



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA
AMBIENTAL**

“Bioadsorción con *Escherichia coli* en suelos contaminados por mercurio
en el distrito de Ascensión, Huancavelica – 2019”

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
Ingeniera Ambiental

AUTORAS:

Br. Lesly Estefany Espinoza Salazar (ORCID: 0000-0003-2065-0855)

Br. Yohana Estrellita Manziny Lazo (ORCID: 0000-0002-7149-8809)

ASESOR:

Dr. Eusterio Horacio Acosta Suasnabar (ORCID: 0000-0001-6837-7347)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Calidad y gestión de recurso naturales

LIMA – PERÚ

2019

Dedicatoria

A Dios quien nos ilumina, a nuestros padres, quienes inspiraron nuestro esfuerzo para la conclusión de esta tesis y a quienes nos brindaron su apoyo y motivación cada día durante estos años de estudio, ya que sin su ayuda nunca habiéríamos alcanzado satisfactoriamente nuestro objetivo.

Agradecimiento

Son muchas las personas que contribuyeron al desarrollo de esta investigación. Agradecemos a nuestros padres por su apoyo incondicional, a nuestra universidad por permitirnos convertirnos en profesionales y fortalecer nuestros conocimientos complementando nuestra vocación

Especialmente al Dr. Eusterio Horacio Acosta Suasnabar, asesor de esta tesis quien con sus conocimientos, paciencia, dedicación y enseñanzas nos guió a su desarrollo.

Página del jurado

Declaratoria de Autenticidad

Yo Lesly Estefany Espinoza Salazar identificada con DNI N° 71791789, con título de tesis “Bioadsorción con *Escherichia coli* en suelos contaminados por mercurio en el distrito de Ascensión, Huancavelica – 2019”, a efecto de cumplir lo establecido en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Cesar Vallejo, Facultad de Ingeniería, Escuela Académico Profesional de Ingeniería Ambiental, declaro bajo juramento que la tesis es de mi autoría, que los datos e información presentes en ella son auténticos y veraces, y que toda la documentación que la acompaña es verídica y acreditada.

Mediante lo descrito, asumo la responsabilidad que atañe ante alguna falsedad, encubrimiento o supresión de documentación o información aportada, por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas vigentes de la Universidad Cesar Vallejo.

Julio del 2019



Lesly Estefany Espinoza Salazar

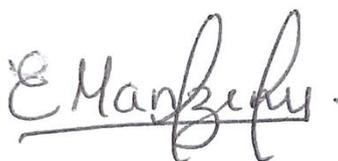
DNI: 71791789

Declaratoria de Autenticidad

Yo Yohana Estrellita Manziny Lazo identificada con DNI N° 78287590, con título de tesis “Bioadsorción con *Escherichia coli* en suelos contaminados por mercurio en el distrito de Ascensión, Huancavelica – 2019”, a efecto de cumplir lo establecido en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Cesar Vallejo, Facultad de Ingeniería, Escuela Académico Profesional de Ingeniería Ambiental, declaro bajo juramento que la tesis es de mi autoría, que los datos e información presentes en ella son auténticos y veraces, y que toda la documentación que la acompaña es verídica y acreditada.

Mediante lo descrito, asumo la responsabilidad que ataña ante alguna falsedad, encubrimiento o supresión de documentación o información aportada, por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas vigentes de la Universidad Cesar Vallejo.

Julio del 2019



Yohana Estrellita Manziny Lazo

DNI: 78287590

Índice

	Pág.
Carátula	i
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Página del Jurado.....	iv
Declaratoria de autenticidad	v
Índice.....	vii
Índice de figuras.....	ix
Índice de tablas.....	ix
Resumen	xi
Abstract	xii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Realidad Problemática	1
1.2. Trabajos previos.....	3
1.3. Teorías relacionadas al tema.....	16
1.3.1. Contaminación	16
1.3.2. Metales pesados	17
1.3.2.1. Mercurio.....	17
1.3.3. Contaminación de suelos por Metales pesados.....	18
1.3.4. Contaminación de suelos por Mercurio en el distrito de Ascensión, Huancavelica	19
1.3.5. Impactos del Mercurio en la Salud y Medio Ambiente	20
1.3.5.1. Impactos en la Salud	20
1.3.5.2. Impactos en el Medio Ambiente	20
1.3.6. Mecanismo de acción del Mercurio	21
1.3.7. Las Bacterias	21
1.3.7.1. Estructura bacteriana.....	23
1.3.7.2. Gram positivas	24
1.3.7.3. Gram negativas	24
1.3.7.3.1. <i>Escherichia coli</i>	25
1.3.8. Relación metal-bacteria	27
1.3.9. Recurso Hídrico	30
1.3.10. Contaminación hídrica	30
1.3.10.1. Rio Ichu.....	31

1.4. Formulación del problema	32
1.4.1. Problema general	32
1.4.2. Problemas específicos	32
1.5. Justificación del estudio	32
1.6. Hipótesis	34
1.6.1. Hipótesis general.....	34
1.6.2. Hipótesis específicas	34
1.7. Objetivos	35
1.7.1. Objetivo general.....	35
1.7.2. Objetivos específicos	35
II. MÉTODO.....	36
2.1. Tipo y Diseño de investigación.....	36
2.2. Población y muestra	38
2.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.....	38
2.4. Procedimiento	39
2.5. Métodos de análisis de datos.....	46
2.6. Aspectos éticos.....	46
III. RESULTADOS.....	47
3.1. Resultados del análisis de toma de muestra de Calidad de Agua Superficial.....	47
3.2. Resultados del análisis de toma de muestra de Calidad de Suelo.....	48
3.3. Isotherma de Adsorción	51
3.3.1. Isotherma de Freundlich	52
3.3.2. Isotherma de Langmuir	52
3.4. Resultados de de Bioadsorción de <i>Escherichia coli</i> en suelos contaminados por Hg en Ascensión Huancavelica	53
IV. DISCUSIÓN	66
V. CONCLUSIONES	69
VI. RECOMENDACIONES.....	70
VI. REFERENCIAS	71

ANEXOS

ANEXO 1 MEMORIA FOTOGRÁFICA.....	79
ANEXO 2 VALIDACIÓN DE INSTRUMENTOS	85
ANEXO 3 MATRIZ DE CONSISTENCIA.....	96
ANEXO 4 FICHAS DE RESULTADOS.....	99

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Operon mer Gram negativas	25
Figura 2 Mecanismo de interacción entre metales pesados y microorganismos	28
Figura 3 Sub Cuencas rio Mantaro	31
Figura 4 Ubicación de área Muestreo	40
Figura 5 Toma de muestra de Agua Superficial	41
Figura 6 Ubicación de área Muestreo	42
Figura 7 Toma de muestra de Calidad de Suelos	43
Figura 8 Proceso de obtención de biomasa inactiva de Escherichia coli.	45
Figura 9 Prueba de lanzamiento de bola.....	48
Figura 10 Determinación de proporción de arena, limo y arcilla.....	49
Figura 11 Clasificación de textura de suelo de fina a gruesa	50
Figura 12 Determinación de color de suelo – Tabla Munsell.....	50
Figura 13 Modelo de bioadsorción de Mercurio en equilibrio con biomasa	51
Figura 14 Dibujo de Isotherma de Freundlich para Mercurio con biomasa.....	52
Figura 15 Dibujo de Isotherma de Langmuir para Mercurio con biomasa	53
Figura 16 Resultados de Bioadsorción después de 60 Minutos	58
Figura 17. Resultados de Bioadsorción después de 90 Minutos	59
Figura 18 Resultados de Bioadsorción después de 120 Minutos	60
Figura 19 Resultados de Bioadsorción promedio de la Escherichia coli	61
Figura 20 Resultado de la Cinética de Crecimiento	62
Figura 21 Resultados del tiempo de tratamiento óptimo de Bioadsorción.....	63
Figura 22 Resultados de la variación de pH presente en los suelos	65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Metales traza constituyentes de las rocas comunes y minerales del suelo	18
Tabla 2 Estructura de la superficie de la célula procariota.....	22
Tabla 3 Tipología morfológica de procariotas	23
Tabla 4 Clasificación científica de la E. coli	26
Tabla 5 Matriz Operacional	37
Tabla 6 Materiales, Equipos y Herramientas.....	39
Tabla 7 Coordenadas UTM	40
Tabla 8 Coordenadas UTM	42
Tabla 9 Cinética de crecimiento	45

Tabla 10 Propiedades fisicoquímicas	47
Tabla 11 Parámetros comparativos.....	47
Tabla 12 Capacidad de adsorción de Mercurio de la biomasa Inactiva de E.coli	51
Tabla 13 Pruebas de normalidad	53
Tabla 14 Procesamiento de casos	54
Tabla 15 Prueba de homogeneidad de varianzas.....	54
Tabla 16 Resultados ANOVA	55
Tabla 17 Comparaciones múltiples	55
Tabla 18 Resultado de la Bioadsorción después de 60 Minutos	57
Tabla 19 Resultado de la Bioadsorción después de 90 Minutos	58
Tabla 20 Resultado de la Bioadsorción después de 120 Minutos	59
Tabla 21 Resultados de la Bioadsorción Promedio	61
Tabla 22 Crecimiento de bacteria.....	62
Tabla 23 Tiempos de tratamiento con mg/Kg de Hg.....	63
Tabla 24 Variación pH presente en los suelos.....	64

RESUMEN

La Carta Magna señala que toda persona tiene derecho al goce de un ambiente sano, de condiciones aptas para el desarrollo humano y de la satisfacción de las necesidades sin perjuicio del goce de las futuras generaciones. Sin embargo, la actividad humana va en contra de todo ello, la contaminación por metales pesados es una problemática de gran consideración tanto en temas ambientales como sociales, es por ello que el objetivo principal de esta investigación es reducir la concentración de mercurio (Hg) mediante la bioadsorción con la *Escherichia coli* en los suelos contaminados del distrito de Ascensión, provincia y departamento de Huancavelica con lo cual se reduce las concentraciones de este contaminante en los suelos, se realizaron actividades de laboratorio para la obtención de la biomasa inactiva de *Escherichia coli* en las cuales involucra la distinción, separación e incubación de la bacteria en estudio, primero se procedió a la recolección de las muestras de agua procedentes del río Ichu, cuerpo del cual se obtendrá la bacteria, se llevó a laboratorio y se realizó el reconocimiento de presencia de bacterias mediante el empleo de Caldo Laurill Sulfato con temperatura de incubación de $34 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas, posteriormente se confirmó la presencia de bacterias con Caldo Lactosado Verde Bilis a incubación de $34 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas, seguido a ellos se identificó los coliformes totales con Verde Brillantina a incubación de $44.5 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas, luego se aisló la bacteria de *Escherichia coli* mediante Eosina Azul de Metileno con incubación a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas y se sembró en Macconkey por 18 horas a $34 \pm 1^\circ\text{C}$, la identificación de sensibilidad se realizó a condiciones de $28 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas y para la obtención de la biomasa se realizaron agitaciones de 80 rpm y 5000 rpm. Una vez obtenida la biomasa inactiva se conservó a 4°C y se procedió a aplicar en las muestras de suelo considerándose tres grupos de estudio, compuesto cada uno de tres muestras (una muestra de análisis y sus duplicados) trabajando en proporción al tiempo de 60, 90 y 120 minutos respectivamente con aplicación de 1 g/kg de Biomasa inactiva de *Escherichia coli*, donde el resultado de la capacidad de absorción de *Escherichia coli* fue de 83,3% de Hg en tiempo de 90 minutos.

Palabras clave: Bioadsorción, tiempo, capacidad.

ABSTRACT

The Magna letter indicates that everyone has the right to enjoy a healthy environment, conditions suitable for human development and the satisfaction of needs without prejudice to the enjoyment of future generations. However, human activity goes against all this, heavy metal contamination is a problem of great consideration in both environmental and social issues, which is why the main objective of this research is to reduce Hg through bioadsorption with the *Escherichia coli* in the contaminated soils of the district of Ascensión, Huancavelica, which will reduce the concentrations of this contaminant in the soils, laboratory activities were carried out to obtain the inactive biomass of *E.coli* in which it involves the distinction, separation incubation of the bacteria under study, first proceeded to obtain water samples from the river Ichu, body from which the bacteria will be obtained, it was taken to the laboratory and the recognition of the presence of bacteria was made by the use of Laurill Sulfate Broth with incubation temperature of 34 ± 1 ° C for 24 hours, afterwards the presence was confirmed of bacteria with Lactose Brith Green Bile to incubation of 34 ± 1 ° C for 24 hours, followed by total coliforms with Brillantina Green at incubation of 44.5 ± 1 ° C for 24 hours, after which the *Escherichia coli* bacterium by Methylene Blue Eosin with incubation at 35 ± 1 ° C for 24 hours and planted in Macconkey for 18 hours at 34 ± 1 ° C, the sensitivity identification of performed at 28 ± 1 ° C for 24 hours and to obtain the biomass agitations of 80 rpm and 5000 rpm were made. Once the inactive biomass was obtained, it was kept at 4 ° C and it was applied to the soil samples considering three study groups, each composed of three samples (one sample of analysis and its duplicates) working in proportion to the time of 60, 90 and 120 with application of 1 g / kg of inactive Biomass of *Escherichia coli*, where it was obtained that the absorption capacity of *Escherichia coli* was 83.3% of Hg in 90 minutes time.

Keywords: Bioadsorption, time, capacity.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad la minería es una actividad económica principal a nivel internacional, la cual se basa en la extracción de minerales, explotación de metales y uso excesivo del mercurio como amalgama lo cual con el pasar del tiempo y el desarrollo industrial trajo como consecuencia un gran impacto negativo al medio ambiente. En la zona Sur de Perú, las descargas domésticas y mineras ocasionan una gran contaminación en las aguas receptoras, entre cuyas causas se puede diferenciar el volumen de sus vertimientos y la composición y concentraciones que estas posean, generando como consecuencia la contaminación de los cuerpos de agua y la variación de la alcalinidad del suelo al entrar en contacto con ellas. La concentración excesiva de mercurio puede producir algunas alteraciones en las plantas, degradación del suelo, entre otros efectos, lo cual disminuye su productividad, si la contaminación es excesiva puede llegar a producir desertificación e imposibilitar la capacidad productiva del recurso y alterar la salud humana e incluso la muerte de la persona. Por su parte Martin (2016), refiere que cuando el suelo presenta niveles que superan las concentraciones máximas establecidas, generan consecuencias inmediatas como inhibición del desarrollo y crecimiento de la flora, y alteraciones en el medio ambiente, así como la disminución de poblaciones microbianas del suelo (pp. 200-207). Al respecto Castro de Esparza (2016), realiza una investigación denominada “Intoxicación por mercurio y otros problemas de la salud en niños de poblaciones aledañas a relaves mineros”, en el cual estudió los niveles de mercurio encontrados en el organismo de niños menores a 10 años que habitan la comunidad de Quiulacocha y Champamarca, Pasco, analizando la concentración de mercurio en la sangre de estos niños, así mismo su desarrollo psicomotor y una evaluación antropométrica. Obtuvo como resultado que el 84.7% de la población vulnerable presentaba niveles de mercurio en su organismo que pueden afectar su salud ($Pb > 10 \mu\text{g/dL}$), niños con intoxicación Plúmbica $15,79 \pm 4,85 \mu\text{g/d}$, además de evidenció que se presentaban desnutrición crónica, problemas renales y retardo mental. (pp. 16-17).

1.1. Realidad Problemática

Es imprescindible mencionar que diversas actividades de origen antropogénico, como la minería generan la liberación de mercurio al agua o al suelo, el cual es altamente perjudicial para el medio ambiente y la salud humana, principalmente por su capacidad para acumularse en organismos como el pescado y con el tiempo al ir remontando la cadena alimenticia, las

concentraciones medidas en los depredadores va por consiguiente en aumento, la exposición al mercurio genera alteraciones al sistema nervioso, variaciones genéticas, afecciones cutáneas, irritación de la vía respiratoria, entre otros en el ser humano y en los animales puede dañar riñones, daño en los intestinos ,fallos en la reproducción y alteraciones en su ADN.

De lo referido Rojas y Ortiz (2015), realizan una investigación a la cual denominan “Biorremediación de la contaminación por mercurio en minería informal”, exponiendo que el mercurio y en especial su forma orgánica-metilmercurio es una potente neurotoxina capaz de menoscabar el desarrollo neurológico en fetos y en niños pequeños. (p. 5). En una entrevista realizada al Dr. Carlos Manrique, director de la Dirección Regional de Salud en Madre de Dios, dio a conocer la grave problemática perceptible en el departamento de Madre de Dios, donde se estimó que 181 toneladas de mercurio eran arrojadas de manera descontrolada al medio de forma anual, mediante lo cual se manifiesto que el mercurio es parte de una atmosfera cotidiana, agravando la contaminación ambiental y la salud humana. Ante ello Sierra (2018), realizo una investigación denominada “Perú: cuatro regiones expuestas a la contaminación por mercurio”, en la cual afirma que, Madre de Dios, Huancavelica y Cusco presentan un índice de mercurio en la población, mayor a lo permitido, ya que, alrededor de 3000 toneladas de mercurio fueron desechadas en los ríos amazónicos en los últimos 20 años. (p. 6). Robins (2015), corrobora la problemática ya que manifiesta que actualmente en Huancavelica más del 70 % de las viviendas donde habitan 21000 pobladores encuentran construidas de barro y adobe proveniente del rio Ichu el cual presenta altos índices de contaminación. (p. 2).

Ante tal gran problemática Bryn y Robins. (2015), realizan un proyecto denominado “Proyecto de Remediación del Mercurio – Huancavelica, Perú “, en el cual obtuvieron resultados de que los suelos de los distritos de Yanayaco, Ascensión, San Cristóbal y Santa Ana pertenecientes al departamento Huancavelica poseen concentraciones de Hg en una escala de 0,1 a 1231 mg/kg en muestras de 2,5 a 688 mg/kg a profundidad de 2,54 cm y 1,5 a 90 mg/kg a profundidad de 7,62 cm. Concentraciones que superan el valor establecido por D.S. 011-2017-MINAM Aprueban Estándares de Calidad Ambiental para Suelo, que corresponde a 6,6 mg/kg de hg para el uso de suelo Residencial/Parques. (pp. 10- 25). De igual manera Condori y Huamani (2017), realizan un estudio al cual denominan “ Mercurio contamina el 75 % de casas de barro en Huancavelica”, manifiesta que el 80% de su muestra

de niños presenta un alto riesgo epidemiológico a causa del Mercurio, en cual identificaron como factores de riesgo en 100% la presencia de polvo fuera de sus domicilios con techo de calamina, el 97% de infraestructura de adobe a tapial, el 93% con presencia de polvo dentro de sus domicilios y el 87% la interacción directa con el niño en la calle, por lo que Condori manifiesta que el alto grado de afección es originado por la falta de pavimentación de las calles y la alta concentración de mercurio el suelo.(p. 2). Corroborando la gran magnitud de la contaminación en el Ministerio del Ambiente en el 2017 se reportó que las localidades Santa Ana, Yananaco, San Cristóbal y Ascensión exceden en un 75% de las viviendas evaluadas los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) suelo de uso residencial e industrial. De la información precedida y de las investigaciones anteceditas surge la problemática de nuestra investigación basándose en determinar ¿Cuál es la capacidad de Bioadsorción de la Escherichia coli en suelos contaminados por Hg en el distrito de Ascensión, provincia y departamento de Huancavelica? Tras llevar acabo la presente investigación en el área de estudio, se logró determinar cómo resultados a través de la evidencia de la presencia de contaminantes, entre ellos se obtuvo una concentración de 9,4 mg/kg de Hg, concentración que supera lo establecido en el D.S 011-2017 Estándar de Calidad Ambiental para Suelos, respecto al elemento en estudio.

1.2. Trabajos previos

De acuerdo a Pérez et al. (2018) realizaron una investigación denominada “Biosorción microbiana de metales pesados: Características del proceso”, en el cual plantea como objetivo la implementación de metodologías que resulten más asertivas para la remoción y recuperación de metales pesados, generando la obtención de biomasa marcada con iones metálicos cuya capacidad se basa en ser fuentes biosorbentes de alta accesibilidad económica y con mecanismo renovable, concluyendo que en el proceso de remoción de metales mediante microbios bioadsorbentes influyen principalmente el tipo de microorganismo a utilizar, edad fisiológica del cultivo, la concentración y el estado de la biomasa entre otros factores como temperatura pH y la concentración del metal presente. (pp. 1-12).

Por otra parte, Bautista (2014), realiza una investigación de “Bioadsorción de metales pesados mediante el uso de biomasa bacteriana aislada de jales mineros”, en la cual evalúa si la bacteria que fue aislada de jales mineros presenta capacidad de adsorción a metales pesados, argumenta que la biomasa microbiana logra la remoción de metales pesados en

bajas concentraciones, para ello realizo el enriquecimiento de las bacterias aisladas en caldo nutritivo con Al , Cu, Pb y Ni a una concentración de 3nM , realizando una dilución en placa en agar nutritivo , posteriormente puso 0.015 g de biomasa seca en contacto , bajo agitación con 10 ml de solución de metal a pH calculado y determinó que la concentración del metal se absorbió por absorción Atómica.(pp. 48-89).

Se evidencio que la adsorción de metales se puede realizar bajo clasificaciones edáficas, al respecto Cortes et al. (2014), plantean la investigación “Adsorción de metales pesados en andisoles y vertisoles y ácidos húmicos”, buscando determinar la diferencia de adsorción edáfica mediante los modelos de Langmuir, Scatchard y Freundlich, manifestando que sus muestras fueron tomadas a profundidad de 20 cm, caracterizadas por textura mediante el método de Pipeta de Robinson , mineralogía de arcillas, carbono orgánico, capacidad de intercambio catiónico a un pH de 7 con acetato de amonio al 1 N y bases intercambiables, finalmente concluyeron que la adsorción de metales pesados en andisoles , vertisoles y ácidos lumínicos de procedencia colombiana donde determinaron el pH , CIC,CO y la concentración de metales , se obtuvo que la máxima capacidad de adsorción fue en andisoles para los siguientes metales Pb, Cu, Cd, Zn, Ni en ese orden respectivamente. (pp. 2-8).

De igual manera se realizaron investigaciones en las cuales emplean materiales de origen biológico para adsorber metales, entre ellos se distingue a Tejada, Villanova y Garcés. (2015), quienes en su investigación de “Adsorción de metales pesados en aguas residuales usando materiales de origen biológico”, determinaron la eficacia de materiales biológicos para remover metales pesados presentes en aguas residuales, para ello emplearon biomasa proveniente de algas, residuos industriales y flora microbiana, identificaron factores de: pH en solución, el tamaño de la partícula, la temperatura y la concentración del metal, concluyendo que la bioadsorción es una técnica de tratamiento eficiente, ello debido a la baja cantidad monetaria necesaria para su aplicación, manifestando que la forma de captación de los iones metales dependen únicamente de las características del metal y del material bioadsorbentes. (pp. 3-12).

Diversos investigadores postularon investigaciones específicas acerca de la adsorción de metales mediante el empleo de diferentes adsorbentes, entre ellos se distingue la investigación realizada por Rojas y Ortiz (2015), referente a la “Biorremediación de suelos contaminados por mercurio a causa de la minería informal”, determinan las características

de sensibilidad al mercurio, expresa que las bacterias resistentes al mercurio o MRB – Mercury resistant Bacteria, están ampliamente distribuidas por toda la naturaleza y entre el 1 y 10 % de bacterias heterotróficas aeróbicas pueden ser aisladas sin enriquecimiento previo, finalmente indica que existen cepas mucho más fuertes y son más abundantes en ambientes con presencia de Hg y la mitad puede desarrollar en agar nutrientes con concentraciones tan altas como 50 μm (10 ppm), a diferencia de las cepas sensibles que solo pueden aguantar hasta 1 μm en el medio de cultivo. (pp. 25-29).

También surgen investigaciones que emplean como adsorbentes residuos orgánicos, Verdugo (2017), realizó la “Bioadsorción de iones de plomo y cromo procedentes de aguas residuales utilizando la cascara de la mandarina (*citrus reticulata var. Clementina*)”, en el cual evaluó la capacidad de bioadsorción de plomo y cromo haciendo uso de la cascara de mandarina, aprovechando este residuo en el desarrollo de este proceso realizó diferentes variaciones en el tamaño de la partícula (menores de 0,3 mm, entre 0,3-0.6 mm y mayores a 0,6 mm), variaciones en el tiempo de agitación y concentraciones de los contaminantes, de los cuales obtuvo resultados de Bioadsorción del 71,9 % y 54,4 % respectivamente para cada metal (pp. 42-67).

Se realizaron estudios para la adsorción de diversos metales pesados, entre los cuales Scott (2016), estudia la “Bioadsorción de Cobre Cadmio y Magnesio con cascara de naranja de las aguas de la Laguna Colquicocha” con el objetivo de demostrar la capacidad de bioadsorción de Cu, Cd y Mn mediante el uso de la cascara de naranja, para lo cual desarrollaron pruebas a nivel laboratorio determinando características iniciales como el pH= 7,5 y la $T^{\circ} = ^{\circ}\text{C}$, lograron reducir la concentración de cobre hasta 0,2 mg/l (reduciendo un 66% respecto a la concentración inicial) y para el cadmio se redujeron 0.041 mg/L logrando una reducción del 53.97% , demostrando que si existe Bioadsorción mediante el uso de la cascara de la naranja. (pp. 64-110).

De igual manera Sánchez y Casemelle. (2016), en su investigación “Biosorción de mercurio (Hg^{+2}) usando materiales solidos residuales como adsorbentes”, plantean como objetivo determinar el proceso de adsorción de mercurio (Hg^{+2}) con sólidos residuales, para ellos seleccionaron 12 tipos de materiales solidos residuales para ser clasificados aquellos que presenten mejores características de sorbente. La biomasa de algas *Ulva rigididad* y *Cystoseira nodicaulis* mostró resultados más idóneos, concluyendo que se logró generar una

adsorción del 96.5 % y 94.5 % de Hg⁺² respectivamente, demostraron que el pH óptimo se encuentra entre 3 a 6, requiriendo entre 1 y 2 g de adsorbente/L de disolución de Hg⁺², mediante la isoterma de Langumir lograron predecir que el proceso de adsorción del mercurio y mediante el modelo pseudo segundo orden se determinó la cinética de adsorción. (pp. 2-7).

