

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL



BIOSORCIÓN DE PLOMO MEDIADA POR CONSORCIOS MICROBIANOS EN
BIORREACTORES *AIR LIFT*

Tesis

Para optar el título profesional de:

INGENIERA AMBIENTAL

PRESENTADO POR:

JHELLY VALERY RODRÍGUEZ EUGENIO

Tingo María – Perú

2024



ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS N° 079-2024-FRNR-UNAS

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 18 de julio de 2024, a horas 6:00 p.m. de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental de la Facultad de Recursos Naturales Renovables para calificar la tesis titulada:

**“BIOSORCIÓN DE PLOMO MEDIADA POR CONSORCIOS MICROBIANOS
EN BIORREACTORES AIR LIFT”**

Presentado por el Bachiller: **RODRIGUEZ EUGENIO, JHELY VALERY**, después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara **APROBADO** con el calificativo de “**MUY BUENA**”.

En consecuencia, el sustentante queda apto para optar el Título Profesional de **INGENIERO AMBIENTAL** que será aprobado por el Consejo de Facultad, Tramitándolo al Consejo Universitario para el otorgamiento del Título Correspondiente.

Tingo María, 25 de julio de 2024


Mclgo. MSc. **LUIS A. SANCHEZ ROMERO**
PRESIDENTE


Ing. MSc. **ABBY S. SOLANGE DA CRUZ RODRIGUEZ**
MIEMBRO




Ing. MSc. **SANDRA L. ZAVALA GUERRERO**
MIEMBRO


Dr. **VICTOR MANUEL BETETA ALVARADO**
ASESOR


Dr. **CESAR SAMUEL LOPEZ LOPEZ**
ASESOR



"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

CERTIFICADO DE SIMILITUD T.I. N° 239 - 2024 - CS-RIDUNAS

El Director de la Dirección de Gestión de Investigación de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, quien suscribe,

CERTIFICA QUE:

El Trabajo de Investigación; aprobó el proceso de revisión a través del software TURNITIN, evidenciándose en el informe de originalidad un índice de similitud no mayor del 25% (Art. 3° - Resolución N° 466-2019-CU-R-UNAS).

Programa de Estudio:

Ingeniería Ambiental

Tipo de documento:

Tesis	X	Trabajo de Suficiencia Profesional	
-------	---	------------------------------------	--

TÍTULO	AUTOR	PORCENTAJE DE SIMILITUD
BIOSORCIÓN DE PLOMO MEDIADA POR CONSORCIOS MICROBIANOS EN BIORREACTORES AIR LIFT	JHELY VALERY RODRÍGUEZ EUGENIO	03 % Tres

Tingo María, 09 de agosto de 2024

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
UNIDAD DE GESTIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Dr. Tomas Menacho Mallqui
JEFE

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL



**BIOSORCIÓN DE PLOMO MEDIADA POR CONSORCIOS MICROBIANOS EN
BIORREACTORES AIR LIFT**

Autor	: Jhely Valery Rodríguez Eugenio
Asesores	: Dr. César Samuel López López Dr. Víctor Manuel Beteta Alvarado
Programa de investigación	: Ciencia y Tecnologías Ambientales
Línea de investigación	: Biorremediación y recuperación de ambientes degradados
Eje temático	: Biorremediación
Lugar de ejecución	: Laboratorio de Microbiología – FRNR
Duración	: 6 meses
Financiamiento	: S/ 2 945,8
FEDU	: S/ 00,00
Propio	: S/ 2 945,8
Otros	: S/ 00,00

Tingo María – Perú, 2024

DEDICATORIA

A la Santísima Trinidad por haberme permitido este logro, a mis padres y abuelos, este trabajo es de ellos y por ellos.

A toda mi familia y amistades que formaron parte de este proceso.

A todas las personas que tengan interés por este tema.

AGRADECIMIENTO

A Dios y la Santísima Virgen María por su intercesión, cuidado y compañía en todo momento.

A mis padres por su apoyo y amor incondicional.

A toda mi familia, amigos y hermanos en la fe por sus oraciones, consejos, guía, compañía y cariño, los tengo presente a cada uno en mi corazón.

Al Dr. César Samuel López López, por sus enseñanzas, consejos, gentileza, paciencia y por todo su apoyo esmerado en cada etapa de esta investigación.

Al Dr. Víctor Manuel Beteta Alvarado por todo su apoyo y aportes trascendentales en esta investigación.

Al Ing. Richard Sías Rodríguez por su amabilidad y apoyo en la ejecución de esta investigación.

A la Universidad Nacional Agraria de la Selva y a mis docentes que se empeñaron en darnos una buena formación profesional.

ÍNDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivo general	2
1.2. Objetivos específicos	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Antecedentes de la investigación.....	3
2.2. Plomo.....	3
2.3. El plomo en el medio acuático.....	3
2.4. Efectos del plomo sobre la salud	4
2.5. Biosorción	4
2.5.1. Factores que afectan a la biosorción	5
2.6. Consorcios microbianos como biosorbentes	5
2.7. Biorreactor <i>Air Lift</i>	7
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
3.1. Lugar de ejecución	8
3.1.1. Ubicación política	8
3.1.2. Ubicación geográfica.....	8
3.1.3. Aspecto Ambiental.....	8
3.2. Materiales y equipos	8
3.2.1. Materiales	8
3.2.2. Equipos.....	9
3.3. Criterio de Investigación	9
3.3.1. Tipo de investigación	9
3.3.2. Enfoque de la investigación	9
3.3.3. Nivel de la investigación	9
3.3.4. Variables e indicadores	9

3.4. Metodología.....	10
3.4.1. Aislamiento de consorcios microbianos de la laguna Quiulacocha	10
3.4.2. Eficiencia de biosorción de plomo	11
3.4.3. Identificación de los microorganismos	12
3.5. Diseño de investigación.....	13
3.6. Ajuste estadístico.....	13
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	14
4.1. Aislamiento de consorcios microbianos de la laguna Quiulacocha.....	14
4.2. Determinación del rendimiento de biosorción de plomo	16
4.3. Identificación de los microorganismos	19
V. CONCLUSIONES	21
VI. PROPUESTAS A FUTURO	22
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23
VIII. ANEXOS.....	27
8.1. Metodología.....	27
8.2. Identificación de los microorganismos	37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página
1. Parámetros fisicoquímicos de la laguna Quiulacocha	14
2. Características de los microorganismos bacterianos integrantes de consorcios microbianos aislados del agua de la laguna Quiulacocha	15
3. Condiciones en las que se desarrollaron los consorcios microbianos en biorreactores	16
4. Análisis de varianza del rendimiento de biosorción de plomo por los consorcios microbianos en biorreactores <i>Air Lift</i> al 95 % de confianza	17
5. Prueba múltiple de medias Tukey del rendimiento de biosorción de plomo de los consorcios microbianos en biorreactores <i>Air Lift</i> al 95 % de confianza	18
6. Géneros bacterianos identificados del agua de la laguna Quiulacocha	19
7. Especies bacterianas consideradas para conformar los consorcios microbianos de trabajo	20
8. Parámetros determinados de los tratamientos en los biorreactores <i>Air lift</i> al término de la operación.....	27
9. Eficiencia de biosorción de plomo por los consorcios microbianos en biorreactores <i>Air Lift</i>	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Esquematación del biorreactor “ <i>Air Lift</i> ”	7
2. Biorreactor <i>Air Lift</i>	11
3. Promedio del rendimiento de biosorción de plomo de los consorcios microbianos en biorreactores <i>Air Lift</i>	17
4. Estación de monitoreo P-04 A.....	29
5. Aspecto paisajístico de la Laguna Quiulacocha	29
6. Muestreo de la laguna Quiulacocha	30
7. Aislamiento de microorganismos de la laguna Quiulacocha	30
8. Siembra de microorganismos	31
9. Incubación de los microorganismos en medios CLED y agar Manitol Salado a 37 °C por 24 horas	31
10. Incubación de los microorganismos en medio M77 a temperatura ambiente por 24 horas	32
11. Siembra de cepas desarrolladas en el BHI	32
12. Géneros de microorganismos bacterianos aislados de la laguna Quiulacocha desarrolladas en diferentes medios de cultivo (CLED, Manitol Salado y medio M77)....	33
13. Pesaje del nitrato del plomo	33
14. Agregado del nitrato de plomo a los biorreactores.....	34
15. Operación de los biorreactores <i>Air Lift</i>	34
16. Medición de los parámetros fisicoquímicos al inicio, tercero y séptimo día de operación de los biorreactores <i>Air Lift</i>	35
17. Filtros de jeringa de 0,45 µm.....	35
18. Tinción de microorganismos gram positivos y negativos	36
19. Vista de los microorganismos a través del microscopio	36
20. <i>Lactobacillus sp.</i>	37
21. <i>Pseudomonas sp.</i>	37
22. <i>Bacillus sp.</i>	38
23. Consorcio microbiano (<i>Micrococcus sp.</i> y <i>Bacillus sp.</i>).....	38
24. Consorcio microbiano (<i>Micrococcus sp.</i> y <i>Pseudomonas sp.</i>).....	39
25. Consorcio microbiano (<i>Bacillus sp.</i> , <i>Pseudomonas sp.</i> y <i>Micrococcus sp.</i>).....	39
26. Consorcio microbiano	40
27. Análisis de plomo de la muestra de la laguna Quiulacocha	41

28. Análisis de plomo de las soluciones después de los tratamientos con los consorcios microbianos en los biorreactores <i>Air Lift</i>	42
--	----

RESUMEN

BIOSORCIÓN DE PLOMO MEDIADA POR CONSORCIOS MICROBIANOS EN BIORREACTORES AIR LIFT

En los últimos años la contaminación de medios acuáticos por cargas metálicas ha sido alta, a pesar de existir regulaciones en el sentido de remediar esta situación, no son tomados en cuenta por el alto costo que representan al ejecutar los distintos tratamientos fisicoquímicos de remoción de metales pesados, además, estos tratamientos resultan poco eficientes y generan grandes cantidades de lodos; es por ello, que la biosorción está resultando una técnica eficiente y económica, considerando que los consorcios microbianos que se desarrollaron en ambientes contaminados con altas concentraciones de los mismos, son potenciales agentes biosorbentes.

