

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA**



**“BIOSORCIÓN DE Pb⁺² POR LA BACTERIA
PSEUDOMONA AERUGINOSA EN SUELO
CONTAMINADO POR MINERALES”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO QUÍMICO

PRESENTADO POR:

**QUISPE VELEZ, GUISELA SALOME
CORAL PERALTA, KATHERINE**

Callao, 2018

PERÚ

PRÓLOGO DEL JURADO

La presente tesis fue sustentada por la **SRTA. BACH. CORAL PERALTA, KATHERINE Y LA SRTA. BACH. QUISPE VELEZ, GUISELA SALOME**, ante el jurado conformado por los siguientes docentes ordinarios:

ING. CARLOS ALEJANDRO ANCIETA DEXTRE	:	PRESIDENTE
ING. ROBERTO LAZO CAMPOSANO	:	SECRETARIO
ING. OSCAR MANUEL CHAMPA HENRIQUEZ	:	VOCAL
ING. LEONARDO FELIX MACHACA GONZALES	:	ASESOR

Tal como está asentado en el Libro de Actas de Sustentación de Tesis N° 02, Folio N° 113, Acta N° 296, de fecha TRES DE AGOSTO DEL 2018, para optar el Título Profesional de Ingeniero Químico, de acuerdo con lo normado por el reglamento de Grados y Títulos aprobado por Resolución N° 135-2017-CU de fecha 22 de junio de 2017 y modificado con Resolución N° 631-2017-R de fecha 24 de julio del 2017.

DEDICATORIA

La presente tesis la dedicamos a nuestros queridos padres, quienes siempre estuvieron apoyándonos y guiándonos en este largo camino, por darnos la valentía y el coraje de seguir cumpliendo nuestras metas.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a la empresa SGS del Perú por su compromiso con la investigación peruana, en especial por su colaboración en los análisis que permitieron sustentar la presente tesis, así también agradecemos a nuestra amiga Natali Coral Peralta, Tecnóloga Médica, por su apoyo brindado durante el periodo que ha durado el presente estudio, al Ingeniero Leonardo Machaca por su guía en la elaboración, experimentación y sustentación del presente trabajo, a la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Callao y sus respectivos colaboradores por facilitarnos los ambientes de laboratorio y equipos necesarios para el desarrollo de la tesis, por último a nuestros padres quienes nos apoyaron tanto económica como moralmente.

ÍNDICE

ÍNDICE	1
TABLAS DE CONTENIDO.....	5
RESUMEN.....	8
ABSTRACT	9
I. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACION	10
1.1. Identificación del problema	10
1.2. Formulación del problema.....	10
1.2.1. Problema General.....	10
1.2.2. Problemas específicos	10
1.3. Objetivos de la investigación.....	11
1.3.1. Objetivo General	11
1.3.2. Objetivos Específicos.....	11
1.4. Justificación	11
1.5. Importancia	12
II. MARCO TEÓRICO	14
2.1. Antecedentes del estudio.....	14
2.2. Marco teórico	16
2.2.1. Efecto de la humedad, temperatura y pH del suelo en la actividad microbiana a nivel de laboratorio	16
2.2.2. Límites permisibles del plomo en distintos tipos de suelos	18
2.2.3. Consecuencia del plomo en seres vivos	19
2.2.4. Biorremediación de suelos.....	20
2.2.5. Características de la Pseudomona aeruginosa	28

2.2.6.	Agar Cetrimida.....	28
2.2.7.	Modelos de Sorción en equilibrio	29
2.2.8.	Análisis estadísticos.....	35
2.3.	Definiciones de términos básicos u otros contenidos	38
2.3.1.	Biosorción	38
2.3.2.	Biorremediación	38
2.3.3.	Metales pesados.....	39
2.3.4.	Microorganismo	39
2.3.5.	Plomo	39
2.3.6.	pH.....	40
2.3.7.	Sorbente	40
III.	VARIABLES E HIPÓTESIS.....	41
3.1.	Variables de la investigación.....	41
3.1.1.	Variables independientes.....	41
3.1.2.	Variables dependientes	41
3.2.	Operacionalización de variables.	41
3.3.	Hipótesis general e hipótesis específicas.....	43
3.3.1.	Hipótesis general	43
3.3.2.	Hipótesis específicas	43
IV.	METODOLOGÍA	44
4.1.	Tipo de investigación.	44
4.2.	Diseño de la investigación.	44
4.3.	Población y muestra	44
4.3.1.	Población.....	44
4.3.2.	Muestra.....	45

4.3.3.	Tamaño de la muestra	45
4.4.	Técnicas e instrumentos de recolección de datos	45
4.4.1.	Materiales	45
4.4.2.	Reactivos	46
4.4.3.	Instrumentos y equipos	47
4.4.4.	Técnicas	47
4.5.	Procedimiento de recolección de datos.....	48
4.5.1.	Preparación de medio de cultivo Agar Cetrimida	48
4.5.2.	Resiembra de la bacteria <i>Pseudomona aeruginosa</i>	49
4.5.3.	Preparación de las soluciones de Pb^{+2} añadidas	51
4.5.4.	Acondicionamiento de las muestras de suelo	51
4.6.	Procesamiento estadístico y análisis de datos	55
4.6.1.	Procesamiento estadístico	55
4.6.2.	Análisis de datos.....	56
V.	RESULTADOS.....	58
5.1.	Resultados.....	58
5.2.	Gráficas de isotermas de sorción.....	59
5.2.1.	05 días de incubación.	59
5.2.2.	15 días de incubación.	61
5.2.3.	35 días de incubación.	63
VI.	DISCUSION DE RESULTADOS	65
6.1.	Contrastación de hipótesis con los resultados.....	65
6.2.	Contrastación de resultados con otros estudios similares	66
VII.	CONCLUSIONES	68
VIII.	RECOMENDACIONES	69

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	70
ANEXOS	77
ANEXO N° 01	78
ANEXO N° 02	81
ANEXO N° 03	83
ANEXO N° 04	84
APÉNDICES	85
APÉNDICE A.....	86
APÉNDICE B.....	90
APENDICE C	116

TABLAS DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 2.1 Estándar de calidad ambiental para el suelo	19
Tabla 2.2 Ventajas y desventajas de la biorremediación	21
Tabla 2.3 Formulación del Agar Cetrimida	29
Tabla 2.4 Estructura de una tabla ANOVA de un factor	36
Tabla 3.1 Matriz de experimento	42
Tabla 3.2 Operacionalización de variables	42
Tabla 4.1 Variables constantes	52
Tabla 4.2 Matriz de experimentos	53
Tabla 4.3 ANOVA para el factor N° de colonias	56
Tabla 4.4 Análisis de varianza	56
Tabla 4.5 Nueva matriz de experimentos	57
Tabla 5.1 Resultados obtenidos	58
Tabla 5.2 Datos con 05 días de incubación	59
Tabla 5.3 Datos con 15 días de incubación	61
Tabla 5.4 Datos con 35 días de incubación	63

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 2.1. Interacción entre metales y microorganismo	27
Figura 2.2. Tipos de isoterma de sorción	30
Figura 2.3. Linealización de Freundlich	33
Figura 4.1. Medio de cultivo Agar Cetrimida	48
Figura 4.2. Placas petri con Agar Cetrimida	49
Figura 4.3. Resiembra de bacteria mediante la técnica de agotamiento	50
Figura 4.4. Placas petri con bacteria en incubación	50
Figura 4.5. Sal de nitrato de plomo	51
Figura 4.6. pH de la muestra inicial	52
Figura 4.7. Temperatura de la muestra inicial	52
Figura 4.8. Balón con 50 g. de muestra	54
Figura 4.9. Muestras con 50 g. de suelo para los diferentes factores	54
Figura 4.10 Balones incubados a temperatura ambiente	55

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
Gráfico 5.1 Isoterma de Freundlich para 5 días de incubación	59
Gráfico 5.2 isoterma de Langmuir para 5 días de incubación	60
Gráfico 5.3 Isoterma de Freundlich para 15 días de incubación	61
Gráfico 5.4 Isoterma de Langmuir para 15 días de incubación	62
Gráfico 5.5 Isoterma de Freundlich para 35 días de incubación	63
Gráfico 5.6 Isoterma de Langmuir para 35 días de incubación	64

RESUMEN

En el Perú, como consecuencia del desarrollo de la industria metalúrgica, se registra una creciente y preocupante contaminación ambiental.

Por tal motivo, enfocamos el presente estudio en la aplicación de la tecnología de biosorción usando la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* en suelo contaminado por Pb^{+2} , acondicionado en los laboratorios, manteniendo ciertas condiciones constantes tales como el potencial de hidrógeno, temperatura, humedad y velocidad de agitación teniendo como variables, concentración de plomo, días de incubación y unidades formadoras de colonias.

Como resultado se obtuvo una remediación promedio de 90.6 % a los 5 días, 93.7 % a los 15 días y 94.7 % a los 35 días de incubación, con un tiempo de vida de la bacteria de 12 días luego de la incubación. Concluyendo que las condiciones óptimas se obtuvieron a los 35 días de incubación con un porcentaje de remediación de Pb^{+2} del 94.7 %, discriminando estadísticamente las unidades formadoras de colonias. Así como también se observó que el comportamiento cinético va de acuerdo con la isoterma de Freundlich.

Finalmente, el presente estudio muestra la eficacia del método de biosorción al obtener resultados por encima de los métodos convencionales, recomendando su aplicación en la industria.

Palabras clave: Biosorción, *Pseudomonas aeruginosa*, Isoterma.

ABSTRACT

In Peru, because of the development of the metallurgical industry, an expanding and disquieting environmental pollution has been registered.

Accordingly, we focus this study on the application of biosorption technology utilizing the *Pseudomonas Aeruginosa* bacterium in soils contaminated by Pb^{+2} , conditioned in laboratories, maintaining certain constant conditions such as the hydrogen potential, temperature and humidity, having as variables: lead concentration, days of incubation and colony forming units.

As a result, an average remediation of 90.6 % was obtained in 5 days, 93.7 % in 15 days and 94.7 % in 35 days of incubation, with a lifetime of the bacterium equal to 12 days after incubation.

Concluding that, optimum conditions were obtained in 35 days of incubation with a remediation of 94.7 % of lead statistically discriminating the quantity of colonies used. In such wise as well, it was observed that the kinetic behavior is in accordance with the Freundlich Isotherm.

Finally, the present investigation demonstrates the effectiveness of the Biosorption Method by obtaining results above the conventional methods, it is recommended that it be applied in the industry.

Keywords: Biosorption, *Pseudomonas Aeruginosa*, isotherm.

I. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACION

1.1. Identificación del problema

Las actividades de la industria metalúrgica, primordialmente el sector minero posee impactos negativos en el ambiente, como es la contaminación de los suelos con metales pesados. Los métodos más usados para la remediación de estos suelos tienen como desventaja los altos costos en su proceso y efectos secundarios negativos. Por tanto, proponemos un tratamiento biológico, estudiando la capacidad de biosorción de Pb^{+2} por el microorganismo *Pseudomonas aeruginosa*.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema General

¿Cuál es la capacidad que tiene la *Pseudomonas aeruginosa* para la biosorción de Pb^{+2} en suelo contaminado por minerales?

1.2.2. Problemas específicos

- ¿Cuál es la cantidad óptima de *Pseudomonas aeruginosa* para la máxima biosorción de Pb^{+2} en suelos?

- ¿Cuál es la ecuación de equilibrio en la isoterma de sorción según el comportamiento de los resultados obtenidos?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo General

Determinar la capacidad que tiene la *Pseudomonas aeruginosa* para la biosorción de Pb^{+2} en suelo contaminado por minerales.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Determinar la cantidad óptima de *Pseudomonas aeruginosa* para la máxima biosorción de Pb^{+2} en suelos.
- Determinar la ecuación de equilibrio en la isoterma de sorción según el comportamiento de los resultados obtenidos.

1.4. Justificación

Los resultados de la investigación desarrollada, tiene valiosos aportes en los siguientes contextos:

- a) Legal: En el Perú existen normativas vigentes para el control ambiental de suelos que indican los límites máximos permisibles de ciertos contaminantes tales como el plomo.
- b) Teórica: En investigaciones científicas previas se ha demostrado que existen diversas especies de microorganismos que tienen la capacidad de concentrar en sus estructuras diversos iones metálicos como el Pb^{+2} .
- c) Tecnológica: Las tecnologías existentes para la remediación de suelos contaminados que implican un proceso físico y/o químico, provocan daños colaterales al ambiente.
- d) Económica: Se plantea una alternativa económica más favorable que las existentes debido al uso de un microorganismo adaptable a cualquier medio y con alta capacidad de reproducción.
- e) Social: Como consecuencia del presente estudio se generará una alternativa más accesible para la población rural.

1.5. Importancia

La contaminación de suelos agrícolas en el Perú por metales pesados, tales como el plomo, ha incentivado el estudio de diferentes métodos de remediación, siendo la biosorción uno de reciente investigación, debido a que utiliza microorganismos que pueden ser hallados en el ambiente. Por todo lo expuesto es de gran importancia el

estudio de la biosorción de Pb^{+2} por la bacteria *Pseudomona aeruginosa*, porque permite obtener un alto porcentaje de remediación en comparación con otras técnicas convencionales, además de ser rentable y de fácil aplicación.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

Existen diversos trabajos de investigación donde se ha evaluado y dado prioridad a métodos de remediación biológicos, entre ellos tenemos:

- a) Covarrubias, S.A y colaboradores (2015) en el estudio “El papel de los microorganismos en la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados” refieren que los países cuya actividad principal es la extracción de minerales, la contaminación por metales pesados es un problema grave. Además, identifican que los métodos fisicoquímicos, a pesar de ser eficientes, representan un costo económico y ambiental. Su estudio concluyó que los métodos biológicos basados en el uso de las propiedades metabólicas de bacterias y hongos, para la descontaminación de metales pesados, son una opción complementaria a los métodos tradicionales.
- b) Cruz Vega, D.G (2009) presenta el estudio “Remoción de metales por microorganismos productores de polisacáridos”, donde explica que el incremento de la contaminación por metales en suelos se genera de forma paralela a la actividad industrial, debido a la falta de normativa en la materia, la inadecuada disposición y manejo de desechos tanto industriales como municipales, ocasionando un daño

serio al ecosistema. Los estudios de tolerancia y remoción de metales indicaron que, con excepción de cromo y zinc en forma de cloruro, el resto de los metales evaluados fueron tolerados por los microorganismos (en su mayoría Bacillus sp) hacia los metales de Ni > Pb > Zn > V en medio sólido.

- c)** Mejía Sandoval, G. (2006) presenta en la revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia, el estudio de “Aproximación teórica a la biosorción de metales pesados por medio de microorganismos”, concluye que de los procesos de sorción en los suelos se ha dilucidado el proceso de biosorción de ocurrencia natural en los microorganismos. A medida que se ha detallado en el entendimiento de los mecanismos del proceso, se ha aprovechado la naturaleza de este para utilizarlo en beneficio del hombre y del ambiente, como biorremediador de metales pesados que contaminan un ambiente determinado (suelo y/o agua).

Además, especifica que los modelos matemáticos de cuantificación en la biosorción son los mismos que se utilizan en la modelación del proceso de sorción en suelos (modelos de Freundlich y Langmuir) asumiendo el proceso como un modelo en equilibrio.

- d)** Gutierrez M.A et al. (2002) en la investigación de “Biosorción de Pb⁺² por biomasa de *Saccharomyces cerevisiae*”, estudiaron las condiciones óptimas para la remoción de plomo en términos del efecto del pH y la temperatura. En la cinética de biosorción se

encontró que durante los primeros 5 minutos del proceso se da la mayor tasa de retención de plomo. Se concluyó que a pH 5.0 y 25 °C se tienen las mejores condiciones para la retención de plomo por esta biomasa. Así también que la capacidad máxima ($q_{m\acute{a}x}$) biosorbente de la levadura, bajo estas condiciones, fue de 0.5 g de plomo/g de biomasa.

- e) Giraldo D. *et al.* (2014) en la investigación titulada “La actividad emulsificante de remoción de metales pesados del ramnolípido por *Pseudomonas aeruginosa* PB 25”, demostró la capacidad de generar emulsiones de hidrocarburos con el uso de soluciones puras del ramnolípido producido por *Pseudomonas aeruginosa* PB 25, concluyendo que la sustancia en mención posee una eficiencia en la remoción de metales pesados de 99 % para cadmio y 98 % para plomo. Además, sugiere su empleo en procesos de biorremediación.

2.2. Marco teórico

2.2.1. Efecto de la humedad, temperatura y pH del suelo en la actividad microbiana a nivel de laboratorio

Según Ramos, Elena y Zuñiga, Doris (2008) para determinar el efecto de la humedad, temperatura y pH del suelo en la actividad microbiana, se considera un “suelo tamizado a un tamaño máximo de

partícula de 500 μm " (p. 124). Además usan ciertos indicadores de presencia de actividad microbiana los cuales se presentan a continuación:

a) El nivel de CO₂ como indicador de la actividad microbiana:

La medición de CO₂ producido es una estimación de la actividad, por lo tanto, de la presencia microbiana. Así, "las variaciones por unidad de tiempo en la actividad respiratoria pueden ser interpretadas como reflejo de la actividad metabólica de los microorganismos que residen en un determinado hábitat y nos da la idea de la dinámica de su biota ya que los procesos metabólicos que en él se desarrollan varían en función de factores biofísicos, climáticos y del uso de la tierra". (p.123)

b) La actividad de deshidrogenasa (DHA) como indicador de la actividad microbiana:

"La actividad deshidrogenasa es una medida representativa del metabolismo degradativo de un suelo, puesto que se trata de un tipo de enzima exclusivamente intracelular que está asociado a células viables, también se considera un buen indicador de la actividad microbiana total." (p.124)

Del estudio realizado por Ramos, Elena y Zuñiga, Doris (2008) se presentan las siguientes conclusiones:

- La actividad microbiana mejora significativamente con el incremento de la humedad. Se encontró la mayor tasa de producción de CO₂ y actividad deshidrogenasa a un porcentaje de humedad de 18 % en suelo.
- La temperatura afecta significativamente la actividad microbiana del suelo; encontrándose que la temperatura de 27.5 °C fue óptima para la producción de CO₂ y 37.0 °C para la actividad deshidrogenasa.
- El pH del suelo también resultó ser un factor limitante para la actividad microbiana. A pH 7.8 se registró la mayor actividad deshidrogenasa, descendiendo significativamente a valores de pH 4.0, 6.1 y 8.2.

2.2.2. Límites permisibles del plomo en distintos tipos de suelos

El 25 de marzo del 2013, el Ministerio del Ambiente aprobó los estándares de calidad ambiental para el suelo (Normas legales, “El Peruano”, 2013), siendo los límites máximos permisibles de la concentración de plomo total para distintos tipos de suelo. (Véase la tabla 2.1, en la página “19”)

Tabla 2.1
ESTÁNDAR DE CALIDAD AMBIENTAL PARA EL SUELO

Parámetro	USO DEL SUELO		
	Suelo Agrícola	Suelo Residencial / Parques	Suelo Comercial / Industrial / Extractivo
Plomo total (mg / kg MS)	70	140	1200

Fuente: Adaptada del Decreto Supremo N° 002-2013-MINAM, Normas Legales, "El Peruano" (2013)

2.2.3. Consecuencia del plomo en seres vivos

La contaminación con metales pesados de las fuentes de agua superficial y subterránea da como resultado una considerable contaminación del suelo. El plomo es la más importante toxina de los metales pesados, es absorbido por ingestión de alimentos y por inhalación. (Duruibe, J., *et al*, 2007).

El envenenamiento por plomo también causa la inhibición de la síntesis de la hemoglobina; disfunciones de los riñones, las articulaciones, el sistema reproductivo, el sistema cardiovascular, daño agudo y crónico al sistema nervioso central y al sistema nervioso periférico. Otros efectos incluyen daños al tracto gastrointestinal, tracto urinario con resultado de sangre en la orina, desorden neurológico que podría causar daño cerebral severo y permanente. El plomo perjudica a los niños llevándolos a un desarrollo pobre de la materia gris del cerebro, que da como resultado un

bajo coeficiente intelectual (IQ). Su absorción en el cuerpo es incrementada por deficiencia en calcio y zinc. (Udedi, 2003).

