

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

Escuela Académico Profesional de Ingeniería Ambiental

Tesis

**Biorremediación de detergentes  
(benceno) mediante la bacteria  
Pseudomona aeruginosa en la laguna de  
Paca, Junín, 2022**

Roxana Jasmin Yaranga Piñares

Para optar el Título Profesional de  
Ingeniero Ambiental

Huancayo, 2022

Repositorio Institucional Continental  
Tesis digital



Esta obra está bajo una Licencia "Creative Commons Atribución 4.0 Internacional" .

**ASESOR**

EDWIN NATIVIDAD GABRIEL CAMPOS

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a DIOS, ser divino por darme la vida y guiar mis pasos día a día. Además, quiero agradecer a mis padres y hermanos, quienes siempre me dieron su apoyo y cariño incondicional cuando los necesite. Gracias por estar presente no solo en esta etapa tan importante de mi vida, sino en todo momento ofreciéndome lo mejor y buscando lo mejor para mi persona. Cada momento vivido durante estos años, son simplemente únicos.

De igual manera, extendo mi gratitud a mis formadores, personas de gran sabiduría, quienes se han esforzado por ayudarme a llegar al punto en el que me encuentro. A pesar de que el proceso no ha sido, gracias a las ganas de transmitirme sus conocimientos y dedicación que los ha regido, he logrado importantes objetivos como culminar el desarrollo de mis tesis con éxito y obtener una afable titulación profesional.

## DEDICATORIA

A mis padres,  
por haberme forjado como la persona que soy  
en la actualidad;  
muchos de mis logros se los debo a ustedes.  
Este nuevo logro es una gran parte gracias a  
ustedes he logrado concluir con éxito uno de los  
tantos proyectos que tengo en mente.

Muchas gracias a aquellos seres queridos que  
siempre guardo en mi alma

# ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS .....	ii
DEDICATORIA .....	iv
RESUMEN .....	ix
INTRODUCCIÓN .....	xi
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO .....	13
1.1. Planteamiento y formulación del problema.....	13
1.1.1. Problema General.....	16
1.1.2. Problemas Específicos.....	16
1.2. Objetivos .....	16
1.2.1. Objetivo general .....	16
1.2.2. Objetivos específicos.....	16
1.3. Justificación e importancia.....	16
1.4. Hipótesis.....	18
1.5. Operacionalización de variables.....	19
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	20
2.1. Antecedentes de la investigación .....	20
2.1.1. Antecedentes internacionales.....	20
2.1.2. Antecedentes nacionales.....	23
2.2. Bases teóricas .....	27
2.2.1. Contaminación ambiental .....	27
2.2.2. Evidencia sobre el impacto de la contaminación del agua .....	27
2.2.3. Efectos de la contaminación del agua en la salud humana.....	28
2.2.4. Clasificación de los contaminantes del agua.....	29
2.2.5. El efecto de los detergentes en los ecosistemas acuáticos.....	33
2.2.6. Historia de los detergentes.....	35
2.2.7. Composición de detergentes de lavandería .....	36
2.2.8. Biorremediación .....	38
2.2.9. Tipos de biorremediación .....	39
2.2.10. Bacteria <i>Pseudomona Aeruginosa</i> .....	40
2.3. Definición de términos básicos .....	42
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA .....	44
3.1. Método y alcance de la investigación .....	44
3.1.1. Método general.....	44
3.1.2. Tipo de investigación .....	44
3.1.3. Nivel de investigación.....	44

3.2. Diseño de la investigación .....	44
3.3. Población y muestra .....	44
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	46
3.4.1. Técnicas e instrumentos.....	46
3.5. Procedimientos.....	47
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	50
4.1. Presentación de resultados.....	50
4.1.1. Características físico químicos de las aguas contaminadas de la Laguna de Paca.....	50
4.1.2. Influencia del pH en la disminución de la concentración del benceno de las aguas de la laguna de Paca .....	51
4.1.3. Tiempo de degradación del contaminante (benceno) de las aguas de la laguna de Paca.....	52
4.1.4. Influencia de las bacterias <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> en la disminución de la concentración de benceno de las aguas de la laguna de Paca con el método de la biorremediación.....	53
4.2. Prueba de hipótesis .....	57
4.3. Discusión de resultados.....	60
CONCLUSIONES .....	63
RECOMENDACIONES.....	64
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	65
ANEXOS.....	73

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Variación del pH en la remoción de benceno.....	51
<b>Tabla 2.</b> Variación del tiempo de degradación en la remoción de benceno .....	52
<b>Tabla 3.</b> Variación de las bacterias <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> para la remoción de ..... benceno .....	54
<b>Tabla 4.</b> Método de biorremediación para la remoción de benceno.....	55
<b>Tabla 5.</b> Análisis de varianza del método de biorremediación.....	58

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Laguna de Paca .....	45
<b>Figura 2.</b> Punto de muestreo de las aguas contaminadas.....	46
<b>Figura 3.</b> Esquema del procedimiento experimental.....	49
<b>Figura 4.</b> Concentración inicial de benceno.....	50
<b>Figura 5.</b> Variación de pH .....	52
<b>Figura 6.</b> Variación del tiempo de degradación.....	53
<b>Figura 7.</b> Variación de las bacterias <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> .....	54
<b>Figura 8.</b> Efectos principales del método de biorremediación .....	56
<b>Figura 9.</b> Remoción de benceno con el método de biorremediación .....	56
<b>Figura 10.</b> Remoción final del benceno.....	57
<b>Figura 11.</b> Pareto .....	59
<b>Figura 12.</b> Probabilidad .....	59

## RESUMEN

Esta investigación tiene como propósito analizar la influencia de las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* para la disminución de la concentración de benceno de las aguas de la laguna de Paca, en la región Junín, a través de la aplicación del método de biorremediación. Para ello, se utilizó la metodología cuantitativa con un método general hipotético—deductivo. La investigación desarrollada fue aplicada. El nivel realizado fue experimental con un diseño factorial de  $2^3$ . Para la remoción de las aguas contaminadas por detergente (benceno), se realizó la caracterización inicial, el cual tuvo un resultado de 0.68 mg/L superando por mucho al ECA de 0.05 mg/L para lagunas. También, se midió el pH, el cual fue de 7.58 con una temperatura de 19 °C y una conductividad de 0.30 mS. Luego, se trabajó con las variables de pH, tiempo de degradación y con las bacterias *Pseudomonas aeruginosa*, donde a pH de 6, en la escala de 6 ( $18 \cdot 10^8$  UFC/mL) de Mc Farland para las bacterias *Pseudomonas aeruginosa*. Con un tiempo de 48 horas se tuvo la mayor remoción de benceno con un 93.63 % (0.043 mg/L), el cual es un valor por debajo a lo establecido en los ECA. A través de estos resultados, se concluye que el método de la biorremediación con la variación de pH en bacterias *Pseudomonas aeruginosa* y su tiempo de degradación son satisfactorios para la remoción de la concentración de benceno de las aguas de la laguna de Paca.

**Palabras claves:** remoción de benceno, detergente, pH, tiempo de degradación, *Pseudomonas aeruginosa*.

## ABSTRACT

The purpose of this research is to analyze the influence of the *Pseudomonas Aeruginosa* bacteria for the decrease in the benzene concentration of the waters of the Paca lagoon, placed in Junin area, through the application of the bioremediation method. For this, the quantitative methodology was used with a general hypothetical—deductive method. The research developed was applicative; the level carried out was experimental with a factorial design of 23. For the removal of water contaminated by detergent (benzene), the initial characterization was carried out, which had a result of 0.68 mg/L far exceeding the ECA of 0.05 mg/L for lagoons, the pH was also measured, which was 7.58, with a temperature of 19 °C and a conductivity of 0.30 mS, then we worked with the variables of pH, time of degradation and with *Pseudomonas aeruginosa* bacteria, where at pH 6, on the Mc Farland scale of 6 (18.108 CFU/mL) for *Pseudomonas aeruginosa* bacteria and time After 48 hours, the highest benzene removal was obtained with 93.63% (0.043 mg/L), which is a value below that established in the RCTs. In this way we can affirm that the bioremediation method with the variation of pH, *Pseudomonas aeruginosa* bacteria and degradation time are satisfactory for the removal of the benzene concentration from the waters of the Paca lagoon.

**Keywords:** benzene removal, detergent, pH, degradation time, *Pseudomonas aeruginosa*.

# INTRODUCCIÓN

El incremento de la contaminación a la naturaleza y los ecosistemas está vinculado con la acelerada actividad social e hiperproductividad industrial que los seres humanos han desarrollado a lo largo del siglo XX, pues el impacto generado ha terminado impactando directamente en su entorno. Debido a ello, se ha hecho cada vez más necesario analizar diversas manifestaciones de la contaminación en la calidad del suelo, el aire o el agua. Sobre este último elemento, el plan de trabajo para la calidad de los cuerpos de agua que son aprovechadas para fines no industriales es de vital importancia en los países desarrollados; no obstante, los países en desarrollo no cuentan con las prestaciones adecuadas para el desarrollo y funcionamiento de esas actividades. En nuestro planeta, los océanos ocupan alrededor del 96.50%, los cuerpos de agua dulce constituyen un 2.53% y los demás cuerpos de agua ocupan el 0.97% (1). Durante la revolución industrial los organismos rectores tienen la finalidad de reducir los niveles de contaminación a la naturaleza, así como asegurar el aprovechamiento adecuado de los cuerpos de agua para el consumo humano y los demás fines lúdicos. Por ello, es imprescindible mantener la calidad en los cuerpos de agua recreativa, puesto que promueve y genera el incremento en la economía.

El vertimiento de grandes cantidades de masa de residuos tóxicos provenientes de diferentes industrias, materias venenosas y radioactivas a los océanos ha venido constituyendo un alto índice de contaminación, ya que se calcula en alrededor de 10 millones de toneladas por año (1). De hecho, siempre que el vertimiento de contaminantes a los distintos cuerpos de agua no exceda su capacidad y el tiempo necesario para que el agua sea retirada para el aprovechamiento por el hombre, estos cuerpos de agua tienen el potencial de diluir, oxidar y reducir los patógenos presentes.

En respuesta a esta realidad, la presente investigación analiza la influencia que las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* tienen en la disminución de la concentración de benceno de las aguas de la laguna de Paca, en la región Junín, Perú, a través de la aplicación del método de biorremediación. Para ello, se han organizado cuatro capítulos.

En el primer capítulo, se detalla el planteamiento del problema donde, la contaminación del agua por los productos de limpieza utilizados en el hogar donde una gran cantidad de ellos tienen fosfatos y no son biodegradables, que terminan degradando el agua y favorecen la multiplicación del crecimiento verde (1).

En el segundo capítulo, se revisan los principales antecedentes del presente estudio. Para fines prácticos, se han dividido en internacionales y nacionales, los cuales ayudan al sustento y contrastación de la investigación. También, se detalla las bases teóricas la definición de términos que ayudan a lograr un marco que ayude a entender el problema analizado.

En el tercer capítulo, se explica el método de este estudio cuantitativo general hipotético-deductivo. Se plantea como una propuesta de investigación aplicada, nivel experimental y un diseño factorial de  $2^3$ . También, se detalla la población y muestra, y el procedimiento a detalle de la manera en que se realizó la experimentación para la remoción del zinc.

En el capítulo final, se exponen los resultados alcanzados posterior al desarrollo de la experimentación. Luego, se observa la prueba de hipótesis y la discusión de los resultados.

# CAPÍTULO I

## PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO

### 1.1. Planteamiento y formulación del problema

Con la generación de vida en el planeta, se consideró al agua como un factor crucial y básico en la mejora de los individuos y grupos de personas. El 75 % de nuestro planeta está cubierto superficialmente por agua; de hecho, el 75 % y el 85 % del material celular es el agua. No solo el desarrollo de la población se ha relacionado con la presencia de agua, sino que el bienestar del planeta se ha relacionado firmemente con la presencia de este componente. En realidad, este elemento es necesario, tanto en cantidad y como calidad para el sostenimiento de la naturaleza (2).

El agua es un destacado entre los componentes más característicos y básicos que se encuentran en nuestro planeta. Es fundamental para la posibilidad de crear seres vivos distintivos: plantas, criaturas y el individuo. Las formas de vida de cada ser vivo están hechas de agua en gran medida, ya que esto es lo que conforma los músculos, órganos y tejidos diversos.

La degradación ambiental debido a la contaminación cada vez mayor de los recursos hídricos, el aumento de las actividades humanas, los desechos industriales y el cambio climático; han tenido incidencia significativa sobre los cuerpos de agua dulce. Por lo tanto, la reutilización del agua se está introduciendo cada vez más como un método para mitigar la escasez de agua y al mismo tiempo preservar el estado ambiental de los recursos de agua dulce restantes. Se considera que una de las causas fundamentales en la contaminación del agua se origina en el crecimiento de la población mundial y la creciente cantidad de aguas residuales de lavandería. La gran cantidad de descarga de aguas residuales de detergente para ropa en el rango de 200—2100 litros/día producido por los sectores doméstico, industrial e institucional en la cantidad de descarga diaria tan solo en una ciudad. Ello representa un recurso renovable potencial para la reutilización del agua en una variedad de aplicaciones en los sectores agrícola, industrial y urbano que suple la escasez de agua existente (3).

En el Perú, la disponibilidad para el uso del agua potable presenta niveles bajos: a nivel nacional solo el 85% tiene acceso a este recurso, mientras que en el contexto

rural se estima que la cifra desciende a 66% y en el contexto urbano representa el 91%. Aunque esta última cifra es más alentadora, se ha podido determinar que gran parte de la población no tiene disponibilidad completa para el aprovechamiento del agua. En comparación con el resto de América Latina, que presenta el 94% en general, Perú es un país con serios problemas para garantizar el acceso a este recurso básico (4). Esto tiene efectos sociales asociados. Durante el año 2009, se pudo observar una notable deficiencia en el acceso al agua potable y demás servicios como saneamiento básico, por lo que se produjeron enfermedades diarreicas agudas (EDA) y parasitosis. (4). Sin embargo, su acceso y uso no garantiza que las personas se encuentren exentas de involucrar su salud con el uso doméstico del agua. Los productos de limpieza utilizados en el hogar presentan una gran cantidad de ellos tienen fosfatos o no son biodegradables, por lo que terminan degradando el agua e impiden el crecimiento verde (1). La producción de los detergentes se da en gran cantidad de masa y se tiene una mayor demanda con respecto a los últimos años debido al aumento de la población. Durante la elaboración de los detergentes se hace uso del alquilbenceno sulfonato de cadena ramificada, este es un compuesto químico no biodegradable y con gran capacidad de contaminación ambiental (5). Por ello, la descarga de estas agua contaminadas en cuerpos de agua receptores termina perjudicando su calidad. Los sistemas biológicos de agua dulce son muy sensibles a diferentes ajustes centrados en el hombre. La eutrofización de las vías fluviales como residuos y receptores de residuos residenciales y modernos hace que la expansión de la corrupción ecológica a la que está sujeta esta condición (6). Uno que últimamente se ha visto involucrado y que resulta importante de analizar se encuentra en el departamento de Junín

La laguna de Paca se considera como un cuerpo de agua léntico. Está ubicada en los Andes centrales del Perú, provincia de Jauja, departamento de Junín. Presenta una latitud de 11°46'48"S y 75°30'13"N y 3364 msnm. Abarca macrofitas sumergidas y emergentes de 147.1 ha., controlada mediante *Scirpus californicus* totora. Esta especie ocasiona obstrucción en el efluente y está ubicada en el sur del sistema. La laguna de Paca tiene procedencia glacial, presenta batimetría irregular con una profundidad de 16 m y un volumen alrededor de 44 620 000 m<sup>3</sup>. Esta laguna es aprovechada para el turismo y fines lúdicos, además del consumo humano de los pobladores que realizan trabajos de agricultura y ganadería para su propio consumo y comercio a pequeña escala. Esta región presenta un clima frígido, con una temperatura de 11.4°C y una precipitación de 649 mm, durante los meses de

enero y marzo el clima es húmedo. El desplazamiento de la laguna es producido por los vientos norte—sur que originan regímenes de brisas con mayor impacto en las tardes.

La presencia de restaurantes y la desembocadura de sus desagües tienen incidencia sobre la contaminación a la laguna de Paca. El empleo en gran cantidad de detergentes produce residuos generados por la actividad del turismo y la inadecuada gestión de la microcuenca que terminan convirtiéndose en fuentes de contaminación. Estos generan el incremento de la eutrofización, por lo que alteran la biodiversidad y la tranquilidad de la biota. Es imprescindible analizar la comunidad macro bentónica de la laguna de Paca con el fin de determinar el grado de degradación ambiental; ya que la laguna de Paca pertenece al sistema hidrobiológico noreste del Mantaro (6).

En las últimas décadas, los métodos de biorremediación en los ambientes contaminados tuvieron gran impacto. Una de sus aplicaciones es para la limpieza de los derrames en las embarcaciones que conservan suministros petrolizados. Para ello, se hace uso de bacterias y hongos que tienen el potencial de realizar la descontaminación y la recuperación de la naturaleza, también se hace uso en el procesamiento de los efluentes industriales como municipales. Durante el crecimiento de las bacterias y hongos en hidrocarburos se da el origen de los biosurfactantes. Estos agentes son utilizados en compuestos con origen biológico para reducir la tensión superficial ya que tiene propiedades funcionales como emulsificación, ruptura de fases y remoción de la viscosidad; por ello, son aprovechados para el tratamiento de los efluentes de distintas industrias. Estos efluentes contienen biomoléculas que abarcan ácidos grasos, glicolípidos, N-acilaminoácidos, lipopéptidos, diglicéridos y fosfolípidos. Los biosurfactantes son altamente estables a altas temperaturas, pH y salinidad con una efectiva selectividad (7).

La biorremediación se eleva como parte de la biotecnología que trata de resolver los problemas de contaminación utilizando criaturas vivas (microorganismos y plantas) equipadas para romper intensifica la torpeza de la naturaleza, independientemente del suelo, los residuos, el lodo o el océano (8).

Las *Pseudomonas aeruginosa* pertenecen a las proteobacterias, además de que son bacterias gramnegativas. Estas bacterias se encuentran en diversos ambientes naturales como suelo, aguas prístinas, aguas contaminadas, plantas y animales.

Las cepas presentan gran potencial patógeno para el hombre, especies invertebradas e incluso insectos. El desarrollo de esta bacteria se da mediante el aprovechamiento de sustratos para la colonización de nichos en los que los demás organismos son incapaces de asimilar los nutrientes. El aislamiento de ésta bacteria se da en el combustible de avión; así como en soluciones de jabón y clorhexidina (9).

#### 1.1.1. Problema general

¿El método de biorremediación con la aplicación de las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* disminuyen la concentración de benceno de las aguas de la laguna de Paca, Junín 2022?

#### 1.1.2. Problemas específicos

- ¿Qué características físico químicas presentan las aguas contaminadas por los detergentes (benceno) en la laguna de Paca, Junín 2022?
- ¿Cómo influye el pH en la disminución de la concentración del benceno en las aguas de la laguna de Paca, Junín 2022?
- ¿Cuánto es el tiempo de degradación del contaminante (benceno) en la laguna de Paca, Junín 2022?

### 1.2. Objetivos

#### 1.2.1. Objetivo general

Analizar la influencia de las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* en la concentración de benceno de las aguas de la laguna de Paca con el método de la biorremediación, Junín 2022

#### 1.2.2. Objetivos específicos

- Describir las características físico químicos de las aguas contaminadas por los detergentes en la Laguna de Paca, Junín 2022
- Determinar la influencia del pH en la disminución de la concentración del benceno en las aguas de la laguna de Paca Junín 2022
- Determinar el tiempo de degradación del contaminante (benceno) en la Laguna de Paca, Junín 2022

### 1.3. Justificación e importancia

#### 1.3.1. Justificación teórica

El desarrollo de este estudio busca conocer si la técnica de biorremediación utilizando la bacteria *Pseudomona aeruginosa* mejora la calidad del agua en la laguna de Paca y mitiga los efectos causados por la utilización de productos de limpieza. Para ello, se medirá si se logra cambiar las mezclas venenosas en sustancias menos peligrosas para la naturaleza presente en la laguna de Paca. Los resultados serán incorporados como conocimiento a la ingeniería ambiental, ya que se estaría demostrando el incremento en la calidad del agua en la laguna de Paca.

### 1.3.2. Justificación metodológica

El desarrollo experimental y la ejecución del método de la biorremediación en la descontaminación del agua de la laguna de Paca posterior a la comprobación de su efectividad y credibilidad serán aprovechadas para investigaciones futuras y demás instituciones con carácter de investigación.

### 1.3.3. Justificación practica

Para el desarrollo de este estudio se tiene en consideración la obligatoriedad de mejorar la calidad del agua en la laguna de Paca con la ejecución del método de biorremediación con la bacteria *Pseudomona aeruginosa*.

### 1.3.4. Importancia

La degradación bacteriana de compuestos tóxicos es importante no solo para la biorremediación, sino también para la colonización de ambientes antropogénicos hostiles en los que se utilizan biocidas. Este estudio con *Pseudomonasa aeruginosa* amplía el conocimiento sobre la regulación génica de las enzimas que inician la degradación de los detergentes de éster de sulfato, que se produce en muchos productos de higiene y domésticos y, por tanto, también en las aguas residuales. Como patógeno oportunista, la *Pseudomonasa aeruginosa* causa graves problemas de higiene debido a su pronunciada resistencia a los biocidas y su versatilidad metabólica, a menudo combinada con su pronunciada formación de biopelículas. El conocimiento sobre la regulación de la degradación de los detergentes, especialmente con respecto a los ligandos de los reguladores de unión al ADN, puede conducir al desarrollo racional de inhibidores específicos para restringir el desarrollo e incremento de biopelículas de *Pseudomonasa aeruginosa* en entornos higiénicos. Además, puede contribuir a optimizar las estrategias de biorremediación no solo para los detergentes sino también para los alcanos,

que cuando se degradan se fusionan con la degradación del éster de sulfato al nivel de los alcoholes de cadena larga.

