio es 57.81 de concentración Bacteriana  $3.15 \times 10^{10}$  (UFC) ya que presenta mucha diferencia entre los demás promedios.

**Tabla 9: Prueba HSD Tukey para el tiempo de remoción de arsénico.**

Tiempo de Remoción	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
24	3	26.3850
48	3	32,8767
72	3	41.0083
Sig.		0,785

Fuente: IBM SPSS statistics 23.

**Interpretación:** Para el caso de los tres tiempos usados en la remoción de arsénico, en la prueba HSD tukey no se observa diferencias en los tratamientos.

**Tabla 10: Análisis de varianza factorial multivalente (ANOVA) de los datos obtenidos en agua Estéril.**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Concentración	4474.51	2	2214.36	261.42	0.00	6.93
Tiempo	278.93	2	144.21	17.97	0.01	6.93
Error	30.00	4	7.00			
Total	4783.44	8				

Fuente: IBM SPSS statistics 23

**Interpretación:** Obtenemos que nuestro valor  $p < 0.05$  para la concentración y el tiempo de remoción, por lo tanto aceptamos la existencia de una diferencia significativa entre los niveles de la variables estudiadas.

**Tabla 11: Prueba Post Hoc Tukey para la concentración bacteriana en agua Estéril.**

Concentración Bacteriana	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
1.05 x 10 <sup>10</sup>	3	30,2133		
2.1 x 10 <sup>10</sup>	3		56,9300	
3.15 x 10 <sup>10</sup>	3			88,0567
<b>Sig.</b>		<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>

Fuente: IBM SPSS statistics 23

**Interpretación:** Para el caso de las tres concentraciones evaluadas sobre la remoción de arsénico en agua estéril, la prueba HSD Tukey Vemos que el mejor promedio es 88.06 de concentración bacteriana **3.15 x 10<sup>10</sup>** (UFC) ya que presenta mucha diferencia entre los demás promedios.

**Tabla 12: Prueba HSD Tukey para el tiempo de remoción de arsénico.**

Tiempo de Remoción	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
24	3	54,7867
48	3	54,0100
72	3	66,4033
Sig.		0,837

Fuente: IBM SPSS statistics 23

**Interpretación:** Para el caso de los tres tiempos usados en la remoción de arsénico, en la prueba HSD Tukey muestra que la acción de los tratamientos no tiene ninguna diferencia.

#### IV. DISCUSIÓN

En la Tabla 1, después de realizar los tratamientos a diferentes tiempos de remoción y diferentes concentraciones de *Pseudomonas aeruginosa*, se observa que el agua a condiciones estériles tiene mejor remoción de arsénico, debido a que la única interacción que se da es la de *Pseudomonas aeruginosa* y el metal arsénico; mientras que, la remoción de arsénico del agua a condiciones naturales es mucho menor, lo que según Pellizari et. al. (2015), podría deberse a la presencia de otros microorganismos en el agua, como microalgas, que impiden que las *Pseudomonas aeruginosa*, presentes se desarrollen adecuadamente, debido a la competitividad que puede haber entre ellas por los nutrientes, interfiriendo una con otra en su actividad metabólica y en su supervivencia, generando competencia entre las especies proliferando la que mejor está adaptada al medio o a la presencia de depredadores y virus que juegan roles similares a los depredadores.

El mayor porcentaje de remoción de arsénico en las aguas del río El Toro – Huamachuco en condiciones estériles, fue obtenido a partir de la aplicación de  $3.15 \times 10^{10}$  UFC de *Pseudomonas aeruginosa*, tras un periodo de 72 horas, en lo cual podemos observar que el porcentaje de remoción más significativo es de 96.72% como se observa en la Tabla 2, coincidiendo con Pellizari et al (2015) en su investigación, en la que desarrolló un biorreactor con *Pseudomonas aeruginosa*, que removió hasta 60% de arsénico tras un periodo de tiempo de 93 días, esto puede deberse a la diferente concentración de *Pseudomonas aeruginosa* aplicada para el tratamiento; determinándose que la remoción se debió a la oxidación del arsenito ( $\text{As}^{+3}$ ) que es muy soluble en agua, a arseniato ( $\text{As}^{+5}$ ) que es poco soluble en agua por *Pseudomonas aeruginosa* que utiliza esta transferencia de electrones como energía para su metabolismo.

