UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE LOS ANDES

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y RECURSOS NATURALES

Tesis

Biorremediación de aguas residuales contaminadas con metales totales haciendo uso del cultivo bacteriano de *Pseudomonas sp.* en el taller de trenes Perú Rail ubicado en Cusco - Perú

Asesor:

Mg. Blg. Sota Cano, Angela Fiorella

Autores:

Mendoza Ccahuana, Beatriz

Surco Quispe, Wilfredo

Para optar el Título Profesional de:

Ingeniero(a) Ambiental

Cusco - Cusco - Perú

2025

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE LOS ANDES

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y RECURSOS NATURALES

" Año de la Recuperación y Consolidación de la Economía Peruana"

Acta N°: 011

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TÍTULO PROFESIONAL

En la ciudad de Cusco, a los 19 días del mes de noviembre del año 2025, siendo las 09:00 horas, se reunieron los integrantes del Jurado designado por Resolución Sub Directoral N° 162-2025-UTEA-FI-EPIARN-SD de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental y Recursos Naturales, Facultad de Ingeniería

Presidente	:	Mg. Pozo Gonzales José Salustio
Dictaminante	:	Mg. Arrieta Concha Cynthia Cecilia
Replicante	:	Mg. Cahuantico Salas Rosa Hermelinda

Para evaluar la sustentación, en la modalidad de:

☒ Tesis ☐ Trabajo de suficiencia profesional

Titulada:

Biorremediación de aguas residuales contaminadas con metales totales haciendo uso del cultivo bacteriano *de Pseudomonas sp.* en el taller de trenes Perú Rail ubicado en Cusco - Perú

Desarrollado por el (los) Bachiller (es):

Bach: Mendoza Ccahuana, Beatriz
Bach. Surco Quispe, Wilfredo

Para optar el Título Profesional de:

Ingeniero (a) Ambiental

Concluido el acto de Sustentación, el Jurado dictaminó que el (la) (los) mencionado(a) (s) bachiller (es) fue (ron) APROBADO (S):

Por: Mayoría

Emitiéndose el calificativo final de:

Bachiller (Apellidos y Nombres)	Calificación (**)
Bach: Mendoza Ccahuana, Beatriz	Aprobado
Bach. Surco Quispe, Wilfredo	Aprobado

Siendo las 10:50 am horas concluyó el Acto Académico, firmando los integrantes del Jurado.

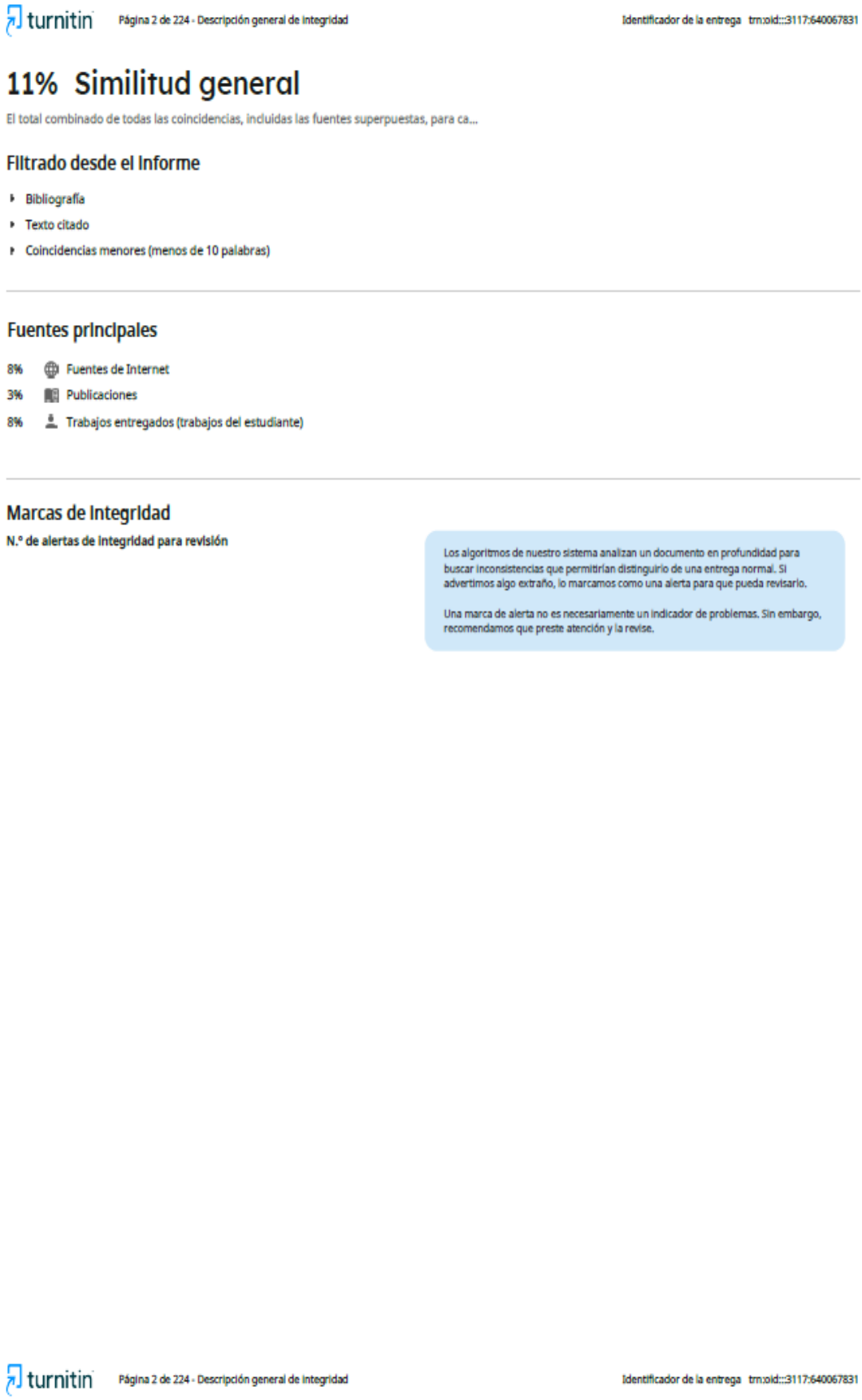
Presidente: Mg. Pozo Gonzales José Salustio

Dictaminante: Mg. Arrieta Concha Cynthia Cecilia

Replicante: Mg. Cahuantico Salas Rosa Hermelinda

(*): **Mayoría:** Dos integrantes del jurado aprueban o desaprueban; **Unanimidad:** Todos los integrantes del jurado aprueban o desaprueban, Art.18 RGGAT.
(**): 0 a 10: Desaprobado, 11 a 15: Aprobado, 16 a 18: Aprobado Notable, 19 y 20: Aprobado con Distinción, Art. 18 RGGAT.

Reporte de similitud



Metadatos

Datos del Autor		
Apellidos y nombres	:	Mendoza Ccahuana, Beatriz
Tipo de Documento de Identificación	:	Documento de Identidad Nacional
Número de Documentación de Identidad	:	74233953
URL ORCID	:	
Datos del Autor		
Apellidos y nombres	:	Surco Quispe, Wilfredo
Tipo de Documento de Identificación	:	Documento de Identidad Nacional
Número de Documentación de Identidad	:	47687149
URL ORCID	:	
Datos del Asesor		
Apellidos y nombres	:	Mg. Blg. Sota Cano, Angela Fiorella
Tipo de Documento de Identificación	:	Documento de Identidad Nacional
Número de Documentación de Identidad	:	44538035
URL ORCID	:	https://orcid.org/0000-0003-2757-7259
Datos de la investigación		
Facultad	:	Ingeniería
Escuela Profesional	:	Ingeniería Ambiental y Recursos Naturales
Línea de Investigación	:	Calidad Ambiental
Rango de años en que se realizó la investigación	:	Septiembre 2023 - septiembre 2024
Fuente de financiamiento	:	Universidad Tecnológica de los Andes
Porcentaje de Similitud	:	11%
URL de OCDE	:	https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#2.07.01

Dedicatoria

Dedico a Dios por este maravilloso viaje hacia la finalización de nuestra disertación, me gustaría expresar mi profunda gratitud y confianza porque es quien nos ha dado la fuerza y la determinación necesaria para lograr este objetivo tan importante.

Dedico a mis queridos padres, Mamá y Papá, y les agradezco desde el fondo de mi corazón por su amor incondicional y por ser una fuente constante de inspiración y animarme con sus palabras de aliento cuando dudo de mis habilidades.

Dedico este trabajo de investigación a mis hermanos y hermanas por su inquebrantable apoyo moral durante las largas noches de investigación y cuya presencia es mi mayor fortaleza.

Agradezco a quienes, a pesar de su escepticismo, me impulsaron a esforzarme más y me mostraron que con determinación y perseverancia todo es posible. Gracias por su apoyo constante y por motivarme cuando las probabilidades eran desalentadoras. Este logro demuestra cómo el trabajo conjunto y el apoyo mutuo pueden llevarnos a alcanzar grandes objetivos. ¡Gracias a todos por ser parte de este viaje académico!

Agradecimientos

En primer lugar, expreso mi profunda gratitud a Dios por guiarnos y sostenernos en cada paso del camino. Agradecemos de corazón a nuestros padres y hermanos(as), quienes han sido nuestro pilar fundamental, brindándonos aliento y apoyo incondicional en la consecución de nuestros sueños.

En segundo lugar, extendemos nuestros sinceros agradecimientos a la Dra. Carolina Soto Carrión, directora de la unidad de investigación de la Universidad Tecnológica de los Andes, por su generosidad y asistencia técnica durante nuestra investigación, lo cual ha sido clave para su exitosa culminación.

En tercer lugar, nuestro agradecimiento a nuestra asesora, Mag. Angela Fiorella Sota Cano, por su dedicación, paciencia y precisas correcciones, sin las cuales no habríamos alcanzado el nivel deseado. Sus orientaciones y consejos serán recordados en nuestro futuro profesional con gratitud.

De igual manera agradecemos la invaluable contribución de los profesores que han sido parte de nuestra vida profesional universitaria, quienes nos impartieron los conocimientos necesarios para llegar hasta aquí.

Por último, nuestro reconocimiento a todos los directivos de la UTEA por su labor y gestión, ya que, sin ellos, no existirían las bases ni los requisitos previos para adquirir conocimientos. ¡Gracias a todos por formar parte de este maravilloso viaje académico!

Resumen

El presente trabajo de investigación sobre la Biorremediación de aguas residuales contaminadas con metales totales haciendo uso del cultivo bacteriano de *Pseudomonas sp.* en el taller de trenes Perú Rail ubicado en Cusco – Perú, tuvo como objetivo determinar el grado de concentración de los elementos contaminantes como el cromo, cadmio, arsénico entre otros metales antes y después del tratamiento con *Pseudomonas sp* en aguas residuales, Para ello, se aplicó un enfoque cuantitativo basado en análisis fisicoquímicos, incluyendo la recolección de muestras, preparación del cultivo bacteriano y evaluación de la efectividad del tratamiento. Los resultados demostraron una disminución significativa en las concentraciones de cromo, alcanzando reducciones del 13.33 % y 56.67 % con dosis bacterianas del 40 % y 80 %, respectivamente. Además, *Pseudomonas sp.* logró reducir otros metales totales en el agua contaminada, con disminuciones de antimonio (90 %), azufre (74.73 %), bario (78.54 %), cobre (63.64 %), estroncio (77.50 %), hierro (72.03 %), litio (71.43 %), manganeso (85.75 %), molibdeno (81.67 %), plomo (73.15 %) y zinc (70.44 %). Estos hallazgos resaltan la eficacia de la biorremediación con *Pseudomonas sp.*, evidenciando su potencial como una alternativa viable y sostenible para el tratamiento de aguas residuales industriales. Su aplicación no solo permite la reducción de metales totales y otros contaminantes, sino que también contribuye a la protección de los ecosistemas acuáticos y la salud pública, reafirmando la importancia de estrategias biotecnológicas en la mitigación de la contaminación ambiental.

Palabras claves: *Biorremediación, metales totales, Pseudomonas sp. Aguas residuales*

Abstract

The present research work on "Bioremediation of waste water contaminated with heavy metals from the train workshop Perú Rail located in Cusco - Peru using bacterial culture of *Pseudomonas sp.*" aimed to determine the degree of concentration of contaminating compounds such as chromium, cadmium and arsenic before and after treatment with *Pseudomonas sp* in waste water, For this, a quantitative approach based on pHysico-chemical analysis was applied, including sample collection, preparation of the bacterial culture and evaluation of treatment effectiveness. The results showed a significant decrease in chromium concentrations, reaching reductions of 13.33% and 56.67% with bacterial doses of 40% and 80%, respectively. In addition, *Pseudomonas sp*. reduced other total metals in contaminated water, with decreases in antimony (90%), sulpHur (74.73%), barium (78.54%), copper (63.64%), strontium (77.50%), iron (72.03%), lithium (71.43%), manganese (85.75%), molybdenum (81.67%), lead (73.15%) and zinc (70.44%). These findings highlight the effectiveness of bioremediation with *Pseudomonas sp.* , demonstrating its potential as a viable and sustainable alternative for industrial waste water treatment. Its application not only allows the reduction of heavy metals and other pollutants, but also contributes to the protection of aquatic ecosystems and public health, reaffirming the importance of biotechnological strategies in the mitigation of environmental pollution.

Keywords: *Bioremediation, total metals, Pseudomonas sp. Sewage*

Índice

Portada i
Acta de sustentación ii
Reporte de similitud iii
Metadatos iv
Dedicatoria v
Agradecimientos vi
Resumen vii
Abstract viii
Indice viii
Índice de tablas xi
Índice de fíguras xii
Índice de anexos xiii
Acrónimos xiv
I. Introducción 15
II. Planteamiento del problema 18
2.1. Descripción y formulación del problema 18
2.2. Objetivos 22
2.2.1. Objetivo General 22
2.2.2. Objetivos Específicos 22
2.3. Justificaciones e importancia 23
2.4. Hipótesis 26
2.5. Variables 27
III. Marco Teórico 28
3.1. Antecedentes 28
3.2. Bases teóricas 34
3.3 Definición de términos 47
IV. Metodología 50
4.1. Tipo y nivel de investigación 50
4.2. Ámbito temporal y espacial 50
4.3. Población y muestra 51
4.4. Instrumentos 56
4.5. Procedimientos 58
4.6 Análisis de datos 76
4.7. Consideraciones éticas 84

V. Resultados y discusión 86
VI. Conclusiones 116
VII. Recomendaciones 119
VIII. Referencias 121
IX. Anexos 134

Índice de tablas

Tabla 1. Clasificación de la familia Pseudomonadacae (Mala Cortez & Quingatuña Andy, 2024) 44
Tabla 2 . Ubicación geográfica de la estación de trenes San pedro (Cusco) 51
Tabla 3. Instrumentos para el proceso de biorremediación y envió de muestras 56
Tabla 4. Materiales para salida de campo 61
Tabla 5 . Materiales para laboratorio 64
Tabla 6 . Materiales para trabajo en laboratorio de biorremediación 74
Tabla 7. Estadísticos de prueba de la conductividad eléctrica 78
Tabla 8. Estadísticos de prueba de la turbidez 79
Tabla 9. Estadísticos de prueba de la alcalinidad 80
Tabla 10. Estadísticos de prueba de los sulfatos 81
Tabla 11. Estadísticos de prueba de los 12 metales 82
Tabla 12. Estadísticos de prueba del cromo total 83
Tabla 13 Resultados de línea base 87
Tabla 14 Resultados de línea base y post biorremediación con *Pseudomonas sp* 89
Tabla 15 Resultados de línea base y post biorremediación con *Pseudomonas sp* de otros metales 93
Tabla 16 Resultados respecto al color antes y después de la biorremediación 99
Tabla 17 Resultados respecto al turbidez antes y después de la biorremediación 100
Tabla 18. Resultados respecto a la conductividad eléctrica antes y después de la biorremediación 101
Tabla 19 Resultados respecto al potencial de hidrogeniones antes y después de la biorremediación 102
Tabla 20 Resultados respecto a la alcalinidad antes y después de la biorremediación ... 103
Tabla 21 Resultados respecto a los sulfatos antes y después de la biorremediación 104

Índice de fíguras

Figura 1. Mecanismos de remediación en bacterias (Trujillo Peralta et al., 2023). 43

Figura 2. Ubicación geográfica de la estación de trenes San pedro (Cusco) 51

Figura 3. Poza de sedimentación del taller de trenes Perú Rail..... 52

Figura 4. Punto de vertimiento final del efluente hacia el sistema de alcantarillado. 53

Figura 5. Toma de muestra puntual en el punto de vertimiento de efluentes no domésticos 54

Figura 6. Punto de muestreo para la toma de muestras de efluentes..... 55

Figura 7. Ubicación geográfica del punto de toma de muestras..... 59

Figura 8. Punto de toma de muestras de agua en el punto bajo supervisión 62

Figura 9. Punto de toma de muestras de agua en el punto bajo supervisión 62

Figura 10. Primera etapa – Acondicionamiento de la muestra línea base para el envió a AGQ Labs- Laboratorio de Lima 65

Figura 11. Segunda etapa – Preparación de medios de cultivo 66

Figura 12. Preparación de medios de cultivo 02 67

Figura 13. Búsqueda de la bacteria *Pseudomonas Sp.* 68

Figura 14. Proliferación de la Bacteria *Pseudomonas sp* 69

Figura 15.. Determinación de la concentración de *Pseudomonas sp* con el agua contaminada al 40% y 80% en la campana bacteriológica..... 70

Figura 16. Equipo Vitex Densichek 71

Figura 17. Estándar Mc Farland 0.5 71

Figura 18. Proceso de las mesclas de agua contaminada con dosis de *Pseudomonas sp*.. 72

Figura 19. Acondicionamiento y envió de las seis muestras al laboratorio AGQ Labs de Lima..... 73

Figura 20. Reducción de contaminantes (Cr, Cd y As) al 40 % con dosis de *Pseudomonas sp*..... 90

Figura 21. Reducción de contaminantes (Cr, Cd y As) al 80 % con dosis de *Pseudomonas sp*..... 91

Figura 22. Reducción de contaminantes (otros metales) al 40 % con dosis de *Pseudomonas sp* 96

Figura 23. Resultados con la mejor reducción de contaminantes (otros metales) al 80 % con dosis de *Pseudomonas sp*..... 98

Índice de anexos

Anexo 1. Matriz de consistencia 135
Anexo 2. Operacionalización de las variables..... 140
Anexo 3. Presupuestos y financiamiento 143
Anexo 4. Financiamiento 144
Anexo 5. Resolución N° 010-2016-ANA 145
Anexo 6. Instrumento de recolección de información 146
Anexo 7. Cadenas de custodia..... 150
Anexo 8. Base de datos 153
Anexo 9. Juicio de expertos (Opcional) 196
Anexo 10. Evidencias..... 199
Anexo 11. Fotografías de equipos utilizados 206
Anexo 12. Consentimiento y Asentamiento Informado..... 210
Anexo 13. Autorización para toma de muestra. 211
Anexo 14. Galería fotográfica 212

Acrónimos

CE en µS/cm: Conductividad eléctrica en microsiemens por centímetro.

CE en mS/cm: Conductividad eléctrica en milisiemens por centímetro.

CU: Unidades de color.

LC: Limite de cuantificación.

NTU: Unidades Nefelométricas de Turbidez.

TSA: Agar de Soja Trypticase.

OMS: Organización mundial de la salud.

HNO_3: Ácido nítrico.

H_0: Hipótesis Nula.

H_1: Hipótesis Alterna.

INACAL: Instituto nacional de calidad.

Cr: Cromo.

Cd: Cadmio.

As: Arsénico.

PH: Potencial de hidrogeniones.

CaCO3: Carbonato de calcio.

°C: Grado Celsius.

MICP: Precipitación inducida por microorganismos.

RFBR: Reactor de lecho fluidizado recirculante.

HRT: Tiempo de retención hidráulica.

mg/L: Miligramos por litro.

EPP: Equipo de protección personal.

EPA: Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos.

GC: Cromatografía de Gases.

MS-MS: Espectrometría de Masas en Tándem.

GC/MS: Cromatografía de Gases integrada a Espectrometría de Masas.

SMEWW: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.

UV: Ultra-Violeta.

Vis: Visible.

SPSS: Paquete Estadístico para las Ciencias Sociales.

I. Introducción

La contaminación de los recursos hídricos por metales totales representa uno de los desafíos ambientales más apremiantes a nivel global; esta problemática se origina principalmente a partir de actividades industriales, mineras y agrícolas, así como del vertido incontrolado de residuos urbanos (Abioye, 2011). En el contexto peruano, esta amenaza se manifiesta con severidad, evidenciando la necesidad crítica de soluciones eficaces; un claro ejemplo de ello es la contaminación de los humedales de Paca y Tragadero, donde se han detectado concentraciones de arsénico (As) y plomo (Pb) que superan los estándares nacionales, poniendo en riesgo la vida acuática y la salud humana (Custodio et al., 2021). Esta situación subraya la urgencia de desarrollar y aplicar tecnologías de remediación que sean tanto efectivas como sostenibles.

En respuesta a esta problemática, el presente trabajo de investigación se centra en la Biorremediación de aguas residuales contaminadas con metales totales haciendo uso del cultivo bacteriano de *Pseudomonas sp*. en el taller de trenes Perú Rail ubicado en Cusco - Perú. Específicamente, se aborda la aplicación de una biotecnología ambiental que utiliza microorganismos para la desintoxicación de efluentes industriales, como los generados en el mantenimiento de maquinaria ferroviaria.

Esta investigación se justifica por la alta toxicidad y el impacto nocivo de metales como el cadmio (Cd), el plomo (Pb), el cromo (Cr) y el arsénico (As); estos elementos no son biodegradables y presentan una notable capacidad de bioacumulación y biomagnificación a través de las cadenas tróficas (Nnaji et al., 2023). La exposición a estos contaminantes, incluso en bajas concentraciones, puede provocar en humanos afecciones

degenerativas y crónicas, incluyendo daño neurológico, renal y problemas cardiovasculares (Zaynab et al., 2022). Adicionalmente, los métodos convencionales de remediación física y química suelen ser costosos, energéticamente intensivos y, en ocasiones, generan subproductos secundarios perjudiciales; por consiguiente, la biorremediación emerge como una alternativa viable, sostenible y de menor costo que aprovecha la capacidad metabólica de los microorganismos para transformar contaminantes en elementos menos dañinos (Ince & Ince, 2019).

El trabajo está planteado como un estudio experimental aplicado, partiendo de la hipótesis de que el cultivo bacteriano de *Pseudomonas sp*. es eficaz para reducir significativamente la concentración de metales totales en los efluentes del taller de Perú Rail. Para ello, se emplea un método experimental que consiste en la caracterización inicial del agua residual; la aplicación del tratamiento biológico con *Pseudomonas sp.;* y la medición posterior de las concentraciones para determinar el porcentaje de remoción. La elección de este género bacteriano se fundamenta en su ampliamente documentada capacidad para tolerar y detoxificar metales a través de mecanismos enzimáticos, bioacumulación y precipitación (Yanuar et al., 2024; Shafiq & Rehman, 2024), así como en la evidencia de estudios previos que demuestran su eficacia en la remoción de metales de aguas residuales industriales (An et al., 2020).

No obstante, es importante reconocer las limitaciones del presente estudio. Primero, se realiza a escala de laboratorio; por lo tanto, los resultados, aunque prometedores, podrían requerir ajustes para su implementación a escala piloto o industrial. Segundo, la eficacia del proceso puede estar influenciada por factores ambientales específicos del efluente (pH, temperatura, presencia de otros elementos) que no se replican en su totalidad en un ambiente controlado. Finalmente, el estudio se circunscribe a un tipo específico de agua residual y a

una cepa bacteriana particular; en consecuencia, la generalización de los resultados a otros contextos industriales debe realizarse con cautela.

Para facilitar la comprensión del estudio, el presente informe se estructura de la siguiente manera: el Ítem I comprende esta Introducción; el Ítem II desarrolla el Marco Teórico, profundizando en los fundamentos de la contaminación por metales y la biorremediación; el Ítem III detalla los Materiales y Métodos utilizados; el Ítem IV presenta los Resultados obtenidos; el Ítem V contiene la Discusión de dichos resultados; y, finalmente, el Ítem VI ofrece las Conclusiones y Recomendaciones del trabajo.