#### 1.4. Hipótesis

Para el desarrollo de este estudio de investigación, se formuló la hipótesis alterna (Hi) y la hipótesis nula (H0) de la siguiente manera:

**Hi:** Las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* disminuyen la concentración de benceno de las aguas de la laguna de Paca con el método de la biorremediación.

**H0:** Las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* no disminuyen la concentración de benceno de las aguas de la laguna de Paca con el método de la biorremediación.

## 1.5. Operacionalización de variables

**Tabla 1**

Operacionalización de las variables de estudios

Variable	Descripción conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala de medición	
Variable independiente	pH	Es un bacilo flexible extremadamente adaptable, gramnegativo, de alto impacto, con una motilidad unipolar, es cierta oxidasa y puede crearse a altas temperaturas (10).	Niveles de pH	pH = 6 pH = 8	Unidimensional	
	Tiempo		Niveles de tiempo de degradación	Tiempo 1 = 24 Tiempo 2 = 48	Horas	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Concentración de bacterias	C1= 2 (6.10 <sup>8</sup> ) C2 = 6 (18.10 <sup>8</sup> )	UFC/mL	
Variable dependiente	Concentración de benceno	El benceno es una sustancia química líquida, incolora o de color amarillo claro cuando está a temperatura ambiente.(11).	La concentración de benceno será medido en función a la variación de la concentración inicial y final del benceno expresado en porcentaje	Variación de la concentración de benceno	Porcentaje de concentración de benceno	Porcentaje

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes de la investigación

##### 2.1.1. Antecedentes internacionales

Gómez (12) realizó un estudio descriptivo con el fin de determinar la relación de análisis costo-beneficio del método de biorremediación. Se propuso a la biorremediación como una propuesta de solución frente a la contaminación de los distintos cuerpos de agua; para ello se realizó un análisis de diversas metodologías de estudio de investigación. Las bacterias gramnegativas se consideran como responsables de la actividad depuradora. Estas se encuentran en los recursos hídricos y son las *Pseudomonas aeruginosas*, las bacterias aeróbicas, la quimioheterótrofa, los móviles y de forma bacilar para el desarrollo de su metabolismo hacen uso de enzimas lipolíticas. Estas bacterias tienen un gran potencial de adaptación a distintos ambientes, ya que sus requerimientos nutricionales son bajos y se asocian con las plantas. Las aplicaciones de este método para la remoción de contaminantes de los recursos hídricos tienen ventajas como bajo costo de implementación. Ello se considera como una solución simple y completa que tiene aplicación en las industrias tradicionales para el desarrollo de la economía del país.

Por su parte, en Romero (13) se evaluaron microorganismos eficientes para la remoción y reducción de contaminantes en los cuerpos de agua. Estos microorganismos aprovechan los contaminantes del agua como proveedor de energía para el desarrollo de su metabolismo. Por ello, tuvieron como propósito monitorear las transformaciones físicas, químicas y microbiológicas posterior a la aplicación del producto Versaklin. Ello se realizó en 10 puntos de una zanja del municipio Güines, provincia Mayabque, Cuba. Este monitoreo se realizó durante los siguientes intervalos de tiempo 0 h, 24 h y 48 h. Los investigadores concluyeron que, a un tiempo de 24 hrs. posterior a la aplicación del producto Versaklin, se obtuvo la mayor eficiencia en la remoción de microorganismos de los recursos hídricos contaminados.

García (14) desarrolló un estudio de investigación donde analizó el proceso de biorremediación de hidrocarburos totales en las aguas residuales de Puyango. Para ello, se realizó un cultivo de microorganismos que se encargan de reducir

la presencia de hidrocarburos y sus derivados. Primero, se ejecutó la caracterización de las aguas residuales, luego se identificó la presencia de hidrocarburos de petróleo, así como su caudal en un periodo de 7 días. El tratamiento consistió en la combinación de las siguientes bacterias en su forma sólida: *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas* sp. y *Mycobacterium* sp a una mínima concentración de  $4 \times 10^8$  UFC/mL. a un periodo de 30 días. Luego se identificó la concentración de TPH cada semana, se graficó la variación temporal para cuantificar el % de remoción. Esta técnica de bioaumentación tuvo eficiencia significativa en la disminución de TPH alrededor del 86 %. También, se observó remociones de DQO 40 %, aceites y grasas en 50 %, tensoactivos 43 % para el cumplimiento de los parámetros ambientales.

Ara (15) determinaron las bacterias del proceso del método de biorremediación en el agua contaminada con nafta en un reactor de lecho fluidizado. Para el desarrollo de los ensayos morfológicos se analizó la morfología celular y el de las colonias y la reacción que presentan posterior a la coloración gram. Para el análisis de las características fisiológicas se utilizó un sistema biológico sobre la capacidad de aprovechar la nafta como proveedor de carbono. Se aisló 162 morfotipos de colonias aisladas, de los cuales 75 % correspondieron a los bacilos gramnegativos, 19 % grampositivos, 5 % cocos gramnegativos y 1 % cocos grampositivos. Debido a la presencia de diversidad microbiana, se observó un alto porcentaje de eliminación de los contaminantes; así mismo esta operación fue estable y eficiente.

En su investigación, Ome (16) identificó y analizó los aspectos durante la aplicación del método de biorremediación para el tratamiento de aguas residuales. El trabajo de investigación se realizó mediante una revisión sistemática donde se pudo observar los siguientes resultados: pH (Q3) > temperatura (Q2) > oxígeno (Q2) > nitrógeno (Q2) > fósforo (Q1) > DBO<sub>5</sub> (Q1). A nivel mundial, no se pudo demostrar la aplicación en tendencia de estos métodos; no obstante, en Asia, Europa y norte América se observó mayor cantidad de aplicación en cuanto a la tecnología de bioaumentación y bioestimación. De hecho, son las tecnologías químicas (Q2) y físicas (Q2) con un alto índice de reporte. Se tomó como referencia a los resultados obtenido durante el desarrollo de esta investigación para las instituciones ambientales, quienes tienen la función de evaluar la calidad del agua, evaluar y diseñar a través de sistemas de depuración.

Mays (17) realizó una investigación con el propósito de aislar, caracterizar e identificar especies de *Pseudomonas* presentes en la biosfera de leguminosas (plantas colonizadoras o sobrevivientes) en suelos esteparios contaminados con petróleo para determinar cómo promueve el crecimiento de estas leguminosas al reducir la toxicidad del petróleo derramado (hidrocarburos). Para el análisis de las muestras, se hizo uso de un área de 50 m<sup>2</sup>. Con base en la descripción, identificación y comparación con la hierba desecante de UOJ, la leguminosa analizada fue identificada como *Samanea saman* (Jacq.) Merr, perteneciente a la familia *Fabaceae*. Durante el análisis de los resultados de la bioquímica y producción de los pigmentos pirocianina y fluoresceína se logró determinar alrededor de diez aislados como *P. fluorescens*, 5 *P. putida* fuerte y 5 *P. fuerte. aeruginosis*.

Araujo (7) realizó un trabajo de investigación con la finalidad de utilizar cepas bacterianas para la remediación del recurso hídrico contaminada con aceite lubricante. Para ello, se analizó muestras recolectadas del Lago de Maracaibo. Las cepas utilizadas durante el desarrollo se aislaron, luego fueron introducidas a un ensayo de factibilidad, en el cual se usó gasoil para proveer carbono. También, se analizaron 7 cepas bacterianas que fueron eficientes en la remoción de hidrocarburos. Luego se elaboraron cultivos con las cepas bacterianas utilizadas mediante un análisis de biotratabilidad. Se hizo uso de tanques plásticos con capacidad de 25 L para el cultivo mixto (10 %), aceite lubricante (7000 mg/L), parámetros de nitrógenos y fósforo (0.5 g/L; 0.75 g/L; 1 g/L). Se observó resultados significativos ( $P < 0.05$ ) en cuanto a los procesos de cultivo, fertilización y aireación en la degradación del aceite. De otra forma, se observó mayor remoción al rededor del 95% en los tanques inoculados, fertilizados y aireados.

Fernández (18) desarrolló un estudio que tiene como fundamento la biorremediación de tierras de cultivo y animales contaminados con petróleo, el promedio de fugas de pozos abandonados, liberaciones naturales de petróleo crudo. Este método implica el análisis de la zona de impacto y el muestreo a una profundidad de 15 cm. Las diferentes muestras fueron homogeneizadas y colocadas en cuatro biorreactores tratados. Una muestra se tomó como blanco, y el otro tratado con medio mínimo de surfactante (MMS) para el desarrollo de las bacterias. Las concentraciones de todos los hidrocarburos de petróleo (THC) se determinaron por peso y durante 30 días de tratamiento en suelo

limpio fue del 41 % y en suelo tratado fue del 61%, donde los valores se encontraron encima del rango de la legislación ambiental de Venezuela. Para la sección de asfalto, se observaron modificaciones durante las réplicas, mientras que el suelo control se mantuvo constante, ya que las bacterias lograron atacar la fracción oleosa. El porcentaje de resina disminuyó con el tiempo, lo que fue más pronunciado en las réplicas que en el suelo de control.

Jaramillo (19) realizó la descripción de bacterias degradadoras de elementos organofosforados en áreas infectadas con pesticidas, en la zona de Cartagena, Colombia. Las muestras fueron analizadas como una sola, donde una porción de ellas se utilizó para la eliminación de pesticidas y la otra porción de suelo se llevó a una concentración con pesticida organofosfato, monocrotofos por un periodo de 30 días. Luego se aisló las muestras de tierra con el fin de analizar el potencial de las bacterias para su crecimiento en áreas con presencia de pesticida organofosfato. Se hizo uso de espectroscopia UV-VIS para determinar el desarrollo de las bacterias y la degradación del pesticida mediante el método de cromatografía de gases. Con los resultados obtenidos se observó que la familia enterobacteriaceae tuvieron alta capacidad en la eliminación de pesticida organofosforados debido a la presencia de un gen ribosomal 16S.

Lujan (20) realizó una revisión sistemática sobre el efecto de la *Pseudomona aeruginosa* para la remoción de contaminantes en áreas contaminadas con materia orgánica, de difícil degradación y metales altamente tóxicos. Esta bacteria tiene un alto potencial metabólico, además se encuentra en comunidades microbianas y es altamente resistente a los diversos agentes de tratamiento químico. Por ello, esta especie se considera como una de las más eficientes para el tratamiento de áreas contaminadas así como una corriente biotecnológica.

## 2.1.2. Antecedentes nacionales

Castillo (21) tuvo como objetivo la biorremediación del suelo de las zonas impactadas por el derrame de petróleo de Condorcanchi en Perú. Se obtuvieron muestras de agua y tierra infectada con petróleo crudo de la capa superficial (0 cm.—15 cm.) de un derrame de petróleo en agosto de 2016 a 364 900 km. del río Quebrada de Uchichiangos, departamento de Amazonas. Se analizó una muestra de suelo de 1 Kg. y una muestra de agua de 1 Lt. cada una dividida en 3 partes y se almacenaron asépticamente a 4 °C y se taparon desde la mañana

hasta la noche. Este procedimiento se realizó en la instalación del laboratorio IncaBiotec, ubicado en la división Tumbes, para su posterior análisis microbiológico y genético. El método de biorremediación in situ es uno de los más eficientes para la remoción y eliminación de hidrocarburos de petróleo, donde las bacterias utilizan a los hidrocarburos como proveedor de energía para su posterior biodegradación de los hidrocarburos y contaminantes.

Garzón (22) se planteó como objetivo la revisión sobre la aplicación de la biorremediación y su aporte en el cumplimiento de uno de los objetivos de desarrollo sostenible. El estudio tuvo una orientación descriptiva mediante la revisión documental sobre las posibilidades y limitaciones que presenta esta biotecnología en el tratamiento de problemas de contaminación. Entre las principales tecnologías que se han registrado desde la década de 1970, la biorremediación ha demostrado ser rentable y eficiente en la remoción de determinados contaminantes. La principal conclusión a la que se llega es que, a pesar de los beneficios de las tecnologías de biorremediación, existen algunas dificultades en la aplicación debido a las restricciones impuestas por el sustrato y variabilidad ambiental, el potencial limitado de biodegradación y la viabilidad de los microorganismos de origen natural, entre otras.

Zapana (23) tuvo como objetivo estudiar la capacidad de las especies de hongos filamentosos que se encuentran en este lago de efluentes con potencial para la biorremediación de cromo (VI). Se aislaron catorce especies de hongos filamentosos; solo se identificaron dos especies *Penicillium citrinum* y *Trichoderma viride*, y una tercera cepa identificada como *Penicillium* sp. Los hongos filamentosos demostraron ser totalmente tolerantes a concentraciones de cromo (VI) de hasta 100 mg/L. Estas cepas fúngicas mostraron un crecimiento significativo en concentraciones de cromo (VI) de hasta 250 mg/L. El análisis del índice de tolerancia (TI) reveló que *P. citrinum* y *T. viride* comenzaron a adaptarse a concentraciones de cromo (IV) de 250 mg/L y 500 mg/L, después de 6 y 12 días, respectivamente. Cuando se expuso a concentraciones más altas de Cr (VI) (1000 mg/L), solo *T. viride* pudo mostrar crecimiento (fase de mejora). Curiosamente, una de las respuestas significativas de estas cepas fúngicas al aumento de las concentraciones de cromo (VI) fue un incremento en las enzimas lacasa secretadas. Los resultados muestran tolerancia y adaptación a concentraciones elevadas de cromo (VI) de estas cepas de hongos, lo que sugiere su potencial como agentes efectivos para la biorremediación.

Humanante (24) evaluó el proceso del método de biorremediación para la eliminación y reducción de contaminantes. La aplicación de este método ha sido uno de los más significativos y con bajo presupuesto para remover los contaminantes de la naturaleza. No obstante, los resultados de este método están en función de las condiciones ambientales; por lo que se busca tecnologías innovadoras que sean eficientes, rentables, amigables con la naturaleza para una buena calidad de vida. Se recomendó que para estudios posteriores sobre el método de biorremediación se tiene que desarrollar un análisis previo teniendo en cuenta el aspecto ecológico y económico de las áreas contaminadas.

Oruna (25) realizó la recopilación de información sobre los aspectos de la biorremediación de hidrocarburos en aguas contaminadas de forma tal que pueda ser útil para futuros trabajos sobre este tema, así como la mejora en cuanto a estrategias existentes se refiere. Finalmente, se concluyó que la biorremediación en los trabajos revisados, tuvo un desempeño satisfactorio, demostrando que es una de las mejores alternativas de solución en el tratamiento de aguas contaminadas, debido a que este método, comparado con otros, presenta un bajo costo y, a su vez, no representa otros peligros para el ambiente.

Ugaz (26) determinó la eficiencia de surfactante generadas por la *Pseudomona* spp. Estas especies son degradadoras de hidrocarburos como el petróleo. Para ello, se recopilaron muestra de suelo con presencia de petróleo, donde las bacterias hicieron uso de este compuesto para su fuente de energía y carbono alrededor de 24 horas a 96 horas y un 84.62 % respectivamente. Con los resultados obtenidos se observó que alrededor del 92.42 % de bacterias generaron biosurfactante con un rango de diámetro de 10 mm a 30 mm. La concentración se encontró de 1.0 g/L a 1.5 g/L y presentaron una eficiencia del 35 %, 31 % y 19 % de la *pseudomona* sp. 2HI, *Pseudomona* sp. 8JU, *Pseudomona* sp. 4CF respectivamente. También, se observó la elaboración de surfactantes mediante las bacterias degradadoras de petróleo y su eficiencia elevada en la remoción de contaminantes de los suelos.

Pellizzari (27) investigaron el parámetro de resistividad al arsénico en cultivo puro de *Pseudomonas aeruginosa* aislada de aguas subterráneas en la provincia de Chaco. Para ello, se analizó la capacidad de remover este contaminante presente en los diversos recursos hídricos. Estas cepas se

inmovilizaron sobre una roca y se cultivaron en salmuera a una concentración de 1 mg As/L. Con los resultados obtenidos, se logró evidenciar la resistencia al arsénico y formación de biopelículas que conducen a interacciones entre las células, el suelo y el arsénico. La eliminación del contaminante se realizó durante un periodo de 3 meses logrando de esa manera una eliminación del 60%.

Hernández (28) realizó un estudio de investigación con la finalidad de utilizar el método de biorremediación para degradar plaguicidas y transformarlos en sustancias más sencillas y con bajo índice de contaminación a través del metabolismo de la especie degradadoras. Así mismo se definieron y precisaron los hongos y bacterias que se usan en el proceso de biorremediación de plaguicidas como organosoforados en suelos agrícolas. Se realizó una revisión sistemática de diferentes fuentes académicas. Durante la recopilación de información, se observó que el clorpirifós es el organofosforado con mayor estudio y las especies más utilizadas en el proceso de biorremediación son el *Bacillus* y *Pseudomonas*. La eficiencia de este método está en función de la capacidad de los microorganismos, su biodisponibilidad y condiciones ambientales como temperatura, pH, tipo de suelo y presencia de inóculos.

Hormaza (29) realizaron un trabajo de investigación con el fin de determinar la incidencia del compost de estiércol de animal para el proceso de biorremediación de metales pesados en tierras con presencia de relaves mineros. Para ello, se hizo uso del método hipotético—deductivo, de nivel explicativo con diseño preexperimental. Para el análisis de la muestra se hizo uso del estiércol de vacuno, ovino y cuy. Se obtuvieron 8 biopilas con composiciones diversa de sustrato de malta, jora y levadura. Durante el análisis de los suelos contaminados se observó que este presenta altos índices de contaminación con metales pesados que están encima de la normatividad ambiental, con valores de 117.4 mg/kg., 9137 mg/Kg. y 11 851 mg/Kg. de Cu, Pb, y Zn respectivamente. Se alcanzó una mayor eficiencia de remoción de plomo en un ambiente aeróbico del 90.42% y sustrato del 91.99%.

Apaza (30) realizó una investigación con el fin de determinar las especies que se usan en el proceso de biorremediación para eliminar los metales pesados de efluentes mineros con cianuro. Por ello, se realizó una revisión sistemática de diversas fuentes confiables de información. Se identificó a las principales

especies de remoción de cianuro donde las principales fueron las *pseudomonas* y *bacillus*. Así mismo, se determinó la importancia de factores como pH, temperatura, concentración de biomasa y cianuro para obtener altos porcentajes de remoción del cianuro. Este método de biorremediación tomó mayor aplicación durante los últimos años, no obstante, se evidenció que en nuestro país hay necesidad de realizar más investigaciones a un nivel piloto y planta.

## 2.2. Bases teóricas

### 2.2.1. Contaminación ambiental

Históricamente, la extracción de recursos ha causado cambios ambientales dramáticos en todo el mundo. Si bien la minería y la extracción de petróleo han transformado paisajes y contaminado el aire y el agua dondequiera que hayan tenido lugar, el conocimiento de cómo se han experimentado y vivido estas transformaciones ambientales en diferentes partes del mundo sigue siendo fragmentario. A partir de ello, se busca brindar nuevos conocimientos sobre las historias ambientales de la extracción de recursos, particularmente en el Sur Global, donde las industrias extractivas se han intensificado notablemente desde 1950. A partir de estudios recientes de historia ambiental, es necesario extender el análisis con el imperialismo, el capitalismo y la desigualdad ambiental en localidades africanas, asiáticas y latinoamericanas de extracción de recursos. Además, basándonos en el marco analítico de la ecología política, examinamos por qué las protestas contra las industrias extractivas ocurrieron o no en sitios específicos. Dada la creciente demanda mundial de recursos y las apremiantes cuestiones actuales sobre cómo vivir en el Antropoceno, es oportuno analizar las prácticas de producción, la contaminación y las protestas en la historia mundial (31).

### 2.2.2. Evidencia sobre el impacto de la contaminación del agua

El Congreso aprobó la Ley de Agua Potable Segura (SDWA) en 1974 para salvaguardar la salud pública al permitir la regulación federal del suministro nacional de agua potable. Esta norma de control ambiental establece estándares basados en la salud para contaminantes comunes y supervisa el cumplimiento de estos estándares. Enmendada en 1986 y 1996 para fortalecer y extender las reglas originales, la SDWA sigue siendo la principal ley federal sobre el agua potable de la nación (32).

La SDWA se aplica a todos los más de 160 000 sistemas públicos de recurso hídricos en los Estados Unidos. Además, se encargan de proporcionar agua a casi todos los estadounidenses en algún momento de sus vidas. El agua para los sistemas públicos de agua se extrae de pozos subterráneos o fuentes de agua superficial, incluidos ríos y lagos, y pasa por instalaciones de tratamiento antes de llegar a los sistemas de distribución (32). Según las pautas establecidas por la SDWA, las pruebas de contaminación las realiza un tercero. Los límites máximos de contaminantes (MCL) se establecen como los requisitos estatales y federales más estrictos y las concentraciones por encima de estos límites incurren en violaciones. Las pautas de prueba, incluida la frecuencia, la ubicación y las acciones de seguimiento, están determinadas por el tipo de contaminante, el tamaño de la población atendida y otros parámetros (32).

En comparación con la contaminación del aire, ha habido relativamente poca investigación sobre la incidencia de la contaminación de los recursos hídricos en la salud en países altamente desarrollados como. A diferencia de la contaminación del aire, los datos sobre la contaminación del agua son más difíciles de obtener y menos conducentes a estimar los efectos sobre la salud. Por ejemplo, aunque la calidad del agua se monitorea continuamente, los datos se informan solo cuando ocurren infracciones y solo se puede acceder a ellos a gran escala mediante la presentación de una solicitud de la Ley de Libertad de Información (32).