Sin embargo, también se evidencia que no solo los residuos orgánicos poseen esta capacidad, Córdova (2016), realiza la " Bioadsorción de Hg⁺² y Pb⁺² en solución bajo diferentes condiciones de laboratorio usando la macrófita acuática *Typha latifolia* inerte" en cuya investigación evalúan si la *Typha latifolia* inerte es eficiente para la remoción de Pb⁺² y Cd⁺², para lo cual desarrollaron un mecanismo de cinética mediante el modelo de pseudo segundo orden y la determinación del proceso de remoción de los metales en estudio mediante la fuerza iónica, concluyendo que la eficiencia de *Typha latifolia* para la remoción de Pb⁺² y Cd⁺², a un pH ideal entre 4 y 6, finalmente obtuvieron un 60% de remoción de ion de Hg⁺² a un pH de 6, con dosis de biomasa de 0,075 g a tiempo de contacto de 60 minutos, y bajo las mismas condiciones se evidencio un porcentaje de reducción de Cd⁺² de 90%. (pp. 53-103)

En su investigación "Bioadsorción de plomo, zinc y plata con biomasa microbiana aislada de aguas residuales de la provincia de Jaén" Muñoz (2016), tiene como objetivo determinar una cepa tolerante y resistente a al Pb desarrollando su procedimiento experimental seleccionando 10 microorganismos depuradores de agua , los cuales tenían resistencia y tolerancia a metales , donde se optó al microorganismo *Klesbsiella sp.* y se probó su viabilidad para bioadsorción de Pb, formándose una biopelícula alrededor con una alta capacidad para la retención de metales y eficiencia de regeneración (p.22).

Por su parte Beltrán et al. (2016), realizaron una investigación de "Biorremediación de metales pesados cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg) mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: una revisión", en la cual determinaron la eficacia de organismos vivos para la captación de metales pesados, argumenta que los metales pesados más nocivos de toda la cadena trófica son el Cd , Cr y Hg ya que son elementos persistentes y tóxicos , implemento una tecnología involucrando seres vivos, privilegiados por su capacidad metabólica , los cuales dieron resultados eficientes y favorables en los procesos de biotransformación , concluyendo que las plantas hiper acumuladoras (metal ofitas) son

capaces de remover y degradar metales pesados debido a la capacidad de acumulación con la que cuentan sus raíces.(pp. 5-20).

De igual manera Gutiérrez (2015), realizó una investigación sobre el “Estudio de la Bioadsorción de Cadmio y Plomo con Biomasa de *Serratia marcescens* M8A-2T, a Nivel de Laboratorio”, en la cual plantea como objetivo principal realizar un diseño de funcionalidad biotecnológica que sea capaz de remover cadmio y plomo con una cepa nativa aislada de un ambiente minero, para lo cual selecciono una cepa capaz de realiza su objetivo, reactivo 112 cepas aisladas del medio minero a las cuales realizo pruebas de resistencia a metales, distinguiendo entre otros parámetros la: velocidad de crecimiento y capacidad de generación de biomasa. Concluye que la cepa más eficiente fue la denominada cepa *Serratia marcescens* M8A- 2T, en la cual genero la optimización de medios fisicoquímicos y genética resistente a cadmio y plomo. Con esta biomasa removió 99,7% de cadmio a un pH de 3 y 96% de plomo a un pH de 7. En un intervalo de tiempo de 60 minutos. (pp. 25-42).

Al igual Amabilis et al. (2017), realiza una investigación de “Remoción de Mercurio por *Phragmites australis* empleada como barrera biológica en humedales artificiales inoculados con cepas tolerantes a metales pesados”, en el cual evalúan la acumulación de mercurio en aguas residuales mediante el uso de carrizos, a los cuales inocularon previamente con bacterias resistentes a metales y posterior a 304 días de implementar su sistema de estudio con bacterias metal tolerantes obtuvieron la remoción del 73 % del mercurio total, a diferencia de su segundo sistema implementado únicamente con carrizos el cual logro remover solo el 50% del mercurio (pp. 8-25).

También se logró la bioadsorción mediante adsorbentes inactivos, a ello Sánchez y Toncon. (2015), realizaron una investigación denominada “ Adsorción de Hg(II) con carbón activado obtenido a partir de cascarilla de café pretratada con explosión de vapor” en la cual planteaba como objetivo adsorber Hg(II) a través de carbón activado obtenido a partir de cascarilla de café pretratada con explosión de vapor, para ello obtuvieron 5 carbones activados mediante el proceso de activación con H₃PO₄, a intervalos de tiempo y a 3 relaciones ácido-cascara, realizo ensayos de adsorción en solución acuosa a 298 K y pH de 4.4 +-0.3 ajustando los resultados al modelo de pseudo segundo orden y al modelo de isoterma de Langmuir . De lo cual concluyeron que el tiempo de equilibrio se presenta entre los 20 y 60 minutos y cuya capacidad de adsorción incrementa con el tiempo de impregnación, sin embargo, disminuye

a altas relaciones de impregnación. (pp. 4-12).

También se evidencia investigaciones nacionales, entre las cuales se distinguen las de Thoms y Robins (2015), quienes realizaron una investigación denominada “Proyecto de Remediación del Mercurio - Huancavelica, Perú” buscó distinguir medios en los cuales se da la presencia del Hg, a ello manifiestan que la contaminación por Hg en Huancavelica, en el suelo, las casa de tierra, el aire interior, los sedimentos y los alimentos tienen como causa el tratamiento de mercurio, es decir por las actividades realizadas en la era colonial próximos a la mina Santa Bárbara. La concentración de Hg en el suelo y casas a base de tierra están sobre las concentraciones establecidas para uso residencial en un 50% de las casas evaluadas. (pp. 20-39).

De igual manera León (2017), el cual realizo la “Bioadsorción de mercurio II en aguas residuales generados por el centro minero informal del Lunas de Oro ubicado en el distrito de Ananea con biomasa de Waraqqon (*Echinopsis maximiliana*)” buscando determinar la bioadsorción de mercurio II de las aguas residuales generadas por la actividad minera informal aledaña mediante el uso de Wraqqo (*Echinopsis maximiliana*), activo su biomasa en dos etapas con HNO₃ (0,3 N) y posteriormente con NaOH (0,9 M), contándose con una concentración inicial de 17,125 mg/L de Hg II, determinando que el pH óptimo para este proceso fueron pH 12 y tiempo máximo absorbente de 120 min, reduciendo a 0,288 mg/L de Hg II. (pp. 41-67).

Al igual que Jimenez (2017), en su tema de investigación; Bioremediation with Inoculum of *Pleurotus ostreatus* to recover soil contaminated with heavy metals in Florida Cajamarca; seeking to determine if the inocula under study has the capacity to bioremediation soils contaminated with Heavy metals in Florida, in relation to them, states that the use of microorganisms to absorb heavy metals in contaminated soils is an economically viable and beneficial method because soil restoration can be obtained. The main objective was to determine the decrease in the concentration of heavy metals in the soils of the Cushuro Mine in the department of Cajamarca, obtaining as a result the 65.7% decrease in heavy metals as lead in the soil. (pp. 37-61)

Jiménez (2017), quien realizo su tesis referente a “Biorremediación con Inóculos de *Pleurotus ostreatus* para recuperar suelos contaminados con metales pesados en La Florida

Cajamarca ” buscando determinar si los inóculos en estudio tiene la capacidad de biorremediar suelos contaminados con metales pesados en la Florida, respecto a ellos manifiesta que el uso de microorganismos para absorber metales pesados en suelos contaminados, es un método viable económicamente y beneficioso debido a que se podrá obtener la restauración de suelos. Principalmente tuvo como objetivo determinar la disminución de la concentración de metales pesados de los suelos de la Mina Cushuro en el departamento de Cajamarca obteniendo como resultados la disminución del 65.7 % de metales pesados como plomo en el suelo. (pp. 37-61).

Por su parte Sanga (2016), realizo su tesis referente a “Biosorción de plomo por biomasa inactiva de bacterias aisladas en sedimentos de lixiviados del botadero de Haquira – Cusco”, en la cual determino la capacidad de bioadsorción de plomo de la biomasa inactiva de bacterias aisladas en sedimentos de lixiviados del botadero Haquira, a ello manifiesta que realizo la distinción de 5 cepas de Gram negativas, realizando las pruebas de biosorción a escala de laboratorio en frascos contenidos de plomo y la biomasa bacteriana en solución acuosa bajo agitación de 130 rpm a 18°C, presentando como condiciones específicas un pH de 5, biomasa 1g/L y tiempo de contacto de 180 minutos. (pp. 59-104).

De igual manera Amézquita (2018), investigó sobre la “Remoción de cadmio bivalente (Cd+2) mediante Bioadsorción en un sistema de flujo continuo empacado con biomasa muerta e inmovilizada de *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing 1833 a escala de laboratorio” en la cual determinó la eficiencia de bioadsorción de cadmio con biomasa muerta de *Scenedesmus Oblliguus* basándose en el desarrollo de su estudio en 3 soluciones de Cadmio (Cd+2) a partir de CdCl₂ trabajando con concentraciones iniciales de 25 , 50 y 10 mg/L respectivamente de Cadmio y trabajó con un grupo controlado que no presentaba concentraciones de Cd, dando como resultado una eficiencia de remoción del contaminante de 99%,98% y 99% respectivamente (p.157).

Barrientos (2015), en su investigación “Bioadsorción de plomo (II) utilizando *Baccharis latifolia* (chilca)” determinó si existen efectos del tamaño de partícula y el pH de la solución, sobre la capacidad de adsorción y porcentaje de adsorción, por lo cual desarrollo una técnica de estudio por lotes (batch). Donde determino que los parámetros óptimos para el proceso de Bioadsorción tamaño de partícula: 0,150 mm y pH 6,00 teniendo una capacidad bioadsorbentes de 66,75 % mg/kg de Pb II con una velocidad de 76,56 mg g⁻¹ min⁻¹. (p.85).

También se distingue la investigación realizada por Cabrera y Talavera (2018), denominada “Evaluación de la capacidad de Bioadsorción de plomo (II) empleando biomasa vegetal inerte (tallos de rosas) como adsorbente” en la cual planteo como objetivo determinar la capacidad de adsorción y viabilidad de la remoción de Pb (II) a través de una solución a base de tallo de rosas como biomasa, mediante un proceso de hidrólisis alcalina (TRHS), basando su estudio mediante ensayos Batch para analizar el pH y el uso del método de isotermas y cinética de adsorción, obteniendo como resultados un pH óptimo de 4, confirmando su procedimiento experimental con la coincidencia de datos mediante el cálculo de isotermas $R^2 = 0.9854$ con una capacidad máxima de Bioadsorción de 3.44.82 mg de Pb de tallo de rosa con 0.05 gr de biomasa y un tiempo óptimo de contacto de 60 min (p.12).

De igual manera en su tema de investigación “Efecto del tiempo de residencia y tamaño de partícula en la reducción de plomo mediante bioadsorción con *Citrus cinensis* en Efluente Minero del C.P. Tambillo – Cajamarca, 2017”, Alvarado (2018), tuvo como objetivo determinar la influencia del tiempo de contacto y tamaño de partícula en la capacidad de Bioadsorción y porcentaje de reducción del Pb, por lo cual hizo uso de Pb en solución a diferentes tiempos de resistencia 1, 2 y 3 horas respectivamente con tamaños distintos de partícula del *Citrus cinensis* a 0.4mm, 0.6mm y 0.8 mm, trabajando con 98.93 ppm de Pb, concluyendo como resultados para la reducción de Pb un tiempo óptimo de 1 hora con un tamaño de 0,4 mm de *Citrus cinensis* logrando un 95.12% de reducción. (p. 45).

Referente a ello Linares (2018) developed an investigation of Lead Ion (II) removal of synthetic waters through the biosorbent obtained from the chestnut peel (*Bertholletia Excelsa*) determining the possibility of using chestnut peels (agroindustrial residues) as a remover of Pb II in aqueous solutions, studying the variables and their degree of influence with the biomass in a range of 0.2 to 0.6 g and a pH in the range of 4.5 to 5.5. with concentrations of Pb from 50 to 150 ppm, obtaining as a result that the concentration presents a statistically significant significance through the Minitab software, being able to determine a viable mathematical model based on the results. (pp. 35-48).

Linares (2018) desarrollo una investigación de “Remoción de Iones Plomo (II) de aguas sintéticas mediante el biosorbente obtenido de la cáscara de castaña (*Bertholletia Excelsa*)” determinando la posibilidad de usar cascaras de castaña (residuo agroindustrial) como

removedor de Pb II en soluciones acuosas, estudiando las variables y su grado de influencia con la biomasa en un rango de 0.2 a 0.6 g y un pH en rango de 4.5 a 5.5. con concentraciones de Pb de 50 a 150 ppm, obteniendo como resultado que la concentración presenta mayor significancia estadísticamente mediante el software Mnitab, logrando determinar un modelo matemático viable basándose en los resultados. (pp. 35-48).

Por otra parte, en su investigación “Biosorción del metal pesado CD (II) para el tratamiento de efluentes mineros por medio del Alginato” Huayta y Vena. (2018), tiene como objetivo determinar la capacidad de Biosorción de Cd II, por lo que desarrollo un sistema de estudio Batch haciendo uso de soluciones basándose en la concentración del adsorbato, masa del adsorbente y el tiempo de contacto, obteniendo como resultado máximo de la capacidad de retención de 91,88 5 en un tiempo de 2 horas y haciendo uso de 2 g de alginato con una concentración de 0.016 ppm en condiciones de agitación de 1400 rpm (p. 92).

Al igual De La Cruz (2018), en su investigación “Bagazo de caña de azúcar (*Saccharum Officinarum*) activado con ácido fosfórico para la bioadsorción de plomo en las aguas del río Chillón - Puente Piedra, 2018” planteo como objetivo determinar la eficiencia del bagazo de caña con ácido fosfórico en el proceso de bioadsorción de Pb en las aguas del rio Chillón, basándose mediante diferentes muestras en el rio, con el fin de determinar la concentración máxima del Pb presente desarrollando su estudio triturando y secando el bagazo de caña a una T° de 400 °C mediante la activación con ácido fosfórico a 21% 50 % y 80 % de concentraciones , sometiendo al carbón activado a un proceso de agitación a 0.2 g por 100 ml de agua con un contacto de 40 minutos y decantación de 15 , obteniendo como resultado respecto a la concentración inicial de Pb , es decir antes del estímulo de 0.252 mg/L obteniendo rendimiento de un 90 % demostrando un alto porcentaje de capacidad de Bioadsorción (p. 95).

Por otra parte Cañizares (2015), en su trabajo de investigación titulado “Biosorción de Pb+2, Cr+3, Cd+2 y Zn+2 en solución con levadura residual de cerveza y *Padina sp.*”, buscó determinar la bioadsorción de Pb+2, Cr+3, Cd+2 y Zn+2 con levadura residual de cerveza y *Padina sp*, manifestando que la presencia de los metales en el medio ambiente son perjudiciales para los seres humanos ya que de ser ingeridos pueden causar problemas renales o neuronales y hasta llegar a la muerte por lo que es importante que se traten los efluentes antes de ser descargados al medio ambiente es por eso que evaluó la capacidad de

biosorción de Pb^{+2} , Cr^{+3} , Cd^{+2} y Zn^{+2} utilizando las dos biomazas a diferentes concentraciones y distinta temperatura. A modo de conclusión manifiesto que “Los valores de ΔH de la biosorción de cromo van de 14.1 a 28.9 kg/mol, mientras que se determine que los glucanos $-OH$, el $C=O$ de la quitina y el $-NH$ de las proteínas son los grupos funcionales que intervienen en el proceso de biosorción”. (pp. 2-11).

A ello Robins (2015), realizo una investigación en la cual expresa el impacto generado por la actividad minera, al cual denominó “Mercurio, minería e imperio: el costo humano y ecológico de la minería de plata colonial en los Andes”, manifestando el impacto que genera la minería de plata colonial en los Andes, para ello recolectó muestras en la amplitud de tres líneas transversales, las cuales arrojaron como resultado que las concentraciones obtenidas de las muestras de suelos alcanzaban los 1201 mg/kg de mercurio en Huancavelica. Las concentraciones de mercurio obtenidas del ladrillo de abobe empleados para la infraestructura de sus viviendas presentaban concentraciones de 284 mg/kg, siendo este un valor medio de la concentración presente en los sitios de fundición. (pp. 4-15).

De igual manera Gutiérrez (2015), en su tesis referente a “Estudio de la Bioadsorción de Cadmio y Plomo con Biomasa de *Serratia marcescens* M8A-2T, a Nivel de Laboratorio” buscó determinar si la biomasa de *Serratia marcescens* M8A-2T puede bioadsorber cadmio y plomo, a ello manifiesto que la cepa en estudio fue aislada de un ambiente minero, al cual realizaron pruebas de determinación de pH y tamaño de granulación, presentando de esta manera resistencia al cadmio y plomo , tuvo una capacidad máxima de adsorción a un pH de 3,1 mg/ml de biomasa, cuya granulación fue menor a 50 μm y a tiempo de 15 minutos de interacción con el metal. (pp. 24-48).

Por su parte Poma y Valderrama (2014), realizaron una investigación denominada “Estudio de los parámetros fisicoquímicos para la fitorremediación de cadmio(II) y mercurio(II) con la especie *Eichhornia Crassipes* (Jacinto de agua)”, en la cual plantearon como objetivo determinar la remoción de cadmio(II) y mercurio(II) mediante *Eichhornia Crassipes*, para lo cual realizaron ensayos que involucra la distinción de nutrientes, pH y concentraciones de iones metálicos a temperatura ambiente, cuyos resultados obtenidos demostraron que la dosis optima fue de 1mL de A y 0,5 mL de B , con pH óptimo de 5, logrando la remoción de 16,56% de Cd(II) y 15,6% de Hg por periodo de 7 días. (p. 19).

También se realizó investigación de “Adsorción de Cobre, Hierro y Mercurio empleando *Chondracanthus chamissoi*”, en la cual Reyes (2014), evaluó la adsorción de cobre, hierro y mercurio en solución con concentraciones de 100, 300 y 500 ppm en *Chondracanthus chamissoi* durante tiempos de agitación de 2, 4 y 6 horas donde los resultados muestran la factibilidad de adsorción de metales presentes en una solución, empleando *Chondracanthus chamissoi*. (pp. 10-36).

También se realizaron investigaciones en las cuales se emplearon restos óseos como absorbentes, entre ellos se distingue la investigación realizada por Quispe (2017), referente a la “Bioadsorción con escamas de pescado para la remoción de plomo en aguas fortificadas del río San Juan-Pasco, 2017”, en la cual planteó como objetivo evaluar la capacidad de remoción de plomo mediante el proceso de bioadsorción con escamas de pescado, para lo cual selecciono el tipo de escamas a utilizar, escamas secas o escamas molidas y la afectación de la remoción en las aguas contaminadas con Pb , basándose en la dosis optima , tamaño de la partícula, tiempo de contacto y concentración del contaminante , obteniendo como resultado que los factor anteriormente nombrados si tienen influencia sobre el proceso de Bioadsorción de Pb , donde el tamaño óptimo es de 250 um , 30 min de contacto y 6 gr de escamas , cabe resaltar que se obtuvo una remoción mayor a un 90 % . (pp. 35-42).

En la investigación referente a la “Evaluación de la remoción de arsénico en medio acuoso a través de la bioadsorción con biomasa de granos de cebada (*Hordeum vulgare L.*) y avena (*Avena sativa L.*) bajo condiciones alto andinas - Puno, 2018” Choquejahuá (2018), tiene como objetivo evaluar la remoción de arsénico mediante la Bioadsorción con biomasa de *Hordeum vulgare l.* y Avena Sativa , desarrollando un proceso experimental basado en la obtención de una solución acuosa con concentraciones de 1 mg/L de arsénico, obteniendo biomasa de 0.1 N a 70°C por un periodo de 24 horas (activadas con HCl) posteriormente se realizó pruebas de jarra con 300 ml de As a 15 ° C con una velocidad de 200 rpm con biomasa de 5 g a 10 g, con un pH óptimo de 5, como resultados determino que las dos biomasa logran una remoción mayor al 50 % .(p. 60-95).

Por otra parte Velásquez (2014), realiza una investigación de “Bioadsorción de cromo hexavalente en aguas contaminadas sintéticamente mediante una biomasa de cáscara de lima (*Citrus aurantifolia*) Arequipa - 2014” en la cual evalúa la bioadsorción de Cr hexavalente en aguas contaminadas a base de biomasa formada por *Citrus aurantifolia* desarrollando un

proceso experimental a base de concentraciones distintas de dicromato de potasio , con una agitación de 5 horas, concluyendo que en 2 mg/l de Cr hexavalente (concentración inicial) la capacidad de bioadsorción máxima a 2 horas es un 93,5% en 0.4 mg/L de Cr hexavalente. (p. 35).

Al igual Fernández et al. (2018), estudian los “Factores de mayor influencia en la adsorción de metales pesados por biomasa seca *Kluyveromyces Marxianus* CCEBI“, en cuya investigación determinan los factores que influyen en la adsorción de metales a través de *Kluyveromyces Marxianus*, para lo cual realizaron experimentos de 0,25 g/L -1 de biomasa , niveles de pH de 4,4 5,0 y 6,2 y tres niveles de concentración de metales, concluyendo que porcentajes de remoción del 74,0% 98,55 y 55% en concentración de 25, 2 y 10 mg/L-1 de cobre(II), zinc(II) y manganeso (II) respectivamente, con una capacidad de adsorción del 51,8 %, 22,7 % y 13,6% a un pH óptimo de 6,2. (p. 29).

También se distingue la investigación denominada “Cinética e isothermas de la biosorción de Hg (II) utilizando materiales residuales tratados con ácido cítrico” Tejada, Herrera y Ruiz. (2016), plantean como objetivo principal determinar la semejanza de isothermas ajustadas a sus resultados de Biosorción de Hg (II), para el desarrollo de ello realizaron el estudio de capacidad de adsorción de Hg (II) mediante el empleo de biomasa restante lignocelulósica de la piel de bagazo de palma y ñame tratados químicamente con ácido cítrico, concluyeron que los adsorbentes modificados químicamente poseen una contribución al proceso de adsorción estimando una capacidad máxima de 385,80 y 356,86 mg/g para las cáscaras de ñame y palma de bagazo respectivamente, determinando que la isoterma que más se ajusta a los resultados obtenidos es la isoterma de Freundlich y el modelo cinético de Elovich. (pp. 48-54).

Like Coplas et al. (2016), carry out research about “Adsorption of Mercury using Activated Carbons Modified by Hydrogen Peroxides and Heating”, in which they determine the adsorption of mercury using modified activated carbons as sorbent, in whose experimental development they proceeded to the laboratory modification of the activated carbon, in which it was submitted to oxidation processes with hydrogen peroxide and subsequent heating at a temperature of 600 ° C, they determined a maximum mercury adsorption capacity of 5.24 mg of Hg⁺² / g of carbon, in whose modification process the surface area increased by 527, 9 m² /g a 663.8 m² /g, and by the maximum adsorption

heating of 3.30 and 3.05 mg Hg / g carbon. Manifesting that the optimum pH of adsorption is between 4 and 6, because in a value of 4 it reaches equilibrium and when it increases it favors the adsorption capacity, reaching a limit of 6. (pp. 36-48).

Al igual Coplas, Taro y Fon (2016), realizan investigación acerca de “ Adsorción de Mercurio utilizando Carbones Activados Modificados por Peróxidos de Hidrogeno y Calentamiento”, en el cual determinan la adsorción de mercurio empleando como sorbente carbones activados modificados, en cuyo desarrollo experimental procedieron a la modificación de laboratorio del carbón activado, en el cual fue sometido a procesos de oxidación con peróxido de hidrogeno y un posterior calentamiento a temperatura de 600 °C, determinaron una máxima capacidad de adsorción de mercurio de 5.24 mg de Hg⁺²/g de carbón , en cuyo proceso de modificación se incrementó el área superficial de 527,9 m²/g a 663,8 m²/g, y por el calentamiento máximos de adsorción de 3,30 y 3,05 mg Hg / g carbón. Manifestando q el pH presenta variación después de haber aplicado su estímulo par el proceso de adsorción con una variación en el rango entre 4 y 6, ello porque en un valor de 4 alcanza el equilibrio y al incrementar favorece la capacidad de adsorción, alcanzando un límite de 6. (pp. 36-48).

Por otra parte en su investigación “Remoción de mercurio a través de la bioadsorción con biomasa de vaina de frijol (*Phaseolus vulgaris*) y tara (*Caesalpinia spinosa*) en soluciones acuosas”, Merma (2018), plantea como objetivo evaluar la remoción de mercurio mediante el proceso de adsorción de la biomasa de vaina de frijol (*Phaseolus vulgaris*) y tara (*Caesalpinia spinosa*), en cuyo desarrollo experimental realizaron 8 tratamientos, cada uno con 3 repeticiones , tomando en consideración factores de cantidad de bioadsorbentes, pH y biomasa. Analizaron a pH y la variación que existe a causa del proceso de adsorción donde determina un rango de 4 y 9 de variación entre el pH inicial y el pH final, su estudio se realizó con una cantidad de 0,8 y 2,5 g de biomasa a 15°C a 220 rpm con tiempo de 1 hora, cuyos resultados fueron en 90% y 79% de remoción de mercurio por cada biomasa respectivamente. (p. 19).

Referente a ello Del Carpio (2017), en su tesis referente al “Estudio de la bioadsorción de Pb(II) y Cd(II) usando como biomasa a *Escherichia coli* aislada de las aguas contaminadas del rio Huatanay de la ciudad del Cusco” buscó determinar la eficacia de cepas extraídas del rio Huatanay para la bioadsorción de Pb(II) y Cd(II), para ello sometió las cepas en estudio

a mecanismo de resistencia, teniendo en consideración parámetros de pH, tiempo de contacto. Logró distinguir que la biomasa denominada RHC para el parámetro Pb presenta un 75% de eficacia con el modelo Freundlich, de lo cual puede manifestar que el catión plomo a un pH de 6,4 y en contacto con la biomasa RHC-06 realiza diversos mecanismos de bioadsorción e intercambio iónico. (pp. 39- 109).

1.3. Teorías relacionadas al tema

1.3.1. Contaminación

La RAE (Real Academia Española) señaló a la contaminación como una alteración dañina de las características iniciales de un medio, especificando que pueden ser agentes químicos o físicos, por lo que se entiende que la contaminación ambiental es la alteración de la calidad natural o inicial de los componentes que conforman el medio ambiente, por ello el MINAM (Ministerio del Ambiente) sostiene que puede ser originado por agentes físicos, químicos y biológicos o por sus interacciones o concentraciones con potencial dañino lo que afecta al medio ambiente y a la salud humana por lo que Londoño Franco, y otros, (2016) manifestaron que, si bien el ser humano requiere pequeñas cantidades de metales como el cobre, zinc, hierro, entre otros para funciones biológicas, el exceso o escases de ellos puede ser alterar la salud. Su peligrosidad radica en su capacidad de acumulación y persistencia en los organismos y el medio ambiente. (p. 3).