II. Planteamiento del problema

2.1. Descripción y formulación del problema

A nivel internacional, la contaminación de los cuerpos de agua por metales totales se ha convertido en uno de los desafíos ambientales más críticos del siglo XXI. A diferencia de otros contaminantes, los metales totales no son biodegradables y tienden a acumularse en los ecosistemas, representando una amenaza persistente para la vida acuática y la salud humana. Las principales Notas de esta contaminación son los efluentes industriales, las actividades mineras, la escorrentía agrícola y los vertidos urbanos, que introducen elementos metálicos tóxicos en las cadenas tróficas (Zahoor & Mushtaq, 2023). Esta situación global exige el desarrollo de tecnologías de tratamiento eficientes y sostenibles para mitigar el impacto de estos contaminantes no deseables.

En el contexto nacional, Perú, siendo un país con una fuerte base minera e industrial, enfrenta una grave problemática de contaminación por metales. La liberación no controlada de efluentes industriales ha resultado en la severa degradación de diversos ecosistemas, como se evidencia en estudios realizados en Cerro de Pasco, donde la población infantil presenta niveles alarmantes de metales en su organismo, y en los humedales de Paca y Tragadero, donde las concentraciones de arsénico (As) y plomo (Pb) superan los estándares nacionales de calidad ambiental (Piñeiro et al., 2021; Custodio et al., 2021). Asimismo, desastres como el derrame de petróleo en Ventanilla (2022) han demostrado la vulnerabilidad de los ecosistemas marinos y la complejidad de tratar contaminantes mixtos que incluyen metales e hidrocarburos (Vasquez-Velásquez et al., 2022). Estos eventos subrayan la urgencia de implementar sistemas de tratamiento de aguas residuales robustos y adaptados a la realidad industrial del país.

Esta problemática nacional se manifiesta a nivel local en operaciones industriales específicas, como el taller de trenes de Perú Rail en Cusco. Las actividades de mantenimiento, reparación y limpieza de maquinaria ferroviaria generan efluentes líquidos que potencialmente contienen una mezcla compleja de metales pesados —procedentes de desengrasantes, fluidos de corte, residuos de soldadura y desgaste de componentes metálicos—. Si bien la contaminación de los ríos cusqueños como el Saphy y Cachimayu es comúnmente asociada a residuos domésticos (Gil-Mora & Flores-Boza, 2022), las descargas industriales puntuales representan una Nota de contaminación concentrada y de alta toxicidad que no está siendo adecuadamente tratada, constituyendo un riesgo latente para los recursos hídricos locales.

Pronóstico: Consecuencias del problema

De no abordarse esta situación, las consecuencias técnicas y ambientales son significativas. La descarga continua de efluentes con metales totales del taller de Perú Rail a los sistemas de drenaje pluvial o alcantarillado, sin un tratamiento previo, provocaría la contaminación de los cuerpos de agua receptores. Esto llevaría a una bioacumulación progresiva de metales en la flora y fauna acuática, alterando los ecosistemas, reduciendo la biodiversidad y comprometiendo la calidad del recurso hídrico para usos agrícolas, recreativos y, eventualmente, para el consumo humano. Desde una perspectiva regulatoria y operativa, la empresa se expondría a sanciones administrativas por incumplimiento de los Límites Máximos Permisibles (LMP) y los Estándares de Calidad Ambiental (ECA), además de enfrentar un daño reputacional y costos asociados a la remediación de pasivos ambientales.

Control del pronóstico: Acciones para superar las consecuencias

Para controlar este pronóstico adverso, es imperativo implementar sistemas de tratamiento de aguas residuales industriales que sean efectivos en la remoción de metales. Los métodos convencionales, como la precipitación química o la ósmosis inversa, aunque eficaces, a menudo presentan desventajas significativas: altos costos operativos, generación de lodos tóxicos (que se convierten en un problema de disposición secundaria) y una baja sostenibilidad a largo plazo. Frente a este panorama, la biorremediación emerge como una alternativa tecnológica prometedora. Esta técnica aprovecha la capacidad metabólica de ciertos microorganismos para transformar, inmovilizar o acumular contaminantes, ofreciendo una solución más económica, sostenible y ambientalmente amigable (Paliz et al., 2021). Dentro de este campo, bacterias del género *Pseudomonas sp*. se destacan por su versatilidad metabólica y su probada capacidad para tolerar y detoxificar una amplia gama de metales pesados a través de mecanismos como la biosorción, bioacumulación y bioprecipitación (Valladares Robles, 2016; Beltrán-Pineda & Gómez-Rodríguez, 2016).

Aporte de la investigación al control del problema

Si bien el potencial de *Pseudomonas sp.* es ampliamente reconocido en la literatura, existe una brecha de conocimiento sobre su eficacia aplicada a efluentes industriales específicos en el contexto peruano. La presente investigación aporta directamente a la solución del problema al evaluar, de manera experimental y cuantitativa, la capacidad de una cepa de *Pseudomonas sp.* para reducir la concentración de metales totales en las aguas residuales reales generadas en el taller de Perú Rail. Los resultados de este estudio proporcionarán datos técnicos fundamentales sobre los porcentajes de remoción alcanzables, permitiendo determinar la viabilidad de diseñar y escalar un sistema de biorremediación a nivel piloto o industrial. De esta manera, la investigación no solo busca validar una solución biotecnológica, sino también ofrecer a la empresa una alternativa concreta y sostenible para

cumplir con la normativa ambiental, minimizar su impacto ecológico y transformar un pasivo ambiental en un ejemplo de gestión industrial responsable.

Formulación de problemas.

A nivel global la contaminación es un grave problema causado por la adición de químicos, microorganismos tóxicos, y desechos industriales y domésticos. Esta situación afecta la salud humana, especialmente en niños, y el ecosistema acuático, con mayores tasas de mortalidad en países de bajos ingresos, como señala (Ochoa Ramos, 2021). En seda cusco se realizó una evaluación de los parámetros de agua basándose al Decreto Supremo N.º 010-2019-VIVIENDA, donde se evidencia una problemática ambiental en el sistema de alcantarillado que fluye a la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) San Jerónimo donde los resultado de los análisis de metales como el cromo total 0.004 mg/L, cadmio 0.0013 mg/L, arsénico 0.002 mg/L, plomo 0.0035 mg/L entre otros metales que se midieron estuvieron dentro de los valores normales pero se detectó una elevada concentración de Demanda Química de Oxígeno (DQO) en el afluente. Adicionalmente a ello (Ochoa Ramos, 2021) señala que se realizaron otros estudios por Narváez y Sánchez (2018) en los efluentes (pollerías) mostraron que los valores de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) y DQO superaban entre seis y siete veces los límites máximos permisibles según la normativa vigente. No obstante, al examinar estos mismos parámetros en los afluentes de la PTAR, los resultados se encontraron dentro de los límites aceptables. Esta discrepancia sugiere un proceso de dilución de los contaminantes en el sistema de alcantarillado, lo que enmascara las concentraciones reales de las descargas industriales antes de su ingreso a la planta de tratamiento.

2.1.1. Problema General.

¿Cuáles son las concentraciones de los elementos contaminantes como el cromo, cadmio, arsénico y otros metales antes y después del tratamiento con *Pseudomonas sp* en

aguas residuales contaminadas con metales totales provenientes del taller de trenes Perú Rail?

2.1.2. Problemas Específicos

- ¿Cuál es el grado de disminución de los elementos contaminantes como el cromo, cadmio, arsénico y otros metales después del tratamiento con *Pseudomonas sp* en aguas residuales contaminadas con metales totales provenientes del taller de trenes Perú Rail?
- ¿Cuál es la concentración de *Pseudomonas sp* que genera un mejor resultado en la disminución de elementos químicos en aguas residuales contaminadas con metales totales provenientes del taller de trenes Perú Rail?

2.2. Objetivos

2.2.1. Objetivo General

- Determinar el grado de concentración de los elementos contaminantes como el cromo, cadmio, arsénico y otros metales antes y después del tratamiento con *Pseudomonas sp* en aguas residuales contaminadas con metales totales provenientes del taller de trenes Perú Rail

2.2.2. Objetivos Específicos

- Identificar el grado de disminución de los elementos contaminantes como el cromo, cadmio, arsénico y otros metales después del tratamiento con *Pseudomonas sp* en aguas residuales contaminadas con metales totales provenientes del taller de trenes Perú Rail.
- Determinar la concentración de *Pseudomonas sp* que genera un mejor resultado en la disminución de elementos químicos en aguas residuales contaminadas con metales totales provenientes del taller de trenes Perú Rail.

2.3. Justificaciones e importancia

La presente investigación se justifica desde múltiples dimensiones, ya que aborda una problemática real con implicaciones directas en el conocimiento técnico, la aplicación práctica, el bienestar social y la conservación del entorno. A continuación, se detalla su relevancia en cada ámbito.

2.3.1. Justificación Teórica

La elección del tema se fundamenta en la brecha existente entre el amplio conocimiento teórico sobre la capacidad de *Pseudomonas sp*. para la biorremediación de metales y la escasez de estudios experimentales que validen su eficacia en efluentes industriales específicos del contexto peruano, particularmente en operaciones de alta altitud como las de Cusco.

Este trabajo generará un conocimiento empírico y cuantitativo al determinar los porcentajes de remoción de metales en un agua residual real y compleja. No se descubre la bacteria, sino que se produce evidencia científica sobre su desempeño en condiciones operativas concretas, aportando un caso de estudio relevante para la literatura científica nacional.

Se emplea un modelo de investigación experimental, aplicado a una muestra real. Este modelo permite establecer relaciones causa-efecto (aplicación de *Pseudomonas sp.* vs. reducción de metales) bajo condiciones controladas, validando la hipótesis con datos medibles.

Se realiza para transitar de la teoría a la práctica, probando una solución biotecnológica prometedora en un escenario desatendido por la investigación aplicada y, de este modo, enriquecer el cuerpo teórico con datos locales y relevantes.

El principal aporte es la provisión de un precedente técnico y científico sobre la aplicabilidad de la biorremediación bacteriana en la industria ferroviaria peruana; esto

enriquece el campo de la biotecnología ambiental al ofrecer un modelo de análisis y resultados que pueden ser comparados y replicados en otras investigaciones.

2.3.2. Justificación Práctica

El elemento detonante es la necesidad práctica de la empresa Perú Rail de gestionar sus efluentes industriales de manera que cumpla con la normativa ambiental (Límites Máximos Permisibles) y evite dañar la infraestructura municipal de saneamiento (PTAR San Jerónimo), la cual no está diseñada para tratar este tipo de contaminantes.

Ofrece un conocimiento práctico y accionable: la demostración de una tecnología de tratamiento viable, de bajo costo y sostenible. Proporciona datos concretos sobre la eficiencia de remoción, que son esenciales para el diseño y escalado de un sistema de tratamiento a nivel real.

El modelo experimental aplicado es fundamental aquí, ya que sus resultados tienen una traducción directa a una solución de ingeniería. No es una simulación, sino una prueba de concepto con el agua residual real del taller.

Se hace para ofrecer a Perú Rail una alternativa tecnológica concreta para resolver un problema operativo y legal. La investigación busca prevenir sanciones, optimizar procesos y promover una gestión ambiental responsable dentro de la empresa.

Aporta un "blueprint" o un estudio de viabilidad que puede ser adaptado por otras industrias con problemas similares en la región. Demuestra que la biorremediación no es solo una teoría, sino una herramienta de ingeniería práctica y eficiente para el tratamiento de aguas residuales industriales.

2.3.3. Justificación Social

El elemento central es la responsabilidad social y la protección de la salud pública. La descarga de aguas contaminadas con metales afecta directamente a las comunidades locales y a los propios trabajadores, que están expuestos a riesgos sanitarios.

Genera conocimiento sobre la efectividad de una medida preventiva. Al cuantificar la reducción de contaminantes, se cuantifica también la reducción del riesgo para la salud humana, aportando evidencia sólida que vincula una solución de ingeniería con un beneficio social directo.

El modelo experimental, al demostrar la remoción de tóxicos del agua, se convierte en un instrumento para la protección de la salud colectiva.

Se realiza para contribuir al bienestar de la población de Cusco y a la seguridad laboral de los trabajadores de Perú Rail, asegurando que las operaciones de la empresa no comprometan la calidad de vida de la comunidad.

Refuerza el rol de la ingeniería ambiental como una disciplina al servicio de la sociedad. Demuestra que el trabajo del ingeniero no solo se mide en eficiencia técnica, sino también en su capacidad para salvaguardar la salud humana y promover un entorno más seguro y justo.

2.3.4. Justificación Ambiental

El factor determinante es el impacto ambiental negativo que genera la liberación de metales pesados a los ecosistemas acuáticos de Cusco, afectando la flora, la fauna y la calidad del recurso hídrico en general.

Ofrece conocimiento sobre la aplicabilidad de una solución "verde" y de bajo impacto ambiental. A diferencia de los métodos fisicoquímicos, la biorremediación no genera lodos tóxicos ni requiere un alto consumo de energía, por lo que el estudio valida una alternativa ambientalmente sostenible.

El modelo experimental demuestra la reducción neta de la carga contaminante vertida al ambiente, que es el objetivo final de cualquier tecnología de remediación ambiental.

Se realiza para proporcionar una herramienta eficaz que permita a Perú Rail minimizar su huella ecológica, proteger los cuerpos de agua locales y contribuir a la conservación de la biodiversidad andina.

El aporte principal es la promoción y validación de tecnologías de remediación sostenibles. La investigación posiciona la biorremediación como una solución viable y preferible para la gestión de contaminantes persistentes, alineando la práctica de la ingeniería con los principios del desarrollo sostenible y la economía circular.

2.4. Hipótesis

2.4.1. Hipótesis general

- Existe un alto grado porcentual de concentración de los elementos contaminantes como de cromo, cadmio, arsénico y otros metales antes y no después de los dos tratamientos con P*seudomonas sp* en aguas residuales contaminadas con metales totales provenientes del taller de trenes Perú Rail.

2.4.2. Hipótesis específicas

- Existe una disminución de los elementos contaminantes como el cromo, cadmio, arsénico y otros metales después del tratamiento con *Pseudomonas sp* en aguas residuales contaminadas con metales totales provenientes del taller de trenes Perú Rail.
- La concentración del 80% de *Pseudomonas sp* contribuye a un mejor resultado en la disminución de elementos químicos en aguas residuales contaminadas con metales totales provenientes del taller de trenes Perú Rail.

2.5. Variables

2.5.1. Variable independiente (x)

Pseudomonas sp

Variable que se evalúa por su influencia en la variable dependiente, (Grado de Biorremediación de agua con metales totales) dependen de las *Pseudomonas sp* para poder descontaminar el agua.

2.5.2. Variable dependiente (y)

Grado de Biorremediación de agua con metales totales es la variable que está condicionada por las *Pseudomonas sp* ya que el desenlace de esta será evaluado y medido a través de un laboratorio certificado por INACAL

III. Marco Teórico

3.1. Antecedentes

3.1.1. A nivel internacional

En Debark, Etiopía, se llevó a cabo un estudio en 2020, que examinó el potencial de los microorganismos utilizados para una Biorremediación de metales pesados en el medio ambiente. Donde se trabajó con el objetivo de biorremediar los metales pesados aplicando metodologías donde se describieron mecanismos de Biorremediación como biosorción, bioacumulación, biotransformación y bioprecipitación, empleados por diferentes tipos de microorganismos, incluyendo bacterias, hongos y algas. Se concluyó que los microorganismos ofrecen una alternativa ecológica y rentable para metales pesados, y se espera descubrir más especies. (Medfu Tarekegn et al., 2020).

Un estudio realizado sobre el potencial de Biorremediación de aislado del género *Pseudomonas* a partir de aguas residuales capaces de tolerar plomo a través de mecanismos de producción de exopolisacaridos y Biosorción en diciembre del 2021 para identificar y evaluar la tolerancia al plomo (Pb) de *Pseudomonas sp*. aisladas de aguas residuales industriales en Girardota, Antioquia. La identificación se realizó mediante análisis bioquímico y molecular. Siete aislados, incluyendo *Pseudomonas aeruginosa, nitroreducens* y *alcaligenes*, soportaron concentraciones superiores a 50 mg/ml de Pb. Los resultados evidenciaron su alta resistencia y potencial biorremediador. Se concluye que estos microorganismos pueden tolerar y remover plomo del medio de manera efectiva (Vélez et al., 2021).

Este trabajo de investigación fue elaborado en varias instituciones internacionales como: 80121 Napoli, Italia, Sudáfrica, Reino unido, 60131 Ancona, Italia. Denominado degradación de hidrocarburos y reducción de metales pesados por bacterias marinas en

sedimentos altamente contaminados en el 2020. Donde en Golfo de Nápoles, se evaluó la biorremediación de sedimentos contaminados con hidrocarburos y metales pesados mediante aislamiento bacteriano y análisis experimentales. Se logró hasta un 80% de degradación de HAP y la inmovilización de arsénico, plomo y cadmio. Los consorcios bacterianos mostraron interacciones sinérgicas que mejoran la eficiencia del proceso. Halomonas sp. SZN1 y Alcanivorax sp. SZN2 destacaron por su potencial para aplicaciones de biorremediación in situ y ex situ (Dell'Anno et al., 2020).

Recientemente en el 2024 un estudio sobre el potencial de Biorremediación de *Pseudomonas sp* multi-tolerantes a metales pesados aislados de un vertedero municipal en ILE-IFE, En el estado de Osun, Nigeria, se investigó la tolerancia de *Pseudomonas sp* nativas de un vertedero municipal a metales pesados. Se aislaron e identificaron cepas, evaluando su concentración máxima tolerable (200-5000 mg/L) mediante ensayos en agar mínimo salino. Tras 48 horas de incubación a 30 °C, *Pseudomonas aeruginosa* mostró la mayor resistencia. Se generaron mutantes utilizando bromuro de etidio y naranja de acridina como agentes mutagénicos. Los resultados confirmaron su resistencia a múltiples metales pesados. Se concluye que la modificación genética de flora bacteriana contaminada podría generar cepas útiles para biorremediación (Feruke-Bello et al., 2023).

De forma similar un estudio denominado "Microorganismos para la Biorremediación de suelos contaminados con metales pesados" desarrollado en el año 2023, con el objetivo de desarrollar un consorcio microbiano para restaurar suelos agrícolas contaminados con metales pesados en el depósito Osinnikovskoye, Rusia. Se aislaron microorganismos de suelos tecnogénicos en un medio líquido con metales pesados, incubados a 25 °C por 24 horas, luego cultivados en medio sólido. Se evaluó su tolerancia en caldo con sales metálicas y se midió el metal residual mediante espectrometría de emisión atómica. En pruebas de fitorremediación con trébol rojo, se identificaron 10 cultivos resistentes, predominando

bacilos Gram negativos. Cinco cepas (*Pantoea* sp., *Achromobacter denitrificans, Klebsiella oxytoca, Rhizobium radiobacter* y *Pseudomonas fluorescens*) fueron seleccionadas por su eficacia y biocompatibilidad. Los resultados mostraron eliminación de Pb, As, Hg, Ni y Cd. Se concluye que se requiere más investigación para desarrollar un producto biológico de recuperación de suelos agrícolas (Atuchin et al., 2023).

3.1.2. A nivel nacional

Un estudio realizado en el departamento de Huánuco sobre la Aplicación de métodos físico-químicos y biológicos en suelos contaminados con Cadmio y Plomo para evaluar la efectividad de los métodos físico-químicos y biológicos y reducir cadmio, plomo en suelos y plantas cultivadas, evitando su acumulación en órganos cosechables. Se aplicaron diseños experimentales en invernadero y campo con seis tratamientos y tres repeticiones, sumando 18 unidades experimentales. Las concentraciones de metales se analizaron según la norma UNE 77322 mediante espectrofotometría atómica. Los resultados mostraron que el contenido de Cd en los granos de cacao disminuyó tras el tratamiento con HMA y *Commelina* HMA (Vega-Jara,2021).

Por otro lado, un estudio realizado en Huancavelica, llevando como título la "Biorremediación por Cianobacterias de Aguas Contaminadas por Aceites de Motor en el Distrito de Huancavelica". Tuvo como objetivo la biorremediación de las aguas contaminadas por los talleres de mecánica con aceites de motor que contienen sustancias químicas, donde aplicaron como metodología una investigación cuantitativa en dos sitios de monitoreo del rio Ichu para ser analizadas y observar la presencia de metales pesados mezcladas con dosis de 10, 20 y 30 % de la bacteria *Pseudomona Aeruginosa*. Los resultados obtenidos fueron favorables sobre todo el de la dosis de 30 % para así concluir que la biorremediación de metales fue con una remoción de 42 % de Arsénico, 71% de plomo y 74 % para el cromo (Cepida Huaman & Sedano Olache, 2021).

Así mismo un estudio realizado sobre “Cepas bacterianas nativas peruanas como potenciales agentes de Biorremediación en suelos contaminados con Hg por actividades mineras artesanales en el sur del Perú”. con el fin de evaluar, identificar la capacidad de las cepas bacterianas, donde se realizó un muestreo de suelo a 15 cm de profundidad, seguido del aislamiento, purificación e identificación molecular de las bacterias. Se caracterizaron morfológicamente y se les aplicó un antibiograma. Los resultados indicaron la presencia de *Kocuria* sp. (99.35 % de similitud) y *Zhihengliuella* sp. (99.78 %), ambas con capacidad de crecimiento en sustratos con Hg. Las cepas eliminaron el mercurio en un 28.4 % y 33.3 %, respectivamente. Se concluyó que estas bacterias son prometedoras para la remediación biológica de suelos secos contaminados en Secocha. La biorremediación con estas cepas es una alternativa de bajo costo y con menor impacto ambiental (López-Casaperalta et al., 2022).

También un estudio realizado en el 2023 bajo el título, Cepas de *Yarrowia lipolytica*, aisladas de lagunas altoandinas del Perú contaminadas con relaves mineros, como potenciales agentes para la biorremediación de metales pesados con la finalidad de investigar la concentración letal media y la capacidad de biosorción de metales pesados en levaduras específicamente *Yarrowia lipolytica,* aisladas del Lago Junín y la relavera Yanamate. Donde la metodología incluyó el análisis fisicoquímico de metales pesados en ambos cuerpos de agua, el aislamiento y la identificación molecular de las levaduras y su capacidad para biosorber iones de cobre y cromo llegando a la conclusión de que las cepas de *Yarrowia lipolytica* tienen una alta resistencia y una notable capacidad de biosorción (cercana al 90 % para ambos metales) (Sánchez-Rojas et al., 2023)

Del mismo modo un estudio realizado bajo el título de Evaluación de las propiedades para Biorremediación de las bacterias psicrotolerantes aisladas en la base peruana Machu Picchu – Antártida, con la finalidad de evaluar la producción de fitoquímicos ramnolípidos (RL)-

como biosurfactantes de cepas aislado de las instalaciones de Machu Picchu en la Antártida Perú. Además de evidenciar la actividad microbiológica de descomposición y emulsionante. Usando métodos cuantitativos, también encontraron que 10 cepas (*Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas putida, Aeromonas sp, StenotropHomonas rhizopHila y Paenibacillus lautus*) podían crecer a 5 °C o 20 °C. *Pseudomonas aeruginosa* demostró una degradación del 50 % del crudo activo. La conclusión fue que las cepas psicotrópicas de bacterias de la Antártida eran de biorremediación debido a su capacidad para degradar hidrocarburos (Pretell Masias, 2021).

Finalmente, En 2024, se llevó a cabo una investigación sobre el potencial de la bacteria Pseudomonas stutzeri para actuar como biocatalizador. El objetivo era evaluar su capacidad para eliminar metales pesados y generar bioelectricidad al mismo tiempo.

Para lograrlo, se utilizó una metodología que consistía en el uso de celdas de combustible microbianas de una sola cámara. En este sistema, se empleó agua de riego contaminada con residuos mineros como sustrato y *P. stutzeri* como el biocatalizador principal.