### 2.2.3. Efectos de la contaminación del agua en la salud humana

Existe una mayor asociación entre contaminación y problema de salud. Las especies responsables del origen de infecciones y enfermedades son los patógenos y estos patógenos propagan enfermedades directamente entre los humanos. Algunos patógenos están en todo el mundo; de hecho, algunos se encuentran en un área bien definida. Muchas enfermedades transmitidas por el agua se están contagiando de hombre a hombre. Las fuertes lluvias y las inundaciones están relacionadas con el clima extremo y crean diferentes enfermedades para los países desarrollados y en desarrollo. Alrededor de un 10% de los habitantes requieren alimentos que emplean como fuente a recurso hídricos contaminados. En consecuencia, se transmite una gran cantidad de enfermedades infecciosas ya que los cuerpos de agua presentan contaminantes fecales que dan como resultado una ruta de infección fecal-oral (33). El riesgo

para la calidad de vida asociado con la presencia de contaminantes en los recursos hídricos originan enfermedades diarreicas, respiratorias, trastornos neurológicos entre otras enfermedades (34). Los productos químicos nitrogenados son responsables del cáncer y del síndrome del bebé azul. La tasa de mortalidad por cáncer se presenta con mayor índice de incidencia en las zonas rurales porque los habitantes urbanos usan agua tratada para beber, mientras que la gente rural no tiene instalaciones de agua tratada y usa agua sin procesar. Las personas pobres corren un mayor riesgo de contraer enfermedades debido a un saneamiento, higiene y suministro de agua inadecuados. El agua contaminada tiene grandes efectos negativos en aquellas mujeres que están expuestas a químicos durante el embarazo; conduce a una mayor tasa de bajo peso al nacer como resultado de que la salud fetal se ve afectada (32).

El agua de mala calidad destruye la producción de cultivos e infecta nuestros alimentos, lo que es peligroso para la vida acuática y humana. Además, las diversas especies contaminantes alteran significativamente la cadena alimenticia acuática que por consecuencia los peces tienen un sistema respiratorio dañado. Una obstrucción de hierro en las branquias de los peces y es letal para los peces, cuando estos peces son consumidos por humanos conduce a un problema de salud importante. El agua contaminada con metales provoca pérdida de cabello, cirrosis hepática, insuficiencia renal y trastornos neurales (33).

#### 2.2.4. Clasificación de los contaminantes del agua

Los recursos hídricos presentan diversos contaminantes como compuestos químicos naturales y sintéticos o iones que ingresan al agua a través de diversas actividades y presentan un riesgo potencial para el ecosistema. Los contaminantes del agua se dividen ampliamente en dos categorías: (1) contaminantes orgánicos y (2) contaminantes inorgánicos, que además se pueden subdividir en otras categorías (35).

##### A. Tintes orgánicos

Los colorantes son moléculas orgánicas complejas que consisten en cromóforos y auxo-cromos. El cromóforo es responsable de la producción de color, mientras que el auxocromo es un grupo funcional adjunto al cromóforo que ayuda a que el tinte se una al objeto. Los grupos ácido carboxílico, amino, ácido sulfónico e hidróxilo son ejemplos típicos de

auxocromos. Los auxocromos no imparten ni participan en la producción de color, pero su presencia cambia el color y también influye en la solubilidad del tinte. Durante muchas décadas, los tintes se han utilizado en telas para impartir colores que no son fáciles de quitar y son resistentes al calor, detergente, etc. Más de 100 000 tipos de tintes orgánicos están disponibles comercialmente en el mercado con una producción anual de  $7.10^5$  toneladas por año. El uso de tintes es omnipresente en las industrias de curtido de cuero, papel y textil para teñir papel y telas (35).

#### B. Pesticidas

Los plaguicidas son productos químicos orgánicos que se utilizan para controlar plagas, insectos (por ejemplo, mosquitos, roedores, garrapatas, etc.), hongos y hierbas, y para prevenir malezas, enfermedades e infecciones de insectos en los cultivos. Esto da como resultado un flujo invisible de pesticidas hacia el nivel freático. Estos productos químicos son beneficiosos para los seres humanos hasta cierto punto, ya que pueden controlar los efectos nocivos y las enfermedades al matar las plagas, pero el uso extensivo de tales productos químicos contamina el medio ambiente y amenaza la salud pública. En los Estados Unidos, el uso anual de pesticidas convencionales es de aproximadamente 1000 millones de libras y de estos 750 millones a 800 millones de libras se utilizan en la agricultura. Los residuos de plaguicidas se consideran una de las causas principales de contaminación orgánica. Los plaguicidas pueden disolverse fácilmente en agua y luego es difícil extraerlos (35).

#### C. Ingredientes farmacéuticos

Los fármacos son esenciales en la mejora de la calidad de vida en humanos y animales. Sin embargo, los efluentes de la industria farmacéutica contienen precursores de fármacos (incluidos organismos patógenos y elementos radiactivos) y antibióticos y, a menudo, se eliminan de forma invisible en los cuerpos de agua. Además de la eliminación directa en el agua por parte de la industria, los compuestos activos farmacéuticos (PhAC) también ingresan al sistema de agua a través de la excreción (orina y heces) después del consumo de medicamentos, o cuando se eliminan como medicamentos caducados o sin usar (36). Los fármacos más utilizados son el paracetamol, el ibuprofeno, el diclofenaco, el citalopram, el naproxeno, el ácido acetilsalicílico y la carbamazepina.

Estos no son biodegradables, pues contienen elementos radiactivos y su ingesta excesiva a través del agua contaminada tiene un efecto nocivo para la salud (37). Aunque algunos ingredientes farmacéuticos tienen una baja persistencia en el medio ambiente, la tasa de liberación de efluentes farmacéuticos en las corrientes de agua es mucho mayor que la tasa de transformación (38).

#### D. Cuidado personal y cosméticos

Las materias usadas en el cuidado personal y los cosméticos se utilizan ampliamente en todo el mundo en grandes cantidades. Ello resulta en la liberación continua e invisible de productos o ingredientes de higiene personal y cosméticos al medio ambiente. En conjunto, estos impactan en la vida de los seres vivos, ya que estos son bioactivos, altamente persistentes en el medio ambiente y también pueden bioacumularse (39). El cuidado personal y los cosméticos incluyen cualquier producto que se aplica en la parte externa del cuerpo, como la piel, las uñas, el cabello, los labios y los órganos genitales externos, o la higiene bucal, como los dientes y la membrana mucosa de la cavidad oral con el fin de hacer limpiarlos, protegerlos de gérmenes, prevenir malos olores, cambiar de apariencia y mantenerlos en buenas condiciones (40). A diferencia de las drogas farmacéuticas, los productos cosméticos y de cuidado personal pueden consumirse solo para uso externo. Por lo tanto, es más probable que ingresen al medio ambiente en grandes cantidades debido a las actividades humanas, por ejemplo, durante el baño o el lavado, y causen más problemas a los sistemas ecológicos: los jabones, los tintes para el cabello, las pinturas para las uñas, las fragancias, los emulsionantes, los absorbentes de ultravioleta, los acrilatos, los conservantes y los antioxidantes son ejemplos comunes de productos cosméticos y de cuidado personal de uso diario. Algunos de estos son peligrosos para la salud y la exposición intensa a tales cosméticos químicos puede causar cáncer, alteraciones endocrinas, mutaciones, alergias y toxicidad reproductiva (35).

#### E. Hidrocarburos poliaromáticos

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) son una clase de contaminantes orgánicos del agua que están recibiendo un interés considerable en todo el mundo debido a su toxicidad cancerígena y

mutagénica crónica. Los PAH son generalmente lipofílicos y exhiben una mínima solubilidad en agua. Además, el PAH presenta características como su solubilidad que al entrar en contacto con el agua aumenta su peso molecular, lo que les permite asentarse y acumular sedimentos en el fondo de los recursos hídricos. Los PAH consisten en dos o más anillos de hidrocarburos aromáticos fusionados y son muy persistentes en un entorno que disminuye con un aumento de varios anillos aromáticos. Los PAH tienen una aplicación de fabricación principalmente industrial como reactivos intermedios en productos fotográficos, tintes, productos farmacéuticos, plásticos termoendurecibles y otras industrias químicas. La naftalina es el ejemplo más simple de PAH (35).

#### F. Derrames de petróleo

El petróleo es un importante contaminante orgánico del agua que puede ingresar a los cuerpos de agua a partir de fugas de tortas de petróleo, derrames de petróleo durante el transporte a través de barcos y refinerías, y aguas residuales industriales. La contaminación por petróleo en el agua puede ser en forma de lubricantes, grasas, líquidos de corte, hidrocarburos livianos (p. ej., queroseno, gasolina y combustible para aviones) e hidrocarburos pesados (p. ej., grasa, alquitrán, aceite diésel y petróleo crudo) (41).

#### G. Metales pesados

El uso de metales pesados está generalizado en productos cosméticos, automóviles, metalizado, galvanoplastia, operaciones mineras, baterías, etc. Los metales pesados más utilizados y altamente tóxicos que se liberan en las aguas residuales industriales son Zn, Ni, Pb, Hg, Cd, Cu, Cr y Pd. Unos pocos elementos trazan (como Zn, Cu, Mg y K) son esenciales para regular los procesos bioquímicos y el metabolismo en el cuerpo humano, pero solo dentro de ciertos límites. Un exceso de estos metales pesados puede dar lugar a importantes problemas de salud, como exceder la concentración recomendada de Ni(II) en el agua provoca cáncer, infertilidad, insomnio y trastornos de la piel, los pulmones y los riñones. El Hg y el Pb son neurotóxicos que atacan directamente al sistema nervioso central y tienen otros efectos nocivos, como disfunciones renales, hepáticas y del aparato reproductor, vómitos, mareos, dolor torácico, etc. (35).

#### H. Sustancias radioactivas

Las actividades antropogénicas y naturales en su mayoría causan contaminación radiactiva o radiológica del agua. Las actividades antropogénicas incluyen la eliminación de desechos nucleares, las pruebas de armas nucleares, las emisiones de las plantas de energía nuclear, los derrames de la extracción de combustible nuclear y la fabricación y el uso de fuentes radiactivas (42).

#### I. Sales inorgánicas

Varias sales o aniones inorgánicos, como las sales de nitrato, amonio, fosfato y sulfato, contribuyen a la contaminación del agua y deterioran la calidad del agua. El amoníaco y las sales de amonio se utilizan principalmente en la agricultura (como fertilizante), en la industria (fabricación de plásticos, papel, caucho, etc.), en el procesamiento de metales (como refrigerante) y como agentes de limpieza y aditivos alimentarios. El nitrato de amonio se usa ampliamente en materiales explosivos, construcción civil y minería. El exceso de sales de amonio en el cuerpo produce disfunción del sistema nervioso, daño renal, toxicidad para la reproducción, embriotoxicidad, acidosis y edema pulmonar (35).

#### 2.2.5. El efecto de los detergentes en los ecosistemas acuáticos

La discusión sobre el impacto ambiental de los detergentes se ha centrado generalmente en la descarga de aguas residuales industriales y domésticas en las aguas receptoras. La degradación incompleta de los tensioactivos conduce al desarrollo de espuma masiva en los arroyos y ríos cercanos a las presas. De hecho, los surfactantes pueden descomponerse solo bajo ciertas condiciones proporcionando microorganismos especiales para su degradación. Según la literatura especializada, uno de los principales problemas en los últimos años es la contaminación de las diversas fuentes de agua, lo cual se debe a la alta toxicidad y biodisponibilidad de compuestos químicos como los detergentes. En general, uno de los problemas que provoca una alta concentración de detergente en el medio acuático es la producción de una capa de espuma en la superficie de las aguas. Esto hace que estos compuestos reduzcan la tasa de penetración de oxígeno del aire en el agua, lo que resulta en la adsorción defectuosa de oxígeno disuelto por parte de organismos acuáticos (43).

#### A. Efecto de los detergentes en el pescado

Como se mencionó, por sus características especiales, los componentes de los detergentes tienen un efecto sobre el ecosistema acuático y son responsables de la alteración de parámetros físicos y químicos de las aguas naturales como temperatura, salinidad, turbidez y pH. Los resultados de la disminución de la calidad del agua causan las tendencias fisiológicas y bioquímicas en los peces y afectan la dosis de oxígeno disuelto utilizado en los peces. Además, la acumulación de detergentes en el agua en poco tiempo puede perturbar la vista de los peces y también puede causar daños en sus branquias (44).

#### B. Efecto de los detergentes sobre los hongos

La amplia difusión de detergentes de diferentes fuentes en los cuerpos de agua es conocida como una de las causas fundamentales del deterioro de la calidad del agua. Especies como los hongos tienen un rol fundamental para la remoción de contaminantes, por lo que son un miembro importante del ecosistema y tienen incidencia directa en la cadena alimentaria. Además, diversos contaminantes como componentes del detergente pueden afectar a este importante organismo vivo. Los surfactantes tienen la capacidad de aumentar la solubilidad de los sustratos hidrofóbicos, lo que resulta en una mayor toxicidad de los mismos (45).

#### C. Efecto de los detergentes en la planta.

En base a las características del detergente antes mencionadas, los detergentes son dañinos para la vida vegetal, especialmente para las plantas acuáticas. El proceso de eutrofización es el resultado de la descarga de detergente en los cuerpos de agua debido a una alta concentración de fosfatos. Este proceso es un regalo importante para la vida marina, como las algas y los corales. Además del efecto directo de los detergentes sobre los cultivos acuáticos, la disminución de las poblaciones de plantas marinas puede tratar indirectamente a las especies marinas que dependen de ellas para su alimentación, hogar, protección o lugar para desovar (46).

#### D. Efecto de los detergentes sobre las bacterias

Las aguas naturales en base a sus características cualitativas se componen de diferentes tipos de microorganismos. La diversidad y densidad de bacterias en los recursos hídricos pueden verse afectadas por

la descarga de detergentes, que pueden tener efectos biológicos y económicos inapropiados. Las características bactericidas y bacteriostáticas de los agentes de limpieza se han informado durante muchos años. Investigaciones anteriores confirmaron que los detergentes sintéticos tienen diferentes propiedades antibacterianas debido a sus características y pueden limitar las actividades metabólicas y el índice de desarrollo de las bacterias acuáticas (43).

#### E. El efecto de los detergentes en el tratamiento de aguas residuales

La calidad de los efluentes generados por la producción de detergentes y limpiadores es más importante que su cantidad debido a las altas concentraciones de productos químicos. El consumo doméstico e industrial de detergente produce aguas residuales, causa de muchos problemas ambientales (46). Los resultados de la caracterización de aguas residuales por *Papadopoulos et al* (47) mostró que los efluentes de las industrias de detergentes presentan un alto contenido de materia orgánica. Los resultados confirmaron la baja biodegradabilidad de las aguas residuales debido a la baja relación entre la demanda biológica de oxígeno (DBO)<sub>5</sub> y la demanda química de oxígeno (DQO), con una DBO<sub>5</sub> de 250 mg/L a 6300 mg/L y una DQO de 2400 mg/L a 26 400 mg/L. Además, las sustancias activas de azul de metileno (ABS) aparecieron en altas concentraciones (180 L/mg – 16 900 L/mg), así como sulfatos y amoníaco. Otro parámetro importante fue el pH, que tuvo una amplia variación (2.7–11.6) (47).

#### 2.2.6. Historia de los detergentes

La referencia literaria más antigua al jabón es una tablilla sumeria del año 2200 a.C. donde se registra una fórmula de jabón que consta de agua, álcali y aceite de casia, pero no se sabe exactamente cuándo se descubrió. La producción industrial de jabón (grasas y aceites hirviendo con un álcali) se mantuvo básicamente igual hasta 1916, cuando se desarrolló el primer detergente sintético en Alemania en respuesta a la Primera Guerra Mundial, ya que se dio una falta de materia prima como las grasas para hacer jabón. Los jabones tienen una ventaja sobre los sistemas de tensioactivos sintéticos incorporados con respecto a la redeposición de la suciedad y el mantenimiento de la blancura, actúan como su propio ablandador de agua y, por lo tanto, cuando hay suficiente jabón para formar espuma y lavar, el agua ya se ha ablandado. La necesidad de agentes anti-redeposición comenzó con la introducción de

detergentes para ropa de múltiples componentes basados en tensioactivos sintéticos, aunque los tensioactivos sintéticos ayudan a prevenir la redeposición de la suciedad hasta cierto punto, este efecto no es muy pronunciado, lo que hace que sea necesario un auxiliar de retención de la blancura (48).

Sin embargo, el paso a un sistema de adyuvante sin fosfato aumentó la complejidad general de los detergentes en polvo. Además de unir iones de dureza, el fosfato proporciona una serie de otras funciones que son fundamentales para la eliminación y limpieza eficientes de la suciedad. Estos incluyen la peptización o ruptura del suelo, la dispersión del suelo, la suspensión y la amortiguación del pH. Eliminar el fosfato de las fórmulas de los detergentes requería que los fabricantes identificaran otros activos que pudieran cumplir su función multifuncional. Hoy en día, los polvos de fosfato cero contienen zeolitas y/o silicatos de capa para el control de la dureza, polímeros de policarboxilatos para la suspensión del suelo, ácido cítrico para la peptización y dispersión del suelo, así como para el control del pH y carbonato para el control del calcio y la amortiguación (48).

## 2.2.7. Composición de detergentes de lavandería

### A. Tensioactivo

El término agente tensioactivo representa una molécula heterogénea y de cadena larga que contiene restos hidrófilos e hidrófobos. Al variar la parte hidrófoba e hidrófila de un tensioactivo, se pueden ajustar una serie de propiedades, p. capacidad humectante, capacidad emulsionante, capacidad dispersiva, capacidad espumante y capacidad de control de la formación de espuma (48).

El tensioactivo:

- 1) Mejora la capacidad humectante del agua
- 2) Afloja y elimina la suciedad con la ayuda de la acción de lavado
- 3) Emulsiona, solubiliza o suspende la suciedad en la solución de lavado

### B. Constructores

Los constructores son el segundo ingrediente más importante del detergente porque mejoran o “construyen” la eficacia de limpieza del

tensioactivo. Los constructores están diseñados para hacer lo siguiente (48):

1. Suaviza el agua uniendo los minerales del agua dura
2. Previene los iones de dureza del agua
3. Ayuda a que los surfactantes se concentren en eliminar la suciedad de las telas
4. Aumentar la eficiencia del surfactante
5. Proporcionar un nivel deseable de alcalino para ayudar en el proceso de limpieza
6. Dispersar y suspender la suciedad para que no se vuelva a depositar en la ropa

#### C. Zeolita

La zeolita es un agente secuestrante de iones metálicos multivalentes. Diversos iones presentes en el agua dura del grifo como los iones de calcio y magnesio forman una sal con tensioactivos aniónicos cuyo punto de krafft es mucho más alto que la temperatura ambiente. La sal tensioactiva de alto punto de krafft se precipita fuera de las soluciones limpiadoras, perdiendo así sus propiedades tensioactivas. La zeolita secuestra los iones multivalentes y evita que los tensioactivos aniónicos se precipiten de las soluciones (48).

#### D. Agentes alcalinos

Una condición alcalina en una solución limpiadora es útil para dar cargas negativas a los suelos y sustratos. El carbonato de sodio y los silicatos de sodio son ejemplos típicos de dichos agentes alcalinos. La suciedad aceitosa que contiene ácidos grasos puede eliminarse espontáneamente en soluciones alcalinas debido a la formación de jabones en la suciedad (48).

#### E. Inhibidor corrosivo

El inhibidor de corrosión, generalmente silicato de sodio, ayuda a proteger las piezas de la lavadora de la corrosión. Los líquidos ligeros diseñados para lavar platos a mano no contienen inhibidores de la corrosión, ya que no están destinados para su uso en una lavadora (48).

#### F. Los coadyuvantes

Los coadyuvantes de procesamiento cubren una lista considerable de ingredientes como sulfato de sodio, agua, solventes como el alcohol o el sulfonato de xileno. Estos proporcionan al producto las propiedades físicas adecuadas para su uso previsto. El sulfato de sodio, por ejemplo, ayuda a proporcionar polvos crujientes y de flujo libre. Los alcoholes se utilizan a menudo en productos líquidos donde sirven como disolventes para los ingredientes del detergente, ajustan la viscosidad y evitan la separación del producto (48).

#### G. Colorantes

Se agregan colorantes para dar individualidad al producto o resaltar un aditivo especial que contribuye al rendimiento del producto. Además, los colorantes azules pueden proporcionar un azulado que imparte un color azul/blanco deseable a las telas blancas (49).

#### H. Benceno

Los tensioactivos a base de benceno más utilizados en los detergentes para ropa son los sulfonatos de alquilbenceno (ABS) y los sulfonatos de alquilbenceno lineales (LAS). Los tensioactivos reducen la tensión superficial entre el líquido y las manchas de la ropa, suspenden las partículas de suciedad en el agua y facilitan su disolución y lavado. El aire interior tiene altos niveles de benceno, emitido por productos domésticos como detergentes, pintura y cera para muebles. Irrita la piel, la nariz y los ojos, y es tóxico para la vida acuática (50).

#### 2.2.8. Biorremediación

La biorremediación es un proceso que utiliza principalmente microorganismos, plantas o enzimas microbianas o vegetales para desintoxicar los contaminantes en el suelo y otros ambientes. El concepto incluye la biodegradación, que refiere a la transformación o desintoxicación parcial, y a veces total, de contaminantes por parte de microorganismos y plantas. La degradabilidad de un contaminante orgánico a sustancias inorgánicas se da mediante el proceso de mineralización que es llevada a cabo por diversos microorganismos. El cometabolismo es otro término más restrictivo que se refiere a la transformación de un contaminante sin la provisión de carbono o energía para los microorganismos que lo degradan (11).

El proceso de biorremediación aumenta la tasa de degradación microbiana natural de los contaminantes al complementar los microorganismos autóctonos (bacterias u hongos) con nutrientes, fuentes de carbono o donantes de electrones (bioestimulación, biorestauración) o al agregar un cultivo que presenta alto contenido de especies con capacidad de degradar contaminantes en un periodo de tiempo reducido (bioaumentación). El objetivo de la biorremediación es no la eliminación sino la reducción los niveles de contaminantes a niveles indetectables, no tóxicos o aceptables, es decir, dentro de los límites establecidos por las agencias reguladoras o, idealmente, mineralizar completamente los organocontaminantes a dióxido de carbono (11).