Basándonos en la contaminación por causa de metales tenemos que son componentes los cuales se encuentran presentes en la corteza terrestre y esto son en que fundamentales en las funciones biológicas, fisiológicas y químicas de los organismos algunas veces pueden actuar como fuentes toxicas afectando la salud humana y los ecosistemas, esto se verá ligado a la gravedad expuesta, la dosis de absorción, su naturaleza y otros, se puede identificar metales de origen natural propios de la corteza terrestre y de origen por procesos antropogénicos, entre los cuales se distinguen las actividades industriales, mineras, agrícolas y ganaderas.

1.3.2. Metales pesados

Ramos Bello, y otros, (2018) definieron a los metales pesados como aquellos metales con las siguientes características: peso molecular mayor que 5 g/cm^3 o número atómico superior a 20 presentan cambios lentos y varios estados de oxidación (p. 3). Bautista, y otros, (2017) sostiene que los metales pesados en el organismo pueden generar problemas de toxicidad al reaccionar con los átomos de azufre presentes en las proteínas, generando la desactivación enzimática. (p. 5) por lo que Senior, (2016), manifiesta que los metales pesados son de origen natural en el agua de mar a concentraciones casi escasas, sin embargo, los contaminantes generados por alguna actividad generada por el hombre los niveles de estos aumentan, lo que genera daños al ecosistema acuático, a la diversidad de flora acuática, a los organismos que están en contacto directo con las fuentes contaminantes, entre otros. (p.15). Al respecto, Rodríguez Heredia, (2017) sostiene que los metales son altamente tóxicos para el medio ambiente, y cuyas características más resaltantes son su persistencia, bioacumulación, biotransformación y alta toxicidad, permaneciendo así por largas escalas de tiempo debido a que su degradación natural es difícil. Entre ellos se distingue el plomo (Pb), cadmio (Cd), mercurio (Hg), cobre (Cu) y níquel (Ni), los cuales incluso en concentraciones bajas tienen el potencial de ser dañinos para las plantas y los animales. (pp. 9-10).

1.3.2.1. Mercurio

El mercurio (Hg), puede ser de un origen natural y un origen generado por la interacción del hombre, en el medio ambiente y naturalmente se puede identificar (3) tipos: mercurio elemental o metálico, mercurio orgánico y mercurio inorgánico, el primero presenta una coloración blanco-plateado brillante en estado líquido a temperatura ambiente, Castillo Rodríguez, (2005), identifica al mercurio como un elemento altamente volátil, por lo que se entiende su presencia en la atmósfera donde es oxidado fotoquímicamente a Hg^{+2} . El Hg^0 es altamente dañino, ya que tiende a combinarse con partículas de polvo y tiene capacidad de atravesar las membranas pulmonares ingresando al torrente sanguíneo, lo cual genera un riesgo de afectar al cerebro. En el suelo se encuentra como HgS (cinabrio), y al calentarse en presencia de oxígeno es reducido a la forma metálica,

desprendiendo SO₂. (pp. 14-19)

1.3.3. Contaminación de suelos por Metales pesados

Cabe mencionar además la contaminación de suelos a causa de los metales pesados como la investigación Metales traza en sedimentos costeros de Costa Rica, (2004), quien sostuvo que la sociedad genera grandes alteraciones al medio ambiente dándonos como ejemplo la explotación de recursos ya que trae como consecuencia alteraciones de la calidad de los recursos naturales, (p. 5). Al estar en contacto los metales con el suelo debemos considerar que este es uno de los recursos más complejos en cuanto a la determinación de la calidad en la que se encuentra, ello generado por qué no se define el uso específico al cual este es destinado, en comparación con el agua y aire, los cuales tienen límites establecidos que ayudan a determinar su calidad. Los metales están presentes en el suelo directamente por medio de la roca madre o por que fueron introducidos en él. En la Tabla 1, se mencionan los metales traza que constituyen las rocas comunes y minerales del suelo.

Tabla 1 Metales traza constituyentes de las rocas comunes y minerales del suelo

Alteración	Mineral	Ocurre en	Metales constituyentes
Fácil de alterar	Olivina	Rocas ígneas	Mn, Co, Ni, Cu, Zn
	Anorfita	Rocas metamórficas	Mn, Cu, Sr
	Augita	Ultra básicas y rocas básicas volcánicas	Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Pb
	Hornblenda	Por lo general, en rocas ígneas y metamórficas	Mn, Co, Ni, Cu, Zn
	Albita	Rocas ígneas intermedias	Cu
Difícil de alterar	Biotita	Rocas ígneas y metamórficas	Mn, Co, Ni, Cu, Zn
	Ortoclasa	Rocas ígneas acidas	Cu, Sr
	Moscovita	Granitos, esquistos y cristales	Cu, Sr
	Magnetita	Rocas ígneas y metamórficas	Cr, Co, Ni, Zn

Fuente: García, C. *et al*, 2004.

Bautista Zuñiga, (1994), sostuvo que los metales pesados que se encuentran presentes en el suelo interactúan con la materia orgánica, las arcillas, los oxido hidróxidos, sulfatos,

carbonatos, entre otros. En donde se puede identificar adsorción, quelación, sustitución isomórfica, precipitación, oxidación, reducción, y demás. Esto dependiendo de las propiedades propias del suelo (p. 35).

1.3.4. Contaminación de suelos por Mercurio en el distrito de Ascensión, Huancavelica

Esta problemática también se encuentra reflejada en los suelos contaminados por Hg en Asención – Huancavelica los que presentan grandes concentraciones en el suelo traerán un impacto negativo tal como lo manifiesta Robins, (2015) quien manifestó que las familias de Huancavelica podrían llegar a envenenarse debido a la presencia del mercurio en suelos, aire y paredes p. 1). Se basa en el estudio que realizo por 6 años el Consejo de Salud Ambiental (CSA). Donde el presidente la organización señalo que más de 3500 viviendas en las cuales habitan 21000 personas tiene un riesgo potencial de contaminación debido a que existen grandes concentraciones de Hg el cual proviene del rio Ichu desde 1564. (p. 3). Esta problemática se ve resaltada por varios investigadores “Aproximadamente el 80 % de las casas de Huancavelica se fueron construidas a base de barro contaminado con gases de mercurio provenientes de los hornos que se encuentran en la mina Santa Bárbara, los cuales finalmente se ubicaron en el suelo” Este estudio se realizó en 60 viviendas de los distritos de Yanayaco, Ascensión San Cristóbal, Santa Ana, los cuales son de recursos económicos limitados El Proyecto de remediación de mercurio en Huancavelica señala que “Más del 20 % de las casas tiene más de 1 microgramo por metro cubico de vapor de mercurio” por lo que según estas afirmaciones se puede generar un impacto negativo en la salud de los pobladores, como indico la Organización Mundial de la Salud (OMS), se puede inhalar como máximo 0,2 microgramos por metro cúbico de mercurio

Según estudios actuales se sostiene que la realidad de la provincia de Huancavelica sigue siendo la misma, los efectos de la contaminación por mercurio, plomo y arsénico siguen presentes tanto en los suelos y viviendas, lo cual se puede identificar analizando los suelos contaminados en esta provincia con el fin de evitar que la contaminación siga afectado a las personas de Huancavelica la Defensoría del pueblo mostro su interés proponiendo la reconstrucción de las viviendas tratando de evitar los impactos del Hg el cual se encuentra presente en el barro que utilizan los pobladores como material de construcción, adobe y tapia material del que se encuentran hechas. El Organismo de

Fiscalización Ambiental también se hizo presente y realizó un monitoreo de calidad ambiental en el año 2015 donde se determinó que los distritos más afectados de la ciudad de Huancavelica fueron: San Cristóbal, Yananaco y Ascensión los cuales presentaron los índices más altos de mercurio, dicho resultados coinciden con el estudio realizado por el Consejo de Salud Ambiental mencionado anteriormente. El Ministerio del Ambiente (2017) sostuvo que la 4 localidad anteriormente mencionada tiene contaminación por mercurio presente en sus suelos ya que presentan concentraciones mayores a las presentes en los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) suelos de uso residencial e industrial.

1.3.5. Impactos del Mercurio en la Salud y Medio Ambiente

1.3.5.1. Impactos en la Salud

Al presentarse concentraciones altas de Hg en el suelo ,existen efectos nocivos sobre la salud como lo explica Londoño Franco, (2015) quien sostuvo que el desarrollo tecnológico, el consumo y producción de desechos, la presencia de los metales pesados tiene consecuencia medio ambiental y a la salud humana causando enfermedades o afecciones como la anemia, fatiga, daños renales, etc.; pero también manifiesta su idea de que existen algunos metales que no tienen consecuencias o impactos sobre la salud como el hierro o el cadmio , los cuales en las cantidades apropiadas aseguran el buen funcionamiento de nuestro cuerpo. (pp. 12-15). Por lo anteriormente mencionado detallaremos la afección a la salud humana por mercurio, la exposición al mercurio representa un peligro para la salud. Reafirmando lo antes mencionado la OMS (Organización Mundial de la Salud) manifiesta que el mercurio es parte de los productos químicos que plantean especiales problemas a la salud pública. Una fuente de contaminación representativa es la ingesta de alimento marinos como el pescado entre otros, los cuales tienen presencia de metil-mercurio, por ende, generan impactos en la salud de las personas que lo consumen principalmente causa problemas al sistema nervioso inmunitario el aparato digestivo, la piel, pulmones, entre otros.

1.3.5.2. Impactos en el Medio Ambiente

El mercurio también genera impactos significativos al medio ambiente, ya que, según Londoño Franco, (2015), manifiesta que causan alteración en la alcalinidad

del suelo, dependiendo de la concentración, contaminación del agua y los cultivos en cantidades excesivas, los cuales pueden generar alteraciones en plantas, alteración en la micro flora del suelo e incluso la degradación de suelos. (p.8). La afectación a ríos tiene a ser más silenciosa ya que se reconoce únicamente cuando los daños ya son visibles

1.3.6. Mecanismo de acción del Mercurio

El mecanismo de acción del Hg presente en el suelo se basa en que se puede generar reacciones químicas y biológicas, estas condiciones son aptas y favorables para la formación obtención de compuestos inorgánicos de mercurio como $HgCl_2$ y compuestos inorgánicos de Hg , en sedimentos se encuentra $HgCl_2$.Algunos compuestos inorgánicos de mercurio son solubles y móviles y tienden a formar complejos con la materia orgánica y arcillas en los suelos, por lo tanto se limita en gran medida la movilidad del mercurio presente en suelos y estos actúan como grandes reservas de mercurio antropogénico presente en el suelo.

1.3.7. Las Bacterias

Es imprescindible indicar que a las bacterias se les conoce como microorganismos unicelulares de tamaño muy pequeño, con un diámetro entre los 0,5 a 1,0 μm , morfológicamente y se pueden dividir en tres tipos las de forma esférica o también llamados cocos, donde existen las cilíndricas o bastoncitos denominados bacilos, y las de forma espiral o resorte denominados espirilos, aquellas que sin forma se les llama pleomórficas. Troncoso, (2017) manifestó que estas cuentan con capacidades de adaptación (p. 26). Stainer, (2016) manifiesta que de acuerdo al estudio realizado por Christian Gram en 1884 se pudo identificar y diferenciar las bacterias Gram positivas y Gram negativas según su tinción de forma empírica. (p. 80). Se puede identificar la resistencia a la decoloración y tinción de color azul oscuro negro para bacterias Gram Positivas, y la decoloración y tinción de coloración rosada para reconocimiento de bacterias Gram negativa, las cuales poseen un mecanismo ligado a las características fisiológicas de la célula, así como también a su composición química y estructural de las paredes celulares de las eubacterias. Evidencias de memoria fotográfica de microscopios electrónicos de sección fina demuestran que las bacterias Gram positivas

presentan una estructura de apariencia casi uniforme, con un grosor variables desde 10 a 80 nm y las bacterias Gram negativas presentan dos (2) capas de fácil distinción, con mayor finesa que la pared de las bacterias Gram positivas. En la Tabla 2, se muestra la estructura de la superficie de la célula procariota.

Tabla 2 Estructura de la superficie de la célula procariota.

Estructura	Localización	Estructura y dimensión	Composición química
Membrana	Cepa que rodea el protoplasto	Membrana unitaria, 7,5-8 nm de espesor	20-30% de fosfolípido, el resto es principalmente proteína
Pared	Capa inmediatamente externa a la membrana	Bacterias Gram negativas: 1. Capa interna de 2-3- nm de espesor 2. Una capa externa similar a una membrana unitaria de 7-8 nm de espesor	Peptidoglicano (mureína) Fosfolípidos, proteínas, lipopolisacáridos
		Bacterias Gram positivas 3. Capa homogénea de 10-80 nm de espesor	Peptidoglicano (mureína): ácidos teicoicos; polisacáridos.
Capsula o capa mucosa	Capa difusa externa a la pared	Arqueobacterias: Variable Estructura homogénea de baja densidad y espesor muy variable	Variable Diversa: generalmente un polisacárido, raramente un polipéptido
Flagelos	Anclados en el protoplasto, atraviesan la membrana y la pared	Filamentos helicoidales, 12-18 nm de espesor	Proteína
fimbrias	Anclados en el protoplasto, atraviesan la membrana y la pared	Filamentos rectos, 4-35 nm de espesor	Proteína

Fuente: Stanier, R. 2016

Es a partir del año 1886 cuando recién se incluye a las bacterias en el Reino Procariota Romero Cabello, (2016), este se conoce debido a que los organismos unicelulares poseen un núcleo primitivo, es decir que no presentan membrana

celular, nucléolo, y organelos diferenciados que los cuales realizan diferentes actividades en el citoplasma.

Se distingue una forma y agrupación diferenciada, en la Tabla 3, se especifica la información. (p. 15).

Tabla 3 Tipología morfológica de procariotas

Forma	Denominación	Agrupación	Denominación
Esférica	Cocos	(2) Dos (4) Cuatro (8) Unión de dos Tétradas Cadenas	Diplococos Tétradas Sarcinas Estreptococos
Bastón	Bacilos	(2) Dos (3 o más) Tres o mas	Diplobacilos Estreptobacilos

Elaborado por: Elaboración propia

Fuente: Murray, P, *et al*

1.3.7.1. Estructura bacteriana

Las procariotas no presentan una misma estructura bacteriana esto se diferencia de acuerdo a su tipología propia, a pesar de que la membrana citoplasmática, el citoplasma y el núcleo son vitales como los flagelos, la capsula, los pilis y esporas desarrolladas por propias especies a diferencia de la pared celular la cual es una estructura habitual en las bacterias a excepción del micro plasma. La membrana citoplasmática que se encuentra presente en las bacterias viene a ser una estructura delgada formada por dos capas de lipoproteínas con un espesor aproximado de 5 nanómetros. Se encuentra ubicada en la superficie interna de la pared, y tiene como función: barrera osmótica, barrera activa, soporte de actuación detergente y antimicrobiana de polimixinas, y síntesis de sustancia integrantes de la pared celular y capsula. Picazo de la Garza, J, (2016). Manifiesta que la membrana citoplásmica está formada de fosfolípidos y proteínas, con concentraciones estimadas del 40 y 60%. (p.23) El citoplasma es el material proteico que se encuentra dentro de la membrana citoplasmática y que genera el lecho del genoma de la bacteria. Pumarola , y otros, (2018), manifiestan que el citoplasma está formado por agua,

estimando una proporción del 85%, minerales, principios inmediatos y fermentos. También se distinguen estructuras mesozómicas y al mecrosoma bacteriano. (p. 34); y la existencia del núcleo en las bacterias no se comprobó su existencia hasta el año 1930 cuando Feulgen estableció un método de tinción de ADN. Se puede distinguir claramente entre las células procariotas y eucariotas ya que la estructura equivalente al núcleo eucariota que está rodeada por membranas que no presentan las procariotas. El núcleo celular contiene el material genético celular, en forma de moléculas lineales de ADN llamadas cromatina, estas aparecen de forma definida durante la división celular.

1.3.7.2. Gram positivas

Existen bacterias Gram positivas y gram negativa donde entendemos que las bacterias Gram positivas son aquellas que se caracterizan por teñirse de color azul oscuro o violeta su pigmentación está ligada a la estructura de la envoltura celular, no poseen una membrana externa que salvaguarde el citoplasma bacteriano, contienen una capa gruesa de Peptidoglicano y contienen ácidos teicoicos en su superficie. Este tipo de bacteria cuando son consideradas taxón, se les conoce como Posibacteria. Contienen espacio peri plasmático Medina J, (2016) en su investigación “Los otros ojos del cáncer” manifiesta que existe un espacio entre la membrana citoplasmática de estas bacterias y la pared bacteriana, aunque algunos autores consideran inexistente este espacio. (p.43). Adicionalmente estas bacterias también presentan Ácidos teicoicos y lipoteicoicos, que sirven como agentes quelantes y adherentes. La membrana citoplasmática contiene una estructura similar a la membrana citoplasmáticas de eucariotas, una bicapa lípida con otras moléculas intercaladas.

1.3.7.3. Gram negativas

Las bacterias Gram negativas son un tipo de bacterias que presenta otras características específicas como: distinción por su tinción de color rosa, Poseen en su estructura una capa delgada de Peptidoglicano que está vinculada mediante lipoproteínas a una membrana exterior (fosfolípido y lipopolisacárido). Poseen una pared celular con poros denominados Porines, los cuales tienen la función de

transportar sustancias de bajo peso molecular, entre la membrana y la pared celular se distingue un espacio periplásmico con enzimas hidrolíticas, enzimas inactivadoras de antibióticos y proteínas de transporte. Muñoz. F, *et al* manifiestan que las bacterias Gram negativas son las más estudiadas a profundidad, por ello se puede manifestar que la capacidad de resistencia de ellas se debe a la serie de genes (*mer RTPAD*) y en caso de genes amplios a la presencia del gen *merB*, el cual tiene la capacidad de codificar un organomercurial liasa citoplásmica, permitiendo la ruptura del enlace C-Hg y la liberación de Hg^{+2} que esta posee. Nascimento , y otros, (2003) mencionan que debido a la presencia de compuestos tóxicos de mercurio en la corteza terrestre los microorganismos han desarrollado sistemas de resistencia para no verse afectados, distinguiendo así el operón *mer*. (p. 92-101).

Se pueden distinguir dos tipos de determinantes de operón *mer*: el *mer* de espectro estrecho brinda la resistencia a sales de mercurio inorgánicos, y el *mer* de amplio espectro brinda resistencia a los organomercuriales, así como a las sales inorgánicas del mercurio. El operón *mer* es una estructura constituida por diversos genes: el *merR* codifica las proteínas funcionales para la regulación, el *merT*, *merP* y/o *merC*, *merF* realizan la función de transporte, y el *merA* realiza la función de reducción. Ocasionalmente se distingue la presencia del operón *merB*, el cual da a la bacteria la resistencia antes organomercuriales (metilmercurio y fenilmercurio). En la Figura 1, se observa la estructura del operón *mer* en bacterias Gram negativas.

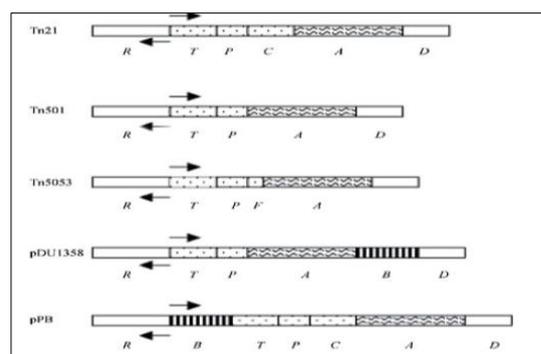


Figura 1 Operón *mer* Gram negativas

Fuente: (Nascimento , y otros, 2003)

1.3.7.3.1. *Escherichia coli*

La *Escherichia coli* es una bacteria Gram negativa, anaerobio facultativo de la familia Enterobacteriácea, tribu Escherichia. Es de habitual presencia en

el intestino del ser humano y en animales de sangre caliente, es considerado un microorganismo de flora normal, sin embargo, hay cepas que tienen el potencial de generar graves afecciones a la salud humana. La clasificación científica de la *E. coli* se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4 Clasificación científica de la E. coli

Reino	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Gamma proteobacteria
Orden	Enterobacteriales
Familia	Enterobacteriácea
Género	<i>Escherichia</i>
Especie	<i>E. coli</i> ((<i>E. Freundi</i>))
Nombre binomial	
<i>Escherichia coli</i>	

Elaborado por: Elaboración propia

a. Características morfológicas y tintoriales

La *E. coli*, presenta las siguientes características:

- Bacilo Gram negativo
- No forma esporas
- Móvil (flagelos periticos)
- Mide 0,5 μ de ancho por 3 μ de largo
- Catalasa positiva
- Oxidasa negativa
- Reducen nitratos a nitritos
- Producen vitaminas B y K

b. Características nutricionales

- No exigente
- Fermenta glucosa y lactosa con producción de gas
- Es anaerobio facultativo

c. Características coloniales

- Las colonias de E. coli en agar E.M.B. (eosina y azul de metileno) tienen 2 a 4 mm de diámetro, un centro grande de color oscuro e incluso negro, y tienen brillo verde metálico cuando se observan con luz refleja.
- En agar Mac Conkey las colonias son rojas con halo turbio.

1.3.8. Relación metal-bacteria

Beltrán Pineda, y otros, (2016) manifiestan que los metales se unen a la superficie celular mediante herramienta electrostáticas, fuerzas de Van de Waals, alianza covalente, interacción redox, arrebató extracelular o la mezcla de ellos, se evidencia que los grupos con carga de negación (carboxil, hidroxil y fosforil) actual en la pared celular de la bacteria absorben los iones metálicos, los cuales son retenidos. Se denomina bioacumulación, involucra un sistema de envío de membrana que ingresa el metal pesado actual en el entorno celular mediante el consumo de energía a través de H⁺-ATPasa, al citoplasma, posterior este es secuestrado por proteínas ricas en conjunto sulfhídrico denominados metalotioneinas (MT), fitoquelatinas (FQ) y algunos péptidos nuevos de unión a metales.(pp. 14-16).Después de lo antes expuesto es importante conocer el mecanismo de Bioadsorción Metal-Bacteria, ya que los microorganismos se encuentran expuestos en el medio ambiente a diversos tipos de metales, por lo cual existen diversos tipos de mecanismos de interacción Metal-Bacteria, algunos pueden ser en beneficio y otros afectan de manera negativa al organismo, dicha interacción depende principalmente de las características de los metales, metabolismo microbiano y de la estructura de la pared celular.

Vullo L, (2015) manifiesta que los microorganismos se clasifican, según su posibilidad para continuar en el ambiente con diferentes concentraciones en metales tóxicos, los organismos tolerantes serán capaces de aguantar la toxicidad según sus propiedades intrínsecas y los organismos resistentes podrán perdurar al “stress “debido al metal expuesto (p.5). Los mecanismos que permiten a los microorganismos enfrentar la aparición de metales pueden ser clasificados en tres categorías: Generales y no necesitan estrés metálico ya que están ligados al aguante del organismo, específicos debidos a que son inducidos por la aparición del metal y generales y activados por estrés metálico.

Los microorganismos pueden presentar varios mecanismos de acción, directa o indirecta, sobre los metales, que provoquen cambios en las características físicas o químicas del metal, afectando su movilidad, provocando la separación/inmovilización o lo contrario solubilización/movilización. De manera más específica las interacciones microorganismo-metal se pueden clasificar como: Bioacumulación, Sistemas de Expulsión, Quelación, Metilación, Oxido/Reducción, Influencias indirectas, Bioadsorción. Es difícil clasificar las interacciones microorganismo-metal, ya que en la mayoría de los casos están relacionadas entre sí.

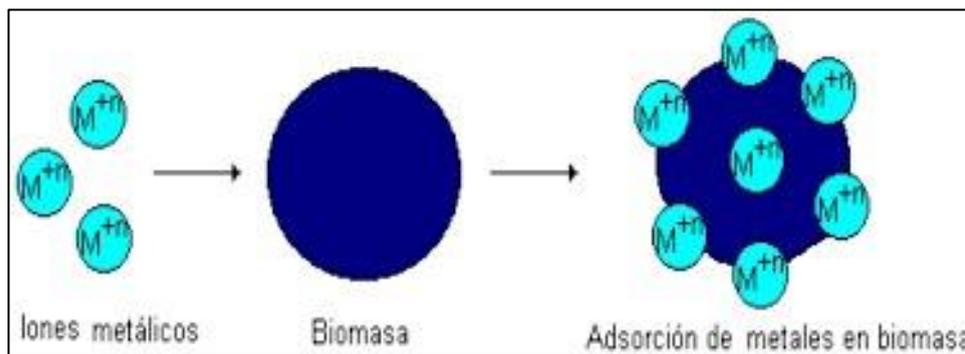


Figura 2 Mecanismo de interacción entre metales pesados y microorganismos
Fuente: (Delfin, 2017)

Los mecanismos de bioadsorción pueden ser varios tal como lo manifiesta Ho, y otros, (2001). Existen diversos mecanismos que ayudan a determinar la manera en la cual el metal es captado por las paredes celulares del material sorbente, estos son complejos de manera estructural y se diferencian por cada metal y material sorbente. (pp. 241-261) Se distinguen diversos mecanismos que pueden ayudar a explicar la captura del metal por parte del sorbente. Volesky, (2007) Estos mecanismos se pueden clasificar de acuerdo a la acumulación: Acumulación extracelular y Acumulación en superficie celular. (pp. 4017-4029).

La acumulación extracelular se basa en la Micro precipitación: Volesky, (2007). La micro precipitación de metales pesados se da cuando la solubilidad del metal alcanza su límite, esto puede ser generado por condiciones locales, es decir, que se puede dar en la superficie o en el interior del biosorbente originado a determinados parámetros (p. 4019). Veglio, y otros indica que este además se puede causar ya que se da la interacción entre la exterioridad celular y el metal formando un complejo, posteriori

una hidrolización y posteriormente el arrebató del metal de forma hidrolizada a la pared celular. (pp. 301-316). La acumulación es superficie extracelular se basa en la Complejación: Treen Sears, y otros, (1984) Se basa en la formación de complejos en la pared celular, ello posterior a la interacción entre el metal y los centros activos. Es decir, el metal se une a través de ligaduras simples o quelación. (p. 1323). Adsorción física: Volesky, (2007) Se dan los fenómenos asociados a las fuerzas de Van de Waals, en el cual las fuerzas de atracción de los metales para adherirse a la superficie del sólido son débiles. (p. 4021). Intercambio iónico: Al -Asheh, y otros, (1998) Se entiende a ellos que la pared celular de la biomasa con potencial de adsorción presenta una estructura polisacárido, a ello los iones metálicos divalentes se intercambian con ciertos iónicos polisacáridos. (pp- 1303-1329). Según lo anteriormente expuesto nos basaremos en la cinética de adsorción como explica Sanchez T , y otros, (2017) La cinética explica la prontitud de adsorción del adsorbato en el sorbente, determinado en el tiempo en el cual alcanza la igualdad. (p. 170).