Los resultados mostraron que el sistema fue exitoso, ya que no solo logró generar picos de corriente y voltaje significativos (4.35 mA y 0.91 V, respectivamente), sino que también demostró una reducción considerable de metales pesados. La eliminación fue del 90.83 % para arsénico, 84.62 % para hierro y 14.53 % para cobre (Segundo et al., 2024)

3.1.3. A nivel regional y local

Una investigación en Arequipa con el título de Estudio sobre la Bioabsorción de plomo (II) y cadmio (II) utilizando como biomasa *Escherichia coli* aislada de aguas contaminadas del río Huatanay en la ciudad del Cusco, Se evaluó la bioabsorción de Pb(II) y Cd (II) utilizando *E. coli* aisladas del río Huatanay en Cusco. Fue una investigación cuantitativa en la que se identificaron seis bacterias intestinales mediante el sistema MicroScan WalkAway 96. Solo tres cepas fueron sometidas a pruebas de tolerancia a

metales. Se determinó la resistencia de RHC-05 y RHC-06, concluyendo que RHC-06, identificada como *Escherichia coli*, presentó mayor resistencia, con una capacidad de absorción superior a 31 mg biomasa/L, el doble que RHC-05 (Jiménez, 2017).

En una investigación en el 2022 sobre la Bioestimulación y Bioaumentación a Microorganismos en la Biorremediación de Suelos Contaminados por Hidrocarburos – Vilcabamba- Grau con el objetivo de evaluar el efecto de la bioestimulación y bioaumentación en suelos contaminados mediante un diseño experimental con actividades de campo y análisis de muestras. Los resultados mostraron mejoras en las propiedades físicas, químicas y microbiológicas del suelo, así como en la degradación de hidrocarburos. La combinación de ambos métodos tuvo un alto rendimiento en la descomposición de hidrocarburos totales. Se concluyó que son técnicas efectivas para la biorremediación, favoreciendo la recuperación ambiental (Pumacayo Huamán, 2023).

Microorganismos eficientes (EM) en la recuperación de un suelo contaminado con cadmio del distrito de San Jerónimo, Cusco en el 2021 este estudio se realizó con el objetivo de evaluar el efecto de los microorganismos para recuperar suelos contaminados utilizando metodologías experimentales donde se realizaron muestreos de suelo antes y después de la aplicación de los tratamientos para analizar las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo y la concentración de cadmio, dando como resultado que se observan mejoras en sus propiedades físicas del suelo (estructura y retención de agua), químicas (aumento de nutrientes esenciales) y biológicas (incremento de microorganismos benéficos) y una significativa disminución del cadmio por lo que se concluyó que los métodos utilizados pueden ser replicados en otras áreas afectadas por contaminación similar (Kcana Puma, 2021).

En conjunto como opinión técnica de los antecedentes presentados se puede señalar que refleja un panorama amplio, diverso y actualizado sobre el uso de microorganismos en

la biorremediación de metales pesados, tanto a nivel internacional como nacional y regional. Se evidencia un interés creciente en el empleo de bacterias como *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Halomonas* y *Escherichia coli*, entre otras, debido a su alta tolerancia a contaminantes y su capacidad para procesos de biorremediación de metales pesados. Los estudios revisados demuestran resultados alentadores en distintos contextos geográficos, desde vertederos urbanos hasta ecosistemas extremos como la Antártida, así como en suelos agrícolas y cuerpos de agua impactados por la minería o la actividad industrial. A nivel nacional, se destacan investigaciones aplicadas con enfoques experimentales robustos que revelan mejoras significativas en la calidad ambiental tras los tratamientos, lo cual respalda el potencial real de la biorremediación como una alternativa sostenible, económica y replicable. En resumen, estos antecedentes fundamentan sólidamente el desarrollo de nuevas estrategias biotecnológicas y confirman la viabilidad del uso de microorganismos para mitigar la contaminación ambiental.

3.2. Bases teóricas

3.2.1. Normativa peruana e internacional sobre Valores Máximos Admisibles (VMA)

La norma técnica peruana (NTP) 214.060-2016 sobre el reglamento de los Valores Máximos Admisibles (VMA) para las descargas de aguas residuales no domesticas en el sistema de alcantarillado sanitario que establece el Decreto supremo Nº 010-2019-Vivienda parámetros anexo Nº 02 dicho decreto fue emitido con el fin de proteger las infraestructuras de saneamiento y garantizar la eficiencia de las plantas de tratamiento de aguas residuales.

Dentro de la NTP 214.060-2016 en el ítem 5 procedimientos de muestreo, 5.1 condición del punto de muestreo, 5.2 consideraciones para el punto de muestreo, 5.2.1.1 muestras puntuales, Tabla 2 condiciones de preservación y tipo de recipiente para el análisis de los parámetros considerados. De forma similar la norma oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021 que establece los límites permisibles de contaminares para la descarga

de aguas residuales en cuerpos receptores, esta normativa es en general, no distingue el origen del agua.

3.2.2. Mecanismos de biorremediación específicos de Pseudomonas sp.

El género *Pseudomonas sp.* destaca por su versatilidad metabólica para tolerar y detoxificar metales pesados mediante procesos que ocurren tanto en la superficie celular como en el interior del citoplasma; según la literatura revisada, esta bacteria emplea principalmente cuatro mecanismos para reducir la biodisponibilidad de los metales en el agua:

a. Biosorción (Adsorción superficial) Este mecanismo es un proceso pasivo y rápido que no requiere gasto de energía metabólica (ATP); la pared celular de Pseudomonas sp., al ser una bacteria Gram negativa, posee una estructura compleja rica en lipopolisacáridos; proteínas y fosfolípidos que contienen grupos funcionales cargados negativamente (carboxilo, fosfato, hidroxilo y amina); estos grupos actúan como sitios de intercambio iónico, atrayendo y reteniendo cationes metálicos (como Plomo, Zinc, Cobre y Cadmio) mediante fuerzas electrostáticas. Este proceso es fundamental para la reducción inicial de la carga contaminante observada en las primeras etapas del tratamiento.

b. Bioacumulación (Secuestro intracelular) A diferencia de la biosorción, la bioacumulación es un proceso activo que depende del metabolismo celular y ocurre cuando el metal atraviesa la membrana celular hacia el citoplasma; pseudomonas sp. utiliza sistemas de transporte de membrana, que normalmente captan nutrientes esenciales (como magnesio o hierro), para incorporar metales tóxicos; Una vez dentro de la célula, los metales son secuestrados por proteínas específicas ricas en cisteína, denominadas metalotioneínas, o compartimentados en vacuolas para evitar la toxicidad celular.

c. Biotransformación y Reducción Enzimática Este mecanismo es especialmente relevante para metales que pueden cambiar de estado de oxidación; como el Cromo,

Pseudomonas sp. posee la capacidad enzimática para reducir compuestos altamente tóxicos y solubles a formas menos tóxicas e insolubles; Por ejemplo, la reducción de Cromo hexavalente (Cr VI) a Cromo trivalente (Cr III), el cual tiende a precipitar fuera de la solución acuosa, facilitando su eliminación del efluente.

d. Precipitación inducida por microorganismos (MICP) y producción de EPS

Las bacterias del género Pseudomonas tienen la capacidad de producir Sustancias Poliméricas Extracelulares (EPS), una matriz mucosa que acompleja los iones metálicos fuera de la célula, inmovilizándolos y evitando su entrada. Asimismo, la actividad metabólica de la bacteria puede alterar las condiciones químicas del microentorno (como el pH y la alcalinidad), favoreciendo la precipitación de los metales en forma de carbonatos o hidróxidos insolubles. Este fenómeno explica la reducción de alcalinidad y la formación de precipitados observada en los resultados post-tratamiento.

3.2.3. Impactos ambientales y riesgo para la salud por la presencia de metales

Los impactos ambientales que genera la contaminación del agua por las actividades humanas por actividades mineras, agrícolas entre otros son de prioridad tratarlos, porque generan impactos a las aguas subterráneas y agua de riego, así como el arsénico es un metal altamente potente y toxico que inclusive una baja concentración causa enfermedades que se relaciona con el cáncer al pulmón, piel y vejiga con posibles daños celulares, estrés oxidativo y apoptosis (muerte celular) (Castillo-Asimbaya et al., 2025)

3.2.4. Aguas residuales industriales y su problemática ambiental

Se trata de aguas residuales que han sufrido alteraciones en sus propiedades originales debido a las actividades humanas que altera su calidad, por ello necesitan ser tratadas antes de ser reutilizadas y vertidas en un cuerpo natural de agua o descargadas en el sistema de alcantarillado. razón por la cual, la problemática que surge es porque solo existen 50 EPS

que brindan servicio para el sistema de alcantarillado que corresponde una cobertura del 69.65 % de la ciudadanía urbana, el resto vierte a ríos, lagos y mares sin su tratamiento a nivel nacional (OEFA, 2014)

3.2.5. Clasificación de aguas residuales

Las aguas residuales se clasifican en**:**

a. **Aguas residuales industriales. –** Son aguas residuales vertidas, provenientes de un proceso industrial, como una actividad minera, agrícola, energética, agroindustrial y otros similares que operan con el fin de atender las necesidades de la población (OEFA, 2014).
b. **Aguas residuales domésticas. –** Son aguas de origen humana de zonas residenciales y comerciales que contienen desechos fisiológicos y otros (OEFA, 2014).
c. **Aguas residuales municipales. –** Llamados porque son aguas de origen industriales y domestica que pueden mezclarse con aguas pluviales, pero las aguas industriales son previamente tratados antes de ser vertidos al sistema de alcantarillado de tipo combinado (OEFA, 2014).

3.2.6. Metales totales en aguas residuales

Los metales totales y otros parámetros presentes, son prioritarios monitorear y caracterizar de acuerdo a la normativa y sector vigente. los metales como el cromo, cadmio, arsénico y entre otros metales. El pH, Tº, Conductividad Eléctrica, turbiedad, Color, Solidos totales, Solidos Suspendidos totales, DBO, DQO entre otros son parámetros que se monitorean para proteger el sistema de alcantarillado. En ese sentido la remoción de estos metales son considerados de mucha utilidad (Bedoya-Betancur et al., 2023)

3.2.7. Definición de Biorremediación

La remediación biológica es un proceso en el que se aplican seres vivos para remover o neutralizar contaminantes ambientales a través de un proceso metabólico. Los organismos "biológicos" incluyen organismos microscópicos, como hongos, algas y bacterias, y el "remedio" que se ocupa de la situación (Sharma, 2020)

3.2.8. Tipos de Biorremediación

a. Biorremediación microbiana. –Utiliza microorganismos para romper contaminantes, utilizándolos como Nota de alimento (Raipat et al., 2021).

b. Biorremediación. –Utiliza las enzimas digestivas de los hongos para descomponer los contaminantes como plaguicidas, y metales (Raipat et al., 2021).

c. Fitorremediación. – Es cuando se utilizan plantas para atar, extraer y limpiar contaminantes tales como pesticidas, metales, disolventes clorados y otros (Raipat et al, 2021).

3.2.9. Técnicas de Biorremediación

La Biorremediación basada en la transferencia y eliminación de elementos tóxicos se caracteriza in situ y ex situ (Pande et al., 2020).

a. **In situ. -** Las técnicas en el lugar implican el tratamiento de contaminantes en su respectivo lugar con mínimas perturbaciones. No solo ahorra el costo del transporte, sino que también hace uso de microorganismos libres de riesgo para eliminar contaminantes químicos. Además, evita perturbaciones ya que causa tratamiento en el sitio contaminado y no implica ninguna excavación. Este es también un modo más seguro para la remediación de daños elementos (Pande et al., 2020).

b. **Ex situ. -** El tratamiento ex situ se efectúa en una ubicación diferente al sitio contaminado y requiere la excavación de contaminantes de los sitios

contaminados y el transporte de suelo contaminado o la propulsión del lugar de tratamiento. Este proceso es independiente de los factores ambientales que se llevan a cabo en ausencia de un ambiente, y, por lo tanto, el método de tratamiento del objetivo contaminantes puede ser alterado utilizando métodos físico-químicos antes y/o durante la degradación (Pande et al., 2020).

3.2.10. Diversos tipos de contaminantes

Fórmula que las variadas clases de contaminantes existentes son: Los contaminantes orgánicos, metales pesados, contaminantes radiactivos, drogas y otros contaminantes emergentes (Sahoo & Prelot, 2020).

a. **Contaminantes orgánicos. -** Además de la contaminación por metales, los contaminantes orgánicos representan un desafío ambiental significativo en los ecosistemas acuáticos. Estos compuestos, definidos por su estructura a base de carbono, abarcan una amplia y diversa gama de sustancias, entre las que se incluyen los hidrocarburos del petróleo (aceites, grasas y combustibles), los compuestos aromáticos policíclicos (HAP), solventes industriales (como tolueno y xileno), pesticidas, fenoles y tintes sintéticos. Las principales Notas antropogénicas de esta contaminación son los vertidos industriales, los efluentes domésticos no tratados, la escorrentía agrícola y los derrames accidentales; en consecuencia, la presencia de estos materiales en el agua puede acarrear graves consecuencias para la salud humana, incluyendo afectaciones neurológicas, alteraciones endocrinas y un incremento en el riesgo carcinogénico (Sahoo & Prelot, 2020).

b. **Contaminates inorgánicos**

Arsénico. - Los depósitos de agua naturales contienen baja concentración de arsénico presente en dos iones diferentes (V) (arsenato pentavalente) y As (III) (arsénico trivalente)

la concentración con un rango de 1 - 10 mg/L. La contaminación de arsénico se produce debido a procesos industriales como fundición, minería y en centrales eléctricas de carbón. En humanos, la exposición al arsénico puede causar cáncer de piel, pulmón, vejiga y riñón, trastornos neurológicos, así como disminución del apetito, cambios pigmentarios e hiperqueratosis (Sahoo & Prelot, 2020).

Cromo. – La Nota de contaminantes de cromo se encuentra principalmente en los efluentes de curtido de cuero, galvanoplastia, industrias del cemento y la fotografía. Estos efluentes industriales llevan cromo, que se acumula a través de la cadena alimentaria y conduce a graves dolencias desde la irritación de la piel hasta el carcinoma pulmonar. Por lo tanto, la eliminación del ion Cr (VI) de varios efluentes industriales es motivo de grave preocupación, antes se libera a los depósitos de agua (Sahoo & Prelot, 2020).

Plomo. – Plomo (II) son metales pesados más peligrosos ya que produce graves problemas de salud como encefalopatía, anemia, síndrome nefrítico, hepatitis cuando su concentración en el agua potable es superior a 5 mg/ml. Por lo tanto, es extremadamente importante eliminar los iones Pb (II) de las aguas residuales (Sahoo & Prelot, 2020).

Cadmio. - Los efluentes industriales que contienen el cadmio se liberan a diferentes depósitos de agua. El cadmio es otro metal pesado peligroso, que puede constituir un peligro significativo para los organismos vivos. Se utiliza en la fabricación de níquel-cadmio pilas, pigmentos, abonos fosfatados, chapados metálicos y aleaciones. La exposición del cadmio al agua proviene de Notas tales como las descargas de refinerías de metales, residuos de baterías, pinturas y fósiles combustibles de combustión de cenizas. El consumo de cadmio puede causar problemas estomacales, daño renal, y diarrea, y en muchas ocasiones la muerte (Sahoo & Prelot, 2020)

Antimonio (Sb)**. -** Metal metaloide con número atómico 51, utilizado principalmente en aleaciones para mejorar la resistencia mecánica y dureza de otros metales. También se emplea en semiconductores, retardantes de fuego y baterías(Bodie.E. Douglas 1994).

Azufre (S): No metal con número atómico 16, ampliamente presente en la naturaleza, tanto en su forma elemental como en elementos, como el ácido sulfúrico. Es esencial en la industria química y en procesos como la vulcanización del caucho (Bodie.E. Douglas 1994).

Bario (Ba): Metal alcalinotérreo con número atómico 56. Se utiliza en la producción de vidrios especiales, como el vidrio óptico, y en la industria médica para realizar radiografías gastrointestinales con sulfato de bario, que es opaco a los rayos X (Bodie.E. Douglas 1994).

Cobre. - El cobre, con número atómico 29, es un metal no ferroso ampliamente utilizado por sus propiedades químicas, eléctricas, físicas y mecánicas, así como por su abundancia. Se extrae principalmente de sulfuros minerales como calcocita, covelita, calcopirita, bornita y enargita. Posee dos isótopos naturales estables, ^{63}Cu y ^{65}Cu, además de nueve isótopos radiactivos. Entre sus elementos industriales, el sulfato de cobre es el más relevante (Bodie.E. Douglas 1994)

Estroncio (Sr): Metal alcalinotérreo con número atómico 38. Es usado en fuegos artificiales por sus propiedades para producir llamas rojas y en la fabricación de cerámicas y vidrios especiales. También tiene aplicaciones en radiología y medicina (Bodie.E. Douglas 1994).

Hierro (Fe): Metal de transición con número atómico 26, uno de los más abundantes en la Tierra y clave en la fabricación de acero. Sus propiedades mecánicas y magnéticas lo hacen indispensable en la construcción, transporte e industria energética (Bodie.E. Douglas 1994).

Litio (Li): Metal alcalino con número atómico 3, ligero y reactivo, utilizado principalmente en baterías recargables de ion-litio, en medicamentos para tratar trastornos psiquiátricos y en aleaciones ligeras para la industria aeroespacial (Bodie.E. Douglas 1994).

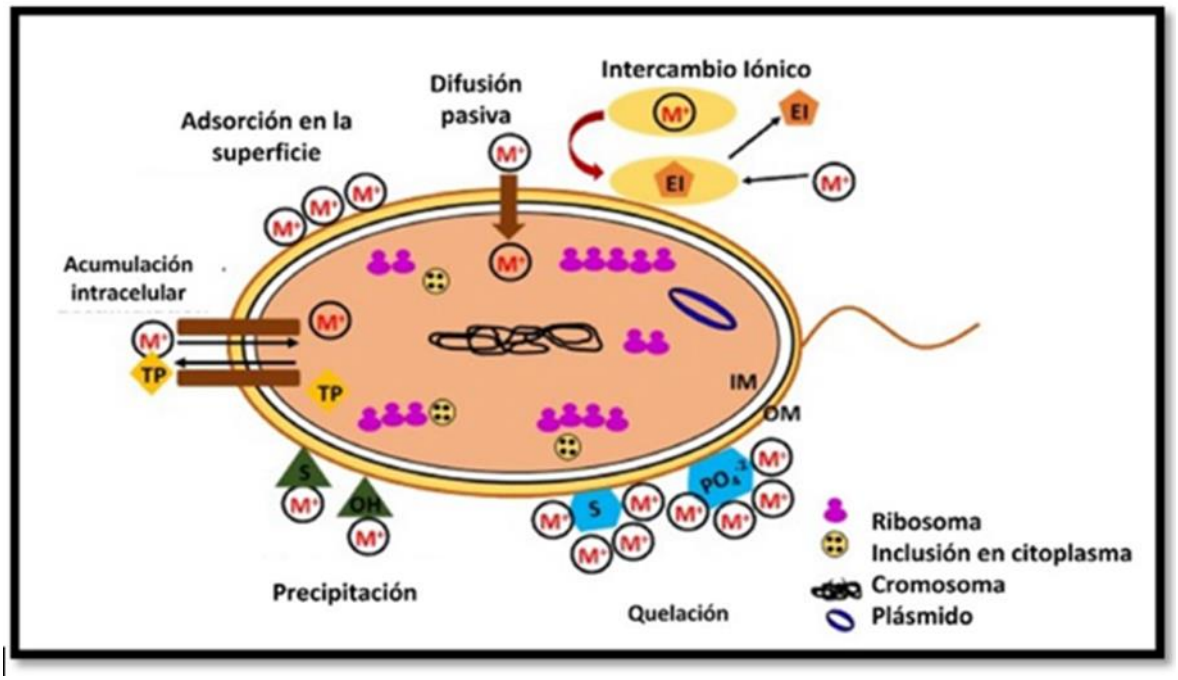
Manganeso (Mn): Metal de transición con número atómico 25, importante para la producción de acero y aluminio por su capacidad de mejorar la dureza y resistencia a la corrosión. También tiene aplicaciones en la fabricación de pilas y fertilizantes (Bodie.E. Douglas 1994).

Molibdeno (Mo): Metal de transición con número atómico 42, valorado por su resistencia a altas temperaturas y su capacidad para endurecer aceros. Se utiliza en la industria metalúrgica, en catalizadores y como aditivo en aceites lubricantes (Bodie.E. Douglas 1994).

Zinc (Zn): Es un metal de transición con número atómico 30, utilizado principalmente en la galvanización para prevenir la corrosión de otros metales. También es esencial para procesos biológicos, ya que actúa como micronutriente en funciones enzimáticas y del sistema inmunológico (Hausbrand et al., 2003).

Figura 1.

Mecanismos de remediación en bacterias (Trujillo Peralta et al., 2023).



3.2.11. Mecanismos de remediación en bacterias:

Las bacterias interactúan con los metales pesados a través de diversos mecanismos tal cual se observa en la figura, lo que les confiere la capacidad de removerlos de entornos contaminados. Estas interacciones pueden clasificarse de múltiples formas, a menudo involucran la ejecución simultánea de varios mecanismos para la remoción de un mismo metal (Trujillo Peralta et al., 2023).

a. **La bioacumulación:** La bioacumulación se define como ese proceso por el cual los metales pesados ó sustancias tóxicas atraviesan las membranas celulares y se concentran en la parte interna. Consecuentemente, este fenómeno es inherente y exclusivo de células metabólicamente activas (Trujillo Peralta et al., 2023).
b. **Bioaumentación:** La bioaumentación implica la introducción de cepas bacterianas seleccionadas o modificadas en laboratorio, las cuales poseen una

mayor eficiencia y velocidad en la degradación de contaminantes presentes en suelos y cuerpos de agua (Gomez, 2024).

c. **Bioestimulación:** La bioestimulación consiste en la modificación del entorno con el fin de potenciar la actividad metabólica de las bacterias biorremediadoras preexistentes en un medio contaminado. Esto se logra mediante la adición estratégica de nutrientes**,** como el nitrógeno y el fósforo, lo cual incentiva el crecimiento y la funcionalidad de los microorganismos nativos que poseen la capacidad de remediar ambientes con alta toxicidad (Gomez, 2024).

Tabla 1.

Clasificación de la familia Pseudomonadacae (Mala Cortez & Quingatuña Andy, 2024)

CLASIFICACION DE LA FAMILIA PSEUDOMONADACAE	
Grupo I de rRNA	**Grupo III de rRNA**
Grupo fluorescente	**Grupo Acidovorans**
Pseudomonas aeruginosa	*Comamonans acidovorans*
Pseudomonas fluorscens	*Comamonans terrígena*
Pseudomonas putida	*Comamonans testosterona*
Grupo stutzeri	
Pseudomonas stutzeri	**Grupo Facilis – de la fieldii**
Pseudomonas mendocina	
Grupo alcaligenes	
Pseudomonas alcaligenes	*Acidovorax delafieldii*
Pseudomonas pseudoalcaligenes	*Acidovorax facilis*
	Acidovorax temperans
	Grupo IV de rRNA
	Brevundimonas diminuta
	Brevundimonas vesicularis
Grupos II de rRNA	**Grupo V de rRNA**
Grupo pseudomallei	*StenotropHomonas maltopHilia*
Burkholderia mallei	
Burkholderia pseudomallei	**Homologia de acido nucleicos desconocidas**
Burkholderia cepacia	
Burkholderia gradioli	*Chryseomonas luteola*
Burkholderia pickettii	*Flavomonas orizyhabitans*
	SpHingomonas paucimobilis
	Shewanella putrefaciens

Según la tabla 1 presenta una clasificación de bacterias de la familia Pseudomonadaceae, organizada principalmente por similitudes en su ARN ribosomal (rRNA). Esta clasificación se divide en cinco grupos de rRNA, cada uno conteniendo diferentes géneros y especies. Por ejemplo, el Grupo I de rRNA incluye varias especies de *Pseudomonas*, mientras que el Grupo II abarca especies de *Burkholderia* y el Grupo III contiene *Comamonas* y *Acidovorax*. Además de estos grupos basados en rRNA, la clasificación también incluye una sección para bacterias cuya homología de ácido nucleico aún no se ha determinado, como *Chryseomonas luteola* y *Shewanella putrefaciens*. Esta organización detallada nos ayuda a entender las relaciones entre estas bacterias, mostrando cómo se agrupan según sus características genéticas.