El método de biorremediación, así como el procesamiento de aguas residuales y la descontaminación de suelos, están en función del potencial de las bacterias para utilizar compuestos orgánicos tóxicos, como disolventes o detergentes, como sustratos de crecimiento. La presencia de tales compuestos tóxicos es generalmente un desafío para las bacterias y requiere mecanismos de protección que consumen energía, como bombas de expulsión (1) y chaperonas (2). Si el compuesto tóxico es la única fuente de energía y carbono, este desafío aumenta porque las células bacterianas tienen que absorber y exponer su membrana celular y citosol a estos químicos. Dado que la energía necesaria para la protección contra este estrés químico tiene que originarse en el catabolismo del sustrato tóxico, este proceso requiere adaptaciones elaboradas para proporcionar una regulación bien equilibrada del catabolismo y los mecanismos de protección para evitar el daño celular perjudicial (51).

#### 2.2.9. Tipos de biorremediación

Según la estrategia de biorremediación

- Bioestimulación. Esta técnica consiste en el aprovechamiento de las propiedades de los microorganismos que se encuentran en los recursos hídricos o suelo para incrementar su metabolismo y desarrollo. Así, se lleva a cabo el proceso de degradación de sustancia contaminantes. De esta manera, este proceso hace uso de nutrientes para altera los parámetros de un área contaminada (52).
- Bioaumentación. Esta técnica de biorremediación consiste en la utilización de bacterias u hongos que presentan el potencial de degradar

sustancias contaminantes dentro de un área infectada. Por ello, se requiere optimizar y mejorar este proceso (52).

Según dónde se hace la biorremediación

- Biorremediación in situ. Este proceso ocurre en el mismo lugar donde se encuentra la presencia de contaminantes, evitando así el transporte de las muestras. Se hace uso de este método cuando el volumen a evaluar o analizar es demasiado grande o el área presente altos índices de contaminación (10).
- Biorremediación ex situ. Este proceso se realiza posterior a la extracción de muestras ya sea de agua o tierras contaminadas. Se llevan a cabo en laboratorio especializados y se trabaja con cantidades pequeñas de muestras (10).

Según los organismos usados para la biorremediación

- Degradación enzimática. Este método se lleva a cabo mediante la incorporación de enzima a las áreas contaminadas para la degradabilidad de los agentes contaminantes.
- Biorremediación microbiana. Este proceso hace uso de bacterias y hongos para la remoción de contaminantes; además, se usan microorganismos con alta capacidad de hacer uso a los contaminantes como fuente para su metabolismo (10).
- Fitorremediación. Este proceso es realizado por las plantas y se tienen diversos tipos según sus características y propiedades de las plantas como su capacidad de degradación, inmovilización, entre otros (10).

#### 2.2.10. Bacteria *Pseudomona aeruginosa*

Es un bacilo flexible extremadamente adaptable, gramnegativo, de alto impacto, con una motilidad unipolar, es cierta oxidasa y puede crearse a altas temperaturas.

Se distribuye ampliamente en el medio ambiente, los recursos hídricos (arroyos, lagos, suministros, duchas, baños, piscinas y jacuzzis, etc.), tierras y materiales húmedos, en las vegetaciones (alimentos, fomites). Asimismo, puede ser una parte del verdor microbiano saprófito ordinario de las zonas empapadas de la piel (axilas, zanjas relacionadas con el sonido, lugar perineal y capas mucosas). Su temperatura ideal de desarrollo es de 37° C, pero

puede soportar temperaturas de hasta 45° C-50° C. El tiempo que puede resistir es alrededor de 70 días con agua desionizada.



**Figura 1.** Vista microscópica de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*.

### 2.3. Definición de términos básicos

- Contaminación del agua: Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), corresponde a proceso de modificación de la estructura hasta que llegue a ser inservible. Esta agua no puede ser usada para el consumo humano ni el desarrollo de trabajos como agricultura, también es una de las principales causas de alrededor de 500 000 muertes cada año debido a la transmisión de enfermedades infecciosas como el cólera, fiebre tifoidea y poliomielitis (35).
- Contaminantes del agua: Corresponden a los compuestos químicos naturales y sintéticos o iones que ingresan al agua a través de diversas actividades y presentan un riesgo potencial para el ecosistema (35).
- Tintes orgánicos: Los colorantes son moléculas orgánicas complejas que consisten en cromóforos y auxocromos (35).
- Pesticidas: Los plaguicidas son productos químicos orgánicos que se utilizan para controlar plagas, insectos (por ejemplo, mosquitos, roedores, garrapatas, etc.), hongos y hierbas, y para prevenir malezas, enfermedades e infecciones de insectos en los cultivos (35).
- Hidrocarburos aromáticos policíclicos: Son una clase de contaminantes orgánicos del agua que están recibiendo un interés considerable en todo el mundo debido a su toxicidad cancerígena y mutagénica crónica (35).
- Detergente: Los detergentes son tensioactivos; es decir, reducen en gran medida la tensión superficial del agua cuando se usan en concentraciones muy bajas (43).
- Contaminación ambiental: Es causada por la extracción de recursos causando cambios ambientales dramáticos en todo el mundo. Si bien la minería y la extracción de petróleo han transformado paisajes y contaminado el aire y el agua dondequiera que hayan tenido lugar (31).
- Ingredientes farmacéuticos: Los fármacos son esenciales para el diagnóstico y tratamiento de muchas enfermedades en humanos y animales (38).
- Derrame de petróleo: El petróleo es un importante contaminante orgánico del agua que puede ingresar a los cuerpos de agua a partir de fugas de tortas de petróleo,

derrames de petróleo durante el transporte a través de barcos y refinerías, y aguas residuales industriales (41).

- Metales pesados: El uso de metales pesados está generalizado en productos cosméticos, automóviles, metalizado, galvanoplastia, operaciones mineras, baterías, etc. (35).
- Sustancias radioactivas: Las actividades antropogénicas y naturales en su mayoría causan contaminación radiactiva o radiológica del agua (42).
- Tensioactivos: El término agente tensioactivo representa una molécula heterogénea y de cadena larga que contiene restos hidrófilos e hidrófobos (48).
- Biorremediación: La biorremediación es un proceso que utiliza principalmente microorganismos, plantas o enzimas microbianas o vegetales para desintoxicar los contaminantes en el suelo y otros ambientes (11).

## **CAPÍTULO III**

### **METODOLOGÍA**

#### **3.1. Método y alcance de la investigación**

La metodología fue cuantitativa, porque se realiza la recolección de datos numéricos en un determinado grupo de personas con el fin de dar a conocer y describir un fenómeno específico (53).

##### **3.1.1. Método general**

Se utilizó el método hipotético-deductivo con el fin de recopilar y obtener datos fundamentales para el análisis de la información (53).

##### **3.1.2. Tipo de investigación**

Se usó el diseño aplicativo mediante el aprovechamiento y ejecución de la información recopilada en los antecedentes de la parte experimental de la investigación (53).

##### **3.1.3. Nivel de investigación**

Este estudio es de nivel experimental ya que primero se analizó e identificó las características del proceso (variables) y las causas que originaron las características de los mismos (53).

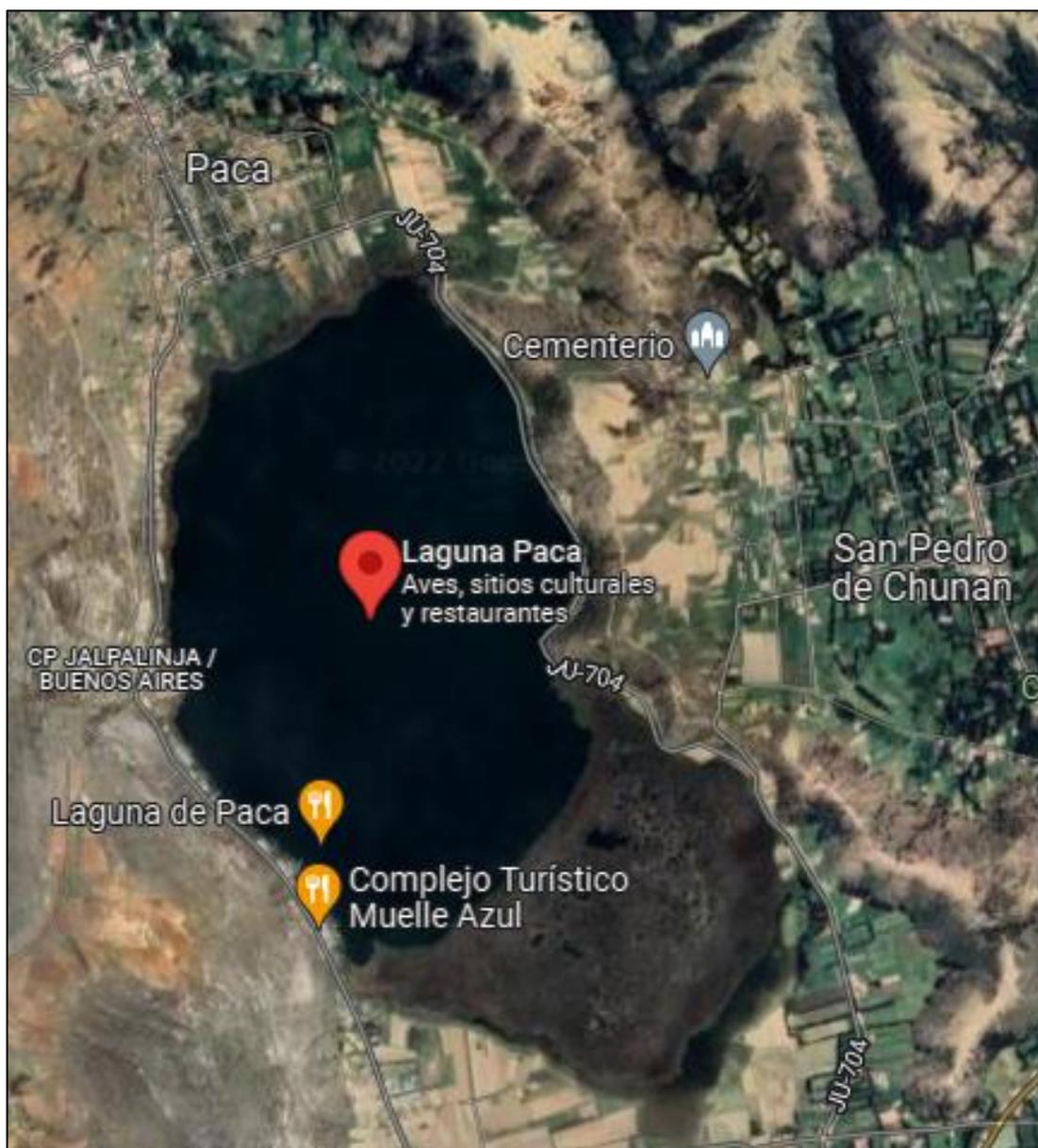
#### **3.2. Diseño de la investigación**

Se hizo uso de un diseño experimental factorial de  $2^3$ , ya que se tendrá 3 factores (pH, tiempo de contacto y dosificación) y 2 niveles (53).

#### **3.3. Población y muestra**

##### **Población**

Para el estudio de la población se usó las aguas de la laguna de Paca que se encuentran contaminadas por detergente, el cual tiene un volumen  $44\,620\,000\text{ m}^3$  en promedio de acuerdo a (54).



**Figura 2.** Laguna de Paca

### Muestra

El volumen mínimo requerido para el desarrollo de la investigación fue de 6 litros, ya que se utilizó un diseño factorial de  $2^3$  en cual nos da 8 tratamientos y con sus dos replicas más fueron un total de 24 tratamientos y por cada tratamiento realizado se hizo uso de 250 mL de agua contaminada de la laguna de Paca. Se hizo uso de un muestreo probabilístico de tipo aleatorio simple (53). Este consiste en un proceso donde todos los componentes de la población a estudio y a cada muestra de tamaño tienen la misma probabilidad de ser elegidos.



**Figura 3.** Punto de muestreo de las aguas contaminadas

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

#### 3.4.1. Técnicas e instrumentos

##### Técnicas

- Se realizó el muestreo de las aguas contaminadas por detergente en la laguna de Paca.
- Debido al proceso experimental, se desarrolló los tratamientos planteados en nuestra investigación.
- Para el análisis de laboratorio, se utilizó para realizar los cálculos de la remoción del benceno.

## Instrumentos

- Para el monitoreo en campo de parámetros, se utilizó para determinar el pH, temperatura.
- Para el monitoreo en laboratorio, se utilizó en la parte del desarrollo experimental para obtener nuestros datos de la remoción del benceno.

### 3.5. Procedimientos

#### Toma de muestra de las aguas de la laguna de Paca

- Las muestras provienen de la laguna de Paca, Provincia de Jauja, con un contenido de 500 mL para la caracterización inicial.
- Las muestras se tomarán en sitios donde existan presencia de benceno en frascos previamente esterilizados en autoclave.

#### Obtención de la *Pseudomonas aeruginosa*

- Se preparó medios de cultivo TSA nutritivo para la activación, medio Cetrimide para aislamiento.
- Se utilizó un hisopo estéril cargado con *Pseudomonasa aeruginosa* de la marca Microbiologics.
- El hisopo contenía una muestra liofilizadande *Pseudomonas*. Posterior a la gelificación del agar, se inoculó en estría las placas conteniendo los diferentes medios y se incubo a 37 °C por 24 h.

#### Biorremediación de las aguas de la laguna de Paca

##### Disolución de la *Pseudomonas*:

- Se realizó la disolución de la *Pseudomonas* en una escala de 2 ( $6 \cdot 10^8$  UFC/mL) y 6 ( $18 \cdot 10^8$  UFC/mL) de Mc Farland para lo cual con la ayuda de una asa de Digralsky se raspo la placa petri del cultivo de la bacteria y se procedió a disolver en 10 mL de agua ultra pura en un tubo de ensayo con tapa.
- Seguidamente, se procedió a agitar el tubo para homogenizar la mezclar, para así realizar una comparación de color con los tubos estándares. El proceso anterior se repitió hasta conseguir el color más parecido posible
- Para el proceso de biorremediación, se utilizó vasos de precipitación de 500 mL, donde se agregó las aguas de la laguna de Paca.

- Se realizó la modificación del pH de las aguas de la laguna de Paca a pH de 6 y 8, para dicha modificación se utilizó HCl o NaOH a concentraciones de 1 M.

$$w_{NaOH} = M * V * PM_{NaOH}$$

$$w_{NaOH} = 1 \frac{mol}{L} * 0.05L * 40 \frac{g}{mol} = 2 g$$

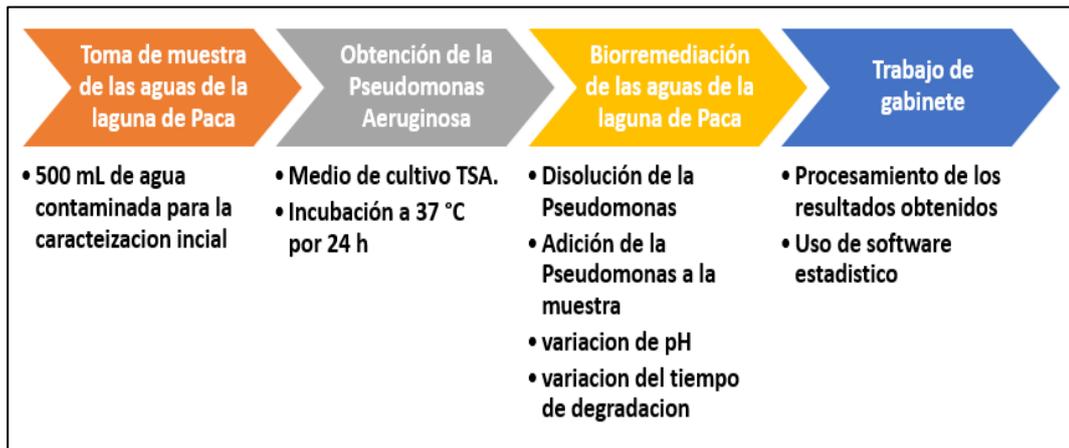
- Se pesó 2 g de NaOH y se disolvió en 50 mL de agua destilada

#### Adición de la *Pseudomonas* a la muestra

- Con la ayuda de una micropipeta se adiciono 1 ml de cada concentración a las muestras a tratar.
- Se agito con una varilla esterilizada para evitar la interferencia de alguna otra bacteria
- Finalmente, se cerró los vasos con ayuda de un parafim y se le realizo pequeños huecos con la ayuda de una aguja para dejar pasar el oxígeno.
- Se puso 500 mL de agua de la laguna de Paca con el pH previamente modificado, donde se agregó bacterias en la escala de Mc Farland de 2 ( $6.10^8$  UFC/mL) y 6 ( $18.10^8$  UFC/mL).
- Se desarrolló el proceso de biorremediación de las aguas de la laguna de Paca en la remoción de benceno por tiempos de degradación de 24 horas a 48 horas.
- Pasado los tiempos de degradación se tomó muestras de 250 mL para analizar la remoción de benceno de las aguas de la laguna de Paca, para ello se filtró las aguas en un papel filtro Whatman N° 42.
- Dichas muestras filtradas fueron llevadas al laboratorio para su análisis de la concentración final del benceno de las aguas de la laguna de Paca.

#### Trabajo de gabinete

- La información se procesó en laboratorios especializados para la biorremediación del detergente en las aguas de la laguna de Paca.
- Para la prueba de hipótesis se realizó el análisis de varianza más conocida como ANOVA, se usó el método Tukey para el análisis de las medias.



**Figura 4.** Esquema del procedimiento experimental

## CAPÍTULO IV

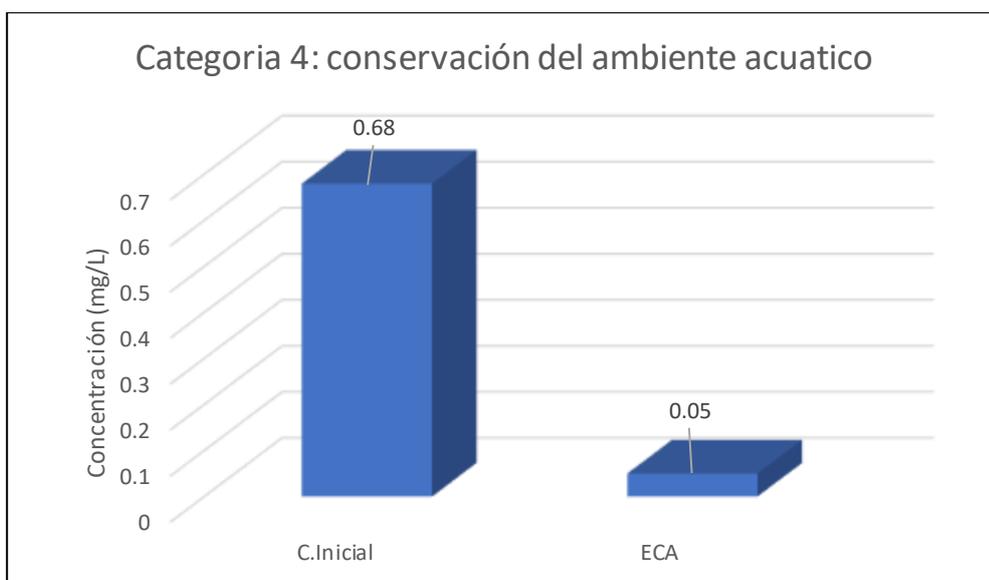
### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Presentación de resultados

Los resultados se obtuvieron de la caracterización inicial de las aguas contaminadas por detergentes (benceno) de la laguna de Paca. Para la disminución de la concentración de contaminante, se aplicó el método de la biorremediación, donde se varió los niveles de pH, tiempo de degradación y la concentración de bacteria *Pseudomonas aeruginosa*.

##### 4.1.1. Características físico químicos de las aguas contaminadas de la Laguna de Paca

Para la caracterización físico-químicos de las aguas contaminadas de la laguna de Paca, se realizó el muestro de dichas aguas, tomando parámetros *in situ*.



**Figura 5.** Concentración inicial de benceno

La Figura 5 muestra la caracterización inicial del benceno de las aguas contaminadas de la laguna de Paca, donde se observa un valor inicial de 0.68 mg/L superando por mucho a lo establecido en los estándares de calidad para el agua de la categoría 4 sobre la preservación del ecosistema acuático de las lagunas de 0.05 mg/L, también se midió el pH el cual fue de 7.58, con una temperatura de 19 °C y una conductividad de 0.30 mS.

Para tener mayor confiabilidad de nuestra caracterización inicial las muestras fueron llevadas a dos laboratorios diferentes el primero Labeco donde nos dio una concentración inicial de benceno de 0.7 mg/L y por el laboratorio SLab un valor inicial de 0.68 mg/L. Observando así que no existe una diferencia significativa entre los resultados obtenidos.