La capacidad de adsorción se expresa con la siguiente fórmula:

$$q_t = \frac{(C_{inicial} - C_{residual}) V (\text{litros})}{\text{g de biomasa}}$$

q_t : Capacidad de adsorción en un tiempo determinado (mg de metal /g de biomasa)

V: volumen de muestra (L)

C: Concentración de metal (mg/L)

1. Adsorción

Para la presente investigación se adaptaron los datos experimentales a los modelos matemáticos de Freundlich y Langmuir:

a. Langmuir

$$q = KC_e^{1/n}$$

q: Capacidad de adsorción (mg/g)

C: Concentración de equilibrio (mg/L)

K: parámetro de ecuación (L/mg) relacionado con la afinidad del biosorbentes por iones metálico

N: Parámetro de ecuación (L/mg)

b. Freundlich

$$q = \frac{q_{\max} b C_e}{1 + b C_e}$$

q: Capacidad de adsorción (mg/g)

C: Concentración de equilibrio (mg/L)

q_{max}: Capacidad máxima de adsorción (mg/g)

b: Parámetro de ecuación (L/mg)

1.3.9. Recurso Hídrico

Los recursos son aquellos medios que tienen el potencial de satisfacer una necesidad de forma directa o indirecta. La ANA (Autoridad Nacional del Agua) define al recurso hídrico como aquellas aguas que se encuentran contenidas o están discurriendo en cuerpos de agua, entre los cuales se distinguen lagunas, ríos, nevados, ensenadas, manantiales, glaciares, agua subterránea residual, geotermal, atmosférica, medicinal, agua proveniente de la desalinización del agua de mar, y a bienes asociados al agua. El recurso hídrico es un elemento esencial para vida, cuya gestión inadecuada tras su uso conlleva a su contaminación. La ANA (Autoridad Nacional del Agua) define a la contaminación hídrica como la acumulación de sustancias tóxicas y derrame de fluidos en un cuerpo de agua, cuyos parámetros físicos que lo caracterizan al ser excedidos generan o pueden generar afecciones a la salud humana y al medio ambiente.

1.3.10. Contaminación hídrica

La contaminación hídrica puede ser causada por fuentes puntuales y fuentes no puntuales, las fuentes puntuales son aquellas que vierten contaminantes en zonas específicas a través de tuberías y alcantarillado, y las fuentes no puntuales son aquellas

áreas de terreno que vierten contaminantes al agua sobre un área extensa. Entre los principales contaminantes se distinguen: pesticidas y fertilizantes, el petróleo y gas, considerados el tercer mayor contaminante del recurso hídrico, la explotación minera y forestal, los productos químicos, industria y plástico, y los productos para el hogar y alcantarillado.

1.3.10.1. Rio Ichu

La sub cuenca del río Ichu inicia con los ríos de Astobamba y Cachimayo, en cuyo trayecto percibe aguas de la laguna Islacocha. Tiene como afluentes secundarios las quebradas de: Achapata, Puylo y Astobamba. Se encuentra localizado en la región de Huancavelica y posee una extensión estimada de 1381941 km² cuyo pendiente promedio es de 1,85%. En la Figura 2 se muestra la ubicación de las Sub Cuencas del río Mantaro.

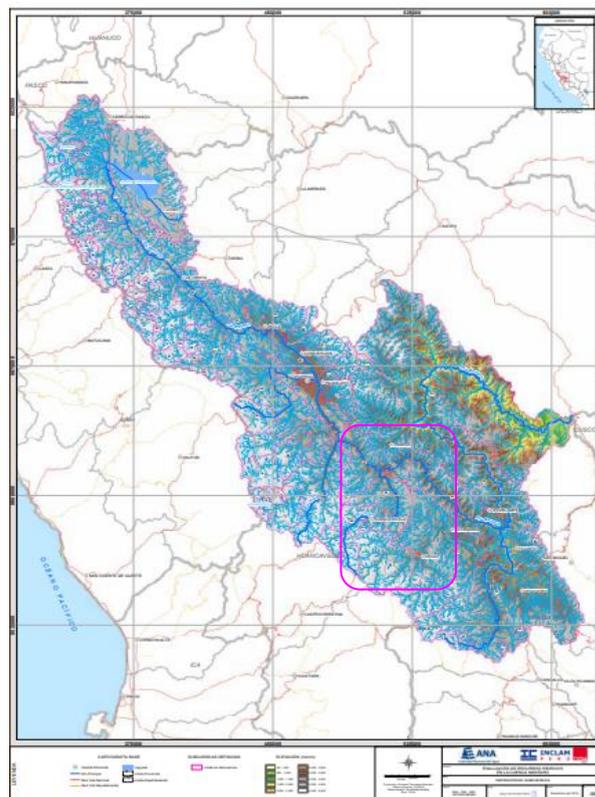


Figura 3 Sub Cuencas río Mantaro
Fuente: Autoridad Nacional del Agua- ANA

En el estudio realizado por la Autoridad Nacional del Agua – ANA, 2014, referente a la identificación de fuentes contaminadas en la cuenca del río Mantaro, emitido mediante Informe Técnico N° 012-2014 ANA-DGCRH/GOCRH, se sustenta que las

fuentes contaminantes de la sub cuenca del rio Ichu son las aguas residuales domésticas, botadero de residuos sólidos, pasivos mineros de labor minera, pasivos mineros de residuos mineros, vertimiento de baños termales, vertimiento de piscícola, vertimiento de central hidroeléctrica y vertimiento de camal. Cuyo sustento permite considerar que las aguas que conforman la sub cuenca del rio Ichu presentan una alta concentración de contaminantes.

1.4. Formulación del problema

1.4.1. Problema general

- ¿La *Escherichia coli* tendrá la capacidad de bioadsorber Hg en suelos contaminados del distrito de Ascensión, Huancavelica?

1.4.2. Problemas específicos

- ¿Cuál será el crecimiento de la *Escherichia coli* en el proceso de Bioadsorción en suelos contaminados por Hg en Ascensión, Huancavelica?
- ¿Cuál es el tiempo en el que la *Escherichia coli* podrá bioadsorber una mayor concentración de Hg en suelos del distrito de Ascensión, Huancavelica?
- ¿El proceso de bioadsorción de *Escherichia coli* en suelos contaminados por Hg en Ascensión, Huancavelica genera variación en el pH?

1.5. Justificación del estudio

Nuestra justificación de nuestro tema de estudio se ve respaldado según lo que manifiesta Robins, (2015) en su investigación denominada “Aproximadamente el 80 % de las casas que se encuentran ubicadas en Huancavelica se encuentran hechas a base de barro potencialmente contaminado con gases de mercurio provenientes de los hornos ubicados en la mina Santa Bárbara, estos finalmente se depositaron en el suelo”. (p. 22). Refiere que actualmente los ciudadanos de Huancavelica emplean el barro presente a orillas del río zonal el cual esta potencialmente contaminado, dándole el uso como material de construcción y de reparación para sus viviendas, por lo que dicho contaminante llega a los suelos y la

contaminación sigue estando presente especialmente en los distritos de Ascensión, Yananaco, San Cristóbal, sin existir ningún proceso de descontaminación. El ministerio del Ambiente (2017) determinó que las (4) localidades de Yananaco, San Cristóbal, Santa Ana y Ascensión presentan concentraciones de metales por encima de lo permitido en los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) suelos de uso residencial e industrial. Al realizarse la investigación se aporta nuevos conocimientos y teorías sobre la contaminación de suelos por Mercurio en Ascensión

Diversas investigaciones respaldan que el uso de organismos vivos como las bacterias representa una alternativa sustentable y de bajo costo para la rehabilitación de ambientes afectados por contaminantes naturales y antropogénicos debido a su fácil acceso y a otros factores. Germida, (2008). Indica que empleo de la *Escherichia coli* para bioadsorción incrementa el acceso económico, esto generado por el rango de distribución que presenta la bacteria. Además, la descontaminación de esta localidad permitirá que los pobladores realicen sus actividades económicas con normalidad. (p. 6). Nuestro aporte teórico, dado que el tema de investigación es un tema de gran interés a nivel nacional y con gran participación de organizaciones internacionales, partiendo de la gran problemática que presenta el distrito de Ascensión en Huancavelica, debido a las actividades mineras realizadas en esta localidad años anteriores, y los propósitos de reducir la contaminación. Al desarrollar la presente investigación se genera un precedente académico que aportará información sobre el tema de estudio, perteneciente a una problemática ambiental y social, buscando con la presente la aplicación de una alternativa de adsorción eficaz logrando reducir la concentración de mercurio en los suelos contaminados de Ascensión y dicha información podrá ser aprovechada como base o referencia de próximos estudios científicos El tema de investigación es de gran importancia debido a que expone públicamente la problemática que trae la minería informal y los impactos que tiene sobre la salud y el medio ambiente , es preciso mencionar que el problema aparente de la contaminación por mercurio se basa en la contaminación del río Ichu de donde se extraía barro y otros materiales como arcilla y adobe para la construcción de viviendas, la presente se desarrolla bajo un nivel cuantitativo, un alcance explicativo y un diseño de investigación experimental de prueba y post prueba, ya que buscamos determinar la concentraciones que reducirá la *Escherichia coli* en los suelos contaminados por mercurio, es decir como afectara la variable independiente sobre la variable dependiente Esta justificación se basa concretamente en el proceso de bioadsorción mediante el uso de *Escherichia coli* que logró reducir los niveles

de contaminación por mercurio en los suelos contaminados del distrito de Ascensión en la provincia y departamento de Huancavelica logrando mejorar las condiciones de vida de sus pobladores. Imprescindible manifestar que la bacteria en estudio es un microorganismo patógeno que puede generar graves afecciones a la salud humana, por ello, su empleo en estado inactivo ayuda a evitar todas aquellas afecciones que se puedan generar tras su manipulación, volviéndola de esta manera un microorganismo apto para estudios con beneficios de índole ambiental.

Los logros aportes y beneficios de la presente investigación se verán reflejados al lograr mejor las condiciones de vida de los pobladores de dicho distrito, aportando además bases teóricas que serán utilizadas como base para futuras investigaciones relacionadas al tema, beneficiando a si a los pobladores de Ascensión, ya que, al finalizar la presente investigación, se aportara posibles medidas de solución para la descontaminación de suelos por mercurio

1.6. Hipótesis

1.6.1. Hipótesis general

- La *Escherichia coli* tiene la capacidad de bioadsorber Hg en suelos contaminados del distrito de Ascensión, de Huancavelica

1.6.2. Hipótesis específicas

- Existe crecimiento de la cepa de *Escherichia coli* en el proceso de Bioadsorción de Hg en los suelos contaminados de Ascensión, Huancavelica
- El tiempo para que la *Escherichia coli* pueda bioadsorber una mayor concentración de Hg en suelos contaminados del distrito de Ascensión, Huancavelica es de 90 minutos
- El proceso de bioadsorción de la *Escherichia coli* en suelos contaminados por Hg en Ascensión, Huancavelica genera variación en el pH.

1.7. Objetivos

1.7.1. Objetivo general

- Determinar la capacidad de Bioadsorción de la *Escherichia coli* en suelos contaminados por Hg en el distrito de Ascensión, Huancavelica

1.7.2. Objetivos específicos

- Determinar el crecimiento de la cepa de *Escherichia coli* en el proceso de Bioadsorción de Hg en los suelos contaminados de Ascensión, Huancavelica,
- Determinar el tiempo en el cual la *Escherichia coli* podrá bioadsorber una mayor concentración de Hg en suelos contaminados del distrito de Ascensión, de Huancavelica
- Determinar si el proceso de Bioadsorción de la *Escherichia coli* en suelos contaminados por Hg en Ascensión, Huancavelica genera variación en el pH.

II. MÉTODO

2.1. Tipo y Diseño de investigación

La presente investigación corresponde a una investigación de tipo Básica, ya que según Hernández Sampieri, y otros, (2016) busca el conocimiento de la realidad o de los fenómenos de la naturaleza, para contribuir con una sociedad actual y busca el aumento del conocimiento para responder a preguntas o para que esos conocimientos puedan ser aplicados en otras investigaciones, es decir tiene como objetivo mejorar el conocimiento per se, más que generar resultados o tecnologías que beneficien a la sociedad en el futuro inmediato. (p.44)

El diseño de esta investigación es experimental de pre y pos prueba, al respecto Díaz Narváez, (2015), manifiesta que en esta se realiza una prueba para ambos grupos, designando grupos de sujetos, tratamiento al cual será sometido y la medición que se realizará sobre uno de ellos. (p. 18). El diseño de investigación de acuerdo a lo mencionado por Hernández Sampieri, y otros, (2016), es un mecanismo que emplea estrategias cuya finalidad es obtener información necesaria para resolver una incógnita. (p. 12).

Para la presente investigación se emplea el nivel cuantitativo, ya que, de acuerdo a lo señalado por Hernández Sampieri, y otros, (2016) en su investigación Metodología de la investigación 6ta ed. Argumenta que este nivel es aplicado y están diseñados para recopilar datos concretos, como cifras. Estos datos son estructurados y estadísticos, es decir brindan el respaldo necesario para llegar a conclusiones generales de la investigación. (p. 122).

La presente investigación corresponde a un alcance explicativo de acuerdo a lo manifestado por Hernández Sampieri (2016) este nivel de investigación se emplea cuando se busca determinar las razones de un hecho mediante la relación funcional causa-efecto, entre una variable dependiente y una variable independiente empleando una prueba de hipótesis donde sus resultados o conclusiones forman parte del nivel más óptimo de conocimiento (p. 134).

Las variables y matriz operacional de la presente investigación se muestran en la Tabla 5

Tabla 5 Matriz Operacional

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDADES
<p>V.INDEPENDIENTE</p> <p>V1: Bioadsorción de la <i>Escherichia coli</i></p>	<p>La bioadsorción de <i>Escherichia coli</i> se basa en la eliminación de metales pesados mediante la unión del contaminante a la biomasa inactiva a base de <i>Escherichia coli</i> (Garcia.2012. p.34)</p>	<p>La bacteria de <i>Escherichia coli</i> es extraída de las aguas del río Ichu, mediante trabajos en laboratorio se obtendrá la biomasa inactiva.</p>	<p>D1 CAPACIDAD DE BIOADSORCIÓN</p> <p>D2 CRECIMIENTO DE BACTERIA</p> <p>D3 TIEMPO OPTIMO</p>	<p>- Porcentaje de Bioadsorción</p> <p>- Tamaño de la bacteria</p> <p>- Tiempo de contacto</p>	<p>- %</p> <p>- Log cel/ mL</p> <p>- Minutos</p>
<p>V. DEPENDIENTE</p> <p>V2: Suelos contaminados por Hg</p>	<p>Un suelo contaminado por Hg es aquel que ha sido afectado cambiando sus condiciones físicas y químicas iniciales, alterando su capacidad de uso. (Romero, 2016.p.10)</p>	<p>Los suelos contaminados con Hg provienen del distrito de Ascensión, provincia y departamento de Huancavelica, se realizará un análisis de caracterización y determinación de Hg para conocer su concentración.</p>	<p>D1 CONCENTRACION DE Hg</p> <p>D2 POTENCIAL HIDROGENO</p>	<p>- Concentración inicial de hg y concentración final de Hg</p> <p>- pH inicial</p> <p>- pH final</p>	<p>- mg/kg</p> <p>- Rango 7-14</p>

2.2. Población y muestra

La población de estudio en la investigación comprende los suelos contaminados por mercurio del distrito de Ascensión de la provincia de Huancavelica, el cual abarca una extensión aproximada de 432 km², debido a que tras la revisión de literatura, noticias actuales, información antecedida y muestreo preliminar evidencian la problemática presente en el área en mención. El estudio se realizó durante la estación de invierno, en él se procedió a realizar la toma de muestras para ser analizadas y poder determinar el nivel de concentración de cada contaminante. Con respecto a esto Hernandez Sampieri , y otros, (2010) nos dice que “Las poblaciones deben situarse claramente en torno a sus características de contenido, de lugar y en el tiempo. (p. 15).

El tipo de muestra que se empleó en la investigación fue la muestra no probabilística, ya que, al ser el objetivo del estudio la reducción de la concentración de mercurio en suelos contaminados se debe realizar un análisis para determinar un área, el cual posea las características necesarias para realizar la investigación. Se tomaron 14 muestras de 1kg cada una en envases de vidrio siguiendo el protocolo guía de muestra de suelos que recomienda el Ministerio del Ambiente, para ello se procedió a efectuar las etapas de pre muestreo, durante el muestreo y post muestreo. En relación a lo anterior Hernandez Sampieri , y otros, (2010) manifiestan que “Para el proceso cuantitativo la muestra es un subgrupo de la población de interés sobre el cual se recolectarán datos, y que tiene que definirse o delimitarse de antemano con precisión, éste deberá ser representativo de dicha población”. (p. 16).

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

Las técnicas e instrumentos de recolección de datos aplicados en la presente investigación corresponden a la técnica de la observación, ya que durante todo el desarrollo de esta investigación se generaron datos luego de un registro visual. En relación a lo anterior Hernández Sampieri, y otros, (2010) argumenta que “Este método de recopilación de datos se basa en el registro sistemático, válido y confiable de comportamientos y situaciones observables mediante un conjunto de categorías”. (p. 16).

Los instrumentos que se emplearon fueron; hojas de campo, la cual se realizó propiamente por los investigadores y debidamente validada. En dicha ficha se registraron los datos obtenidos durante el proceso de toma de muestra y experimentación que fueron medibles en la variable dependiente y la variable independiente, la cadena de custodia, la cual un instrumento que presento medidas o conceptos que se adoptaron para poder preservar la identidad e integridad de muestras que a posterior funcionaron como fuente de prueba de un hecho. La cadena de custodia que se empleó para la presente investigación fue elaborada por los investigadores y debidamente validada, la etiqueta, que es un medio por el cual se permitió distinguir de manera adecuada las muestras, evitando así errores de identificación. La etiqueta empleada para la presenta investigación fue elaborada por los investigadores y debidamente validada.

Para validar la investigación, se recurrió a la apreciación de expertos en temas de Calidad y gestión de recurso naturales y/o calidad de suelos, así como un experto en temas metodológicos. Hernández Sampieri, y otros, (2010), indican que la confiabilidad de un instrumento de medición se refiere al grado en que su aplicación repetida al mismo sujeto u objeto, produce iguales resultados. En nuestro caso en las repeticiones de los tres análisis por muestra. (p. 17).

2.4. Procedimiento

Para el desarrollo de la presente investigación se emplearon los materiales descritos en la Tabla 6.

Tabla 6 Materiales, Equipos y Herramientas

PROCESO	MATERIAL Y EQUIPO		EPP'S	
Recolección y procesamiento de muestras de Agua	03 frascos de vidrio esterilizado 01 cooler 02 gel refrigerante	GPS (móvil) 1 medidor multiparamétrico de pH modelo HI2020-01	Guantes de látex Tyvek Botas de Jebe	Mascarilla Guardapolvo
Recolección de muestras de suelo	14 frascos de vidrio 06 gel refrigerante 01 cooler GPS (móvil)	Cinta métrica Pala Barreta	Casco Chaleco de seguridad Botas de seguridad Guantes de látex	
Obtención de biomasa Inactiva de <i>E. coli</i>	Caldo Lauril Sulfato de Na Caldo Lactosado Verde Bilis Brillantina Agar Eosina Azul de Metileno Agar Macconkey Agar Mueller Hilton	Microscopio Incubadora Campana de extracción Algodón Papel aluminio	Mascarilla Lentes Guardapolvo Guantes de látex	

	Solución salina Caldo nutritivo Matraz Erlenmeyer Hg Autoclave Centrifuga Agitador magnético Crisol Placas Petri	Agujas de siembra Pipeta Pasteur Cubre y portaobjetos Gradilla Mechero Tubos de ensayo Mortero Frasco de vidrio hermético	
--	--	--	--

Las etapas del desarrollo de la investigación para obtención de datos se describen líneas abajo.

➤ **Fase Preliminar:** Monitoreo de la Calidad de los Recursos Hídricos Superficiales

En esta fase se procedió a la toma de muestra de agua superficial para la posterior extracción de la bacteria de *Escherichia coli* del río Ichu, el cual está localizado en el distrito de Ascensión, provincia y departamento de Huancavelica. Las coordenadas fueron obtenidas mediante GPS móvil de coordenadas UTM sistema WGS-84. La ubicación de área de muestreo se muestra en la Figura 4, y cuyas coordenadas se muestran en la Tabla 7.

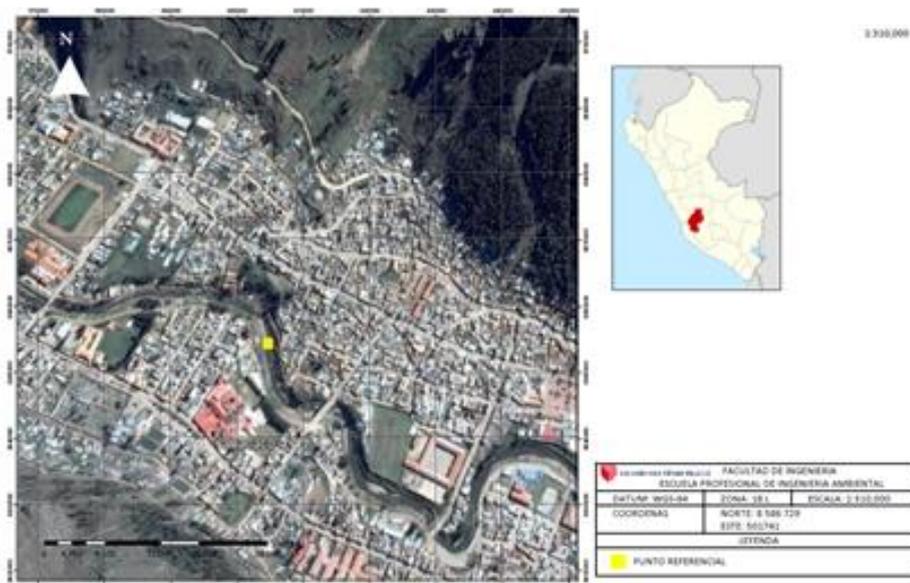


Figura 4 Ubicación de área Muestreo
Fuente: Elaboración propia

Tabla 7 Coordenadas UTM

Lugar de Muestreo	Coordenadas UTM WGS-84	
Rio Ichu	ESTE	NORTE
	501778	8586657

Elaborado por: Elaboración propia

Para la toma de muestra se distinguieron tres etapas, entre las cuales se involucró actividades: antes de la toma de muestra, durante la toma de muestra y posterior a la toma de muestra. En estas se procedió a la preparación del material necesario, identificación del lugar y vías de acceso.

La toma de muestras se realizó de acuerdo a lo establecido en el Protocolo Nacional para el Monitoreo de la Calidad de los Recursos Hídricos Superficiales aprobado mediante Resolución Jefatural N° 010-2016-ANA, en el cual se sumergieron los frascos de vidrio a profundidad de 30 cm en dirección contraria a la corriente, llenando las $\frac{3}{4}$ partes del frasco para permitir la oxigenación microbiológica, sin enjuagar y tapando el frasco bajo el agua.



Figura 5 Toma de muestra de Agua Superficial
Fuente: Panel fotográfico

Posterior a tomar la muestra se procedió al etiquetado, almacenamiento, conservación y transporte. La muestra fue conservada a una temperatura de 4°C (necesaria para la preservación de parámetros microbiológicos) hasta su análisis (tiempo máximo de 24 horas).

➤ **Fase I: Muestreo de Suelos**

En esta fase se procedió a la toma de muestra de suelo para determinar la concentración de mercurio presente en el suelo del distrito de Ascensión, provincia y departamento de Huancavelica. Para la presente investigación se delimitó una (01) hectárea en estudio. Las coordenadas se obtuvieron mediante GPS móvil de coordenadas UTM sistema WGS-84. La ubicación de área de

muestreo se indica en la Figura 06, y las coordenadas se muestra en la Tabla 8.

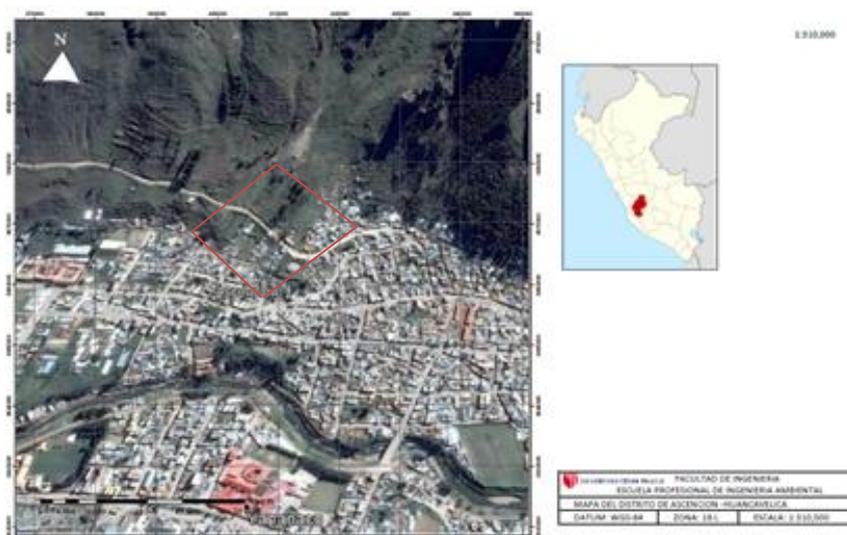


Figura 6 Ubicación de área Muestreo
Fuente: Elaboración propia

Tabla 8 Coordenadas UTM

Lugar de Muestreo	Punto de muestreo	Coordenadas UTM WGS-84	
		ESTE	NORTE
Ascensión Huancavelica	1	501548	8587064
	2	501628	8587024
	3	501508	8587219
	4	501684	8587100
	5	501610	8587138
	6	501585	8587215
	7	501569	8587289
	8	501675	8587246
	9	501740	8587111

Elaborado por: Elaboración propia

Para la toma de muestra de distinguieron tres etapas entre las cuales se involucró actividades: antes de la toma de muestra, durante la toma de muestra y posterior a la toma de muestra. En estas se procedió a la preparación del material necesario, identificación, delimitación del lugar y vías de acceso.