## V. CONCLUSIONES

- Se encontró que *Pseudomonas aeruginosa* tiene la capacidad de remoción de arsénico a diferente tiempo y concentración.
- Se determinó que la concentración de arsénico presente en el agua del Rio El Toro-Huamachuco, fue 2.2 ppm.
- Se analizó y determinó la capacidad de remoción de arsénico presente en las aguas del Rio El Toro-Huamachuco, encontrándose que la concentración de  $1.05 \times 10^{10}$  UFC de *Pseudomonas aeruginosa* logra remover hasta un 4.35 % de arsénico a condiciones naturales y un 28.13 % en condiciones estériles durante un periodo de 24 horas.
- Se analizó y determinó la capacidad de remoción de arsénico presente en las aguas del Rio El Toro-Huamachuco, encontrándose que la concentración de  $2.10 \times 10^{10}$  UFC de *Pseudomonas aeruginosa* logra remover hasta un 30.12 % de arsénico a condiciones naturales y un 51.29 % en condiciones estériles durante un periodo de 48 horas.
- Se analizó y determinó la capacidad de remoción de arsénico presente en las aguas del Rio El Toro-Huamachuco, encontrándose que la concentración de  $3.15 \times 10^{10}$  UFC de *Pseudomonas aeruginosa* logra remover hasta un 60.88 % de arsénico a condiciones naturales y un 96.72 % en condiciones estériles durante un periodo de 72 días.
- Después de realizado el experimento se puede observar que los resultados obtenidos en las aguas del río El Toro, tanto a condiciones naturales como estériles no sobrepasan los estándares de calidad ambiental.

## VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda en próximas investigaciones las concentraciones de arsénico sean mayores, para observar una mayor remoción por *Pseudomonas aeruginosa*.
- Se recomienda aumentar la concentración de UFC de *Pseudomonas aeruginosa* para saber si esta bacteria puede eliminar el arsénico presente en el agua en su totalidad.
- Se recomienda realizar estudios con *Pseudomonas aeruginosa*, utilizando otros metales, para determinar si también puede removerlos y cuál sería su porcentaje de remoción.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

**ABDUL, K, JAYASINGHE S, CHANDANA E, JAYASUMANA C, SILVA P.** Efectos del arsénico y la salud humana: Una revision, toxicología ambiental y farmacología. 2015; 40(3), 828-846.

**ALANIZ-ANDRADE A, LETECHIPÍA C, RAMÍREZ-SANTOYO R, GUZMÁN-MORENO J, VIDALES-RODRÍGUEZ L.** Tolerancia al arsénico en cultivos bacterianos aislados de suelos contaminados con metales. Acta Universitaria. 2017; 27(3): 9-18.

**AWASTHI S, CHAUHAN R, DWIVEDI S, SRIVASTAVA S, SRIVASTAVA S, TRIPATHI R.** A consortium of alga ( *Chlorella vulgaris* ) and bacterium (*Pseudomonas putida* ) for amelioration of arsenic toxicity in rice: A promising and feasible approach. Environmental and Experimental Botany. 2018; 150, 115–126.

**BHATTACHARYA S, GUPTA K, DEBNATH S, GHOSH U, CHATTOPADHYAY D, MUKHOPADHYAY A.** Bioacumulación de arsénico en arroz y plantas comestibles y posterior transmisión a través de la cadena alimentaria en la cuenca de Bengala: Una revisión de las perspectivas para la salud ambiental. Toxicol. Environ. Chem. 2012; 94: 429-441.

**BUNDSCHUH J et.al.** Arsenic removal from groundwater of the Chaco-Pampean plain (Argentina) using natural geological materials as adsorbents. J. Environ. Sci. Health. 2011; 46: 1297–1310.

**CASAS-FLORES E, GÓMEZ-RODRÍGUEZ Y, GARCÍA-MEZA J.** Community of thermoacidophilic and arsenic resistant microorganisms isolated from a deep profile of mine heaps. AMB Expr. 2015; 5(54): 1-12.