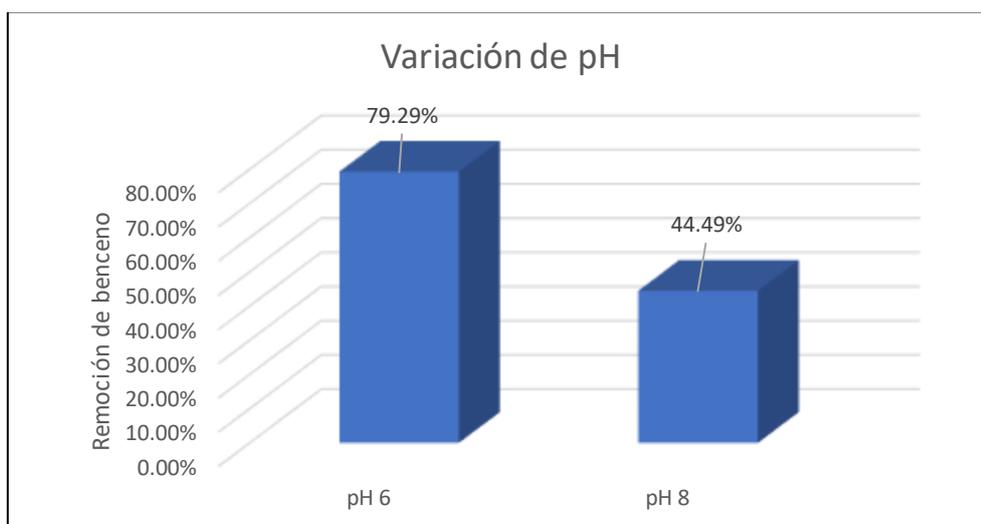
#### 4.1.2. Influencia del pH en la disminución de la concentración del benceno de las aguas de la laguna de Paca

Para observar la influencia del pH en la disminución de la concentración del benceno de las aguas de la laguna de Paca, se trabajó con pH de 6 y 8. Estos valores se representan en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Variación del pH en la remoción de benceno

pH	Remoción de benceno (%)	pH	Remoción de benceno (%)
6	54.41	8	19.12
6	77.94	8	41.18
6	88.24	8	52.94
6	94.12	8	61.76
6	55.88	8	17.65
6	79.41	8	42.65
6	89.71	8	55.88
6	94.12	8	64.71
6	57.35	8	20.59
6	77.94	8	41.18
6	89.71	8	54.41
6	92.65	8	61.76
Promedio	79.29	Promedio	44.49

La Tabla 2 muestra la variación del pH para la disminución de la concentración del benceno de las aguas de la laguna de Paca, donde a un menor pH de 6 se tuvo la mayor remoción de benceno con un 79.29 %:



**Figura 6.** Variación de pH

La Figura 6 se observa la variación del pH, a un bajo pH de 6 se alcanzó un alto porcentaje de remoción de benceno con 79.29 % y a un pH de 8 solo se tuvo una remoción de 44.49 %.

#### 4.1.3. Tiempo de degradación del contaminante (benceno) de las aguas de la Laguna de Paca.

El tiempo de degradación del contaminante (benceno) de las aguas de la laguna de Paca, se trabajó con tiempos de 24 horas y 48 horas.

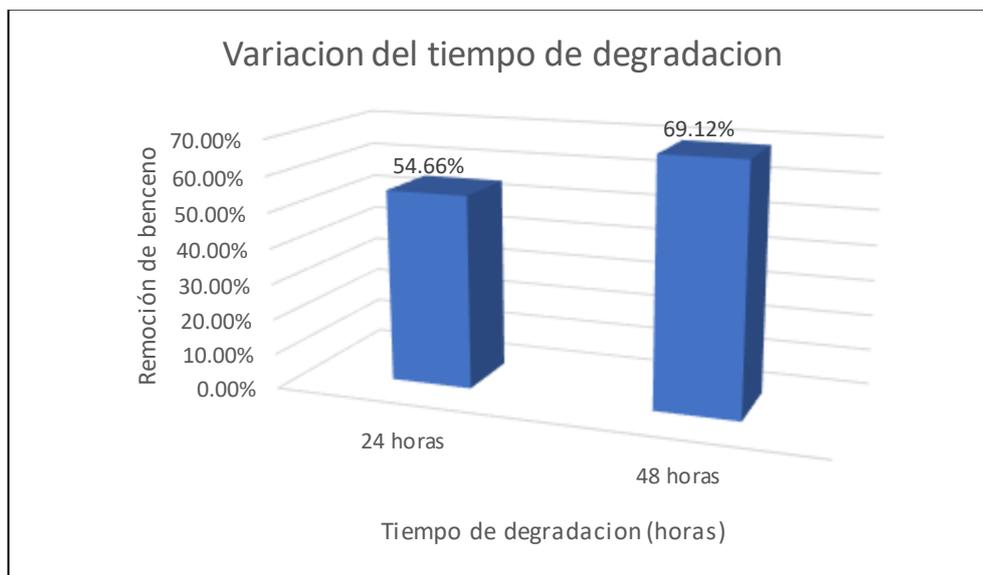
**Tabla 3**

Variación del tiempo de degradación en la remoción de benceno

Tiempo de degradación (Horas)	Remoción de benceno (%)	Tiempo de degradación (Horas)	Remoción de benceno (%)
24	54.41	48	77.94
24	88.24	48	94.12
24	19.12	48	41.18
24	52.94	48	61.76
24	55.88	48	79.41
24	89.71	48	94.12
24	17.65	48	42.65
24	55.88	48	64.71
24	57.35	48	77.94
24	89.71	48	92.65
24	20.59	48	41.18
24	54.41	48	61.76

Promedio	54.66	Promedio	69.12
----------	-------	----------	-------

La Tabla 3 muestra la variación del tiempo de degradación para la disminución de la concentración del benceno de las aguas de la laguna de Paca, donde a un mayor tiempo de degradación de 48 horas se tuvo la mayor remoción de benceno de 69.12 %.



**Figura 7.** Variación del tiempo de degradación

La Figura 7 se observa la variación del tiempo de degradación, donde a un tiempo de 24 horas se tuvo una remoción de benceno con 54.66 % y a un tiempo de 48 horas se tuvo la mayor remoción de benceno de 69.12 %.

#### 4.1.4. Influencia de las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* en la disminución de la concentración de benceno de las aguas de la laguna de Paca con el método de la biorremediación

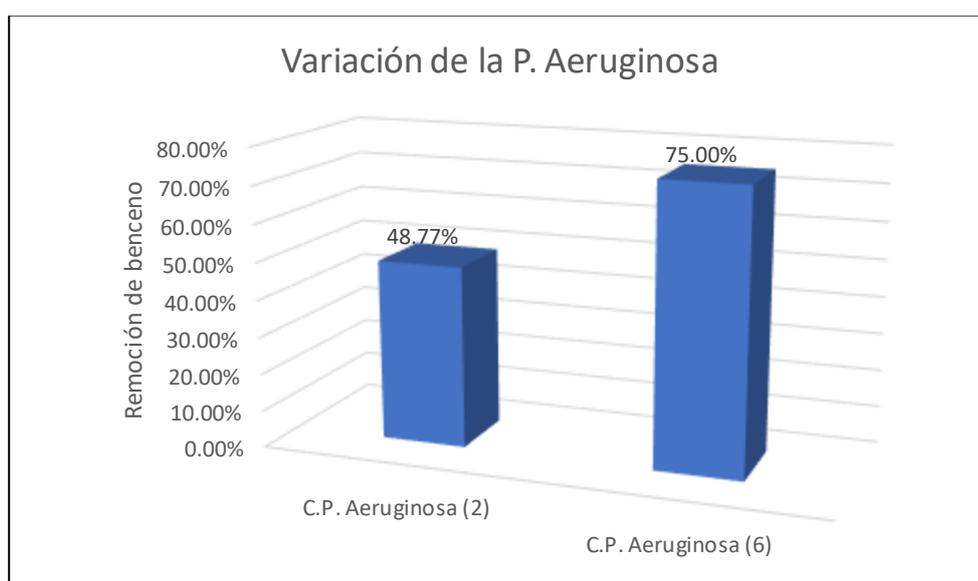
Para observar la influencia de las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* en la disminución de la concentración de benceno de las aguas de la laguna de Paca con el método de la biorremediación, se trabajó con bacterias *Pseudomonas aeruginosa* a 2 ( $6 \cdot 10^8$  UFC/mL) y 6 ( $18 \cdot 10^8$  UFC/mL) en la escala de Mc Farland.

**Tabla 4**

Variación de las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* para la remoción de benceno

P. Aeruginosa en la escala de Mc Farland	Remoción de benceno (%)	P. Aeruginosa en la escala de Mc Farland	Remoción de benceno (%)
2	54.41	6	88.24
2	77.94	6	94.12
2	19.12	6	52.94
2	41.18	6	61.76
2	55.88	6	89.71
2	79.41	6	94.12
2	17.65	6	55.88
2	42.65	6	64.71
2	57.35	6	89.71
2	77.94	6	92.65
2	20.59	6	54.41
2	41.18	6	61.76
Promedio	48.77	Promedio	75.00

La Tabla 4 muestra la variación las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* para la disminución de la concentración del benceno de las aguas de la laguna de Paca, donde a una escala de 6 ( $18.10^8$  UFC/mL) de Mc Farland se tuvo la mayor remoción de benceno con el 75 %.



**Figura 8.** Variación de las bacterias *Pseudomonas aeruginosa*

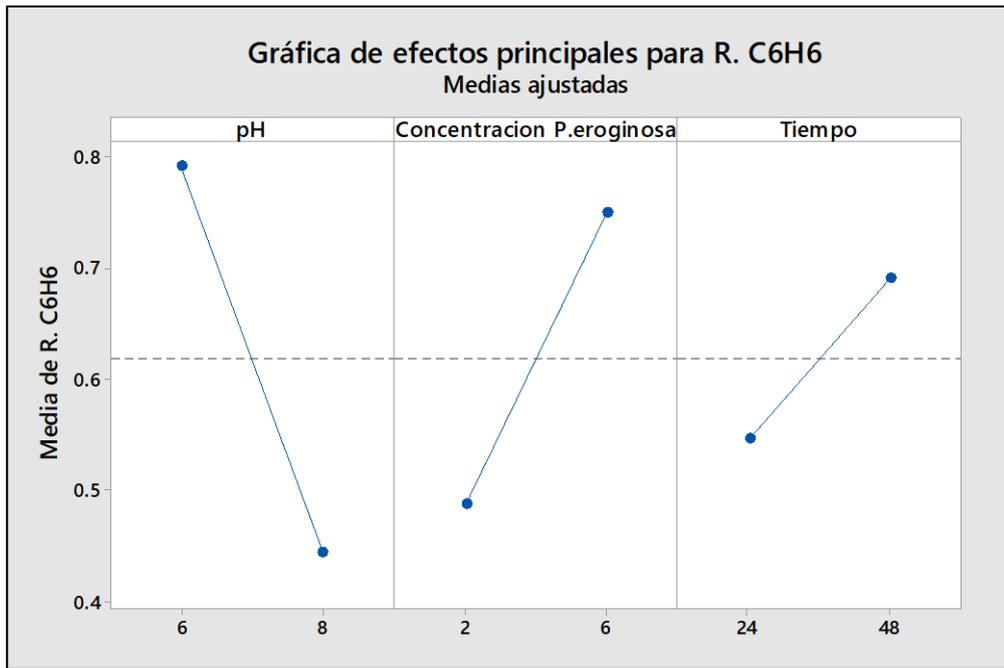
La Figura 8 se observa la variación de las bacterias *Pseudomonas aeruginosa*, donde a una escala de 2 ( $6 \cdot 10^8$  UFC/mL) de Mc Farland se tuvo una remoción de benceno de 48.77 % y a una escala de 6 ( $18 \cdot 10^8$  UFC/mL) de Mc Farland se tuvo la mayor remoción de benceno de 75 %.

**Tabla 5**

Método de biorremediación para la remoción de benceno

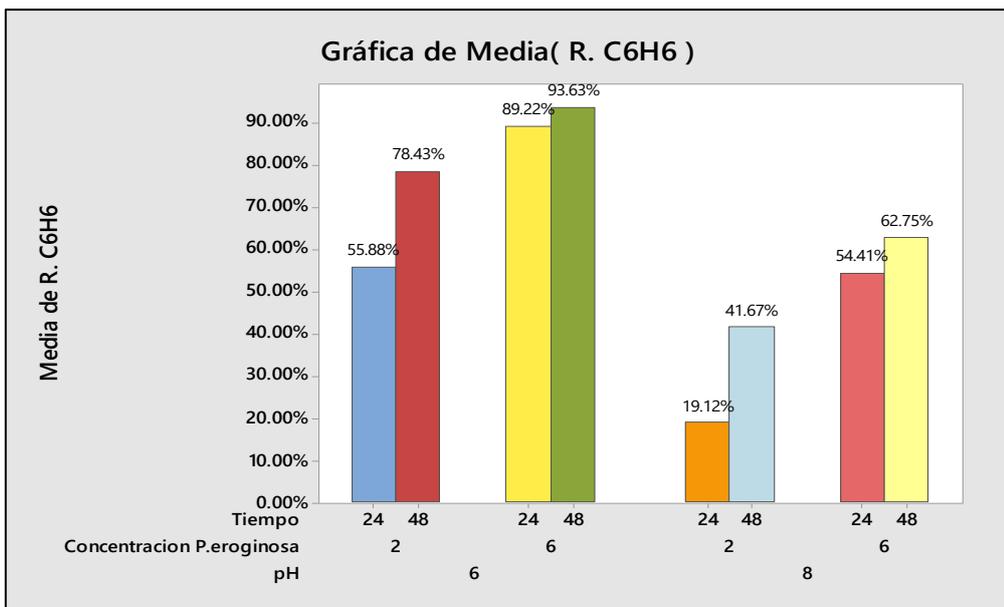
pH	P. Aeruginosa	Tiempo de degradación (Horas)	Remoción de benceno			
			1	2	3	Promedio
6	2	24	54.41 %	55.88 %	57.35 %	55.88 %
6	2	48	77.94 %	79.41 %	77.94 %	78.43 %
6	6	24	88.24 %	89.71 %	89.71 %	89.22 %
6	6	48	94.12 %	94.12 %	92.65 %	93.63 %
8	2	24	19.12 %	17.65 %	20.59 %	19.12 %
8	2	48	41.18 %	42.65 %	41.18 %	41.67 %
8	6	24	52.94 %	55.88 %	54.41 %	54.41 %
8	6	48	61.76 %	64.71 %	61.76 %	62.75 %

La Tabla 5 muestra los resultados de la interacción de las tres variables manipuladas para la remoción de benceno, se trabajó con variación de pH, variaciones de tiempo y variaciones de las bacterias *Pseudomonas aeruginosa*, donde la mayor remoción se da a pH de 6, en la escala de 6 ( $18 \cdot 10^8$  UFC/mL) de Mc Farland para las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* y tiempo de 48 horas con un 93.63 % de remoción de benceno de las aguas de la laguna de Paca.



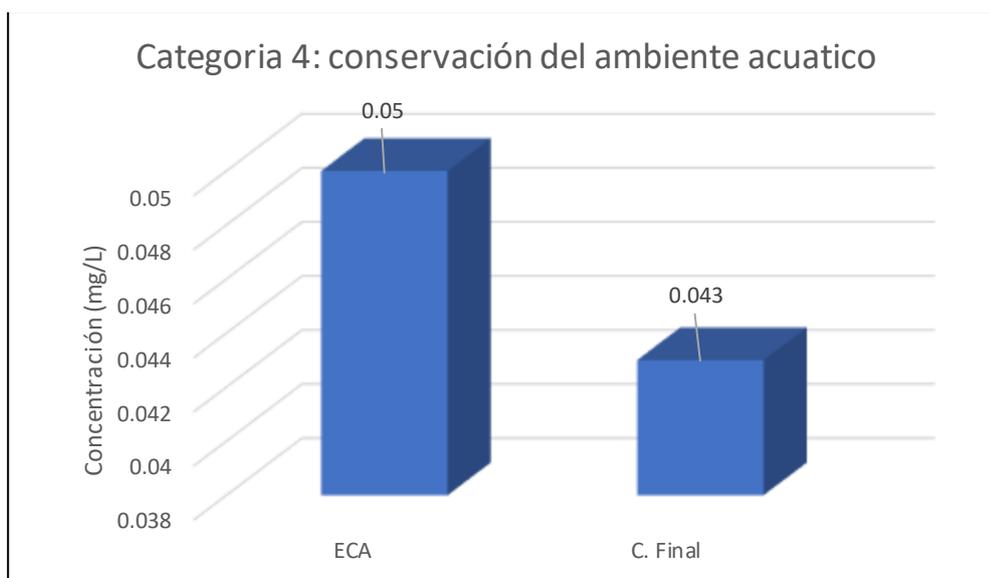
**Figura 9.** Efectos principales del método de biorremediación

La Figura 9 muestra los efectos principales del método de biorremediación para la remoción del benceno de las aguas de la Laguna de Paca, donde a un pH de 6, a una escala de 6 ( $18 \cdot 10^8$  UFC/mL) de Mc Farland para las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* y un tiempo de 48 horas. Estos fueron los niveles donde se obtuvieron las mayores remociones de benceno.



**Figura 10.** Remoción de benceno con el método de biorremediación

La Figura 10 se observa la remoción de benceno con el método de biorremediación, donde la mayor remoción se da a pH de 6, en la escala de 6 ( $18 \cdot 10^8$  UFC/mL) de Mc Farland para las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* y tiempo de 48 horas con un 93.63% de remoción de benceno de las aguas de la laguna de Paca y la menor remoción se da a pH de 8, en la escala de 2 ( $6 \cdot 10^8$  UFC/mL) de Mc Farland para las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* y tiempo de 24 horas con un 19.12% de remoción de benceno de las aguas de la laguna de Paca.



**Figura 11.** Remoción final del benceno

La Figura 11 muestra la caracterización final del benceno de las aguas contaminadas de la laguna de Paca, donde se observa un valor final de 0.043 mg/L el cual es un valor por debajo a lo establecido en los estándares de calidad para el agua de la categoría 4 sobre la conservación del ambiente acuático de las lagunas de 0.05 mg/L. De esta manera, podemos afirmar que el método de la biorremediación con la variación de pH, bacterias *Pseudomonas aeruginosa* y tiempo de degradación son satisfactorios para la remoción de benceno.

#### 4.2. Prueba de hipótesis

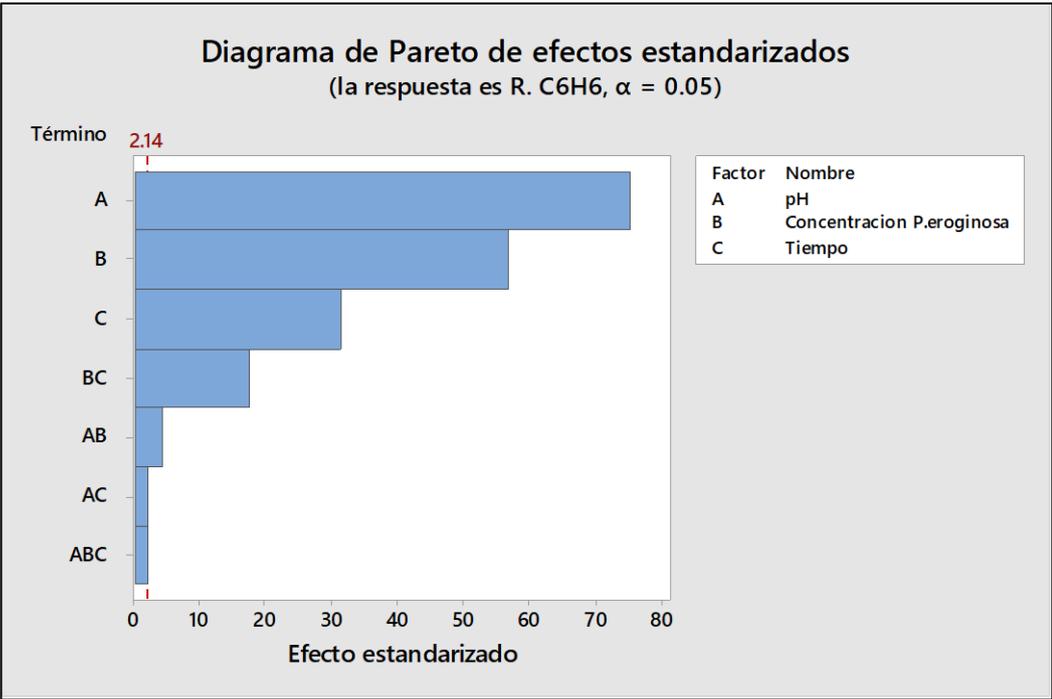
Para la verificación de la hipótesis del presente estudio, se llevó a cabo mediante un análisis de varianza del diseño factorial de  $2^3$ , diagrama de Pareto y la prueba de normalidad.

**Tabla 6**

Análisis de varianza del método de biorremediación

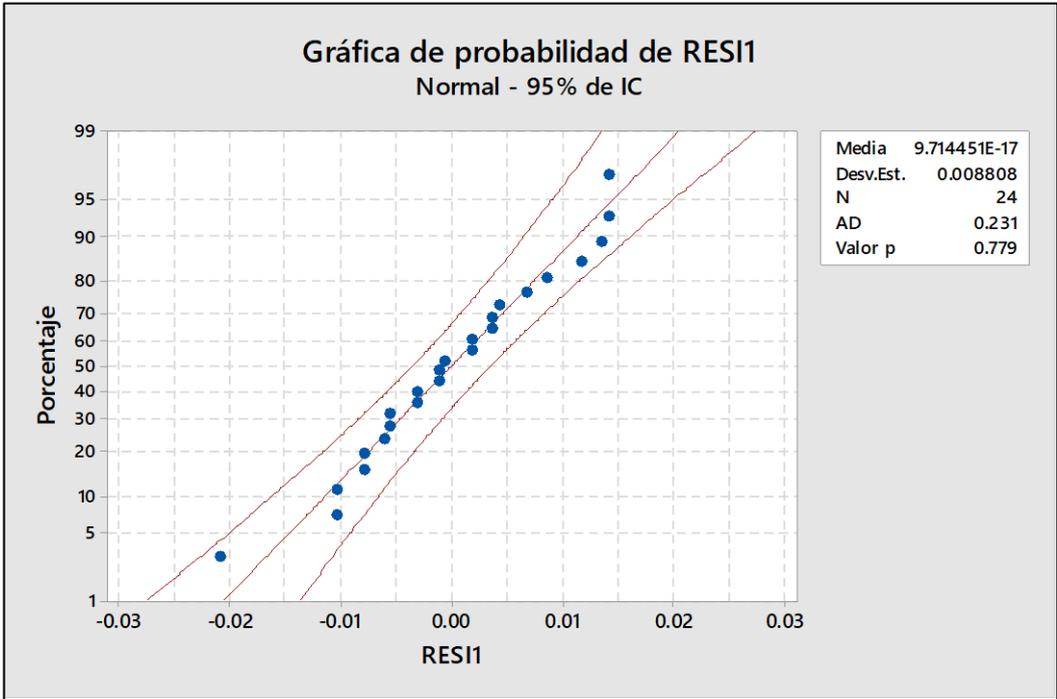
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	9	1.30830	0.145367	1140.66	0.000
Bloques	2	0.00067	0.000333	2.62	0.108
Lineal	3	1.26492	0.421641	3308.53	0.000
pH	1	0.72679	0.726788	5702.95	0.000
P. eruginosa	1	0.41267	0.412666	3238.10	0.000
Tiempo	1	0.12547	0.125469	984.53	0.000
Interacciones de 2 términos	3	0.04214	0.014045	110.21	0.000
pH*P. eruginosa	1	0.00231	0.002307	18.10	0.001
pH*Tiempo	1	0.00058	0.000577	4.53	0.052
P. eruginosa*Tiempo	1	0.03925	0.039252	308.00	0.000
Interacciones de 3 términos	1	0.00058	0.000577	4.53	0.052
pH*P. eruginosa*Tiempo	1	0.00058	0.000577	4.53	0.052
Error	14	0.00178	0.000127		
Total	23	1.31009			

La Tabla 6 muestra el análisis de varianza del diseño factorial de  $2^3$ , donde las variables manipuladas presentan un valor de p de 0.000 el cual es menor al valor de significancia de 0.05. En consecuencia, se puede evidenciar una influencia eficiente en cada variable manipulada.