2.2.4. Biorremediación de suelos

Las tecnologías tradicionales para la contaminación de suelos con elementos potencialmente tóxicos (EPT) utilizan métodos de ingeniería y tratamientos químicos. Las tecnologías biológicas involucran el uso de microorganismos y plantas para remover, contener o retener contaminantes sin causar daño, utilizadas para el tratamiento de varios tipos de contaminantes del suelo y del agua, como: hidrocarburos, plaguicidas, sustancias radioactivas entre otros tipos de contaminantes orgánicos; sin embargo, su uso en la remediación de suelos contaminados con EPT, como son los metales pesados y metaloides, es de reciente aplicación. (Gonzales, 2005)

La biorremediación como proceso solo pueden realizarla los organismos vivos o sus partes que tengan el potencial genético (enzimas, tejidos, mecanismos, estructuras celulares, estructuras epidérmicas u otros) que les permitan retener, metabolizar o transformar los contaminantes (origen natural o artificial). (Corton, E. y Viale, A., 2006)

a) Ventajas y desventajas de la biorremediación.

Se pueden hacer varios comparativos respecto a las ventajas y desventajas de la biorremediación. Por ejemplo, se puede comparar la biorremediación con respecto a los métodos mecánicos de remediación; cualquiera que sea en la comparación son más las ventajas que las desventajas tanto económicas como ambientales. (Véase la tabla 2.2)

Tabla 2.2
VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA BIORREMEDIACIÓN

VENTAJAS	DESVENTAJAS
Generalmente solo origina cambios físicos menores sobre el medio.	Para muchos tipos de vertidos su efectividad no ha sido determinada.
Ofrece una solución más simple y menos costosa que otras tecnologías.	Su implementación es específica para cada lugar contaminado; requiriendo de diversos factores del sitio.
Puede aplicarse <i>in - situ</i> o <i>ex – situ</i> .	Dificultad para predecir el funcionamiento de este tratamiento.
Es más efectiva que otros métodos, pudiendo lograr la remediación completa.	El nivel de contaminantes no debe ser tóxico para los microorganismos.
Como subproducto se obtiene un suelo útil para la agricultura.	Es difícil de extrapolar condiciones del laboratorio o planta piloto al sitio final a remediar.
Mientras que los tratamientos físicos y químicos están basados en transferir la contaminación entre medios físicos, este método transfiere poca contaminación de un medio a otro.	La biodegradación incompleta puede generar intermediarios metabólicos inaceptables, con un poder contaminante similar o superior al producto de partida y algunos compuestos contaminantes son tan resistentes que pueden incluso inhibir la biorremediación.
Cuando se utiliza correctamente no produce efectos adversos significativos.	Requiere investigación multidisciplinaria para determinar y optimizar las condiciones de biorremediación.
Es poco invasiva y generalmente no requiere mecánicos que signifiquen una amenaza para el medio.	El seguimiento y control de la velocidad y/o extensión del proceso son dispendiosos.

Fuente: Tomado de “Procesos de biorremediación” de Bio. PhD. Hernando, R., 2012, Universidad Nacional abierta a distancia – UNAD, p.26

b) Procesos que intervienen en la biorremediación.

El éxito de cualquier tratamiento de biorremediación depende no solo de factores abióticos como el pH, temperatura, potencial de reducción, la disponibilidad de agua y nutrientes, sino también de factores bióticos tales como la competencia microbiana, amensalismo, parasitismo y depredación que pueden limitar el desarrollo de las poblaciones inoculadas.(Lozada, José y López, Néstor, 2010, p. 229)

Comenzando con las interacciones organismo - ambiente, es importante tener en cuenta algunos factores del entorno.

Según Ponce (2014) a parte de los factores antes mencionados se debe tener en consideración también la estructura del suelo y la estructura del contaminante, debido a las siguientes razones:

- Un suelo con baja permeabilidad impedirá los movimientos de agua, nutrientes y oxígeno al formarse complejos húmicos de arcilla disminuyendo la disponibilidad para los microorganismos, de la misma forma esto contribuye a la formación de residuos persistentes en el ambiente.
- El contaminante puede ser absorbido en las partículas del suelo formando agregados los cuales son difícilmente transportados hasta las células que los degradan con lo cual aumenta la concentración de la contaminación.

- La estructura molecular del contaminante, afecta a sus propiedades químicas y físicas y su capacidad para ser biodegradado. La capacidad para ser biodegradado está relacionada con factores tales como la solubilidad, el grado de ramificación, el grado de saturación y la naturaleza y el efecto de los sustituyentes.

c) Sorción y biosorción.

Sorción es un término general utilizado para describir la asociación de compuestos químicos en forma disuelta o gaseosa con el suelo, sin referirse a un mecanismo específico. Volke y Velasco (2002) indican que: “Los mecanismos de sorción incluyen la adsorción, que es la atracción de un compuesto hacia una superficie sólida, y la absorción, que es la penetración de un contaminante en un sólido. La sorción de un químico tiene un gran impacto en su degradación y depende de las propiedades del contaminante y del suelo” (p.15). Según Mejía (2006) “la sorción también se puede definir como la transferencia de iones de una fase en solución a una fase sólida” (p.83) Este proceso de transferencia de fases puede darse entre una fase sólida, moléculas de vapor o bien entre una fase sólida y moléculas en forma disuelta; es un fenómeno propio de las transferencias de masa, que condiciona la biodisponibilidad de los contaminantes (Torres y Zuluaga, 2009). El proceso de biosorción se basa en la capacidad de la biomasa completa (viva o muerta) para

captar metales, de forma soluble e insoluble, a través de mecanismos fisicoquímicos tales como la adsorción, el intercambio iónico, la formación de complejos y la microprecipitación. En estos mecanismos, la pared celular constituye el principal lugar de captura o enlace de los iones y el material biológico utilizado para estos fines se denomina biosorbente (Kadukova, 2016). Los microorganismos utilizados como biosorbentes aislados a partir de ecosistemas contaminados, retienen metales pesados a intervalos de tiempo relativamente cortos al entrar en contacto con las disoluciones de los metales, esto minimiza los costos en el proceso de remediación pues no requiere el agregado de nutrientes al sistema porque el microorganismo no necesita un metabolismo activo (Rajendran et al, 2003).

Ahuja y colaboradores (2001) afirma que este proceso ha ganado importancia en los últimos años debido a su buen rendimiento, bajo costo, especificidad, mínima generación de lodos y fácil reutilización. El éxito del proceso de biosorción depende de la selección de un buen biosorbente y un aspecto significativo en esta selección es el nivel basal de captura que presenta la biomasa. La eficiencia de este proceso se puede incrementar mediante la manipulación fisiológica dada por el ajuste u optimización de los factores bióticos y abióticos implicados en el proceso (Carballo et al., 2017).

d) Metabolismo de metales

Para los metales pesados las rutas metabólicas son diferentes a las de otros contaminantes, debido a que los metales no se degradan, solo sufren reacciones de transformación, pero no son utilizados como sustrato para generar biomasa. La mayoría de las transformaciones de metales efectuadas por microorganismos tienen funciones primarias no relacionadas con la transformación de metales, pero que alteran su solubilidad, movilidad y/o toxicidad, por lo tanto, pueden emplearse como estrategias de remediación. (Murthy y Sarangi, 2016).

Las vías por las cuales los microorganismos pueden influenciar los metales pueden ser:

- Los microorganismos pueden inmovilizar iones metálicos por vía activa, como las bacterias que usan sulfatos como aceptor terminal de electrones y activamente producen y excretan un ion sulfito, el cual forma un complejo insoluble con iones metálicos presentes en la solución, causando la precipitación de éstos. En contraste, la biosorción es un proceso pasivo, que se puede dar tanto en biomasa viva como en biomasa muerta. (Mejía, 2006, p.82)
- Los metales de diferentes valencias varían en su toxicidad; cuando se excretan enzimas redox especiales, los microorganismos pueden transformar el metal a formas menos tóxicas. Las reacciones redox

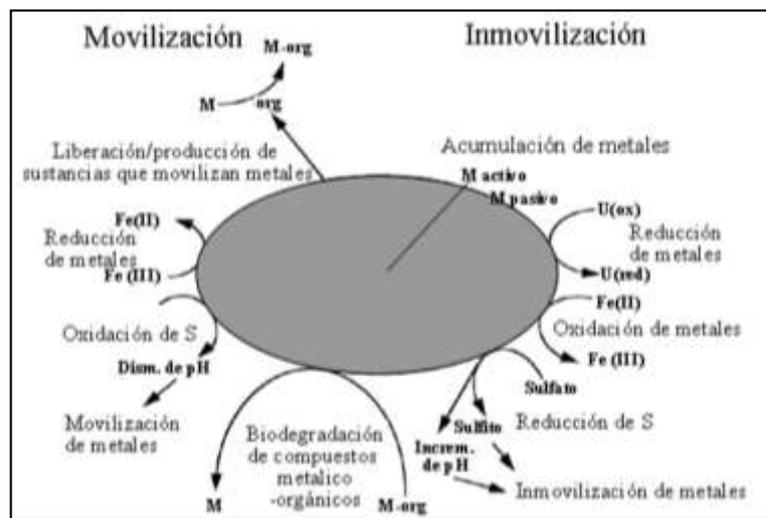
se agrupan en dos categorías, las asimilatorias y las desasimilatorias; en las reacciones asimilatorias el metal está involucrado en las reacciones metabólicas del organismo actuando como aceptor final de los electrones; mientras que en las reacciones desasimilatorias no se conoce el rol del metal en el metabolismo del organismo e indirectamente inicia las reacciones redox (Bolan et al., 2014).

- Según Garbisu et al. (2003) los microorganismos pueden detoxificar metales por transformación en la valencia y reduciendo enzimáticamente un metal en procesos metabólicos que no están relacionados con la asimilación del metal.
- Si un metal no puede ser reducido por vías celulares o su reducción no es conveniente, entonces el metal puede ser acomplejado o transportado al exterior celular, o pueden suceder ambos eventos (Marrero et al., 2010)

A continuación, se muestra según Ledin (2000) la interacción entre metales y microorganismos explicando la precipitación, acumulación, producción o liberación de sustancias y participación en el ciclo de carbono. (Véase Figura 2.1. en la página “27”)

Figura 2.1.

INTERACCIÓN ENTRE METALES Y MICROORGANISMO



Tomado de: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/459/cap4.html>

Por otro lado, Goswami et al. (2017) indica que la pared celular de las bacterias constituyen el primer frente de interacción con las moléculas presentes en el ambiente, se puede comprender la respuesta de estos microorganismos ante la presencia de iones metálicos.

Según Salgado et al. (2015) las bacterias Gram positivas poseen sitios aniónicos que interactúan con los cationes metálicos como el carboxilato del peptidoglicano y el fosfato de los ácidos teicoicos, ambos presentes en un alto porcentaje. En cambio, en las bacterias Gram negativas, la membrana externa que forma parte de su pared celular, es capaz de unir una amplia gama de iones metálicos, sustentado en que los cationes son elementos que estabilizan la arquitectura molecular de la membrana, por lo que la unión a iones metálicos reduce las cargas repulsivas entre los constituyentes aniónicos de moléculas de

lipopolisacáridos y proteínas adyacentes. Aunque las bacterias Gram positivas y Gram negativas difieren en la estructura de la pared celular, el potencial para la biosorción es similar, debido a la similar composición de los grupos funcionales que interactúan con los iones metálicos.

2.2.5. Características de la *Pseudomona aeruginosa*

Koneman (2008, p.340) indica que las cepas de *Pseudomona aeruginosa* aisladas de muestras clínicas pueden identificarse observando la presencia de las siguientes características primarias:

- Colonias grandes, olor similar a uvas.
- Se produce piocianina.
- Las colonias son oxidasa positiva (dentro de los 10 segundos).

La mayoría de las cepas producen piocianina, un pigmento fenazínico verde hidrosoluble que imparte un color verdoso al medio de cultivo. De hecho, la presencia de piocianina puede ser la única característica necesaria para identificar a *Pseudomona aeruginosa*, así también puede confirmarse detectando un olor similar a uvas.

2.2.6. Agar Cetrimida

Medio utilizado para el aislamiento selectivo de *Pseudomona aeruginosa* y de otras especies del género. Su formulación permite el

crecimiento selectivo de *Pseudomona aeruginosa* y estimula la formación de pigmentos. (Véase Tabla 2.3)

Tabla 2.3
FORMULACIÓN DEL AGAR CETRIMIDA

INSUMOS	CANTIDAD
Peptona de Gelatina	20.0 g
Cloruro de Magnesio	1.4 g
Sulfato de Potasio	10.0 g
Agar	13.6 g
Cetrimida	0.3 g
Glicerina	10 ml
Agua Purificada	1000 ml
pH final	7.2 ± 0.2

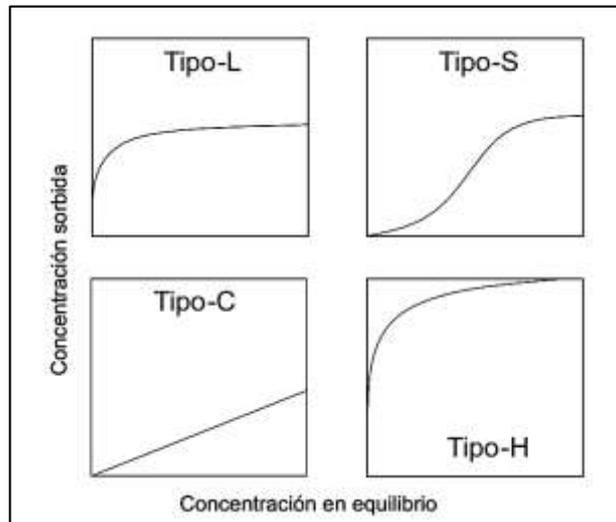
Fuente: Tomado de Revista Britania "Cetrimida Agar", 2015.

2.2.7. Modelos de Sorción en equilibrio

Según López (2009) para conocer la relación existente entre el compuesto retenido o sorbido y el que está en solución, se recurre a aproximaciones experimentales de equilibrio mediante el empleo de métodos de laboratorio. Donde el suelo se pone en contacto con una solución acuosa del contaminante a concentración conocida. Los resultados experimentales pueden describirse teóricamente mediante "isotermas de sorción". Wiley (1998) indica que una isoterma de sorción describe la relación entre la concentración disuelta de una especie química dada (adsorbato) y la cantidad absorbida de la misma especie por el sólido fase (adsorbente) a presión y temperatura constante". Las isotermas de

sorción se han clasificado en cuatro tipos, dependiendo de su forma general. (p.178) (Ver Figura 2.2)

Figura 2.2
TIPOS DE ISOTERMA DE SORCIÓN



Fuente: Tomado de R. Acad. Nac. Farm; Monografía XXII. Disponible en:
<http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/598/615>

- Tipo L: Describe una gran afinidad entre el sorbente y el sorbato, usualmente indica quimiosorción (fosfatos unidos a metal-óxidos, MPO_4).
- Tipo S: Describe las interacciones entre sorbente y sorbato (metales unidos a arcillas).
- Tipo C: Describe fraccionamiento, sugiriendo una interacción entre un sorbente hidrofóbico y un sorbato hidrofóbico (pesticidas – materia orgánica).
- Tipo H: Describe una fuerte quimiosorción, el cual es un caso extremo de isoterma tipo L (fosfato – óxido de hierro).

Según lo señalado por Wiley (1998) el modelo de sorción en equilibrio considera al suelo como un material homogéneo y por tanto las reacciones de sorción son reversibles y se basa en la reacción general:



Donde S- es el sorbente, M+ el metal y SM el complejo de sorción (sorbente – metal). Donde la reacción de equilibrio puede ser expresada como:

$$K_m = [(SM) / (S^-)(M^+)] \dots\dots\dots 2.2$$

Donde K_m es la constante de equilibrio de la reacción.

Las dos técnicas más usadas para modelar los procesos de sorción en equilibrio son: la aproximación de Freundlich y la de Langmuir. (Mejía, 2006, p.86)

a) Aproximación de Freundlich

Según Mejía (2006) Los suelos son sistemas con múltiples componentes (líquido, sólido y una fase gaseosa) constituyéndose en sí mismo en un estado dinámico y siempre tendiendo a mantener el equilibrio. La variación de una o varias de las fases afecta las otras directamente, llegando a un nuevo estado de equilibrio.

Lazo *et al.* (2008) señala que en la ecuación de Freundlich se asume que la superficie del adsorbente es energéticamente heterógena, también considera que no existen interacciones laterales entre moléculas adsorbidas y que solo se adsorbe una monocapa.

Para Wiley (1998) la ecuación de Freundlich involucra un proceso de sorción en equilibrio, que considera la siguiente reacción:



$$K_D = \frac{SC}{C^{\frac{1}{n}}} \quad \dots\dots\dots 2.4$$

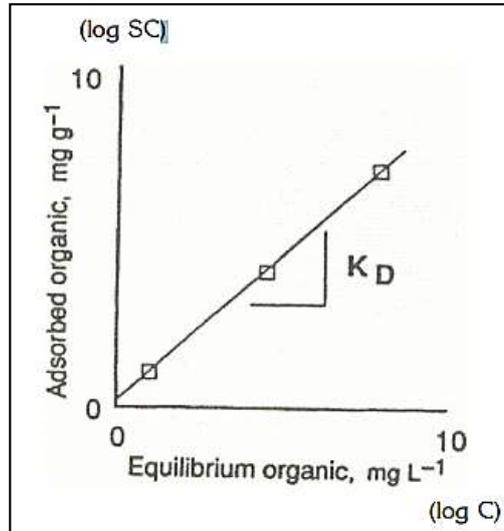
Donde K_D es el coeficiente de distribución, S el sorbente, C el metal a sorber, y SC el complejo de sorción. Despejando el complejo SC, se obtiene la ecuación 2.5. Al graficar SC contra C, muestra una curva.

$$SC = K_D (C^{1/n}) \quad \dots\dots\dots 2.5$$

Al linealizar la ecuación 2.5 se obtiene la ecuación 2.6 que produce una gráfica lineal con K_D como intercepto y $1/n$ como pendiente (Véase figura 2.3, en la página “33”).

$$\text{Log (SC)} = \text{log (}K_D\text{)} + \frac{1}{n}\text{logC} \quad \dots\dots\dots 2.6$$

Figura 2.3
LINEALIZACIÓN DE FREUNDLICH



Fuente: Wiley, Jhon (1998)

La gráfica linealizada de Freundlich (tipo C), representa una aproximación empírica para predecir la distribución de una especie química en la fase líquida o en la fase sólida. Este modelo puede ser usado para predecir la lixiviación de un herbicida en particular o de un metal pesado en el suelo. (Wiley, 1998)

b) Aproximación de Langmuir.

Mejia (2006) señala que la aproximación de Langmuir incorpora algunas asunciones, tales como:

- No se sabe el número exacto de superficies de sorción.
- La sorción incluye una mono capa.
- La sorción es independiente de la cobertura superficial.

- Todos los sitios de sorción están representados por grupos funcionales similares.
- Las isothermas son de tipo L.

Según Wiley (1998) la reacción de Langmuir es considerada como:



Donde S, C y SC son variables iguales a las de la ecuación de Freundlich.

Donde la ecuación que representa el equilibrio es:

$$K_L = (SC)/(S)(C) \quad \dots\dots\dots 2.8$$

Al despejar SC de la ecuación 2.8 se obtiene:

$$SC = K_L (S) (C) \quad \dots\dots\dots 2.9$$

Considerando que:

$$S = (S_T) - (SC) \quad \dots\dots\dots 2.10$$

Donde S_T denota el número total de sitios de sorción, sustituyendo la ecuación 2.10 en la ecuación 2.9 y resolviendo, se obtiene la ecuación (2.11) la cual presenta una gráfica tipo L, donde la asíntota es S_T :

$$SC = K_L S_T C / (1 + K_L C) \dots\dots\dots 2.11$$

Al linealizar la ecuación 2.11, obtenemos la ecuación (2.12):

$$C / SC = (C / S_T) + (1 / (K_L * S_T)) \dots\dots\dots 2.12$$

Cuando se grafica la ecuación 2.12, C/SC versus C , se obtiene una gráfica lineal con pendiente igual a $1/S_T$ e intercepto $(1 / (K_L * S_T))$.