***3.2.12. Clasificación de biorremediación*:** Señala (Hussain et al., 2022) que los enfoques de biorremediación se clasifican por lo general como in situ o ex situ. La biorremediación in situ consiste en tratar el material contaminado en el lugar, mientras que la biorremediación ex situ implica la remoción del material contaminado en otro lugar. La biorremediación en el lugar se puede describir como un paso en el que los contaminantes orgánicos en condiciones naturales, se desintegran en dióxido de carbono y agua, o en un producto de conversión. Es una alternativa asequible y con poca necesidad de mantenimiento, ecológico y sostenible para la remediación de áreas contaminadas. Debido a la necesidad de recolectar muestras contaminadas para su procesamiento, el costo de los métodos de biorremediación ex situ puede ser más alto que el costo de los métodos in situ. Además, la tasa de biodegradación y la consistencia de los resultados del proceso difieren entre los métodos de biorremediación in situ y ex situ (Salcedo-Martínez et al., 2019; Sánchez, 2021).

***3.2.13. Biorremediación bacteriana*. -**La aplicación de bacterias en la remediación ha sido ampliamente utilizada para el tratamiento de aguas residuales industriales. Diferentes tipos

como bacterias, *endófitos, pseudomonas* y otras cepas de bacterias, así como especies como B. subtilis se han empleado en el proceso de tratamiento (Shah & Shah, 2020).

***3.2.14. Concepto de taxonomía*. –** Indica que Carlus Linnaeus en (1707-1778). Botánico y médico sueco es el padre de la taxonomía, señala que la taxonomía es la disciplina dentro de la biología encargada de clasificar especialmente los organismos y comúnmente asociados con los victorianos. El taxónomo más notable del siglo XIX fue probablemente Charles Darwin (1809-1882), cuyo clasificación evolutiva o darwiniana' publicado en “el origen de las especies” era profético, aunque todavía disputado por algunos (McCann, 2020).

***3.2.15. Bacteria Pseudomonas*.** Estos miembros del género *Pseudomonas* pertenecen al grupo de bacterias gramnegativas que no fermentan, son activamente móviles y aerobias, lo que indica que son habitantes comunes del suelo y el agua. Aproximadamente un tercio de los microorganismos clínicamente aislados están pigmentados por piocianinas solubles en agua, formando colonias verdes o azul verdosas características. Las colonias tienen un olor característico afrutado o a uva (Pinzón-Junca, 2019).

***3.2.16. Bacteria Pseudomona aeruginosa*. –**Determinó que *Pseudomona aeruginosa* se trataba de un bacilo Gram negativo aerobio de la familia *Pseudomonadaceae*. Tiene forma de varilla con un tamaño medio de 0,5-0,8 x 1,5-3 µm. Ocurre solo, en parejas o en secuencias cortas. Es móvil, con flagelos unipolares y aparece de color verde o azul a pH neutro o alcalino y es el origen del nombre aeruginosa. *Pseudomonas aeruginosa* es nutricionalmente diversa. No se requieren factores de crecimiento orgánicos y pueden usar más de 30 elementos orgánicos para crecer. Crece mejor a 37°C, así como a 42°C, pero no a 4°C (Bennett et al., 2020).

señala que se trata de microorganismos fuertes, de rápido crecimiento que pueden sobrevivir en ambientes marginales, estos microorganismos no fermentan, sino que obtienen su energía de la oxidación de azúcares. Sin embargo, muchas cepas se pueden cultivar

anaeróbicamente utilizando nitrato como el receptor final de electrones. Las *Pseudomonas* tienen requisitos nutricionales mínimos y sólo requieren acetato y amoníaco como Notas de carbono y nitrógeno. Su naturaleza casi omnívora los convierte en candidatos populares para aplicaciones industriales y medioambientales, como la eliminación de desechos tóxicos (Paz-Zarza et al., 2019).

3.2.17. Epidemiología. **-** señala que *Pseudomonas aeruginosa* tiene una distribución mundial. Se aísla a partir de suelos, agua, plantas y animales, incluidos los humanos. A veces es patógena para plantas y animales, crece incluso en agua purificada y tolera una amplia gama de condiciones adversas. La epidemiología de *Pseudomonas aeruginosa* refleja su preferencia por los ambientes húmedos. Esto es evidente en su medio natural, que está íntimamente relacionado con la superficie terrestre y el agua., y su determinación en las plantas se centran en la humedad(Bennett et al., 2020).

3.3 Definición de términos

Aguas residuales. –Todo tipo de agua donde las características físicas, químicas y biológicas tengan un impacto negativo en la actividad humana (Sharma, 2020).

Contaminación del agua. - La Organización Mundial de la Salud (OMS), describe el agua contaminada como aquella cuyo estado se modifica de tal manera que se vuelve inapropiada para su uso (Sharma, 2020).

Biorremediación. -Esta es una forma muy conveniente de limpiar el suelo contaminado porque utiliza los mismos tipos de microorganismos que residen en el suelo y bajo tierra(Filler et al., 2008).

Microorganismos. - Son seres vivos muy pequeños que se encuentran dentro de la naturaleza y que no se pueden ver a simple vista. Es imposible observarlos a simple vista. en el cuerpo humano, plantas, agua, suelo y aire(Ostos-Ortíz et al., 2019).

Bacteria. - Las bacterias son microorganismos unicelulares. Por lo general, miden unas pocas micras (0,5 a 5 μm) de largo, tienen muchas formas y abundan en la Tierra(Caycedo Lozano et al., 2021).

***Pseudomonas aeruginosa*. -** Pertenece a la familia *Pseudomonaceae*. Es una bacteria gramnegativa recta o ligeramente curvada, de 2 a 4 x 0,5 a 1 micras, que se desplaza por la presencia de un flagelo polar (Paz-Zarza et al., 2019).

Taller mecánico- automotriz. - Una empresa manufacturera en el cual se hacen reparaciones para restaurar la condición y operación normal de un automóvil o su equipo y componentes(Collado Carbajal & Rivera Raffo, 2018).

Combustible. - Es un material que, por sus propiedades, arde con facilidad(Deugoue, 2024).

Contaminación ambiental. – se refiere a la introducción de sustancias nocivas o tóxicas en el medio ambiente, afectando negativamente la calidad del aire, agua y suelo(Anzules & Castro, 2022).

Concentración. - Químicamente, es la conexión entre la dosis o volumen de soluto y la porción de disolución(Rodríguez Alzamora, 2017).

Calidad. - Rasgos que describen las propiedades de un componente(Cubillos Rodríguez & Rozo Rodriguez, 2009).

Parámetro. - Un valor que indica el nivel de desgaste de los componentes circundantes(Puig & Monzó, 2013).

Cadena de custodia. - La cadena de custodia es el conjunto de actos, procesos de documentación de muestras o evidencias que tienen como objetivo la recogida, traslado y la custodia de videncias. Este procedimiento sirve para ver la trazabilidad de las muestras garantizando que no ha sido alterada, contaminada o manipulada de forma indebida durante su transporte y almacenamiento (D'Anna et al., 2023).

Muestra de agua. - Una muestra de agua es una porción representativa de un cuerpo de agua, tomada para analizar sus características físicas, químicas y biológicas. Este análisis puede incluir la detección de contaminantes, como hidrocarburos, metales, y microorganismos, así como parámetros generales de calidad del agua, tales como pH, turbidez, y contenido de oxígeno disuelto. En la biorremediación las muestras del recurso hídrico son esenciales para estimar el nivel de contaminación. y evaluar la eficacia de los métodos de tratamiento aplicados(Nugroho et al., 2024).

IV. Metodología

4.1. Tipo y nivel de investigación

4.1.1. Tipo de investigación

Esta investigación se desarrolló bajo un enfoque cuantitativo, ya que se aplicaron técnicas estandarizadas para la recolección y análisis de datos provenientes de una muestra representativa de una población mayor (Pérez Castaños & García Santamaría, 2023).

4.1.2. Nivel de investigación

El estudio tiene un nivel explicativo, pues su objetivo principal fue entender y determinar los fenómenos observados, aportando explicaciones precisas sobre las relaciones y causas que subyacen en los datos obtenidos (Galarza, 2020).

4.1.3. Diseño de investigación

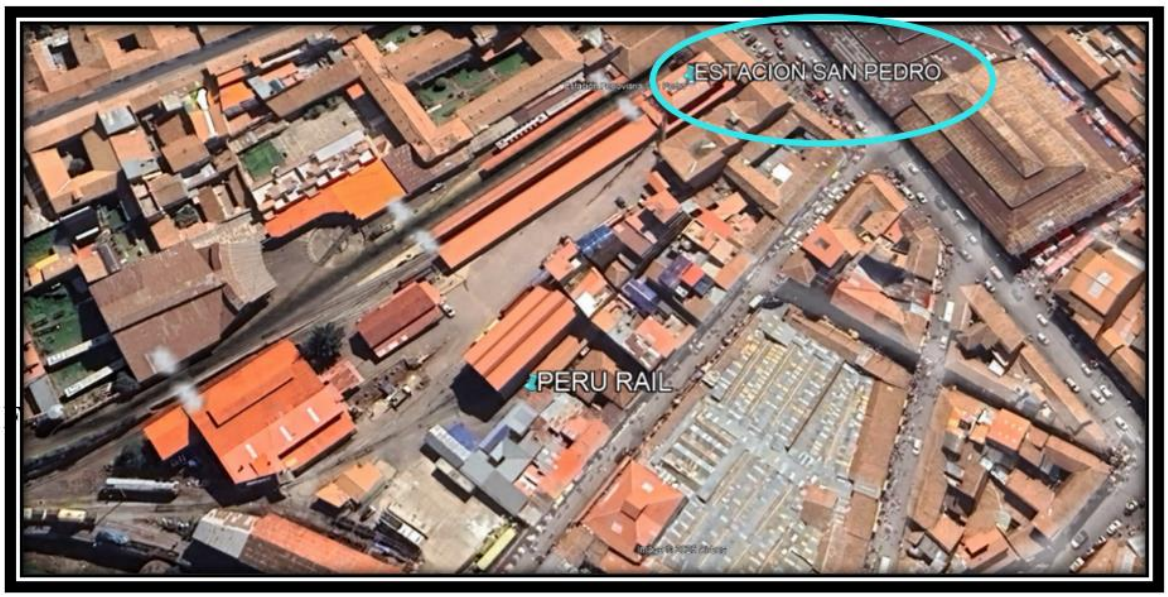
El diseño de investigación fue experimental porque se caracteriza por el manejo intencionado de la variable independiente para después medir el efecto que provoca en la variable dependiente con el apoyo de un instrumento de laboratorio que dé a conocer el pre y post test tal como señala (Galarza, 2021).

4.2. Ámbito temporal y espacial

4.2.1. Espacial

Esta investigación se efectuó en el taller de trenes Perú Rail, distrito del Cusco, provincia del Cusco, departamento de Cusco, república del Perú.

Figura 2.
Ubicación geográfica de la estación de trenes San pedro (Cusco)



Nota: Google Earth

Tabla 2 .

Ubicación geográfica de la estación de trenes San pedro (Cusco)

UBICACIÓN GEOGRÁFICA		
Latitud	**Longitud**	**Altitud**
-13.522233	-71.983602	3 415 msnm
COORDENADAS UTM		
Norte	**Este**	**Zona**
8503143	0177013	19L

4.2.2. Temporal

La investigación tuvo lugar en los meses de abril a julio del 2024.

4.3. Población y muestra

4.3.1. Población

La población de estudio estuvo constituida por las aguas contaminadas con metales presentes en las instalaciones de Perú Rail

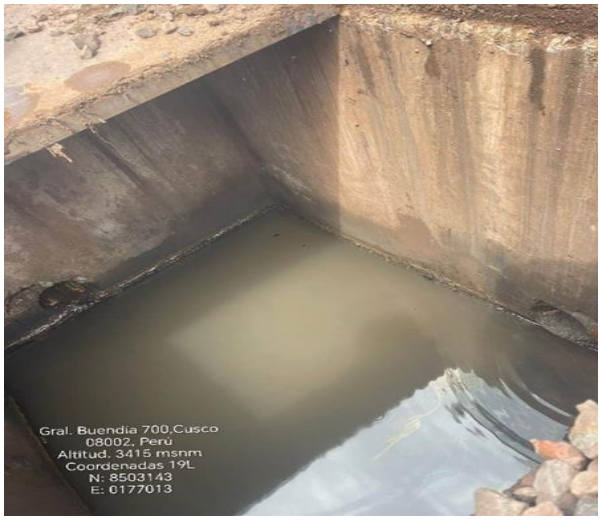
4.3.2. Muestra

La recolección de las muestras de agua residual, que constituye el sustrato para la presente investigación, se llevó a cabo en las instalaciones del taller de trenes de Perú Rail, ubicado en el Cusco, Perú. El efluente analítico se origina a partir de las diversas actividades de mantenimiento ferroviario, donde se generan residuos líquidos complejos. Estos provienen de la mezcla de aceites y lubricantes usados, residuos de combustibles Diesel y gasolina, solventes industriales, desengrasantes, partículas de desgaste de piezas metálicas, residuos de soldadura y lixiviados de baterías. Todos estos convergen en el sistema de drenaje interno del taller.

Dentro del flujo de aguas residuales, se identificaron dos puntos potenciales de muestreo: una poza de sedimentación primaria y el punto de vertimiento final hacia el sistema de alcantarillado público.

Figura 3.

Poza de sedimentación del taller de trenes Perú Rail.



Nota. Se observa el acumulamiento inicial del agua residual y la separación de sólidos gruesos. Fotografía tomada por Mendoza Ccahuana, Beatriz

Figura 4.

Punto de vertimiento final del efluente hacia el sistema de alcantarillado.



Nota. Se destaca el punto de toma de muestras de la descarga que conecta el taller con la red municipal de alcantarillado. Fotografía tomada por Surco Quispe, Wilfredo.

Para los fines de esta investigación, se seleccionó de manera deliberada el punto de vertimiento final hacia el alcantarillado como sitio oficial de muestreo. La elección se fundamenta en que este punto refleja con mayor fidelidad la carga contaminante total y sin tratamiento previo que la empresa descarga al entorno. Representa el problema ambiental real a mitigar y, por ende, la muestra más desafiante y relevante para evaluar la eficacia del proceso de biorremediación propuesto a escala real.

a. Procedimiento de Campo para la Toma de Muestras

La muestra obtenida fue puntual donde el procedimiento de muestreo se rigió estrictamente bajo los lineamientos del D.S. Nº 010-2019-VIVIENDA (Reglamento de VMA para efluentes no domésticos) y la Norma Técnica Peruana NTP 214.060:2016.

A continuación, se detallan los pasos y criterios considerados para la toma de muestras en el punto de vertimiento seleccionado:

La accesibilidad al punto de muestreo fue libre de obstáculos y en condiciones de seguridad laboral, así como también las dimensiones del punto de muestreo fueron las adecuadas.

Figura 5.

Toma de muestra puntual en el punto de vertimiento de efluentes no domésticos



Equipos y Bioseguridad: Se utilizó el equipo de protección personal (EPP) adecuado (guantes, lentes de seguridad, mascarilla, mandil, casco y zapatos de cuero) como medida de bioseguridad para el muestreador.

b. **Recipiente y punto de Muestreo:** Se emplearon recipientes de polietileno de alta densidad cada uno de los recipientes fueron proporcionados por el laboratorio de ensayo acreditado AGQ Labs de Lima, y con su respectivo preservante de acuerdo al protocolo de toma de muestras de la NTP 214.060.2016 de la tabla 2 y de acuerdo al instructivo de toma de muestra del laboratorio AGQ Lab.

Figura 6.

Punto de muestreo para la toma de muestras de efluentes



c. Técnica de Colecta: La toma de muestra se hizo con un brazo muestreador el cual se introdujo dentro de la poza a una profundidad aproximada de 20 a 30 cm para asegurar que la muestra fuera representativa de la columna de agua en el punto de descarga.

d. Preservación y Transporte: Inmediatamente después de la colecta, las muestras fueron etiquetadas, cerradas herméticamente y colocadas en un conservador térmico (cooler) con ice pack y preservadas con ácido nítrico hasta obtener un Ph < 2 para el parámetro metales y también manteniendo una temperatura de refrigeración de 2°C a 6°C tal como señala en la tabla 2 de la NTP 214.060-2016 así como también señala en el instructivo del laboratorio AGQ lab. El transporte al laboratorio se realizó teniendo en cuenta su perecibilidad para garantizar la estabilidad de los parámetros analíticos, conforme a lo estipulado en los protocolos citados.

Este procedimiento garantizó la integridad de las muestras desde su origen hasta su recepción en el laboratorio, constituyendo la línea base para la caracterización fisicoquímica inicial y el posterior diseño del experimento de biorremediación.

4.4. Instrumentos

La siguiente tabla muestra los instrumentos empleados en la medición de los parámetros fisicoquímicos.

Tabla 3.

Instrumentos para el proceso de biorremediación y envió de muestras

Equipo	Descripción	Materiales e insumos	Descripción
Microscopio	Equipo para ver microrganismos	Mascarilla KN95	Para proteger nariz y boca de la contaminación
Incubadora	Sirve para simular la temperatura que se quiere	Gasa	Para cubrir, proteger y limpiar
Campana bacteriológica	Para prevenir contaminación en procedimientos microbiológicos	Bota descartable	Para el aislamiento de la contaminación cruzada
Lector digital McFarland vitex	Sirve para medir la concentración a la escala McFarland en digital.	Placa Petri descartable	Para plaquear medios de cultivo
Patrón escala McFarland manual	Sirve para medir la concentración a la escala McFarland no digital.	Agua destilada	Neutralizar el pH de materiales
Autoclave	Sirve para eliminar/esterilizar microorganismos patógenos	Suero fisiológico	Sirve para mantener la fisiología celular
Cámara fotográfica	Para tomar fotos	Frascos de vidrio x 1000 ml	Almacena medios líquidos
Balanza analítica	Equipo para pesar volúmenes mínimos.	Probeta de vidrio x 1000 ml	Mide con exactitud volúmenes, en laboratorio.
Mechero Bunsen	Sirve para trabajar en el área de microbiología	Mandiles descartables	En laboratorio, para proteger el cuerpo entero de salpicaduras
		Tubo de ensayo	Sirve para hacer ensayos en laboratorio
		Gradilla	Para poner tubos de ensayo sobre ellas
		Gorras descartables	Sirve para proteger el cabello

	Guantes quirúrgicos estériles	Sirve de protección de las manos
	Alcohol	Sirve para desinfectar manos y mesas, etc.
	Lejía	Se utiliza para desinfectar y matar bacterias
	Detergente	Se utiliza para lavar materiales de laboratorio
	Franelas	Sirve para limpieza de superficies planas
	Fosforo	Se utiliza para encender la llama
	Balón de gas	Se utiliza para trabajar en el área de microbiología
	Mechero bunsen	Sirve para matar contaminantes del aire
	Medios de cultivo (Mueller hinton, TSA)	Medios que se utilizan como alimento para los microorganismos
	Colorantes para tinción Gram	Para ver los tipos de bacterias
	Laminas porta objetos	Para el almacenamiento y observación de muestras en microscopio
	Mandil de laboratorio	Equipo de protección personal
	Pipetas y punteras (tips)	Se utiliza para extraer muestras liquidas pequeñas
	Hiposos	en microbiología se utiliza para aislar microorganismos
	Papel aluminio	Para el pesaje del medio de cultivo
	Asa de siembra	Se utiliza para cultivar microorganismos

En la siguiente tabla 3 se detallan los materiales y equipos empleados en el desarrollo del estudio, junto con sus respectivas cantidades. La selección y uso de estos insumos fueron fundamentales para garantizar la precisión y confiabilidad de los resultados obtenidos. Los materiales incluyeron reactivos, medios de cultivo y recipientes adecuados para el manejo de las muestras, mientras que los equipos consistieron en instrumentos de medición y análisis que permitieron evaluar las concentraciones de metales y otros parámetros de calidad del agua.

4.5. Procedimientos

4.5.1. Planeación/organización para el ingreso a la estación de trenes Perú Rail.

El muestreo de aguas contaminadas con metales del taller de trenes *Perú Rail* requirió la obtención de una autorización especial para el acceso supervisado por el gerente de la empresa. Posteriormente, se programó la fecha y hora de recolección de muestras, siguiendo los protocolos establecidos. Estos incluyeron la necesidad de condiciones climáticas favorables, la operatividad del taller de trenes y la integridad del buzón de agua residual. Estos pasos son esenciales para garantizar la validez y representatividad de las muestras recopiladas, siguiendo un enfoque científico riguroso en el proceso de muestreo de aguas contaminadas en el contexto específico de Perú Rail.

Implementos para la toma de muestras: Los implementos para la toma de muestras fueron: Mascarillas KN95, Zapatos de cuero, Mandiles, Casco de seguridad, Guantes de un solo uso, chalecos de la empresa Perú Rail.

Materiales de toma de muestras: Brazo muestreador para toma de muestras, galón vacío limpio estéril, envase de vidrio limpio estéril para sacar el agua residual.

4.5.2. Ubicación del punto de toma de muestras.

Figura 7.

Ubicación geográfica del punto de toma de muestras



Allí en esta figura 7, se muestra la estación de trenes San pedro- Cusco donde se muestra las coordenadas del punto de toma de muestra en el departamento del Cusco, provincia Cusco, Distrito Cusco, con una latitud de -13.522233, longitud de -71.983602 y con una altitud de 3 415 msnm.

4.5.3. Procedimientos para la toma de muestras de agua contaminada con metales

En el marco procedimental de la investigación, se llevó a cabo la extracción de muestras del efluente del agua residual proveniente del taller de trenes de Perú Rail. Para garantizar la rigurosidad y validez de los resultados obtenidos, se siguió el muestreo según el protocolo de aguas residuales no domesticas que se descargan en la red de alcantarillado – NTP 214.060:2016: para muestras puntuales que indican en el anexo A. Posteriormente, Se realizó el análisis de los parámetros fisicoquímicos asociados con la presencia de metales totales en las muestras recogidas. Este análisis se realizó en las dependencias pertenecientes al Laboratorio AGQ LABS, situado en la ciudad de Lima, específicamente en la dirección

Av. Luis Orbegoso 350, San Luis Lima, Perú. La elección de este laboratorio se fundamentó en su reconocida acreditación, experiencia y capacidad técnica para llevar a cabo análisis especializados en el ámbito de calidad del agua. El uso de métodos científicos y la aplicación de estándares reconocidos contribuyeron a la fiabilidad y precisión de los resultados obtenidos en el estudio.

4.5.3.1. Ruta de la muestra de agua contaminada

a) En campo

- Primero Coordinación con el encargado de *Perú Rail* para el ingreso con los chalecos y cascos a la empresa.
- Luego se procedió a colocar los equipos de protección personal para el comienzo del muestreo: mandil, chaleco, casco, mascarilla y guantes con el fin de asegurar la integridad del muestreo y prevenir accidente /incidentes.
- A continuación, se identificó el punto de muestreo, los cuales se georreferenciaron.
- Del mismo modo se procedió a extraer el agua en galón no transparente.

Tabla 4.

Materiales para salida de campo

Equipo	Material	Cantidad
Cámara fotográfica	Brazo muestreador	1
	Galones no transparentes y jarra	2
	Casco de seguridad	2
	Chalecos	2
	Mandil	2
	Guantes	2 pares
	Mascarilla	2
	Zapatos de cuero	2 pares
	Envase para muestreo	1
	Cámara fotográfica	1

En la siguiente tabla 4 se detallan los materiales y equipos utilizados en el presente estudio, junto con sus respectivas cantidades. La selección de estos elementos fue clave para el desarrollo de la investigación, asegurando la precisión en la toma de muestras, el análisis de los contaminantes y la aplicación de los tratamientos de biorremediación.

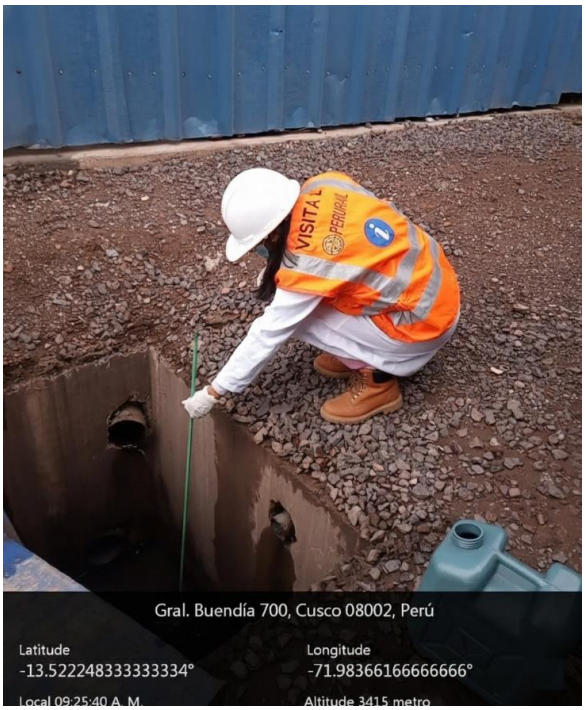
Figura 8.