La toma de muestras se realizó de acuerdo a lo establecido mediante Resolución Jefatural N° 010-2016-ANA, y la Guía para Muestreo de Suelos por el

Ministerio del Ambiente, se tomaron 09 puntos de muestras simple a profundidad de 0 – 30 cm (suelo residencial/parques) mediante el sistema de calicatas, posterior se generó una muestra compuesta para obtener la representatividad del área.



Figura 7 Toma de muestra de Calidad de Suelos
Fuente: Panel fotográfico

Posterior a tomar la muestra se procedió al etiquetado, llenado de cadena de custodia, almacenamiento, conservación y transporte. La muestra fue conservada a una temperatura de 4°C (necesaria para la preservación de mercurio). Se distinguieron las propiedades físicas y posterior se entregó las muestras a un laboratorio acreditado por INACAL para su análisis.

- **Fase III.** Aplicación de biomasa inactiva de *Escherichia coli* en las muestras de suelo extraídas del distrito de Ascensión, provincia y departamento de Huancavelica.

Etaa 1. Obtención de biomasa inactiva

La biomasa fue obtenida tras seguir una serie de procesos microbiológicos, entre

los cuales se distingue:

Reconocimiento de presencia de bacterias

Se procedió a la preparación del Caldo Lauril Sulfato de Sodio, se colocó en dos (02) tubos de ensayo previamente rotulados con el número de muestra y se colocaron sobre una gradilla a 75 grados. Se sembraron 10 azadas de cada muestra en los tubos de ensayo y se taparon con algodón y aluminio.

Se encubaron a 34 +/-1 °C por 24 horas.

Confirmación de presencia de bacterias

Se transfirieron 10 azadas del cultivo anterior a un nuevo tubo contenido de Caldo Lactosado Verde Bilis Brillantina.

Se incubo a 35 +/-1 °C por 24 horas.

Identificación de coliformes totales

Se colocaron 3 azadas de los tubos con resultados positivos del proceso anterior y se sembraron en un tubo contenido de Verde brillante, se homogeniza y se incubo a 44.5 +/-1 °C por 24 horas.

Aislamiento de *Escherichia coli*

Se sembró en estrías hasta agotar la muestra sobre agar Eosina Azul de Metileno, se incubo a 35 +/-1 °C por 24 horas. Posterior a la identificación de la *E. coli*. se toman dos azadas de la colonia positiva y se siembra en agar Macconkey. Se incubo a 34 +/-1 °C por 18 horas.

Identificación de sensibilidad de *Escherichia coli*

Se removió una colonia y fue colocada en un tubo con solución salina, se homogenizó y se sembró en agar Mueller Hilton. Previo a la siembra se separó el medio en tres (03) secciones y se hicieron pozos sobre los cuales se colocaron las diluciones de mercurio, se sembró en estrías hasta agotar la muestra. Se incubo a 28 +/-1 °C por 24 horas.

Obtención de biomasa Inactiva de *Escherichia coli*

Se inoculo 0.7 ml de la solución bacteriana y se colocó sobre un matraz con caldo nutritivo (100 ml), se agitó a 80 rpm a temperatura de 30 °C por 30 horas. Se llevó a autoclave a 121 °C por 15 minutos y se recolecto la muestra

en tubos de centrifuga, se centrifugo a 5000 rpm por 10 minutos.

Se transfirió la muestra en un crisol y fuese sometió al proceso de secado en dos tiempos, primero a 80 °C por tiempo de 4 horas y posterior a 105°C por 8 horas.

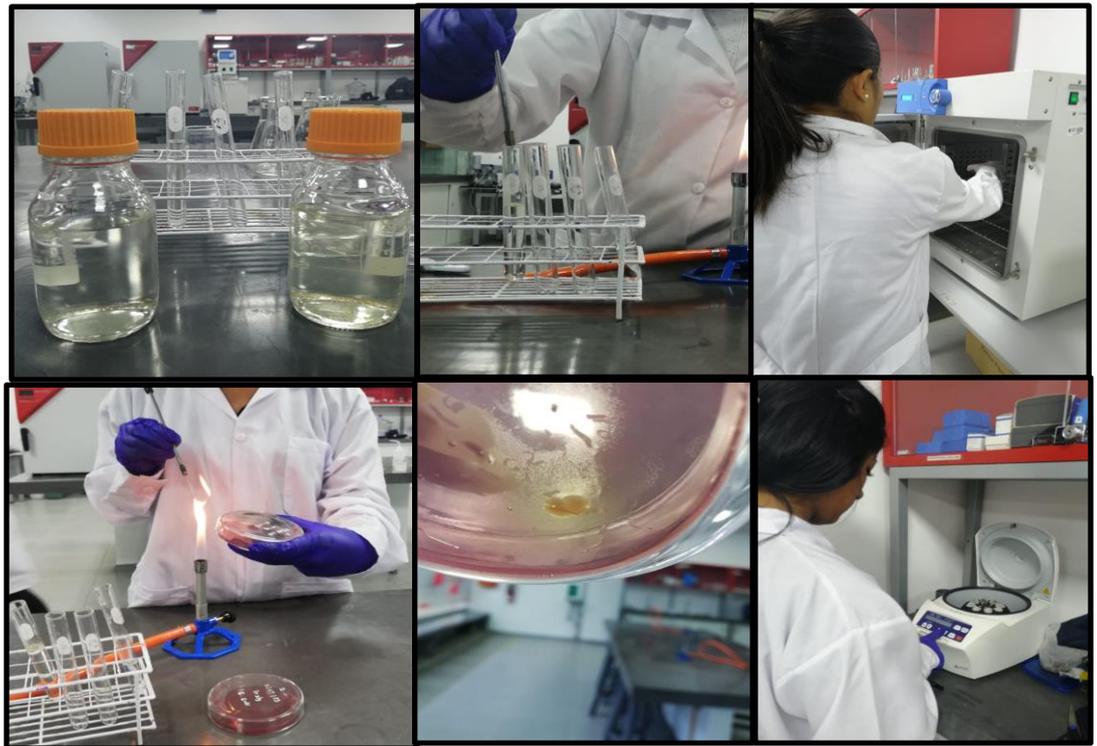


Figura 8 Proceso de obtención de biomasa inactiva de Escherichia coli.
Fuente: Panel fotográfico

Cinética de Crecimiento

Durante el presente proceso el crecimiento será expresado como logaritmo de células/mL en relación al tiempo

Tabla 9 Cinética de crecimiento

Tiempo (h)	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
Log (Cel/mL)	5.85	5.94	6.02	6.05	6.08	6.56	6.85	7.26	7.70	7.800	7.841	7.841	7.841

Elaborado por: Elaboración propia

Una vez obtenida la biomasa inactiva de *Escherichia coli* se conservó en un frasco herméticamente cerrado a conservación de 4°C.

Etapa 2. Aplicación de biomasa inactiva en las muestras de suelo

Para la aplicación de la metodología se tomó en consideración tres (03) grupos de análisis, compuestos cada uno de tres muestras, en los cuales se distinguió una muestra en análisis y sus duplicados

En tres (03) grupos de análisis se trabajó en proporción del tiempo de aplicación de 1g de Biomasa inactiva de la *Escherichia coli* por kg sobre las respectivas muestras de suelo donde cada grupo fue trabajado en el intervalo de 60 minutos, 90 minutos y 120 minutos respectivamente para recopilar datos y obtener el nivel de disminución de los contaminantes en cada intervalo de tiempo

2.5. Métodos de análisis de datos

La determinación de la comparación de los grupos en estudio se empleó el análisis de varianza ANOVA se hizo uso de la prueba de normalidad, supuesto de homogeneidad de varianzas y comparaciones múltiples.

2.6. Aspectos éticos

La presente investigación se elaboró de manera personal haciendo uso únicamente de las capacidades de los investigadores, tomando en cuenta investigaciones anteriormente realizadas, tesis, libros, noticias, protocolos, normativas vigentes, estándares y asesoramiento de especialistas en el tema, así como el uso del software Turnitin y lo establecido en el Código de Ética

III. RESULTADOS

3.1. Resultados del análisis de toma de muestra de Calidad de Agua Superficial

Los resultados del análisis de toma de muestra de Calidad de Agua Superficial, fase preliminar de la cual se obtuvo la bacteria, se basan en la Determinación de propiedades fisicoquímicas-Agua Superficial Rio Ichu, para lo cual se empleó el Medidor multiparamétrico de pH modelo HI2020-01, en la siguiente tabla se muestran los datos obtenidos. Ver Tabla 10.

Tabla 10 Propiedades fisicoquímicas

Lugar de Muestreo	Punto de muestreo	Parámetro fisicoquímico	
Rio Ichu	CA1	pH	8.19
		Temperatura (°C)	20
		C.E (µS/cm)	189.5
		O.D(ppm)	7.63
	CA2	pH	8.02
		Temperatura (°C)	21
		C.E (µS/cm)	389
		O.D(ppm)	7.70

Elaborado por: Elaboración propia

Los resultados obtenidos fueron comparados con normativas internacionales como se detalla en la siguiente tabla:

Tabla 11 Parámetros comparativos

Parámetro FQ	Punto de muestreo		ECA Agua D.S. 004-2017 (C 4/E2)	NCh 1333. Of78 (Agua Dulce)	DECRETO N° 883 (C4/B)	DECRETO N° 475
	CA1	CA2				
pH	8.19	8.02	6.5 a 9.0	6.0 a 9.0	6.5 a 8.5	6.5 a 9.0
Temperatura (°C)	20	21	Δ 3	Δ 3	N. R	10 y 14
C.E (µS/cm)	189.5	389	1 000	N. R	N. R	50 y 1 000
O.D(mg/L)	7.63	7.70	≥ 5	≥ 5	≥ 5	8 y 12

*N. R: No Refiere

Elaborado por: Elaboración propia

Fuente: (NCh 1333. Of 78) , (NOM-127-SSA1-1994), (Rincon Galan, y otros, 2010), (DECRETO N° 883 , 1996)

3.2. Resultados del análisis de toma de muestra de Calidad de Suelo

a. Determinación de propiedades físicas de calidad de Suelo

Para la determinación de las pruebas de campo de suelos se siguió lo establecido por la FAO.

1. Textura del suelo

La determinación de la textura de suelo se basó en el siguiente procedimiento:

Se humedeció una porción de suelo y se oprimió hasta formar una bola

Se lanzó la bola al aire, con una altura de 50 cm aproximadamente.

La porción de suelo mantuvo su forma o cohesión, por lo cual se determinó que el suelo presenta arcilla.

- Prueba del lanzamiento de la bola



Figura 9 Prueba de lanzamiento de bola

Fuente: Panel fotográfico

La determinación de las proporciones aproximadas de arena, limo y arcilla se basó en:

- Se colocó 5 cm de suelo en un recipiente de vidrio y se procedió a llenar agua
- Se procedió agitar y se dejó reposar por un tiempo de 1 hora
- Se observó que las partículas mayores se sedimentaron en la base del recipiente
- En el fondo se presenta una capa de arena 44%, en el centro una capa de limo 27% y en la parte superior una capa de arcilla 28%.

- *Determinación de proporciones de arena, limo y arcilla*



Figura 10 Determinación de proporción de arena, limo y arcilla
Fuente: Panel fotográfico

La determinación de la textura del suelo de fina o gruesa se basó en:

- Se tomó una muestra de suelo en la mano, se humedeció y amaso hasta que se adquirió consistencia.
- Se siguió amasando entre el pulgar y el índice, dándole una forma circular
- Se procedió a lanzar la bola contra una superficie plana y sólida.

Se determinó que el suelo presenta una textura mediana, ya que, la bola se despedaza al chocar contra el blanco cuando esta seca y se mantiene compacta cuando está húmeda, pero sin adherirse a la superficie blanca.

- *Clasificación de textura de suelo de fina a gruesa*



Figura 11 Clasificación de textura de suelo de fina a gruesa Fuente: Panel fotográfico

2. Color del suelo

La determinación de color de suelo se realizó bajo el empleo de la Tabla Munsell.

Basándonos en la ubicación de la tonalidad de nuestra muestra de suelo según valores establecidos en la tabla se determinó el color Marrón rojizo [5YR 4/6]

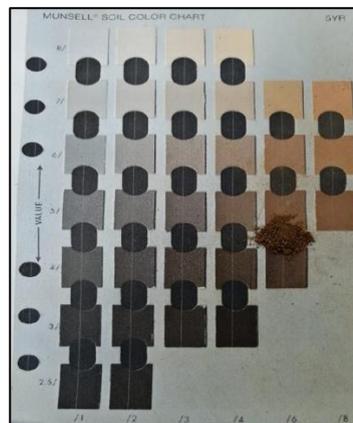


Figura 12 Determinación de color de suelo – Tabla Munsell Fuente: Panel fotográfico

3.3. Isoterma de Adsorción

Para determinar cómo actúa la bacteria en el proceso de adsorción de Hg, se desarrollaron las ecuaciones matemáticas de las isotermas de adsorción de Freundlich y Langmuir, cuyos resultados se detallan en la Tabla 12

Tabla 12 Capacidad de adsorción de Mercurio de la biomasa Inactiva de *E.coli*

Concentración de mercurio en equilibrio C_e (mg/L)	Capacidad de adsorción q (mg/g)
1.176	55.6
1.183	55.95
1.195	56.52
1.199	58.16
1.188	58.24
1.197	58.6
1.154	52.55
1.138	51.91
1.134	52.83

Elaborado por: Elaboración propia

De los resultados obtenidos de la tabla 12 se elaboró el Grafico 1 donde se representa Modelo de Bioadsorción de Mercurio en función de C_e (mg/L) y q (mg/g) en equilibrio con biomasa Inactiva de *E. coli*

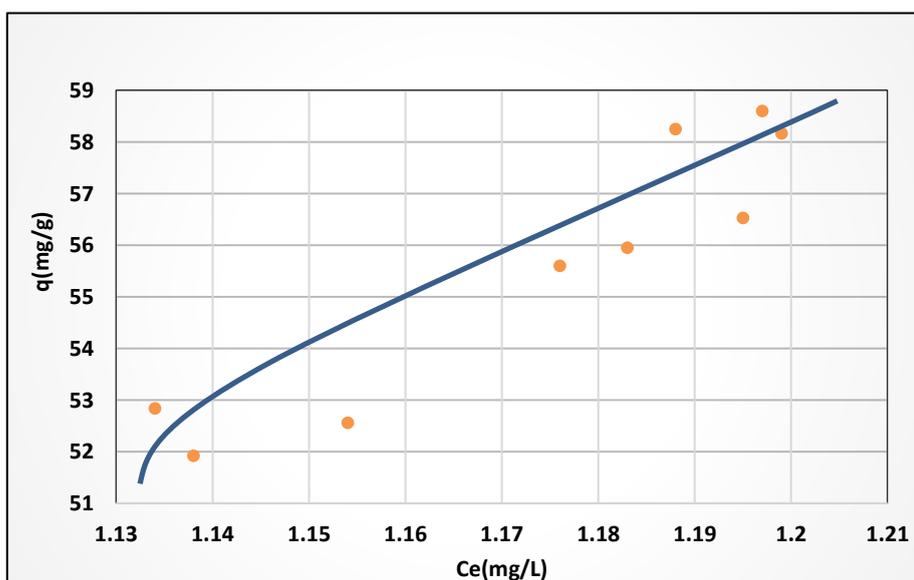


Figura 13 Modelo de bioadsorción de Mercurio en equilibrio con biomasa Inactiva de *E.coli*

La Figura 13 muestra que la adsorción de Hg es directamente proporcional a la concentración por lo que a mayor concentración de Hg existirá mayor capacidad de remoción de la *E. coli*

3.3.1. Isoterma de Freundlich

De acuerdo a los datos obtenidos se dibujó según la isoterma de Freundlich, en la Grafica 2 se muestra.

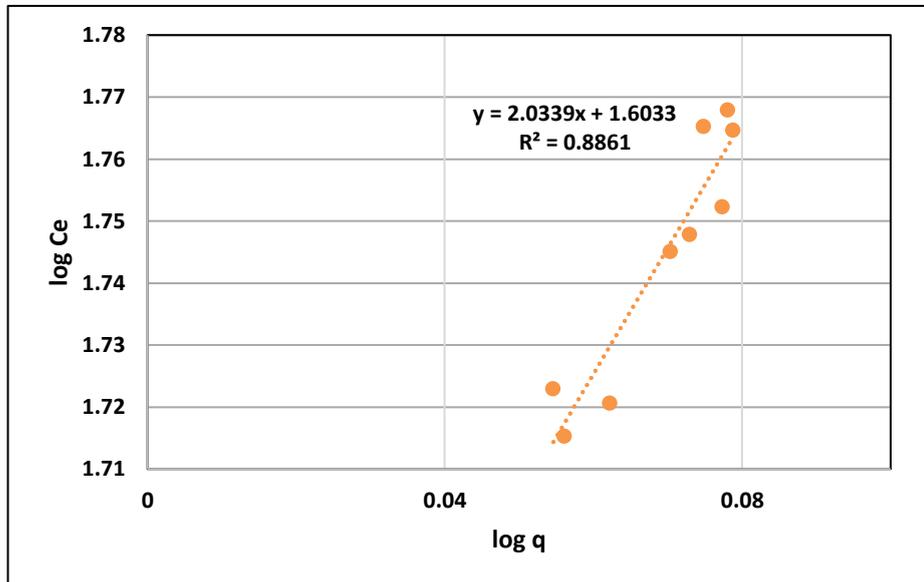


Figura 14 Dibujo de Isoterma de Freundlich para Mercurio con biomasa Inactiva de *E.coli*

La Figura 14, nos muestra una representación en forma de bastón, con mayor representatividad entre Log C_e 17,76 y 1,76.

3.3.2. Isoterma de Langmuir

De acuerdo a los datos obtenidos se modelo según la ecuación de Langmuir en la Grafica 3 se muestra

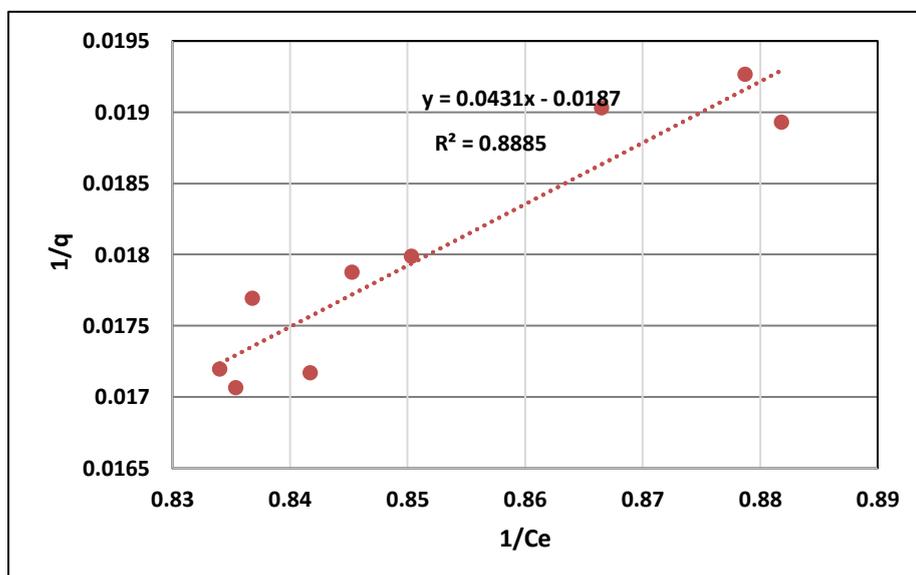


Figura 15 Dibujo de Isoterma de Langmuir para Mercurio con biomasa Inactiva de E.coli

La Figura 15 nos muestra una representación lineal, con mayor representatividad en $1/q$ de 0.017 y 0.018.

Los resultados estadísticos de Bioadsorción de *Escherichia coli* en suelos contaminados por Hg en Ascensión Huancavelica se muestran a continuación:

3.4. Resultados de de Bioadsorción de *Escherichia coli* en suelos contaminados por Hg en Ascensión Huancavelica

a. Aplicación del método ANOVA

- **Supuesto de Normalidad o Prueba de Normalidad**

Tabla 13 *Pruebas de normalidad*

	Tratamiento	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Después	60' con tratamiento	,992	3	,833
	90' con tratamiento	,874	3	,306
	120' con tratamiento	,860	3	,266
a. Después es constante cuando Tratamiento = Sin Tratamiento. Se ha omitido.				
b. Corrección de significación de Lilliefors				

Fuente: ANOVA

La prueba de normalidad SW indica que se cumple el supuesto de normalidad (Estadísticos entre .266 y .833; gl:3; $p > .05$).

- **Supuesto de Independencia de factores**

El supuesto de independencia de los factores que determina que las muestras sometidas a

tratamiento son correctas, únicas y son comprobadas por el informe entregado por el laboratorio.

Los informes de ensayo 192782,192783 y 192784 se encuentran en los Anexos N° 3

- **Supuesto de Normalidad o Prueba de Normalidad**

- *Homogeneidad de variables*

Tabla 14 Procesamiento de casos

Tratamiento	Casos					
	Válido		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Sin Tratamiento	3	100,0%	0	0,0%	3	100,0%
Después 60' con tratamiento	3	100,0%	0	0,0%	3	100,0%
Después 90' con tratamiento	3	100,0%	0	0,0%	3	100,0%
Después 120' con tratamiento	3	100,0%	0	0,0%	3	100,0%

Fuente: ANOVA

Se Cumple la prueba de homogeneidad de variables al poseer la misma muestra para cada tipo de tratamiento.

- **Supuesto de Homogeneidad de varianzas de Levene**

Tabla 15 Prueba de homogeneidad de varianzas

Prueba de homogeneidad de varianzas			
Después			
Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
3,695	3	8	,062

Fuente: ANOVA

Ho: No existió diferencia entre la varianza de la concentración de Hg

La prueba de homogeneidad de varianzas de Levene indica que se cumple el supuesto de homogeneidad de varianzas (>0.05) (Estadístico 3,695; $g1: 3$; $g2: 8$; $p>.05$)

Por lo tanto, se utilizó ANOVA de un factor para determinar si existe diferencia significativa entre los grupos de medias de las concentraciones de Hg según los tratamientos usados.

Tabla 16 Resultados ANOVA

ANOVA					
Después					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	123,118	3	41,039	1344,814	,000
Dentro de grupos	,244	8	,031		
Total	123,362	11			

Fuente: ANOVA

H1: Existió diferencia de medias de las concentraciones de Hg

El ANOVA unifactorial indica que hay diferencia en la puntuación de depresión después, de acuerdo con los tratamientos usados, se rechaza la hipótesis nula, si existe Bioadsorción con el uso de tratamientos de suelos. ($F=1344,814$ y significancia $p<.01$)

Se procedió a realizar la prueba de HSD de Tukey para conocer los grupos que presentan diferencias comparándolos.

Tabla 17 Comparaciones múltiples

Comparaciones múltiples							
Variable dependiente: Después							
	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
HSD	Sin	60' con tratamiento	5,77667*	,14263	,000	5,3199	6,2334
Tukey	Tratamiento	90' con tratamiento	7,83000*	,14263	,000	7,3732	8,2868

		120' con tratamiento	7,81667*	,14263	,000	7,3599	8,2734	
	60' con tratamiento	Sin Tratamiento	-5,77667*	,14263	,000	-6,2334	-5,3199	
		90' con tratamiento	2,05333*	,14263	,000	1,5966	2,5101	
	90' con tratamiento	120' con tratamiento	2,04000*	,14263	,000	1,5832	2,4968	
		Sin Tratamiento	-7,83000*	,14263	,000	-8,2868	-7,3732	
	120' con tratamiento	60' con tratamiento	-2,05333*	,14263	,000	-2,5101	-1,5966	
		120' con tratamiento	-,01333	,14263	1,000	-,4701	,4434	
	Sin Tratamiento	Sin Tratamiento	-7,81667*	,14263	,000	-8,2734	-7,3599	
		60' con tratamiento	-2,04000*	,14263	,000	-2,4968	-1,5832	
		90' con tratamiento	,01333	,14263	1,000	-,4434	,4701	
Games- Howell	60' con tratamiento	60' con tratamiento	5,77667*	,09563	,001	5,1141	6,4392	
		90' con tratamiento	7,83000*	,12662	,001	6,9527	8,7073	
		120' con tratamiento	7,81667*	,12454	,001	6,9538	8,6795	
	90' con tratamiento	Sin Tratamiento	-5,77667*	,09563	,001	-6,4392	-5,1141	
		90' con tratamiento	2,05333*	,15868	,001	1,3827	2,7240	
		120' con tratamiento	2,04000*	,15702	,001	1,3791	2,7009	
	120' con tratamiento	Sin Tratamiento	-7,83000*	,12662	,001	-8,7073	-6,9527	
		60' con tratamiento	-2,05333*	,15868	,001	-2,7240	-1,3827	
		120' con tratamiento	-,01333	,17761	1,000	-,7364	,7098	
		Sin Tratamiento	Sin Tratamiento	-7,81667*	,12454	,001	-8,6795	-6,9538
			60' con tratamiento	-2,04000*	,15702	,001	-2,7009	-1,3791
			90' con tratamiento	,01333	,17761	1,000	-,7098	,7364

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

H1: Existió diferencia significativa entre los valores sin tratamiento y con tratamiento de 60', 90 y 120'

De acuerdo a la prueba de post-hoc de Tukey, se observa que las diferencias significativas se encuentran entre los grupos:

Sin tratamiento y 60' de tratamiento, sin tratamiento y 90' de tratamiento, sin tratamiento y 120' de tratamiento, 90' de tratamiento y 60' de tratamiento, 120' de tratamiento y 60' de tratamiento ($p < .05$). Existe diferencia significativa entre la muestra inicial sin tratamiento y las muestras con estímulo de 60, 90 y 120 minutos respectivamente.

b. Resultado de la Bioadsorción

Hi: La Escherichia coli tiene la capacidad de Bioadsorber Hg en suelos contaminados del distrito de Ascensión, Huancavelica.

Ho: La Escherichia coli tiene la capacidad de Bioadsorber Hg en suelos contaminados del distrito de Ascensión, Huancavelica

- Bioadsorción después de 60 Minutos

En la Tabla 18 se muestra los resultados obtenidos por periodo de tiempo de 60 minutos.

Tabla 18 Resultado de la Bioadsorción después de 60 Minutos

NUMERO DE MUESTRA	MERCURIO EN EL SUELO(Hg/kg)	MERCURIO RESULTADO (Hg/kg)	PORCENTAJE DE BIOABSORCION (%)
INF 192782 (1)	9.4	3.78	59.8%
INF 192783 (2)		3.45	63.3%
INF 192784 (3)		3.64	61.3%
PROMEDIO			61.5%

*Se obtuvo el nivel de mercurio en el suelo del Informe N° 192354,192782,192783 y 192784, el cual se encuentra en el Anexo 3

Fuente: Anova

Se obtuvo las concentraciones de Hg presente en las muestras de suelo en los informes de ensayo 192354, 192782, 192783 y 192784 se encuentran en los Anexos N° 3.