2.2.8. Análisis estadísticos

Las réplicas son esenciales para obtener estimaciones fiables de características de desempeño del método, como la precisión. Los experimentos que implican análisis repetidos deben ser diseñados para tener en cuenta todas las variaciones en las condiciones operativas que se pueden esperar durante el uso rutinario del método. El objetivo debería ser determinar la variabilidad típica y no la variabilidad mínima.

a) Análisis de varianza (ANOVA)

Según Morillas *et al.* (2016) la idea central del ‘análisis de varianza’ (ANOVA) es analizar una serie de datos replicados que pueden agruparse de una misma manera, por ejemplo: analista, instrumento, día, laboratorio, método, etc., así también, la variación total en la serie completa se puede representar como la combinación de las varianzas entre grupos y dentro de los grupos. La tabla ANOVA de un factor muestra, para un total de N resultados, distribuidos en p grupos de n observaciones y con ν grados de libertad. Cada línea de la tabla hace referencia a una fuente de variación distinta. La primera fila responde a la variación entre las medias de los grupos; la segunda describe la variación dentro de los grupos y la tercera describe la variación del conjunto de los datos en su totalidad. Las hojas de cálculo y el software estadístico también proporcionan los valores de F (factor Fischer) y de F crítico, así como el valor correspondiente de P (probabilidad). (Véase Tabla 2.4)

Tabla 2.4

ESTRUCTURA DE UNA TABLA ANOVA DE UN FACTOR

Fuente de variación	Suma de cuadrados (SS)	ν	Cuadrado medio (MS)	F	P	F_{crit}
Entre grupos	SS_e	$p-1$	$MS_e = SS_e/(p-1)$	MS_e/MS_i		
Intra grupo (residuales)	SS_i	$N-p$	$MS_i = SS_i/(N-p)$			
Total	$SS_{tot} = SS_e + SS_i$	$N-1$				

Fuente: Morillas *et al.* (2016). Guía Eurachem. Eurolab España

Se debe considerar que el estadístico F crítico teórico debe ser mayor que el F calculado experimentalmente para demostrar que no hay varianza significativa entre resultados.

A los valores relacionados con la variación entre grupos se les designa 'entre grupos' o se identifican por el factor de agrupamiento (por ejemplo: analista, día o laboratorio). Se usan diferentes términos en software, libros de texto, etc., para describir la variación dentro del grupo, siendo los más comunes 'intra- grupo', 'residual', 'error' o 'medida'. (Morillas *et al.*, 2016)

b) Método Taguchi

Este método consiste en proponer todas las combinaciones posibles de las variables o factores en estudio. Un factorial con tres niveles significa que cada factor tiene tres niveles para cada una de las variables que se están estudiando y el número de experimentos que se obtienen de todas las combinaciones posibles de los niveles de cada variable independiente. Este método factorial nos permite obtener el máximo de información con un mínimo de experiencias desarrolladas. (Morillas *et al.*, 2016)

- ✓ **Variables Independientes**, Denominados también factores, son las variaciones bajo estudio, las cuales se mantienen controlando

durante el experimento y se modifican sistemáticamente para investigar su efecto en los resultados.

- ✓ **Variables Dependientes o Respuesta**, La variable dependiente denominada también respuestas, es aquella que se determina en el desarrollo de cada experimento y sus valores dependen de la variable independiente.

2.3. Definiciones de términos básicos u otros contenidos

2.3.1. Biosorción

Definida como la eliminación de sustancias en un medio por material biológico (vivo o muerto). Estas sustancias pueden ser orgánicas e inorgánicas, y se encuentran en forma gaseosa, soluble o insoluble. Es también un proceso fisicoquímico que incluye mecanismos como absorción, adsorción, intercambio iónico y precipitación. (Gadd, 2008)

2.3.2. Biorremediación

Es una tecnología que utiliza el potencial metabólico de los microorganismos (su capacidad de biodegradación) para limpiar terrenos o aguas contaminadas. (Citado en Gonzáles, 2011, p. 20)

2.3.3. Metales pesados

Lenntech (2004) define como metales pesados a “cualquier elemento metálico que tenga una densidad relativamente alta y que sea tóxico o venenoso, aun en bajas concentraciones.”

2.3.4. Microorganismo

Cualquier organismo vivo microscópico, constituido por una sola célula o varias, incluyendo los virus. Esta definición operativa no incluye los hongos, tanto inferiores como superiores, ni las algas, aunque ambos grupos son considerados microorganismos porque su organización es esencialmente unicelular. Por otra parte, organismos pluricelulares pueden ser de tamaño tan pequeño que entren dentro de la definición anterior sin dejar por ello de ser estructuralmente tan complejos como cualquier animal superior. (Madigan, *et al.*, 2003)

2.3.5. Plomo

Es un metal pesado cuya “toxicidad está relacionada con anemia, falla renal, abortos, disminución de fertilidad, y daño neuronal” (Covarrubias *et al.*, 2015, p.41)

2.3.6. pH

Sigla de potencial del hidrogeno, índice que expresa el grado de acidez o alcalinidad de una disolución. (RAE, 2018)

2.3.7. Sorbente

Son materiales insolubles o mezclas de materiales utilizados para recuperar los líquidos a través del mecanismo como la absorción y adsorción, o ambos. (Gadd, 2008)

III. VARIABLES E HIPÓTESIS

3.1. Variables de la investigación.

3.1.1. Variables independientes

X1= Cantidad de colonias de *Pseudomona aeruginosa* (N° colonias/ml).

X2= Concentración de Pb^{+2} en el suelo (mg / kg)

X3= Días de incubación (N° días)

3.1.2. Variables dependientes

Y1 = Biosorción de Pb^{+2} por la bacteria *Pseudomona aeruginosa* en suelos contaminados. (g de plomo / N° colonias).

Y2 = Presencia de colonias residuales en suelos contaminados.

3.2. Operacionalización de variables.

Se usó del método Taguchi, con una matriz de experimentación para el diseño factorial eligiendo 3 factores con 3 niveles. (Véase la Tabla 3.1, en la página “42”). Además se realizó la operacionalización de variables tal como muestra en la Tabla 3.2. (Véase la Tabla 3.2, en la página “42”).

Tabla 3.1
MATRIZ DE EXPERIMENTO

N°	Variabes	Notación	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
1	Cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC)	X1	1	10	30
2	Concentración de Pb ⁺² adicionado en el suelo (ppm)	X2	100	1000	10000
3	Días de incubación (N° días)	X3	5	15	35

Fuente: Elaboración Propia

Tabla 3.2.
OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable Dependiente	Indicador	Dimensiones	Método
Y1= Biosorción de Pb ⁺² por la bacteria <i>Pseudomona Aeruginosa</i> en suelo contaminado.	- Concentración de Pb ⁺² - Tiempo	- mg / kg	- Cálculos - Ensayos de laboratorio.
Y2= Presencia de <i>Pseudomona Aeruginosa</i> residual.	- Colonias residuales - Tiempo	- Presencia de colonias - Días	- Cualitativo. - Ensayos de laboratorio.
Variable Independiente	Indicador	Dimensiones	Método
X1= Cantidad de Unidades formadoras de colonias.	- Cantidad de colonias	- UFC	- Medición directa.
X2= Concentración de Pb ⁺² adicionada en el suelo.	- Concentración de Pb ⁺² - Masa de suelo	- mg / kg - gramos	- Cálculos - Medición directa
X3= Días de incubación.	- Tiempo	- Días	- Medición directa

Fuente: Elaboración Propia

3.3. Hipótesis general e hipótesis específicas.

3.3.1. Hipótesis general

La *Pseudomona aeruginosa* posee la capacidad de remediar más del 80 % del Pb^{+2} del suelo contaminado.

3.3.2. Hipótesis específicas

- ✓ En el suelo contaminado a mayor N° de colonias incubadas de *Pseudomona aeruginosa* mayor concentración de Pb^{+2} biosorbido.
- ✓ El comportamiento cinético para la biosorción de Pb^{+2} por la *Pseudomona aeruginosa* está representada mediante la isoterma de Freundlich.

IV. METODOLOGÍA

4.1. Tipo de investigación.

La investigación es de tipo experimental, dado que requiere de la observación, registro, análisis, construcción de un modelo matemático y un manejo de tres variables experimentales controladas, con el fin de determinar la capacidad que tiene la *Pseudomonas aeruginosa* para la biosorción de Pb^{+2} en suelo contaminado.

4.2. Diseño de la investigación.

El presente estudio corresponde a una investigación y obtención experimental, con apego a las variables. La investigación se desarrolló en los laboratorios de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Callao y las muestras de suelos tratados fueron analizadas por la empresa SGS del Perú S.A.C.

4.3. Población y muestra

4.3.1. Población

Suelo recolectado de la zona agrícola del Km. 31 de la carretera Lima -Canta, entrada Rio Seco - Carabayllo.

4.3.2. Muestra

La muestra experimental estuvo conformada por 10 Kg de la población.

4.3.3. Tamaño de la muestra

Se acondicionó 50 g de suelo por cada muestra, requeridos por el laboratorio SGS del Perú, para el respectivo análisis por ICP-MS (Ver anexo N° 03).

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

4.4.1. Materiales

- ✓ Placas Petri
- ✓ Asa bacteriológica
- ✓ Tubos de ensayos
- ✓ Mecheros
- ✓ Matraz volumétrico
- ✓ Piseta
- ✓ Balones
- ✓ Espátula

- ✓ Papel kraft
- ✓ Gradilla
- ✓ Pipeta
- ✓ Papel Indicador de pH
- ✓ Vaso precipitado
- ✓ Guantes
- ✓ Matraz aforado
- ✓ Pinzas
- ✓ Pastilla magnética

4.4.2. Reactivos

- ✓ Nitrato de Plomo
- ✓ Cloruro de sodio
- ✓ Agar Cetrimida
- ✓ Cepa de *Pseudomona aeruginosa*
- ✓ Glutamato monosódico
- ✓ Glicerol
- ✓ Alcohol
- ✓ Lejía
- ✓ Agua destilada

4.4.3. Instrumentos y equipos

- ✓ Estufa
- ✓ Incubadora
- ✓ Autoclave
- ✓ Agitador magnético
- ✓ Balanza
- ✓ Termómetro
- ✓ ICP-MS (Utilizado para el análisis de plomo)

4.4.4. Técnicas

a) Aislamiento por agotamiento por estría

Es una técnica que tiene como fin obtener a partir de un número elevado de bacterias, un número reducido de ellas distribuidas individualmente a largo de la superficie de la placa Petri.

Al incubar esta, cada una de las bacterias originará una colonia, Las colonias individuales constituyen cada una un cultivo puro. (Sanz, 2011, p.20)

El procedimiento de la técnica de aislamiento por agotamiento por estría se encuentra definido en el Anexo N°02.

b) Análisis de suelos por digestión ácida en SGS del Perú.

Se utilizó el método EPA 3051A (Ver Anexo N° 03) para la digestión de suelos, lodos y sedimentos por microondas; y el método EPA 6020 (Ver Anexo N° 04) para su posterior lectura en ICP-MS a cargo de la empresa SGS del Perú.

4.5. Procedimiento de recolección de datos

4.5.1. Preparación de medio de cultivo Agar Cetrimida

- a)** Se disolvió 45.3 g de polvo de agar cetrimida en un matraz de 1 litro con agua purificada que contenía 10 ml de glicerol, se selló el matraz con algodón, papel Kraft y pabilo (ver Figura 4.1), y luego se agitó en caliente hasta un hervor de un minuto para disolver completamente el polvo, para que la solución se vuelva translúcida.

Figura 4.1.

MEDIO DE CULTIVO AGAR CETRIMIDA



Fuente: Elaboración Propia

- b) El autoclavado se realizó a 121 °C durante 15 minutos al matraz con la solución de agar cetrimida.

4.5.2. Resiembra de la bacteria *Pseudomona aeruginosa*

- a) La cepa de la bacteria *Pseudomona aeruginosa* fue proporcionada por el hospital Arzobispo Loayza como un residuo hospitalario.
- b) Se trasladó a placas petri esterilizadas, aproximadamente 15 ml de la solución de agar cetrimida preparada, para luego enfriar a temperatura ambiente evitando la contaminación. (Ver figura 4.2).

Figura 4.2.

PLACAS PETRI CON AGAR CETRIMIDA



Fuente: Elaboración Propia

- c) Mediante la técnica de siembra por agotamiento se incubó la cepa de la bacteria *Pseudomona aeruginosa* en las placas Petri con Agar Cetrimida durante 48 horas a 37 °C en la incubadora ubicada en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ingeniería Química, de la Universidad Nacional del Callao. (Ver figura 4.3 y 4.4).

Figura 4.3
RESIEMBRA DE BACTERIA MEDIANTE
LA TÉCNICA DE AGOTAMIENTO



Fuente: Elaboración Propia

Figura 4.4
PLACAS PETRI CON BACTERIA EN INCUBACIÓN



Fuente: Elaboración Propia

4.5.3. Preparación de las soluciones de Pb^{+2} añadidas

A través de un cálculo estequiométrico en base a la sal de nitrato de plomo ($Pb(NO_3)_2$) (Ver Figura 4.5) se preparó soluciones de 100, 1000 y 10000 ppm de Pb^{+2} disolviéndolas en agua destilada obtenida en el laboratorio de la facultad de Ingeniería Química.

Figura 4.5
SAL DE NITRATO DE PLOMO



Fuente: Elaboración propia

4.5.4. Acondicionamiento de las muestras de suelo

Para la recolección de datos son necesarias las condiciones iniciales del suelo (pH, materia orgánica, humedad, concentración de Pb^{+2} (Ver figura 4.6 y figura 4.7, en la página “52”) por lo que una muestra fue enviada para el análisis a SGS del Perú. Teniendo como variables constantes de

experimentación dichos resultados, descritos en la Tabla 4.1. (Véase Tabla 4.1). Así también, se analizó la presencia de *Pseudomona aeruginosa* mediante pruebas realizadas en el laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional del Callao.

Figura 4.6

pH DE LA MUESTRA INICIAL



Fuente: Elaboración Propia

Figura 4.7

TEMPERATURA DE LA MUESTRA INICIAL



Fuente: Elaboración Propia

Tabla 4.1

VARIABLES CONSTANTES

FACTOR CONSTANTE	UNIDAD	CANTIDAD
Peso muestra	Gramos	50±1
Humedad	%	18
Velocidad de Agitación	RPM	300
pH	Rango	7-8
Temperatura	°C	25
Materia Orgánica	%	1.5

Fuente: Elaboración propia.

Con las siguientes condiciones de operación se procedió a calcular el número de pruebas posibles usando el método de Taguchi para 3 factores y 3 variables, teniendo en cuenta que se debe realizar las pruebas por duplicado, obteniendo así la Tabla 4.2. (Véase tabla 4.2)

Tabla 4.2
MATRIZ DE EXPERIMENTOS

Días de incubación	Concentración de Pb	N° de colonias
5 días	100 ppm	1
5 días	100 ppm	10
5 días	100 ppm	30
5 días	1000 ppm	1
5 días	1000 ppm	10
5 días	1000 ppm	30
5 días	10000 ppm	1
5 días	10000 ppm	10
5 días	10000 ppm	30
15 días	100 ppm	1
15 días	100 ppm	10
15 días	100 ppm	30
15 días	1000 ppm	1
15 días	1000 ppm	10
15 días	1000 ppm	30
15 días	10000 ppm	1
15 días	10000 ppm	10
15 días	10000 ppm	30
35 días	100 ppm	1
35 días	100 ppm	10
35 días	100 ppm	30
35 días	1000 ppm	1
35 días	1000 ppm	10
35 días	1000 ppm	30
35 días	10000 ppm	1
35 días	10000 ppm	10
35 días	10000 ppm	30

Fuente: Elaboración propia.

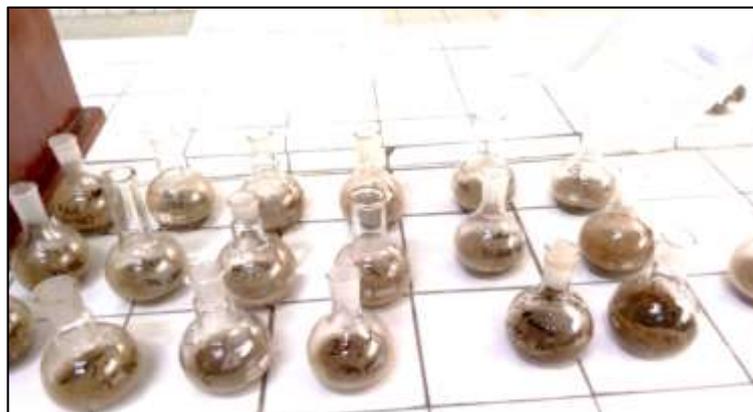
- a) Para cada una de las pruebas se pesó 50 ± 1 g de muestras de suelo y se trasladó a balones de 250 ml. (Véase figura 4.8 y figura 4.9)
- b) A cada muestra se le agregó 25 ml de solución de Pb^{+2} y se mezcló.
- c) Luego se adiciono 5 ml de solución salina que contiene la cantidad de colonias y se mezcló a través de un agitador magnético.

Figura 4.8
BALÓN CON 50 g DE MUESTRA



Fuente: Elaboración Propia

Figura 4.9
MUESTRAS CON 50 g DE SUELO PARA
LOS DIFERENTES FACTORES



Fuente: Elaboración Propia

- d) Los balones fueron aislados dentro de la incubadora a temperatura ambiente (Véase figura 4.10)

Figura 4.10

BALONES INCUBADOS A TEMPERATURA AMBIENTE



Fuente: Elaboración Propia

- e) Se realizaron pruebas de presencia de *Pseudomona aeruginosa*, quince días seguidos después de la incubación.
- f) Para el análisis de Pb^{+2} residual, se secaron las muestras en la estufa a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ por dos días en tres bloques, a los 5, 15 y 35 días, para luego llevar las muestras codificadas a SGS del Perú.

4.6. Procesamiento estadístico y análisis de datos

4.6.1. Procesamiento estadístico

- ✓ Se realizaron las variaciones mediante el método Taguchi (Véase tabla 4.2, en la página "53").

4.6.2. Análisis de datos.

Se evaluó el factor “N° de colonias” debido al poco sesgo en el porcentaje de remediación utilizando el estadístico ANOVA del análisis de datos del programa Microsoft Excel 2010 a los 5 días de incubación. (Véase tabla 4.3).

Tabla 4.3
ANOVA PARA EL FACTOR DEL N° DE COLONIAS

N° de Colonias	1	10	30
% remediación	91.76736842	90.45684211	90.82
	91.14052632	90.38578947	89.85842105

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4.4
ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1.5438	2	0.7719	3.5	0.1642	9.552
Dentro de los grupos	0.6613	3	0.2204			
Total	2.2051	5				

Fuente: Elaboración propia

Se observa en la tabla 4.4., que el F calculado (3.5) es menor al F crítico (9.552), demostrando que el factor N° de colonias no es significativo.

- ✓ Por lo tanto, la tabla 4.2 “Matriz de experimentos” se redujo solo a nueve variables con sus respectivas replicas tal como está evidenciado en la Tabla 4.5 (Véase tabla 4.5)

Tabla 4.5
NUEVA MATRIZ DE EXPERIMENTOS

# Pruebas /Factores	CODIGO	Días de incubación (Días)	Concentración de Pb
L 01	b4.1	5	100 ppm
L 01-R	b4.2	5	100 ppm
L 02	b2.1	5	1000 ppm
L 02-R	b2.2	5	1000 ppm
L 03	b6.1	5	10000 ppm
L 03-R	b6.2	5	10000 ppm
L 04	a2c1	15	100 ppm
L 04-R	a2c1.2	15	100 ppm
L 05	a2c2	15	1000 ppm
L 05-R	a2c2.2	15	1000 ppm
L 06	a2c3	15	10000 ppm
L 06-R	a2c3.2	15	10000 ppm
L 07	a3c1	35	100 ppm
L 07-R	a3c1.2	35	100 ppm
L 08	a3c2	35	1000 ppm
L 08-R	a3c2.2	35	1000 ppm
L 09	a3c3	35	10000 ppm
L 09-R	a3c3.2	35	10000 ppm

Fuente: Elaboración propia.