En esta investigación se determinó el rendimiento de biosorción de plomo mediada por consorcios microbianos en biorreactores *Air Lift*, aislados de la laguna Quiulacocha, en cuya muestra se halló 47,23 mg/L de plomo, lo que indicó que estos microorganismos están habituados a la presencia del plomo en su entorno.

Se realizó un diseño experimental, con 4 niveles de tratamientos y 3 repeticiones, la operación de los biorreactores tuvo una duración media de 7 días. Los géneros *Bacillus sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Micrococcus sp.* y *Pseudomonas sp.* conformaron consorcios microbianos que mostraron participar en la biosorción de plomo, finalizado el experimento, estos consorcios microbianos expresaron una alta eficiencia de biosorción de 98 % de rendimiento.

Palabras claves: Biosorción, plomo, consorcios microbianos, biorreactores *Air Lift*, metales pesados.

LEAD BIOSORPTION MEDIATED BY MICROBIAL CONSORTIA IN AIR LIFT BIOREACTORS

ABSTRACT

In recent years, the contamination of aquatic environments by metal loads has been high, despite there being regulations in the sense of remedying this situation, they are not taken into account due to the high cost they represent when executing the different physicochemical metal removal treatments. Furthermore, these treatments are inefficient and generate large quantities of sludge; This is why biosorption is proving to be an efficient and economical technique, considering that microbial consortia that developed in environments contaminated with high concentrations of them are potential biosorbent agents.

In this research, the performance of lead biosorption mediated by microbial consortia was determined in Air Lift bioreactors, isolated from the Quiulacocha lagoon, in whose sample 47.23 mg/L of lead was found, which indicated that these microorganisms are accustomed to the presence of lead in their environment.

An experimental design was carried out, with 4 treatment levels and 3 repetitions, the operation of the bioreactors had an average duration of 7 days. The genera *Bacillus sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Micrococcus sp.* and *Pseudomonas sp.* They formed microbial consortia that were shown to participate in the biosorption of lead. At the end of the experiment, these microbial consortia expressed a high biosorption efficiency of 98% yield.

Keywords: Biosorption, lead, microbial consortia, Air Lift bioreactors, heavy metals.

I. INTRODUCCIÓN

Las actividades antropogénicas en diferentes partes del mundo generan contaminación, entre ellas al agua por presencia de plomo. El Banco Mundial (2006) registró que el 30,2 % de los ríos costeros en el Perú, estaban contaminados por plomo proveniente de las minas, siendo esto un dato alarmante, ya que el plomo es un metal tóxico que no tiene ninguna función biológica tendiendo a bioacumularse, siendo más peligroso a medida que avanza en la cadena trófica. El plomo puede llegar al hombre mediante: el consumo de alimentos contaminados con plomo, por inhalación del aire contaminado con plomo o por absorción epitelial al entrar en contacto con sustancias que contienen plomo. El plomo una vez dentro del hombre, circula por la sangre llegando a diferentes órganos, como el cerebro, riñones, hígado y huesos, tiende a acumularse en huesos y dientes. Es así, que el plomo en el hombre causa disfunción renal, anemia, hipertensión, intoxica el sistema inmune y los órganos reproductores, en las gestantes el plomo acumulado en huesos y dientes entra en circulación hasta llegar al feto, en los niños es más peligroso aún, puesto que afecta su sistema nervioso y su desarrollo cerebral, causándoles daños irreversibles; los síntomas y los efectos varían según las concentraciones de plomo en el organismo. Ni la más mínima exposición al plomo se considera inofensiva.

Una de las razones por que las industrias descargan aguas residuales con altas concentraciones de plomo sin tratamiento a los cuerpos de agua, es porque los tratamientos fisicoquímicos son costosos, poco eficientes y generan grandes cantidades de lodos, algunos de estos tratamientos son: precipitación química, intercambio iónico, ósmosis inversa y adsorción. Como alternativa a estos tratamientos convencionales, existen los tratamientos biológicos, donde las técnicas usan materiales biológicos, siendo más económicos, eficientes y no generan lodos. Por ejemplo, la biosorción se presenta como parte de un tratamiento biológico, proceso que permite eliminar el plomo de medios acuáticos con material biológico vivo o muerto, denominados biosorbentes. Los biosorbentes vivos, como los consorcios microbianos, presentan múltiples mecanismos en la biosorción, por lo tanto, resultan ser aún más eficientes que otros biosorbentes.

Considerando lo indicado en párrafos anteriores se plantea la siguiente pregunta: ¿Consortios microbianos median la biosorción de plomo en biorreactores *Air Lift*?, teniéndose como hipótesis: los consorcios microbianos median la biosorción de plomo en biorreactores *Air Lift*.

Para la presente investigación, se formularon los siguientes objetivos:

1.1. Objetivo general

Determinar el rendimiento de biosorción del plomo mediada por consorcios microbianos en biorreactores *Air Lift*

1.2. Objetivos específicos

- Aislar consorcios microbianos de la laguna Quiulacocha.
- Determinar el rendimiento de biosorción de plomo mediada por consorcios microbianos en biorreactores *Air Lift*.
- Identificar los géneros de los microorganismos integrantes del consorcio que participaron en la biosorción de plomo en biorreactores *Air Lift*.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Antecedentes de la investigación

Vizarreta (2021) extrajo dos muestras de la laguna Quiulacocha, encontrando 0,708 mg/L y 0,171 mg/L de plomo, cuyos valores sobrepasaron los Estándares de Calidad Ambiental para lagunas establecidos en el D.S. N° 015-2015-MINAM.

Syed y Chinthala (2015) aislaron cepas de bacilos a partir de suelos salinos y determinaron su capacidad de biosorción. Llegando a la conclusión que las cepas que mostraron máxima biosorción de plomo fueron: *B. cereus* con un 87 %, seguido por *B. subtilis* con el 85 %.

Muñoz et al. (2019), concluyeron que, la cepa de *B. subtilis* aislada del pasivo minero Santa Rosa de Jancas (Ancash) mostró una tolerancia moderada al plomo (II), con un Índice de Tolerancia de 0,60-0,79.

Es necesario recalcar que, en el contexto de la biotecnología, "mediada" generalmente se refiere a procesos o acciones que son facilitados o controlados por una molécula, organismo, o sistema biológico (Gadd, 2010).

2.2. Plomo

Se halla naturalmente en la corteza terrestre, pero el uso indiscriminado por el hombre ha dado lugar a una gran contaminación ambiental (OMS, 2022), en las aguas residuales es un contaminante de gran relevancia (Gadd, 2008).

El plomo es un metal altamente tóxico, no cumple ninguna función biológica en los seres vivos y no es biodegradable, por ello, tiende a bioacumularse y se vuelve más peligrosa conforme escala en la cadena trófica (Carpio, 2017). Su exposición al hombre ha afectado la salud pública a nivel mundial de forma alarmante (OMS, 2022).

El plomo se ha destinado a la fabricación de baterías de plomo - acida para vehículos motorizados, se usa en la elaboración de pigmentos, pinturas, material de soldadura, esmaltes cerámicos, también en productos como vajillas de cristal, joyas, juguetes, entre otros. Cabe mencionar que gran parte del comercio del plomo en el mercado a nivel mundial proviene del reciclaje (OMS, 2022).

2.3. El plomo en el medio acuático

Según Vullo (2003), los restos de plomo que se encuentran en el medio ambiente se unen a los sólidos en suspensión, estas con el tiempo conforman o se unen a los sedimentos, concentrándose gran cantidad de plomo ahí, mientras tanto las aguas intersticiales se

constituyen como una fuente receptora del metal, llegando a contener concentraciones medias de plomo entre las aguas superficiales y los sedimentos. El plomo en el agua, según Carpio (2017) afecta a los organismos más sensibles, en el fitoplancton inhibe la fotosíntesis, en el zooplancton y otras formas de vida, inhibe su crecimiento y desarrollo.

2.4. Efectos del plomo sobre la salud

De acuerdo con Nava y Méndez (2011) el plomo puede ingresar al cuerpo humano a través de la ingestión, inhalación y absorción epitelial. La OMS (2022) indica que, una vez ingresado el plomo al cuerpo, ésta se distribuye en diferentes órganos, como: cerebro, hígado, riñones y huesos, que con el tiempo se va acumulando en huesos y dientes, en las mujeres volviendo a circular por la sangre durante el estado de gestación, representando un peligro para el feto. También, en niños con desnutrición a causa de la falta de nutrientes principalmente como el hierro y el calcio, su organismo tiende a absorber el plomo con mayor intensidad. Tristemente, los niños de corta edad (incluido el feto) y los que viven en lugares económicamente desfavorables son los más afectados.

A su vez, la exposición alta al plomo, en los niños afecta el desarrollo cerebral y el sistema nervioso provocando convulsiones, estado de coma y hasta la muerte, los que llegan a sobrevivir presentan deficiencia intelectual y trastornos en el comportamiento, por ejemplo, déficit de atención, conductas antisociales y bajo rendimiento escolar, además se cree que estos efectos son irreversibles; por otro parte, en los adultos causa disfunción renal, hipertensión, anemia, toxicidad al sistema inmune y a los órganos reproductores. Cuanto mayor es la exposición al plomo, los síntomas y los efectos son más diversos, una concentración de 3,5 ug/dl en la sangre puede afectar gravemente a los niños, en tal sentido, no existe una concentración mínima en la sangre que se considere exenta de riesgo (OMS, 2022).

2.5. Biosorción

La biosorción es definida como la eliminación de sustancias (en nuestro caso el plomo) por material biológico (por consorcios microbianos), puede explicar cualquier mecanismo de interacción sorbato – biosorbente, dando como resultado la reducción de sorbato de una solución. La biosorción es una propiedad de los organismos vivos y muertos, investigadores hacen referencia al uso exclusivo de microorganismos como biosorbente en la definición de la biosorción (Gadd, 2008).