**CORCUERA et. al.** Impacto de la contaminación de la minería informal en el cerro el Toro – Huamachuco. Tesis para optar el grado de Magister en Ingeniería, Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo, 2015.

**CRISCUOLI A et. al.** As(III) oxidation by MnO<sub>2</sub> coated PEEK-WC nanostructured capsules. J. Hazard. Mater. 2012; 211(212): 281–287.

**CROGNALE S, AMALFITANO S, CASENTINI B, FAZI S, PETRUCCIOLI M, ROSSETTI S.** Arsenic-related microorganisms in groundwater: a review on distribution, metabolic activities and potential use in arsenic removal processes. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*. 2017; 16(4), 647–665.

**DUQUE A.** Evaluación de la degradación de arsénico con cepas bacterianas aisladas de relaves mineros, en el Cantón Ponce Enríquez. Tesis para optar el Título, Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 2016.

**FLORA S, AGRAWALS.** Arsénico, cadmio y plomo. *Toxicología reproductiva y del desarrollo*, 2017; 1: 537–566.

**GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ B, RODRÍGUEZ-VALDÉS E, BOENTE, C, MENÉNDEZ-CASARES E, FERNÁNDEZ-BRAÑA A, GALLEGO J.** Long-term ongoing impact of arsenic contamination on the environmental compartments of a former mining-metallurgy area. *Science of The Total Environment*. 2018; 610-611, 820–830.

**HUANG J.** Impacto de los microorganismos en la biogeoquímica del arsénico: una revisión. *Contaminación del agua, aire y suelo*. 2014; 225(2): 1-25.

**LARIOS- MEOÑO J, GONZÁLEZ C, MORALES Y.** Las aguas residuales y sus consecuencias en el Perú. *Revista de la Facultad de Ingeniería de la USIL*. 2015; 2(2): 9-25.

**LEE C, KANG S, LEE J.** Effects of perfluorooctane sulfuric acid on placental PRL-family hormone production and fetal growth retardation in mice. *Mol. Cell. Endocrinol*. 2015; 401: 165-172.

**MCCARTY K, HANH H, KIM K.** Arsenic geochemistry and human health in South East Asia. *Rev. Environ. Health*. 2011; 26: 71-78.

**MEDINA-PIZZALI M, ROBLES P, MENDOZA M, TORRES C.** Ingesta de Arsénico: El impacto en la alimentación y la salud humana. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2018; 35(1):93-102.

**MELLADO C, CAMPOS V, MONDACA M.** Distribución de genes de resistencia a arsénico en bacterias aisladas de sedimentos con concentraciones variables del metaloide. *Gayana*. 2011; 75(2): 131-137.

**MOON K, GUALLAR E, NAVAS-ACIEN A.** Exposición al arsénico y enfermedad cardiovascular: una revisión sistemática actualizada. *Informes actuales de aterosclerosis*. 2012; 14: 542-555.

**NORIEGA B et. al.** Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias resistentes a metales pesados de desechos mineros. *Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias*. 2018; 9(21): 685-695.

**PELLIZZARI E, MARINICH L, FLORES S, GIMÉNEZ C.** Degradación de arsénico por *Pseudomonas aeruginosa* para bioremediación de agua. Estudio preliminar. *Av. Cien. Ing.* 2015; 6(1): 1-5.

**RAMOS X, NORIEGA B.** Bioadsorción de metales pesados con biomasa aislada de jales mineros. *Jóvenes en la ciencia*. 2018; 4 (1): 3390-3394.

**RYU J, MONLLOR-SATOCA D, KIM D, YEO J, CHOI W.** Photooxidation of arsenite under 254 nm irradiation with a quantum yield higher than unity. *Environ. Sci. Technol.* 2013; 47: 9381–9387.

**SHANKAR S, SHANKER U, SHIKHA** (2014) Arsenic Contamination of Groundwater: A Review of Sources, Prevalence, Health Risks, and Strategies for Mitigation. *The Scientific World Journal*. 2014: 1-18.

**SINGH R, SINGH S, PARIHAR P, SINGH V, PRASAD S.** Arsenic contamination, consequences and remediation techniques: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2015; 112: 247–270.

**SHIVAKSHI J, ARUN K, ARADHANA M.** Desempeño de especies de plantas acuáticas para la fitorremediación de agua contaminada con arsénico. *Appl Water Sci*. 2017; 7:889–896.