**Figura 12.** Pareto

La Figura 12 se observa el diagrama de Pareto, donde se muestran nuestros tres factores manipulados, el factor del pH presentó mayor efecto en la remoción de benceno de las aguas contaminadas de la laguna de Paca.



**Figura 13.** Probabilidad

La Figura 13 se observa la gráfica de probabilidad, donde se tiene un valor de p de 0.779 el cual es superior al valor de significancia de 0.05, entonces se evidencia que los datos tratados tienen origen de una distribución normal.

### **Contrastación de la hipótesis**

**Hi:** Las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* disminuyen la concentración de benceno de las aguas de la laguna de Paca con el método de la biorremediación.

**H0:** Las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* no disminuyen la concentración de benceno de las aguas de la laguna de Paca con el método de la biorremediación.

Teniendo en cuenta el análisis de varianza, donde se observa que se tiene un valor de p de 0.000, el cual es menor al valor de significancia. Por lo tanto, se aprueba la hipótesis de investigación (Hi) y se pasa a desaprobado la hipótesis nula (H0). De esta manera, se sostiene que las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* presentan una disminución en la concentración de benceno de las aguas de la laguna de Paca con el método de la biorremediación.

### 4.3. Discusión de resultados

La caracterización inicial del benceno de las aguas contaminadas de la laguna de Paca, fue de 0.68 mg/L superando por mucho a lo establecido en los estándares de calidad para el agua de la categoría 4 sobre la conservación del ambiente acuático de las lagunas de 0.05 mg/L, se tuvo un pH de 7.58, con una temperatura de 19 °C y una conductividad de 0.30 mS. La contaminación por detergente (benceno) se estudió por diversos autores como es el caso de Kim (55) quien preparo soluciones acuosas de benceno de 200 mg/L a 700 mg/L siendo valores elevados a nuestro estudio y así diversos autores realizaron la remoción de benceno a diferentes concentraciones de acuerdo al medio de donde se realiza el muestreo, como el caso de Aguirre (5) con concentraciones de 10 ppm, 50 ppm y 100 ppm, Weelink (56) de 50 mg/L y Cámara (57) que va en un rango de concentración de 50 mg/L a 200 mg/L.

La influencia del pH en la disminución de la concentración del benceno en las aguas de la laguna de Paca Junín 2022, se trabajó con pH de 6 y 8, donde a un pH de 6 se tuvo la mayor remoción de benceno con 79.29 % y a un pH de 8 solo se tuvo una remoción de 44.49 %, en el caso de Karimi (58) trabajo en rangos de pH de 4 a 9.5, donde la mayor remoción ocurrió a un pH de 8 con un 96 %, caso contrario a nuestra investigación. Esto se debe a que Karimi trabajó con la remoción de naftaleno, pero con las mismas bacterias de nuestra investigación las

cuales son las *Pseudomonas aeruginosa*. Según Tuomi (59) estos resultados son consistentes con la mayoría de los estudios, donde los microorganismos favorecieron el crecimiento a niveles de pH que oscilaron entre 6 y 8. Por ello, es probable que dichas condiciones ácidas o alcalinas afecten la actividad bacteriana y, por lo tanto, la degradación del benceno como es el caso de nuestra investigación donde la mayor remoción de benceno se dio a un pH de 6.

El tiempo de degradación del contaminante (benceno) en la Laguna de Paca, Junín 2022, se trabajó con tiempos de 24 horas y 48 horas, donde a un tiempo de 24 horas se tuvo una remoción de benceno con 54.66% y a un tiempo de 48 horas se tuvo la mayor remoción de benceno de 69.12%. De manera similar Kim (55) quien trabajo con tiempos de degradación del benceno de 5 días a 25 días, donde a los 25 días tuvo la mayor remoción de benceno de 90%, caso similar a nuestra investigación que cuanto mayor tiempo de degradación mayor fue la remoción de benceno debido al crecimiento de las bacterias *Pseudomonas aeruginosa*. Esto resultados lo reafirma Wong (60) quien trabajo la degradación de benceno a 0, 24, 48, 72, 96 y 168 h, donde a los siete días, la cepa *Pseudomonas aeruginosa* N7B1 eliminó y 45% de benceno, lo que muestra que, a mayor tiempo de degradación, mayor es la remoción del benceno.

La influencia de las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* en la disminución de la concentración de benceno de las aguas de la laguna de Paca con el método de la biorremediación, Junín 2022. Se trabajó con bacterias *Pseudomonas aeruginosa* a 2 ( $6 \cdot 10^8$  UFC/mL) y 6 ( $18 \cdot 10^8$  UFC/mL) en la escala de Mc Farland. A una escala de 2 ( $6 \cdot 10^8$  UFC/mL) de Mc Farland se tuvo una remoción de benceno de 48.77 % y a una escala de 6 ( $18 \cdot 10^8$  UFC/mL) de Mc Farland se tuvo la mayor remoción de benceno de 75 %. Pero con la interacción del pH de 6, en la escala de 6 ( $18 \cdot 10^8$  UFC/mL) de Mc Farland para las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* y tiempo de 48 horas se tuvo la mayor remoción de benceno con un 93.63 %. De manera similar, Kim (55) trabajó con concentración de bacterias *Pseudomonas aeruginosa* de  $10^7$  a  $10^9$  UFC/mL, donde la mayor remoción de benceno se dio a  $10^9$  UFC/mL. Esto se debe a que el benceno actúa como fuente de carbono para el crecimiento bacteriano y el número de células bacterianas aumenta a medida que disminuye la concentración de benceno. Shim (61) también corrobora nuestros resultados que a mayor concentración de bacterias *Pseudomonas aeruginosa* mayor es la remoción de benceno, ya que informa que el rendimiento celular aumentó con la concentración inicial de benceno hasta cierto nivel y luego disminuyó con aumentos adicionales tanto para las bacterias originales como para las adaptadas.

Como observamos en nuestra investigación el método de la biorremediación con bacterias es beneficioso para la remoción del benceno, que según Mazzeo (62) la biorremediación consiste en utilizar grupos microbianos capaces de degradar hidrocarburos. Estos microorganismos son capaces de biotransformar moléculas contaminantes en nutrientes para la realización de sus funciones metabólicas y fisiológicas. Los procesos de degradación biológica (biodegradación) de los compuestos orgánicos se realizan a través de la ruptura de estos compuestos en sustancias menos tóxicas, como CO<sub>2</sub>, agua y metano.

Respecto a la utilización de la *Pseudomonas aeruginosa* de acuerdo a Malhautier (63) es una bacteria Gram-negativa, que puede ser aislada de diferentes hábitats incluyendo el agua, el suelo y las plantas, y bajo condiciones ambientales específicas. Además de eso, es capaz de producir un biosurfactante que contiene el glicolípido ramnosa. El tipo y la proporción del ramnolípido producido depende de la cepa, de la fuente de carbono utilizada y de las condiciones de cultivo. Unido a esta capacidad, la *Pseudomonas aeruginosa* consume compuestos monoaromáticos, utilizándolos como fuente de carbono y energía, además de presentar altas tasas de crecimiento bajo altas concentraciones de sustrato. Por lo tanto, el método de la biorremediación con la utilización de las *Pseudomonas aeruginosa* sugiere una estrategia prometedora para la limpieza de aguas contaminadas con benceno, ya que la cepa utilizada no presentó dificultades para degradar totalmente el anillo aromático.

## CONCLUSIONES

La caracterización inicial del benceno de las aguas contaminadas de la laguna de Paca, fue de 0.68 mg/L, lo que supera por mucho lo establecido en la normatividad ambiental para el agua de la jerarquía 4 sobre la preservación de un ecosistema acuático de las lagunas el cual es de 0.05 mg/L. También, se midió el pH, el cual fue de 7.58, con una temperatura de 19 °C y una conductividad de 0.30 mS.

Se determinó la influencia del pH en la disminución de la concentración del benceno en las aguas de la laguna de Paca Junín 2022. Para ello, se trabajó con pH de 6 y 8, donde a un pH de 6 se tuvo la mayor remoción de benceno con 79.29 % y a un pH de 8 solo se tuvo una remoción de 44.49 %.

Se determinó el tiempo de degradación del contaminante (benceno) en la Laguna de Paca, Junín 2022, se trabajó con tiempos de 24 horas y 48 horas, donde a un tiempo de 24 horas se tuvo una remoción de benceno con 54.66%; a un tiempo de 48 horas, se tuvo la mayor remoción de benceno de 69.12 %.

Se analizó la influencia de las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* en la disminución de la concentración de benceno de las aguas de la laguna de Paca con el método de la biorremediación, Junín 2022. Para ello, se trabajó con bacterias *Pseudomonas aeruginosa* a 2 ( $6 \cdot 10^8$  UFC/mL) y 6 ( $18 \cdot 10^8$  UFC/mL) en la escala de Mc Farland, donde a una escala de 2 ( $6 \cdot 10^8$  UFC/mL) de Mc Farland se tuvo una remoción de benceno de 48.77% y a una escala de 6 ( $18 \cdot 10^8$  UFC/mL) de Mc Farland se tuvo la mayor remoción de benceno de 75%. Pero, con la interacción del pH de 6, en la escala de 6 ( $18 \cdot 10^8$  UFC/mL) de Mc Farland para las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* y tiempo de 48 horas se tuvo la mayor remoción de benceno con un 93.63% equivalente a 0.043 mg/L el cual es un valor por debajo a lo establecido en la normatividad ambiental para el agua de la jerarquía 4 sobre la preservación de un ecosistema acuático de las lagunas de 0.05 mg/L.

## RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar un estudio general sobre las características de las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* para identificar el tamaño, tipo de bacilo y tipo de flagelo. Con ello, se podría tener un marco teórico más claro que organice las variaciones de esta bacteria, su formación, desarrollo, alimentación, evolución e impacto en los hábitats donde aparecen.

Se recomienda realizar un conteo de las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* al final de la remoción de benceno para medir en cuánto aumentó dicha bacteria. Esto responde a que el benceno es un medio de carbono y energía para el desarrollo de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*.

Se recomienda realizar la cinética de biodegradación de compuestos mono aromáticos (benceno, etilbenceno y tolueno) con las *Pseudomonas aeruginosa* para estimar el tiempo de degradación mediando modelos cinéticos.

Se recomienda realizar un estudio para conocer si la concentración microbiana inicial influye o no en el crecimiento bacteriano del proceso de degradación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) BELLVER, Elena. *Contaminación del agua por detergente* [online]. 2020 [vid. 2021-03-12]. Dostupné z: <https://tendencias.com/eco/contaminacion-del-agua-por-detergentes/>
- (2) TOLEDO, Curbelo. *Fundamentos de salud pública 1* [online]. 2007. ISBN 9589400973. Dostupné z: [http://www.biblioteca.fcm.unc.edu.ar/espmédica/libros/Fundamentos de Salud Publica 1.pdf](http://www.biblioteca.fcm.unc.edu.ar/espmédica/libros/Fundamentos%20de%20Salud%20Pública%201.pdf)
- (3) JOSEPH, Collin, Yan FARM, Yun Hin TAUFIQ, Chuan Kian PANG, Janice NGA a Gianluca LI PUMA. Ozonation treatment processes for the remediation of detergent wastewater: A comprehensive review. *Journal of Environmental Chemical Engineering* [online]. 2021, **9**(5), 106099. ISSN 22133437. Dostupné z: doi:10.1016/j.jece.2021.106099
- (4) GONZALES, Gustavo, Alisson ZEVALLOS, Cynthia GONZALES, Denisse NUÑEZ, Carmen GASTAÑAGA, César CABEZAS, Luke NAEHER, Karen LEVY a Kyle STEENLAND. Contaminación ambiental, variabilidad climática y cambio climático: Una revisión del impacto en la salud de la población peruana. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2014, **31**(3), 547–556. ISSN 17264642.
- (5) AGUIRRE, Erika, Katherine CHACÓN, Nolia CABALLERO, Obed LUJAN, Santiago CAMPOS, Wilmer TANDAYPAN a Juan GUEVARA. Crecimiento de *Pseudomonas Aeruginosa* MBL-03 y degradación de tres concentraciones de Dodecilbenceno Sulfonato de Sodio. *Rebiolest*. 2013, **1**(1), 4–10.
- (6) HUAMÁN, Pedro, Mauro MARIANO, Magda CHANCO a Haydee MONTOYA. Estructura del macrobentos de la laguna de Paca, Junín. *Revista Peruana de Biología* [online]. 2013, **9**(1), 29–38. ISSN 1561-0837. Dostupné z: doi:10.15381/rpb.v9i1.2520
- (7) ARAUJO, Ismenia, Antonio GÓMEZ, Magleidy BARRERA, Nancy ANGULO, Gustavo MORILLO, Carmen CÁRDENAS a Lenín HERRERA. Surfactantes biológicos en la biorremediación de aguas contaminadas con crudo liviano. *Scielo* [online]. 2008, **33**(0378–1844), 12. Dostupné z: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442008000400004](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442008000400004)

- (8) PQBIO. *Porque Biotecnología* [online]. 2014 [vid. 2022-03-12]. Dostupné z: <https://www.porquebiotecnologia.com.ar/el-cuaderno>
- (9) SOBERON, Gloria. *Pseudomonas Aeruginosa: una bacteria fascinante y temible* [online]. 2012, **34**, 12. Dostupné z: [https://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2011\\_475.html#:~:text=aeruginosa%2C que Soberón Chávez califica,natural a diversos antibióticos%2C explicó.](https://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2011_475.html#:~:text=aeruginosa%2C%20que%20Sober%C3%B3n%20Ch%C3%A1vez%20califica,natural%20a%20diversos%20antibioticos%20explic%C3%B3)
- (10) COTA, Keni, José A. NUÑEZ, Marcos DELGADO a Alejandro MARTINEZ. Biorremediación: Actualidad De Conceptos Y Aplicaciones. *Biotecnia* [online]. 2018, **21**(1), 37–44. ISSN 1665-1456. Dostupné z: [doi:10.18633/biotecnia.v21i1.811](https://doi.org/10.18633/biotecnia.v21i1.811)
- (11) GOUMA, S., S. FRAGOEIRO, A. C. BASTOS a N. MAGAN. *Bacterial and Fungal Bioremediation Strategies* [online]. B.m.: Elsevier Inc., 2014. ISBN 9780128004821. Dostupné z: [doi:10.1016/B978-0-12-800021-2.00013-3](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800021-2.00013-3)
- (12) GÓMEZ, Lina a Stephanie MORA. La Biorremediación Como Alternativa De Recuperación Para Cuerpos De Agua Lénticos En La Ciudad De Bogotá. *Boletín Semillas Ambientales*. 2016, **10**(2), 6–11. ISSN 2463-0691.
- (13) ROMERO, Teresita a David VARGAS. Uso de microorganismos eficientes para tratar aguas contaminadas. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental*. 2017, **38**(3), 88–100. ISSN 1815–591X.
- (14) GARCÍA, Judit, Daniel PEÑAFIEL a Remberto RODRÍGUEZ. Biorremediación de hidrocarburos en aguas residuales con cultivo mixto de microorganismos: caso Lubricadora Puyango. 2019, 185–196.
- (15) ARA, S. a A. MASSOL. Diversidad bacteriana en un biorreactor de lecho fluidificado durante el tratamiento de agua contaminada con nafta. 2007, 243–251.
- (16) OME, Óscar a Carlos ZAFRA. Factores clave en procesos de biorremediación para la depuración de aguas residuales. Una revisión. 2018.
- (17) MAYZ, Juliana a Lorna MANZI. Bacterias hidrocarburoclásticas del género *Pseudomonas* en la rizosfera de *Samanea saman* (Jacq.) Merr. *Revista Colombiana de Biotecnología* [online]. 2017, **19**(1), 29–37. ISSN 0123-3475. Dostupné z: [doi:10.15446/rev.colomb.biote.v19n1.57408](https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v19n1.57408)
- (18) FERNÁNDEZ, Celeste, María LLOBREGAT, Bernys JIMÉNEZ, Vanessa ALTOMARE a Henry LABRADOR. Biodegradación de asfalteno y resinas por

- microorganismos presentes en suelo contaminado con hidrocarburo. *Scielo*. 2008.
- (19) JARAMILLO, Beatriz, Adriana BERMÚDEZ a Irina TIRADO. Bacterias degradadoras de pesticidas organofosforados presentes en suelos contaminados [online]. 2016, **25**(3), 2016. Dostupné z: doi:10.13140/RG.2.2.20023.73126
- (20) LUJÁN, Daniel. Uso de *Pseudomonas Aeruginosa* en biorremediación. *Biotechnología*. 2019, **23**(1), 32–42.
- (21) CASTILLO, Rosita, Francis MORE, Melitza CORNEJO, Jaime FERNÁNDEZ a Eric MIALHE. Aislamiento de bacterias con potencial biorremediador y análisis de comunidades bacterianas de zona impactada por derrame de petróleo en Condorcanqui – Amazonas – Perú. *Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research* [online]. 2020, **22**(3), 2015–225. ISSN 23068582. Dostupné z: doi:10.18271/ria.2020.656
- (22) GARZÓN, Jennyfer, Juan PABLO, Rodríguez MIRANDA a Catalina GÓMEZ. Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible Introducción Materiales y métodos Resultados. *Universidad y Salud* [online]. 2017, **19**(2), 309. ISSN 0124-7107. Dostupné z: doi:10.22267/rus.171902.93
- (23) ZAPANA, Shirley. *Biorremediación de efluentes de curtiembres mediante hongos aislados del parque industrial de río Seco (PIRS)- Arequipa, en condiciones de biorreactor tipo AIRLIFT*. B.m., 2018. b.n.
- (24) HUMANANTE, Juan, Carlos DEZA, Lucrecia MORENO a Ana GRIJALVA. Biorrecuperación de aguas residuales con microorganismos. *Manglar* [online]. 2021, **18**(4), 345–356. Dostupné z: doi:10.17268/manglar.2021.044
- (25) ORUNA, Jorge. Revisión del Uso de Microorganismos para la Biorremediación de Aguas Contaminadas por Hidrocarburos. 2018.
- (26) UGAZ, Jesús, Hilda VEGA, Sebastian IGLESIAS a Carmen CARREÑO. Biosurfactantes en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos. *Economic History Review* [online]. 2019, **73**(1), 202–246. ISSN 14680289. Dostupné z: <http://doi.org/10.3386/w22921>
- (27) PELLIZZARI, Esther, Leonardo MARINICH, Sebastián FLORES a Cecilia GIMÉNEZ. Degradación de arsénico por *Pseudomonas Aeruginosa* para bioremediación de agua. Estudio preliminar. *Avances en Ciencias e Ingeniería*.

2015, **6**(1), 1–5.