Punto de toma de muestras de agua en el punto bajo supervisión



Figura 9.

Punto de toma de muestras de agua en el punto bajo supervisión



b) En laboratorio

Primera etapa

- Preparación en el laboratorio

A) Una vez recolectada la muestra de agua se prosiguió llevar al laboratorio a temperatura ambiente, de allí en adelante se llenó la cadena de custodia de las muestras de agua para él envió al laboratorio AGQ Labs de Lima donde analizaron los parámetros para la línea base como, metales totales, exámenes físico químicos y turbidez. AGQ Labs.

B) Seguidamente se procedió a embazar la muestra de agua para el análisis fisicoquímico de línea base en una Frasco de plástico limpio estéril, 120 ml a <= 6 °C de temperatura, para metales totales se acondiciono una cantidad de 120 ml en Frasco de plástico limpio estéril más 10 gotas de ácido nítrico HNO_3 a <= 6 °C de temperatura , para la turbidez se acondicionó en otro Frasco de plástico ámbar limpio estéril 120 ml de agua contaminada a <= 6 °C de temperatura.

C) Todo ello y en esas condiciones se envió al laboratorio AGQ Labs de la ciudad de Lima para el análisis bajo protocolos de bioseguridad que acredita el laboratorio. Como se muestra en la imagen.

Tabla 5 .

Materiales para laboratorio

Equipo	**Material**	**Cantidad**
Cámara fotográfica	Frasco de plástico estéril	3
	Frasco ámbar de vidrio	1
	Guantes descartables	8 pares
	Preservante (ácido nítrico)	1
	Etiquetas	4
	Cadena de custodia	1
	Cooler	1
	Lapiceros	2
	Probeta	2

En la siguiente tabla 5 se muestran los materiales y equipos empleados en el estudio, junto con las cantidades correspondientes. Esta información es esencial para comprender los recursos utilizados durante el desarrollo del informe y garantizar la replicabilidad de los procedimientos realizados. La correcta selección y cantidad de estos elementos fueron fundamentales para realizar las mediciones, experimentos y análisis necesarios para obtener resultados precisos y válidos.

Figura 10.

Primera etapa – Acondicionamiento de la muestra línea base para el envió a AGQ Labs-Laboratorio de Lima



Segunda etapa

- **Preparación de medios de cultivo agar Mueller Hinton y Agar (TSA)**
  - **Primero. –** Se hizo el pesaje de los medios de cultivo agar TSA y Mueller Hinton en la balanza analítica
  - **Segundo. -** La cantidad de Mueller Hinton pesada en la balanza analítica se homogenizó con agua destilada.
  - **Tercero. –** Se diluyó el medio de cultivo mezclado con agua destilada en un matraz sobre una hornilla eléctrica
  - **Cuarto. –** Luego se procedió al encendido de la autoclave.
  - **Quinto. –** Para el funcionamiento adecuado de la autoclave se puso agua destilada hasta la línea indicadora.

- **Sexto. –** Después se pusieron los medios de cultivo dentro del autoclave durante 15 minutos a 121°C
- **Séptimo.** – Terminado el tiempo del autoclavado se esperó su enfriamiento
- **Octavo.** – Seguidamente se sacaron los medios de cultivo de la autoclave para luego empezar a plaquear en las placas Petri.
- **Noveno.** – Finalmente una vez terminado y enfriado el plaqueado se puso a la incubadora para pasar control de calidad durante 24 horas.

Figura 11.

Segunda etapa – Preparación de medios de cultivo



Figura 12.

Preparación de medios de cultivo 02



Tercera etapa

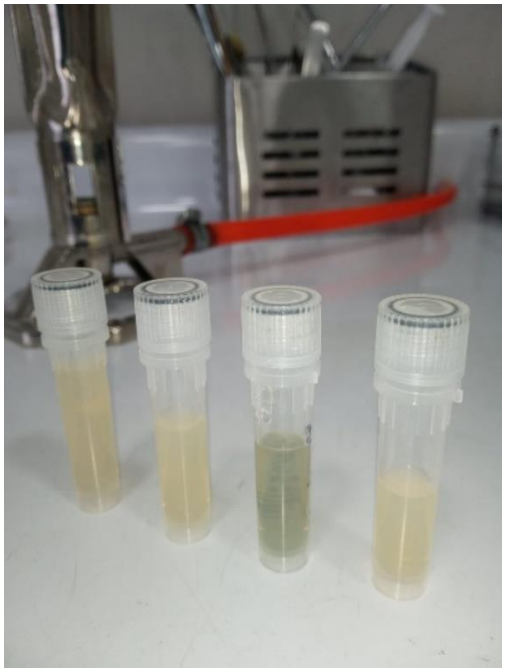
- **Búsqueda de la bacteria *Pseudomonas Sp.***

La búsqueda de la bacteria *Pseudomonas sp* se realizó en el laboratorio clínico Biológico Servisalud E.I.R.L - Cusco. Laboratorio que se dedica a los análisis clínicos microbiológicos, Inmunológicos, bioquímicos etc. de sus pacientes, Donde se aisló la *Pseudomonas sp* de un paciente con problemas respiratorios.

La muestra de esputo del paciente se sometió a un cultivo bacteriano utilizando medios de cultivo como agar sangre, MacConkey y manitol salado, luego las colonias sospechosas a *Pseudomonas sp* se transfirieron al medio de cultivo agar mueller Hinton y TSA para su identificación bacteriana.

Figura 13.

Búsqueda de la bacteria Pseudomonas Sp.



- **Identificación bacteriana del género *Pseudomonas sp***

La identificación bacteriana de *Pseudomonas sp* se realizó por medio selectivo donde se observó el color azul verdoso en el medio Mueller Hinton, característico de la bacteria y en el medio de cultivo TSA se observó un color con tendencia a verde del mismo modo se hizo una coloración Gram (sirve para ver el tipo de bacteria) de la colonia aislada (Rojas García & Rengifo Torrejón, 2021).

- **Acondicionamiento bacteriano**

a. Proliferación de las *Pseudomonas Sp mediante cultivo en placas Petri*

La proliferación de bacterias se hizo una vez identificada a la bacteria como *Pseudomonas sp*, el método para la proliferación de bacterias se hizo utilizando varias placas de TSA y Mueller Hinton cuyo procedimiento se practicó en una campana bacteriológica para evitar cualquier tipo de contaminación utilizando hisopos estériles empapados con

Pseudomonas sp más agua destilada estéril, ello por el método de estrías, Así mismo las bacterias cultivadas fueron llevadas a la incubadora y las placas invertidas e incubadas a 37 °C por 48 horas.

Figura 14.

Proliferación de la Bacteria Pseudomonas sp



b. Determinación de la concentración de *Pseudomonas sp* con el agua contaminada

El proceso seguido para determinar la concentración de *Pseudomonas sp* fue de acuerdo al patrón de turbidez escala McFarland, los cuales representa 1.5 x 10^8 UFC/ml de bacterias, Para llevar a cabo esto, se empleó un frasco de vidrio con capacidad de 500 ml para una solución de agua destilada estéril 200 ml y 400 ml, seguidamente se introdujo con la ayuda de hisopos estériles las *Pseudomonas sp* tantas veces sea hasta llegar a la turbidez de 0.5 McFarland.

Para mayor precisión de la prueba se utilizó dos instrumentos de laboratorio.

- El patrón McFarland 0.5, su procedimiento consiste en la comparación macroscópica (visual) del estándar con la muestra.
- El instrumento VITEK DensiCHEK es un accesorio destinado al uso con el VITEK 2 sistemas para medir la densidad óptica de una suspensión de microorganismos. El instrumento reporta valores en unidades McFarland, equivalentes a las concentraciones de microorganismos. VITEK DensiCHEK está destinado para su uso con tubos de poliestireno, y el rango de lectura es de 0,00 a 4,00 McFarland.

Figura 15..

Determinación de la concentración de Pseudomonas sp con el agua contaminada al 40% y 80% en la campana bacteriológica



Figura 16.

Equipo Vitex Densichek



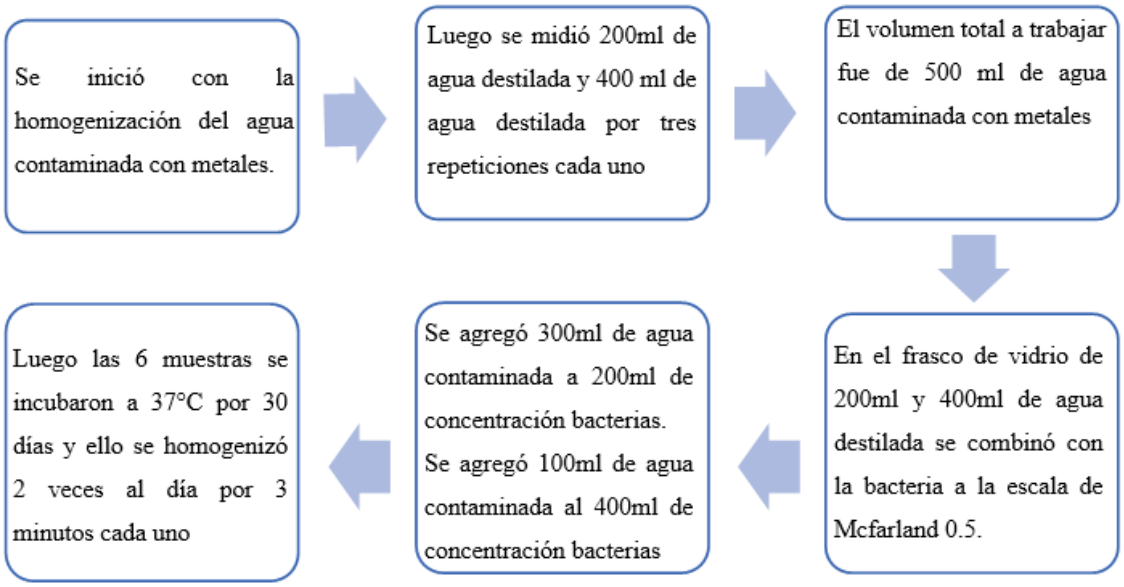
Figura 17.

Estándar Mc Farland 0.5



Figura 18.

Proceso de las mesclas de agua contaminada con dosis de Pseudomonas sp



En la Figura 18 nos muestra cómo en esta etapa se realizaron mezclas de agua contaminada con dosis de *Pseudomonas sp* (como se ilustra en la Fig. 4). Se añadieron 200 ml y 400 ml de agua destilada con dosis de *Pseudomonas sp* al 40 % y 80 %, respectivamente se mezclaron con agua contaminada. Se esperaron durante 30 días consecutivos agitando dos veces al día por 3 minutos cada uno para ver los resultados.

Cuarta etapa

Acondicionamiento y envió de las seis muestras al laboratorio AGQ Labs de Lima

Concluida los 30 días de biorremediación se procedió a embazar la muestra de agua para el análisis fisicoquímico, en un frasco de plástico limpio estéril, 120 ml a <= 6 °C de temperatura, para metales totales se acondiciono una cantidad de 120 ml en frasco de plástico limpio estéril más 10 gotas de ácido nítrico HNO_3 a <= 6 °C de temperatura , para la turbidez se acondicionó en otro frasco de plástico limpio estéril 120 ml de agua contaminada a <= 6 °C de temperatura y 120 ml en frasco Ámbar estéril fueron para el color a <= 6 °C de

temperatura. Todo ello y en esas condiciones se envió al laboratorio AGQ Labs de la ciudad de Lima para el análisis bajo protocolos de bioseguridad que acredita el laboratorio.

Figura 19.

Acondicionamiento y envió de las seis muestras al laboratorio AGQ Labs de Lima



Quinta etapa

- **Resultado final sobre la Biorremediación con *Pseudomonas Sp***

Los metales mencionados como el arsénico, cadmio, cromo y otros metales fueron evaluados mediante análisis químico en el laboratorio AGQ Labs, Así mismo la Biorremediación de metales totales fueron medidos por la disminución de dicho compuesto.

Tabla 6 .

Materiales para trabajo en laboratorio de biorremediación

Equipo	**Materiales e insumos**
Microscopio	Mascarilla KN95
Incubadora	Gasa
Campana bacteriológica	Bota descartable
Lector digital McFarland vitex	Placa Petri descartable
Patrón escala McFarland manual	Agua destilada
Autoclave	Suero fisiológico
Cámara fotográfica	Frascos de vidrio x 1000 ml
Balanza analítica	Probeta de vidrio x 1000 ml
	Mandiles descartables
	Tubo de ensayo
	Gradilla
	Gorras descartables
	Guantes quirúrgicos estériles
	Alcohol
	Lejía
	Detergente
	Franelas
	Fosforo
	Balón de gas
	Mechero bunsen
	Medios de cultivo (Mueller hinton, TSA)
	Colorantes para tinción Gram
	Laminas porta objetos
	Mandil de laboratorio
	Pipetas y punteras (tips)
	Hiposos
	Papel aluminio
	Asa de siembra

En la siguiente 6 se presentan los materiales y equipos que fueron esenciales para la ejecución del proceso de biorremediación. La correcta selección y uso de estos insumos fueron fundamentales para llevar a cabo los procedimientos experimentales de manera eficiente y garantizar la obtención de resultados confiables. Estos materiales y equipos permitieron realizar la preparación de las muestras, la aplicación de los tratamientos de biorremediación y el análisis de los contaminantes presentes, lo cual fue crucial para evaluar la efectividad del proceso en la reducción de contaminantes en el agua.

4.5.4. Concepto después de la biorremediación de aguas contaminadas con metales totales haciendo uso de bacterias Pseudomonas sp.

La biorremediación microbiana se basó en la capacidad de ciertas bacterias, como las *Pseudomonas sp*, para descomponer elementos orgánicos contaminantes e inorgánicos que se encuentran en el agua, convirtiéndolos en elementos menos tóxicos o eliminándolos por completo, ya que la biorremediación es una manera efectiva y sostenible para la restauración de la calidad del agua contaminada y promover la recuperación del ecosistema acuático(Hu et al., 2023).

Este riguroso proceso experimental permitió estudiar el potencial del microorganismo *Pseudomonas sp* en la restauración biológica de aguas afectadas con metales, contribuyendo así al avance del conocimiento En el ámbito de la recuperación ambiental y el manejo sostenible de los recursos hídricos.

4.5.5. Aplicabilidad

La Biorremediación con bacterias en aguas contaminadas es una técnica efectiva y sostenible para la limpieza de entornos acuáticos afectados por contaminantes. Las bacterias tienen la habilidad para degradar diversos contaminantes en el agua, incluyendo, metales totales y elementos orgánicos. entre otros. La aplicabilidad de la Biorremediación con bacterias en aguas contaminadas es amplia y se ha utilizado con éxito en diversos escenarios, como derrames de petróleo, vertidos industriales, aguas residuales, entre otros. Esta técnica puede ser implementada in situ, lo que significa que las bacterias se introducen directamente en el cuerpo de agua contaminado, o ex situ, donde se lleva a cabo el tratamiento fuera del lugar de contaminación. En este caso particular la Biorremediación con *Pseudomonas sp* ayudará de manera sustancial al medio ambiente por su bajo costo y fácil empleo.

4.6 Análisis de datos

Se utilizaron métodos no paramétricos para la comparación de medias debido al tamaño de muestra reducido de seis muestras. Los métodos no paramétricos son especialmente útiles en situaciones donde los supuestos necesarios para los métodos paramétricos, como la normalidad de los datos, no se pueden garantizar debido a la pequeña muestra (Berlanga & Rubio Hurtado, 2012).

Específicamente, se empleó la prueba U de Mann-Whitney, una técnica no paramétrica que compara dos grupos independientes y determina si una muestra tiende a tener valores mayores o menores que la otra. Esta prueba es adecuada para nuestro (Berlanga & Rubio Hurtado, 2012) análisis dado que no asume una distribución específica de los datos y es robusta frente a valores atípicos y distribuciones no normales.

Los grupos de estudio son: tratamiento con *Pseudomonas sp* a una concentración del 40 % y al 80 %. Se pretende determinar cuál de los dos tratamientos disminuye más el grado de concentración de los elementos contaminantes en aguas residuales contaminadas con metales pesados provenientes del taller de trenes Perú Rail.

Prueba U de Mann-Whitney

La prueba U de Mann-Whitney es una herramienta estadística útil cuando se tienen dos muestras independientes y se desea determinar si existe una diferencia en la magnitud de la variable estudiada. Se aplica cuando los datos no siguen una distribución normal y cuando la variable analizada es ordinal o continua lo que significa que no depende de una distribución específica. En este estudio, se evaluó si el tratamiento con *Pseudomonas sp* al 80% es más eficaz que el tratamiento al 40 % en cuanto a los parámetros físico-químicos, aniones y metales totales. También es una técnica no paramétrica que permite comparar dos grupos independientes y determinar si una muestra tiende a presentar valores significativamente mayores o menores que la otra. Este método es particularmente útil

cuando no se puede asumir que los datos siguen una distribución normal, ya que se basa en la ordenación de los valores en lugar de en parámetros como la media y la varianza. Además, es robusto frente a la presencia de valores atípicos y distribuciones no normales, lo que lo convierte en una herramienta adecuada para este análisis.

En este estudio, la prueba U de Mann-Whitney se aplicará para evaluar si el tratamiento con *Pseudomonas sp* al 80 % presenta una eficacia significativamente mayor en comparación con el tratamiento al 40 %. Para ello, se analizarán diversas características de las muestras, incluyendo parámetros físico-químicos, concentraciones de aniones y niveles de metales totales. La comparación se basará en la distribución de los valores en cada grupo, permitiendo identificar posibles diferencias en la magnitud de los efectos entre los tratamientos sin depender de supuestos estrictos sobre la naturaleza de los datos.

Parámetros Físico - Químicos:

En esta sección se evaluaron la conductividad eléctrica y la turbidez. En este sentido, se plantearon las siguientes Hipótesis para cada parámetro:

a) Conductividad eléctrica:

- H_0: El tratamiento con *Pseudomonas sp* al 80 % no reduce más (o reduce igual) la conductividad eléctrica que el tratamiento con *Pseudomonas sp* al 40 %.
- H_1: El tratamiento con *Pseudomonas sp* al 80 % reduce más la conductividad eléctrica que el tratamiento con *Pseudomonas sp* al 40 %.

Para el análisis de los datos, se utilizó el software estadístico SPSS, el cual permitió procesar la información de manera eficiente y precisa. A través de este software, se llevaron a cabo diversos cálculos y procedimientos estadísticos, asegurando la confiabilidad de los resultados obtenidos. En la siguiente tabla se presentan las principales métricas del estudio, incluyendo el p-valor correspondiente, lo que permite evaluar la significancia estadística de los resultados.

Tabla 7.

Estadísticos de prueba de la conductividad eléctrica

Estadisticos de prueba[a]

	Conductividad eléctrica
U de Mann-Whitney	,000
W de Wilcoxon	6,000
Z	-1,964
Sig. Asintótica(bilateral)	,050
Significación exacta [2* (sig. unilateral)]	,100[b]

a. Variable de agrupación: Porcentaje

b. No corregido para empates.

En la Tabla 7 se muestra el valor de p-valor (Significación Asintótica, bilateral) destacado en un cuadro rojo. Debido al uso de una prueba unilateral en este estudio, el valor de p-valor se divide entre 2 (p-value=0.025). Por consiguiente, desestimamos la hipótesis nula (H_0), este hecho quiere decir que el tratamiento con *Pseudomonas sp* al 80 % es más efectivo que el tratamiento al 40 % en reducir la conductividad eléctrica en las aguas residuales contaminadas del taller de trenes Perú Rail.

b) Turbidez:

- H_0: El tratamiento con *Pseudomonas sp.* al 80 % no reduce más (o reduce igual) la turbidez en comparación con el tratamiento con *Pseudomonas sp* al 40 %.
- H_1: El tratamiento con *Pseudomonas sp* al 80 % reduce más la turbidez en comparación con el tratamiento con *Pseudomonas sp* al 40 %.

Tabla 8.

Estadísticos de prueba de la turbidez

Estadisticos de prueba[a]	
	Turbidez
U de Mann-Whitney	1,000
W de Wilcoxon	7,000
Z	-1,550
Sig. Asintótica(bilateral)	,121
Significación exacta [2* (sig. unilateral)]	,200[b]

a. Variable de agrupación: Porcentaje

b. No corregido para empates.

En la tabla 8 dado que el p-valor es 0.0605, que es mayor que el nivel de significancia no tenemos suficiente evidencia para rechazar la Hipótesis nula. Esto significa que no podemos afirmar con certeza estadística que el tratamiento con *Pseudomonas sp* al 80 % reduce más la turbidez que el tratamiento al 40 %. En otras palabras, no hay diferencia significativa detectada en la reducción de turbidez entre los dos tratamientos.

Aniones:

En esta sección se evaluarán la Alcalinidad y los sulfatos. En este sentido, se plantearán las siguientes Hipótesis para cada uno:

a) Alcalinidad:

- H_0: El tratamiento con *Pseudomonas sp* al 80 % no reduce más (o reduce igual) la concentración de alcalinidad que el tratamiento con *Pseudomonas sp* al 40 %.

- H_1: El tratamiento con *Pseudomonas sp* al 80 % reduce más la concentración de alcalinidad que el tratamiento con *Pseudomonas sp* al 40 %.

Tabla 9.

Estadísticos de prueba de la alcalinidad

Estadisticos de prueba[a]

	Alcalinidad
U de Mann-Whitney	2,000
W de Wilcoxon	8,000
Z	-1,091
Sig. Asintótica(bilateral)	,275
Significación exacta [2* (sig. unilateral)]	,400[b]

a. Variable de agrupación: Porcentaje

b. No corregido para empates.

En la tabla 9 dado que el p-valor obtenido es 0.1375, que es mayor que el nivel de significancia α=0.05, no tenemos suficiente evidencia para rechazar la Hipótesis nula en este caso. No podemos concluir que haya una diferencia significativa en la reducción de la concentración de alcalinidad entre el tratamiento con *Pseudomonas sp* al 80 % y el tratamiento con *Pseudomonas sp* al 40 %.

b) Sulfatos:

- H_0: El tratamiento con *Pseudomonas sp* al 80 % no reduce más (o reduce igual) la concentración de sulfatos que el tratamiento con *Pseudomonas sp* al 40 %.
- H_1: El tratamiento con *Pseudomonas sp* al 80 % reduce más la concentración de sulfatos que el tratamiento con *Pseudomonas sp* al 40 %.

Tabla 10.

Estadísticos de prueba de los sulfatos

Estadisticos de prueba[a]	
	Sulfatos
U de Mann-Whitney	,000
W de Wilcoxon	6,000
Z	-2,087
Sig. Asintótica(bilateral)	,037
Significación exacta [2* (sig. unilateral)]	,100[b]

a. Variable de agrupación: Porcentaje

b. No corregido para empates.

En la tabla 10 dado que el valor de P-valor es igual a 0. 0185, rechazamos la Hipótesis nula (H_0). Por tanto, hay evidencia suficiente para afirmar que el tratamiento con *Pseudomonas sp* al 80 % reduce más la concentración de sulfatos que el tratamiento al 40 % en las aguas residuales contaminadas del taller de trenes Perú Rail.

Metales totales:

En este estudio se tienen un total de 13 metales y para el cual serán planteados las siguientes Hipótesis:

- H_0: El tratamiento con *Pseudomonas sp* al 80 % no reduce más (o reduce igual) la concentración de metales totales que el tratamiento con *Pseudomonas sp* al 40 %.
- H_1: El tratamiento con *Pseudomonas sp* al 80 % reduce más la concentración de (cromo, antimonio, azufre, bario, cobre, estroncio, hierro, litio, manganeso,

molibdeno, níquel, plomo y zinc cada uno en su forma total) que el tratamiento con *Pseudomonas sp* al 40 %.

Tabla 11.