**STAFILOV T, ŠAJN R, PANČEVSKI Z, BOEV B, FRONTASYEVA M, STRELKOVA L.** Heavy metal contamination of surface soils around a lead and zinc smelter in the Republic of Macedonia. *J. Hazard. Mater.* 2010; 175: 896–914.

**SHRAIM A.** Rice is a potential dietary source of not only arsenic but also other toxic elements like lead and chromium. *Arab. J. Chem.* 2014. 10.1016/j.arabjc. 2014.02.004 (In press).

**VAN D, DE OLIVERO S, VET W, VERBERK J, AMY G, VAN J.** Subsurface iron and arsenic removal for shallow tube well drinking water supply in rural Bangladesh. *Water Res.* 2010; 44: 5761–5769.

**VEGA J.** Nivel de contaminación por metales pesados (Pb, CU, Hg, As y Fe) en el Rio El Toro, Distrito de Huamachuco de la Provincia de Sánchez Carrión durante el año 2019 - 2010. Tesis para optar el grado de Magister, Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo, 2012.

**WEBB E et.al.** Developmental and reproductive effects of chemicals associated with unconventional oil and natural gas operations. *Rev. Environ. Health.* 2014; 29 (4): 307-318.

**YOSIM A, KATHRYN B, FRY R.** Arsenic, the "King of Poisons," in Food and Water. *Am Sci Sci.* 2015; 103(1):34–41.

**ZAGHUM S, RIAZ M, RAMZAN N, ZAHID M, SHAKOORI F, RAFATULLAH M .** Aislamiento y caracterización de bacterias resistentes al arsénico a partir de aguas residuales. *Revista Brasileña de Microbiología.* 2014; 45(4): 1309-1315.

**ZHANG Z, YIN N, CAI X, WANG Z, CUI Y.** Arsenic redox transformation by *Pseudomonas* sp. HN-2 isolated from arsenic-contaminated soil in Hunan, China. *Journal of Environmental Sciences.* 2016; 47: 165–173.

## VIII. ANEXOS

### Anexo 01: Instrumento de Recolección de datos

FICHA DE OBSERVACIÓN									
Título de investigación	<input style="width: 100%;" type="text"/>								
Investigadores	<input style="width: 100%;" type="text"/>								
	<input style="width: 100%;" type="text"/>								
	<input style="width: 100%;" type="text"/>								
<b>I. DATOS GENERALES</b>									
Material biológico	<input style="width: 100%;" type="text"/>				Medio de cultivo	<input style="width: 100%;" type="text"/>			
Temperatura	<input style="width: 100%;" type="text"/>				Tiempo de cultivo	<input style="width: 100%;" type="text"/>			
<b>II. DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIÓN DE MATERIAL BIOLÓGICO</b>									
		UFC/ml							
	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	Promedio					
	10 <sup>-5</sup>								
	10 <sup>-6</sup>								
	10 <sup>-7</sup>								
<b>III. DETERMINACIÓN DE REMOCIÓN DE ARSÉNICO</b>									
Volumen bacteriano (ml)	Pseudomona aeruginosa (UFC/ml)	Tiempo de Remoción (horas)	[ ] Arsénico Inicial	[ ] Arsénico Final en condiciones naturales (ppm)		% Remoción CN	[ ] Arsénico Final en condiciones estériles (ppm)		% Remoción CE
				R1	R2		R1	R2	
5		24							
		48							
		72							
10		24							
		48							
		72							
15		24							
		48							
		72							
<b>EQUIPO</b>		<b>CÓDIGO</b>							
Estufa									
Espectrofotómetro de absorción atómica									

## Anexo 02: Procedimiento Experimental

### ➤ Material de estudio

- a) **Material Biológico:** Las muestras de *Pseudomonas aeruginosa* fueron obtenidas a partir de aislamientos en agar Centrimide.
  
- b) **Agua del río El Toro- Huamachuco:** Se recolectaron 5 litros de agua del río El Toro- Huamachuco y se determinó su contenido de arsénico.