En efecto, algunos investigadores cuando emplean microorganismos vivos en la eliminación de sustancias emplean el término de biosorción, refiriéndose a todos los mecanismos bióticos y abióticos de los microorganismos. Además, los procesos metabólicos

de los organismos vivos pueden afectar en diferentes grados a los mecanismos fisicoquímicos como la adsorción, absorción, intercambio iónico, formación de complejos superficiales y precipitación (Gadd, 2008).

En el tratamiento de aguas con cargas metálicas, como el plomo, la biosorción se presenta como una buena alternativa, ya que es económico, tiene alta eficiencia y minimiza la generación de lodos químicos (Gadd, 2008).

2.5.1. Factores que afectan a la biosorción

En el uso de la biomasa viva, pueden influir el crecimiento y la nutrición, la constitución de la pared celular, la formación de productos extracelulares, la concentración de la biomasa, el área superficial y el volumen de las células (Gadd, 2008) y los sistemas genéticos que portan los microorganismos (Marrero, Díaz y Coto, 2010).

También, pueden influir los factores fisicoquímicos como la temperatura, aunque tiene poco efecto en la biosorción, las temperaturas altas como a 50 °C en algunos casos puede aumentar la biosorción y las temperaturas bajas afectará los sistemas de células vivas; ahora veamos, el pH es importante en la biosorción de cationes de metales, siendo el rango óptimo de 3 a 7 (Gadd, 2008), puesto que los iones de hidrógeno representan una competencia en la biosorción de iones cationes (Tejeda, Villabona y Garcés, 2015).

2.6. Consorcios microbianos como biosorbentes

Los consorcios microbianos son asociaciones de dos o más poblaciones de especies microbianas, esto ocurre de forma natural en el ecosistema (López, Domínguez y García, 2007 citado por Ochoa, 2010), sobreviven a cambios ambientales adversos, las especies que sobreviven quedan por selección natural (Maier, Pepper y Gerba, 2009 citado por Ochoa, 2010), realizan procesos que las especies que participan no podrían realizarlo independientemente, en este sentido, generan importantes cambios en el medio ambiente, como transformaciones de sustratos, eliminación de desechos, entre otros (Ochoa, 2010).

Los consorcios microbianos de la presente investigación están constituidos por cepas de bacterias aisladas de la laguna Quiulacocha, a su vez, contaminada con plomo. De acuerdo con Solomon (2008), las bacterias son microscópicas, unicelulares y procariontes. Sus formas más comunes son: esféricas (conocidos como cocos), de bastones (llamados bacilos) y algunos son helicoidales.

La pared celular de las bacterias está constituida por peptidoglucano, polímero de azúcares y polipéptidos cortos, por la composición de su pared celular éstas se clasifican en dos grupos: bacterias grampositivas y bacterias gramnegativas (Solomon, 2008).

La pared celular de las bacterias grampositivas es gruesa y consiste mayormente en peptidoglucano. En cambio, la pared celular de las bacterias gramnegativas tiene dos capas, una capa delgada de peptidoglucano y otra capa gruesa exterior que contiene polisacáridos unidos a lípidos (Solomon, 2008).

Además, la pared celular de las bacterias tiene múltiples grupos funcionales como carboxilo, carbonilo, hidroxilo, tiol, amina y fosfato que pueden interactuar en diferentes grados con metales. Sin embargo, en las bacterias grampositivas el carboxilo del peptidoglucano es el principal sitio de unión para los cationes metálicos, mientras que en las bacterias gramnegativas son los grupos fosfato (Gadd, 2008).

La gran mayoría de microorganismos secretan sustancias poliméricas extracelulares (SPE), en gran parte son polisacáridos, bajo la forma de una sustancia pegajosa, formando así biopelículas, para adherirse a superficies sólidas. En los sistemas de microorganismos vivos, las SPE son componentes importantes en la bioabsorción de metales; también, pueden producir muchos otros metabolitos de unión a metales (Solomon, 2008 y Gadd, 2008).

También, los microorganismos vivos para la acumulación intracelular de metales poseen una variedad de sistemas de transporte, uno de ellos es el sistema de transporte de membrana, donde el microorganismo internaliza los metales al citoplasma con gasto de energía, a través del sistema H^+ -ATPasa y en el citoplasma los metales son atraídos por proteínas llamados metalotioneínas (MT) ricas en grupos sulfhidrilos (Marrero, Díaz y Coto, 2010).

Así mismo, los microorganismos vivos, en la biosorción de metales presentan múltiples mecanismos que operan simultáneamente y en diferentes grados. Las actividades metabólicas como la respiración, nutrición y excreción de metabolitos alteran la composición alrededor de los microorganismos y esto influye en la adsorción, intercambio iónico, formación de complejos superficiales y en la precipitación. El estudio de los mecanismos que intervienen puede ser complicado si el objetivo principal es hallar un sistema biosorbente eficiente (Gadd, 2008).

En particular, los microorganismos que crecen en ambientes contaminados con altas concentraciones de metales pesados presentan resistencia a estos porque están regulados por sus sistemas genéticos que expresan propiedades que contrarrestan sus efectos tóxicos (Marrero, Díaz y Coto, 2010), así que, estos microorganismos transfieren a las futuras generaciones genes que les permiten sobrevivir en ambientes adversos (Solomon, 2008). El uso de estos microorganismos como biosorbentes en la biorremediación de efluentes con cargas de metales es más económico, (Marrero, Díaz y Coto, 2010).

Actualmente existe una búsqueda constante de cepas de microorganismos y consorcios microbianos autóctonas con resistencia a metales pesados como sistemas biosorbentes (Marrero, Díaz y Coto, 2010).

2.7. Biorreactor *Air Lift*

Es un equipo que en la ingeniería ambiental se usa para tratar aguas residuales con microorganismos, la operación se fundamenta en un sistema gaseoso - líquido – sólido, cuyo propósito es mantener el medio oxigenado y homogéneo, mediante el ingreso de un flujo de aire por la base, que sube por un tubo interno; está conformada por las zonas de: ascenso de fluido (tubo interno), descenso de fluido, desgasificación y zona inferior de base cónica, también, cuenta con puertos para la toma de muestras y acoplamiento de electrodos (pH, OD, entre otros) (Figura 1), se caracteriza por ser un equipo de diseño sencillo, de bajo costo de construcción, operación y mantenimiento (Huamán y León, 2019).

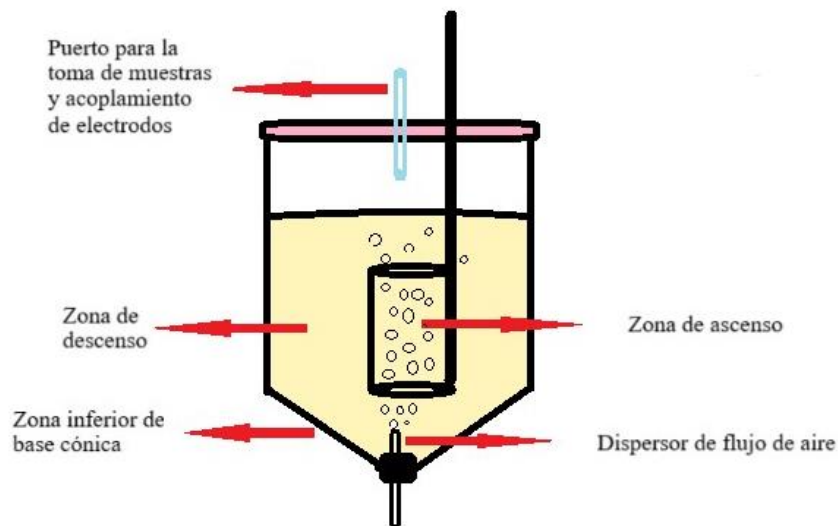


Figura 1. Esquematización del biorreactor “*Air Lift*”

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

Esta investigación se ejecutó en el Laboratorio de Microbiología General de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental, Facultad de Recursos Naturales Renovables, Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María.

3.1.1. Ubicación política

Tingo María se ubica políticamente en el distrito de Rupa Rupa - Leoncio Prado - Huánuco.

3.1.2. Ubicación geográfica

En el sistema de coordenadas UTM el Laboratorio de Microbiología General se ubica en la zona 18L, por el este a 390 418,46 m, por el norte a 8 970 476,69 m y a una altitud de 662 msnm.

3.1.3. Aspecto Ambiental

Tingo María es una ciudad que pertenece a la región natural Selva Alta, tiene un clima cálido, muy lluvioso con alta humedad durante todo el año, con una precipitación acumulado anual de 2 848 mm, siendo la temporada de lluvias de noviembre a marzo. La temperatura máxima del aire anual oscila entorno de los 30°C con un rango de 3°C, con valores más altos en octubre y bajos en enero. La temperatura mínima del aire anual está en torno a los 19°C con un rango de 4°C, alcanzando cifras altas en diciembre y bajos en julio (SENAMHI, 2021).

3.2. Materiales y equipos

3.2.1. Materiales

Materiales para la toma de muestra: balde de 4L con tapa, cinta aislante y palo de escoba.

Materiales de laboratorio: matraces, tubos de ensayo, vasos precipitados, algodón, placas Petri, pipetas, portaobjetos, varillas de vidrio, gradillas, mechero Bunsen, asa de siembra, agitadores, micropipetas, filtros de jeringa de 0,45 μm , jeringas de 20 mL, entre otros.

Medios de cultivo para microorganismos: medio BHI, medio Mueller Hinton (MH), medio CLED, caldo peptona, medio Mínimo de Sales Minerales según Davis (MMSM-D) y medio de cultivo para identificación bioquímica.

Insumo químico: Nitrato de plomo.

Material biológico: consorcios bacterianos aislados de la laguna Quiulacocha.