Donde:

b.4.1, b4.2,...: Códigos de muestras que fueron enviados a SGS del Perú para análisis, ver APENDICE B.

V. RESULTADOS

5.1. Resultados

Tabla 5.1
RESULTADOS OBTENIDOS

# Pruebas /Factores	Tiempo de incubación (Días)	Pb (ppm)	Concentración inicial (C) (mg/kg)	Concentración residual (mg/kg)	Concentración Sorbida (SC) (mg/kg)	%Sorción
L 01	5	100	63.333	6.044	57.289	90.457
L 01-R	5	100	63.333	6.089	57.244	90.386
L 02	5	1000	363.333	35.806	327.527	90.145
L 02-R	5	1000	363.333	35.439	327.894	90.246
L 03	5	10000	3363.333	293.762	3069.571	91.266
L 03-R	5	10000	3363.333	292.718	3070.615	91.297
L 04	15	100	63.333	3.130	60.203	95.058
L 04-R	15	100	63.333	3.712	59.621	94.139
L 05	15	1000	363.333	27.794	335.539	92.350
L 05-R	15	1000	363.333	27.019	336.314	92.564
L 06	15	10000	3363.333	215.655	3147.678	93.588
L 06-R	15	10000	3363.333	182.061	3181.272	94.587
L 07	35	100	63.333	4.256	59.077	93.280
L 07-R	35	100	63.333	3.519	59.814	94.444
L 08	35	1000	363.333	20.582	342.751	94.335
L 08-R	35	1000	363.333	20.397	342.936	94.386
L 09	35	10000	3363.333	144.267	3219.066	95.711
L 09-R	35	10000	3363.333	136.508	3226.825	95.941

Fuente: Elaboración propia

5.2. Gráficas de isotermas de sorción

5.2.1. 05 días de incubación.

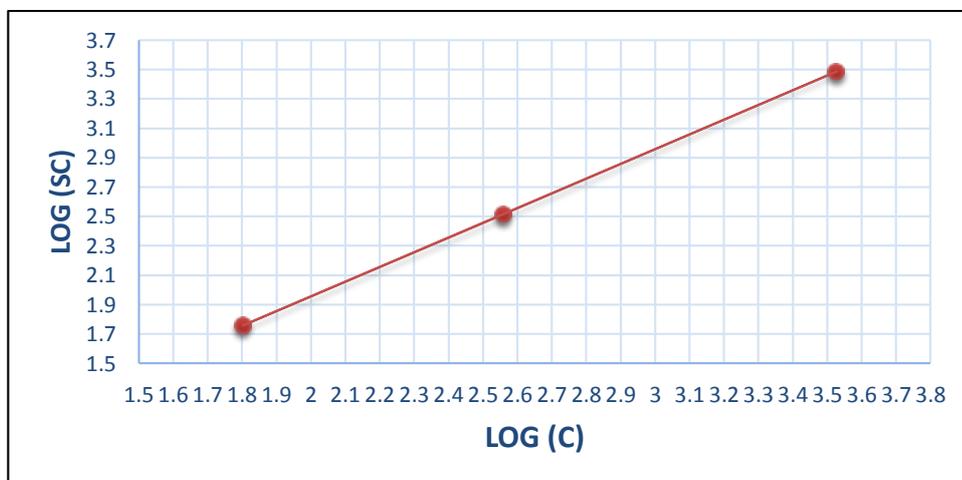
Tabla 5.2
DATOS CON 05 DÍAS DE INCUBACIÓN

Concentración inicial (C) mg/kg	SC (mg/kg)	LOG (C)	LOG (SC)	C/SC
63.333	57.289	1.802	1.758	1.105
63.333	57.244	1.802	1.758	1.106
363.333	327.527	2.560	2.515	1.109
363.333	327.894	2.560	2.516	1.108
3363.333	3069.571	3.527	3.487	1.096
3363.333	3070.615	3.527	3.487	1.095

Fuente: Elaboración propia.

a) Isoterma de Freundlich

Gráfico 5.1
ISOTERMA DE FREUNDLICH PARA 5 DÍAS DE INCUBACIÓN



Fuente: Elaboración propia.

Se obtuvo la ecuación de linealización, con los datos de la Tabla 5.2 (véase tabla 5.2, en la página “59”): $y = 1.0024x - 0.0492$. Donde “y” es LOG (SC) y “x” es LOG (C) siendo $R^2 = 1$

Comparando la ecuación de linealización con la ecuación 2.6 (ver ecuación 2.6, en la página “32”), se obtienen los valores de las constantes:

n=	0.9976057
KD=	0.8928942

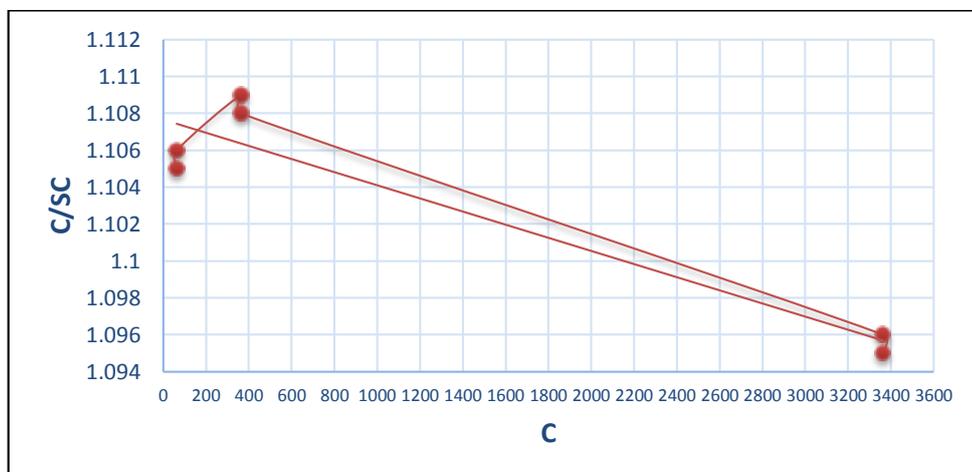
Obteniendo la siguiente ecuación de Freundlich, según la ecuación 2.6, para 5 días de incubación:

$$\text{LOG (SC)} = 1.0024 \text{ LOG(C)} - 0.0492$$

b) Isoterma de Langmuir

Gráfico 5.2

ISOTERMA DE LANGMUIR PARA 5 DÍAS DE INCUBACIÓN



Fuente: Elaboración propia.

Obteniendo la ecuación de linealización: $y = -4E-06x + 1.1077$, donde “y” es C/SC y “x” es C según la Tabla 5.2 siendo el $R^2 = 0.9028$

5.2.2. 15 días de incubación.

Tabla 5.3
DATOS CON 15 DE INCUBACIÓN

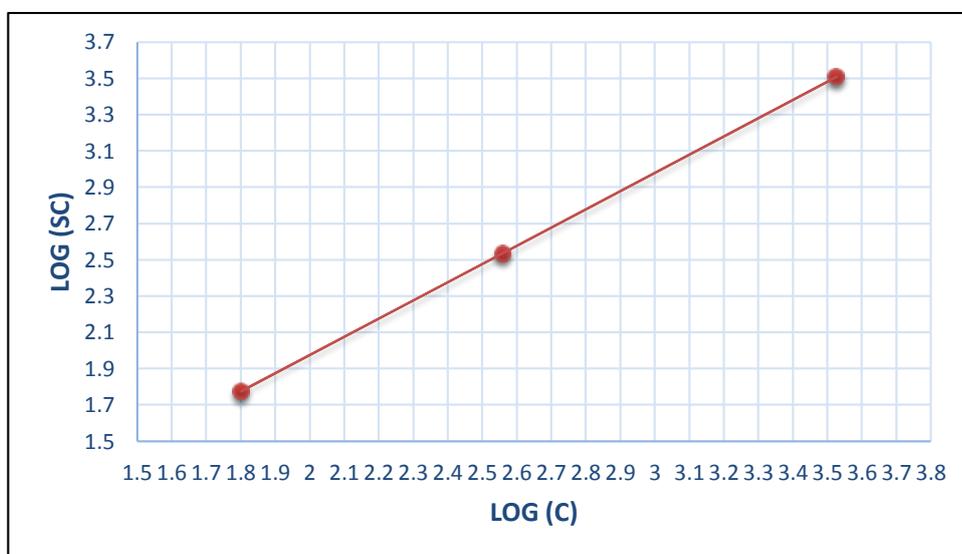
Concentración inicial (C) mg/kg	SC	LOG (C)	LOG (SC)	C/SC
63.333	60.203	1.802	1.780	1.052
63.333	59.621	1.802	1.775	1.062
363.333	335.539	2.560	2.526	1.083
363.333	336.314	2.560	2.527	1.080
3363.333	3147.678	3.527	3.498	1.069
3363.333	3181.272	3.527	3.503	1.057

Fuente: Elaboración propia.

a) Isoterma de Freundlich

Gráfico 5.3

ISOTERMA DE FREUNDLICH PARA 15 DÍAS DE INCUBACIÓN



Fuente: Elaboración propia.

Se obtuvo la ecuación de linealización, con los datos de la Tabla 5.3 (véase tabla 5.3, en la página “61”): $y = 0.9992x - 0.0261$. Donde “y” es LOG (SC) y “x” es LOG (C) siendo $R^2 = 1$

Comparando la ecuación de linealización con la ecuación 2.6 (ver ecuación 2.6, en la página “32”), se obtienen los valores de las constantes:

n=	1.001001001
KD=	0.919178802

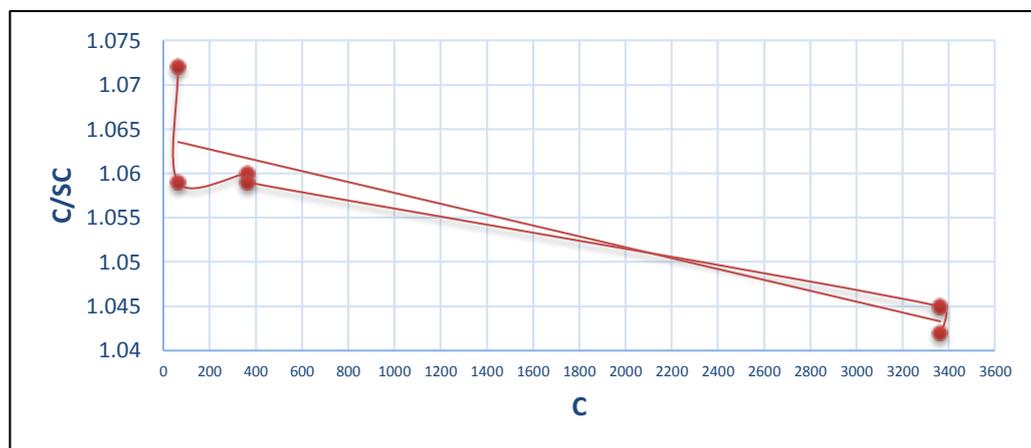
Obteniendo la siguiente ecuación de Freundlich, según la ecuación 2.6, para 5 días de incubación:

$$\text{LOG (SC)} = 0.999\text{LOG(C)} - 0.0257$$

b) Isoterma de Langmuir

Gráfico 5.4

ISOTERMA DE LANGMUIR PARA 15 DÍAS DE INCUBACIÓN



Fuente: Elaboración propia.

Obteniendo la ecuación de linealización: $y = -1E-06x + 1.069$, donde “y” es C/SC y “x” es C según la Tabla 5.3 (en la página “61”) siendo el $R^2 = 0.0344$

5.2.3. 35 días de incubación.

Tabla 5.4
DATOS CON 35 DE INCUBACIÓN

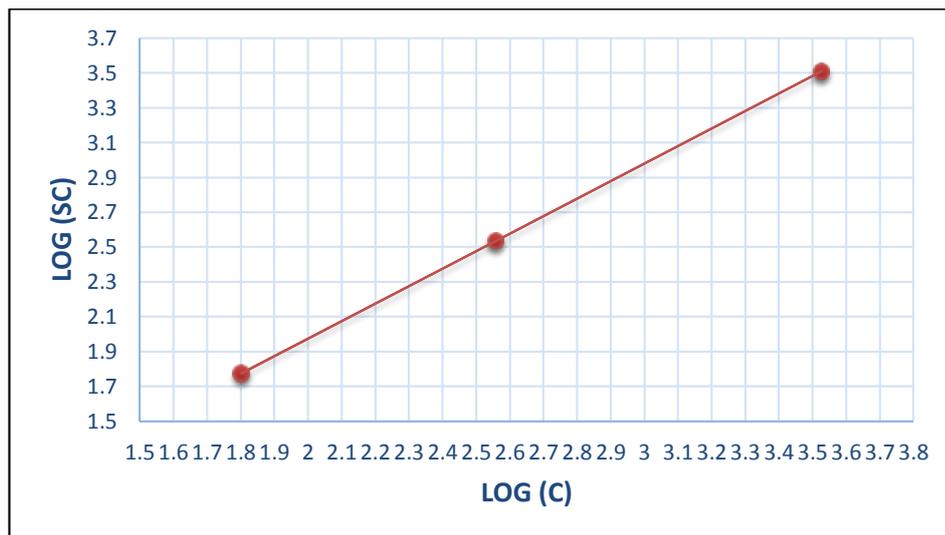
Concentración inicial (C) mg/kg	SC	LOG (C)	LOG (SC)	C/SC
63.333	59.077	1.802	1.771	1.072
63.333	59.814	1.802	1.777	1.059
363.333	342.751	2.560	2.535	1.060
363.333	342.936	2.560	2.535	1.059
3363.333	3219.066	3.527	3.508	1.045
3363.333	3226.825	3.527	3.509	1.042

Fuente: Elaboración propia.

a) Isoterma de Freundlich

Gráfico 5.5

ISOTERMA DE FREUNDLICH PARA 35 DÍAS DE INCUBACIÓN



Fuente: Elaboración propia.

Se obtuvo la ecuación de linealización, con los datos de la Tabla 5.4 (véase tabla 5.4) $y = 1.0056x - 0.0385$. Donde "y" es LOG (SC) y "x" es LOG (C) siendo $R^2 = 1$

Comparando la ecuación de linealización con la ecuación 2.6 (ver ecuación 2.6, en la página “32”), se obtienen los valores de las constantes:

n=	0.9947279
KD=	0.9191788

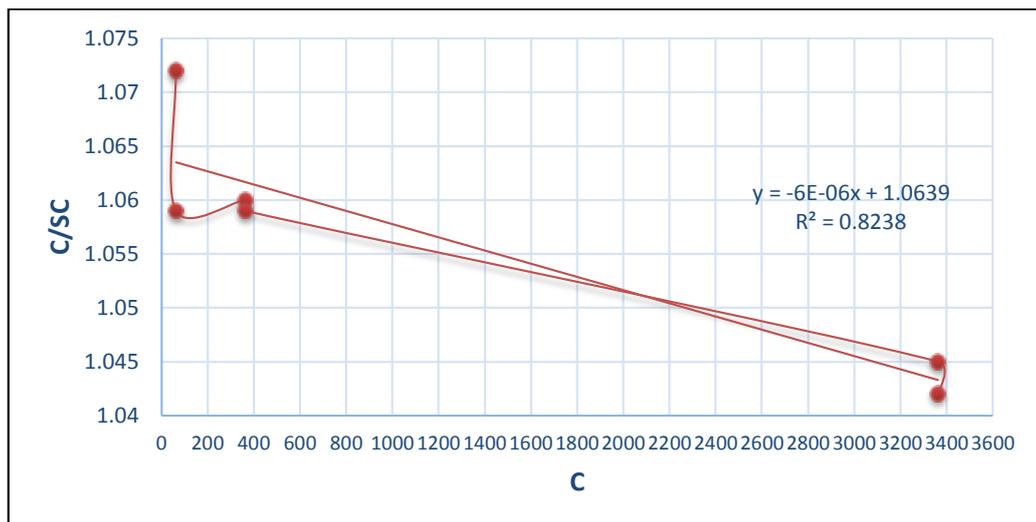
Obteniendo la siguiente ecuación de Freundlich, según la ecuación 2.6, para 5 días de incubación:

$$\text{LOG (SC)} = 1.0053\text{LOG(C)} - 0.0377$$

b) Isoterma de Langmuir

Gráfico 5.6

ISOTERMA DE LANGMUIR PARA 35 DÍAS DE INCUBACIÓN



Fuente: Elaboración propia.

Obteniendo la ecuación de linealización: $y = -6E-06x + 1.0639$, donde “y” es C/SC y “x” es C según la Tabla 5.4 (en la página “63”) siendo el $R^2 = 0.8238$

VI. DISCUSION DE RESULTADOS

6.1. Contrastación de hipótesis con los resultados

a) Hipótesis General

- Se obtuvo una remediación promedio del 93 %, el cual ha superado el porcentaje de remediación planteada en la hipótesis general.

b) Hipótesis Específica.

- Con los resultados obtenidos según los cuadros 4.2. y 4.3. se demostró que no hay varianza significativa según el estadístico ANOVA donde se cumple que el F calculado es menor al F crítico, por lo cual se descartó la variable independiente N° de colonias. Concluyendo que la hipótesis específica que menciona “A mayor N° de colonias incubadas de *Pseudomona aeruginosa*, mayor concentración de Pb⁺² biosorbido, no es viable.
- Según las gráficas 5.1; 5.3 y 5.5, se demuestra que nuestros resultados son lineales para la ecuación de la isoterma de Freundlich $LOG(SC) = LOG(C) * (1/n) + LOG(K_D)$ además de un coeficiente de correlación aproximado a 1, caso contrario si se observan las gráficas 5.2; 5.4 y 5.6 estas no presentan un comportamiento lineal para la isoterma de Langmuir, por lo que se cumple con la hipótesis específica planteada.

6.2. Contratación de resultados con otros estudios similares

- ❖ Giraldo D. y colaboradores en una investigación realizada en el 2014 titulada “La actividad emulsificante de remoción de metales pesados del ramnolípido por *Pseudomona aeruginosa* PB 25”, demostró la capacidad de generar emulsiones de hidrocarburos con el uso de soluciones puras del ramnolípido producido por *Pseudomona aeruginosa* PB 25, concluyendo que la sustancia en mención posee una eficiencia en la remoción de metales pesados de 99 % para cadmio y 98 % para plomo.

En la presente tesis se obtuvo un 93 % de biosorción de Pb^{+2} en el suelo contaminado por este metal pesado. Comparando este resultado con el estudio anterior nuestro porcentaje de remediación es menor, debido a la no modificación biológica de la bacteria, pero aun así significativa.

- ❖ Mejía Sandoval, G. en el 2006 presente en la revista CES el estudio de “Aproximación teórica a la biosorción de metales pesados por medio de microorganismos”, concluye que de los procesos de sorción en los suelos se ha dilucidado el proceso de biosorción de ocurrencia natural en los microorganismos. A medida que se ha detallado en el entendimiento de los mecanismos del proceso, se ha aprovechado la naturaleza de este para utilizarlo en beneficio del hombre y del ambiente, como biorremediador de metales pesados

que contaminan un ambiente determinado (suelo y/o agua). Además, especifica que los modelos matemáticos de cuantificación en la biosorción son los mismos que se utilizan en la modelación del proceso de sorción en suelos (modelos de Freundlich y Langmuir) asumiendo el proceso como un modelo en equilibrio.

En el estudio mencionado anteriormente especifica que para la modelación de procesos de sorción de suelos se puede utilizar los modelos de Langmuir y Freundlich, con los resultados obtenidos en la presente tesis se ha demostrado un comportamiento según el modelo de Freundlich.