### ➤ Preparación de la muestras

- a) **Material Biológico:** La identificación se realizó considerando su comportamiento frente a otros tipos de agar:
  - Agar Mac Conkey
  - Agar Centrimide
  
- b) **Agua del río El Toro- Huamachuco:** Las muestras se recolectaron en material de vidrio esterilizado de 1 litro de capacidad, siendo trasladadas hasta la ciudad de Trujillo en un cooler para su conservación.

### ➤ Tratamiento

- a) **Pseudomonas aeruginosa:** La concentración celular (UFC/mL) se determinó por medio de la técnica de recuento en placa sobre medio agar Centrimide (aislamiento selectivo para *Pseudomonas aeruginosa*), realizando diluciones seriadas en base diez desde  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  y  $10^{-7}$ . El tiempo de incubación fue de 24 h a una temperatura promedio de  $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ . La bacteria crece con colonias verde amarillentas, fluorescentes (sobre todo bajo luz de 366 nm, linterna MICROKIT), o bien marrones. Se puede confirmar con tiras de citocromo oxidasa KOT050.

La obtención de cultivos puros se realizó a partir de las placas con diferentes concentraciones de arsénico donde se aislaron los cultivos puros de cada morfotipo colonial, en tubos de ensayo con medio Mueller Hinton y arsenito de sodio (200 ug/mL), se incubó a 25°C hasta su desarrollo, luego se conservó en refrigeración.

- b) Agua del río El Toro – Huamachuco:** Las muestras de agua tratadas se diferenciaron según las condiciones en las que se aplicaran los tratamientos, siendo 9 tratamientos en aguas a condiciones naturales y los otros 9 aplicados en condiciones estériles.

➤ **Evaluación:**

La evaluación de remoción de arsénico se realizó mediante la técnica de espectrofotometría de absorción atómica con la cual se determinó la concentración inicial de arsénico del agua del río El Toro-Huamachuco y las concentraciones posteriores a la aplicación de los tratamientos.