Materiales para la construcción de los biorreactores *Air Lift*: cámara de cultivo de base cónica de 1 L de volumen total (10 cm de diámetro y 20 cm de altura), tubo de distribución central de 8 cm de altura y 3 cm de diámetro, varillas de vidrio, frascos con solución salina, bombas de aire de pecera de 3 L/min de O₂, mangueras para pecera de 0,4 cm de diámetro y para los frascos tapas de material microporoso con tubo acoplado de 1,5 cm de diámetro para la toma de muestras.

3.2.2. Equipos

Equipos de laboratorio: autoclave vertical de 20 L (marca American Clinical), baño maría, microscopio binocular CX31-P-Laboratory (marca Leica), incubadora universal, contador de colonias, balanza analítica con grado de exactitud de 0,0001 g (marca Medilab), pH-metro (marca Exttech), oxímetro, multiparámetro, espectrofotómetro de absorción atómica y espectrofotómetro de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICPOES), espectrofotómetro de Absorción Atómica.

Equipo de protección personal: delantal, mascarillas, lentes de seguridad, gorros quirúrgicos y guantes de látex.

3.3. Criterio de Investigación

3.3.1. Tipo de investigación

Esta investigación es de tipo Aplicada.

3.3.2. Enfoque de investigación

Tiene un enfoque cuantitativo, porque los datos recolectados para probar la hipótesis son numéricos y se analizaron estadísticamente.

3.3.3. Nivel de investigación

Pertenece al nivel explicativo.

3.3.4. Variables e indicadores

- a) **Variable independiente:** Consorcios microbianos aislados de la laguna Quiulacocha.
- b) **Variable dependiente:** Biosorción de plomo.
- c) **Indicadores de la variable independiente:** Biomasa (UFC)
- d) **Indicadores de la variable dependiente:** Rendimiento de biosorción (%)

3.4. Metodología

3.4.1. Aislamiento de consorcios microbianos de la laguna Quiulacocha

a) Toma de muestra

La selección de la muestra fue del tipo muestreo aleatorio simple. Se tomó la muestra en un balde de plástico de 4 L con tapa a 1 m de la orilla de la laguna Quiulacocha, la muestra se tomó a la altura de la estación de monitoreo P-04 A (Figura 4), que indica que sus coordenadas UTM son: por el norte 8 816 510,4530 m, por el este 359 471,561 m, a una altitud de 4271,561 msnm., según INDECI (2021) la superficie tiene una extensión de 110 hectáreas y está ubicado en el distrito de Simón Bolívar, provincia y departamento de Pasco. La muestra se trasladó hasta el laboratorio de microbiología en una caja de poliestireno que contenía acumulador congelante SUMIPACK.

b) Medición de parámetros de la muestra

El pH, OD y temperatura se midieron in situ, redox y conductividad en el laboratorio.

c) Cuantificación del plomo en la muestra

La muestra se llevó al laboratorio de Análisis de Suelos, Aguas y Ecotoxicología, Facultad de Agronomía, para el análisis de presencia y cuantificación de plomo aplicando la metodología de Espectrofotometría de Absorción Atómica.

d) Aislamiento de consorcios microbianos

La muestra recolectada se procesó con la técnica de pre enriquecimiento en Caldo Peptona al 0,2 % con incubación de 18 - 24 horas y posteriormente para el aislamiento se utilizaron alícuotas de 30 μ L que se depositaron en diferentes placas, conteniendo 10 mL de medio CLED y agar Manitol Salado, las que se incubaron a 37 °C y sobre placas con Medio M77 incubadas a temperatura ambiente, todas por 24 horas en condiciones de aerobiosis. Luego de la incubación, las colonias (UFC) desarrolladas se

combinaron al repicarse en medio BHI e incubados por 24 horas a 37 °C y luego del desarrollo se mantuvieron en refrigeración (entre 4 a 8 °C) para las pruebas en los biorreactores.

Se realizó la enumeración de microorganismos conformantes del consorcio aplicando la técnica de las diluciones decimales y de la placa vertida utilizando medio Miuller Hinton.

3.4.2. Eficiencia de biosorción de plomo

a) Esterilización y Operación de los biorreactores *Air Lift*

- Preparación

Primero se esterilizaron los materiales en autoclave a 121 °C y 15 lbs/pulg² durante 15 min, luego se armaron los biorreactores *Air Lift* conforme muestra la Figura 2. Una vez armados los biorreactores se esterilizaron añadiéndoles una solución de alcohol - ácido (3 partes de etanol – 1 parte de HCl) dejándola que actúe por un espacio de 24 horas.

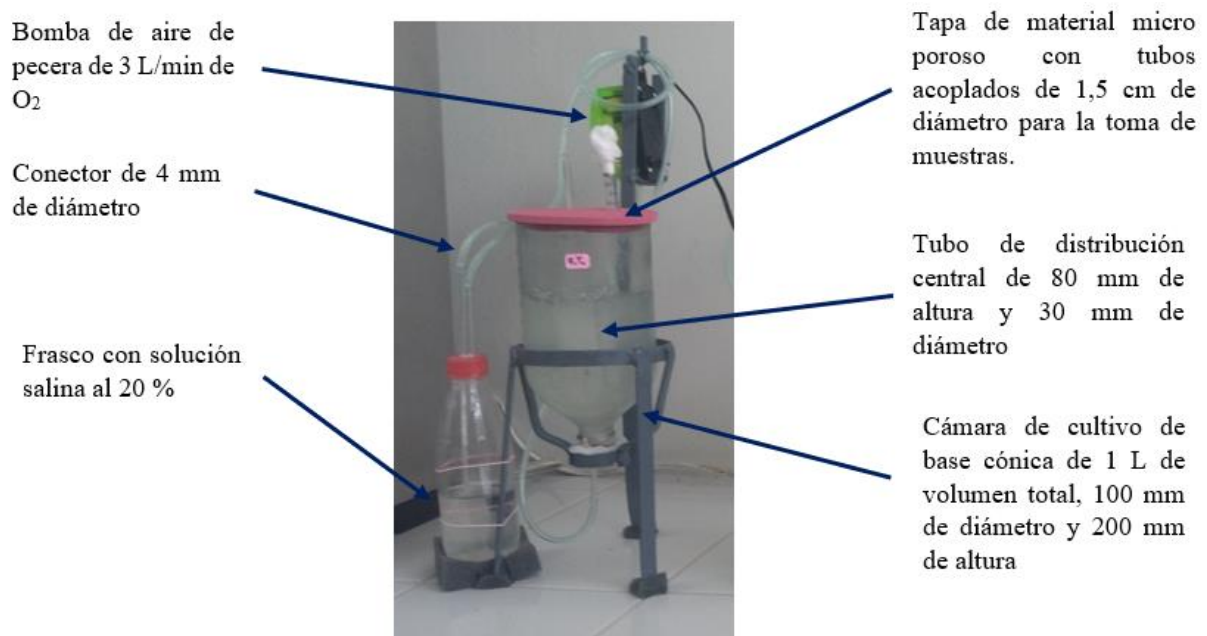


Figura 2. Biorreactor *Air Lift*

- Condiciones de operación

Para la operación las bacterias mantenidas en refrigeración fueron reactivadas en un nuevo medio BHI en cultivo heterogéneo, para obtener consorcios microbianos.

Se agregaron a los biorreactores medio Mínimo de Sales Minerales según Davis (MMSM-D), glucosa al 1 % como cometabolito y consorcios microbianos activos que constituyeron los tratamientos, conforme indica el diseño de investigación. Luego, las

salidas de la toma de muestra de los biorreactores se taparon con tapones de algodón, al mismo tiempo, se adicionó silicona alrededor de los bordes de las tapas de los frascos para evitar derrames en la operación e ingresos de agentes extraños al sistema de biorreacción.

Las bombas de aire estuvieron conectadas a un filtro de solución salina al 20 %, cuya finalidad fue desinfectar el aire previo ingreso a los biorreactores. El flujo de aire que ingresaba a la cámara de cultivo del biorreactor, homogenizó el cultivo y mantuvo las condiciones de aerobiosis en el sistema. El tiempo de operación de los biorreactores fue de 7 días.

- **Datos que se registraron**

Se determinaron los parámetros: pH, OD, redox, conductividad y temperatura; al inicio, tercero y séptimo día de operación de los biorreactores.

b) Determinación del rendimiento de biosorción de plomo

Al cabo de los 7 días de operación del sistema de los biorreactores se extrajeron muestras de un volumen de 10 mL utilizando jeringas de 20 mL, cuyo contenido se trasvasó mediante de filtros de jeringa de 0,45 μm a tubos estériles con tapa rosca de 50 mL de capacidad y se llevaron al Laboratorio Central de Investigación para determinar la concentración de plomo por ICPOES. Luego, con los datos de la concentración inicial y final del plomo en la solución, se calculó la eficiencia de biosorción, que viene a ser el porcentaje de plomo removido de la solución por los consorcios microbianos mediante la siguiente Ecuación (1):

$$R_b(\%) = \frac{C_0 - C_f}{C_i} \times 100 \quad (1)$$

Donde:

R_b : Rendimiento de biosorción (%)

C_0 : Concentración inicial de plomo en la solución (mg/L)

C_f : Concentración final de plomo en la solución (mg/L)

3.4.3. Identificación de los microorganismos

Al culminar la investigación a los consorcios microbianos de trabajo se los procesó por diluciones decimales y siembras en placa vertida con medios de cultivo selectivo y de identificación bioquímica diferencial, para determinar los géneros de las bacterias comprometidas integrantes de los consorcios.

3.5. Diseño de investigación

El diseño es experimental puro, con una posprueba y un grupo control, la manipulación de la variable independiente tuvo cuatro niveles, tres soluciones de plomo recibieron los tratamientos (diferentes cantidades de microorganismos), que fueron los grupos experimentales, uno no recibió, que fue el grupo testigo o de control, hubo tres repeticiones por cada nivel. El diseño se diagrama de la siguiente forma:

S _{Pb}	T ₀	O ₁
S _{Pb}	T ₁	O ₂
S _{Pb}	T ₂	O ₃
S _{Pb}	T ₃	O ₄

Donde:

S_{Pb} = 700 mL de medio mínimo de sales minerales según Davis con plomo a 33 mg/L.