VII. CONCLUSIONES

1. La capacidad de *Pseudomona aeruginosa* para remediar en promedio de 90.6 % a los 5 días, 93.7 % a los 15 días, 94.7 % a los 35 días de incubación.
2. La cantidad óptima de *Pseudomona aeruginosa* como variable independiente no fue significativa, sin embargo, se estudió el tiempo de vida de la bacteria *Pseudomona aeruginosa* obteniendo un resultado de 12 días.
3. El modelo del proceso de sorción en equilibrio obtenido posee una aproximación a la isoterma de Freundlich, puesto que los resultados presentan un comportamiento lineal y su coeficiente de correlación es igual a 1.
4. Las condiciones óptimas se obtuvieron a los 35 días de incubación con una de remediación de Pb^{+2} del 94.7 %, siendo la ecuación aproximada igual a $LOG(SC) = 1.0053 LOG(C) - 0.0377$, siendo $n=1/1.0053 = 0.9947$ y $K_D=0.9192$.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Profundizar en el estudio morfológico de la bacteria *Pseudomona aeruginosa* en relación con la biosorción de metales pesados.
2. Estudiar el efecto de la bacteria *Pseudomona aeruginosa* en la remediación de otros metales pesados y elementos potencialmente tóxicos.
3. Diseñar de un biosortor para una remediación en lote.
4. Estudiar a profundidad de la geología de los suelos propuestos para una remediación

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **AHUJA V, VOHRA P, KASHYAP D, TEWARI R. (2001).** Adsorption of heavy metals (Pb+2 and Cd+2). by free and immobilized biomass of *Acinetobacter anitratus* [Adsorción de metales pesados (Pb+2 y Cd+2). Por biomasa libre e inmovilizada de *Acinetobacter anitratus*]. Vol 41, pp. 275- 279.
2. **BOLAN N, KUNHIKRISHNAN A, THANGARAJAN R, KUMPIENE J, PARK J, MAKINO T, KIRKHAM M AND SCHECKEL K. (2014).** “Remediation of heavy metal contaminated soils-to mobilize or to immobilize”. [Remediación de suelos contaminados con metales pesados (loid) para movilizar o inmovilizar] *Journal of Hazardous Material* Vol. 266, Australia. Disponible en: https://www.academia.edu/31149166/Remediation_of_heavy_metal_loid_s_contaminated_soils_To_mobilize_or_to_immobilize.
3. **CARBALLO, M. E., A. MARTÍNEZ, I. SALGADO BERNAL, L. PÉREZ-BOU, et al. (2017).** Standardization of variables involved in cadmium and zinc microbial removal from aqueous solutions [Estandarización de variables involucradas en la eliminación de cadmio y zinc microbiano de soluciones acuosas]. *Biotecnología Aplicada*, Vol. 4, N°1, pp. 1221-1225. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-28522017000100003&lng=es&tlng=en.
4. **CORTÓN, E., & VIALE, A. (2006).** “Solucionando grandes problemas ambientales con la ayuda de pequeños amigos: las técnicas de biorremediación”. *Revista Ecosistemas* Vol.N°3, Argentina, pp.1–10. Disponible en: <https://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/>

5. **COVARRUBIAS, Sergio Abraham; GARCÍA BERUMEN, José Abraham; PEÑA CABRIALES, Juan José (2015).** “El papel de los microorganismos en la bioremediación de suelos contaminados con metales pesados”. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Instituto Politécnico Nacional, Guanajuato, México, 2015, p.40-45
6. **CRUZ VEGA, Diana Guadalupe, (2009).** “Remoción de metales por microorganismos productores de polisacáridos”; Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, Querétaro, México, 2009.
7. **DURUIBE, J., OGWUEGBU, M. y EGWURUGWU, J. (2007).** “Contaminación de metales pesados y efectos biotóxicos humanos”, International Journal Of Physical Sciences, Vol. 2, Nigeria, pp. 112-118.
8. **GADD GEOFFREY Michael, (2008).** “Biosorption: critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment” [Biosorción: revisión crítica de la justificación científica, importancia ambiental e importancia para el tratamiento de la contaminación], Journal Of chemical Technology and Biotechnology, Vol. 84, pp. 13 – 28, Estados Unidos. Disponible en: <https://www.sbmicrobiologia.org.br/PDF/Biosorption.pdf>
9. **GARBISU C, ALKORTA I. (2003).** “Basic concept son heavy metal soil bioremediation”. [Conceptos básicos sobre biorremediación de suelos de metales pesados]. European Journal of mineral processing and environmental protection, Vol. 3, España, p. 58-66.
10. **GARZA GONZALEZ. M.T. (2005),** “Aislamiento de microorganismos con alta capacidad de tolerar y remover Pb (II), Cr (VI), Cd (II), Cu (II), Zn (II) y Ni (II)”, tesis para optar el grado científico de Doctor en ciencias biológicas, Universidad de la Habana, La Habana, Cuba.
11. **GIRALDO Daniel, GUTIÉRREZ Susana y MERINO Fernando (2014),** “Actividad emulsificante y de remoción de metales pesados

- del ramnolípido por pseudomonas Aeruginosa Pb 25”, Revista de la Sociedad Química del Perú, Vol. 80 UNMSM, Lima, Perú.
12. **GONZALES CHAVEZ, Carmen Angeles (2005)**, “Recuperación de suelos contaminados con metales pesados utilizando plantas y microorganismos rizosféricos”, Rev. Terra Latinoamericana Vol. 23 N°01, pp 30, Sociedad Mexicana de la ciencia del suelo, Chapingo, México.
 13. **GONZÁLEZ ROJAS, Edwin, (2011)**. “Concepto y estrategias de biorremediación”, Universidad Antonio Nariño, Colombia. Disponible en: <http://csifesvr.uan.edu.co/index.php/ingeuan/article/download/96>
 14. **GOSWAMI, L., N. A. MANIKANDAN, K. PAKSHIRAJAN Y G. PUGAZHENTHI (2017)** “Simultaneous heavy metal removal and anthracene biodegradation by the oleaginous bacteria Rhodococcus opacus” [Eliminación simultánea de metales pesados y biodegradación de antraceno por la bacteria oleaginosa Rhodococcus opacus]. Revista Biotech. Vol 7, N° 37, pp. 2-9.
 15. **GUTIÉRREZ CERÓN Miguel Angel, GONZÁLEZ GONZÁLEZ Leandro Rodrigo, SÁNCHEZ MORA Enrique, MELLADO PERALTA Doris, (2002)**. “Biosorción de Pb+2 por biomasa de saccharomyces cerevisiae” Laboratorio de Investigación de Química y Bioquímica, Ecatepec, México.
 16. **HERNANDO POSADA, Raúl, (2012)**. “Procesos de biorremediación”, Universidad nacional Abierta y a Distancia-UNAD, Bogotá, Colombia, p.26.
 17. **KADUKOVA, Jana, (2016)**. Surface sorption and nanoparticle production as a silver detoxification mechanism of the freshwater alga Parachlorella kessleri [Absorción de superficie y producción de nanopartículas como mecanismo de desintoxicación de plata del alga de agua dulce Parachlorella kessleri], Bioresour. Technol. Vol 216, pp. 406-413. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852416307635>.

18. **KONEMAN, Elmer W.; PROCOP, Gary W.; SCHRECKENBERGER, Paul C., WOODS, Gail L. (2008).** “Koneman, Diagnostico Microbiológico”, EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA S.A. pp. 85-90.
19. **LABORATORIOS BRITANIA, (2015).** “Cetrimida agar”, Revista Britania Vol. 01, Noviembre, Argentina.
20. **LAZO, José, NAVARRO, Abel, SUN-KOU, María, LLANOS, Bertha (2008)** “Síntesis y caracterización de arcillas organofílicas y su aplicación como adsorbentes de fenol”. Revista Sociedad Química del Perú, Vol. 74, N°1, p. 4.
21. **LEDIN Maria (2000).** Accumulation of metals by microorganisms — processes and importance for soil systems [Acumulación de metales por microorganismos: procesos e importancia para los sistemas del suelo.], Earth Science Reviews, Vol. 51, pp. 1-31, Linköping University, Suecia. Disponible en: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/459/cap4.html>
22. **LENNTECH (2004),** “Lenntech water treatment and air purification”, Países Bajos, Disponible en: <https://www.lenntech.com/processes/heavy/heavy-metals/heavy-metals.htm>
23. **LOPEZ, Néstor, LOZADA DAVILA, José, (2010).** “Uso de la Biorremediación para el saneamiento de sustratos contaminados por petróleo en el oriente de Venezuela.” Revista Ecodiseño & sostenibilidad, p. 227-236.
24. **LÓPEZ LAFUENTE, A., (2009).** “Biorremediación y Fitorremediación en suelos contaminados”, Revista Académica Nacional de Farmacia; Monografía XXII. Contaminación y Salud, pp. 69-101. Disponible en: <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/598/615>

25. **MADIGAN Michael, MARTINKO John, PARKER Jack, (2003).** “Brock biología de los microorganismos”; Décima Edición. Disponible en: https://www.academia.edu/27080424/Brock_Biolog%C3%ADa_de_los_microorganismos_10ed
26. **MARRERO J, DÍAZ A, COTO O. (2010).** Mecanismos moleculares de resistencia a metales pesados en las bacterias y sus aplicaciones en la Biorremediación. Revista CENIC Ciencias Biológicas, Vol. 41, Núm. 1, p. 67-78. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181221644010> ISSN 0253-5688
27. **MEJÍA SANDOVAL, Gregory, (2006).** “Aproximación teórica a la biosorción de metales pesados por medio de microorganismos” Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad CES, Medellín, Colombia. p 77-99. Disponible en: <http://revistas.ces.edu.co/index.php/mvz/article/viewFile/210/2302>
28. **MORILLAS Y COLABORADORES (2016).** “Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos-una guía de laboratorio para validación de métodos y temas relacionados”, EUROLAB ESPAÑA. P.P., Primera edición Española.
29. **NORMAS LEGALES, “EL PERUANO” (2013).** “Estándares de Calidad ambiental para el suelo” Decreto Supremo N° 002-2013-MINAM, Ministerio del Ambiente (25 de marzo del 2013). Recuperado de: <http://www.minam.gob.pe/disposiciones/decreto-supremo-n-002-2013-minam-y-fe-de-erratas/>
30. **PONCE CONTRERAS, Daniela Soledad (2014).** “Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos” Tesis para obtener el Título de Ingeniero Civil, Universidad del Bio-Bio, Chile, p. 19-23.
31. **RAMOS VÁSQUEZ Elena, ZUÑIGA DÁVILA Doris (2008).** “Efecto de la humedad, temperatura, y pH del suelo en la actividad

- microbiana a nivel de laboratorio”, *Ecología Aplicada* Vol. 7 Pag. 123 – 129, Universidad agraria la Molina, Lima, Perú.
32. **REAL ACADEMIA ESPAÑOL, (2018)**. “Definición ph”. Disponible en: <https://dle.rae.es/?id=SrEA7mp>
 33. **ROQUEPAURO, CHOQUE YUCRA, AGUILAR POCCHOUANCA, & MAMANI CANQUI, (2009)**. “Estudios de bioadsorción de plomo por *saccharomyces cereviceae* en soluciones acuosas”, *Revista Colombiana De Biotecnología*, Vol. 11, pp. 33-39, Colombia.
 34. **SALGADO, BERNAL I., Pérez J. E., M.E. Carballo, A. Martínez, et al. (2015)**. “Aplicación de rizobacterias en la biorremediación del cromo hexavalente presente en aguas residuales”. *Revista Cubana Científica Biológica* Vol. 4, N°2, pp. 20-34.
 35. **SILVA ARROYO, Jesie Claudia (2016)**. “Biosorción de penicilina como contaminante emergente con adsorbentes naturales y químicamente modificados”, Tesis para optar el título profesional de Química, Universidad Cayetano Heredia, p. 13-15.
 36. **TORRES DELGADO, Katerine, ZULUAGA MONTOYA, Tatiana, (2009)**. “Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos”, Tesis de Grado para título de Ingeniería Química, Facultad de Minas, Universidad Nacional de Colombia.
 37. **UDEDI SS, (2003)**. “Guinea Worm Scourge to Metal Toxicity in Ebonyi State” [Azote del gusano de Guinea a la toxicidad por metales en el estado de Ebonyi], *Chemistry in Nigeria as the New Millennium Unfolds*, Vol. 2, N°02, pp. 13–14.
 38. **VILLASEÑOR ROA, Luis, (2011)**. “Cuadros comparativos de las técnicas in situ, ex situ y las ventajas y desventajas de la biorremediación”, Escuela Bioquímica, Instituto Tecnológico Superior Irapuato, Guanajuato, México.
 39. **VOLKE SEPÚLVEDA, Tania y VELASCO, Juan Antonio (2002)**. “Tecnologías de remediación para suelos contaminados”, México: INE-Semarnat, p.15

40. **WILEY, John (1998).** "Environmental soil and water chemistry: principles and applications" [Química ambiental del suelo y el agua: principios y aplicaciones.] V.P. EVANGELOU, Pág.563, New York, Estados Unidos, Disponible en: <https://epdf.pub/queue/environmental-soil-and-water-chemistry-principles-and-applications.html>

ANEXOS

ANEXO Nº 01

INSTRUCCIONES DE PREPARACIÓN DEL AGAR CETRIMIDA



INSTRUCCIONES DE USO –
MEDIOS EN PLACA LISTOS
PARA USAR



PA-254419.06

Rev.: April 2013

BD Pseudosel Agar (Cetrimide Agar)

USO PREVISTO

BD Pseudosel Agar (agar cetrimida) se utiliza para el aislamiento selectivo de *Pseudomonas aeruginosa* a partir de muestras clínicas.

PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

Pseudomonas aeruginosa es un organismo en el medio ambiente y un importante patógeno nosocomial¹. **BD Pseudosel Agar** se basa en la fórmula de agar Tech, diseñado por King et al para la producción mayor de pircianina de *Pseudomonas aeruginosa*, pero se ha modificado con la adición de cetrimida para la inhibición selectiva de organismos diferentes de *P. aeruginosa*^{2,3}. El medio se utiliza para el aislamiento de *P. aeruginosa* en los campos tanto clínicos como farmacéuticos, y se menciona en la farmacopea de Estados Unidos y la farmacopea europea para uso en pruebas de límite microbiano^{1,3,5}.

En **BD Pseudosel Agar**, la peptona sirve como fuente de nitrógeno, y el glicerol se utiliza como fuente de carbono y energía. La producción de pircianina se estimula mediante el cloruro de magnesio y el sulfato potásico en el medio. La cetrimida (bromuro de cetil trimetil amonio) es un compuesto de amonio cuaternario que inhibe una amplia variedad de otros organismos, incluidos otras determinadas especies de *Pseudomonas* y organismos relacionados.

REACTIVOS

BD Pseudosel Agar

Fórmula* por litro de agua purificada

Digerido pancreático de gelatina	20,0 g
Cloruro de magnesio	1,4
Sulfato de potasio	10,0
Glicerol	10,0 ml
Cetrimida	0,3 g
Agar	13,6

pH 7,2 ± 0,2

*Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

PRECAUCIONES

[IVD] . Solamente para uso profesional. Ⓢ

No utilizar las placas si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, rajaduras o cualquier otro signo de deterioro.

Consultar los procedimientos de manipulación aséptica, riesgos biológicos y desecho del producto usado en el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**.

ALMACENAMIENTO Y VIDA UTIL

Al recibir las placas, almacenarlas en un lugar oscuro a una temperatura entre 2 y 8 °C, envueltas en su envase original, hasta justo antes de usarlas. Evitar la congelación y el calentamiento excesivo. Las placas pueden inocularse hasta su fecha de caducidad (ver la etiqueta en el paquete) e incubarse durante los periodos de incubación recomendados. Las placas de grupos de 10 placas ya abiertos pueden usarse durante una semana siempre que se almacenen en un lugar limpio a una temperatura entre 2 y 8 °C.

CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Inocular muestras representativas con las cepas siguientes (para obtener los detalles, véase el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**). Incubar en atmósfera aerobia a 35 – 37 °C y efectuar la lectura de las placas después de 18 – 24 y 42 – 48 h.

Cepas	Resultados del crecimiento
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Crecimiento con pigmento verde azulado alrededor de las colonias; fluorescencia bajo luz UV (254 nm)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Crecimiento con pigmento verde azulado alrededor de las colonias; fluorescencia bajo luz UV (254 nm)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ATCC 13637	Inhibición de parcial a completa
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibición completa.
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inhibición de parcial a completa
Sin inocular	Ambar pálido

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados:

BD Pseudosel Agar (placas **Stacker** de 90 mm). Controladas microbiológicamente.

Material no suministrado:

Medios de cultivo auxiliar, reactivos y el equipo de laboratorio que se requiera.

Tipos de muestras

Se trata de un medio selectivo que puede utilizarse para todos los tipos de muestras clínicas, en especial para las presuntivas de contaminación de flora normal y para muestras no clínicas (véase también **CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**).

PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

Extender las muestras tan pronto como sea posible después de recibirlas en el laboratorio. La placa de extensión se utiliza principalmente para aislar los cultivos puros de las muestras con flora mixta. Si, por el contrario, el material se cultiva directamente empleando una torunda, hacerla girar en una sección pequeña cercana al borde, extendiendo luego a partir de esta área inoculada. Además de **BD Pseudosel Agar**, inocular **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** y **BD MacConkey II Agar** con la muestra, con el fin de aislar todos los patógenos de la infección.

Incubar a una temperatura de 35 ± 2 °C durante 18 a 48 h en atmósfera aerobia y efectuar la lectura de las placas al cabo de 18 a 24 horas y después de 42 a 48 horas, en caso necesario.

Resultados

Después de la incubación, examinar si las placas presentan crecimiento y la pigmentación de verde azulado a verde característica alrededor del crecimiento. La fluorescencia puede detectarse bajo luz UV (254 nm). La presencia de plocianina puede confirmarse extrayéndola con cloroformo. *P. aeruginosa* por lo general produce plocianina y fluoresceína. Puede observarse una variación tanto en la morfología de colonias como en la formación del pigmento de una cepa a otra. Consultar las referencias^{1,3}.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

BD Pseudosel Agar se utiliza para las muestras clínicas y no clínicas, si se prevé la presencia de *P. aeruginosa* y se observa un nivel alto de contaminación de otros organismos, por ejemplo, de flora normal^{1,4,5}.

Existen cepas no pigmentadas de *P. aeruginosa* que crecen en el medio, pero no producen los pigmentos verde azulados característicos.

Otros organismos, por ejemplo, determinados organismos no fermentadores y aerobios formadores de esporas (*Bacillus* y géneros relacionados), de vez en cuando pueden crecer y producir pigmentos de amarronados a amarillentos en este medio.

Se requieren más pruebas bioquímicas para confirmar un aislado como de *P. aeruginosa*, incluso si la producción de pigmento es la habitual en este medio.

REFERENCIAS

1. Kiska, D.L., and P.H. Gilligan. 2003. *Pseudomonas*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. King, E.O., M.K. Ward, and E.E. Raney. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J. Lab. Clin. Med.* 44: 301
3. MacFaddin, J.F. 1985. *Media for the isolation – cultivation – maintenance of medical bacteria*. Volume 1. Williams and Wilkins, Baltimore, London
4. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. 2009. *The U.S. Pharmacopeia 32/The national formulary 27–2009*. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md. USA
5. Council of Europe, 2008. *European Pharmacopoeia, 6.1. European Pharmacopoeia Secretariat. Strasbourg/France*

ENVASE/DISPONIBILIDAD

BD Pseudoseal Agar

Nº de cat. 254419

Medios en placa listos para usar, 20 placas

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para obtener más información diríjase a su representante local de BD.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, BD Logo and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD

ANEXO Nº 02

PROCEDIMIENTO TÉCNICA DE AISLAMIENTO DE CULTIVOS PUROS

SUSANA A. SANZ CERVERA

I.4.-OBTENCION Y MANTENIMIENTO DE CULTIVOS PUROS

Técnica de aislamiento por agotamiento por estría

Se trata de un método simple y rápido de agotamiento progresivo y continuo del inóculo sobre un medio sólido, generalmente contenido en una placa de Petri. El objeto es obtener a partir de un elevado número de bacterias, un número reducido de ellas distribuidas individualmente a lo largo de la superficie de la placa. Al incubar esta, cada una de las bacterias originará una colonia. Las colonias individuales constituyen cada una un cultivo puro.

Procedimiento:

(En esta técnica es muy importante emplear un asa de siembra en buen estado. Un asa de siembra rota o deteriorada rasgará el agar al realizar el agotamiento).