- (28) HERNÁNDEZ, Gina, Natalia ÁLVAREZ a Leonardo RÍOS. Biorremediación de organofosforados por hongos y bacterias en suelos agrícolas: Revisión sistemática. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria* [online]. 2017, **18**(1), 139–159. ISSN 25005308. Dostupné z: doi:10.21930/rcta.vol18\_num1\_art:564
- (29) HORMAZA, Anali. Influencia del compost de estiércol animal en la biorremediación de metales pesados en suelos contaminados con relaves mineros, Huari – La Oroya, 2019. 2020.
- (30) APAZA, Aquino, Yoselin ROJAS, Eneida MAMANI a Vianey CHURA. Microorganismos empleados para la biorremediación de efluentes mineros con cianuro. 2021, **14**, 120–137.
- (31) PESA, Iva a Corey ROSS. Extractive industries and the environment: Production, pollution, and protest in global history. *The Extractive Industries and Society* [online]. 2021, (January), 100933. ISSN 2214-790X. Dostupné z: doi:10.1016/j.exis.2021.100933
- (32) CURRIE, Janet. Something in the water : contaminated drinking water and infant health. 2013, **46**(3).
- (33) HASEENA, Mehtab, Muhammad MALIK, Asma JAVED, Sidra ARSHAD a Nayab ASIF. Water pollution and human health [online]. 2017, (January). Dostupné z: doi:10.4066/2529-8046.100020
- (34) ULLAH, Sana, Waqas JAVED, Muhammad SHAFIQUE a Shah KHAN. An integrated approach for quality assessment of drinking water using GIS : A case study of Lower Dir. 2014, **47**(2), 163–174.
- (35) RAY, S, R GUSAIN a N KUMAR. Classification of water contaminants [online]. 2020. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-821959-1.00002-7
- (36) KMMERER, Klaus. Pharmaceuticals in the environment. *Annual Review of Environment and Resources* [online]. 2010, **35**, 57–75. ISSN 15435938. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-environ-052809-161223
- (37) KHANNANOV, Artur, Vadim NEKLJUDOV, Bulat GAREEV, Airat KIIAMOV, James TOUR a Ayrat DIMIEV. Oxidatively modified carbon as efficient material for removing radionuclides from water. *Carbon* [online]. 2017, **115**, 394–401. ISSN 00086223. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbon.2017.01.025

- (38) BENDZ, David, Nicklas PAXÉUS, Timothy GINN a Frank LOGE. Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Höje River in Sweden. *Journal of Hazardous Materials* [online]. 2005, **122**(3), 195–204. ISSN 03043894. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhazmat.2005.03.012
- (39) JULIANO, Claudia a Giovanni MAGRINI. Cosmetic ingredients as emerging pollutants of environmental and health concern. A mini-review. *Cosmetics* [online]. 2017, **4**(2). ISSN 20799284. Dostupné z: doi:10.3390/cosmetics4020011
- (40) ARANAZ, Inmaculada, Niuris ACOSTA, Concepción CIVERA, Begoña ELORZA, Javier MINGO, Carolina CASTRO, María de los Llanos GANDÍA a Angeles Heras CABALLERO. Cosmetics and cosmeceutical applications of chitin, chitosan and their derivatives. *Polymers* [online]. 2018, **10**(2). ISSN 20734360. Dostupné z: doi:10.3390/polym10020213
- (41) SRINIVASAN, Asha a Thiruvengkatachari VIRARAGHAVAN. Oil removal from water using biomaterials. *Bioresource Technology* [online]. 2010, **101**(17), 6594–6600. ISSN 09608524. Dostupné z: doi:10.1016/j.biortech.2010.03.079
- (42) BO, Arixin, Sarina SARINA, Hongwei LIU, Zhanfeng ZHENG, Qi XIAO, Yuantong GU, Godwin A. AYOKO a Huaiyong ZHU. Efficient Removal of Cationic and Anionic Radioactive Pollutants from Water Using Hydrotalcite-Based Getters. *ACS Applied Materials and Interfaces* [online]. 2016, **8**(25), 16503–16510. ISSN 19448252. Dostupné z: doi:10.1021/acsami.6b04632
- (43) MOUSAVI, Seyyed a Farank KHODADOOST. Effects of detergents on natural ecosystems and wastewater treatment processes : a review. 2019.
- (44) RAJAN, Divya S. An evaluation of the effect of a detergent on dissolved oxygen consumption rate of *Anabas testudineus*. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*. 2015, **2**(6), 46–48.
- (45) SANTOS, Danyelle, Raquel RUFINO, Juliana LUNA, Valdemir SANTOS a Leonie SARUBBO. Biosurfactants: Multifunctional biomolecules of the 21st century. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2016, **17**(3), 1–31. ISSN 14220067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms17030401
- (46) PANDEY, Puneeta a Brij GOPAL. Effect of Detergents on the Growth of Two Aquatic Plants : *Azolla pinnata* and *Hydrilla verticillata*. *International Journal of Science and Technology*. 2010, **5**(1), 107–114.
- (47) PAPADOPOULOS, A., C. SAVVIDES, M. LOIZIDIS, K. HARALAMBOUS a M.

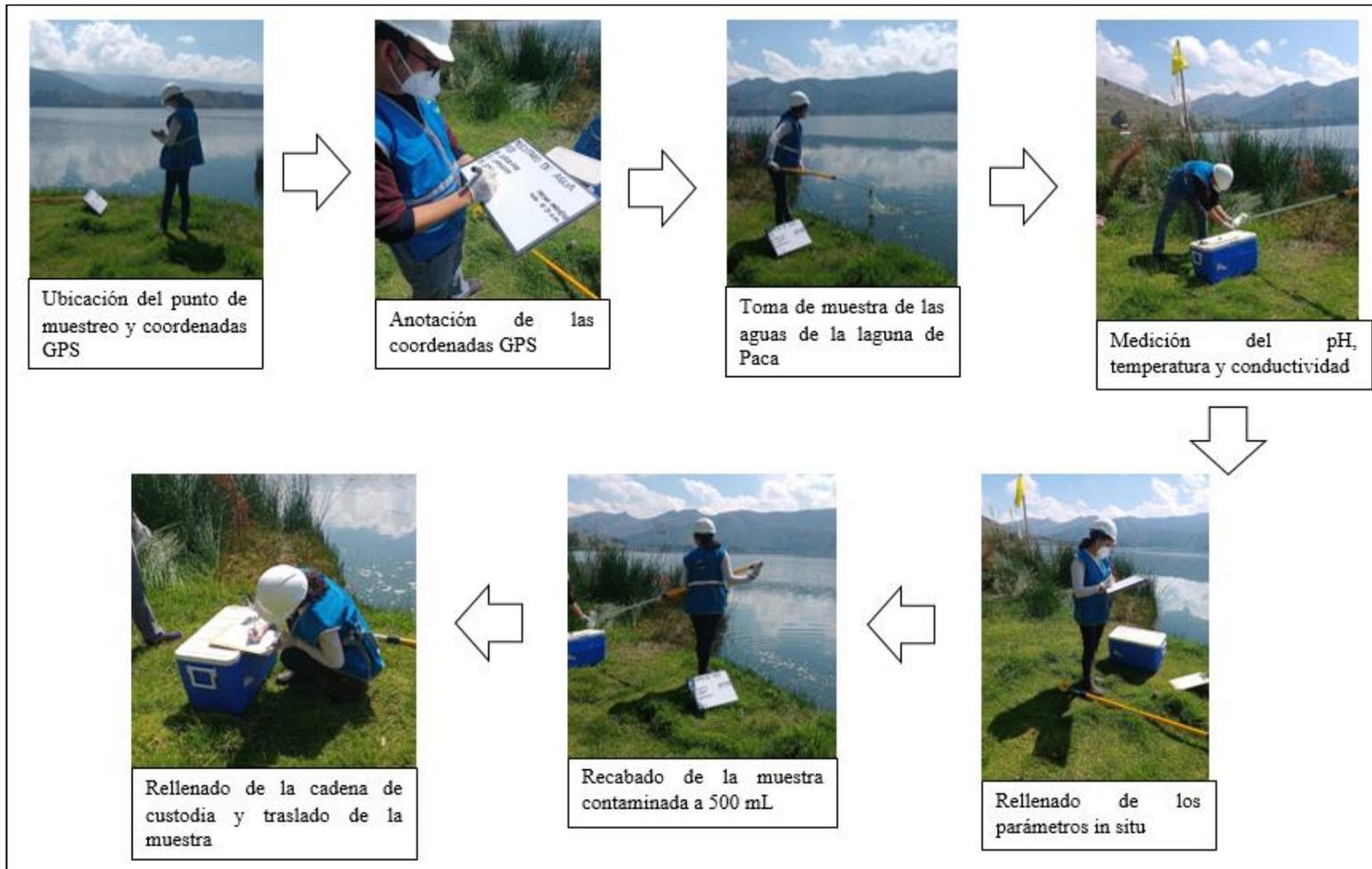
- LOIZIDOU. An assessment of the quality and treatment of detergent wastewater. *Water Science and Technology* [online]. 1997, **36**(2–3), 377–381. ISSN 02731223. Dostupné z: doi:10.1016/S0273-1223(97)00411-3
- (48) BAJPAI, Divya a V. K. TYAGI. Laundry detergents: an overview. *Journal of oleo science* [online]. 2007, **56**(7), 327–340. ISSN 13473352. Dostupné z: doi:10.5650/jos.56.327
- (49) RACHMAN, Tahar. Compositions comprising nonionic glycolipid surfactants. *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952. 2018, 10–27.
- (50) VIKARA. Harmful Chemicals in Your Laundry Detergent That You Should Avoid. *The better home* [online]. 2020 [vid. 2022-04-20]. Dostupné z: <https://www.thebetterindia.com/234603/harmful-chemicals-laundry-detergent-you-should-avoid-the-better-home/#:~:text=The most commonly used benzene,to dissolve and wash off.>
- (51) PANASIA, Gianna, Sylvia OETERMANN a Bodo PHILIPP. Sulfate Ester Detergent Degradation in *Pseudomonas Aeruginosa* Is Subject to both Positive and Negative Regulation. 2019, (November), 1–16.
- (52) CORTÓN, E. a A. VIALE. Solucionando grandes problemas ambientales con la ayuda de pequeños amigos: las técnicas de biorremediación. *Ecosistemas* [online]. 2006, **15**(3), 148–156. Dostupné z: <http://en.scientificcommons.org/37206110>
- (53) HERNANDEZ, R a C FERNANDEZ. *Metodología de la investigación*. 2014. ISBN 9788578110796.
- (54) HUAMAN, Pedro, Mauro MARIANO, Magda CHANCO a Haydee MONTOYA. Estructura del macrobentos de la laguna de Paca, Junín. *UNMSM*[online]. 2002. Dostupné z: [https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/biologia/v09\\_n1/estruc\\_macro.htm#:~:text=La laguna es de origen,promedio \(Goussard%2C 1989\).](https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/biologia/v09_n1/estruc_macro.htm#:~:text=La laguna es de origen,promedio (Goussard%2C 1989).)
- (55) KIM, Song, Choon PARK, Dong KIM a William JURY. Kinetics of benzene biodegradation by *Pseudomonas Aeruginosa*: Parameter estimation. *Environmental Toxicology and Chemistry* [online]. 2003, **22**(5), 1038–1045. ISSN 07307268. Dostupné z: doi:10.1897/1551-5028(2003)022<1038:KOBBDP>2.0.CO;2
- (56) WEELINK, Sander, Miriam EEKERT a Alfons STAMS. Degradation of BTEX by

- anaerobic bacteria: Physiology and application. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* [online]. 2010, **9**(4), 359–385. ISSN 15691705. Dostupné z: doi:10.1007/s11157-010-9219-2
- (57) CÂMARA, Jéssica, M. SOUSA a E. NETO. Kinetics of the biodegradation of monoaromatics by *Pseudomonas Aeruginosa*. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* [online]. 2019, **36**(1), 65–72. ISSN 01046632. Dostupné z: doi:10.1590/0104-6632.20190361s20170549
- (58) KARIMI, Behrooz, Maryam HABIBI a Mehry ESVAND. Biodegradation of naphthalene using *Pseudomonas Aeruginosa* by up flow anoxic-aerobic continuous flow combined bioreactor. *Journal of Environmental Health Science and Engineering* [online]. 2015, **13**(1), 1–10. ISSN 2052336X. Dostupné z: doi:10.1186/s40201-015-0175-1
- (59) TUOMI, Pirjo, Jani SALMINEN a Kirsten JORGENSEN. The abundance of nahAc genes correlates with the <sup>14</sup>C-naphthalene mineralization potential in petroleum hydrocarbon-contaminated oxic soil layers. *FEMS Microbiology Ecology* [online]. 2004, **51**(1), 99–107. ISSN 01686496. Dostupné z: doi:10.1016/j.femsec.2004.07.011
- (60) WONG, Arnoldo, Gustavo YAÑEZ, Emanuel HERNÁNDEZ, Hipólito CORZO, Germán GIÁCOMAN, Avel GONZÁLEZ, Diana GÓMEZ, Sandra RAMÍREZ, Orlando LÓPEZ a Saúl ESPINOSA-ZARAGOZA. Bacteria from *Jatropha curcas* rhizosphere, degrades aromatic hydrocarbons and promotes growth in *Zea mays*. *Open Agriculture* [online]. 2019, **4**(1), 641–649. ISSN 23919531. Dostupné z: doi:10.1515/opag-2019-0066
- (61) SHIM, Hojae a Shang Tian YANG. Biodegradation of benzene, toluene, ethylbenzene, and o-xylene by a coculture of *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas fluorescens* immobilized in a fibrous-bed bioreactor. *Journal of Biotechnology* [online]. 1999, **67**(2–3), 99–112. ISSN 01681656. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-1656(98)00166-7
- (62) MAZZEO, Dânia, Carlos LEVY, Dejanira DE ANGELIS a Maria MARIN. BTEX biodegradation by bacteria from effluents of petroleum refinery. *Science of the Total Environment* [online]. 2010, **408**(20), 4334–4340. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2010.07.004
- (63) MALHAUTIER, L., G. QUIJANO, M. AVEZAC, J. ROCHER a J. FANLO. Kinetic characterization of toluene biodegradation by *Rhodococcus erythropolis*: Towards

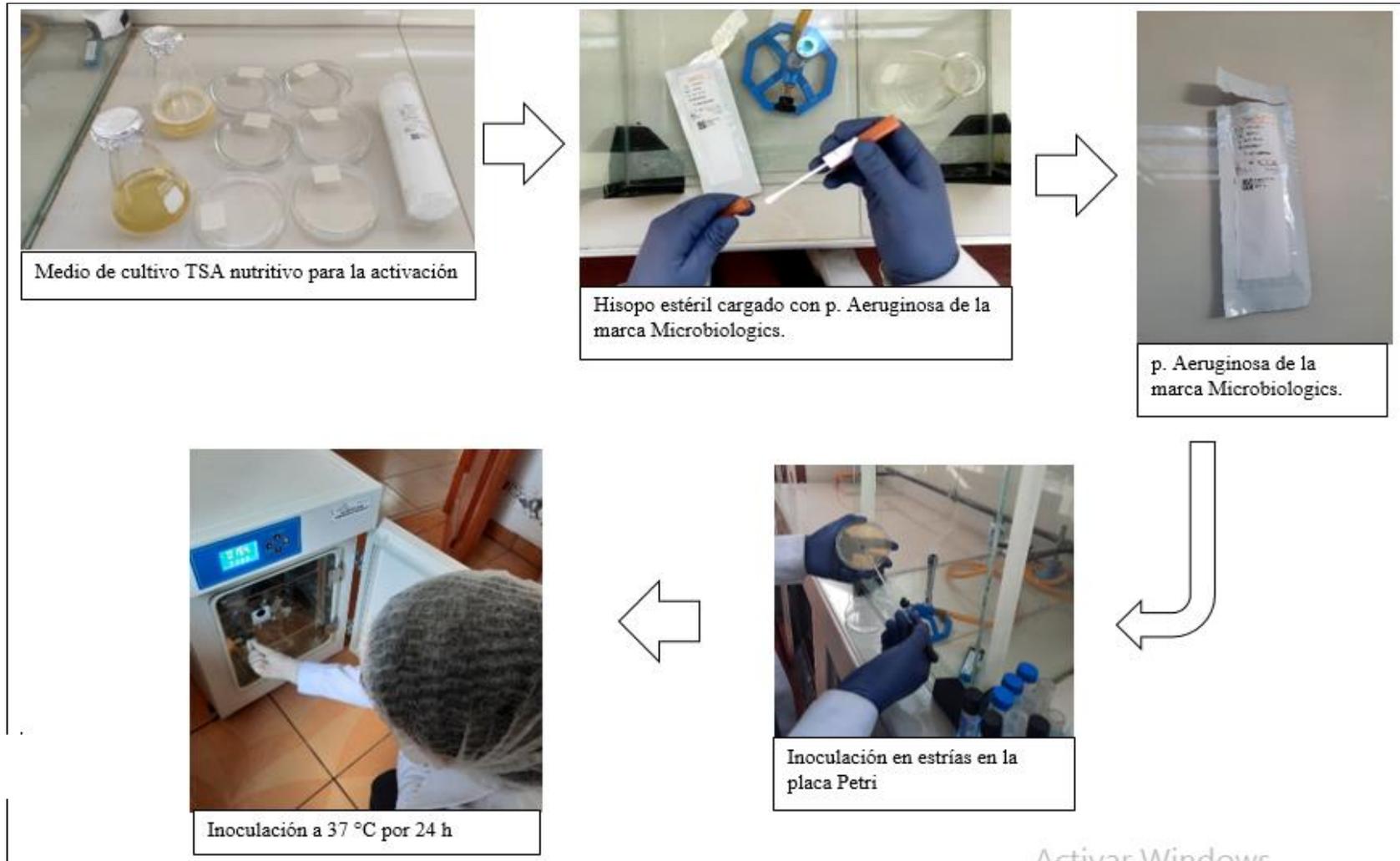
a rationale for microflora enhancement in bioreactors devoted to air treatment.  
*Chemical Engineering Journal* [online]. 2014, **247**, 199–204. ISSN 13858947.  
Dostupné z: doi:10.1016/j.cej.2014.02.099

## ANEXOS

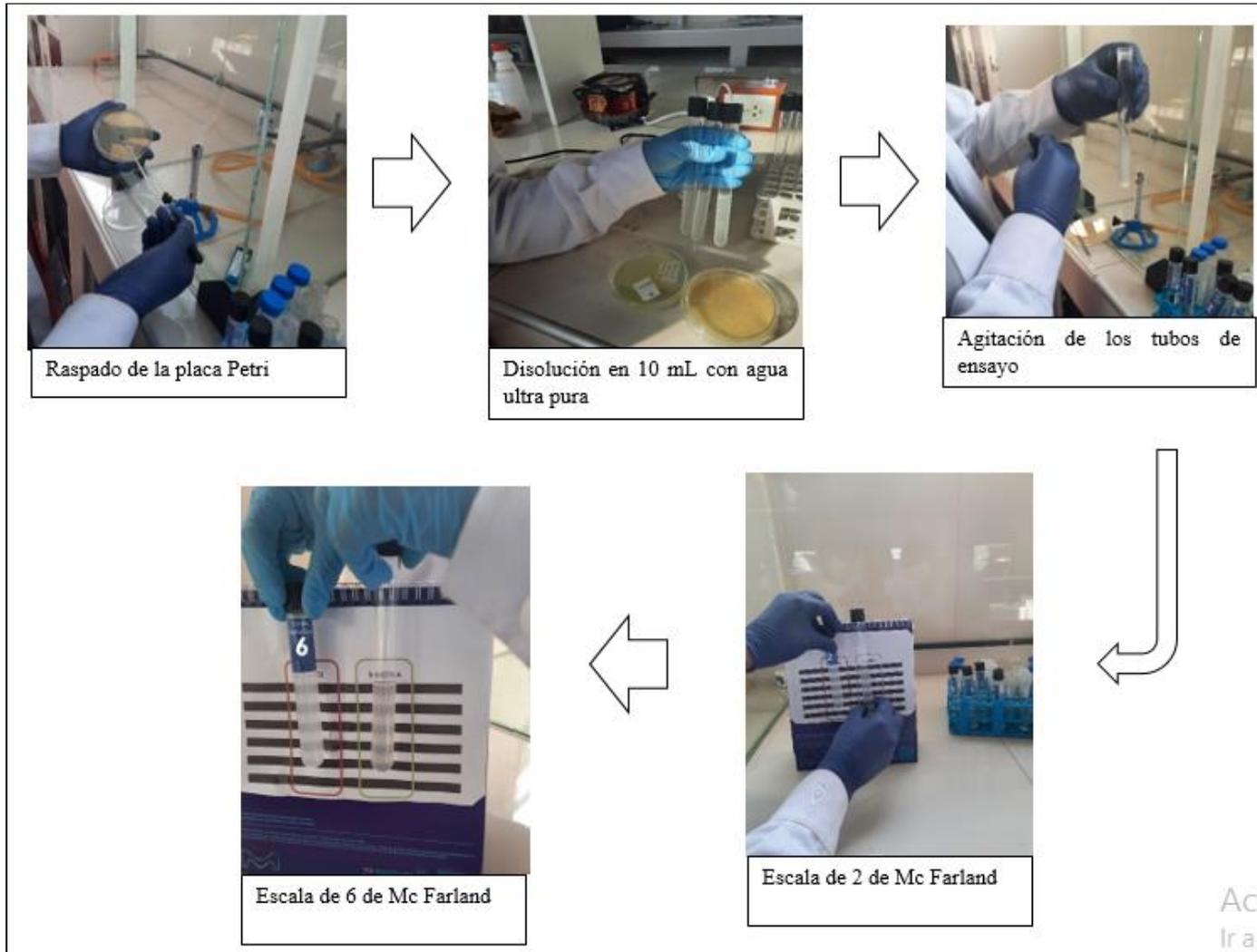
### Anexo 1. Toma de muestra



## Anexo 2. Obtención de la *Pseudomonas Aeruginosa*



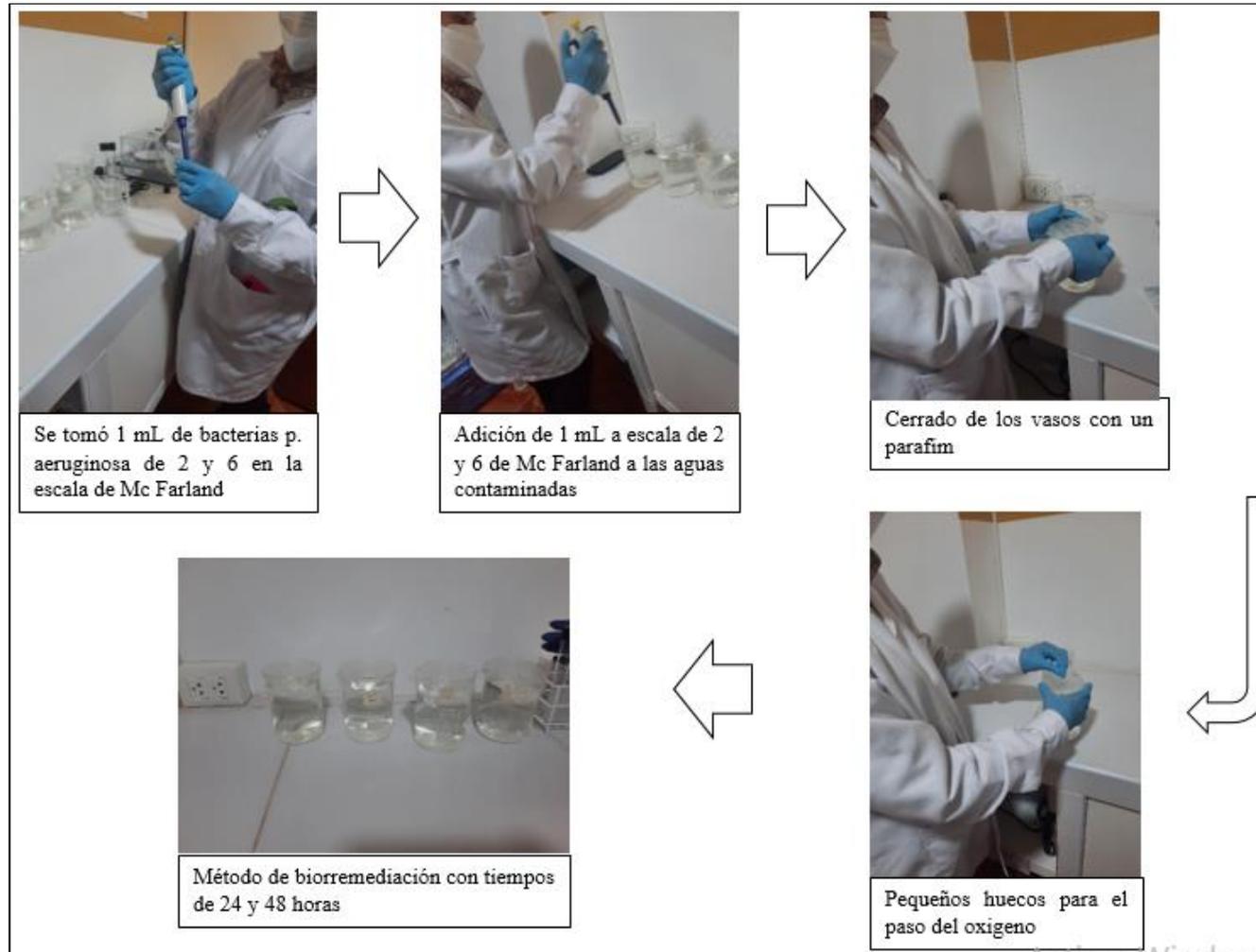
### Anexo 3. Disolución de la Pseudomonas