T₀ = Testigo

T₁ = 5 670 UFC (10 % de inóculo microbiano)

T₂ = 8 505 UFC (15 % de inóculo microbiano)

T₃ = 11 340 UFC (20 % de inóculo microbiano)

O_n = Enésima medición de la concentración final del plomo

3.6. Ajuste estadístico

Para establecer si hay diferencia estadística significativa entre los efectos de los tratamientos, se realizó el análisis de varianza unidireccional de los datos del rendimiento de biosorción al 5 % de nivel de significancia.

Para conocer el mejor tratamiento se complementó con la prueba múltiple de medias de Tukey también al 5 % de nivel de significancia.

Asimismo, se halló el coeficiente de variación, lo que indicó si los datos tomados de las unidades experimentales de un solo tratamiento fueron estadísticamente válidos.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Aislamiento de consorcios microbianos de la laguna Quiulacocha

Se aislaron consorcios microbianos a partir de la muestra de la laguna Quiulacocha, cuyos parámetros fisicoquímicos y los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para lagunas del MINAM (2017) se exponen en la Tabla 1.

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos de la laguna Quiulacocha

Parámetros	Parámetros de la laguna Quiulacocha	ECA
pH	3,5	6,5 - 9
OD (mg/L)	1,1	≥ 5
Redox (mV)	385,2	-
Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	5728	1000
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	15,7	$\Delta 3$
Plomo (mg/L)	47,23	0,0025

Como se aprecia en la Tabla 1, los valores de el pH y el OD de la laguna son inferiores a los establecidos por el ECA para lagunas, por otra parte, el de la conductividad y la concentración del plomo sobrepasan a los establecidos por el mismo, los que indican que este ecosistema está contaminado, pues se sabe que la laguna Quiulacocha ha sido contaminada por metales pesados lo que ha alterado los parámetros naturales de la laguna extinguiendo formas de vida; sin embargo, en la Tabla 2, mostramos las características de los integrantes de los consorcios microbianos aislados de la Laguna Quiulacocha. Tal como lo reportó INDECI (2021), que entre los años 1943 a 1992 la laguna recibió una descarga de 70 millones de toneladas de relave minero. Así mismo, Vizarreta (2021), en muestras de la misma laguna encontró metales como: plomo, aluminio, arsénico, cadmio, cobre, cromo, hierro, entre otros más, cuyos valores sobrepasaron los especificados por los Estándares de Calidad Ambiental del MINAM (2017). Sumado a ello, Bianchini (2009), menciona que en la laguna existían truchas, ranas, aves y se veía roedores, sin embargo, por la alta contaminación con relave minero, se

hizo totalmente imposible la vida en esta agua a excepción de algunas bacterias particularmente adaptados.

Tabla 2. Características de los microorganismos bacterianos integrantes de consorcios microbianos aislados del agua de la laguna Quiulacocha

Código de trabajo	Morfología	Tipo	Propiedad tintorial	Intercambio de gases
J1LQ1	Bacilos	Bacteria	Grampositiva	Aerobio
J2LQ1	Cocos	Bacteria	Grampositiva	Microaerobio
J3LQ1	Bacilos largos	Bacteria	Grampositiva	Anaerobio facultativo
J4LQ1	Bacilos en filamento	Bacteria	Grampositiva	Aerobio
J5LQ1	Bacilos filamentosos	Bacteria	Grampositiva, BAAR+	Aerobio
J6LQ1	Cocobacilos	Bacteria	Gramnegativa	Aerobio
J7LQ1	Cocobacilos alargados	Bacteria	Gramnegativa	Anaerobio facultativo

La presencia de 47,23 mg/L de plomo en la muestra de donde se aislaron las bacterias indica que estos microorganismos son resistentes a altas concentraciones de plomo, pues a lo largo de los años habrían desarrollado una resistencia genética a la presencia de este metal, sobrellevando así su supervivencia y permanencia en el tiempo. Además, Marrero, Díaz y Coto (2010) mencionan que los microorganismos desarrollados en ambientes contaminados con altas concentraciones de metales pesados portan sistemas genéticos que contrarrestan los efectos tóxicos de los mismos. También, Cortés (2009) aisló microorganismos a partir de dos ambientes contaminados con plomo y otros metales, los que fueron procesados en el laboratorio y se desarrollaron a distintas concentraciones de metales, identificándolos como bacilos gram positivos (*Bacillus sp.*). Por otra parte, Solomon (2008) afirma que estos microorganismos transfieren a las futuras generaciones genes que les permiten sobrevivir en ambientes adversos. De tal manera, que el uso de estos microorganismos como biosorbentes en la biorremediación

de efluentes con presencia de metales, es más económico, pues no requieren la adición de nutrientes al no precisar un metabolismo activo (Marrero, Díaz y Coto, 2010).

4.2. Determinación del rendimiento de biosorción de plomo

La Tabla 3 muestra las condiciones de laboratorio en las que se desarrollaron los consorcios microbianos provenientes de la laguna Quiulacocha, cuyos parámetros fisicoquímicos fueron medidos al inicio, tercero y séptimo día de operación de los biorreactores *Air Lift*.

Tabla 3. Condiciones en las que se desarrollaron los consorcios microbianos en biorreactores

Parámetros	Parámetros de los biorreactores								
	Día 0	Día 3				Día 7			
		T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
pH	6,8	7,0	7,1	7,2	7,4	7,4	7,7	7,7	7,6
OD (mg/L)	4,6	5,0	4,1	3,5	3,0	5,8	3,0	1,6	1,1
Redox (mV)	23,6	24,1	33,0	33,8	33,3	24,7	40,0	41,0	40,0
Conductividad (μ S/cm)	11	10,7	10,6	10,8	10,8	10,2	10,1	10,5	10,9
Temperatura (°C)	28,2	28,2	28,3	28,4	28,4	28,0	28,0	28,5	28,6

La figura 3, muestra los promedios del rendimiento de biosorción de plomo de los consorcios microbianos en biorreactores *Air Lift*. Los resultados indican que en el T₀ no hubo eficiencia de biosorción; en contraste, el T₁ presentó un promedio de 90 %, el T₂ de 94 % y el T₃ de 98 % de eficiencia de biosorción de plomo; como apreciamos, la diferencia en la eficiencia de biosorción de plomo entre los tratamientos 1,2 y 3 es de 4 %.

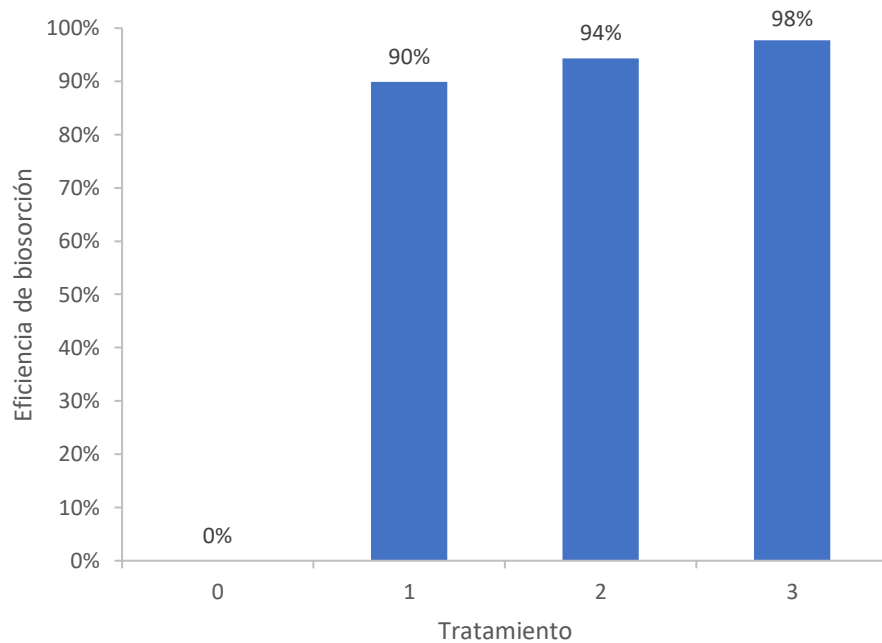


Figura 3. Promedio del rendimiento de biosorción de plomo de los consorcios microbianos en biorreactores *Air Lift*

La Tabla 4 presenta el análisis de varianza del rendimiento de biosorción de plomo por los consorcios microbianos en biorreactores *Air Lift*. En este análisis de varianza se observa que el resultado de la prueba de Fisher calculado es 17 656,03, siendo este valor mayor que la F tabulada que es 4,066 al 95 % de confianza; por lo tanto, aceptamos la hipótesis de investigación, los consorcios microbianos median la biosorción de plomo en biorreactores *Air Lift*.

Tabla 4. Análisis de varianza del rendimiento de biosorción de plomo por los consorcios microbianos en biorreactores *Air Lift* al 95 % de confianza

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Tratamiento	3	19963,7	6654,55	17656,03	0,000
Error	8	3,0	0,38		
Total	11	19966,7			

Simultáneamente, el coeficiente de variación fue 3,48 %, menor al 10 % admitido en los laboratorios, lo que indica, que las diferencias de las mediciones de las unidades experimentales de un mismo tratamiento son aceptadas estadísticamente, dado que los resultados obedecen a una investigación controlada y se tuvieron los parámetros mínimos de homogeneidad.

La Tabla 5, muestra la prueba múltiple de medias de Tukey del rendimiento de biosorción de plomo de los consorcios microbianos en biorreactores *Air Lift* al 95 % de confianza, esta tabla nos dice que los efectos de los tratamientos son significativamente diferentes entre sí y la mayor eficiencia de biosorción de plomo se alcanzó con el tratamiento 3, el que tuvo mayor población microbiana.