- 1.-Esterilizar el asa flameándola en el mechero hasta conseguir un rojo incandescente.
- 2.-Enfriar el asa en la proximidad de la llama. Tomar un inóculo de la muestra.
- 3.-Transferir el inóculo a un área pequeña de la superficie de la placa, próxima al borde. Extender el inóculo formando estrías muy juntas sobre la superficie de una porción pequeña de la placa.
- 4.-Flamear de nuevo el asa y enfriarla. Tomando como inóculo el obtenido mediante el rozamiento del asa de siembra con las estrías sembradas la primera vez, realizar sobre una porción virgen de la placa una segunda tanda de estrías que no toque la primera.
- 5.-Flamear y enfriar el asa. Repetir exactamente la operación descrita en el punto 4 pero empleando como inóculo la segunda tanda de estrías.

6.-Flamear y enfriar el asa. Repetir de nuevo 4, pero empleando como inóculo la tercera tanda de estrías. Las nuevas series de estrías no deben tocar ninguna de las series anteriores.

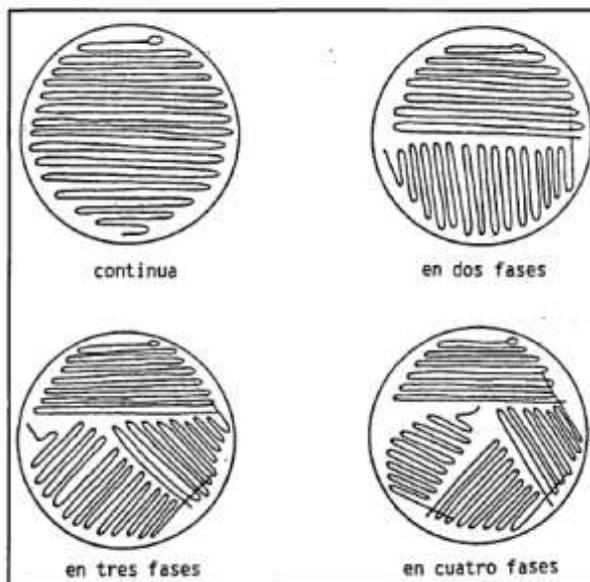
7.-Flamear el asa y tapar la placa de Petri. Esta se incubará a temperatura adecuada en posición invertida ya que , de otra manera, el agua de condensación que se iría depositando sobre la superficie del agar impediría la obtención de colonias aisladas.

Para realizar el agotamiento por estría, la placa de Petri puede mantenerse sobre la mesa de trabajo en posición normal y, levantando la tapa con la mano izquierda, realizar las estrías con la derecha. Aún mejor, es posible hacerlo colocando la placa en posición invertida sobre la mesa de trabajo y, tomando la parte que contiene el medio de cultivo, levantarla hasta la altura de la llama del mechero. Allí, con ella en posición casi vertical, realizar las sucesivas tandas de estrías.

Para realizar las estrías, oscile el asa de siembra sobre la superficie del agar mediante un balanceo sucesivo y rápido de la muñeca. No haga más presión sobre el agar que la debida al propio peso del asa y su mango.

La figura que se muestra a continuación ilustra cuatro posibles maneras de realizar el agotamiento por estría: de modo continuo, en dos, tres o cuatro fases. Debe intentar realizar al menos el agotamiento por estría en tres fases.

Pautas para la realización de aislamiento por agotamiento por estría



ANEXO N° 03
MÉTODO 3051A
EPA
(Agencia de Protección ambiental – Estados unidos)

METHOD 3051A

MICROWAVE ASSISTED ACID DIGESTION OF
SEDIMENTS, SLUDGES, SOILS, AND OILS

SW-846 is not intended to be an analytical training manual. Therefore, method procedures are written based on the assumption that they will be performed by analysts who are formally trained in at least the basic principles of chemical analysis and in the use of the subject technology.

In addition, SW-846 methods, with the exception of required method use for the analysis of method-defined parameters, are intended to be guidance methods which contain general information on how to perform an analytical procedure or technique which a laboratory can use as a basic starting point for generating its own detailed Standard Operating Procedure (SOP), either for its own general use or for a specific project application. The performance data included in this method are for guidance purposes only, and are not intended to be and must not be used as absolute QC acceptance criteria for purposes of laboratory accreditation.

1.0 SCOPE AND APPLICATION

1.1 This microwave extraction method is designed to mimic extraction using conventional heating with nitric acid (HNO₃), or alternatively, nitric acid and hydrochloric acid (HCl), according to EPA Method 200.2 and Method 3050. Since this method is not intended to accomplish total decomposition of the sample, the extracted analyte concentrations may not reflect the total content in the sample. This method is applicable to the microwave-assisted acid extraction/dissolution[†] of sediments, sludges, soils, and oils for the following elements:

ANEXO N° 04
MÉTODO 6020B
EPA
(Agencia de Protección ambiental – Estados unidos)

METHOD 6020B

INDUCTIVELY COUPLED PLASMA—MASS SPECTROMETRY

SW-846 is not intended to be an analytical training manual. Therefore, method procedures are written based on the assumption that they will be performed by analysts who are formally trained in at least the basic principles of chemical analysis and in the use of the subject technology.

In addition, SW-846 methods, with the exception of required method use for the analysis of method-defined parameters, are intended to be guidance methods which contain general information on how to perform an analytical procedure or technique which a laboratory can use as a basic starting point for generating its own detailed standard operating procedure (SOP), either for its own general use or for a specific project application. The performance data included in this method are for guidance purposes only, and are not intended to be and must not be used as absolute quality control (QC) acceptance criteria for purposes of laboratory accreditation.

1.0 SCOPE AND APPLICATION

1.1 Inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) is applicable to the determination of sub- $\mu\text{g/L}$ concentrations of a large number of elements in water samples and in waste extracts or digests (Refs. 1 and 2). When dissolved constituents are required, samples must be filtered and acid-preserved prior to analysis. No digestion is required prior to analysis for dissolved elements in water samples. Acid digestion prior to filtration and analysis is required for groundwater, aqueous samples, industrial wastes, soils, sludges, sediments, and other solid wastes for which total (acid-leachable) elements are required. The analyst should insure that a sample digestion method is chosen that is appropriate for each analyte and the intended use of the data. Refer to Chapter Three for the appropriate digestion procedures.

1.2 ICP-MS has been applied to the determination of over 60 elements in various matrices. Analytes for which the acceptability of Method 6020 has been demonstrated through multi-laboratory testing on solid and aqueous wastes are listed below.

APÉNDICES

APÉNDICE A
INFORMES DE ENSAYO

A.1. MUESTRA INICIAL (HUMEDAD – MATERIA ORGÁNICA)

INFORME DE ENSAYO
VE1800066

Página 1 de 2

Análisis solicitado por:	SGS DEL PERU S.A.C.		
Dirección:	Av. Elmer Faucett 3348		
Solicitud de Ensayo:	Estudio Plomo		
Producto descrito como:		Cantidad Muestras:	1
		Fecha de Recepción:	14-01-2018
Procedencia:		Fecha de Ensayo:	14-01-2018
		Fecha de Emisión:	14-01-2018
Recepción de Muestra:			
Matriz:			

Análisis	Método
Materia orgánica	Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, ítem 7.1.7 AS 07, 2000, Determinación de Materia Orgánica
Humedad	Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, ítem 7.1.5 AS-05, 2000, Humedad

INFORME DE ENSAYO
VE1800066

Página 2 de 2

Identificación de Muestra	L.D.	
Humedad (%)	0.1	18.6
Materia orgánica (%)	0.1	1.5

A.2. MUESTRA INICIAL (CONCENTRACION PLOMO)

INFORME DE ENSAYO VE1700236

Página 1 de 5

Análisis solicitado por: SGS DEL PERU S.A.C.
Dirección: Av. Elmer Faucett 3348
Solicitud de Ensayo:
Producto descrito como:

Cantidad Muestras: 1
Fecha de Recepción: 26-02-2017
Fecha de Ensayo: 26-02-2017
Fecha de Emisión: 26/08/2017

Procedencia:

Recepción de Muestra:
Matriz:

Análisis
Metales

Método

EPA 3051A:2007. Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils and Oils/EPA 6020A:2007 .Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry.

**INFORME DE ENSAYO
VE1700236**

Metales

Identificación de Muestra	L.D.	
Cobre (mg/kg)	0.357	49.026
Aluminio (mg/kg)	2.701	14,618.993
Antimonio (mg/kg)	0.041	3.592
Arsénico (mg/kg)	0.897	23.989
Bario (mg/kg)	0.138	41.377
Berilio (mg/kg)	0.054	0.373
Bismuto (mg/kg)	0.032	0.703
Boro (mg/kg)	5.399	11.924
Cadmio (mg/kg)	0.045	2.342
Calcio (mg/kg)	65.382	7,179.333
Circonio (mg/kg)	0.046	0.937
Cobalto (mg/kg)	0.04	10.212
Cromo (mg/kg)	0.314	23.669
Escandio (mg/kg)	0.099	4.387
Estaño (mg/kg)	0.295	1.225
Estroncio (mg/kg)	0.258	41.742
Fosforo (mg/kg)	4.759	826.528
Hierro (mg/kg)	9.201	33,164.047
Lantano (mg/kg)	0.032	9.506
Magnesio (mg/kg)	5.509	9,453.479
Manganeso (mg/kg)	0.202	321.967
Mercurio (mg/kg)	0.082	0.093
Molibdeno (mg/kg)	0.057	1.970
Niquel (mg/kg)	0.156	14.019

**INFORME DE ENSAYO
VE1700236**

Página 3 de 5

Metales

Plata (mg/kg)	0.084	1.533
Plomo (mg/kg)	0.109	31.163
Potasio (mg/kg)	13.5	2,394.733
Selenio (mg/kg)	1.132	<1.132
Sodio (mg/kg)	7.579	9,744.905
Talio (mg/kg)	0.029	0.326
Thorio (mg/kg)	0.035	4.515
Titanio (mg/kg)	0.079	1,412.811
Uranio (mg/kg)	0.032	1.036
Vanadio (mg/kg)	1.488	70.380
Wolframio (mg/kg)	0.072	0.408
Ytrio (mg/kg)	0.03	8.015
Zinc (mg/kg)	0.607	259.944

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Registro N° LE - 002

Provisional : VE1700431

Página 2 de 10

Metales

Identificación de Muestra	L.D.	BLANCO	B1.1	B1.2	B2.1	B2.2
Cobre (mg/kg)	0.357	6.665	6.080	6.970	6.751	6.691
Aluminio (mg/kg)	2.701	1,878.680	1,708.435	1,861.825	1,903.728	1,770.804
Antimonio (mg/kg)	0.041	0.195	0.180	0.219	0.183	0.184
Arsénico (mg/kg)	0.897	1.971	1.966	2.283	2.009	1.822
Bario (mg/kg)	0.138	10.021	9.282	9.140	9.306	9.151
Berilio (mg/kg)	0.054	<0.054	<0.054	<0.054	<0.054	<0.054
Bismuto (mg/kg)	0.032	0.050	0.043	0.041	0.045	0.044
Boro (mg/kg)	5.399	<5.399	<5.399	<5.399	<5.399	<5.399
Cadmio (mg/kg)	0.045	0.113	0.104	0.112	0.108	0.109
Calcio (mg/kg)	65.382	907.737	823.091	909.263	903.548	901.954
Circonio (mg/kg)	0.046	0.088	0.087	0.088	0.078	0.070
Cobalto (mg/kg)	0.04	1.252	1.087	1.255	1.339	1.201
Cromo (mg/kg)	0.314	2.805	2.923	2.824	2.505	2.623
Escandio (mg/kg)	0.099	--	--	--	--	--
Estaño (mg/kg)	0.295	<0.295	<0.295	<0.295	<0.295	<0.295
Estroncio (mg/kg)	0.258	9.515	8.353	8.899	8.672	8.978
Fosforo (mg/kg)	4.759	135.562	123.095	131.955	143.163	139.381
Hierro (mg/kg)	9.201	3,610.074	3,717.137	3,857.277	3,663.701	3,378.930
Lantano (mg/kg)	0.032	0.985	0.830	0.900	0.947	0.897
Magnesio (mg/kg)	5.509	865.926	798.843	898.609	910.283	876.558
Manganeso (mg/kg)	0.202	50.033	43.231	47.049	49.761	46.317
Mercurio (mg/kg)	0.082	<0.082	<0.082	<0.082	<0.082	<0.082
Molibdeno (mg/kg)	0.057	0.209	0.244	0.433	0.236	0.243

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Provisional : VE1700431

Página 3 de 10

Metales

		BLANCO	B1.1	B1.2	B2.1	B2.2
Niquel (mg/kg)	0.156	1.451	1.388	1.463	1.508	1.498
Plata (mg/kg)	0.084	0.320	0.582	0.397	0.585	0.330
Plomo (mg/kg)	0.109	2.931	5.214	5.611	35.806	35.439
Potasio (mg/kg)	13.5	222.360	226.045	228.975	238.981	237.375
Selenio (mg/kg)	1.132	<1.132	<1.132	<1.132	<1.132	<1.132
Sodio (mg/kg)	7.579	85.085	88.033	95.597	96.122	95.134
Talio (mg/kg)	0.029	<0.029	<0.029	<0.029	<0.029	<0.029
Thorio (mg/kg)	0.035	0.580	0.863	1.020	0.943	0.749
Titanio (mg/kg)	0.079	106.759	105.829	106.351	102.717	108.583
Uranio (mg/kg)	0.032	0.149	0.125	0.153	0.139	0.135
Vanadio (mg/kg)	1.488	12.791	15.161	14.506	14.062	12.614
Wolframio (mg/kg)	0.072	<0.072	<0.072	<0.072	<0.072	<0.072
Ytrio (mg/kg)	0.03	--	--	--	--	--
Zinc (mg/kg)	0.607	11.396	10.055	11.150	10.926	10.389

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Provisional : VE1700431

Página 4 de 10

Metales

		83.1	83.2	84.1	84.2	85.1
Boro (mg/kg)	5.399	<5.399	<5.399	<5.399	<5.399	<5.399
Cadmio (mg/kg)	0.045	0.129	0.120	0.109	0.110	0.112
Calcio (mg/kg)	65.382	1,176.378	1,047.081	945.372	877.945	953.827
Circonio (mg/kg)	0.046	0.120	0.079	0.067	0.064	0.069
Cobalto (mg/kg)	0.04	1.291	1.208	1.223	1.325	1.355
Cromo (mg/kg)	0.314	2.368	2.429	2.518	3.323	2.843
Escandio (mg/kg)	0.099	--	--	--	--	--
Estaño (mg/kg)	0.295	<0.295	<0.295	<0.295	<0.295	<0.295
Estroncio (mg/kg)	0.258	10.000	8.599	9.243	8.551	9.516
Fosforo (mg/kg)	4.759	185.687	164.692	138.772	137.461	150.263
Hierro (mg/kg)	9.201	3,509.097	2,977.644	3,567.387	3,609.218	3,839.742
Lantano (mg/kg)	0.032	1.009	0.817	0.912	0.949	0.996
Magnesio (mg/kg)	5.509	917.516	754.984	923.769	876.208	939.127
Manganeso (mg/kg)	0.202	50.730	43.003	47.977	45.995	48.685
Mercurio (mg/kg)	0.082	<0.082	<0.082	<0.082	<0.082	<0.082
Molibdeno (mg/kg)	0.057	0.278	0.149	0.241	0.238	0.257
Niquel (mg/kg)	0.156	1.764	1.324	1.455	1.756	1.565
Plata (mg/kg)	0.084	0.196	0.148	0.442	0.341	0.398
Plomo (mg/kg)	0.109	337.699	292.976	6.044	6.089	40.301
Potasio (mg/kg)	13.5	275.745	227.240	227.697	239.093	256.219
Selenio (mg/kg)	1.132	<1.132	<1.132	<1.132	<1.132	<1.132
Sodio (mg/kg)	7.579	114.208	112.096	103.026	93.511	95.219
Talio (mg/kg)	0.029	<0.029	<0.029	<0.029	<0.029	<0.029
Thorio (mg/kg)	0.035	2.495	1.448	0.816	0.915	0.960

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Provisional : VE1700431

Página 5 de 10

Metales

		B3.1	B3.2	B4.1	B4.2	B5.1
Titanio (mg/kg)	0.079	127.505	105.101	102.483	113.895	107.799
Uranio (mg/kg)	0.032	0.149	0.114	0.263	0.149	0.217
Vanadio (mg/kg)	1.488	13.916	10.769	13.369	13.352	14.296
Wolframio (mg/kg)	0.072	<0.072	<0.072	<0.072	<0.072	<0.072
Ytrio (mg/kg)	0.03	--	--	--	--	--
Zinc (mg/kg)	0.607	12.725	13.453	10.551	10.708	11.014

		B5.2	B6.1	B6.2	B7.1	B7.2
Identificación de Muestra	L.D.					
Cobre (mg/kg)	0.357	6.357	6.765	6.228	6.680	7.038
Aluminio (mg/kg)	2.701	1,751.223	1,635.203	1,660.066	1,741.187	1,939.857
Antimonio (mg/kg)	0.041	0.207	0.250	0.172	0.183	0.189
Arsénico (mg/kg)	0.897	1.791	2.274	2.578	1.819	2.077
Bario (mg/kg)	0.138	9.018	9.381	9.012	8.659	9.370
Berilio (mg/kg)	0.054	<0.054	<0.054	<0.054	<0.054	<0.054
Bismuto (mg/kg)	0.032	0.038	<0.032	<0.032	0.039	0.044
Boro (mg/kg)	5.399	<5.399	<5.399	<5.399	<5.399	<5.399
Cadmio (mg/kg)	0.045	0.113	0.108	0.106	0.101	0.121
Calcio (mg/kg)	65.382	921.890	1,063.219	994.306	955.515	942.745
Circonio (mg/kg)	0.046	0.059	0.092	0.061	0.052	0.061
Cobalto (mg/kg)	0.04	1.235	1.033	1.077	1.188	1.464
Cromo (mg/kg)	0.314	2.575	2.671	2.579	2.538	3.107
Escandio (mg/kg)	0.099	--	--	--	--	--
Estaño (mg/kg)	0.295	<0.295	<0.295	<0.295	<0.295	<0.295

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Registro N° LE - 002

Provisional : VE1700431

Página 6 de 10

Metales

		B5.2	B6.1	B6.2	B7.1	B7.2
Estroncio (mg/kg)	0.258	8.480	9.039	9.005	8.315	9.597
Fosforo (mg/kg)	4.759	139.106	167.230	149.157	153.164	133.820
Hierro (mg/kg)	9.201	3,271.297	3,382.534	3,137.411	3,466.544	3,996.729
Lantano (mg/kg)	0.032	0.935	0.938	0.899	0.953	0.962
Magnesio (mg/kg)	5.509	914.082	751.016	760.726	845.353	972.997
Manganeso (mg/kg)	0.202	43.805	44.325	42.819	45.907	51.774
Mercurio (mg/kg)	0.062	<0.062	<0.062	<0.062	<0.062	<0.062
Molibdeno (mg/kg)	0.057	0.272	0.264	0.114	0.198	0.241
Niquel (mg/kg)	0.156	1.555	1.525	1.385	1.330	1.733
Plata (mg/kg)	0.064	0.600	0.789	0.295	0.464	0.409
Plomo (mg/kg)	0.100	37.467	293.762	292.718	5.814	5.022
Potasio (mg/kg)	13.5	226.936	254.869	251.950	230.063	240.245
Selenio (mg/kg)	1.132	<1.132	<1.132	<1.132	<1.132	<1.132
Sodio (mg/kg)	7.579	99.470	103.297	94.305	92.729	95.988
Talio (mg/kg)	0.029	<0.029	<0.029	<0.029	<0.029	<0.029
Thorio (mg/kg)	0.035	1.481	3.381	1.611	0.644	0.898
Titanio (mg/kg)	0.079	106.886	118.261	106.958	107.953	99.203
Uranio (mg/kg)	0.032	0.605	0.200	0.110	0.145	0.163
Vanadio (mg/kg)	1.488	12.438	13.497	12.281	13.520	15.347
Wolframio (mg/kg)	0.072	<0.072	<0.072	<0.072	<0.072	<0.072
Ytrio (mg/kg)	0.03	-	-	-	-	-
Zinc (mg/kg)	0.607	10.164	11.326	12.695	9.980	11.049