En la Figura 16 se muestra de manera representativa los resultados obtenidos por periodo de tiempo de 60 minutos.

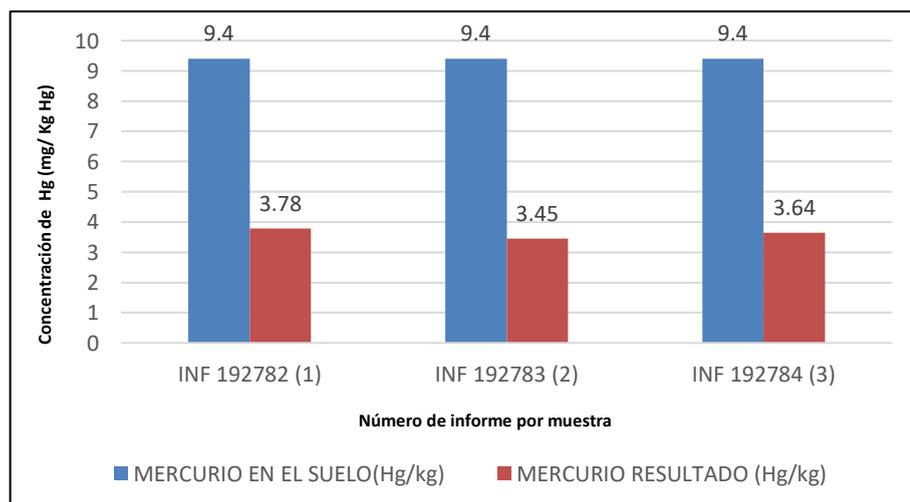


Figura 16 *Resultados de Bioadsorción después de 60 Minutos*

Fuente: Anova

Los datos representados en la Figura 16 hacen referencia a la capacidad de Bioadsorción de la *Escherichia coli* en un tiempo de 60 minutos de la aplicación de la Biomasa inactiva tomando 3 resultados obtenidos de las tres muestras de estudio enviadas al laboratorio para su análisis, los cuales fueron 3.78 mg/kg Hg, 3.45 mg/kg Hg y 3.64 mg/kg Hg realizando una comparación con el valor inicial de Hg presente en los suelos el cual fue 9,4 mg/kg Hg, se determinó una Bioadsorción de 61.5% de mercurio en un tiempo de 60 minutos.

- **Bioadsorción después de 90 Minutos**

En la Tabla 19 se muestra los resultados obtenidos por periodo de tiempo de 90 minutos

Tabla 19 Resultado de la Bioadsorción después de 90 Minutos

NUMERO DE MUESTRA	MERCURIO EN EL SUELO (mg/kg)	MERCURIO RESULTADO (mg/kg)	PORCENTAJE DE BIOABSORCION (%)
INF 192782 (1)	9.4	1.41	85.0%
INF 192783 (2)		1.48	84.3%
INF 192784 (3)		1.82	80.6%
PROMEDIO			83.3%

*Se obtuvo el nivel de mercurio en el suelo del Informe N° 192354, 192782, 192783 y 192784, el cual se encuentra en el Anexo 3

Fuente: Anova

Se obtuvo las concentraciones de Hg presente en las muestras de suelo en los informes de ensayo 192354, 192782, 192783 y 192784 se encuentran en los Anexos N° 3

En la Figura 17 se muestra de manera representativa los resultados obtenidos por periodo de tiempo de 90 minutos.

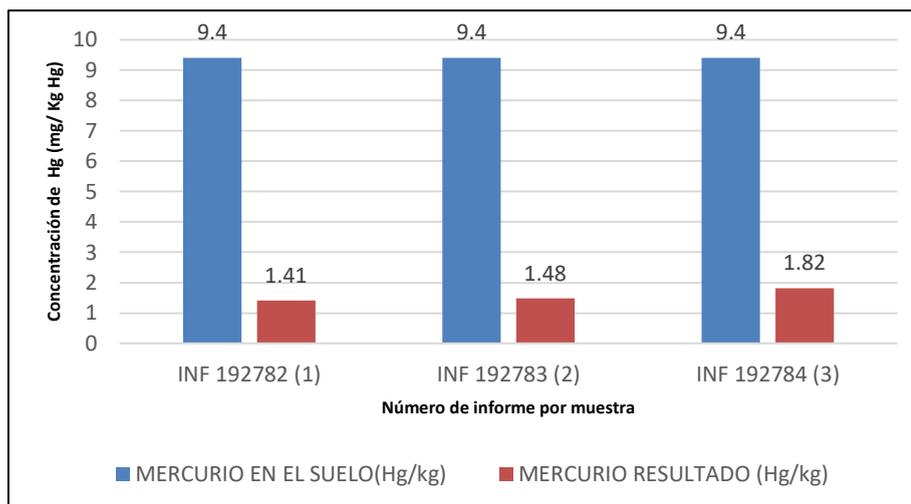


Figura 17. Resultados de Bioadsorción después de 90 Minutos

Fuente: Anova

Los datos en la Figura 17 representan la capacidad de Bioadsorción de la *Escherichia coli* en un tiempo de 90 minutos de la aplicación de la Biomasa inactiva tomando 3 resultados obtenidos de las tres muestras de estudio enviadas al laboratorio para su análisis, los cuales fueron 1.41 mg/kg Hg, 1.48 mg/kg Hg y 1.82 mg/kg Hg realizando una comparación con el valor inicial de Hg presente en los suelos el cual fue 9,4 mg/kg Hg, se determinó una Bioadsorción de 83.3% de mercurio en un tiempo de 90 minutos.

- Bioadsorción después de 120 Minutos

En la Tabla 20 se muestra los resultados obtenidos en el periodo de tiempo de 120 minutos

Tabla 20 Resultado de la Bioadsorción después de 120 Minutos

NUMERO DE MUESTRA	MERCURIO EN EL SUELO (mg/kg)	MERCURIO RESULTADO (mg/kg)	PORCENTAJE DE BIOABSORCION (%)
INF 192782 (1)	9.4	1.43	84.8%
INF 192783 (2)		1.49	84.1%
INF 192784 (3)		1.83	80.5%
PROMEDIO			83.2%

*Se obtuvo el nivel de mercurio en el suelo del Informe N°

192354, 192782, 192783 y 192784, el cual se encuentra en el Anexo 3

Fuente: Anova

Se obtuvo las concentraciones de Hg presente en las muestras de suelo en los informes de ensayo 192354, 192782, 192783 y 192784 se encuentran en los Anexos 3.

En la Figura 18 se muestra de manera representativa los resultados obtenidos por periodo de tiempo de 120 minutos

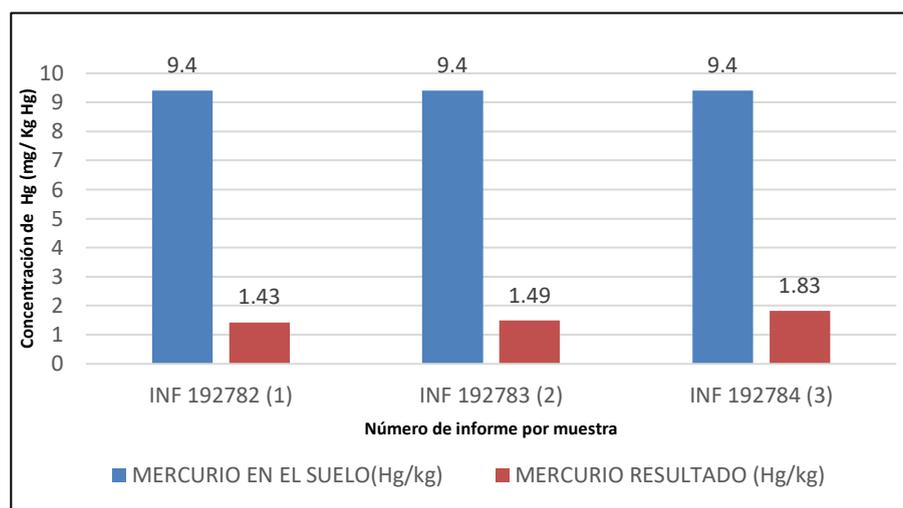


Figura 18 Resultados de Bioadsorción después de 120 Minutos

Fuente: Anova

Los datos de la Figura 18 representan la capacidad de Bioadsorción de la *Escherichia coli* en un tiempo de 120 minutos de la aplicación de la Biomasa inactiva tomando 3 resultados obtenidos de las tres muestras de estudio enviadas al laboratorio para su análisis, los cuales fueron 1.43 mg/kg Hg, 1.49 mg/kg Hg y 1.83 mg/kg Hg realizando una comparación con el valor inicial de Hg presente en los suelos el cual fue 9,4 mg/kg Hg, se determinó una Bioadsorción de 83.2% de mercurio en un tiempo de 120 minutos.

- Resultado de la Capacidad de Bioadsorción

En la Tabla 21 se muestra los resultados de la Bioadsorción capacidad de Bioadsorción de la *Escherichia coli* en base a los tres porcentajes obtenidos

Tabla 21 Resultados de la Bioadsorción Promedio

BIOADSORCIÓN	PORCENTAJE
Bioadsorción 60'	61.5%
Bioadsorción 90'	83.3%
Bioadsorción 120'	83.2%

Fuente: Anova

Se obtuvo las concentraciones de Hg presente en las muestras de suelo, en los informes de ensayo 192354,192782,192783 y 192784 se muestra o indicado. Ver Anexo N° 3

En la Figura 19 se muestran de forma representativa los resultados de la capacidad de Bioadsorción promedio de la *Escherichia coli*.

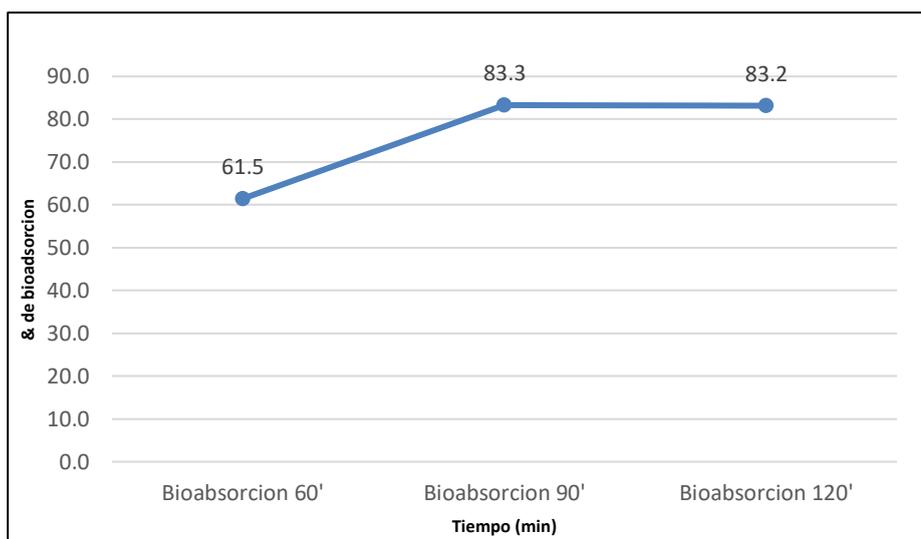


Figura 19 Resultados de Bioadsorción promedio de la *Escherichia coli*
Fuente: Anova

Los datos de la Figura 19 representan la capacidad de Bioadsorción de la *Escherichia coli* tomando en cuenta los resultados en función a los tres grupos de estudio obtenidos en los tiempos de 60, 90 y 120 minutos, cuyos porcentajes de Bioadsorción fueron de 61.5%, 83.3% y 83.2% respectivamente, por lo cual se evidencia que en todos los casos existe una capacidad de Bioadsorción mayor aun 61% y considerando la capacidad de bioadsorción general de nuestra investigación se obtuvo un resultado de 76%.

d. Resultado de la cinética de Crecimiento de la Bacteria *Escherichia coli*

Hi: La *Escherichia coli* presenta crecimiento en el proceso de Bioadsorción de Hg en los suelos contaminados de Ascensión, Huancavelica

Ho: La *Escherichia coli* no presenta crecimiento en el proceso de Bioadsorción de Hg en los suelos contaminados de Ascensión, Huancavelica

En la Tabla 22 se encuentran los datos obtenidos del crecimiento de la bacteria

Tabla 22 Crecimiento de bacteria

Tiempo (h)	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
Log (Cel/mL)	5.85	5.94	6.02	6.05	6.08	6.56	6.85	7.26	7.70	7.800	7.841	7.841	7.841

Fuente: Anova

En la Figura 20 se muestra de manera representativa los resultados obtenidos de la cinética de crecimiento de la Bacteria

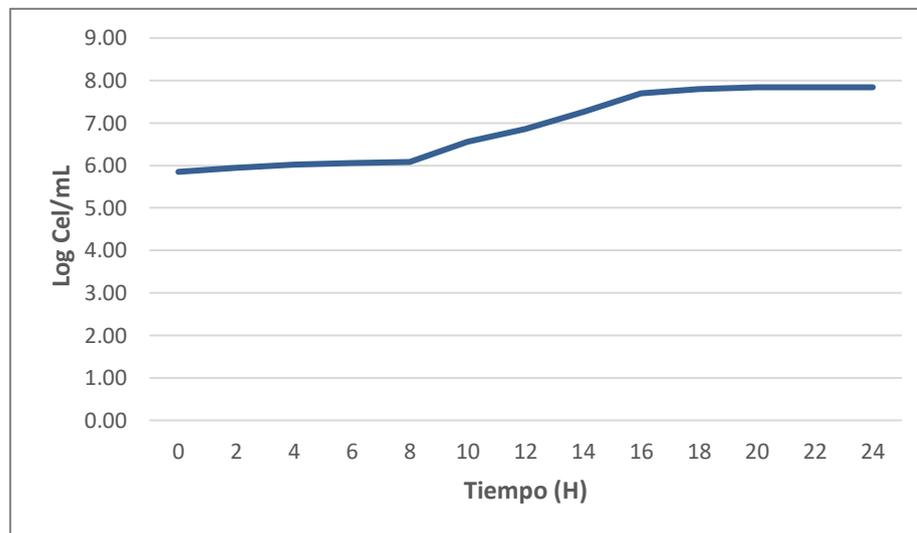


Figura 20 Resultado de la Cinética de Crecimiento

Fuente: Anova

Ho: La Bacteria *E.coli* presenta crecimiento

Los datos en la Figura 20 se muestra de manera representativa los resultados obtenidos del crecimiento de la Bacteria *Escherichia coli* por intervalos de tiempo de dos horas en un total de 24 con un crecimiento máximo de 7,841 log cel./mL

Se comprueba la H_1 , lo que indica que la Bacteria *E.coli* presenta crecimiento en el proceso de Bioadsorción de Hg presente en los suelos de Ascensión Huancavelica.

e. Resultado de Tiempo de tratamiento donde se encuentra el menor nivel de mercurio en el suelo

H_1 : El tiempo para que la *Escherichia coli* pueda bioadsorber una mayor concentración de Hg en suelos contaminados del distrito de Ascensión, Huancavelica es de 90 minutos

H_0 : El tiempo para que la *Escherichia coli* pueda bioadsorber una mayor concentración de Hg en suelos contaminados del distrito de Ascensión, Huancavelica no es de 90 minutos

En la Tabla 23 se muestran los tiempos de tratamiento:

Tabla 23 Tiempos de tratamiento con mg/Kg de Hg

TRATAMIENTO		N	SUBCONJUNTO PARA ALFA = 0.05
			Hg/Kg
HSD Tukeya	90' con tratamiento	3	1.57
	120' con tratamiento	3	1.58
	60' con tratamiento	3	3.62
	Sin Tratamiento	3	9.40

Elaborado por: Anova

En la Figura 21 se muestran de manera representativa los resultados del tiempo con menor concentración de Hg en los suelos

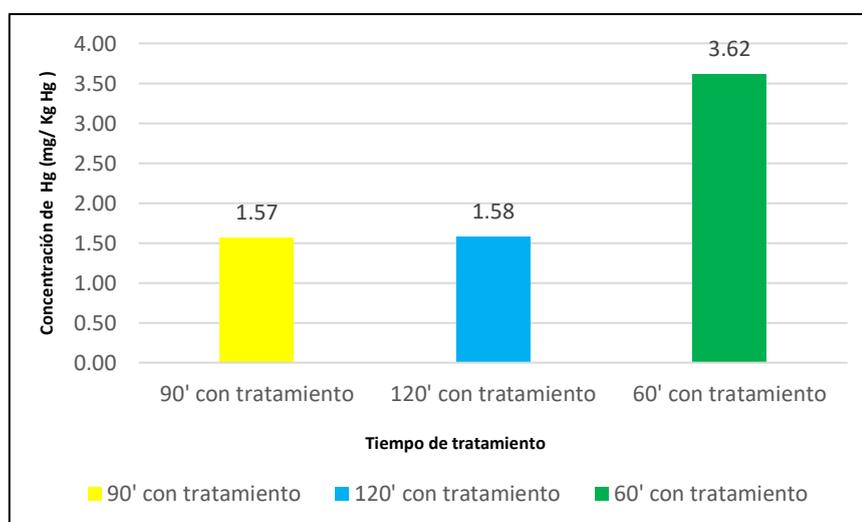


Figura 21 Resultados del tiempo de tratamiento óptimo de Bioadsorción
Fuente: Anova

Los datos representados en la Figura 21 hacen referencia al tiempo óptimo de bioadsorción de la biomasa inactiva de *Escherichia coli*, es decir el tiempo de tratamiento donde se encontró la menor concentración de Hg en los suelos estudiados, para los tiempos de 60, 90 y 120 se obtuvo como resultado 3.62 mg/kg Hg 1.57 mg/kg Hg y 1.58 mg/kg Hg respectivamente, por lo tanto se aprueba la Hi y se determina el tiempo de 90 como tiempo optimo o de mayor Bioadsorción de Hg , ya que posterior a la aplicación de la biomasa fue en este minuto que se encontró la menor concentración de Hg presente en los suelos con 1,57 mg/kg Hg

f. Resultados de la variación del pH en los suelos por proceso de Bioadsorción

Hi: El proceso de Bioadsorción de la *Escherichia coli* en suelos contaminados por Hg Ascensión, Huancavelica genera variación en el pH.

Ho: El proceso de Bioadsorción de la *Escherichia coli* en suelos contaminados por Hg Ascensión, Huancavelica genera variación en el pH.

En la Tabla 24 se muestran los resultados obtenidos del PH presente en los suelos

Tabla 24 Variación pH presente en los suelos

NUMERO DE INFORME	NUMERO DE MUESTRA	pH INICIAL	pH FINAL
192782	Muestra 1		5.34
192783	Muestra 2		5.36
192784	Muestra 3	7.49	5.35
PROMEDIO			5.35

Fuente: Anova

Se obtuvo los datos de los pH presente en las muestras de suelo con biomasa inactiva de E.coli en los informes N° 102782,192783,192784 los cuales se encuentran en los Anexos N° 3

En la Figura 22 se muestra de manera representativa los resultados de la variacion de pH presente en los suelos

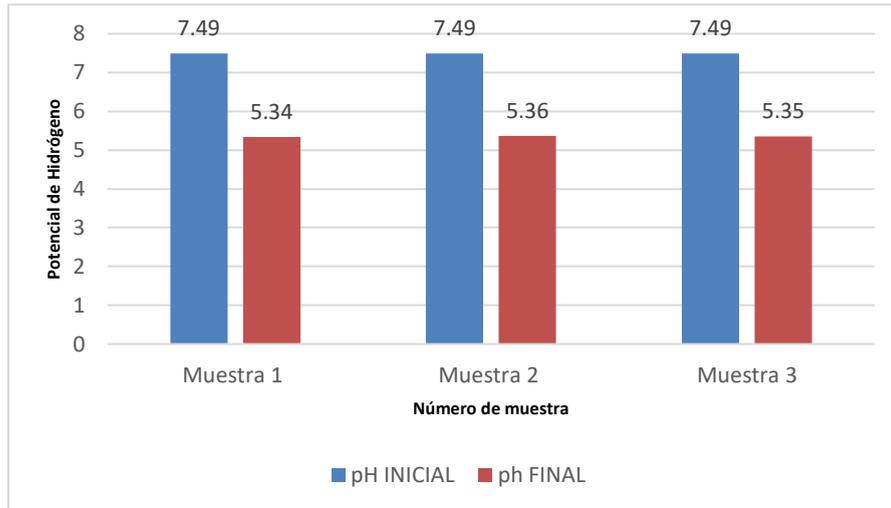


Figura 22 Resultados de la variación de pH presente en los suelos
 Fuente: Elaboración Propia

Los datos de la Figura 22 representan la variación del pH inicial con 7.49 y el pH final obtenido de las tres muestras analizadas en laboratorio con valores de 5.34, 5.36 y 5.35, obteniendo un promedio de 5.35 de pH, existiendo una variación de 2,14, lo cual quiere decir que se acepta la Hi, el proceso de Bioadsorción de la *Escherichia coli* en suelos contaminados por Hg Ascensión, Huancavelica genera variación en el pH por lo tanto se niega la Ho.

IV. DISCUSIÓN

La finalidad de la presente investigación fue determinar la capacidad de Bioadsorción de la *Escherichia coli* para adsorber Hg en suelos contaminados de Ascensión - Huancavelica. Para corroborar la efectividad de nuestra biomasa se realizó la metodología descrita en el Capítulo II, y cuyos resultados obtenidos nos permitieron generar la discusión y contrastación con las investigaciones antecedentes.

De los resultados obtenidos se consiguió que la capacidad de Bioadsorción de la *Escherichia coli* de acuerdo el resultado obtenido de los tres grupos de estudio es de 61.5 %, 83.3% y 83.2%, en los tiempos de 60,90 y 120 minutos respectivamente, basándonos en ello se determina que la capacidad de Bioadsorción de la *Escherichia coli* en los suelos contaminados por Hg es de 76%, a diferencia de otras investigaciones como la de Cordova Molina, (2016) en cuya investigación se determina una capacidad de 60 % para la adsorción de Hg mediante la *Typha latifolia* inerte y un porcentaje de 90% para la remoción de Pb+2 (pp. 53-103). De acuerdo a los resultados obtenidos de las isothermas, la isoterma de Langmuir es la que más se asemeja a los resultados, la cual predice que el comportamiento del aumento del consumo del metal por biomasa alcanza un equilibrio, Sánchez, y otros, (2016).

Una de las pruebas realizadas fue determinar el crecimiento de la bacteria de *Escherichia coli*, en cuyo proceso experimental se evidenció que en el rango inicial de 8 a 10 horas de estudio no existe un crecimiento significativo de la bacteria, ya que su incremento es casi nulo a través de cada intervalo planteado (2 horas) ,por lo cual denominamos a esta primera etapa como etapa de adaptación , al respecto Álvarez y otros, (2019) indican que la cepa BMA-04 *Proteus sp* presente en caldo nutritivo no tienen un crecimiento revelador hasta pasadas las 8 horas iniciales. A partir de las 10 horas la bacteria si bien presenta crecimiento atraviesa una etapa de des aceleramiento hasta la hora 14, al obtener estos datos podemos asumir que a partir de las 16 horas la bacteria atraviesa una tercera etapa donde no existe un incremento significativo en su tamaño, a ello Álvarez y otros, (2019) manifiestan que la cepa BMA-04 al igual que nuestra investigación atraviesa esta etapa, a la cual denominaron estacionaria, resaltando su gran importancia debido a la muerte de las células consideradas no aptas y la permanencia de aquellas células resistentes que desarrollaron la habilidad de adaptación. Posteriormente pudimos observar que no es a partir de la hora 20 que

la *Escherichia coli* alcanza a establecerse totalmente en su periodo de crecimiento con un tamaño de 7.841 log cel/mL. Es este periodo el que determinamos para ser utilizado en nuestros posteriores análisis para la obtención de nuestra biomasa. Referente a la relación, Tejada Tovar, y otros, (2015) manifiestan que la cantidad del adsorbato absorbible es directamente proporcional al volumen, el cual es directamente proporcional al área externa y, por consiguiente, una partícula pequeña posee una mayor área superficial, es decir una mayor área de superficie interna debido a la cantidad de poros por unidad de masa.

De igual manera se determinó el tiempo optimo en el cual la biomasa de *E.coli* podía adsorber mayor concentración de contaminante, de los resultados obtenidos, en los tiempos de 60, 90 y 120 minutos, obteniendo como resultados de las concentraciones de Hg presentes en los suelos 3,62 mg/kg ,1,57 mg/kg y 1.58 mg/kg respectivamente. De acuerdo a ello se evidencio que el tiempo óptimo de Bioadsorción es en el minuto 90, logrando que la concentración de Hg presente en el suelo disminuya aun valor de 1,57 mg/kg Hg la concentración más baja entre los grupos de estudio cuya concentración inicial fue de 9,4 mg/kg Hg. El tiempo optimo se asemeja al obtenido por Del Carpio Jiménez, (2017), quien manifiesta que el tiempo óptimo de contacto para la Bioadsorción de Cadmio es de 60 minutos y para otro metal como el plomo el tiempo óptimo de Bioadsorción es de 90 minutos. A pesar de que las concentraciones obtenidas del minuto 90 y minuto 120 , son muy cercanas se determina el minuto 90 como tiempo optimo ya que entre el minuto 90 y el minuto 120 la bacteria de *Escherichia coli* alcanza el equilibrio por lo que no adsorbe mayores concentraciones , tal y como lo explica Del Carpio Jiménez, (2017) el equilibrio alcanzado se da debido a que las moléculas son adsorbidas sobre la superficie del adsorbente formando una mono capa completa (saturada) y en un determinado momento la adsorción cesa y la superficie es homogénea.

Se determinó que el proceso de Bioadsorción de la *Escherichia coli* en suelos contaminados por Hg Ascensión, Huancavelica genera variación en el pH, ya que genera una variación de 2.14 según los resultados obtenidos en la Tabla 18 el pH varia de 7,49 a 5,35 por lo cual el suelo se acidifica lo cual se asemeja al pH obtenido por Coplas, y otros, (2016) manifiestan que el pH inicial presente en sus suelos varia mediante el proceso de Bioadsorción de mercurio en un rango varia de 4 a 6, rango con el que desacuerda Merma Avilés, (2018) quien manifiesto que el rango de variación del pH en su investigación fue de 4 y 9. La variación de pH está relacionada a las bacterias debido a la transformación de ciertas formas

de nitrógeno presente en el cuerpo, generando así su acidificación.