Tabla 5. Prueba múltiple de medias Tukey del rendimiento de biosorción de plomo de los consorcios microbianos en biorreactores *Air Lift* al 95 % de confianza

Tratamiento	N	Media	Agrupación
3	3	97,678	A
2	3	94,347	B
1	3	89,915	C
0	3	0,000	D

En los biorreactores que hubo mayor densidad microbiana se observó mayor formación de biopelículas (que se manifiestan al producirse SPE) adheridos a la superficie del tubo central de distribución del biorreactor, así como, en la superficie del medio de cultivo; también, se observaron formaciones espumosas blanquecinas que indicaron indirectamente la presencia y la actividad microbiana.

Entonces, cuanto mayor población microbiana se ha tenido en el medio, se alcanzó mayor eficiencia de biosorción, esto está relacionado a la mayor disponibilidad de superficie celular, mayor producción de SPE, mayor actividad microbiana, entre otros procesos metabólicos.

En este sentido, Gadd (2008) respalda lo indicado en el párrafo anterior al destacar que, al emplear microorganismos vivos en la biosorción de metales, también pueden influir el crecimiento y la nutrición, la constitución de la pared celular, la formación de productos extracelulares y biopelículas, la concentración de la biomasa, el área superficial y el volumen de las células.

Asimismo, Solomon (2008) y Gadd (2008) mencionan que la gran mayoría de microorganismos secretan SPE, en gran parte polisacáridos bajo la forma de una sustancia pegajosa, formando así biopelículas, para adherirse a superficies sólidas. En los sistemas de microorganismos vivos, las SPE son componentes importantes en la bioabsorción de metales, además, pueden producir muchos otros metabolitos de unión a metales.

La biosorción de metales pesados por los microorganismos vivos es atribuido a sus múltiples mecanismos fisiológicos que operan simultáneamente y en diferentes grados, por ejemplo, las actividades metabólicas como la respiración, nutrición y excreción de metabolitos alteran la composición alrededor de los microorganismos y esto influye en la adsorción, intercambio iónico, formación de complejos superficiales y en la precipitación, el estudio de los mecanismos que intervienen puede ser complicado si el objetivo principal es hallar un sistema biosorbente eficiente (Gadd, 2008).

Además, la pared celular de las bacterias tiene múltiples grupos funcionales como carboxilo, carbonilo, hidroxilo, tiol, amina y fosfato que pueden interactuar en diferentes grados con metales. Sin embargo, en las bacterias grampositivas el carboxilo del peptidoglucano es el principal sitio de unión para los cationes metálicos, mientras que en las bacterias gramnegativas son los grupos fosfato (Gadd, 2008).

4.3. Identificación de los microorganismos

La tabla 6 muestra la identificación genérica de las bacterias que se aislaron a partir de la muestra de la laguna Quiulacocha.

Tabla 6. Géneros bacterianos identificados del agua de la laguna Quiulacocha

Código de trabajo	Género identificado
J1LQ1	Bacillus
J2LQ1	Micrococcus
J3LQ1	Lactobacilos
J4LQ1	Arthrobacter
J5LQ1	Nocardia
J6LQ1	Pseudomonas
J7LQ1	Alcalígenes

De los cuales 4 cepas bacterianas fueron consideradas por su predominancia en el desarrollo de los medios de cultivo para la conformación de los consorcios microbianos que mediaron la biosorción de plomo, cuya identificación específica se presenta en la Tabla 7.

Tabla 7. Especies bacterianas consideradas para conformar los consorcios microbianos de trabajo

Código de trabajo	Especie
J1LQ1	<i>Bacillus sp.</i>
J2LQ1	<i>Micrococcus sp.</i>
J3LQ1	<i>Lactobacillus sp.</i>
J6LQ1	<i>Pseudomonas sp.</i>

Ellis et al. (2003) citado por Beltrán y Gómez (2016) encontraron en suelos contaminados con metales pesados bacterias pertenecientes a los géneros: *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Brochothrix*, *Comamonas*, *Cytophaga*, *Deinococcus*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Rathayibacter*, *Rhodococcus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Staphylococcus*, *Variovorax* y *Xantomonas*. Coincidimos con este autor, con lo encontrado en nuestra investigación respecto a los géneros *Bacillus*, *Micrococcus* y *Pseudomonas*.

Así mismo, Puyen (2013) indica que *Micrococcus luteus* capta plomo (II) y cobre (II) en sus envueltas de EPS (compuesto por 71 % de carbohidratos y 28 % proteínas), pues los capta extracelularmente con un porcentaje de bioadsorción de 36 % para el plomo y 25 % para el cobre. Análogamente a esto, en nuestra investigación *Micrococcus sp.* fue una de las especies integrantes de los consorcios microbianos que trabajaron en la biosorción del plomo.

También, Mena y Rafael (2016) demostraron que *Corynebacterium sp.* tiene una eficiencia de remoción de 88,8 % para el plomo, *Pseudomonas sp.* de 79,7 % para el cobre y *Bacillus sp.* de 49,2 % para el zinc, quienes señalaron haber aislado estas especies bacterianas de sitios alterados por la actividad minera, similar a ellos, aislamos *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, *Micrococcus sp.* y *Lactobacillus sp.* de un ambiente contaminado con metales pesados producto de actividades mineras, las que trabajaron en consorcios microbianos y alcanzaron una eficiencia de biosorción de 98 % para el plomo.

V. CONCLUSIONES

1. Se aislaron consorcios microbianos conformados por géneros bacterianos de la Laguna Quiulacochoa.
2. El rendimiento de biosorción de plomo mediada por consorcios microbianos alcanzó el 98 %.
3. *Bacillus sp.*, *Micrococcus sp.*, *Lactobacillus sp.* y *Pseudomonas sp.* conformaron los consorcios microbianos en la biosorción del plomo.

VI. PROPUESTAS A FUTURO

1. Ensayar la biosorción de otros metales con microorganismos provenientes de la laguna Quiulacocha.
2. Ensayar la biosorción de metales pesados con consorcios microbianos conformados por géneros de bacterias y fungi.
3. Conservar una colección de géneros microbianos genéticamente eficientes en la biosorción de metales pesados.
4. Diseñar sistemas de tratamientos de aguas residuales con carga de metales pesados a base de consorcios microbianos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Banco Mundial (2006). Perú: La oportunidad de un país diferente: Próspero, equitativo y gobernable. Banco Mundial, Oficina de Lima, Perú.
<https://documentos.bancomundial.org/es/publication/documents-reports/documentdetail/615881468333868931/peru-la-oportunidad-de-un-pais-diferente>
- Beltrán, M. y Gómez, A. (2016). Biorremediación de metales pesados cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg) mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: Una revisión. Revista Facultad de Ciencias Básicas. 12(2), 172-197.
<https://revistas.unimilitar.edu.co/index.php/rfcb/article/view/2027>
- Bianchini, F. (2009). Evaluación de la calidad de los recursos hídricos en la provincia de Pasco y de la salud en el Centro Poblado de Paragsha. Asociación Civil Centro de Cultura Popular Labor. Cerro de Pasco. 94 pags.
- Carpio, C. (2017). Estudio de la bioadsorción de Pb (II) Y Cd (II) usando como biomasa a *Escherichia coli* aislada de las aguas contaminadas del río Huatanay de la ciudad del Cusco (Tesis de doctorado en Ciencias y Tecnologías Medioambientales, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa). <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/5361>
- Cortés, X. (2009). Aislamiento de microorganismos acumuladores de metales y formación microbiana de nanopartículas metálicas (Tesis de ingeniero biotecnólogo, Instituto Politécnico Nacional).
<https://itzamna.bnct.ipn.mx/handle/123456789/23286?show=full>
- Gadd, G. (2008). Biosorption: critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment, 84(1), 13-28.
<https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jctb.1999>
- Gadd, G. (2010). Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation, 156(3), 609-643. <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.037143-0>

- Huamán, D. y León, E. (2019). Diseño y construcción de un biorreactor “*Airlift*” y determinación de parámetros de operación óptimos para su aplicación en procesos fermentativos (Tesis de Ingeniero Agroindustrial, Universidad Nacional Mayor de San Marcos). <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/10442>
- Instituto Nacional de Defensa Civil (2021). Por desembalse de la relavera Quiulacocha en el distrito de Simón Bolívar- Pasco (Reporte de Peligro Inminente N° 115 – 14/5/2021 / COEN – INDECI). <https://portal.indeci.gob.pe/emergencias/reporte-de-peligro-inminente-n-055-25-2-2021-coen-indeci-1450-horas-reporte-n-1-por-desembalse-de-la-relavera-quiulacocha-en-el-distrito-de-simon-bolivar-pasco/>
- Marrero, J., Díaz, A. y Coto, O. (2010). Mecanismos moleculares de resistencia a metales pesados en las bacterias y sus aplicaciones en la biorremediación. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 41(1), 67-78. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181221644010>
- Ministerio de Ambiente. (7 de junio de 2017). Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM por la cual aprueban Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua y establecen Disposiciones Complementarias. *El peruano*, 10. <https://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2017/06/DS-004-2017-MINAM.pdf>
- Muñoz, L., Olivera, P., Santillán, M. y Tamariz, C. (2019), Microorganismos tolerantes a metales pesados del pasivo minero Santa Rosa, Jangas (Perú). *Revista Peruana de Biología* 26(1), 109 – 118. <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v26i1.15914>
- Nava, C. y Méndez M. (2011). Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio). *Arch Neurocién (Mex)*. 16 (3), 140-147. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=32546&id2=>
- Ochoa, D. y Montoya, A. (2010). Consorcios Microbianos: Una metáfora biológica aplicada a la asociatividad empresarial en cadenas productivas agropecuarias. *Revista de la Facultad de*

Ciencias Económicas: Investigación y Reflexión, 18(2), 55-74.

<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90920053003>

Organización Mundial de la Salud. (31 de agosto de 2022). Intoxicación por plomo y salud.

<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health>

Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú (2021). Climas del Perú: Mapa de

Clasificación Climática Nacional. RED ACTIVA SOLUCIONES GRAFICAS S.A.C.

<https://www.senamhi.gob.pe/load/file/01404SENA-4.pdf>

Solomon, E., Berg, L. y Martin, D. (2008). Biología. MCGRAW-HILL/INTERAMERICANA

EDITORES, S.A. DE C.V.