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Provisional : VE1700431

Página 7 de 10

Metales

Identificación de Muestra		88.1	88.2	89.1	89.2
	L.D.				
Cobre (mg/kg)	0.357	6.434	6.586	6.830	6.492
Aluminio (mg/kg)	2.701	1,731.904	1,782.585	1,702.559	1,603.888
Antimonio (mg/kg)	0.041	0.168	0.185	0.223	0.189
Arsénico (mg/kg)	0.897	1.811	1.639	2.054	2.717
Bario (mg/kg)	0.138	8.759	10.156	9.314	8.308
Berilio (mg/kg)	0.054	<0.054	<0.054	<0.054	<0.054
Bismuto (mg/kg)	0.032	0.037	0.038	<0.032	0.041
Boro (mg/kg)	5.399	<5.399	<5.399	<5.399	<5.399
Cadmio (mg/kg)	0.045	0.102	0.106	0.116	0.143
Calcio (mg/kg)	65.382	869.482	854.583	1,042.121	1,010.349
Circonio (mg/kg)	0.046	0.055	0.057	0.079	0.056
Cobalto (mg/kg)	0.04	1.221	1.180	1.293	1.016
Cromo (mg/kg)	0.314	2.933	2.408	2.629	2.443
Escandio (mg/kg)	0.099	--	--	--	--
Estaño (mg/kg)	0.295	<0.295	<0.295	<0.295	<0.295
Estroncio (mg/kg)	0.258	8.576	8.478	10.046	9.044
Fosforo (mg/kg)	4.759	131.572	137.631	167.907	158.152
Hierro (mg/kg)	9.201	3,589.270	3,458.430	3,443.062	3,000.137
Lantano (mg/kg)	0.032	0.899	1.098	0.959	0.867
Magnesio (mg/kg)	5.509	850.706	894.006	849.677	779.830
Manganeso (mg/kg)	0.202	44.731	45.299	43.671	42.551
Mercurio (mg/kg)	0.082	<0.082	<0.082	<0.082	<0.082
Molibdeno (mg/kg)	0.057	0.216	0.252	0.299	0.130

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Registro N° LE - 002

Provisional : VE1700431

Página 8 de 10

Metales

		88.1	88.2	89.1	89.2
Niquel (mg/kg)	0.156	1.349	1.328	1.591	1.343
Plata (mg/kg)	0.084	0.392	0.431	0.439	0.451
Plomo (mg/kg)	0.109	32.840	35.750	332.099	278.839
Potasio (mg/kg)	13.5	225.769	235.066	250.902	240.381
Selenio (mg/kg)	1.132	<1.132	<1.132	<1.132	<1.132
Sodio (mg/kg)	7.579	91.987	92.334	90.617	81.109
Talio (mg/kg)	0.029	<0.029	<0.029	<0.029	<0.029
Thorio (mg/kg)	0.035	0.747	0.693	1.920	1.005
Titanio (mg/kg)	0.079	103.488	103.104	120.691	102.483
Uranio (mg/kg)	0.032	0.128	0.131	0.149	0.121
Vanadio (mg/kg)	1.488	14.258	13.051	12.419	11.478
Wolframio (mg/kg)	0.072	<0.072	<0.072	<0.072	<0.072
Ytrio (mg/kg)	0.03	--	--	--	--
Zinc (mg/kg)	0.607	10.141	10.605	13.010	15.422

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Provisional : VE1700431

Página 9 de 10

Control de Calidad

MB: Blanco del proceso.
LCS %Recovery: Porcentaje de recuperación del patrón de proceso.
MS %Recovery: Porcentaje de recuperación de la muestra adicionada.
MSD %RPD: Diferencia Porcentual Relativa entre los duplicados de la muestra adicionada.
Dup %RPD: Diferencia Porcentual Relativa entre los duplicados del proceso.

Metales

**Método : EPA 3051A:2007. Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils and
Oils/EPA 8000A:2007 .Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry.**

Parámetro	Unidad	LD	DUP %RPD
Plata	mg/kg	0.084	9 - 10%
Aluminio	mg/kg	2.701	0 - 7%
Arsénico	mg/kg	0.897	21%
Boro	mg/kg	5.399	0%
Bario	mg/kg	0.138	0 - 3%
Berilio	mg/kg	0.054	0%
Bismuto	mg/kg	0.032	0%
Calcio	mg/kg	65.382	0 - 9%
Cadmio	mg/kg	0.045	0 - 8%
Cromo	mg/kg	0.314	18%
Cobalto	mg/kg	0.040	15%
Cobre	mg/kg	0.357	0 - 8%
Hierro	mg/kg	9.201	0 - 3%
Mercurio	mg/kg	0.082	0%
Potasio	mg/kg	13.500	0 - 8%
Lantano	mg/kg	0.032	0 - 2%
Magnesio	mg/kg	5.509	16%
Manganeso	mg/kg	0.202	0 - 6%
Molibdeno	mg/kg	0.057	21 - 64%
Sodio	mg/kg	7.579	15 - 18%
Niquel	mg/kg	0.156	29%
Plomo	mg/kg	0.109	0 - 6%
Fosforo	mg/kg	4.759	0 - 9%
Antimonio	mg/kg	0.041	0 - 6%
Selenio	mg/kg	1.132	0%
Estaño	mg/kg	0.295	0%
Estroncio	mg/kg	0.258	0 - 4%

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Registro N°LE - 002

Provisional : VE1700431

Página 10 de 10

DUP %RPD			
Thorio	mg/kg	0.035	33 - 45%
Titanio	mg/kg	0.079	0 - 7%
Talio	mg/kg	0.029	0%
Uranio	mg/kg	0.032	31%
Vanadio	mg/kg	1.488	0 - 6%
Wolframio	mg/kg	0.072	0%
Zinc	mg/kg	0.607	0 - 8%
Circonio	mg/kg	0.046	23 - 30%

APENDICE B.2. RESULTADOS 15 DÍAS DE INCUBACIÓN:

- 100 ppm: A2C1, A2C1.2
- 1000 ppm: A2C2, A2C2.2
- 10000 ppm: A2C3, A2C3.2

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Registro N°LE - 002

**INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL
VE1700931**

Página 1 de 8

Análisis solicitado por:	SGS DEL PERU S.A.C.		
Dirección:	Av. Elmer Faucett 3348		
Solicitud de Ensayo:	Estudio Plomo		
Producto descrito como:		Cantidad Muestras:	19
		Fecha de Recepción:	09-07-2017
Procedencia:		Fecha de Ensayo:	09-07-2017
		Fecha de Emisión:	26/08/2017
Recepción de Muestra:			
Matriz:			

Análisis	Método
Metales	EPA 3051A:2007. Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils and Oils/EPA 6020A:2007 .Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry.

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



**INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL
VE1700931**

Página 2 de 8

Metales

Identificación de Muestra		BK	A1C1	A1C1.2	A1C2	A1C2.2
L.D.						
Cobre (mg/kg)	0.357	4.894	4.536	3.865	5.819	5.319
Aluminio (mg/kg)	2.701	1.081.901	1.045.283	1.112.877	1.221.698	1.341.020
Antimonio (mg/kg)	0.041	<0.041	<0.041	0.047	0.128	0.072
Arsénico (mg/kg)	0.897	1.417	1.644	1.266	2.015	1.887
Bario (mg/kg)	0.138	6.206	5.951	5.660	6.364	7.748
Berilio (mg/kg)	0.054	<0.054	<0.054	<0.054	<0.054	<0.054
Bismuto (mg/kg)	0.032	<0.032	<0.032	<0.032	<0.032	<0.032
Boro (mg/kg)	5.399	<5.399	<5.399	<5.399	<5.399	<5.399
Cadmio (mg/kg)	0.045	0.074	0.069	0.070	0.102	0.100
Calcio (mg/kg)	65.382	532.922	510.022	514.155	675.976	645.208
Circonio (mg/kg)	0.046	0.132	0.111	0.108	0.103	0.106
Cobalto (mg/kg)	0.04	0.867	0.857	0.761	1.175	0.937
Cromo (mg/kg)	0.314	1.613	1.879	1.730	2.495	2.333
Escandio (mg/kg)	0.099	0.407	0.441	0.403	0.468	0.487
Estaño (mg/kg)	0.295	<0.295	<0.295	<0.295	<0.295	<0.295
Estroncio (mg/kg)	0.258	6.381	6.161	5.840	7.175	8.329
Fosforo (mg/kg)	4.759	79.319	88.705	65.282	105.774	106.167
Hierro (mg/kg)	9.201	2.023.255	2.179.276	1.881.676	2.836.518	2.541.302
Lantano (mg/kg)	0.032	0.547	0.569	0.523	0.612	0.630
Litio (mg/kg)	9	<9.000 *	<9.000 *	<9.000 *	<9.000 *	<9.000 *
Magnesio (mg/kg)	5.509	458.005	433.064	369.090	594.646	549.793
Manganeso (mg/kg)	0.202	31.704	29.082	25.066	37.320	34.809
Mercurio (mg/kg)	0.082	<0.082	<0.082	<0.082	<0.082	<0.082

(*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA, para la matriz en mención

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Interno : VE1700931

Página 3 de 8

Metales

		BK	A1C1	A1C1.2	A1C2	A1C2.2
Plata (mg/kg)	0.084	<0.084	0.133	<0.084	<0.084	<0.084
Plomo (mg/kg)	0.109	1.842	2.466	2.043	18.411	19.940
Potasio (mg/kg)	13.5	114.611	109.041	86.128	150.670	141.852
Selenio (mg/kg)	1.132	<1.132	<1.132	<1.132	<1.132	<1.132
Sodio (mg/kg)	7.579	50.202	48.385	63.204	53.618	65.278
Talio (mg/kg)	0.029	<0.029	<0.029	<0.029	<0.029	<0.029
Thorio (mg/kg)	0.035	0.563	0.794	0.577	0.299	1.295
Titanio (mg/kg)	0.079	45.066	43.670	39.289	57.718	56.062
Uranio (mg/kg)	0.032	0.082	0.169	0.065	0.070	0.257
Vanadio (mg/kg)	1.488	8.829	9.335	9.831	12.826	10.308
Wolframio (mg/kg)	0.072	<0.072	<0.072	<0.072	<0.072	<0.072
Ytrio (mg/kg)	0.03	0.573	0.537	0.554	0.607	0.646
Zinc (mg/kg)	0.607	6.973	6.274	4.863	11.084	9.944

		A1C3	A1C3.2	A2C1	A2C1.2	A2C2
Identificación de Muestra	L.D.					
Cobre (mg/kg)	0.357	4.834	5.683	5.677	5.663	6.093
Aluminio (mg/kg)	2.701	1,149.153	1,172.113	1,225.237	1,337.836	1,381.348
Antimonio (mg/kg)	0.041	0.085	0.056	0.145	<0.041	<0.041
Arsénico (mg/kg)	0.897	1.708	1.822	1.602	1.853	2.393
Bario (mg/kg)	0.138	7.257	7.495	6.702	7.628	8.418
Berilio (mg/kg)	0.054	<0.054	<0.054	<0.054	<0.054	<0.054
Bismuto (mg/kg)	0.032	<0.032	<0.032	<0.032	<0.032	<0.032
Boro (mg/kg)	5.399	<5.399	<5.399	<5.399	<5.399	<5.399
Cadmio (mg/kg)	0.045	0.095	0.087	0.081	0.098	0.116
Calcio (mg/kg)	65.382	571.754	607.398	594.543	968.628	714.225

(*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA, para la matriz en mención.

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Interno : VE1700931

Página 4 de 8

Metales

		A1C3	A1C3.2	A2C1	A2C1.2	A2C2
Circonio (mg/kg)	0.046	0.097	0.173	0.146	0.176	0.123
Cobalto (mg/kg)	0.04	0.931	0.911	1.059	0.936	1.089
Cromo (mg/kg)	0.314	2.133	1.994	1.851	2.192	2.121
Escandio (mg/kg)	0.099	0.464	0.734	0.576	0.653	0.577
Estaño (mg/kg)	0.295	<0.295	<0.295	<0.295	<0.295	<0.295
Estroncio (mg/kg)	0.258	5.868	7.552	7.439	6.979	7.983
Fosforo (mg/kg)	4.759	100.481	88.814	93.749	103.865	126.345
Hierro (mg/kg)	9.201	2,384.952	2,499.449	2,365.555	2,324.374	2,344.129
Lantano (mg/kg)	0.032	0.619	0.618	0.617	0.652	0.703
Litio (mg/kg)	9	<9.0 *	<9.0 *	<9.0 *	<9.0 *	<9.0 *
Magnesio (mg/kg)	5.509	429.618	497.262	466.666	629.902	594.893
Manganeso (mg/kg)	0.202	30.924	34.155	33.694	40.910	41.634
Mercurio (mg/kg)	0.082	<0.082	<0.082	<0.082	<0.082	0.152
Molibdeno (mg/kg)	0.057	0.330	0.206	0.174	0.162	0.185
Niquel (mg/kg)	0.156	1.221	0.964	1.159	1.857	1.202
Plata (mg/kg)	0.084	<0.084	<0.084	<0.084	<0.084	<0.084
Plomo (mg/kg)	0.189	149.613	173.161	3.130	3.712	27.794
Potasio (mg/kg)	13.5	121.363	123.718	133.073	137.641	168.347
Selenio (mg/kg)	1.132	<1.132	<1.132	<1.132	<1.132	<1.132
Sodio (mg/kg)	7.579	59.976	56.646	64.092	62.299	75.047
Talio (mg/kg)	0.029	<0.029	<0.029	<0.029	<0.029	<0.029
Thorio (mg/kg)	0.035	0.526	1.722	1.170	0.687	0.471
Titanio (mg/kg)	0.079	50.335	53.037	54.844	56.587	57.291
Uranio (mg/kg)	0.032	0.094	0.112	0.170	0.106	0.104
Vanadio (mg/kg)	1.488	12.310	10.652	9.746	8.671	8.453
Wolframio (mg/kg)	0.072	<0.072	<0.072	<0.072	<0.072	<0.072

(*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA, para la matriz en mención.

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Interno : VE1700931

Página 5 de 8

Metales

		A1C3	A1C3.2	A2C1	A2C1.2	A2C2
Ytrio (mg/kg)	0.03	0.655	0.608	0.621	0.653	0.671
Zinc (mg/kg)	0.607	9.590	7.468	7.672	8.131	10.804

Identificación de Muestra		A2C2.2	A2C3	A2C3.2	A3C1	A3C1.2
L.D.						
Cobre (mg/kg)	0.357	6.684	6.022	5.104	4.806	5.084
Aluminio (mg/kg)	2.701	1,405.430	1,347.313	1,336.879	1,175.664	1,129.286
Antimonio (mg/kg)	0.041	0.052	<0.041	0.075	0.103	0.175
Arsénico (mg/kg)	0.897	2.143	2.258	1.640	1.508	1.747
Bario (mg/kg)	0.138	7.591	7.837	7.274	6.520	5.681
Berilio (mg/kg)	0.054	<0.054	<0.054	<0.054	<0.054	<0.054
Bismuto (mg/kg)	0.032	<0.032	<0.032	<0.032	<0.032	<0.032
Boro (mg/kg)	5.399	<5.399	<5.399	<5.399	<5.399	<5.399
Cadmio (mg/kg)	0.045	0.107	0.112	0.086	0.074	0.081
Calcio (mg/kg)	65.382	710.427	636.208	582.394	525.395	701.918
Circonio (mg/kg)	0.046	0.129	0.133	0.176	0.115	0.086
Cobalto (mg/kg)	0.04	1.054	1.015	1.094	0.856	0.908
Cromo (mg/kg)	0.314	2.081	1.756	2.011	2.018	2.541
Escandio (mg/kg)	0.099	0.577	0.526	0.828	0.510	0.395
Estaño (mg/kg)	0.295	<0.295	<0.295	<0.295	<0.295	<0.295
Estroncio (mg/kg)	0.258	8.824	7.400	7.482	6.476	6.667
Fosforo (mg/kg)	4.759	114.713	110.377	87.701	85.417	97.645
Hierro (mg/kg)	9.201	2,498.384	2,224.176	2,482.302	2,339.160	2,688.659
Lantano (mg/kg)	0.032	0.719	0.679	0.548	0.597	0.592
Litio (mg/kg)	9	<9.0 *	<9.0 *	<9.0 *	<9.0 *	<9.0 *
Magnesio (mg/kg)	5.509	596.508	624.222	636.297	494.532	486.065

(*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA, para la matriz en mención.

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Interno : VE1700931

Página 6 de 8

Metales

		A2C2.2	A2C3	A2C3.2	A3C1	A3C1.2
Manganeso (mg/kg)	0.202	39.244	40.836	41.732	31.490	30.183
Mercurio (mg/kg)	0.082	<0.082	<0.082	<0.082	<0.082	<0.082
Molibdeno (mg/kg)	0.057	0.144	0.116	0.154	0.150	0.143
Níquel (mg/kg)	0.156	1.410	1.320	1.507	1.248	1.195
Plata (mg/kg)	0.084	<0.084	<0.084	<0.084	<0.084	0.132
Plomo (mg/kg)	0.109	27.019	215.655	182.061	4.256	3.519
Potasio (mg/kg)	13.5	148.110	156.945	149.216	108.516	134.527
Selenio (mg/kg)	1.132	<1.132	<1.132	<1.132	<1.132	<1.132
Sodio (mg/kg)	7.579	81.987	65.182	62.112	48.937	56.382
Talio (mg/kg)	0.029	<0.029	<0.029	<0.029	<0.029	<0.029
Thorio (mg/kg)	0.035	0.735	0.592	1.430	0.585	0.291
Titanio (mg/kg)	0.079	66.512	47.172	56.024	53.560	57.173
Uranio (mg/kg)	0.032	0.129	0.120	0.071	0.076	0.079
Vanadio (mg/kg)	1.488	10.092	8.551	9.113	9.856	12.343
Wolframio (mg/kg)	0.072	<0.072	<0.072	<0.072	<0.072	<0.072
Ytrio (mg/kg)	0.03	0.668	0.662	0.614	0.573	0.584
Zinc (mg/kg)	0.607	10.480	11.783	7.898	7.037	8.237

Identificación de Muestra	L.D.	A3C2	A3C2.2	A3C3	A3C3.2
Cobre (mg/kg)	0.357	5.622	5.241	5.844	4.837
Aluminio (mg/kg)	2.701	1,055.674	1,278.787	1,300.401	1,026.766
Antimonio (mg/kg)	0.041	<0.041	0.081	0.193	0.204
Arsénico (mg/kg)	0.897	1.832	2.149	2.424	1.507
Bario (mg/kg)	0.138	6.701	6.887	6.833	6.002
Berilio (mg/kg)	0.054	<0.054	<0.054	<0.054	<0.054

(*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA, para la matriz en mención.

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Interno : VE1700931

Metales

		A3C2	A3C2.2	A3C3	A3C3.2
Bismuto (mg/kg)	0.032	<0.032	<0.032	<0.032	<0.032
Boro (mg/kg)	5.399	<5.399	<5.399	<5.399	<5.399
Cadmio (mg/kg)	0.045	0.116	0.096	0.110	0.083
Calcio (mg/kg)	65.382	573.588	510.156	757.314	489.484
Circonio (mg/kg)	0.046	0.131	0.097	0.093	0.130
Cobalto (mg/kg)	0.04	0.859	0.910	0.958	0.836
Cromo (mg/kg)	0.314	1.373	2.244	2.297	2.215
Escandio (mg/kg)	0.099	0.433	0.400	0.516	0.620
Estaño (mg/kg)	0.295	<0.295	<0.295	<0.295	<0.295
Estroncio (mg/kg)	0.258	6.766	6.524	9.196	5.917
Fosforo (mg/kg)	4.759	99.576	80.653	190.445	83.617
Hierro (mg/kg)	9.201	1,774.887	2,488.115	2,699.144	2,563.673
Lantano (mg/kg)	0.032	0.634	0.680	0.631	0.608
Litio (mg/kg)	9	<9.0 *	<9.0 *	<9.0 *	<9.0 *
Magnesio (mg/kg)	5.509	455.024	533.952	582.913	424.771
Manganeso (mg/kg)	0.202	35.136	34.215	37.560	28.273
Mercurio (mg/kg)	0.082	<0.082	<0.082	<0.082	<0.082
Molibdeno (mg/kg)	0.057	0.108	0.185	0.142	0.227
Níquel (mg/kg)	0.156	1.167	1.490	1.254	1.407
Plata (mg/kg)	0.084	0.274	<0.084	0.276	0.225
Plomo (mg/kg)	0.109	20.582	20.397	144.267	136.508
Potasio (mg/kg)	13.5	121.345	101.648	142.990	105.036
Selenio (mg/kg)	1.132	<1.132	<1.132	<1.132	<1.132
Sodio (mg/kg)	7.579	45.882	63.823	92.100	48.604
Talio (mg/kg)	0.029	<0.029	<0.029	<0.029	<0.029
Thorio (mg/kg)	0.035	1.286	0.348	0.403	1.382

(*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA, para la matriz en mención.