**Anexo 03: Determinación de la concentración de *Pseudomonas aeruginosa* a través del método de recuento en placa.**

**100 ul**

$$10^{-5} = >300 / >300$$

$$10^{-6} = 129 / 163 \rightarrow \text{promedio (146)}$$

$$10^{-7} = 21 / 19 \rightarrow \text{promedio (20)}$$

**1mL**

$$10^{-5} = >300 / >300$$

$$10^{-6} = 151 * 10 \rightarrow 1510 \text{ ufc/mL}$$

$$10^{-7} = 23 * 10 \rightarrow 230 \text{ ufc/mL}$$

**Muestra = ufc/mL \* invertido Dilución**

$$\text{Muestra} = 230 * 10^{-7}$$

$$\text{Muestra} = 23 * 10^8 \text{ ufc/mL}$$

**Como se ha inoculado a cada matraz 5 mL, 10 mL, 15 mL**

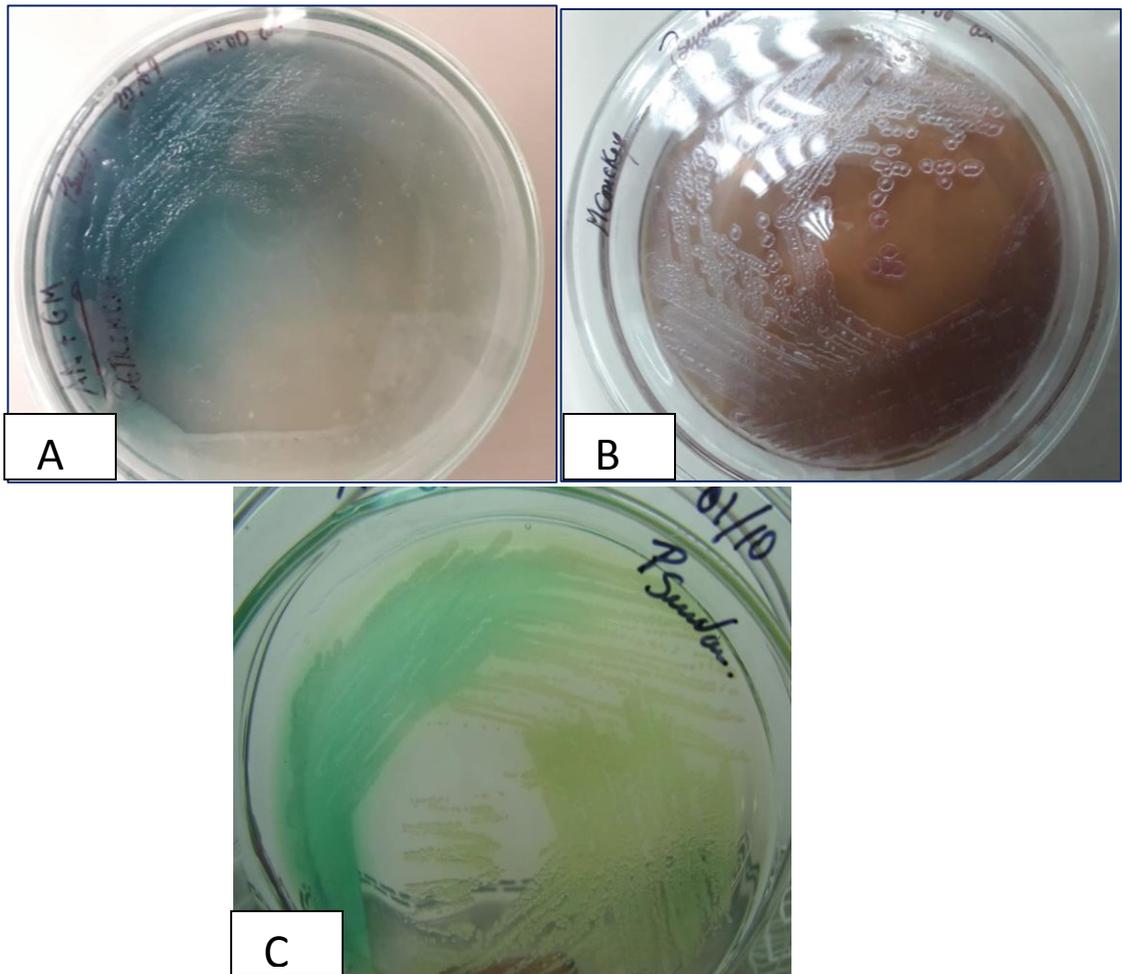
**Entonces tenemos la siguiente concentración.**

$$M = 23 * 10^8 \text{ ufc/mL} * 5 \text{ mL} \rightarrow 1,05 * 10^{10} \text{ UFC}$$

$$M = 23 * 10^8 \text{ ufc/mL} * 10 \text{ mL} \rightarrow 2,1 * 10^{10} \text{ UFC}$$