Estadísticos de prueba de los 12 metales

Estadisticos de prueba[a]

	Antimonio total	Azufre Total	Bario Total	Cobre Total	Estroncio Total	Hierro Total	Litio Total	Manganeso Total	Molibdeno Total	Niquel Total	Plomo Total	Zinc Total
U de Mann - Whitney	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,500	,000	,000	,000	,000
W de Wilcoxon	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000	6,500	6,000	6,000	6,000	6,000
Z	-2,236	-1,964	-2,023	-1,964	-2,121	-1,964	-2,087	-1,771	-2,023	-2,121	-1,964	-1,964
Sig. Asintótica(bilateral)	,025	,050	,043	,050	,034	,050	,037	,077	,043	,034	,050	,050
Significación exacta [2* (sig. unilateral)]	,100[b]	,100[b]	,100[b]	,100[b]	,100[b]	,100[b]	,100[b]	,100[b]	,100[b]	,100[b]	,100[b]	,100[b]

a. Variable de agrupación: Porcentaje

b. No corregido para empates.

Tabla 12.

Estadísticos de prueba del cromo total

Estadisticos de prueba[a]	
	Cromo Total
U de Mann - Whitney	,500
W de Wilcoxon	6,500
Z	-1,826
Sig. Asintótica(bilateral)	,068
Significación exacta [2* (sig. unilateral)]	,100[b]

c. Variable de agrupación: Porcentaje

d. No corregido para empates.

En las tablas 11 y 12 se muestran los valores de p-valor (Significación Asintótica, bilateral) destacados en un cuadro rojo. Debido al uso de pruebas unilaterales en este estudio, los valores de p-valor se dividen entre 2. Por lo tanto, podemos concluir lo siguiente para los diferentes metales.

En cualquier circunstancia, los p-valores obtenidos son por debajo del nivel de significancia $\alpha = 0.05$, lo que nos lleva a rechazar la hipótesis nula en favor de la hipótesis alternativa. Esto sugiere que el tratamiento con *Pseudomonas sp* al 80 % es más efectivo que el tratamiento al 40 % en reducir la concentración total de antimonio, azufre, bario, cromo, cobre, estroncio, hierro, litio, manganeso, molibdeno, níquel, plomo y zinc en las aguas residuales contaminadas del taller de trenes Perú Rail.

4.7. Consideraciones éticas

Dentro de las consideraciones éticas se considera la recolección de muestras de aguas residuales del taller de trenes Perú Rail, se obtuvo el consentimiento informado de su administración mediante el documento de autorización para la toma de muestra que se anexa en la parte final del documento. Se proporcionó información detallada sobre el propósito del estudio, los procedimientos a seguir, el tiempo de estudio y beneficios, se garantizó la colaboración por parte del coordinador de servicios generales del ferrocarril transandino S.A. para el ingreso a las instalaciones del taller de trenes Perú Rail y también la confidencialidad de toda información obtenida de Perú Rail y del personal involucrado, almacenando los datos en servidores seguros con acceso restringido y limitando el acceso únicamente al equipo de investigación. El estudio presentó riesgos mínimos para el medio ambiente y para el personal de Perú Rail. Las acciones de recolección de muestras y el manejo de cultivos bacterianos se realizaron siguiendo protocolos de seguridad estrictos para minimizar cualquier riesgo. Los beneficios del estudio incluyeron la potencial mejora en la gestión de aguas residuales y la contribución al conocimiento científico en el campo de la biorremediación. La participación de Perú Rail en este estudio fue completamente aceptada a petición de los investigadores de esta tesis, sin embargo, los datos recolectados se almacenaron en una base de datos segura y se mantuvieron confidenciales, implementando medidas para asegurar que únicamente el personal autorizado pueda permitir acceso a ellos. Los resultados del estudio se compartieron con Perú Rail y siempre manteniendo una comunicación transparente sobre los hallazgos y su relevancia para la gestión ambiental de la empresa. Cualquier conflicto de interés fue declarado de manera abierta y gestionado adecuadamente.

El estudio fue aprobado tras la revisión del Comité de Ética de la Universidad Tecnológica de los Andes filial Cusco, y se adjuntaron la carta de aprobación y la correspondencia relevante con el comité de ética en los anexos de la tesis. Estas

consideraciones de responsabilidad ética aseguraron que la investigación se realizara de manera responsable y respetuosa, protegiendo los derechos y la satisfacción de todos los involucrados. así como del entorno natural.

V. Resultados y discusión

5.1. Resultados

Los resultados de línea base y post Biorremediación con *Pseudomonas sp* de metales totales y físico químico que se muestran están procesados de acuerdo a la normativa NTP ISO /IEC 17025:2017 y/o ISO /IEC 17025:2017. En la siguiente tabla se muestra los resultados de la línea base, donde hemos considerado los parámetros que son importantes para la investigación.

- **Grado de concentración de los elementos contaminantes como el cromo, cadmio, arsénico y otros metales antes y después del tratamiento con *Pseudomonas sp* en aguas residuales contaminadas con metales totales provenientes del taller de trenes Perú Rail.**

Tabla 13

Resultados de línea base

RESULTADOS DE LÍNEA BASE			RESULTADO POST TRATAMIENTO concentración de dosis de *Pseudomonas sp*		VMA para descarga al sistema de alcantarillado
			40%	80%	
Parámetros Físico-Químicos	Color	4 CU	6 CU	7.33 CU	-
	Conductividad eléctrica	127 µS/cm a 25 °C	91.26 µS/cm a 25 °C	62.33 µS/cm a 25 °C	-
	pH	6.67 Unidades de pH	7.07 Unidades de pH	6.97 Unidades de pH	-
	Turbidez	22,0 NTU	15 NTU	10.83 NTU	-
	Temperatura	21.4 °C	37 °C	37 °C	-
Aniones	Alcalinidad	39.7 mg/L $CaCO_3$	29.93 mg/L $CaCO_3$	25.3 mg/L $CaCO_3$	-
	Sulfatos	17.2 mg/L	10.6 mg/L	< 5 mg/L	1000 mg/L
Metales totales	Antimonio	0,001 mg/L	0.001 mg/L	<0.001 mg/L	-
	Azufre	6,2 mg/L	4.63 mg/L	1.56 mg/L	-
	Bario	0,048 mg/L	0.026 mg/L	0.010 mg/L	-
	Cobre	0,011 mg/L	0.010 mg/L	0.004 mg/L	3 mg/L
	Cromo	0,003 mg/L	0.0026 mg/L	0.0013 mg/L	10 mg/L
	Estroncio	0,040 mg/L	0.031 mg/L	0.009 mg/L	-
	Hierro	0,572 mg/L	0.433 mg/L	0.160 mg/L	-
	Litio	0,007 mg/L	0.006 mg/L	0.002 mg/L	-
	Manganeso	0,040 mg/L	0.009 mg/L	0.005 mg/L	4 mg/L
	Molibdeno	0,018 mg/L	0.012 mg/L	0.003 mg/L	-
	Níquel	0,002 mg/L	0.001 mg/L	<0.001 mg/L	4mg/L
	Plomo	0,0149 mg/L	0.009 mg/L	0.0039 mg/L	0.5mg/L
	Zinc	0,362 mg/L	0.240 mg/L	0.107 mg/L	10 mg/L

De acuerdo al análisis de la tabla 13, línea base identificó la presencia de parámetros fisicoquímicos, aniones, metales totales en agua residual generadas en el taller de trenes Perú Rail. Las determinaciones fueron realizadas en el laboratorio AGQ Labs, ubicado en Lima, el cual cuenta con acreditación otorgada por INACAL y sigue protocolos analíticos

estandarizados. Estos datos resultan fundamentales para evaluar el grado de biorremediación tras la aplicación del tratamiento con *Pseudomonas sp.***,** permitiendo un monitoreo preciso de la reducción de contaminantes y la validación de la eficacia del proceso. No obstante, en la tabla de resultados no se incluyen los metales totales cadmio y arsénico, debido a que en el análisis de línea base sus concentraciones fueron reportadas como indetectables, sin embargo, cabe precisar que los resultados fueron comparados con los valores máximos admisibles (VMA) que estipula en el D.S. 010 – 2019 VIVIENDA para aguas residuales industriales no domésticas, por otro lado la tabla indica que los resultados obtenidos se encuentran dentro de los valores máximos admisibles establecidos por la normativa vigente. En consecuencia, la empresa Perú Rail no está generando contaminación en el sistema de alcantarillado, lo que evidencia una adecuada gestión de sus aguas residuales. Por tanto, no representa ningún riesgo para la salud humana ni para el medio ambiente.

- **Grado de disminución de los elementos contaminantes como el cromo, cadmio, arsénico y otros metales después del tratamiento con *Pseudomonas sp* en aguas residuales contaminadas con metales totales provenientes del taller de trenes Perú Rail.**

Tabla 14

Resultados de línea base y post biorremediación con Pseudomonas sp

RESULTADOS DE LÍNEA BASE Y POST BIORREMEDIACIÓN CON *PSEUDOMONAS SP*							
Muestras	Nro. de repeticiones de las *pseudomonas*	Análisis de línea base			Resultados después de la biorremediación		
		Cr	Cd	As	Cr	Cd	As
M-1,2,3	Muestra 01 al 40%	0.003	<0.0002	<0.001	0.002	<0.0002	<0.001
	Muestra 02 al 40%				0.003	<0.0002	<0.001
	Muestra 03 al 40%				0.003	<0.0002	<0.001
	PROMEDIO DE RESULTADOS DE LAS MUESTRAS 01,02,03 AL 40%				**0.0026**	**<0.0002**	**<0.001**
M-4,5,6	Muestra 04 al 80%	0.003	<0.0002	<0.001	0.001	<0.0002	<0.001
	Muestra 05 al 80%				0.001	<0.0002	<0.001
	Muestra 06 al 80%				0.002	<0.0002	<0.001
	PROMEDIO DE RESULTADOS DE LAS MUESTRAS 04,05,06 AL 80%				**0.0013**	**<0.0002**	**<0.001**

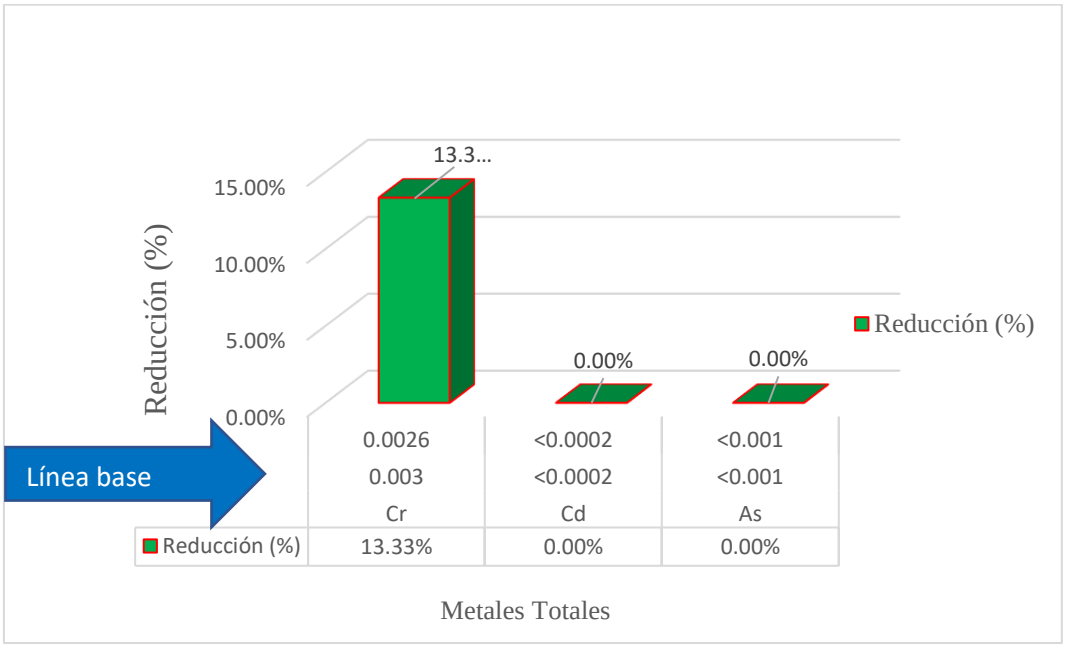
Nota: Resultados de AGQ Labs, laboratorio de ensayo acreditado por el organismo peruano de acreditación INACAL-DA con registro N° LE-072

Según se describe en la tabla 14, las pruebas del 01 al 06 junto con sus correspondientes repeticiones y concentraciones medida en unidades McFarland. La

biorremediación se desarrolló en seis frascos a escala experimental de laboratorio, aplicando muestras al 40 % con tres repeticiones para tratar Cromo, Cadmio y Arsénico. Se observó una reducción significativa del cromo, pasando de una concentración inicial de línea base de 0.003 mg/L a 0.0026 mg/L. Sin embargo, no fue posible biorremediar el cadmio y el arsénico debido a que estos metales no fueron detectados en el agua contaminada analizada. Estos resultados destacan la efectividad parcial del proceso de biorremediación aplicado, subrayando la necesidad de considerar la presencia inicial de contaminantes para optimizar estrategias de tratamiento en futuros estudios de remediación ambiental.

Figura 20.

Reducción de contaminantes (Cr, Cd y As) al 40 % con dosis de Pseudomonas sp



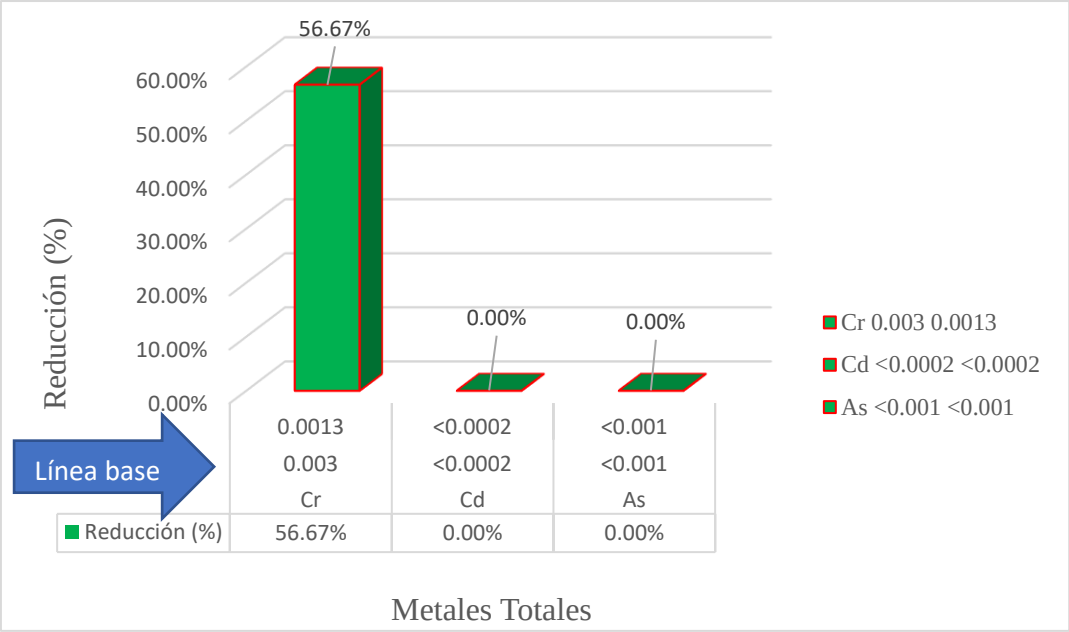
Según los datos estadísticos presentados en la figura 20, se observa que la biorremediación aplicada al 40 %, con tres repeticiones, **resultó un grado de disminución del 13.33 %** en la concentración total de cromo. Es importante destacar que la cantidad inicial de cromo presente en el medio era tan baja que limitó la eficacia de la biorremediación, ya que no quedaron más metales disponibles para ser tratados. Asimismo,

no se detectaron niveles detectables de cadmio y arsénico en el agua contaminada, lo que impidió la aplicación del proceso de biorremediación para estos metales, reflejándose como un resultado de 0.00 en el análisis.

Este análisis indica que, debido a la baja concentración inicial de cromo y la ausencia de cadmio y arsénico en el medio contaminado, se limitó la efectividad de la biorremediación en estos metales específicos.

Figura 21.

Reducción de contaminantes (Cr, Cd y As) al 80 % con dosis de Pseudomonas sp



Según la figura 21 se evidencia el **grado de disminución del 56.67 %** en la concentración de cromo cuando se usó una concentración del 80% de *Pseudomonas sp.* Para el proceso biorremediación. En similitud, no se hallaron concentraciones detectables de cadmio y arsénico en el medio, lo cual impidió su tratamiento mediante biorremediación.

El limitante para determinar el porcentaje máximo de biorremediación alcanzado por *Pseudomonas sp* fue la poca concentración inicial de cromo en el medio contaminado. Se

cree que, de haberse encontrado concentraciones significativas de cromo como en el caso de los otros metales, podrían haberse alcanzado niveles de biorremediación igualmente altos. Sin embargo, estos hallazgos serán discutidos a detalle en la sección de correspondiente de discusiones de la investigación. Sin embargo, se obtuvo la disminución de otros metales tal cual lo demuestra la siguiente tabla.

Tabla 15

Resultados de línea base y post biorremediación con Pseudomonas sp de otros metales

RESULTADOS DE LÍNEA BASE Y POST BIORREMEDIACIÓN CON *PSEUDOMONAS SP*																							
Muestras	Nº de repeticiones	Análisis de línea base												Resultados después de la biorremediación									
		Sb	S	Ba	Cu	Sr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Pb	Zn	Sb	S	Ba	Cu	Sr	Fe	Li	Mn	Mo	Ni	Pb	Zn
M-1,2,3	Muestra 01 al 40%	0.001	6.2	0.048	0.011	0.040	0.572	0.007	0.040	0.018	0.002	0.0149	0.362	0.001	4.8	0.022	0.008	0.042	0.347	0.009	0.007	0.011	0.001	0.0068	0.193
	Muestra 02 al 40%													0.001	4.7	0.029	0.010	0.025	0.448	0.006	0.009	0.011	0.001	0.0098	0.248
	Muestra 03 al 40%													0.001	4.4	0.029	0.012	0.025	0.504	0.005	0.010	0.012	0.002	0.0113	0.279
PROMEDIO DE RESULTADOS DE LAS MUESTRAS 01,02,03 AL 40 %														**0.001**	**4.63**	**0.026**	**0.010**	**0.031**	**0.433**	**0.006**	**0.009**	**0.012**	**0.001**	**0.009**	**0.240**

M-1,2,3	Muestra 04 al 80%	0.001	6.2	0.048	0.011	0.040	0.572	0.007	0.040	0.018	0.002	0.0149	0.362	< 0.001	1.8	0.009	0.003	0.009	0.115	0.002	0.004	0.003	< 0.001	0.0027	0.104
	Muestra 05 al 80%													< 0.001	1.5	0.013	0.004	0.009	0.168	0.002	0.006	0.003	< 0.001	0.0044	0.116
	Muestra 06 al 80%													< 0.001	1.4	0.009	0.005	0.009	0.197	0.002	0.007	0.004	< 0.001	0.0048	0.101
PROMEDIO DE RESULTADOS DE LAS MUESTRAS 04,05,06 AL 80 %														**< 0.001**	**1.56**	**0.010**	**0.004**	**0.009**	**0.160**	**0.002**	**0.005**	**0.003**	**< 0.001**	**0.0039**	**0.107**

Nota: Resultados de AGQ Labs, acreditado por el organismo peruano de acreditación INACAL-DA con registro N° LE-072

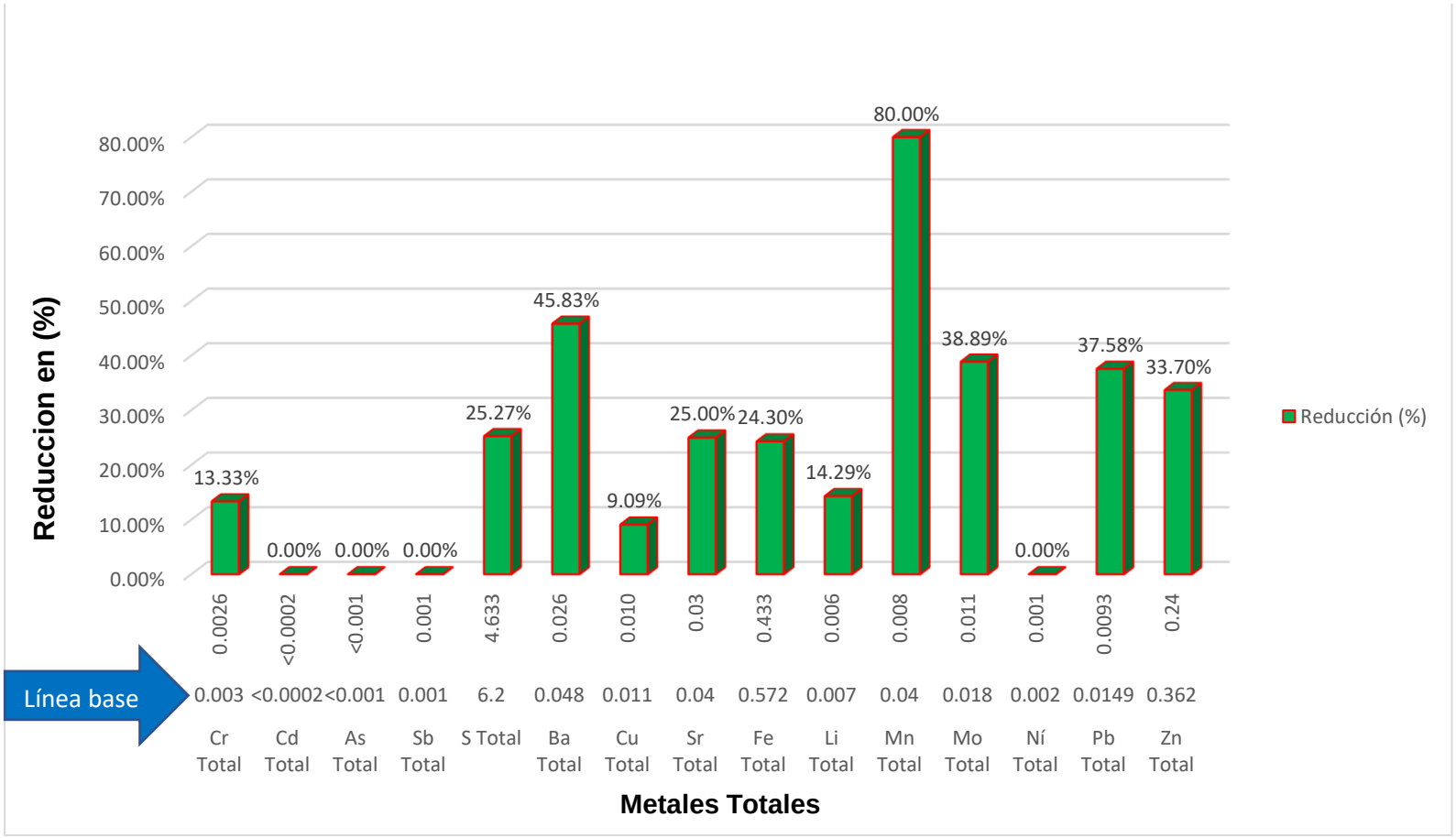
En la siguiente tabla 15 se muestra el análisis de la composición inicial del agua residual del taller de trenes de *Perú Rail* estableció una línea base con las siguientes concentraciones de metales: antimonio (0.001 mg/L), azufre (6.2 mg/L), bario (0.048 mg/L), cobre (0.011 mg/L), estroncio (0.040 mg/L), hierro (0.572 mg/L), litio (0.007 mg/L), manganeso (0.040 mg/L), molibdeno (0.018 mg/L), níquel (0.002 mg/L), plomo (0.0149 mg/L) y zinc (0.362 mg/L).

Posteriormente, se aplicó un proceso de biorremediación utilizando *Pseudomonas sp.* a una concentración del 40 %, lo que resultó en una disminución generalizada de la mayoría de los metales analizados. En particular, se observaron reducciones en azufre (25.27 %), bario (45.83 %), cobre (9.09 %), estroncio (25 %), hierro (24.3 %), litio (14.29 %), manganeso (80 %), molibdeno (38.89 %), níquel (0 %), plomo (37.58 %) y zinc (33.7 %), lo que evidencia la capacidad de *Pseudomonas sp.* para la remoción de estos contaminantes.