Syed, S y Chinthala, P (2015), Heavy Metal Detoxification by Different Bacillus Species Isolated from

Solar Salterns. Hindawi, 2015, 1-8.

<https://www.hindawi.com/journals/scientifica/2015/319760/>

Tejeda, C., Villabona, A. y Garcés, L. (2015). Adsorción de metales pesados en aguas residuales

usando materiales de origen biológico. Tecno Lógicas. 18(34), 109-123.

[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-77992015000100010#:~:text=La%20bioadsorci%C3%B3n%20es%20un%20proceso,de%20contaminantes%20por%20diferentes%20mecanismos.)

[77992015000100010#:~:text=La%20bioadsorci%C3%B3n%20es%20un%20proceso,de%20contaminantes%20por%20diferentes%20mecanismos.](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-77992015000100010#:~:text=La%20bioadsorci%C3%B3n%20es%20un%20proceso,de%20contaminantes%20por%20diferentes%20mecanismos.)

Vizarreta, G. (2021). Evaluación de riesgo tóxico y ecotoxicológico de la laguna Quiulacocha en el

distrito Simón Bolívar, departamento de Pasco, Perú (Tesis de Ingeniero Ambiental,

Universidad Nacional Agraria la Molina).

<https://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/4696>

Vullo, L. (2003). Microorganismos y metales pesados: una interacción en beneficio del medio

ambiente. Revista Química viva, 2(3), 93-104.

<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86320303>

- Mena, M. y Rafael, H. (2016). Biorremediación de metales pesados con aislados microbianos procedentes de pasivos ambientales mineros y aguas del río Hualgayoc – Cajamarca. Tesis Lic. Biología, Microbiología y Parasitología. Lambayeque, Perú. 43 p.
- Puyen, Z. (2013). Selección de microorganismos con potencial para biorreparar ambientes contaminados por metales pesados. Optimización y aplicación de técnicas de microscopía de alta resolución y de métodos químicos. Tesis Dr. Microbiología. Bellaterra, España. Universidad Autónoma de Barcelona. 316 p.

VIII. ANEXOS

8.1. Metodología

Tabla 8. Parámetros determinados de los tratamientos en los biorreactores *Air lift* al término de la operación

Tratamiento	pH	Mv (mV REDOX)	Cond (mS/cm)	DO (mg/L)	T (°C)
R ₁ T ₀	7.38	22	10.96	5	27.3
R ₂ T ₀	7.43	25	9.83	4.85	28.3
R ₃ T ₀	7.45	27	9.88	3.43	28.5
R ₁ T ₁	7.38	21	10.58	0.74	28.7
R ₂ T ₁	7.84	50	11.18	0.75	28.7
R ₃ T ₁	7.82	49	10.99	1.88	28.5
R ₁ T ₂	7.65	39	9.98	3.2	28.3
R ₂ T ₂	7.62	37	13.12	0.05	28.3
R ₃ T ₂	7.77	47	12.86	0.12	28.1
R ₁ T ₃	7.51	30	13.15	3.76	28.1
R ₂ T ₃	7.8	48	12.04	3.68	28.5
R ₃ T ₃	7.54	31	13.71	3.11	28.5

Tabla 9. Eficiencia de biosorción de plomo por los consorcios microbianos en biorreactores
Air Lift

Tratamiento	Repetición	Concentración de plomo inicial (mg/L)	Concentración de plomo final (mg/L)	Eficiencia de biosorción de plomo (%)
T ₀	1	33,215	33,215	0,000
T ₀	2	31,919	31,919	0,000
T ₀	3	33,656	33,656	0,000
T ₁	1	33,215	3,115	90,622
T ₁	2	31,919	3,62	88,659
T ₁	3	33,656	3,209	90,465
T ₂	1	33,215	2,043	93,849
T ₂	2	31,919	1,694	94,693
T ₂	3	33,656	1,851	94,500
T ₃	1	33,215	0,8974	97,298
T ₃	2	31,919	0,7178	97,751
T ₃	3	33,656	0,6781	97,985



Figura 4. Estación de monitoreo P-04 A



Figura 5. Aspecto paisajístico de la Laguna Quiulacocho



Figura 6. Muestreo de la laguna Quiulacocha



Figura 7. Aislamiento de microorganismos de la laguna Quiulacocha



Figura 8. Siembra de microorganismos



Figura 9. Incubación de los microorganismos en medios CLED y agar Manitol Salado a 37 °C por 24 horas



Figura 10. Incubación de los microorganismos en medio M77 a temperatura ambiente por 24 horas



Figura 11. Siembra de cepas desarrolladas en el BHI

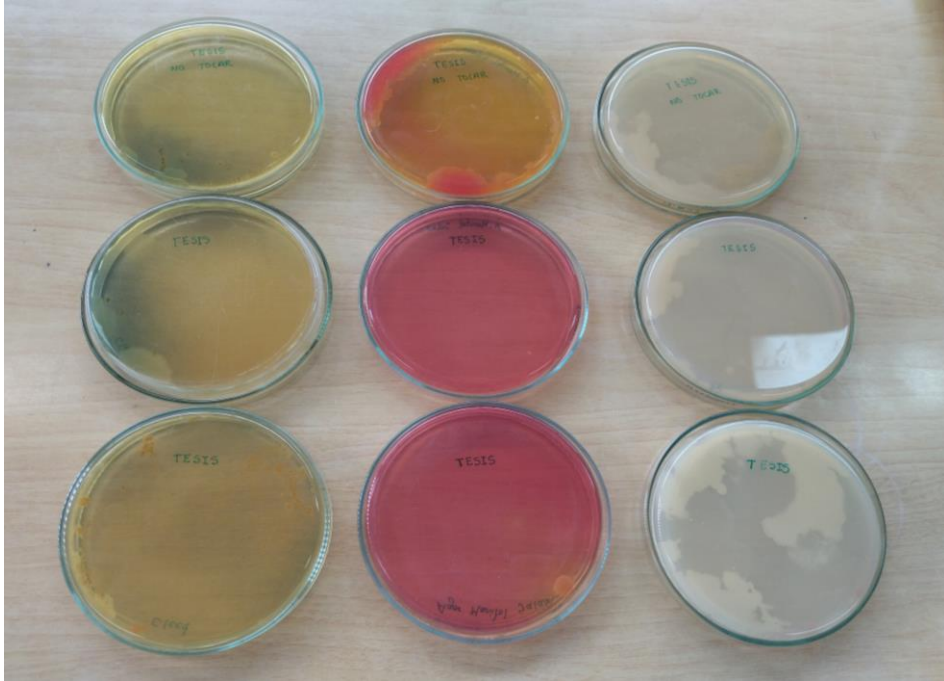


Figura 12. Géneros de microorganismos bacterianos aislados de la laguna Quiulacocha desarrolladas en diferentes medios de cultivo (CLED, Manitol Salado y medio M77)



Figura 13. Pesaje del nitrato del plomo



Figura 14. Agregado del nitrato de plomo a los biorreactores



Figura 15. Operación de los biorreactores *Air Lift*



Figura 16. Medición de los parámetros fisicoquímicos al inicio, tercero y séptimo día de operación de los biorreactores *Air Lift*



Figura 17. Filtros de jeringa de 0,45 μm



Figura 18. Tinción de microorganismos gram positivos y negativos



Figura 19. Vista de los microorganismos a través del microscopio

8.2. Identificación de los microorganismos

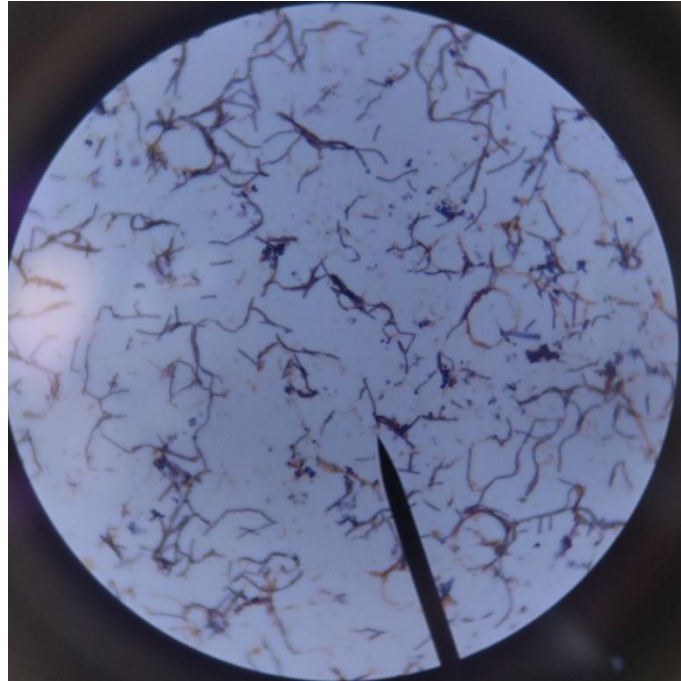


Figura 20. *Lactobacillus* sp.

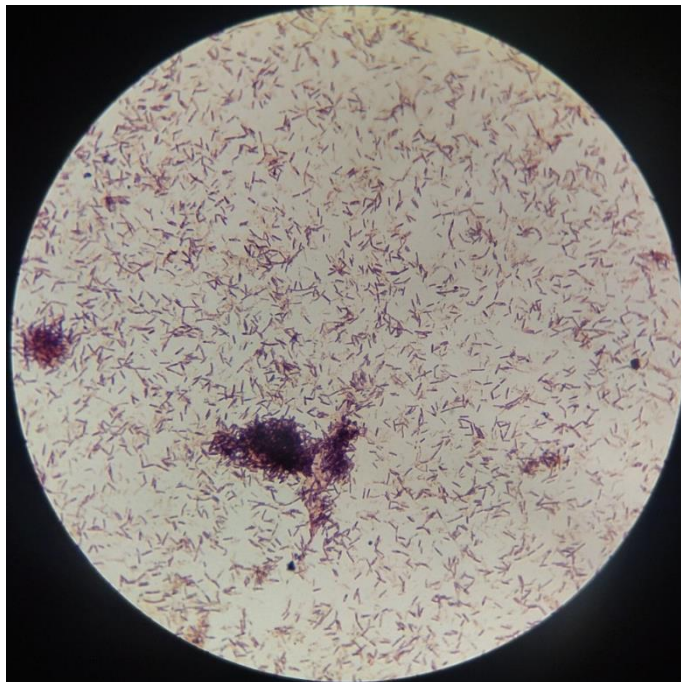


Figura 21. *Pseudomonas* sp.