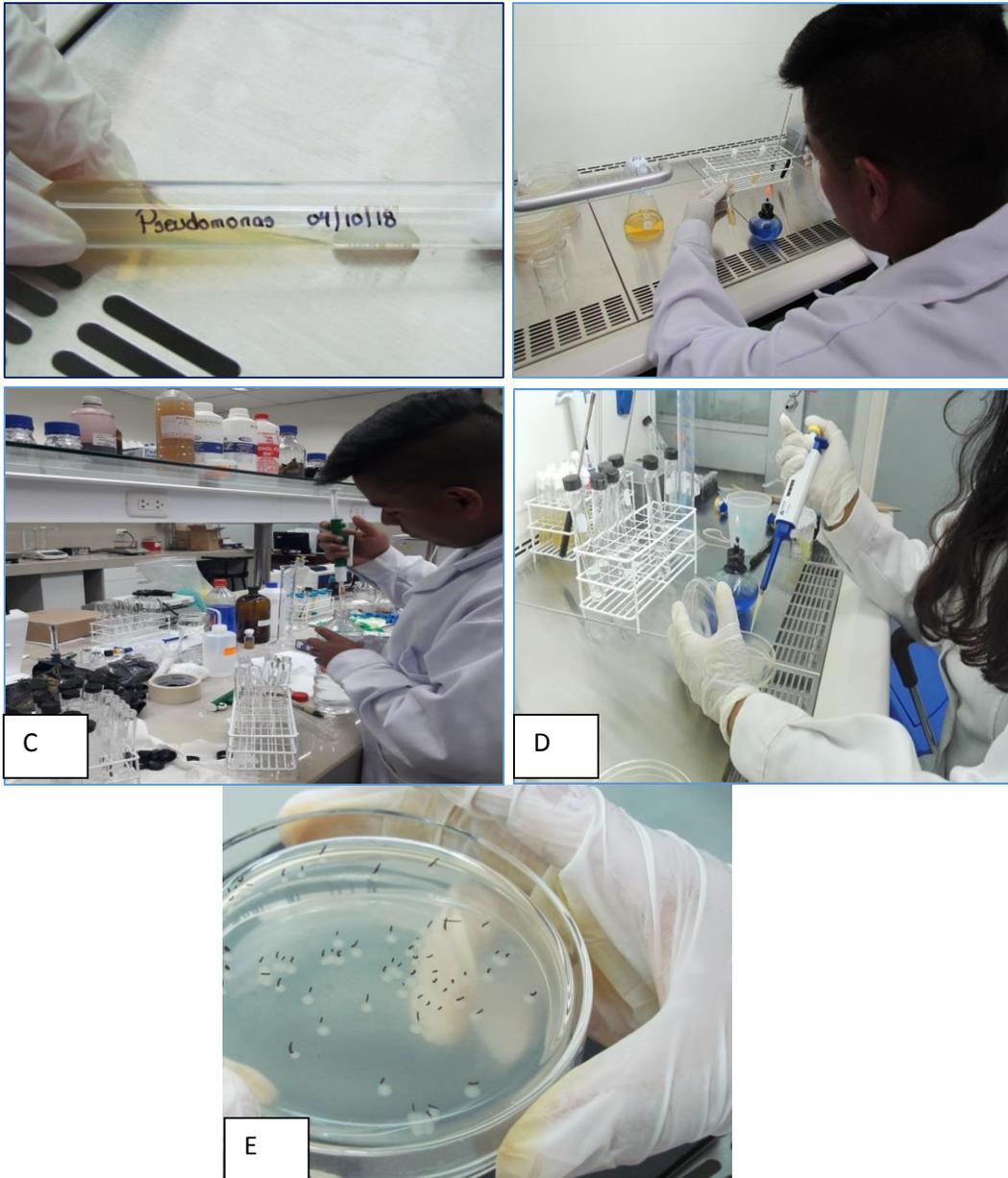
$$M = 23 * 10^8 \text{ ufc/mL} * 15 \text{ mL} \rightarrow 3,15 * 10^{10} \text{ UFC}$$

#### Anexo 04: Aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa*



A.- Cultivo puro de *Pseudomonas aeruginosa* B.- Cultivo puro de *Pseudomonas aeruginosa* en Agar Mac Conkey C.- Cultivo puro de *Pseudomonas aeruginosa* en Agar Cetrimide

ANEXO 05 : Preparación de inóculos de *Pseudomonas aeruginosa*



A.- Cultivo puro de *Pseudomonas aeruginosa* en Agar Nutritivo B.- Suspensión de cultivo de *Pseudomonas aeruginosa* en caldo TSB. C.- Preparación de diluciones hasta  $10^{-5}$  ,  $10^{-6}$  y  $10^{-7}$  D.-Siembra por Técnica de superficie 100 ul de la dilución  $10^{-5}$  ,  $10^{-6}$  y  $10^{-7}$  E.- Recuento de placa UFC/ ml con el Contador de colonias

ANEXO 06 : Evaluación de la concentración de *Pseudomonas aeruginosa* en muestra de agua de río el Toro



**A.-** 200ml de agua de río en cada matraz **B.-** Caldo TSB con *Pseudomonas aeruginosa* a 5, 10 y 15 ml a cada matraz **C.-** Incubar a 24, 48 y 72 h con el método de agitación **D.-** A cada muestra se agregó Hidróxido de Sodio hasta mantener el pH básico.

### **ANEXO 07 : Recolección de las muestras de agua:**

Las muestras de agua del río El Toro se recolectaran en botellas de vidrio de 1 litro de capacidad, previamente lavadas con HCl 0.1 N, enjuagadas con agua destilada y luego esterilizadas a vapor en autoclave. Se tomaran muestras repetidas tres veces en diferentes puntos, a contra corriente, otra al borde del río y otra a 3 metros de distancia del borde y a 10 centímetros de profundidad.