Al aumentar la concentración bacteriana al 80 %, la eficiencia del proceso mejoró significativamente. Se registraron reducciones más pronunciadas en todos los metales evaluados, destacándose el antimonio (90 %), azufre (74.73 %), bario (78.54 %), cobre (63.64 %), estroncio (77.5 %), hierro (72.03 %), litio (71.43 %), manganeso (85.75 %), molibdeno (81.67 %), níquel (55 %), plomo (73.15 %) y zinc (70.44 %). La reducción más drástica se observó en elementos como el níquel y el antimonio, cuyos valores finales se encontraron por debajo del límite de cuantificación.

Estos resultados indican una correlación positiva entre el aumento de la concentración de *Pseudomonas sp.* y la eficiencia en la remoción de metales presentes en el agua residual, demostrando el potencial de esta cepa bacteriana para la biorremediación en ambientes industriales contaminados.

Figura 22.
Reducción de contaminantes (otros metales) al 40 % con dosis de Pseudomonas sp



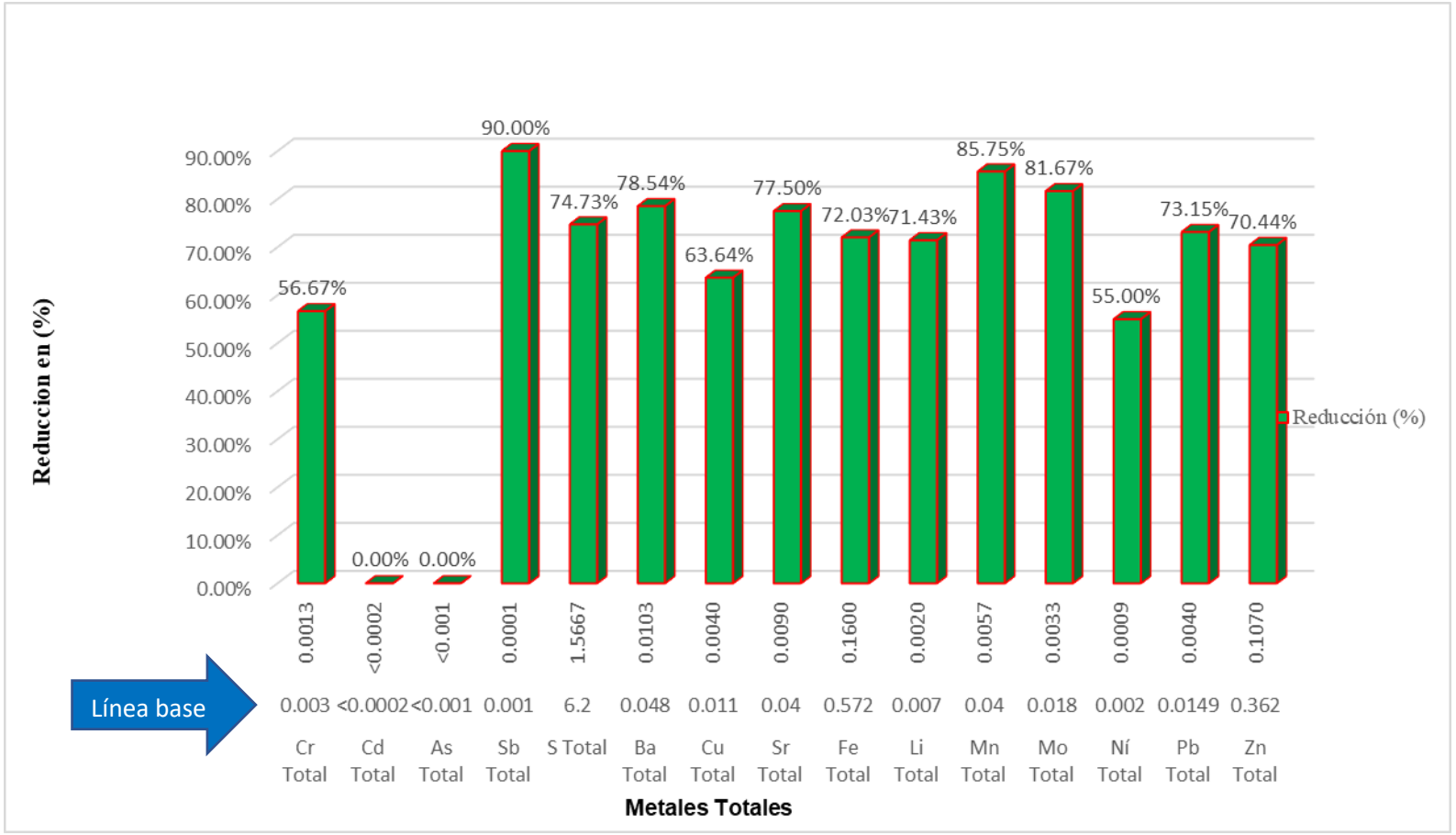
De acuerdo a la figura 22, se observa que existe una disminución en los niveles de metales totales tras la aplicación del 40 % de dosis de *Pseudomonas sp* respectivamente, el cromo presentó una reducción del 33.33 %, mientras que el antimonio logró una disminución del 0.0 %. El azufre y el bario mostraron reducciones del 25.27 % y 45.83 %, respectivamente. En el caso del cobre, la reducción fue del 9.09 %, y para el estroncio, del 25.00 %. Otros metales como el hierro y el litio tuvieron reducciones del 24.30 % y 14.29 %, respectivamente. El manganeso y el molibdeno mostraron disminuciones del 80.00 % y 38.89 %. Asimismo, el plomo presentó una reducción del 37.58 %, y el zinc, del 33.70 %.

Sin embargo, no se obtuvo un porcentaje de reducción para metales como el cadmio y arsénico debido a que sus niveles fueron detectados en cantidades menores o estaban ausentes en el agua contaminada. sin embargo, el antimonio aparece con 0.00 % de biorremediación, eso debido a que la concentración del 40 % no pudo disminuir ni un decimal.

- Concentración de las *Pseudomonas sp* que genera un mejor resultado en la disminución de elementos químicos en aguas residuales contaminadas con metales pesados provenientes del taller de trenes Perú Rail.

Figura 23.

Resultados con la mejor reducción de contaminantes (otros metales) al 80 % con dosis de Pseudomonas sp



Según la figura 23, se evidencia una reducción notable en los niveles. de metales totales a raíz de la aplicación de un 80 % de dosis de *Pseudomonas sp*. Específicamente, el cromo presentó una reducción del 56.67 %, mientras que el antimonio logró una disminución del 90 %. El azufre y el bario mostraron reducciones del 74.73 % y 78.54 %, respectivamente. En el caso del cobre, la reducción fue del 63.64 %, y para el estroncio, del 77.50 %. Otros metales como el hierro y el litio tuvieron reducciones del 72.03 % y 71.43 %, respectivamente. El manganeso y el molibdeno mostraron disminuciones significativas del 85.75 % y 81.67 %. Asimismo, el níquel y el plomo presentó una reducción del 55 % y 73.15 %, y el zinc, del 70.44 %.

Sin embargo, no se obtuvo un porcentaje de reducción para metales como el cadmio y arsénico debido a que sus niveles fueron detectados en cantidades menores o estaban ausentes en el agua contaminada. Sin embargo, el antimonio aparece con una biorremediación del 90 % eso porque los niveles de ese metal eran muy escasas y al momento de la biorremediación las bacterias disminuyeron inferior al límite detectable del laboratorio.

Parámetros fisicoquímicos

Tabla 16

Resultados respecto al color antes y después de la biorremediación

RESULTADOS FISICO-QUIMICO-COLOR DEL AGUA RESIDUAL DE LÍNEA BASE Y POST BIORREMEDIACIÓN			
Muestras	Nro. de repeticiones de las muestras	Análisis de línea base	Resultados después de la biorremediación
		Color	Color
M-1,2,3	Muestra 01 al 40 %		5 CU
	Muestra 02 al 40 %	4 CU	7 CU
	Muestra 03 al 40 %		6 CU
PROMEDIO DE RESULTADOS DE LAS MUESTRAS 01,02,03 AL 40%			**6 CU**
M-4,5,6	Muestra 04 al 80 %		5 CU
	Muestra 05 al 80 %	4 CU	10 CU
	Muestra 06 al 80 %		7 CU
PROMEDIO DE RESULTADOS DE LAS MUESTRAS 04,05,06 AL 80 %			**7.33U**

a. Color

En el examen físico el color de la muestra de agua contaminada vista macroscópicamente en la misma Nota fue de color marrón, sin embargo, en los análisis de laboratorio se informó en unidades de color (CU). Estos exámenes se determinaron espectrofotométricamente a una longitud de onda entre 450 y 465 nm, utilizando soluciones de platino-cobalto como estándares dando los resultados mostrados en la tabla.

Tabla 17

Resultados respecto al turbidez antes y después de la biorremediación

RESULTADOS FISICO-QUIMICO TURBIDEZ DEL AGUA RESIDUAL DE LÍNEA BASE Y POST BIORREMEDIACIÓN			
Muestras	Nro. de repeticiones de las muestras	Análisis de línea base Turbidez	Resultados después de la biorremediación Turbidez
M-1,2,3	Muestra 01 al 40 %	22 NTU	13.0 NTU
	Muestra 02 al 40 %		16.0 NTU
	Muestra 03 al 40 %		16.0 NTU
PROMEDIO DE RESULTADOS DE LAS MUESTRAS 01,02,03 AL 40 %			**15.0** NTU
M-4,5,6	Muestra 04 al 80%	22 NTU	7.5 NTU
	Muestra 05 al 80%		14.0 NTU
	Muestra 06 al 80%		11.0 NTU
PROMEDIO DE RESULTADOS DE LAS MUESTRAS 04,05,06 AL 80 %			**10.83** NTU

b. Turbidez

La turbidez forma parte del examen físico del agua residual donde se observó macroscópicamente el agua residual como ligeramente turbio, sin embargo, en los exámenes del laboratorio se procesaron por el método de nefelometría en unidades (NTU) donde la Incertidumbre aplicada al resultado no aplica para valores menores al Límite de Cuantificación (LC) 0.150 NTU. La Incert Exp (U) ±0,8 ha sido reportada con un Factor de Cobertura k= 2, para un nivel de confianza aproximadamente del 95 %.

Tabla 18.

Resultados respecto a la conductividad eléctrica antes y después de la biorremediación

RESULTADOS FISICO-QUIMICO CONDUCTIVIDAD ELECTRICA DEL AGUA RESIDUAL DE LÍNEA BASE Y POST BIORREMEDIACIÓN			
Muestras	Nro. de repeticiones de las muestras	Análisis de línea base Conductividad eléctrica	Resultados después de la biorremediación Conductividad eléctrica
M-1,2,3	Muestra 01 al 40 %	127 µS/cm a 25 °C	87.7 µS/cm a 25 °C
	Muestra 02 al 40 %		92.3 µS/cm a 25 °C
	Muestra 03 al 40 %		93.8 µS/cm a 25 °C
PROMEDIO DE RESULTADOS DE LAS MUESTRAS 01,02,03 AL 40%			**91.26** µS/cm a 25 °C
M-4,5,6	Muestra 04 al 80 %	127 µS/cm a 25 °C	58.0 µS/cm a 25 °C
	Muestra 05 al 80 %		62.6 µS/cm a 25 °C
	Muestra 06 al 80 %		66.4 µS/cm a 25°C
PROMEDIO DE RESULTADOS DE LAS MUESTRAS 04,05,06 AL 80 %			**62.33** µS/cm a 25 °C

c. **Conductividad eléctrica**

Como parte de los exámenes fisicoquímicos la conductividad eléctrica fue un ítem importante en esta investigación, los resultados se midieron en microsiemens por centímetro (µS/cm). La conductividad eléctrica del agua está directamente relacionada con la cantidad de sólidos disueltos en ella, especialmente sales y minerales que se disocian en iones los cuales dieron como resultado lo siguientes como se muestra en la tabla.

Tabla 19

Resultados respecto al potencial de hidrogeniones antes y después de la biorremediación

RESULTADOS FISICO-QUIMICO POTENCIAL DE HIDROGENIONES DEL AGUA RESIDUAL DE LÍNEA BASE Y POST BIORREMEDIACIÓN			
Muestras	Nro. de repeticiones de las muestras	Análisis de línea base pH	Resultados después de la biorremediación pH
M-1,2,3	Muestra 01 al 40 %	6.67 Unidades de PH	6.98 Unidades de pH
	Muestra 02 al 40 %		7.22 Unidades de pH
	Muestra 03 al 40 %		7.02 Unidades de pH
PROMEDIO DE RESULTADOS DE LAS MUESTRAS 01,02,03 AL 40 %			**7.07** Unidades de pH
M-4,5,6	Muestra 04 al 80 %	127 µS/cm a 25 °C	6.88 Unidades de pH
	Muestra 05 al 80 %		6.91 Unidades de pH
	Muestra 06 al 80 %		7.12 Unidades de pH
PROMEDIO DE RESULTADOS DE LAS MUESTRAS 04,05,06 AL 80 %			**6.97** Unidades de pH

d. Potencial de hidrogeniones pH

Como parte de los exámenes químicos del agua residual, se entiende que el pH es un parámetro importante para el crecimiento bacteriano de la *Pseudomonas sp*, de modo que el pH del agua residual para esta investigación se midió por electrometría, que es una técnica estandarizada y confiable para medir pH en el análisis de agua, donde se observó que las bacterias obtuvieron buenos resultados con los pH mostrados a continuación en el cuadro.

e. Temperatura

La temperatura es crucial para la vida de cualquier ser vivo. La bacteria *Pseudomonas sp*, es un microorganismo que actúa a una temperatura adecuada, sin embargo, en esta investigación la *Pseudomonas sp* actuó en la biorremediación de metales totales a una temperatura de 37 ºC en incubadora.

f. Aniones

Tabla 20

Resultados respecto a la alcalinidad antes y después de la biorremediación

RESULTADOS FISICO-QUIMICO ANIONES-ALCALINIDAD DEL AGUA RESIDUAL DE LÍNEA BASE Y POST BIORREMEDIACIÓN			
Muestras	Nro. de repeticiones de las muestras	Análisis de línea base Alcalinidad	Resultados después de la biorremediación Alcalinidad
M-1,2,3	Muestra 01 al 40%	39.7 mg/L CaCO3	28.2 mg/L CaCO3
	Muestra 02 al 40%		31.8 mg/L CaCO3
	Muestra 03 al 40%		29.8 mg/L CaCO3
PROMEDIO DE RESULTADOS DE LAS MUESTRAS 01,02,03 AL 40%			**29.93 mg/L CaCO3**
M-4,5,6	Muestra 04 al 80%	39.7 mg/L CaCO3	30.8 mg/L CaCO3
	Muestra 05 al 80%		23.6 mg/L CaCO3
	Muestra 06 al 80%		21.5 mg/L CaCO3
PROMEDIO DE RESULTADOS DE LAS MUESTRAS 04,05,06 AL 80%			**25.3 mg/L CaCO3**

Alcalinidad. –

Para efectos de investigación y ver la cantidad de aniones en aguas residuales como la alcalinidad que mide la capacidad del agua para neutralizar ácidos, tal es así, la alcalinidad obtenida por volumetría con Lim Cuantif/ Detec de 4,00 mg/L CaCO3 y con una incertidumbre de ±1,1. Los resultados se muestran en la tabla.

Tabla 21

Resultados respecto a los sulfatos antes y después de la biorremediación

RESULTADOS FISICO-QUIMICO ANIONES-SULFATOS EN EL AGUA RESIDUAL DE LÍNEA BASE Y POST BIORREMEDIACIÓN			
Muestras	Nro. de repeticiones de las muestras	Análisis de línea base Sulfatos	Resultados después de la biorremediación Sulfatos
M-1,2,3	Muestra 01 al 40 %	17.2mg/L	10.6 mg/L
	Muestra 02 al 40 %		10.7 mg/L
	Muestra 03 al 40 %		10.5 mg/L
PROMEDIO DE RESULTADOS DE LAS MUESTRAS 01,02,03 AL 40 %			**2**
M-4,5,6	Muestra 04 al 80 %	17.2 mg/L	<5.00 mg/L
	Muestra 05 al 80 %		<5.00 mg/L
	Muestra 06 al 80 %		<5.00 mg/L
PROMEDIO DE RESULTADOS DE LAS MUESTRAS 04,05,06 AL 80%			**<5.00 mg/L**

g. Sulfatos

En el análisis de aguas residuales, la presencia de sulfatos que son parámetros importantes que pueden dar información sobre la calidad y las características del agua. Los resultados emitidos por Espect UV-VIS de este parámetro tienen su Lim Cuantif/ Detec de 5.00mg/L, resultados inferiores a ello el equipo emitirá un resultado de <5.00 mg/L.

5.2. Discusión

Los resultados mostraron que el grado de concentración de los elementos contaminantes como el cromo, cadmio, arsénico y otros metales antes y después del tratamiento con *Pseudomonas sp* en aguas residuales contaminadas con metales totales provenientes del taller de trenes Perú Rail no coinciden con lo señalado en la hipotesis general donde se afirmó que existía un alto grado porcentual de concentración de los elementos contaminates de cromo cadmio, arsénico y otros metales antes y no después de los dos tratamientos con *Pseudomonas sp*. Sin embargo, la concentración del cromo fue de

0.003 mg/L redujo la concentración a 0.0026 mg/L con el tratamiento al 40 % y a 0.0013 mg/L con el tratamiento al 80 % de dosis de *Pseudomonas sp*. A mayor concentración de la bacteria potencia la remoción del metal. Estos hallazgos coinciden con lo señalado en la revisión sistemática de (David Santiago, 2024), quien destaca el alto potencial de *Pseudomonas spp., Trichoderma spp. y Bacillus spp.* en la biorremediación de suelos contaminados con cadmio. Sin embargo, en el caso del cadmio y el arsénico, los valores iniciales y finales se encontraron por debajo de los límites de detección (<0.0002 mg/L y <0.001 mg/L, respectivamente), lo que impide una cuantificación precisa de su remoción. A pesar de esta limitación analítica, la presencia de actividad microbiana sugiere que el proceso de biorremediación ocurrió, lo que es consistente con la literatura revisada por. (vivienda, 2011) Su análisis bibliométrico evidencia un creciente interés en la aplicación de microorganismos para la mitigación de metales pesados, con un aumento sostenido en la producción científica entre 2019 y 2023.

Por otra parte, se afirma que si existió un alto grado porcentual de concentración de otros elementos contaminates cada uno con su concentración inicial como es el caso del antimonio con (0.001 mg/L), azufre con (6.2 mg/L), bario con (0.048 mg/L), cobre con (0.011 mg/L), estroncio con (0.040 mg/L), hierro con (0.572 mg/L), litio con (0.007 mg/L), manganeso con (0.040 mg/L), molibdeno con (0.018 mg/L), níquel con (0.002 mg/L), plomo con (0.0149 mg/L) y zinc con (0.362 mg/L). El predominio de publicaciones en Ciencia del Medio Ambiente (248 documentos) y en revistas como ChemospHere refuerza la relevancia del tema dentro de la comunidad científica, lo que respalda la necesidad de continuar investigando los mecanismos de acción de *Pseudomonas sp.* y otros microorganismos en la remoción de metales pesados. Asimismo, David Santiago, sugiere la necesidad de fortalecer las investigaciones locales sobre biorremediación en contextos específicos como los abordados en este estudio específico. (Mejia, 2024) *Trichoderma spp., Pseudomonas spp.,*

y Bacillus spp. como agentes biorremediadores en suelos contaminados con cadmio. Dicha necesidad de generar conocimiento aplicado cobra especial relevancia cuando se contrasta con el marco normativo vigente. Conforme al Decreto Supremo N° 010-2019-VIVIENDA, en el Título IV sobre los Valores Máximos Admisibles, específicamente en el Capítulo I referido a las descargas, el artículo 9 establece que las descargas directas de aguas residuales no domésticas en el sistema de alcantarillado sanitario pueden realizarse sin la aplicación de pagos o sanciones, siempre que no superen los Valores Máximos Admisibles (VMA) definidos en los Anexos N° 1 y 2 del mencionado decreto. El análisis de los metales en las aguas residuales del taller de trenes de Perú Rail revela que, en la mayoría de los casos, las concentraciones medidas están por debajo de los valores máximos admisibles (VMA) establecidos para descargas al sistema de alcantarillado. A continuación, se comparan los parámetros evaluados como el cobre total tuvo como línea base 0.011 mg/L al comparar con el D.S. 010 - 2019 Vivienda no llego a superar el valor de 3 mg/L como lo indica en la normativa. Quiere decir que la presencia de cobre total en la muestra es muy baja en comparación con el límite permitido, lo que sugiere que las descargas no representan un riesgo de contaminación por cobre. Asimismo, sucede con el cromo total donde tuvo como línea base 0.003 mg/L, pero según el decreto supremo del VMA su valor máximo admisible es de 10 mg/L indicando así que las descargas cumplen con los estándares ambientales. Por por otro lado el manganeso tuvo como línea base 0.040 ml/L lo que indica que tampoco supera el valor máximo admisible de 4 mg/L, quiere decir no tienen un impacto ambiental significativo. Seguidamente el niquel obtuvo 0.002 mg/L como resultado de la línea base, pero el valor máximo admisible es de 4 mg/L señalando así que la presencia de níquel es insignificante en relación con el límite permitido, lo que indica una baja contaminación por este metal. Continuamos con el plomo tuvo como línea base 0.0149 mg/L y como valor máximo admisible es de 0.5 mg/L señalando así que la concentración de plomo se encuentra

muy por debajo del límite permitido, lo que sugiere que no representa un problema ambiental en el efluente analizado. Finalmente, el zinc en la línea base salió con 0.362 mg/L y en la normativa indica como valor máximo admisible 10 mg/L. Es decir, la cantidad de zinc en el agua residual es baja en comparación con el VMA, lo que indica que las descargas están dentro de los parámetros permitidos. Los resultados de la línea base de metales en las aguas residuales del taller de trenes de Perú Rail indican que todas las concentraciones de metales analizadas están dentro de los límites permisibles establecidos en la normativa vigente. En general, estos resultados sugieren que las aguas residuales del taller tienen una baja carga de metales.

Para ver el grado de disminución de los elementos contaminantes como el cromo, cadmio y arsénico después del tratamiento con *Pseudomonas sp* en aguas residuales contaminadas con metales pesados se observó, que la biorremediación aplicada con una dosis de *Pseudomonas sp* al 40 %, en tres repeticiones, resultó en una reducción del 13.33% de la concentración total de cromo, mientras que con una dosis del 80 % se logró una disminución del 56.67 % durante 30 días a 37 ºC. Por ello se confirma que nuestra primera hipotesis especifica indica que, si existe, una disminución de los elementos contaminantes como el cromo, cadmio, arsénico y otros metales después del tratamiento con *Pseudomonas Sp* en aguas residuales contaminadas con metales totales provenientes del taller de trenes Perú Rail. Es importante destacar que no se detectaron niveles significativos de cadmio y arsénico en el agua contaminada, lo que impidió aplicar el proceso de biorremediación para estos metales, resultando en un valor de 0.00 en los análisis. Así como señala (Beltrán-Pineda & Gómez-Rodríguez, 2016) que los microorganismos influyen en la concentración de metales pesados en el ambiente debido a sus mecanismos enzimáticos y no enzimáticos que permiten la eliminación de metales en solución. Entre las transformaciones enzimáticas de los metales llevadas a cabo por los microorganismos se incluyen la oxidación, reducción,

metilación y desmetilación. Estos procesos pueden producir elementos con baja solubilidad en agua o elementos volátiles. La aplicación de una dosis del 80 % de *Pseudomonas sp* es significativamente más efectiva en la reducción de elementos químicos en aguas residuales en comparación con una dosis del 40 %. Los resultados muestran que el cromo disminuyó un 56.67 %, el antimonio un 90 %, el azufre un 74.73 % y el bario un 78.54 %. Otros metales como el cobre, estroncio, hierro, litio, manganeso, molibdeno, plomo y zinc también presentaron reducciones significativas de 63.64 %, 77.50 %, 72.03 %, 71.43 %, 85.75 %, 81.67 %, 73.15 % y 70.44 % respectivamente. Sin embargo, tanto el cadmio como el arsénico no mostraron reducción debido a sus bajos niveles iniciales o ausencia en el agua contaminada. En comparación, la dosis del 40 % mostró reducciones menos significativas. El cromo disminuyó un 33.33 %, mientras que el antimonio no mostró cambio alguno. El azufre y el bario se redujeron en un 25.27 % y 45.83 % respectivamente. El Cobre disminuyó un 9.09 % y el estroncio un 25.00 %. Las reducciones en el hierro y litio fueron del 24.30 % y 14.29 % respectivamente. El manganeso y el molibdeno mostraron disminuciones del 80.00 % y 38.89 %, mientras que el plomo y el zinc se redujeron en un 37.58 % y 33.70 %. Estos resultados coinciden con los hallazgos de (Cedeño Moreira & Canchignia Martínez, 2022) quienes observaron que diferentes cepas bacterianas mostraron eficacia variable en la biorremediación de metales pesados en suelos contaminados. También son consistentes con el estudio de (Paliz et al., 2021) en el que se lograron reducciones significativas en los niveles de aluminio, cobre, bario, cadmio, níquel, plomo, estroncio, titanio y zinc después de la inoculación con *Pseudomona aeruginosa.*

Para determinar la concentración de *Pseudomonas sp* que genera un mejor resultado en la disminución de elementos químicos en aguas residuales contaminadas con metales totales se confirma una efectividad en la disminución con el 80 % de dosis de *Pseudomonas sp*, lo que contribuye a un mejor resultado en la disminución de elementos

químicos en aguas residuales contaminadas con metales totales, por ello la importancia de la concentración bacteriana en la eficiencia de la biorremediación. Esto sugiere que, para obtener reducciones significativas de contaminantes en aguas residuales, es crucial optimizar la concentración de las bacterias utilizadas. Además, la falta de reducción en ciertos metales como el cadmio y el arsénico subraya la necesidad de investigar y desarrollar estrategias específicas para abordar estos contaminantes resistentes.