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Registro N°LE - 002

Interno : VE1700931

Página 8 de 8

Metales

		A3C2	A3C2.2	A3C3	A3C3.2
Titania (mg/kg)	0.079	41.487	43.468	61.275	53.356
Uranio (mg/kg)	0.032	0.196	0.075	0.089	0.096
Vanadio (mg/kg)	1.488	7.113	10.185	10.582	12.152
Wolframio (mg/kg)	0.072	<0.072	<0.072	<0.072	<0.072
Ytrio (mg/kg)	0.03	0.634	0.593	0.612	0.617
Zinc (mg/kg)	0.607	9.150	9.338	11.808	7.289

APENDICE B.3. RESULTADOS 35 DÍAS DE INCUBACIÓN:

- 100 ppm: A3C1; A3C1.2
- 1000 ppm: A3C2; A3C2.2
- 10000 ppm: A3C3; A3C3.2

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



**INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL
VE1700931**

Página 1 de 8

Análisis solicitado por:	SGS DEL PERU S.A.C.	Cantidad Muestras:	19
Dirección:	Av. Elmer Faucett 3348	Fecha de Recepción:	09-07-2017
Solicitud de Ensayo:	Estudio Plomo	Fecha de Ensayo:	09-07-2017
Producto descrito como:		Fecha de Emisión:	26/08/2017
Procedencia:			
Recepción de Muestra:			
Matriz:			

Análisis	Método
Metales	EPA 3051A:2007. Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils and Oils/EPA 6020A:2007. Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry.

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



**INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL
VE1700931**

Página 2 de 8

Metales

Identificación de Muestra	L.D.	BK	A1C1	A1C1.2	A1C2	A1C2.2
Cobre (mg/kg)	0.357	4.894	4.536	3.865	5.819	5.319
Aluminio (mg/kg)	2.701	1,081.901	1,045.283	1,112.877	1,221.698	1,341.020
Antimonio (mg/kg)	0.041	<0.041	<0.041	0.047	0.128	0.072
Arsénico (mg/kg)	0.097	1.417	1.644	1.266	2.015	1.887
Bario (mg/kg)	0.138	6.206	5.951	5.660	6.364	7.748
Berilio (mg/kg)	0.054	<0.054	<0.054	<0.054	<0.054	<0.054
Bismuto (mg/kg)	0.032	<0.032	<0.032	<0.032	<0.032	<0.032
Boro (mg/kg)	5.399	<5.399	<5.399	<5.399	<5.399	<5.399
Cadmio (mg/kg)	0.045	0.074	0.069	0.070	0.102	0.100
Calcio (mg/kg)	65.382	532.922	510.022	514.155	675.976	645.208
Circonio (mg/kg)	0.046	0.132	0.111	0.108	0.103	0.106
Cobalto (mg/kg)	0.04	0.867	0.857	0.761	1.175	0.937
Cromo (mg/kg)	0.314	1.613	1.879	1.730	2.495	2.333
Escandio (mg/kg)	0.099	0.407	0.441	0.403	0.468	0.487
Estaño (mg/kg)	0.295	<0.295	<0.295	<0.295	<0.295	<0.295
Estroncio (mg/kg)	0.258	6.381	6.161	5.840	7.175	8.329
Fosforo (mg/kg)	4.759	79.319	88.705	65.282	105.774	106.167
Hierro (mg/kg)	9.201	2,023.255	2,179.276	1,881.676	2,836.518	2,541.302
Lantano (mg/kg)	0.032	0.547	0.569	0.523	0.612	0.630
Litio (mg/kg)	9	<9.000 *	<9.000 *	<9.000 *	<9.000 *	<9.000 *
Magnesio (mg/kg)	5.509	458.005	433.064	369.090	594.646	549.793
Manganeso (mg/kg)	0.202	31.704	29.082	25.066	37.320	34.809
Mercurio (mg/kg)	0.082	<0.082	<0.082	<0.082	<0.082	<0.082

(*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA, para la matriz en mención

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Interno : VE1700931

Página 3 de 8

Metales

		BK	A1C1	A1C1.2	A1C2	A1C2.2
Plata (mg/kg)	0.084	<0.084	0.133	<0.084	<0.084	<0.084
Plomo (mg/kg)	0.109	1.842	2.466	2.043	18.411	19.940
Potasio (mg/kg)	13.5	114.611	109.041	86.128	150.670	141.852
Selenio (mg/kg)	1.132	<1.132	<1.132	<1.132	<1.132	<1.132
Sodio (mg/kg)	7.579	50.202	48.385	63.204	53.618	65.278
Talio (mg/kg)	0.029	<0.029	<0.029	<0.029	<0.029	<0.029
Thorio (mg/kg)	0.035	0.563	0.794	0.577	0.299	1.295
Titanio (mg/kg)	0.079	45.066	43.670	39.289	57.718	56.062
Uranio (mg/kg)	0.032	0.082	0.169	0.065	0.070	0.257
Vanadio (mg/kg)	1.488	8.829	9.335	9.831	12.826	10.308
Wolframio (mg/kg)	0.072	<0.072	<0.072	<0.072	<0.072	<0.072
Ytrio (mg/kg)	0.03	0.573	0.537	0.554	0.607	0.646
Zinc (mg/kg)	0.607	6.973	6.274	4.863	11.084	9.944

Identificación de Muestra		A1C3	A1C3.2	A2C1	A2C1.2	A2C2
	L.D.					
Cobre (mg/kg)	0.357	4.834	5.683	5.677	5.663	6.093
Aluminio (mg/kg)	2.701	1,149.153	1,172.113	1,225.237	1,337.836	1,381.348
Antimonio (mg/kg)	0.041	0.085	0.056	0.145	<0.041	<0.041
Arsénico (mg/kg)	0.897	1.708	1.822	1.602	1.853	2.393
Bario (mg/kg)	0.138	7.257	7.495	6.702	7.628	8.418
Berilio (mg/kg)	0.054	<0.054	<0.054	<0.054	<0.054	<0.054
Bismuto (mg/kg)	0.032	<0.032	<0.032	<0.032	<0.032	<0.032
Boro (mg/kg)	5.399	<5.399	<5.399	<5.399	<5.399	<5.399
Cadmio (mg/kg)	0.045	0.095	0.087	0.081	0.098	0.116
Calcio (mg/kg)	65.382	571.754	607.398	594.543	968.628	714.225

(*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA, para la matriz en mención.

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Interno : VE1700931

Página 4 de 8

Metales

		A1C3	A1C3.2	A2C1	A2C1.2	A2C2
Circonio (mg/kg)	0.046	0.097	0.173	0.146	0.176	0.123
Cobalto (mg/kg)	0.04	0.931	0.911	1.059	0.936	1.039
Cromo (mg/kg)	0.314	2.133	1.994	1.851	2.192	2.121
Escandio (mg/kg)	0.099	0.464	0.734	0.576	0.653	0.577
Estaño (mg/kg)	0.295	<0.295	<0.295	<0.295	<0.295	<0.295
Estroncio (mg/kg)	0.258	5.868	7.552	7.439	6.979	7.993
Fosforo (mg/kg)	4.759	100.481	88.814	93.749	103.865	126.345
Hierro (mg/kg)	9.201	2,384.952	2,499.449	2,365.555	2,324.374	2,344.129
Lantano (mg/kg)	0.032	0.619	0.618	0.617	0.652	0.703
Litio (mg/kg)	9	<9.0 *	<9.0 *	<9.0 *	<9.0 *	<9.0 *
Magnesio (mg/kg)	5.509	429.618	497.262	466.666	629.902	594.393
Manganeso (mg/kg)	0.202	30.924	34.155	33.694	40.910	41.634
Mercurio (mg/kg)	0.082	<0.082	<0.082	<0.082	<0.082	0.152
Molibdeno (mg/kg)	0.057	0.330	0.206	0.174	0.162	0.135
Niquel (mg/kg)	0.156	1.221	0.964	1.159	1.857	1.202
Plata (mg/kg)	0.084	<0.084	<0.084	<0.084	<0.084	<0.084
Plomo (mg/kg)	0.109	149.613	173.161	3.130	3.712	27.794
Potasio (mg/kg)	13.5	121.363	123.718	133.073	137.641	168.347
Selenio (mg/kg)	1.132	<1.132	<1.132	<1.132	<1.132	<1.132
Sodio (mg/kg)	7.579	59.976	56.646	64.092	62.299	75.047
Talio (mg/kg)	0.029	<0.029	<0.029	<0.029	<0.029	<0.029
Thorio (mg/kg)	0.035	0.526	1.722	1.170	0.687	0.471
Titanio (mg/kg)	0.079	50.335	53.037	54.844	56.587	57.291
Uranio (mg/kg)	0.032	0.094	0.112	0.170	0.106	0.104
Vanadio (mg/kg)	1.488	12.310	10.652	9.746	8.671	8.453
Wolframio (mg/kg)	0.072	<0.072	<0.072	<0.072	<0.072	<0.072

(*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA, para la matriz en mención.

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Interno : VE1700931

Página 5 de 8

Metales

		A1C3	A1C3.2	A2C1	A2C1.2	A2C2
Ytrio (mg/kg)	0.03	0.655	0.608	0.621	0.653	0.671
Zinc (mg/kg)	0.607	9.590	7.468	7.672	8.131	10.804

Identificación de Muestra		A2C2.2	A2C3	A2C3.2	A3C1	A3C1.2
L.D.						
Cobre (mg/kg)	0.357	6.684	6.022	5.104	4.806	5.084
Aluminio (mg/kg)	2.701	1,405.430	1,347.313	1,336.879	1,175.664	1,129.286
Antimonio (mg/kg)	0.041	0.052	<0.041	0.075	0.103	0.175
Arsénico (mg/kg)	0.897	2.143	2.258	1.640	1.508	1.747
Bario (mg/kg)	0.138	7.591	7.837	7.274	6.520	5.681
Berilio (mg/kg)	0.054	<0.054	<0.054	<0.054	<0.054	<0.054
Bismuto (mg/kg)	0.032	<0.032	<0.032	<0.032	<0.032	<0.032
Boro (mg/kg)	5.399	<5.399	<5.399	<5.399	<5.399	<5.399
Cadmio (mg/kg)	0.045	0.107	0.112	0.086	0.074	0.081
Calcio (mg/kg)	65.382	710.427	636.208	582.394	525.395	701.918
Circonio (mg/kg)	0.046	0.129	0.133	0.176	0.115	0.086
Cobalto (mg/kg)	0.04	1.054	1.015	1.094	0.856	0.908
Cromo (mg/kg)	0.314	2.081	1.756	2.011	2.018	2.541
Escandio (mg/kg)	0.099	0.577	0.526	0.828	0.510	0.395
Estaño (mg/kg)	0.295	<0.295	<0.295	<0.295	<0.295	<0.295
Estroncio (mg/kg)	0.258	8.824	7.400	7.482	6.476	6.667
Fosforo (mg/kg)	4.759	114.713	110.377	87.701	85.417	97.645
Hierro (mg/kg)	9.201	2,498.384	2,224.176	2,482.302	2,339.160	2,688.659
Lantano (mg/kg)	0.032	0.719	0.679	0.548	0.597	0.592
Litio (mg/kg)	9	<9.0 *	<9.0 *	<9.0 *	<9.0 *	<9.0 *
Magnesio (mg/kg)	5.509	596.508	624.222	636.297	494.532	486.065

(*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA, para la matriz en mención.

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Interno : VE1700931

Página 6 de 8

Metales

		A2C2.2	A2C3	A2C3.2	A3C1	A3C1.2
Manganeso (mg/kg)	0.202	39.244	40.836	41.732	31.490	30.183
Mercurio (mg/kg)	0.082	<0.082	<0.082	<0.082	<0.082	<0.082
Molibdeno (mg/kg)	0.057	0.144	0.116	0.154	0.150	0.143
Níquel (mg/kg)	0.156	1.410	1.320	1.507	1.248	1.195
Plata (mg/kg)	0.084	<0.084	<0.084	<0.084	<0.084	0.132
Plomo (mg/kg)	0.189	27.019	245.655	182.861	4.256	3.519
Potasio (mg/kg)	13.5	148.110	156.945	149.216	108.516	134.527
Selenio (mg/kg)	1.132	<1.132	<1.132	<1.132	<1.132	<1.132
Sodio (mg/kg)	7.579	81.987	65.182	62.112	48.937	56.382
Talio (mg/kg)	0.029	<0.029	<0.029	<0.029	<0.029	<0.029
Thorio (mg/kg)	0.035	0.735	0.592	1.430	0.585	0.291
Titanio (mg/kg)	0.079	66.512	47.172	56.024	53.560	57.173
Uranio (mg/kg)	0.032	0.129	0.120	0.071	0.076	0.079
Vanadio (mg/kg)	1.488	10.092	8.551	9.113	9.856	12.343
Wolframio (mg/kg)	0.072	<0.072	<0.072	<0.072	<0.072	<0.072
Ytrio (mg/kg)	0.03	0.668	0.662	0.614	0.573	0.584
Zinc (mg/kg)	0.607	10.480	11.783	7.898	7.037	8.237

Identificación de Muestra	L.D.	A3C2	A3C2.2	A3C3	A3C3.2
Cobre (mg/kg)	0.357	5.622	5.241	5.844	4.837
Aluminio (mg/kg)	2.701	1,055.674	1,278.787	1,300.401	1,026.766
Antimonio (mg/kg)	0.041	<0.041	0.081	0.193	0.204
Arsénico (mg/kg)	0.897	1.832	2.149	2.424	1.507
Bario (mg/kg)	0.138	6.701	6.887	6.833	6.002
Berilio (mg/kg)	0.054	<0.054	<0.054	<0.054	<0.054

(*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA, para la matriz en mención.

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Interno : VE1700931

Metales

		A3C2	A3C2.2	A3C3	A3C3.2
Bismuto (mg/kg)	0.032	<0.032	<0.032	<0.032	<0.032
Boro (mg/kg)	5.399	<5.399	<5.399	<5.399	<5.399
Cadmio (mg/kg)	0.045	0.116	0.096	0.110	0.083
Calcio (mg/kg)	65.382	573.588	510.156	757.314	489.484
Circonio (mg/kg)	0.046	0.131	0.097	0.093	0.130
Cobalto (mg/kg)	0.04	0.859	0.910	0.958	0.836
Cromo (mg/kg)	0.314	1.373	2.244	2.297	2.215
Escandio (mg/kg)	0.099	0.433	0.400	0.516	0.620
Estaño (mg/kg)	0.295	<0.295	<0.295	<0.295	<0.295
Estroncio (mg/kg)	0.258	6.766	6.524	9.196	5.917
Fosforo (mg/kg)	4.759	99.576	80.653	190.445	83.617
Hierro (mg/kg)	9.201	1,774.887	2,488.115	2,699.144	2,563.673
Lantano (mg/kg)	0.032	0.634	0.680	0.631	0.608
Litio (mg/kg)	9	<9.0 *	<9.0 *	<9.0 *	<9.0 *
Magnesio (mg/kg)	5.509	455.024	533.952	582.913	424.771
Manganeso (mg/kg)	0.202	35.136	34.215	37.560	28.273
Mercurio (mg/kg)	0.082	<0.082	<0.082	<0.082	<0.082
Molibdeno (mg/kg)	0.057	0.108	0.185	0.142	0.227
Níquel (mg/kg)	0.156	1.167	1.490	1.254	1.407
Plata (mg/kg)	0.084	0.274	<0.084	0.276	0.225
Plomo (mg/kg)	0.109	20.582	20.397	144.267	136.508
Potasio (mg/kg)	13.5	121.345	101.648	142.990	105.036
Selenio (mg/kg)	1.132	<1.132	<1.132	<1.132	<1.132
Sodio (mg/kg)	7.579	45.882	63.823	92.100	48.604
Talio (mg/kg)	0.029	<0.029	<0.029	<0.029	<0.029
Thorio (mg/kg)	0.035	1.286	0.348	0.403	1.382

(*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA, para la matriz en mención.

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL
ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002**



Registro N°LE - 002

Interno : VE1700931

Página 8 de 8

Metales

		A3C2	A3C2.2	A3C3	A3C3.2
Titania (mg/kg)	0.079	41.487	43.468	61.275	53.356
Uranio (mg/kg)	0.032	0.196	0.075	0.089	0.096
Vanadio (mg/kg)	1.488	7.113	10.185	10.582	12.152
Wolframio (mg/kg)	0.072	<0.072	<0.072	<0.072	<0.072
Ytrio (mg/kg)	0.03	0.634	0.593	0.612	0.617
Zinc (mg/kg)	0.607	9.150	9.338	11.808	7.289

APENDICE C

Matriz de consistencia

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS GENERAL	VARIABLE DEPENDIENTE	DIMENSIONES	INDICADOR	METODO
¿Cuál es la capacidad que tiene la <i>Pseudomona Aeruginosa</i> para la biosorción de plomo en muestras de suelo contaminado por minerales?	Determinar la capacidad que tiene la <i>Pseudomona Aeruginosa</i> para la biosorción de plomo en muestras de suelo contaminado por minerales.	La <i>Pseudomona Aeruginosa</i> posee la capacidad de remediar más del 80 % del Pb+2 del suelo contaminado	Y	<ul style="list-style-type: none"> - Concentración de Pb+2 - Concentración de Bacteria. - Tiempo. 	<ul style="list-style-type: none"> - g de plomo/Nº de colonias* días. 	<ul style="list-style-type: none"> • Cálculos • Ensayos de laboratorio.
SUB PROBLEMAS	OBJETIVOS ESPECIFICOS	HIPOTESIS ESPECIFICAS	VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSIONES	INDICADOR	METODO
¿Cuál es la cantidad óptima de <i>Pseudomona Aeruginosa</i> para la máxima biosorción de plomo en suelos?	Determinar la cantidad óptima de <i>Pseudomona Aeruginosa</i> para la máxima biosorción de plomo en suelos.	En el suelo contaminado a mayor N° de colonias incubadas de <i>Pseudomona Aeruginosa</i> mayor concentración de Pb+2 biosorbido.	X ₁	<ul style="list-style-type: none"> - Cantidad de bacterias - Volumen de solución 	<ul style="list-style-type: none"> - Unidades formadoras de colonias - ml de solución 	<ul style="list-style-type: none"> - Medición directa.
¿Cuál es la ecuación de equilibrio en la isoterma de sorción según el comportamiento de los resultados obtenidos?	Determinar la ecuación de equilibrio en la isoterma de sorción según el comportamiento de los resultados obtenidos	El comportamiento cinético para la biosorción de Pb+2 por la <i>Pseudomona Aeruginosa</i> está representada mediante la isoterma de Freundlich.	X ₂	<ul style="list-style-type: none"> - Concentración de Pb+2 - Masa de suelo 	<ul style="list-style-type: none"> - mg / Kg - gramos 	<ul style="list-style-type: none"> - Cálculos - Medición directa

Relación de variables

X1= Concentración de colonias de *Pseudomona Aeruginosa*.

(N°colonias/ml)

X2= Concentración de Pb+2 en el suelo (mg / Kg).

X3= Días de incubación (N° días).

$$Y=f(X_1, X_2, X_3)$$

Y1 = Biosorción de plomo por la bacteria *Pseudomona Aeruginosa*
en muestras de suelo. (g de plomo / N°colonias)

Y2 = Número de colonias residuales en las muestras de suelo.