**Fig 01 :** Toma de muestras en el Río El Toro - Huamachuco



**REPORTE DE ANALISIS**

**SOLICITANTE** : KATHERINE POLO SANCHEZ, LAYZA AVALOS CRISTHANS  
JOSUE.  
**MUESTRA** : AGUA DEL RIO GRANDE – HUAMACHUCO  
**INGRESO DE MUESTRA** : 22 DE OCTUBRE DEL 2018

Parámetro	Unidades	Resultado
Arsénico	Ppm	2.2

TRUJILLO 25 DE OCTUBRE 2018

  
ING. JOSE RIVERO CONCUERA





**REPORTE DE ANALISIS**

**SOLICITANTE** : KATHERINE POLO SANCHEZ, LAYZA AVALOS CRISTHANS  
JOSUE.  
**MUESTRA** : AGUA DEL RIO GRANDE – HUAMACHUCO  
**INGRESO DE MUESTRA** : 22 DE OCTUBRE DEL 2018

Parámetro	Unidades	Resultado
Arsénico	Ppm	2.2

TRUJILLO 25 DE OCTUBRE 2018

  
ING. JOSE RIVERO CORCUERA





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

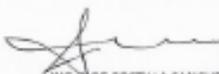
### REPORTE DE ANALISIS

**SOLICITANTE** : KATHERINE POLO SANCHEZ, LAYZA AVALOS CRISTHIANOS JOSUE.  
**MUESTRA** : AGUA DEL EL TORO – HUAMACHUCO  
**INGRESO DE MUESTRA** : 30 DE OCTUBRE DEL 2018

Muestra	Horas	mL	ppm As
ARCN	24	5	2.98
ARCN	24	10	21.32
ARCN	24	15	54.97
ARCN	48	5	10.15
ARCN	48	10	30.41
ARCN	48	15	57.89
ARCN	72	5	15.13
ARCN	72	10	44.95
ARCN	72	15	61.95
ARE	24	5	29.31
ARE	24	10	52.75
ARE	24	15	83.28
ARE	48	5	25.93
ARE	48	10	53.18
ARE	48	15	84.62
ARE	72	5	36.18
ARE	72	10	65.38
ARE	72	15	97.74

(A) METODO DE ABSORCION ATOMICA

TRUJILLO 02 DE NOVIEMBRE 2018

  
ING. NOE COSTILLA SANCHEZ  
JEFE DE LABORATORIO  
CIF 18715 / PERITO QUIMICO



Urb. Monserate 5<sup>a</sup> Etapa Mz.D2 Lote 9-Trujillo-La Libertad. Ruc: 20482155058  
Tlf: 044-280011-949960633-949564849. E-mail: deltas02@yahoo.com



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

### REPORTE DE ANALISIS

**SOLICITANTE** : KATHERINE POLO SANCHEZ, LAYZA AVALOS CRISTHIANOS JOSUE.  
**MUESTRA** : AGUA DEL RIO EL TORO – HUAMACHUCO  
**INGRESO DE MUESTRA** : 13 DE NOVIEMBRE DEL 2018

Muestra	Horas	mL	ppm As
ARCN	24	5	5.71
ARCN	24	10	19.99
ARCN	24	15	53.74
ARCN	48	5	10.48
ARCN	48	10	29.82
ARCN	48	15	58.51
ARCN	72	5	17.72
ARCN	72	10	46.49
ARCN	72	15	59.81
ARE	24	5	26.94
ARE	24	10	49.82
ARE	24	15	86.62
ARE	48	5	28.41
ARE	48	10	51.53
ARE	48	15	80.39
ARE	72	5	34.51
ARE	72	10	68.92
ARE	72	15	95.69

(A) METODO DE ABSORCION ATOMICA

TRUJILLO 17 DE NOVIEMBRE 2018

  
ING. NOE CASTILLA SANCHEZ  
JEFE DE LABORATORIO  
CIP 18715 / PERITO QUIMICO



Urb. Monserate 5° Etapa Mz.D2 Lote 9-Trujillo-La Libertad. Ruc: 20482155058  
Tlf: 044-280011-949960633-949564849. E-mail: deltas@igalho.com