#### Anexo 4. Variación del pH de las aguas contaminadas



## Anexo 5. Método de biorremediación con *Pseudomonas Aeruginosa*



## Anexo 6. Reportes



**LABECO**  
ANÁLISIS AMBIENTALES S.C.R.L.

### INFORME DE ENSAYO N° 2550-22<sup>1</sup>

**Solicitante** : ROXANA YASMIN YARANGA PINARES  
**Dirección del Solicitante** : Psj. Santo Domingo - Mz. I, Lote 6.  
**Atención** : ROXANA YASMIN YARANGA PINARES  
**Proyecto** : Informe de Monitoreo Ambiental Calidad de Agua  
**Lugar de Muestreo** : Laguna de Paca - Jauja  
**Tipo de Muestra** : Agua Natural (Superficial/Laguna).  
**Fecha de Monitoreo** : 18/04/2022  
**Fecha de Recepción de Muestra** : 19/04/2022  
**Fecha de Inicio de Análisis** : 19/04/2022  
**Fecha de Término de Análisis** : 25/04/2022  
**Fecha de Emisión** : 26/04/2022

---

**CALIDAD DE AGUA**

Código de Cliente	Descripción	COORDENADAS UTM	
		Norte	Este
M-00	Laguna de Paca - Jauja	8702778	0444054
M-01	Agua - Tratada	8702778	0444054
M-02	Agua - Tratada	8702778	0444054

Código de Laboratorio	2550-1	2550-2	2550-3	Límite Detección	Unidad
Código de Cliente	M-00	M-01	M-02		
<b>Parámetro Físicoquímico</b>					
Benceno	0,70	0,04	0,56	0,03	mg/L

- Muestreado por el cliente: Ejecución de Muestreo de Agua.
- La fecha de muestreo es dato proporcionado por el área de monitoreo.
- Lugar y condiciones ambientales del muestreo: Indicado en el acta.
- Condición y Estado de la muestra ensayada: La muestra llegó refrigerada.
- El cliente renuncia al derecho de la dirimencia.

**Método de Análisis:**  
 Benceno: EPA 8015 C Rev. 2007. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography.



**Quim. Eilen Liliana Deza Montoya**  
 CQP N° 1328  
 Director Técnico

**Lima, 26 de Abril de 2022.**

Nota 1: El presente documento sólo es válido para la(s) muestra(s) de la referencia.  
 Nota 2: Este resultado no debe ser utilizado como una certificación de conformidad con normas de productos "o como certificado del sistema de Calidad de la entidad que lo produce".  
 Nota 3: La(s) muestra(s) y contramuestras se mantendrán por un periodo de siete (7) días de emitido el presente Informe de Ensayo.  
 Nota 4: Toda corrección o enmienda física al presente Informe de Ensayo será emitida con "un nuevo informe que haga referencial al corregido".  
 Nota 5: Está prohibido la reproducción total y/o parcial del presente informe, salvo autorización escrita por LABECO Análisis Ambientales S.C.R.L.  
 Nota 6: Se adjunta el LB-F-13. Cadena de Vigilancia correspondiente a este informe.  
 Nota 7: El superíndice "1" perteneciente al título de Informe de Ensayo se está considerando para los parámetros que no estén dentro del Alcance de Acreditación.  
 Anexo 1: Condiciones de recepción.

—oooOooo— 1 de 1

LB-F-14 Revisión: 23

Av. Victor Alzamora 348, Urb. Barrio Medico  
 Surquillo - Lima  
 Teléfonos: 242-2696 / 444-8987  
 web: www.labecoperu.com  
 e-mail: labeco@labecoperu.com, labecoperu@gmail.com

## INFORME DE ENSAYO

IE-210422-02

### 1. DATOS DEL CLIENTE

- 1.1 Cliente : ROXANA YASMIN YARANGA PIÑARES  
1.2 RUC/DNI : 72779665

### 2. FECHAS

- 2.1 Inicio : 15 de Abril de 2022  
2.2 Fin : 20 de Abril de 2022  
2.3 Emisión de informe : 21 de Abril de 2022

### 3. CONDICIONES AMBIENTALES DE ENSAYO

- 3.1 Temperatura : 20.3 °C  
3.2 Humedad Relativa : 51.2 %

### 4. ENSAYO SOLICITADO Y METODOLOGÍA UTILIZADA

- 4.1 Ensayo solicitado : Benceno  
4.2 Método utilizado : Benceno-Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography

### 5. DATOS DE LA MUESTRA ANALIZADA

- 5.1 Nombre de muestra : Agua de la Laguna de Paca - Agua tratada

### 6. RESULTADOS

#### 6.1. Resultados Obtenidos

Tabla N°1: Resultados Obtenidos de Ensayo

Muestra	Unid	Método	Resultado
M000	mg/L	Benceno	0.68
M101	mg/L		0.31
M102	mg/L		0.15
M103	mg/L		0.08
M104	mg/L		0.04
M105	mg/L		0.55
M106	mg/L		0.40
M107	mg/L		0.32
M108	mg/L		0.26

- Los Resultados pertenecen a las muestras entregadas al laboratorio
- Queda prohibida la copia parcial de este informe sin el consentimiento por escrito de SISTEMA DE SERVICIOS Y ANÁLISIS QUÍMICOS SAC.



.....  
DIEGO ROMANO VERGARAY DARRIGO  
QUÍMICO  
CQP. 1337

Página 1 de 1

**INFORME DE ENSAYO  
IE-240422-01**

**1. DATOS DEL CLIENTE**

1.1 Cliente : ROXANA YASMIN YARANGA PIÑARES  
1.2 RUC/DNI : 72779665

**2. FECHAS**

2.1 Inicio : 17 de Abril de 2022  
2.2 Fin : 23 de Abril de 2022  
2.3 Emisión de informe : 24 de Abril de 2022

**3. CONDICIONES AMBIENTALES DE ENSAYO**

3.1 Temperatura : 18.2 °C  
3.2 Humedad Relativa : 55.4 %

**4. ENSAYO SOLICITADO Y METODOLOGÍA UTILIZADA**

4.1 Ensayo solicitado : Benceno  
4.2 Método utilizado : Benceno-Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography

**5. DATOS DE LA MUESTRA ANALIZADA**

5.1 Nombre de muestra : Agua tratada de la Laguna de Paca

**6. RESULTADOS**

**6.1. Resultados Obtenidos**

Tabla N°1: Resultados Obtenidos de Ensayo

Muestra	Unid	Método	Resultado
M201	mg/L	Benceno	0.30
M202	mg/L		0.14
M203	mg/L		0.07
M204	mg/L		0.04
M205	mg/L		0.56
M206	mg/L		0.39
M207	mg/L		0.30
M208	mg/L		0.24

- Los Resultados pertenecen a las muestras entregadas al laboratorio
- Queda prohibida la copia parcial de este informe sin el consentimiento por escrito de SISTEMA DE SERVICIOS Y ANÁLISIS QUÍMICOS SAC.



**DIEGO ROMANO VERGARAY D'ARRIAGA**  
QUÍMICO  
CQP. 1337

## INFORME DE ENSAYO

IE-290422-04

### 1. DATOS DEL CLIENTE

- 1.1 Cliente : ROXANA YASMIN YARANGA PIÑARES  
1.2 RUC/DNI : 72779665

### 2. FECHAS

- 2.1 Inicio : 22 de Abril de 2022  
2.2 Fin : 28 de Abril de 2022  
2.3 Emisión de informe : 29 de Abril de 2022

### 3. CONDICIONES AMBIENTALES DE ENSAYO

- 3.1 Temperatura : 19.7 °C  
3.2 Humedad Relativa : 54.8 %

### 4. ENSAYO SOLICITADO Y METODOLOGÍA UTILIZADA

- 4.1 Ensayo solicitado : Benceno  
4.2 Método utilizado : Benceno-Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography

### 5. DATOS DE LA MUESTRA ANALIZADA

- 5.1 Nombre de muestra : Agua tratada de la Laguna de Paca

### 6. RESULTADOS

#### 6.1. Resultados Obtenidos

Tabla N°1: Resultados Obtenidos de Ensayo

Muestra	Unid	Método	Resultado
M301	mg/L	Benceno	0.29
M302	mg/L		0.15
M303	mg/L		0.07
M304	mg/L		0.05
M305	mg/L		0.54
M306	mg/L		0.40
M307	mg/L		0.31
M308	mg/L		0.26

- Los Resultados pertenecen a las muestras entregadas al laboratorio
- Queda prohibida la copia parcial de este informe sin el consentimiento por escrito de SISTEMA DE SERVICIOS Y ANÁLISIS QUÍMICOS SAC.



**DIEGO ROMANO VERGARAY D'ARRIEGO**  
QUÍMICO  
CQP. 1337

## Anexo 7. Fichas de calibración



(An ISO 17025:2005 certified laboratory)

Calibration certificate

Date: 06/01/2019

Lot No : BODP1/19  
Test Method: Gravimetric Method  
Item Tested: BOD 300 ML  
Item Tested on: 02/01/2019  
Nominal Volume: 300 ml  
Standard Deviation:  $\pm 0.015$   
The Product was found to contain the following volume at 20 degree Celsius  
Certified Volume: 300.001 ml  
Delivery Time: NA  
Balance: Metter Toledo

The above product has been examined to compliance to class A the above  
Calibration result is valid at the time of calibration under lab conditions.  
The report shall not be reproduced except in written permission from M/S Biohall  
Life sciences.

Calibrated By:

Date of issue: 06/01/2019





# Certificado de Calibración

## Calibration Certificate

N° PH21-C-0169

<p><b>Cliente:</b> <i>Customer</i></p> <p><b>Dirección:</b> <i>Address</i></p> <p><b>Instrumento de Medición:</b> <i>Measuring Instrument</i></p> <p><b>Marca:</b> <i>Brand</i></p> <p><b>Modelo:</b> <i>Model</i></p> <p><b>Número de serie:</b> <i>Serial Number</i></p> <p><b>Identificación:</b> <i>Identification</i></p> <p><b>Lugar de Calibración:</b> <i>Place of Calibration</i></p> <p><b>Orden de Trabajo:</b> <i>Work Order</i></p> <p><b>Fecha de Calibración:</b> <i>Date of Calibration</i></p> <p><b>Fecha de Emisión:</b> <i>Date of Issue</i></p>	<p><b>GRUPO JHACC S.A.C. CONSULTORIA E INGENIERIA AMBIENTAL</b></p> <p>Jr. Santa Rosa N° 1361 (Junin/ Huancayo/ El Tambo)</p> <p>MEDIDOR DE PH</p> <p>HANNA INSTRUMENTS</p> <p>HI9811-5</p> <p>05030037101</p> <p>No Indica</p> <p>Laboratorio de Físico-Químico de KOSSODO METROLOGIA S.A.C.</p> <p>OT-02101362</p> <p>2021-09-01</p> <p>2021-09-02</p>	<p>Este Certificado de Calibración documenta la trazabilidad a los patrones Nacionales o Internacionales, que realizan las unidades de medida de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI).</p> <p>KOSSODO METROLOGÍA S.A.C. mantiene y calibra sus patrones de referencia para garantizar la cadena de trazabilidad de las mediciones que realiza, así mismo realiza certificaciones metroológicas a solicitud de los interesados y brinda asistencia técnica en temas relacionados al campo de la metrología en la industria peruana.</p> <p>Con el fin de asegurar la calidad de sus mediciones el usuario debería recalibrar sus instrumentos a intervalos apropiados.</p> <p><i>This Calibration Certificate documents the traceability to national or international standards, which realize the units of measurement according to the International System of Units (SI). KOSSODO METROLOGIA S.A.C. supports and calibrates his standards of reference to guarantee the chain of traceability of the measurements realized, as well as the metrological certifications realize at the request of the interested parties and offers technical assistance in topics related to the metrology field in the Peruvian industry. In order to assure the quality of measurements the user should recalibrate his instruments at appropriate intervals.</i></p>
--	--	--

### ESPECIFICACIONES TECNICAS DEL OBJETO CALIBRADO

*Technical specifications of the calibrated object*

<b>Intervalo de Indicación:</b> <i>Indication interval</i>	0,0 pH a 14,0 pH	<b>Modelo de Electrodo:</b> <i>Electrode model</i>	HI1285-5
<b>Resolución:</b> <i>Resolution</i>	0,1 pH	<b>Serie del Electrodo:</b> <i>Electrode serial</i>	0652070N
<b>Exactitud:</b> <i>Accuracy</i>	± 0,1 pH	<b>Código del Electrodo:</b> <i>Electrode Code:</i>	No Indica

### MÉTODO DE CALIBRACIÓN

*Calibration Method*

La calibración se realizó por comparación de la indicación del instrumento con valores asignados a materiales de referencia de pH certificados; siguiendo el procedimiento, PC-020 "Procedimiento para la Calibración de Medidores de pH", Segunda edición de la DM-INACAL

*Calibration was performed by comparison the indication of the instrument with assigned values to reference materials Certified pH, following the procedure, the PC-020 "Calibration Procedure for pH Meters", Second edition of the DM-INACAL*



Coordinador del SIG  
*SIG's Coordinator*

Daniel Torres Díaz

Jefe de Laboratorio  
*Laboratory Boss*

Olga Toro Sayas

N° PH21-C-0169

**PATRONES UTILIZADOS**

Standards Used

Nombre del patrón <i>Standard name</i>	Código y/o serie de Patrón <i>Pattern code and / or series</i>	N° de Certificado <i>Certificate number</i>	Trazabilidad <i>Traceability</i>
Solución standard de valor nominal pH 4 <i>Standard solution with nominal value of pH 4</i>	PT-SB04-108	Material de referencia del NIST N° 4280-12044193	Soluciones estándar con incertidumbres de pH 0,011
Solución standard de valor nominal pH 7 <i>Standard solution with nominal value of pH 7</i>	PT-SB07-112	Material de referencia del NIST N° 4281-11712762	Soluciones estándar con incertidumbres de pH 0,011
Solución standard de valor nominal pH 10 <i>Standard solution with nominal value of pH 10</i>	PT-SB10-109	Material de referencia del NIST N° 4282-12065100	Soluciones estándar con incertidumbres de pH 0,011
Termómetro digital <i>Digital thermometer</i>	PT-TDIG-10 / 181445510	Patrones de referencia del DM-INACAL N° LT-170-2020	Indicador digital con incertidumbre de orden máximo 0,0294
Termohigrómetro <i>Thermo-hygrometer</i>	IM-THBD-03 / 11007683	Patrones de referencia de DM-INACAL N° LH-093-2020	Indicador digital con incertidumbre de orden máximo 0,1 °C; 1,7 %

**CONDICIONES AMBIENTALES**

Environment Conditions

Temperatura ambiente inicial: 21,3 °C Humedad Relativa inicial: 65,0 %

*Initial temperature*

*Initial relative humidity*

Temperatura ambiente final: 21,5 °C Humedad Relativa final: 63,7 %

*Final temperature*

*Final relative humidity*

**RESULTADOS ANTES DEL AJUSTE A 25 °C**

Results before adjust to 25 °C

Previo al ajuste del instrumento se encontró el siguiente resultado para el valor de pH.

Before the adjust of the instrument, it was found the following result for the pH value.

Valor de Referencia <i>Reference value</i>	Error <i>Error</i>
pH	pH
4,1	0,0
7,1	0,0
10,1	0,0

**RESULTADOS DE LA CALIBRACIÓN A 25 °C**

Calibration results to 25 °C

Lectura del Instrumento <i>Instrument Reading</i>	Valor Certificado <i>Certified Value</i>	Error <i>Error</i>	Incertidumbre <i>Uncertainty</i>
pH	pH	pH	pH
4,1	4,0	0,1	0,1
7,1	7,0	0,1	0,1
10,1	10,0	0,1	0,1

Los resultados de pH están dados a la temperatura de 25 °C

PH results are given to the temperature of 25 °C.

N° PH21-C-0169

#### INCERTIDUMBRE DE MEDICIÓN

*Measurement Uncertainty*

La incertidumbre de medición calculada (U), ha sido determinada a partir de la Incertidumbre estándar de medición combinada, multiplicada por el factor de cobertura  $k=2$ . Este valor ha sido calculado para un nivel de confianza de aproximadamente 95 %.

*The calculated uncertainty of measurement (U), it has been determined from the combined Standard Uncertainty of Measurement multiplied by the coverage factor  $k=2$ . This value has been calculated for a confidence level of about 95 %.*

#### OBSERVACIONES

*Comments*

El instrumento se ajustó con solución estándar de pH 7 .

*The instrument was adjusted with standard pH 7 solution.*

El instrumento tiene sensor de temperatura incorporado

*The instrument has built-in temperature sensor.*

#### NOTAS

*Notes*

Los resultados contenidos en el presente documento son válidos únicamente para las condiciones del instrumento durante la calibración. KOSSODO METROLOGÍA S.A.C. no se responsabiliza de ningún perjuicio que puedan derivarse del uso inadecuado del objeto calibrado.

*The values indicated in this document are only valid for the conditions of the instrument during calibration. KOSSODO METROLOGÍA S.A.C. takes no responsibility for any damages caused by bad use of the calibrated object.*

Los resultados declarados en el presente documento se relacionan solamente con el ítem sometido a calibración indicado en la página 1 de éste documento.

*The results declared in this document relate only to the item undergoing calibration indicated on page 1 of this document.*

Una copia de este documento será mantenida en archivo electrónico en el laboratorio por un período de por lo menos 4 años.

*A copy of this document will be kept in electronic device in the laboratory for 4 years at least.*

La versión en inglés de este documento es una traducción relativa. En caso de duda, es válida la versión original en español.

*The version in english of this document is not a binding translation. If any controversy arises, the original version in spanish must be considered.*

# Certificado



La Dirección de Acreditación del Instituto Nacional de Calidad - INACAL, en el marco de la Ley N° 30224, OTORGA el presente certificado de Renovación de la Acreditación a:

## LABECO ANÁLISIS AMBIENTALES S.C.R.L.

### Laboratorio de Ensayo

En su sede ubicada en: Jr. Víctor Alzamora N° 348, distrito de surquillo, provincia y departamento de Lima.  
Con base en la norma

### NTP-ISO/IEC 17025:2017 Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración

Facultándolo a emitir Informes de Ensayo con Símbolo de Acreditación. En el alcance de la acreditación otorgada que se detalla en el DA-acr-06P-21F que forma parte integral del presente certificado llevando el mismo número del registro indicado líneas abajo.

Fecha de Renovación: 30 de marzo de 2021  
Fecha de Vencimiento: 29 de marzo de 2025



Firmado digitalmente por RODRIGUEZ ALEGRIA  
Alejandra FAU 20600283015 soft  
Fecha: 2021-04-28 10:50:50  
Motivo: Soy el Autor del Documento

ALEJANDRA RODRIGUEZ ALEGRÍA  
Directora, Dirección de Acreditación - INACAL

Cédula N° : 143-2021-INACAL/DA  
Contrato N° : 016-2021-INACAL-DA  
Registro N° : LE-034

Fecha de emisión: 28 de abril de 2021

El presente certificado tiene validez con su correspondiente Alcance de Acreditación y cédula de notificación dado que el alcance puede estar sujeto a ampliaciones, reducciones, actualizaciones y suspensiones temporales. El alcance y vigencia debe confirmarse en la página web [www.inacal.gob.pe/acreditacion](http://www.inacal.gob.pe/acreditacion) según la actualización al momento de hacer uso del presente certificado.  
La Dirección de Acreditación del INACAL es firmante del Acuerdo de Reconocimiento Multilateral (MLA) de Inter American Accreditation Co-operation (IAAC) e International Accreditation Forum (IAF) y del Acuerdo de Reconocimiento Mutuo con la International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC).

DA-acr-01P-02M Ver. 02