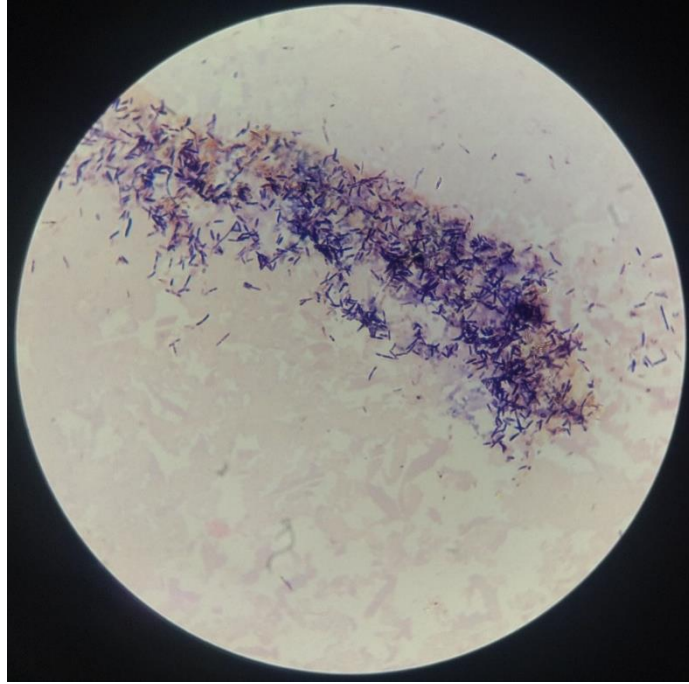


Figura 22. *Bacillus sp.*

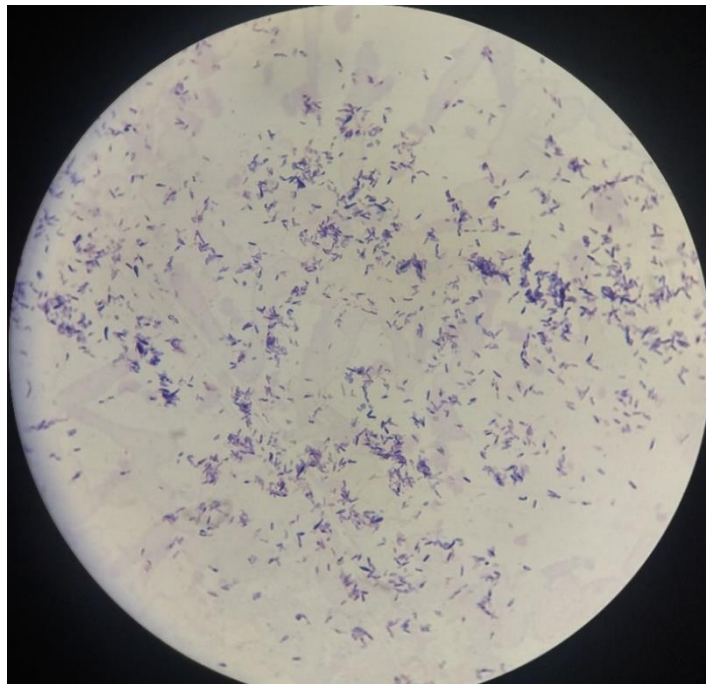


Figura 23. Consorcio microbiano (*Micrococcus sp.* y *Bacillus sp.*)

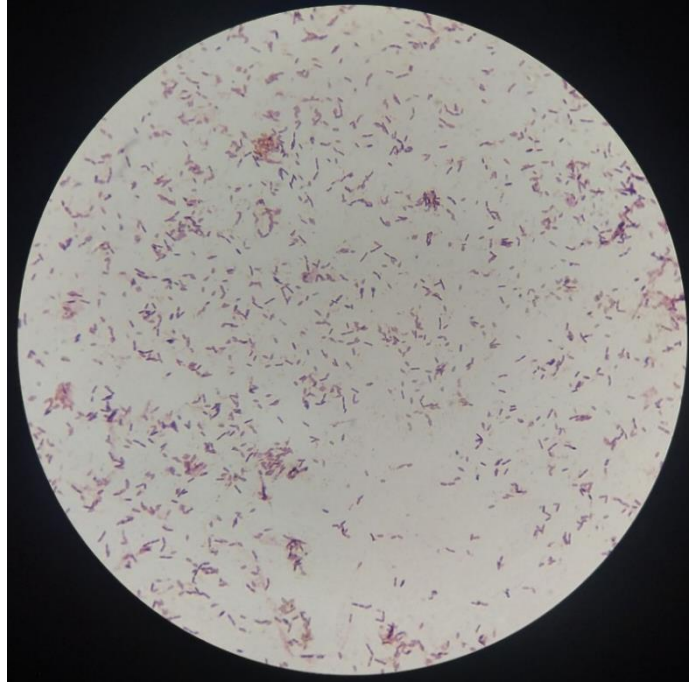


Figura 24. Consorcio microbiano (*Micrococcus sp.* y *Pseudomonas sp.*)

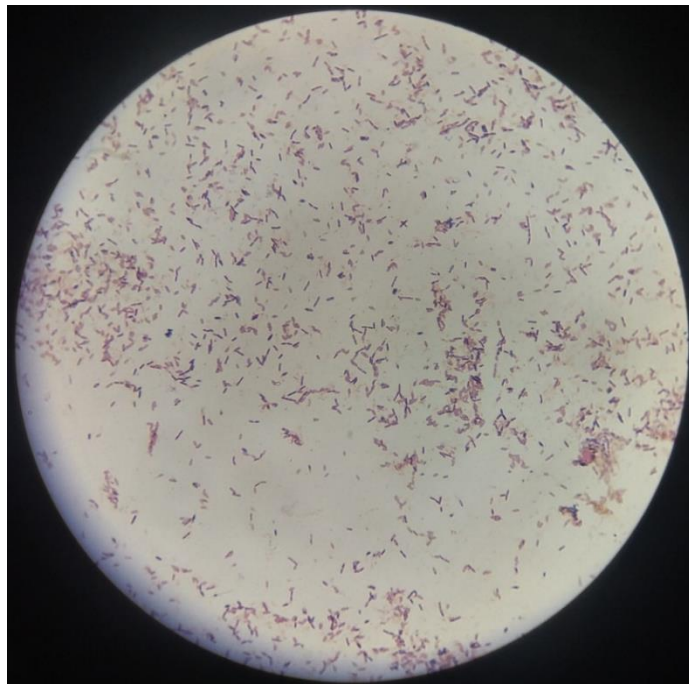


Figura 25. Consorcio microbiano (*Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.* y *Micrococcus sp.*)

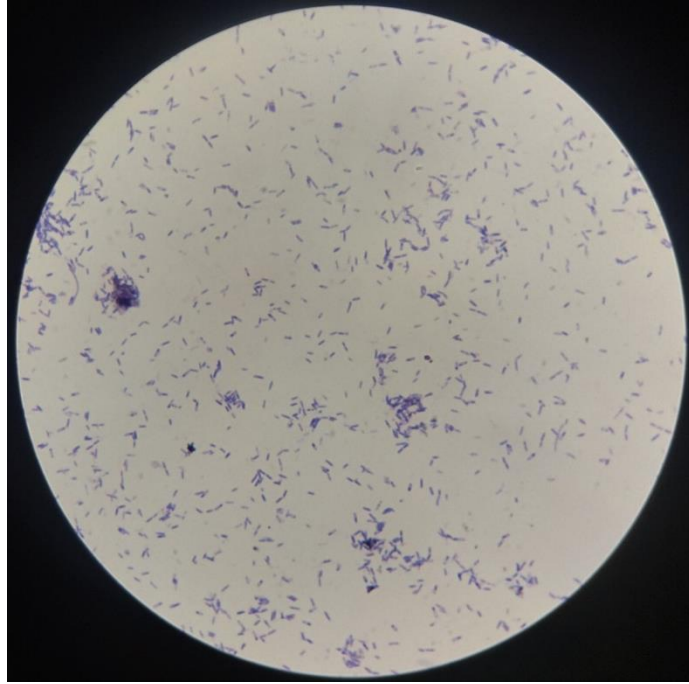


Figura 26. Consorcio microbiano


UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA


Facultad de Agronomía - Laboratorio de Análisis de Suelos, Aguas y Ecotoxicología
 Carretera Central Km 1.21 - Tingo María - Celular 944407531
analisisdesuelosunas@hotmail.com

ANALISIS ESPECIAL

SOLICITANTE: RODRIGUEZ EUGENIO JHELY VALERY

DATOS DE LA MUESTRA		RESULTADOS
Código	Referencia	Pb
		ppm
E0035	AGUA	0.8425
E0035	MEZCLA	47.2275
E0035	LODO	109.3000

Muestreado por el solicitante
 Fecha de Análisis: 28/02/2023
 RECIBO N° 23006161
 Tingo María 17 de marzo 2023



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María
Dr. HUGO ALFREDO HUAMANI YUPANQUI
Jefe Laboratorio de Análisis de Suelos, Agua y Ecotoxicología





UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María
Ing. GILMER MILTON NEIRA TRUJILLO
Profesional del Laboratorio de Análisis de Suelos, Agua y Ecotoxicología

Figura 27. Análisis de plomo de la muestra de la laguna Quiulacocha



Figura 28. Análisis de plomo de las soluciones después de los tratamientos con los consorcios microbianos en los biorreactores *Air Lift*