V. CONCLUSIONES

1. La *Escherichia coli* tiene la capacidad de bioadsorber Hg en los suelos contaminados de Ascensión mediante el proceso experimental realizado en los tres grupos de estudio aplicando 1 gr de Biomasa por Kg de suelo se demuestra que su capacidad de bioadsorción excede de un 60% obteniendo una capacidad de bioadsorción de 76 %, la cual se debe a la adsorción física que realiza la *Escherichia coli* a través de las fuerzas de Vander Walls
2. El crecimiento máximo de la bacteria corresponde a 7,84 log cel/mL en el tiempo de 24 Horas, notándose un comportamiento de crecimiento constante por parte de la cepa, lo cual se atribuye al caldo nutritivo al que fue expuesto, donde solo sobrevivieron las células con capacidad de resistencia al Hg.
3. El tiempo óptimo en el cual la *Escherichia coli* bioadsorbe mayor concentración de Hg es en el minuto 90, ya que en este tiempo los suelos presentan una concentración de 1,57 mg/kg, lo que refleja un porcentaje de adsorción de 83.3 %, es decir presenta el porcentaje más alto de bioadsorción y la menor concentración de Hg presente en los suelos según los tres tiempos estudiados
4. El proceso de bioadsorción de la *Escherichia coli* produce acidez en los suelos contaminados por Hg, el valor del pH de la muestra sin tratamiento es de 7.49 y el pH en los suelos que presentaron biomasa inactiva de E. coli es de 5.35, presentándose una variación en 2,14 lo cual se encuentra ligado a la transformación de nitrógenos, reflejando la variación en los valores de pH, resultando la acidificación de los suelos para lo cual se propone

VI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar un estudio de diferentes microorganismos determinando la Eficiencia de la Bioadsorción de Hg en suelos contaminados
2. Se recomienda implementar el proceso de Bioadsorción con *Escherichia coli* en suelos contaminados con otros metales y de esta manera determinar el mayor porcentaje de Bioadsorción de la *Escherichia coli* en los diferentes grupos de suelos contaminados.
3. Se recomienda realizar investigaciones con diferente concentración de biomasa para lograr determinar si existe relación directamente proporcional entre la concentración de la biomasa y la capacidad de bioadsorción de contaminante.
4. Se recomienda el uso de microorganismos patógenos como la *Escherichia coli* como bioadsorbente de metales pesados en suelos contaminados, debido a su gran facilidad de encontrarse frecuentemente en varios lugares del medio ambiente, por lo que su uso es accesible.
5. Se recomienda el uso de enmiendas calcáreas, que neutralicen la acidez de los suelos contaminados por Hg, causados por el proceso de bioadsorción de la *Escherichia coli*.

VII. REFERENCIAS

ALVARADO CORTEZ, Henry. Efecto del tiempo de residencia y tamaño de partícula en la Reducción de Plomo mediante Bioadsorción con *citrus cinensis* en efluente minero Del C.P. Tambillo – Cajamarca, 2017. Universidad Privada del Norte [en línea] 2018, pp. 82 [Fecha de consulta: 10 de enero del 2019]. Disponible en: [http://repositorio.upn.edu.pe/bitstream/handle/11537/13239/Alvarado Cortez Henry.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.upn.edu.pe/bitstream/handle/11537/13239/Alvarado_Cortez_Henry.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

EROSTEGUI REVILLA CARLOS, P. Contaminación por metales pesados. [en línea] Chile, (Vol 12,1) 2009, [Fecha de consulta: 05 octubre 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/pdf/rccm/v12n1/v12n1_a13.pdf

DIMAS RIVAS LEANDRO ,Estudio de la interacción de metales pesados (Pb, Cd, Zn y Cr) en solución, en el proceso de biosorción por tres tipos de biomasa [en línea].Peru 2013 [Fecha de consulta: 22 de octubre]. Disponible en : http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/4126/Guti%C3%A9rrez_ms.pdf?sequence

AMABILIS SOSA, Leonel , et al. Remoción de mercurio por *Phragmites australis* Empleada como barrera biológica en humedales artificiales inoculados con cepas tolerantes a metales pesados [en línea], 2017 [Fecha de consulta: 28 febrero 2019]. Disponible en:<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37045275004>

BARRIENTOS ALVAREZ ,Harold. Tesis Bioadsorción De Plomo (Ii) Utilizando *Baccharis Latifolia* (Chilca).Universidad Alas Peruanas [en línea], 2015 [Fecha de consulta: 12 de octubre 2018]. Disponible en: <http://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/1132210>

BAUTISTA ZUÑIGA, Francisco. Indices de sorción de metales pesados en suelos urbanos: El caso de Morelia, Michoacán. Universidad Tecnológica de Monterrey [en línea], 2017 [Fecha de consulta: 16 de septiembre 2018]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=yE2Jq3z7ex4C&oi=fnd&pg=PA>

17&dq=Bautista,+F+METALES+PESADOS&ots=md19mxverP&sig=_BOvVhsT28JeVXYeAMat4RmMod4#v=onepage&q=Bautista%2C%20F%20METALES%20PESADOS&f=true

HERNÁNDEZ SAMPIERI, ROBERTO, FERNÁNDEZ CALLADO, C. Y BAUTISTA LUCIO, P. Metodología de la investigación. [en línea] México (5) 2010, [Fecha de consulta: 24 de septiembre 2018]. Disponible en: https://www.esup.edu.pe/descargas/dep_investigacion/Metodologia%20de%20la%20investigaci%C3%B3n%205ta%20Edici%C3%B3n.pdf

BAUTISTA HERNÁNDEZ, Dorian. Bioadsorción de metales pesados mediante el uso De biomasa bacteriana aislada de Jales Mineros. Universidad Tecnológica de Monterrey [en línea] 2018, pp 14-27 [Fecha de consulta: 16 de septiembre 2018]. Disponible en: https://repositorio.tec.mx/bitstream/handle/11285/569087/DocsTec_6999.pdf?sequence=1&isAllowed=y

BELTRÁN-PINEDA, Mayra. Biorremediación de metales pesados cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg), mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: una revisión. Revista Facultad de Ciencias Básicas, vol. 12, no. 2, pp. 172-197. ISSN 1900-4699. DOI 10.18359/rfcb.2027.

GUTIERREZ MORENO SUSANA MONICA. Estudio de la Bioadsorción de Cadmio y Plomo con Biomasa de *Serratia marcescens* M8A-2T, a Nivel de Laboratorio. . Tesis (Doctor en ciencias Biológicas. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2015, pp 67-75.

CABRERA CHOCCATA, Daysy. Evaluación de la capacidad de biosorción de plomo (II) empleando biomasa vegetal inerte (tallos de rosas) como adsorbente (II). Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa [en línea], 2018, pp 65,78 [Fecha de consulta: 12 de febrero del 2019]. Disponible en: <http://bibliotecas.unsa.edu.pe/handle/UNSA/8217>

CAÑIZARES-VILLANUEVA, Rosa. Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. Editorial: Revista Latinoamericana de Microbiología, vol. 42,

no. 3, pp. 131-143. ISSN 01874640.

CASTILLO RODRIGUEZ FRANCISCO, et al. Biotecnología ambiental. Tébar [en línea], 2005 [Fecha de consulta: 30 de septiembre 2018] Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=19ffPAm3E3kC&pg=PA224&lpg=PA224&dq=operon+mer+gram+negativas&source=bl&ots=BRlkqq1UNL&sig=T-ZWqtMwswqAwA_Puz7bWDQOKmQ&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwj1wdO_5fXdAhUSjlkKHVPkDC0Q6AEwBnoECACQAQ#v=onepage&q&f=true

CHOQUEJAHUA QUENTA, Yesica. Evaluación de la remoción de arsénico en medio acuoso a través de la bioadsorción con biomasas de granos de cebada (*Hordeum vulgare L.*) y avena (*Avena sativa L.*) bajo condiciones altoandinas - Puno. UNIVERSIDAD PERUANA UNION [en línea], 2018,pp 20-29 [Fecha de consulta: 14 de marzo del 2019]. Disponible en: https://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/UPEU/1689/Yesica_Tesis_Licenciatura_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y

JIMENEZ LLACSAHUANGA MIGUEL. Biorremediación con Inóculos de *Pleurotus ostreatus* para recuperar suelos contaminados con metales pesados en La Florida Cajamarca, 2016. Tesis (Título de Ingeniero Ambiental), Lima Perú. Universidad Cesar Vallejo, 2016. 42 p.

COLPAS Fredy, TARÓN Arnulfo y FON Wilder. 2016. Adsorción de mercurio utilizando carbones activados modificados con peróxido de hidrogeno y calentamiento. Editorial: Informacion Tecnologica, vol. 27, 2016, pp. 69-76. ISSN 07180764. DOI 10.4067/S0718-07642016000500009.

MARTIN LARA MARIA DE LOS ANGELES. Caracterización y aplicación de biomasa residual a la eliminación de metales pesados. Tesis (Doctor de química). Granada, Universidad de Granada, 2008. pp 50-53.

CORDOVA-MOLINA,Cynthia y VEGA GONZÁLEZ, Marina. Removal of Pb²⁺ and

Cd²⁺ from an aqueous solution using the aquatic inert macrophyte *Typha latifolia*.
Revista Internacional de Contaminacion Ambiental, vol. 35,2018 pp. 19-26. ISSN
01884999. DOI 10.20937/RICA.2019.35.esp03.03.

MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA MEDICA, por Pumarola A. [et al] Barcelona [en
línea] agosto 2002, 2da edición [Fecha de consulta: 29 de septiembre 2018].
Disponible en: [http://www.academia.edu/11363373/Pumarola_A.-
LgjH2m5c8emE66pjdExmgep47BAdKTrCJ7ca_Spanish](http://www.academia.edu/11363373/Pumarola_A.-LgjH2m5c8emE66pjdExmgep47BAdKTrCJ7ca_Spanish)

CORTÉS PÁEZ, Luis y BRAVO REALPE, Isabel, , 2014. Adsorption of heavy metals in
Andisols, Vertisols and Humic Acids | Adsorción de metales pesados en Andisoles,
Vertisoles y Acidos Húmicos. Acta Agronomica, vol. 64, no. 1, pp. 61-71. ISSN
01202812.

BONILLA VALENCIA, SARA. Estudio para tratamientos de biorremediación de suelos
contaminados con plomo, utilizando el método de fitorremediación . Tesis (Título de
Ingeniero Ambiental), Quito Colombia. Universidad Politécnica Salesiana, 2013. 62
p.

CASTILLO RODRIGUEZ FRANCISCO, et al. Biotecnología ambiental. Tébar [en línea]
2005[Fecha de consulta: 30 de septiembre 2018] Disponible en:
[https://books.google.com.pe/books?id=19ffPAm3E3kC&pg=PA224&lpg=PA224&d
q=operon+mer+gram+negativas&source=bl&ots=BRlkqq1UNL&sig=T-
WqtMwsqwAwA_Puz7bWDQOKmQ&hl=es-
419&sa=X&ved=2ahUKEwjIwdO_5fXdAhUSjlkKHVPkDC0Q6AEwBnoECACQA
Q#v=onepage&q&f=true](https://books.google.com.pe/books?id=19ffPAm3E3kC&pg=PA224&lpg=PA224&dq=operon+mer+gram+negativas&source=bl&ots=BRlkqq1UNL&sig=T-WqtMwsqwAwA_Puz7bWDQOKmQ&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwjIwdO_5fXdAhUSjlkKHVPkDC0Q6AEwBnoECACQAQ#v=onepage&q&f=true)

DEL CARPIO JIMENEZ CARLA. Estudio de la bioadsorción de Pb(II) y Cd (II) usando
como biomasa a *Escherichia coli* aislada de las aguas contaminadas del rio Huatanay
de la ciudad del Cusco. Tesis (Doctor en ciencias y tecnologías medioambientales),
Arequipa, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, 2017. p 111 .

BIOSORCION de iones de Pb(II) usando *Klebsiella sp.* 3S1 aislada de una planat de
tratamiento de agua residual: cinética y estudio de los mecanismos, por Muños

Antonio Jesús, et al. [en línea] Departamento de química e Ingeniería Ambiental y de materiales. 2015 [Fecha de consulta: 2 de noviembre del 2018]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/719060>.

DIAZ NARVAEZ, VICTOR. Metodología de la investigación científica y bioestadística para profesionales y estudiantes de ciencias de la salud. [en línea] Chile. Estudiantes y profesionales de Ciencias de la Salud, 2006. [Fecha de consulta: 29 de septiembre 2018] Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=ZPVtPpdFdGMC&pg=PA191&lpg=PA191&dq=investigacion+de+pre+y+pos+prueba&source=bl&ots=JUC1Wn-YW5&sig=n9g4SETQsMaZ_TboNfw9Of_xMw4&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjM6v3crYrUAhXHOiYKHfVtCl4Q6AEIRTAG#v=onepage&q&f=true

PONCE ARANIBAR LUZ MARINA. Biosorción de plomo por biomasa inactiva de bacterias aisladas en sedimentos de lixiviados del botadero de Haquira-Cusco. Tesis para optar por el título profesional de Biólogo, Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, 2016. Pp 68-70

RODRIGUEZ ANGELES Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de Escherichia coli [en línea] 2002 [Fecha de consulta: 12 de noviembre 2018] Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342002000500011

RODRIGUES HEREDIA DUNIA. Intoxicación ocupacional por metales pesados. [en línea], 2017, vol 21, no 12. [Fecha de consulta: 29 de septiembre 2018]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/san/v21n12/san122112.pdf>

ROMERO CABELLO RAUL, Microbiología y parasitología Humana [en línea]. Mexico: 2007 [Fecha de consulta: 19 de septiembre 2018]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=Wv026CUhR6YC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

ROBINS NICHOLAS A. Mercurio, minería e Imperio. El costo humano y ecológico de la minería de plata colonial en los andes. [en línea], 2013 [Fecha de consulta: 1 de

noviembre del 2018]. Disponible en:
<http://www.minem.gob.pe/minem/archivos/file/DGAAM/mercurioenhuancavelica.pdf>

BAUTISTA ZUÑIGA, Francisco. Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales pesados [en línea]. Yucatán, Mexico: 1994 [Fecha de consulta: 16 de septiembre 2018]. Disponible en:
https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=yE2Jq3z7ex4C&oi=fnd&pg=PA17&dq=Bautista,+F+METALES+PESADOS&ots=md19mxverP&sig=_BOvVhsT28JeVXyEAMat4RmMod4#v=onepage&q=Bautista%2C%20F%20METALES%20PESADOS&f=true

SAENZ PEÑA ELMER Biosorción de Pb²⁺, Cr³⁺, Cd²⁺ y Zn² en solución con levadura residual de cerveza y *Padina sp* [en línea] Peru 2015 [Fecha de consulta: 15 de noviembre de 2018] Disponible en : <http://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2000/mi003f.pdf>

SUAREZ PAULA Y REYES ROSA. La incorporación de metales pesados en las bacterias y su importancia para el ambiente. Sistema de Informacion Científica [en línea], 2013, vol 27, no 4. [Fecha de consulta: 29 de septiembre 2018]. Disponible en:
<http://www.redalyc.org/html/339/33906702/>

GUERRERO ROJAS JOSE J. Biorremediación dela contaminación por mercurio en minería informal. Minería & medioambiente (5): 31-2011

TECNICAS de biorrecuperacion in situ en acuíferos contaminados por metales pesados, por Lopez Gutierrez Julio [et al]. España [en línea]. Mayo 2012. [Fecha de consulta: 27 de septiembre 2018]. Disponible en:
<http://aguas.igme.es/igme/publica/pdflib15/021.pdf>

TORIZ GARCIA ELIZABETH , Bioadsorción de pesados mediante el uso de biomasa bacteriana aislada de jales mineros [en línea] Mexico,2014 [Fecha de consulta: 24 de noviembre de 2018]. Disponible en:
https://repositorio.itesm.mx/bitstream/handle/11285/569087/DocsTec_6999.pdf;jses

sionid=2D89601AF100DB0BDC44155377AB59FF?sequence

OCAMPO BARRERO, María. y LONDOÑO CARVAJAL, Adela. Remoción de mercurio en lixiviados de un relleno sanitario empleando carbón activado impregnado con azufre. *Producción + Limpia*, vol. 12, no. 1, 2017 pp. 41-48. ISSN 19090455. DOI 10.22507/pml.v12n1a4.

PLAZA CAZÓN, Josefina. Remoción de metales pesados empleando algas marinas». Universidad De La Plata, Facultad de Ciencias Exactas. [en línea], 2012 pp. 158. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2770/Documento_completo_.pdf?sequence=17.

POMA LLANTOY, Victor. y VALDERRAMA NEGRÓN, Ana. Estudio de los parámetros fisicoquímicos para la fitorremediación de Cadmio (II) y Mercurio (II) con la especie *eichhornia crassipes* (Jacinto de agua). *revista de la sociedad Química del Perú*, vol. 80, no. 3, 2014 pp. 164-173. ISSN 1810-634X. DOI 10.37761/rsqp.v80i3.224.

THOMS BRYM, ROBINS NICHOLAS. Proyecto de Remediación del Mercurio Perú. [en línea] Perú, 2015. [Fecha de consulta: 1 de noviembre 2018]. Disponible en: <http://www.ehcouncil.org/es/files/2016/03/RI-in-Spanish-Text.pdf>

ROBINS NICHOLAS, Huancavelica: familias en riesgo de envenenamiento por mercurio, *El comercio*. Lima, 25 de junio de 2015, p 2.

VERA GARCIA Introducción a la microbiología [en línea], 2001 [Fecha de consulta: 16 de septiembre 2018]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=K_ETVnqnMZIC&pg=PA47&dq=bacterias+gram+negativas+y+positivas&hl=es419&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=bacterias%20gram%20negativas%20y%20positivas&f=false

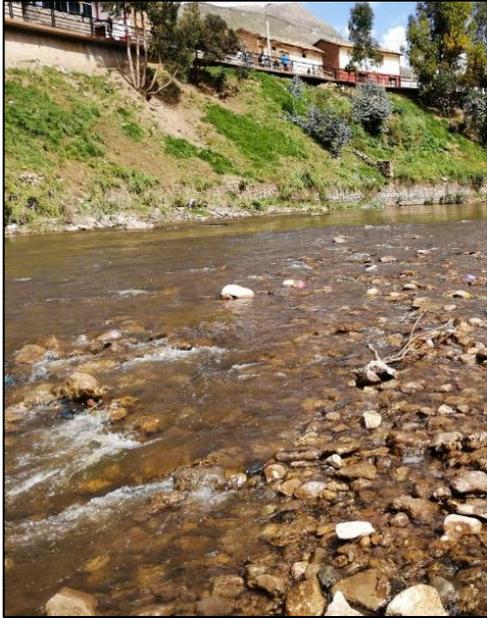
MINISTERIO DEL AMBIENTE MINAM. Salud y ambiente [en línea], Perú [Fecha de consulta: 24 de septiembre 2018]. Disponible en: <https://www.gob.pe/mina>

ANEXOS

ANEXO 1 MEMORIA FOTOGRAFICA

- **Proceso de toma, preservación y análisis de muestras de calidad de recurso hídrico**

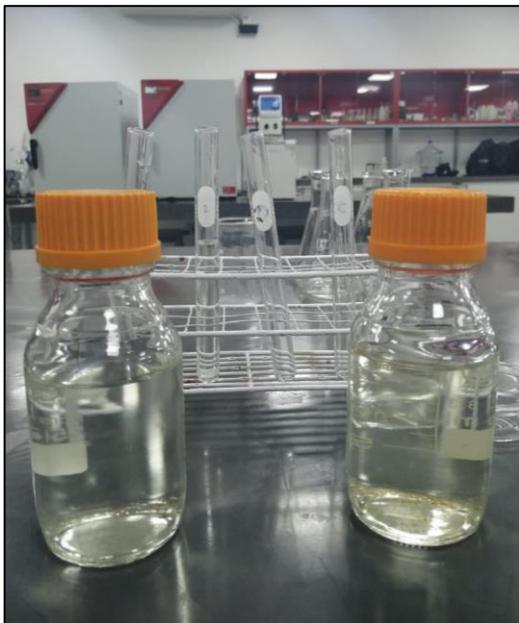
Foto N° 01, N° 02, N°03 y N° 04: Proceso de toma y análisis de muestras de calidad de Recursos Hídricos



Fuente: Memoria fotográfica- Visita técnica



Fuente: Memoria fotográfica- Visita técnica



Fuente: Memoria fotográfica- Visita técnica



Fuente: Memoria fotográfica- Visita técnica

- **Proceso de toma de muestras calidad de suelo**

Foto N° 01, N° 02, N°03 y N° 04: Proceso de toma de muestras de Calidad de Suelos



Fuente: Memoria fotográfica- Visita técnica



Fuente: Memoria fotográfica- Visita técnica



Fuente: Memoria fotográfica- Visita técnica



Fuente: Memoria fotográfica- Visita técnica

- **Proceso de determinación de propiedades físicas del suelo**

Foto N° 01, N° 02, N°03, N° 04 y N° 05: Proceso de determinación de propiedades físicas del suelo



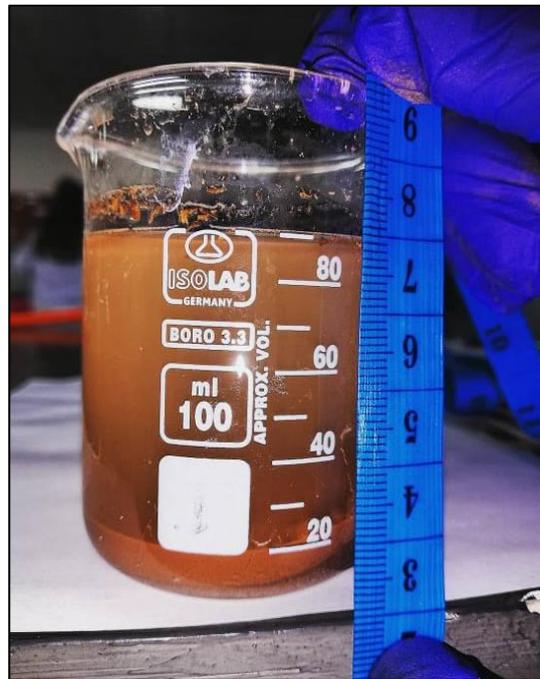
Fuente: Memoria fotográfica- Visita técnica



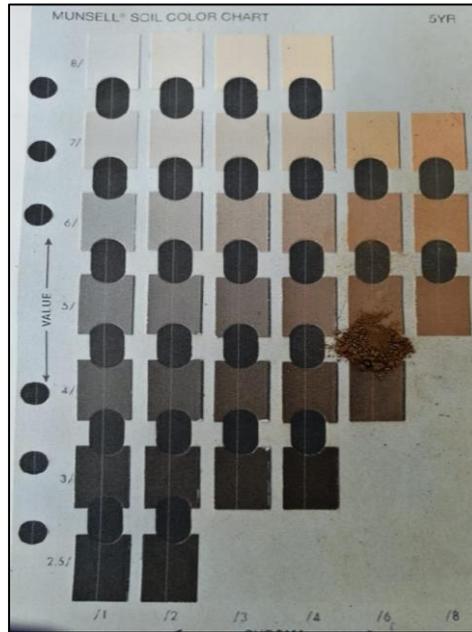
Fuente: Memoria fotográfica- Visita técnica



Fuente: Memoria fotográfica- Visita técnica



Fuente: Memoria fotográfica- Visita técnica



Fuente: Memoria fotográfica- Visita técnica

- **Proceso de obtención de biomasa inactiva**

Foto N° 01, N° 02, N°03 y N° 04: Proceso obtención de biomasa inactiva



Fuente: Memoria fotográfica- Visita técnica



Fuente: Memoria fotográfica- Visita técnica



Fuente: Memoria fotográfica- Visita técnica



Fuente: Memoria fotográfica- Visita técnica

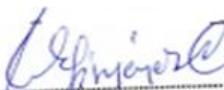
ANEXO 2 VALIDACIÓN DE INSTRUMENTOS

1. FICHA DE CAMPO PARA SUELO

Datos generales			
Nombres y Apellidos del personal			
Provincia /Distrito /Departamento			
Dirección			
Uso principal			
Datos del punto de muestreo			
Ubicación del punto de muestreo		Precipitación (si/no, intensidad)	
Coordenadas UTM WGS-84		Profundidad final (m)	
Temperatura (°C)		Tipo de superficie	
Datos de la muestra			
Código de muestra		Cantidad de la muestra (kg)	
Hora		Tipo de muestra (simple/compuesta)	
Fecha		Medidas de conservación	
Tipo de muestra		Color/olor/textura	
Profundidad (desde-hasta)		Concentración de Hg (mg/Kg)	
Observaciones			

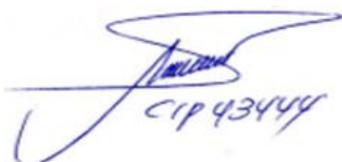

CIP 43444


CIP 8472


 Dr. César Eduardo Jiménez Calderón
CIP: 42355

2. FICHA DE CAMPO PARA AGUA

Datos generales	
Nombres y Apellidos del personal	
Provincia /Distrito /Departamento	
Nombre del cuerpo de agua	
Datos del punto de muestreo	
Ubicación del punto de muestreo	
Coordenadas UTM WGS-84	
Altura	
Accesibilidad	
Entorno	
Datos de la muestra	
Código de muestra	
Hora	
Fecha	
Parámetros in situ	
pH	
Temperatura (°C)	
Conductividad (uS/cm)	
Oxígeno Disuelto (mg/L)	
Observaciones	


CIP 43444


CIP 04712


Dr. César Eduardo Jiménez Calderón
CIP. 42355

1 CADENA DE CUSTODIA PARA SUELO

DATOS					Preservación	Otro								
NOMBRES Y APELLIDOS						Temperatura								
TELEFONO						Vidrio								
EMAIL					Plástico									
NOMBRE DEL PROYECTO						Volumen/peso								
PROCEDENCIA					Parámetro en análisis	Orgánico								
Nº de muestra	Código	Muestra		Ubicación UTM		Inorgánico								
		Fecha	Hora		Señalar con (x) en la parte inferior los análisis requeridos por cada muestra									
Observaciones					Recepción de muestras									
					Entregado por			Recibido por						
					Fecha		Hora	Fecha		Hora				
					Firma			Firma						

[Handwritten signature]
CIP 43449

[Handwritten signature]
CIP 43472

[Handwritten signature]

 Dr. César Eduardo Jiménez Calderón
 CIP. 42355

4 ETIQUETA PARA MUESTRA DE SUELO

Solicitante:	
Nombre de Laboratorio:	
Código de muestra:	
Uso principal:	
Fecha de muestreo:	
Hora de muestreo:	
Parámetro requerido:	
Preservada:	SI NO





UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

INFORME DE OPINION DE EXPERTOS DEL INSTRUMENTO DE INVESTIGACION

I. DATOS GENERALES

- 1.1. Apellidos y nombre del validador: Dr. /Mg. Ordoñez Baluz, Julio Juli
- 1.2. Cargo e institución donde labora: DECENTE
- 1.3. Especialidad del validador: Dr. en Medio ambiente y desarrollo Sostenible
- 1.4. Nombre del instrumento y finalidad de su aplicación: Ficha de campo para suelo / Ficha de campo para agua / Cadena de custodia para suelo / Etiqueta para muestra de suelo.
- 1.5. Título de la investigación: "Biodisorción con Escherichia coli en suelos contaminados por mercurio en el distrito de Ascención, Huancavelica - 2019"
- 1.6. Autor del instrumento: Lesly Estefany Espinoza Salazar / Yohana Estrellita Manzing Loza

II. ASPECTOS DE VALIDACION

CRITERIOS	INDICADORES	DEFICIENTE 00 20%	REGULAR 21 40%	BUENA 41 60%	MUY BUENA 61 80%	EXCELENTE 81 100%
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje apropiado y específico					/
2. OBJETIVIDAD	Esta expresado en conductas observables					/
3. ACTUALIDAD	Adecuado al avance de la ciencia y la tecnología					/
4. ORGANIZACION	Existe una organización lógica					/
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos en cantidad y calidad					/
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos de las estrategias					/
7. CONSISTENCIA	Basado en aspectos teóricos científicos					/
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores y las dimensiones					/
9. METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del diagnóstico					/
10. PERTINENCIA	El instrumento es funcional para el propósitos de la investigación					/



INFORME DE OPINION DE EXPERTOS DEL INSTRUMENTO DE INVESTIGACION

I. DATOS GENERALES

- 1.1. Apellidos y nombre del validador: Dr. /Mg. JAYE NAKAYO TORRE LEONARDO
- 1.2. Cargo e institución donde labora: DOCENTE U.C.V.
- 1.3. Especialidad del validador: Dr. en medio ambiente y desarrollo sostenible
- 1.4. Nombre del Instrumento y finalidad de su aplicación: Ficha de campo para suelo / Ficha de campo para agua / Cadena de custodia para suelo / Etiqueta para muestra de suelo
- 1.5. Título de la investigación: “Bioadsorción con Esterechia coli en suelos contaminados por mercurio en el distrito de Ascención, Huancavelica - 2019”
- 1.6. Autor del instrumento: Gesly Estepany Espinoza Salazar / Johana Estrellita Manzanay Lazo

II. ASPECTOS DE VALIDACION

CRITERIOS	INDICADORES	DEFICIENTE 00-20%	REGULAR 21-40%	BUENA 41-60%	MUY BUENA 61-80%	EXCELENTE 81-100%
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje apropiado y específico					
2. OBJETIVIDAD	Esta expresado en conductas observables					
3. ACTUALIDAD	Adecuado al avance de la ciencia y la tecnología					
4. ORGANIZACION	Existe una organización lógica					
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos en cantidad y calidad					
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos de las estrategias					
7. CONSISTENCIA	Basado en aspectos teóricos científicos					
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores y las dimensiones					
9. METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del diagnóstico					
10. PERTINENCIA	El instrumento es funcional para el propósitos de la investigación					



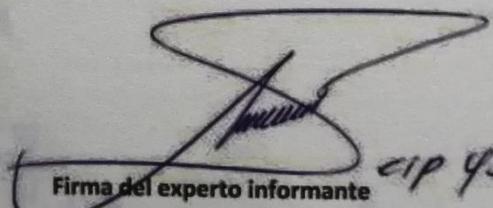
UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

PROMEDIO					
PROMEDIO VALORACION					

III. PROMEDIO DE VALORACIÓN: 85 %

- IV. OPINION DE APLICABILIDAD:
- () El instrumento puede ser aplicado tal como está elaborado.
 - () El instrumento debe ser mejorado antes de ser aplicado.

Lugar y fechas:.....


Firma del experto informante *cip 43444*

DNI Nº 01066053 Teléfono Nº 992005015



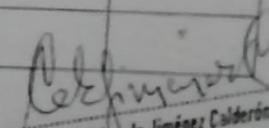
INFORME DE OPINION DE EXPERTOS DEL INSTRUMENTO DE INVESTIGACION

I. DATOS GENERALES

- 1.1. Apellidos y nombre del validador: Dr. /Mg. Dr. Cesar Eduardo Jiménez Calderón
- 1.2. Cargo e institución donde labora: Docente universitario
- 1.3. Especialidad del validador: Dr. en Gestión Universitaria / Ing. Agrónomo
- 1.4. Nombre del Instrumento y finalidad de su aplicación: Ficha de campo para Suelo / Ficha de campo para agua / Cadena de custodia para suelo / Etiqueta para muestra de Suelo
- 1.5. Título de la investigación: «Biodiversidad con Escherichia coli en suelos contaminados por mercurio en el distrito de Ascensión, Huancavelica - 2019»
- 1.6. Autor del instrumento: Lesly Estefany Espinoza Salazar / Yohana Estrellita Manzing Loza

II. ASPECTOS DE VALIDACION

CRITERIOS	INDICADORES	DEFICIENTE 00 20%	REGULAR 21 40%	BUENA 41 60%	MUY BUENA 61 80%	EXCELENTE 81 100%
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje apropiado y específico					
2. OBJETIVIDAD	Esta expresado en conductas observables					
3. ACTUALIDAD	Adecuado al avance de la ciencia y la tecnología					
4. ORGANIZACION	Existe una organización lógica					
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos en cantidad y calidad					
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos de las estrategias					
7. CONSISTENCIA	Basado en aspectos teóricos científicos					
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores y las dimensiones					
9. METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del diagnostico					
10. PERTINENCIA	El instrumento es funcional para el propósitos de la investigación					


 Dr. César Eduardo Jiménez Calderón
 CIP. 42355



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

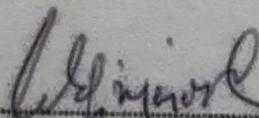
PROMEDIO					
PROMEDIO VALORACION					

III. PROMEDIO DE VALORACIÓN: 85 %

IV. OPINION DE APLICABILIDAD:

- El instrumento puede ser aplicado tal como está elaborado.
- El instrumento debe ser mejorado antes de ser aplicado.

Lugar y fechas:


.....
 Dr. César Eduardo Jiménez Calderón
CIP. 42355

Firma del experto informante

DNI N° _____ Teléfono N° _____

ANEXO 3 MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDADES	METODOLOGÍA
PROBLEMA GENERAL - ¿La <i>Escherichia coli</i> tendrá la capacidad de bioadsorción de Hg en suelos contaminados del distrito de Ascensión, Huancavelica?	OBJETIVO GENERAL - Determinar la capacidad de bioadsorción de la <i>Escherichia coli</i> de Hg en suelos contaminados del distrito de Ascensión, Huancavelica	HIPÓTESIS GENERAL La <i>Escherichia coli</i> tiene la capacidad de bioadsorber Hg en suelos contaminados del distrito de Ascensión, de Huancavelica	V.INDEPENDIENTE V1: Bioadsorción de la <i>Escherichia coli</i>	D1 CAPACIDAD DE BIOADSORCIÓN D2 CRECIMIENTO DE BACTERIA D3 TIEMPO OPTIMO	- Porcentaje de Bioadsorción - Tamaño de la bacteria - Tiempo de contacto	- % - Log cel/ mL - Minutos	TIPO - Básica DISEÑO - Experimental NIVEL - Cuantitativo ALCANCE -Explicativo POBLACION Suelos del distrito de Ascensión, provincia y departamento de Huancavelica contaminados por Hg
PROBLEMAS ESPECIFICOS - ¿Cuál será el crecimiento de la cepa de <i>Escherichia coli</i> en el proceso de Bioadsorción de mercurio en suelos contaminados por Hg en los suelos de Ascensión, Huancavelica?	OBJETIVOS ESPECÍFICOS - Determinar el crecimiento de la cepa de <i>Escherichia coli</i> en el proceso de Bioadsorción de Hg en los suelos de Ascensión, Huancavelica.	HIPÓTESIS ESPECÍFICA - Existe crecimiento de la cepa de <i>Escherichia coli</i> en el proceso de Bioadsorción de Hg en los suelos contaminados de Ascensión, Huancavelica	V. DEPENDIENTE V2: Suelos contaminados por Hg	D1 CONCENTRACION DE Hg D2 POTENCIAL HIDROGENO	- Concentración inicial de Hg y concentración final de Hg - pH inicial - pH final	- mg/kg - Rango 7-14	INTRUMENTOS - Hojas de Campo - Cadena de Custodia - Etiquetas -

<ul style="list-style-type: none"> - ¿En qué tiempo la <i>Escherichia coli</i> podrá bioadsorber una mayor concentración de Hg en suelos contaminados del distrito de Ascensión, Huancavelica? - ¿El proceso de bioadsorción de <i>Escherichia coli</i> en suelos contaminados por Hg en Ascensión, Huancavelica genera variación en el pH? 	<ul style="list-style-type: none"> - Determinar el tiempo en el cual la <i>Escherichia coli</i> podrá bioadsorber una mayor concentración de Hg en suelos contaminados del distrito de Ascensión, Huancavelica - Determinar si el proceso de bioadsorción de <i>Escherichia coli</i> en suelos contaminados por Hg en Ascensión, Huancavelica genera variación en el pH 	<ul style="list-style-type: none"> - El tiempo para que la <i>Escherichia coli</i> pueda bioadsorber una mayor concentración de Hg en suelos contaminados del distrito de Ascensión, Huancavelica es de 90 minutos (Del Carpio, C. 2017) - El proceso de bioadsorción de <i>Escherichia coli</i> en suelos contaminados por Hg en Ascensión, Huancavelica genera variación en el pH 					
---	---	---	--	--	--	--	--

ANEXO 4 FICHAS DE RESULTADOS

INFORME DE ENSAYO N° 192354 CON VALOR OFICIAL

Nombre del Cliente : LESLY ESTEFANY ESPINOZA SALAZAR / YOHANA ESTRELLITA MANZINY LAZO
Dirección : Paj. Los Claveles 115 - Independencia
Solicitado Por : LESLY ESTEFANY ESPINOZA SALAZAR / YOHANA ESTRELLITA MANZINY LAZO
Referencia : Cotización N° 1234-19R03
Proyecto : Bioadsorción con Escherichia Coli en Suelos Contaminados con Hg en el Distrito de Asunción, Provincia y Departamento de Huancavelica
Procedencia : Asunción - Huancavelica
Muestreo Realizado Por : Estrella Manziny
Cantidad de Muestra : 2
Producto : Suelo
Fecha de Recepción : 29/04/2019
Fecha de Ensayo : 29/04/2019 al 07/05/2019
Fecha de Emisión : 07/05/2019

La muestra fue recepcionada en buenas condiciones

I. Resultados

Código de Laboratorio		192354-2	
Código de Cliente		SOM	
Fecha de Muestreo		27/04/2019	
Hora de Muestreo (h)		12:00	
Ubicación Geográfica (WGS 84)		E: 501145 N: 858619	
Tipo de Producto		Suelo	
Tipo Ensayo	Unidad	L.D.M.	Resultados
Metales (ICP-AES) (Peso Seco)			
Hg	Mercurio	mg/Kg PS	1,00 9,4

Leyenda: L.C.M. = Límite de cuantificación del método, L.D.M. = Límite de detección del método, "<" = Menor que el L.C.M. o L.D.M. indicado, ">" = Mayor al rango de trabajo, "--" = No Analizado.

Código de Laboratorio		192354-1	
Código de Cliente		SO	
Fecha de Muestreo		27/04/2019	
Hora de Muestreo (h)		11:53	
Ubicación Geográfica (WGS 84)		E: 501149 N: 8586505	
Tipo de Producto		Suelo	
Tipo Ensayo	Unidad	L.C.M.	Resultados
Fisicoquímicos (Peso Seco)			
Conductividad *	µS/cm	1 ⁽⁶⁾	135
pH	Und. pH	0,01 ⁽⁶⁾	7,49
Carbonato de Calcio *	%	0,001	0,013
Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) *	cmol/kg	2,93	51,95

Leyenda: L.C.M. = Límite de cuantificación del método, L.D.M. = Límite de detección del método, "<" = Menor que el L.C.M. o L.D.M. indicado, ">" = Mayor al rango lineal permitido por la técnica analítica, "--" = No Analizado.

* : Los métodos indicados no han sido acreditados por INACAL-DA

**INFORME DE ENSAYO N° 192354
CON VALOR OFICIAL**

II. Métodos y Referencias

Tipo Ensayo	Norma Referencia	Título
Metales (CVAA - FMS)		
Mercurio	EPA Method 7471B; Rev.2, Feb. 2007	Mercury in Solid or Semisolid Waste (Manual Cold-Vapor Technique)
Físicoquímicos		
Carbonato de Calcio	Mexican Official Standard Norm Method 021-2000, 2002 : As-07	Establishing Specifications of Fertility, Salinity and Soil Classification, Study, Sampling and Analysis
Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC)	Métodos de Análisis recomendados para los Suelos de Chile Rev. 2006 (ISSN 0717-4810)	Capacidad de intercambio de cationes efectiva (CICE) - Suma de cationes
Conductividad	ISO 11265, 1994 (E)	Soil quality - Determination of the specific electrical conductivity
pH - Suelo	EPA Method 9045 D; Rev. 4., 2004	Soil and waste pH

SIGLAS: "EPA": U.S. Environmental Protection Agency. Methods for Chemical Analysis.
"ISO" International Organization for Standardization


Ing. Mario Escarate L.
Jefe de Laboratorio de
Química Inorgánica
C.I.P. N° 161895


Pedro Altamirano P.
Director Técnico

Los resultados presentados corresponden sólo a la muestra indicada, según la cadena de custodia correspondiente.
Estos resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas del producto.
El tiempo de custodia de la muestra es de un mes calendario desde el ingreso de la muestra al Laboratorio.
El tiempo de custodia del informe de ensayo, tanto en digital como en físico es de 4 años.
El tiempo de perechibilidad de la muestra está en función a lo declarado en los métodos normalizados de ensayo y rige desde la toma de muestra.
Está prohibido la reproducción parcial del presente documento, salvo autorización de Envirotest S.A.C.

** FIN DEL INFORME **

INFORME DE ENSAYO N° 192782 CON VALOR OFICIAL

Nombre del Cliente : LESLY ESTEFANY ESPINOZA SALAZAR / YOHANA ESTRELLITA MANZINY LAZO
Dirección : Paj. Los Claveles 115 - Independencia
Solicitado Por : LESLY ESTEFANY ESPINOZA SALAZAR / YOHANA ESTRELLITA MANZINY LAZO
Referencia : Cotización N° 1234-19R03
Proyecto : Bioadsorción con Escherichia Coli en Suelos Contaminados con Hg en el Distrito de Asunción, Provincia y Departamento de Huancavelica
Procedencia : Ascunción - Huancavelica
Muestreo Realizado Por : LESLY ESTEFANY ESPINOZA SALAZAR / YOHANA ESTRELLITA MANZINY LAZO
Cantidad de Muestra : 4
Producto : Suelo
Fecha de Recepción : 24/05/2019
Fecha de Ensayo : 24/05/2019 al 31/05/2019
Fecha de Emisión : 04/06/2019

La muestra fue recepcionada en buenas condiciones

I. Resultados

Código de Laboratorio	192782-1
Código de Cliente	SGp1
Fecha de Muestreo	29/04/2019
Hora de Muestreo (h)	10:00
Ubicación Geográfica (WGS 84)	E: 0501568 N: 8587219
Tipo de Producto	Suelo

Tipo Ensayo	Unidad	L.C.M.	Resultados
Fisicoquímicos (Peso Seco)			
pH *	Und. pH	0,01 ¹⁰	5,34

Legenda: L.C.M. = Límite de cuantificación del método, L.D.M. = Límite de detección del método, "¹⁰" = Menor que el L.C.M. o L.D.M. indicado, "¹¹" = Mayor al rango lineal permitido por la técnica analítica, "—" = No Analizado, "¹²" = Resolución cuantificable, "¹³" = Límite de Detección del Método

* : Los métodos indicados no han sido acreditados por INACAL-DA

Código de Laboratorio	192782-2	192782-3	192782-4
Código de Cliente	SG-1A	SG-1B	SG-1C
Fecha de Muestreo	29/04/2019	29/04/2019	29/04/2019
Hora de Muestreo (h)	10:10	10:17	10:25
Ubicación Geográfica (WGS 84)	E: 0501548 N: 8587064	E: 0501628 N: 8587824	E: 0501508 N: 8587219
Tipo de Producto	Suelo	Suelo	Suelo

Tipo Ensayo	Unidad	L.D.M.	Resultados
Metales (CVAA - FIMS) (Peso Seco)			
Tipo Ensayo	Unidad	L.C.M.	Resultados
Hg Mercurio	mg/Kg PS	1,00	3,78 1,41 1,43

Legenda: L.C.M. = Límite de cuantificación del método, L.D.M. = Límite de detección del método, "¹⁰" = Menor que el L.C.M. o L.D.M. indicado, "¹¹" = Mayor al rango de trabajo, "—" = No Analizado.

INFORME DE ENSAYO N° 192782 CON VALOR OFICIAL

II. Métodos y Referencias

Tipo Ensayo	Norma Referencia	Título
Fisicoquímicos		
pH - Suelo	EPA Method 9045 D; Rev. 4., 2004	Soil and waste pH
Metales (CVAA - FIMS)		
Mercurio	EPA Method 7471B; Rev.2, Feb. 2007	Mercury In Solid or Semisolid Waste (Manual Cold-Vapor Technique)

SIGLAS: *EPA*: U.S. Environmental Protection Agency. Methods for Chemical Analysis.



Quím. Alma Vargas C.
Supervisor de Laboratorio
Inorgánico
C.Q.P N° 574

Los resultados presentados corresponden sólo a la muestra indicada, según la cadena de custodia correspondiente.
Estos resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas del producto.
El tiempo de custodia de la muestra es de un mes calendario desde el ingreso de la muestra al Laboratorio.
El tiempo de custodia del Informe de ensayo, tanto en digital como en físico es de 4 años.
El tiempo de perecibilidad de la muestra está en función a lo declarado en los métodos normalizados de ensayo y rige desde la toma de muestra.
Está prohibido la reproducción parcial del presente documento, salvo autorización de Envirotest S.A.C.

** FIN DEL INFORME **

**INFORME DE ENSAYO N° 192783
CON VALOR OFICIAL**

Nombre del Cliente : LESLY ESTEFANY ESPINOZA SALAZAR / YOHANA ESTRELLITA MANZINY LAZO
Dirección : Psj. Los Claveles 115 - Independencia
Solicitado Por : LESLY ESTEFANY ESPINOZA SALAZAR / YOHANA ESTRELLITA MANZINY LAZO
Referencia : Cotización N° 1234-19R03
Proyecto : Bioradsorción con Escherichia Coli en Suelos Contaminados con Hg en el Distrito de Asunción, Provincia y Departamento de Huancavelica
Procedencia : Ascención - Huancavelica
Muestreo Realizado Por : LESLY ESTEFANY ESPINOZA SALAZAR / YOHANA ESTRELLITA MANZINY LAZO
Cantidad de Muestra : 4
Producto : Suelo
Fecha de Recepción : 24/05/2019
Fecha de Ensayo : 24/05/2019 al 31/05/2019
Fecha de Emisión : 31/05/2019

La muestra fue recepcionada en buenas condiciones

I. Resultados

Código de Laboratorio	192783-01
Código de Cliente	SG-P2
Fecha de Muestreo	29/04/2019
Hora de Muestreo (h)	10:48
Ubicación Geográfica (WGS 84)	E: 0501565 N: 8587081
Tipo de Producto	Suelo

Tipo Ensayo	Unidad	L.C.M.	Resultados
Fisicoquímicos (Peso Seco)			
pH	Und. pH	0,01 ¹⁰	5,36

Leyenda: L.C.M. = Límite de cuantificación del método. L.D.M. = Límite de detección del método. "<" = Menor que el L.C.M. o L.D.M. indicado. ">" = Mayor al rango lineal permitido por la técnica analítica. "-" = No Analizado. "R" = Resolución cuantificable

Código de Laboratorio	192783-02	192783-03	192783-04
Código de Cliente	SG-2A	SG-2B	SG-2C
Fecha de Muestreo	29/04/2019	29/04/2019	29/04/2019
Hora de Muestreo (h)	10:59	11:28	11:45
Ubicación Geográfica (WGS 84)	E: 0501684 N: 8587100	E: 0501610 N: 8587138	E: 0501585 N: 8587215
Tipo de Producto	Suelo	Suelo	Suelo

Tipo Ensayo	Unidad	L.D.M.	Resultados		
Metales (CVAA - FMS) (Peso Seco)					
Tipo Ensayo					
Hg	Mercurio	mg/Kg PS	1,00	3,45	1,48
				1,48	1,49

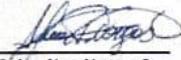
Leyenda: L.C.M. = Límite de cuantificación del método. L.D.M. = Límite de detección del método. "<" = Menor que el L.C.M. o L.D.M. indicado. ">" = Mayor al rango de trabajo. "-" = No Analizado.

**INFORME DE ENSAYO N° 192783
CON VALOR OFICIAL**

II. Métodos y Referencias

Tipo Ensayo	Norma Referencia	Título
Fisicoquímicos		
pH - Suelo	EPA Method 9045 D; Rev. 4., 2004	Soil and waste pH
Metales (CVAA - FMS)		
Mercurio	EPA Method 7471B; Rev.2, Feb. 2007	Mercury in Solid or Semisolid Waste (Manual Cold-Vapor Technique)

SIGLAS: *EPA*: U.S. Environmental Protection Agency. Methods for Chemical Analysis.


Quím. Alma Vargas C.
Supervisor de Laboratorio
Inorgánico
C.Q.P N° 574

Los resultados presentados corresponden sólo a la muestra indicada, según la cadena de custodia correspondiente.
Estos resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas del producto.
El tiempo de custodia de la muestra es de un mes calendario desde el Ingreso de la muestra al Laboratorio.
El tiempo de custodia del Informe de ensayo, tanto en digital como en físico es de 4 años.
El tiempo de perecibilidad de la muestra está en función a lo declarado en los métodos normalizados de ensayo y rige desde la toma de muestra.
Está prohibido la reproducción parcial del presente documento, salvo autorización de Envirotest S.A.C.

** FIN DEL INFORME **

**INFORME DE ENSAYO N° 192784
CON VALOR OFICIAL**

Nombre del Cliente : LESLY ESTEFANY ESPINOZA SALAZAR / YOHANA ESTRELLITA MANZINY LAZO
Dirección : Paj. Los Clavetes 115 - Independencia
Solicitado Por : LESLY ESTEFANY ESPINOZA SALAZAR / YOHANA ESTRELLITA MANZINY LAZO
Referencia : Cotización N° 1234-19R03
Proyecto : Bioadsorción con Escherichia Coli en Suelos Contaminados con Hg en el Distrito de Asunción, Provincia y Departamento de Huancavelica
Procedencia : Ascención - Huancavelica
Muestreo Realizado Por : LESLY ESTEFANY ESPINOZA SALAZAR / YOHANA ESTRELLITA MANZINY LAZO
Cantidad de Muestra : 4
Producto : Suelo
Fecha de Recepción : 24/05/2019
Fecha de Ensayo : 24/05/2019 al 31/05/2019
Fecha de Emisión : 31/05/2019

La muestra fue recepcionada en buenas condiciones

I. Resultados

Código de Laboratorio	192784-01
Código de Cliente	SG-P3
Fecha de Muestreo	29/04/2019
Hora de Muestreo (h)	12:30
Ubicación Geográfica (WGS 84)	E: 0501739 N: 8587106
Tipo de Producto	Suelo

Tipo Ensayo	Unidad	L.C.M.	Resultados
Fisicoquímicos (Peso Seco)			
pH	Und. pH	0,01 ⁽²⁾	5,35

Leyenda: L.C.M. = Límite de cuantificación del método; L.D.M. = Límite de detección del método; "<" = Menor que el L.C.M. o L.D.M. indicado; ">" = Mayor al rango lineal permitido por la técnica analítica; "--" = No Analizado; "™" = Resolución cuantificable

Código de Laboratorio	192784-02	192784-03	192784-04
Código de Cliente	SG-3A	SG-3B	SG-3C
Fecha de Muestreo	29/04/2019	29/04/2019	29/04/2019
Hora de Muestreo (h)	12:55	13:54	13:10
Ubicación Geográfica (WGS 84)	E: 0501569 N: 8587289	E: 0501675 N: 8587246	E: 0501740 N: 8587111
Tipo de Producto	Suelo	Suelo	Suelo

Tipo Ensayo	Unidad	L.D.M.	Resultados	
Metales (CVAA - FIMS) (Peso Seco)				
Tipo Ensayo				
Hg	mg/Kg PS	1,00	3,64	1,82 1,83

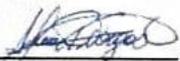
Leyenda: L.C.M. = Límite de cuantificación del método; L.D.M. = Límite de detección del método; "<" = Menor que el L.C.M. o L.D.M. indicado; ">" = Mayor al rango de trabajo; "--" = No Analizado.

**INFORME DE ENSAYO N° 192784
CON VALOR OFICIAL**

II. Métodos y Referencias

Tipo Ensayo	Norma Referencia	Título
Físicoquímicos		
pH - Suelo	EPA Method 9045 D; Rev. 4., 2004	Soil and waste pH
Metales (CVAA - FIMS)		
Mercurio	EPA Method 7471B; Rev.2, Feb. 2007	Mercury in Solid or Semisolid Waste (Manual Cold-Vapor Technique)

SKLAS: *EPA*: U.S. Environmental Protection Agency. Methods for Chemical Analysis.


Quím. Alma Vargas C.
Supervisor de Laboratorio
Inorgánico
C.Q.P N° 574

Los resultados presentados corresponden sólo a la muestra indicada, según la cadena de custodia correspondiente.
Estos resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas del producto.
El tiempo de custodia de la muestra es de un mes calendario desde el ingreso de la muestra al Laboratorio.
El tiempo de custodia del informe de ensayo, tanto en digital como en físico es de 4 años.
El tiempo de perecibilidad de la muestra está en función a lo declarado en los métodos normalizados de ensayo y rige desde la toma de muestra.
Está prohibido la reproducción parcial del presente documento, salvo autorización de Envirotest S.A.C.

** FIN DEL INFORME **