Parámetros fisicoquímicos

a. Color

Comparando los resultados de este estudio, donde se encontraron valores promedios de 6 CU al 40 % y 7.33 CU al 80 % con método de espectrofotometría, y macroscópicamente dando un color marrón se observa una concordancia con el resultado realizado por (Hongve et al., 2004) donde se examinó cómo la eutrofización y otros procesos naturales afectan el color del agua en lagos y embalses en Noruega. Encontraron que los niveles de color medidos por espectrofotometría variaban entre 6 y 10 CU, dando una clara relación con la materia orgánica presente. Los valores de color obtenidos en este estudio se encuentran dentro del rango reportado por otras investigaciones, lo que sugiere que las condiciones y métodos utilizados son consistentes con la literatura científica existente.

b. Conductividad eléctrica

La conductividad eléctrica (CE) del agua es un parámetro fundamental que refleja la cantidad de sólidos disueltos, especialmente sales y minerales que se disocian en iones. En este estudio, se midieron los valores de CE en microsiemens por centímetro (µS/cm) a 25 °C, obteniendo un promedio de 91.26 µS/cm al 40 % de concentración y 62.33 µS/cm al 80 % de concentración.

Estos resultados son consistentes con las observaciones de otros estudios científicos, como el llevado a cabo por (Rai et al., 2011), que encontró valores de CE entre 70 y 120 µS/cm en varios ríos de la India. Este estudio también identificó una alta correlación entre la conductividad eléctrica y la cantidad de sólidos disueltos, especialmente sales, lo cual se alinea con los resultados obtenidos en la presente investigación.

c. Potencial de hidrogeniones (pH)

Es importante considerar que el rango de pH óptimo para el crecimiento y actividad metabólica de *Pseudomonas spp.* Según la literatura, las *Pseudomonas* tienen una capacidad notable para crecer en una amplia gama de pH, pero generalmente se desarrollan mejor en condiciones neutras a ligeramente alcalinas. El rango óptimo de pH para muchas especies de *Pseudomonas* es alrededor de 6.5 a 7.5, aunque algunas especies pueden crecer bien en pH tan bajos como 5.0 o tan altos como 8.0 según (Rehm, 2008). De manera similar en esta investigación el pH inicial del agua residual fue de 6.67, que es adecuado para la mayoría de las *Pseudomonas*. Después de la inoculación, el pH cambió a 7.07 con una concentración del 40 % y a 6.97 con una concentración del 80 %. Estos resultados sugieren que las *Pseudomonas spp.* están adaptándose bien al medio, ya que los cambios en el pH permanecen dentro del rango óptimo para su crecimiento ò también nos está indicando que la inoculación de *Pseudomonas sp*. tiene un efecto sobre el pH del agua residual. La elevación del pH en las muestras con 40 % de concentración podría sugerir que las bacterias están produciendo metabolitos alcalinizantes o que la actividad metabólica de las bacterias está afectando el equilibrio ácido-base del sistema. Por otro lado, el pH ligeramente menor en la concentración del 80 % podría indicar una mayor producción de ácidos metabólicos, o un efecto combinado de los productos metabólicos y la interacción con el sustrato así como señala (Garrity et al., 2005).

d. Turbidez

La turbidez del agua residual, medida en unidades NTU, es un indicador clave de la calidad del agua y refleja la cantidad de partículas suspendidas. En el análisis proporcionado, donde se observó la turbidez Inicial: 22 NTU pero después de Biorremediación con 40 % de *Pseudomonas*: 15.0 NTU (reducción del 31.82 %), después de Biorremediación con 80 % de *Pseudomonas:* 10.83 NTU (reducción del 50.77 %), Comparación con el Estudio de Efluentes de Destilerías (Deborah & Raj, 2016). donde se midió la reducción de turbidez en función de los días de tratamiento con diferentes microorganismos donde La *Pseudomonas putida* mostró una reducción del 59 % en 15 días en el estudio de destilerías, comparable con la reducción del 50.77 % obtenida en esta investigación a una concentración del 80 %. Y si comparamos con otros Microorganismos: *Bacillus subtilis* fue el más eficiente, alcanzando una reducción del 92 % en 15 días. Esto sugiere que podría ser una opción superior para la reducción de turbidez.

Escherichia coli mostró una reducción menor (54 % en 15 días), pero aún significativa. La biorremediación con *Pseudomonas* es efectiva para reducir la turbidez del agua residual. Comparada con otros microorganismos, *Pseudomonas* ofrece resultados sólidos, aunque *Bacillus subtilis* podría proporcionar una mayor eficiencia. Estos hallazgos respaldan el uso de técnicas biológicas para el tratamiento de aguas residuales, promoviendo soluciones sostenibles.

e. Temperatura

En un estudio sobre Bioremediation on Effluents from Magnesite and Bauxite Mines using *Thiobacillus Spp* and *Pseudomonas Spp*, se observó que *Pseudomonas aeruginosa* y *Thiobacillus ferrooxidans* mostraron una eficiencia de biorremediación significativa en condiciones de temperatura de 38 °C para la sorción de metales pesados en suelos de minas de magnesita y bauxita. Este rango de temperatura, aunque alto, es adecuado para estas

bacterias y optimiza su actividad en la remoción de metales(Mathiyazhagan & Natarajan, 2011). En contraste, con este estudio de biorremediación de aguas residuales haciendo uso de *pseudomonas sp* se investigó el rendimiento de *Pseudomonas sp*. en la biorremediación de aguas residuales contaminadas con metales totales a una temperatura de 37 °C en un entorno de laboratorio. La diferencia de 1 °C en la temperatura podría parecer menor, pero en el contexto de la biorremediación, incluso pequeñas variaciones pueden influir en la eficiencia de la remoción de contaminantes. La temperatura óptima para una bacteria puede afectar su metabolismo, la tasa de crecimiento, y su capacidad para degradar o acumular contaminante. ambos estudios destacan la importancia de la temperatura en la biorremediación, pero también muestran que diferentes especies bacterianas pueden tener rangos óptimos de temperatura distintos.

f. Aniones

Alcalinidad

La alcalinidad es un parámetro crucial que mide la capacidad del agua para neutralizar ácidos, lo cual es vital para mantener la estabilidad del pH y minimizar la corrosión. En este estudio, se evaluó la alcalinidad en aguas residuales tratadas con diferentes concentraciones de *Pseudomonas sp*., midiendo la alcalinidad en términos de CaCO3. Se observó que el valor inicial de alcalinidad fue de 39.7 mg/L antes de la biorremediación. Posteriormente, se observó una disminución significativa en los valores de alcalinidad después del tratamiento con *Pseudomonas sp*., siendo de 29.93 mg/L CaCO3 a una concentración del 40 % de *Pseudomonas sp*. y de 25.3 mg/L CaCO3 a una concentración del 80 % de *Pseudomonas sp*. Esta reducción en la alcalinidad puede interpretarse a través de los procesos de biorremediación llevados a cabo por *Pseudomonas sp*. Los resultados sugieren que la actividad microbiana afecta la composición química del agua residual, particularmente la cantidad de aniones presentes, lo que se refleja en la disminución de la

alcalinidad. Durante el proceso de biocementación mediante la precipitación inducida por microorganismos (MICP), los microorganismos facilitan la precipitación de carbonato de calcio (CaCO3), lo que podría reducir los niveles de CaCO3 disuelto en el agua. Además, durante el proceso de MICP, los iones metálicos presentes en el agua residual pueden ser co-precipitados con el CaCO3, reduciendo su disponibilidad y contribuyendo a una disminución en la alcalinidad. También, la formación de matrices biocementantes puede facilitar la adsorción y absorción de aniones presentes en el agua residual, resultando en una reducción de la alcalinidad medida (Wilcox et al., 2024).

La disminución en la alcalinidad de 39.7 mg/L a 25.3 mg/L con una mayor concentración de *Pseudomonas sp*. (80 %) sugiere una mayor eficiencia de biorremediación a mayores concentraciones de microorganismos. Esto coincide con estudios previos que han demostrado que una mayor actividad microbiana y una mayor cantidad de biomasa pueden aumentar la eficiencia de remoción de contaminantes y la precipitación de minerales.

Es importante considerar en futuras investigaciones un análisis detallado del balance de aniones y cationes para entender mejor las implicaciones de la reducción de alcalinidad en el sistema tratado. Además, se debe evaluar cómo la reducción de alcalinidad afecta otros parámetros de calidad del agua, como el pH y la concentración de otros metales y contaminantes.

g. Sulfatos

La reducción de sulfatos es un aspecto crucial en la biorremediación de aguas residuales, ya que los niveles de sulfato pueden proporcionar información valiosa sobre la calidad y las características del agua. En el estudio presentado, se ha observado cómo los procesos de biorremediación pueden influir en la concentración de sulfatos mediante el uso de etanol como donador de electrones y Nota de carbono. En el experimento del reactor de

lecho fluidizado recirculante (RFBR), se destacó que la eficiencia de la reducción de sulfatos disminuyó significativamente al reducir el tiempo de retención hidráulica (HRT) de 55 horas a 5 horas, pasando de una eficiencia superior al 95 % a las 35 horas HRT, a aproximadamente un 65 % a las 5 horas HRT. Este descenso en la eficiencia se atribuye a la insuficiencia de biomasa en el volumen del lecho a tiempos de retención más cortos, lo cual limita la conversión de sulfatos (Nagpal et al., 2000).

En paralelo, los resultados del análisis de aguas residuales utilizando espectroscopía UV-VIS mostraron una clara reducción en las concentraciones de sulfatos tras el proceso de biorremediación con *Pseudomonas sp*. La línea base presentó una concentración inicial de sulfatos de 17.2 mg/L, que se redujo a 10.6 mg/L después de la biorremediación con una concentración del 40 % de *Pseudomonas sp*, y a niveles inferiores a 5.00 mg/L con una concentración del 80 % de *Pseudomonas sp*, alcanzando valores por debajo del límite de cuantificación del equipo. Estos resultados subrayan la eficacia del uso de *Pseudomonas sp*. en la biorremediación para reducir significativamente los niveles de sulfatos en las aguas residuales.

La comparación entre ambos estudios revela la importancia de la biomasa y las condiciones operacionales en la eficiencia de la reducción de sulfatos. En el RFBR, la presencia de una cantidad suficiente de biomasa es esencial para mantener la eficiencia del proceso, mientras que, en el análisis de aguas residuales, la mayor concentración de *Pseudomonas sp* demostró ser efectiva para reducir los niveles de sulfatos a valores deseables. La reducción de sulfatos a niveles inferiores a 5.00 mg/L indica una mejora significativa en la calidad del agua, ya que la presencia de sulfatos en altos niveles puede ser indicativa de contaminación y afectar negativamente a los ecosistemas acuáticos.

Sin embargo, en este estudio estadístico y la prueba de hipótesis, se utilizaron métodos no paramétricos para la comparación de medias debido al tamaño de muestra

reducido de síes muestras. Los métodos no paramétricos son especialmente útiles en situaciones donde los supuestos necesarios para los métodos paramétricos, como la normalidad de los datos, no se pueden garantizar debido a la pequeña muestra (Berlanga & Rubio Hurtado, 2012).

Específicamente, se empleó la prueba U de Mann-Whitney, una técnica no paramétrica que compara dos grupos independientes y determina si una muestra tiende a tener valores mayores o menores que la otra. Esta prueba es adecuada para nuestro (Berlanga & Rubio Hurtado, 2012) análisis dado que no asume una distribución específica de los datos y es robusta frente a valores atípicos y distribuciones no normales.

Los grupos de estudio son: tratamiento con *Pseudomonas sp* a una concentración del 40% y al 80%. Se pretende determinar cuál de los dos tratamientos disminuye más el grado de concentración de los elementos contaminantes en aguas residuales contaminadas con metales pesados provenientes del taller de trenes Perú Rail.

VI. Conclusiones

Se concluye que no se observó un elevado porcentaje de biorremediación en las concentraciones de cromo, debido a que el valor inicial era mínimo, con 0.003 mg/L, mientras que el cadmio y el arsénico resultaron indetectables en los análisis de la línea base. Sin embargo, el análisis de la calidad del agua residual del taller de trenes *Perú Rail* determinó una línea base con concentraciones iniciales de diversos metales. Posteriormente, se aplicaron tratamientos de biorremediación con *Pseudomonas sp***.** en concentraciones del 40 % y 80 %, observándose una reducción progresiva en la mayoría de los contaminantes. A continuación, se presentan los valores obtenidos en cada etapa del tratamiento. El primer valor corresponde a la concentración inicial de metales en la línea base**,** el segundo valor refleja los resultados obtenidos tras la aplicación de *Pseudomonas sp*. al 40 %**,** y el tercer valor representa las concentraciones finales luego del tratamiento con una dosis del 80 %**.** Esta comparación permitió obtener resultados favorables y significativos en el proceso de biorremediación en la reducción de contaminantes presentes en el agua residual:

- **Antimonio;** (0.001, 0.001, <0.001);
- **Azufre** (6.2, 4.63, 1.56)
- **Bario** (0.048, 0.026, 0.010)
- **Cobre** (0.011, 0.010, 0.004)
- **Estroncio** (0.040, 0.031, 0.009)
- **Hierro** (0.572, 0.433, 0.160)
- **Litio** (0.007, 0.006, 0.002)
- **Manganeso** (0.040, 0.009, 0.005)
- **Molibdeno** (0.018, 0.012, 0.003)
- **Níquel** (0.002, 0.001, <0.001)
- **Plomo** (0.0149, 0.009, 0.0039)

- **Zinc** (0.362, 0.240, 0.107)

Se concluye que los resultados obtenidos muestran una disminución en los niveles de metales totales tras la aplicación de *Pseudomonas sp* en diferentes concentraciones. Con una dosis del 40 %, el cromo presentó una reducción del 33.33 %, evidenciando la capacidad de esta bacteria para disminuir la concentración de metales en el agua contaminada. Al incrementar la dosis al 80 %, se observó una reducción más significativa en los niveles de metales totales, destacando el cromo con una disminución del 56.67 %. Sin embargo, no se obtuvieron resultados para el cadmio y el arsénico debido a que sus concentraciones eran indetectables en las muestras analizadas. Así mismo, se llevaron a cabo tratamientos de biorremediación utilizando *Pseudomonas sp* en concentraciones del 40 % y 80 %, observándose una reducción progresiva en la mayoría de los otros contaminantes. A continuación, se presentan los valores obtenidos en cada etapa del tratamiento: el primer valor corresponde a los resultados tras la aplicación de *Pseudomonas sp* al 40 %, y el segundo representa las concentraciones finales luego del tratamiento con una dosis del 80 %. Esta comparación permitió evidenciar resultados favorables y estadísticamente significativos en la biorremediación, demostrando una reducción efectiva de los contaminantes presentes en el agua residual.

- **Antimonio;** (0 % ,90 %);
- **Azufre** (25.27 %, 74.73 %)
- **Bario** (45.83 %,78.54 %)
- **Cobre** (9.09 %, 63.64 %)
- **Estroncio** (25 %, 77.5 %)
- **Hierro** (24.3 %, 72.03 %)
- **Litio** (14.29 %, 71.43 %)
- **Manganeso** (80 % ,85.75 %)

- **Molibdeno** (38.89 %, 81.67 %)
- **Níquel** (0 %, 55 %)
- **Plomo** (37.58 % ,73.15 %)
- **Zinc** (33.7 %, 70.44 %)

Por otra parte, se concluye que la aplicación de una dosis del 80 % de *Pseudomonas sp* ha demostrado una reducción significativa en los niveles de metales totales en aguas residuales contaminadas, destacando la disminución del cromo (56.67 %), antimonio (90 %), azufre (74.73 %), bario (78.54 %), cobre (63.64 %), estroncio (77.50 %), hierro (72.03 %), litio (71.43 %), manganeso (85.75 %), molibdeno (81.67 %), plomo (73.15 %) y zinc (70.44 %). Sin embargo, no se observaron reducciones en cadmio, arsénico y níquel, debido a las bajas concentraciones iniciales. Además, la concentración del 80 % de *Pseudomonas sp*. ha sido efectiva en la mejora de la biorremediación de elementos químicos en aguas residuales contaminadas con metales pesados provenientes del taller de trenes Perú Rail. Estos resultados evidencian que el uso del 80% de *Pseudomonas sp* es una estrategia eficiente para la remediación de aguas residuales.

VII. Recomendaciones

Se recomienda evaluar la biorremediación in situ a escala real, empleando bacterias autóctonas o exógenas del sitio contaminado. Este enfoque es preferible por su capacidad de reducir la concentración de metales sin generar residuos secundarios, además de ser una alternativa económicamente accesible y de naturaleza sostenible en comparación con otros métodos de remediación. Dicha experimentación permitirá determinar la respuesta y eficacia microbiana en condiciones ambientales reales.

Se recomienda evaluar concentraciones intermedias entre el 40% y el 80% de *Pseudomonas sp* para determinar el umbral óptimo de eficiencia en la reducción de metales pesados. Esto permitirá identificar la dosis mínima efectiva y optimizar los costos del tratamiento. La biorremediación con *Pseudomonas sp* podría aplicarse en industrias mineras, metalúrgicas y textiles, donde los efluentes contienen altas concentraciones de metales pesados. Implementar este proceso como un tratamiento complementario a los sistemas convencionales podría mejorar la eficiencia de eliminación de contaminantes sin generar costos elevados en infraestructura.

Dado el éxito en la reducción de contaminantes mediante biorremediación. Se sugiere adaptar esta tecnología a sistemas de biorreactores modulares para el tratamiento de lixiviados en rellenos sanitarios**.** La presencia de metales como hierro, manganeso y zinc en estos lixiviados podría ser tratada eficientemente mediante la inoculación de *Pseudomonas sp*. Además, este sistema de tratamiento ofrece una alternativa de bajo costo en comparación con tecnologías fisicoquímicas, permitiendo la reutilización del agua tratada para riesgo de áreas verdes en los rellenos sanitarios.

Dado que en este estudio no se detectaron niveles de cadmio, arsénico se recomienda realizar ensayos complementarios en aguas residuales con concentraciones más elevadas de estos metales. Esto permitirá evaluar con mayor precisión la capacidad de *Pseudomonas sp*

para su remoción y determinar su efectividad en la eliminación de contaminantes altamente tóxicos, como de suelos impactados por metales pesados. Esta tecnología favorecería la recuperación de suelos degradados y la reducción de la contaminación subterránea mediante estrategias sostenibles.

VIII. Referencias

Abioye, O. P. (2011). Biological remediation of hydrocarbon and heavy metals contaminated soil. *Soil contamination, 7*, 127-142.

Ali, M., Song, X., Ding, D., Wang, Q., Zhang, Z., & Tang, Z. (2022). Bioremediation of PAHs and heavy metals co-contaminated soils: challenges and enhancement strategies. *Environmental Pollution, 295*, 118686.

Alonzo, A. M. R. (2020). Disposición final de los envases de agroquímicos en el cultivo de arroz de secano en el corregimiento de Santa María.

An, Q., Deng, S., Xu, J., Nan, H., Li, Z., & Song, J.-L. (2020). Simultaneous reduction of nitrate and Cr (VI) by *Pseudomonas aeruginosa* strain G12 in wastewater. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 191*, 110001.

Anzules, Í. d. C. P., & Castro, D. W. M. (2022). Contaminación ambiental. *Recimundo, 6*(2), 93-103.

Atuchin, V. V., Asyakina, L. K., Serazetdinova, Y. R., Frolova, A. S., Velichkovich, N. S., & Prosekov, A. Y. (2023). Microorganisms for bioremediation of soils contaminated with heavy metals. *Microorganisms, 11*(4), 864.

Balaram, V., Copia, L., Kumar, U. S., Miller, J., & Chidambaram, S. (2023). Pollution of water resources and application of ICP-MS techniques for monitoring and management—A comprehensive review. *Geosystems and Geoenvironment, 2*(4), 100210.

Bankole, A. O., Ogunkeyede, A. O., Adewale, A. T., Udeochu, U., Agboro, H., & Isukuru, E. J. (2024). Assessment of Heavy Metal Exposure in Soils of Ihwrekreka Communities, Delta State, Nigeria. *Journal of Geoscience and Environment Protection, 12*(3), 279-303.

Bedoya-Betancur, S. A., Arriola-Villaseñor, E., Valencia-Gonzalez, J. D., Ortiz-Muñoz, D. A., Barrera-Zapata, R., Hernández-Maldonado, J. A., & Ardila-Arias, A. N. (2023). Adsorción de metales pesados presentes en aguas residuales no domésticas usando residuos agroindustriales de banano. *Revista Ion, 36*(2), 15-32.

Beltrán-Pineda, M. E., & Gómez-Rodríguez, A. M. (2016). Biorremediación de metales pesados cadmio (Cd), cromo (Cr) y mercurio (Hg), mecanismos bioquímicos e ingeniería genética: una revisión. *Revista Facultad de Ciencias Básicas, 12*(2), 172-197.

Bennett, J. E., Dolin, R., & Blaser, M. J. (2020). *Mandell, Douglas y Bennett. Enfermedades infecciosas. Principios y práctica*. Elsevier Health Sciences.

Berlanga, V., & Rubio Hurtado, M. J. (2012). Clasificación de pruebas no paramétricas. Cómo aplicarlas en SPSS. *REIRE. Revista d'Innovació i Recerca en Educació, 2012, vol. 5, num. 2, p. 101-113.*

Bodie.E. Douglas , D. H. M., John.J. Alexander. (1994). Conceptos y modelos de quimica inorganica. https://www.google.com.pe/books/edition/Conceptos_qu%C3%ADmica_inorg%C3%A1nica/x4N0NPso_GIC?hl=es&gbpv=1&pg=PR4&printsec=frontcover (Editorial revertè)

Castillo-Asimbaya, K. N., Beltrán-Gonzabay, D. J., & Chulco-Suquillo, A. J. (2025). Riesgos de exposición a la contaminación por metales en las comunidades. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas, 8*(2), 85-94.

Caycedo Lozano, L., Ramírez, L. C. C., & Suárez, D. M. T. (2021). Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. *Nova, 19*, 49-94. http://www.scielo.org.co/scielo.pHp?script=sci_arttext&pid=S1794-24702021000100049&nrm=iso

Cepida Huaman, W., & Sedano Olache, J. M. (2021). Biorremediación por cianobacterias de aguas contaminadas por aceites de motor en el Distrito de Huancavelica Huancavelica–2021.

Cedeño Moreira, A. V., & Canchignia Martínez, H. F. (2022). Empleo de bacterias como alternativa de biorremediación en suelos contaminados con mercurio (Hg), Zinc (Zn), aluminio (Al) y cobre (Cu) con empleo de bacterias.

Collado Carbajal, M. A., & Rivera Raffo, J. M. (2018). Mejora de la productividad mediante la aplicación de herramientas de ingeniería de métodos en un taller mecánico automotriz.

Cota-Ruiz, K., Nuñez-Gastelúm, J. A., Delgado-Rios, M., & Martinez-Martinez, A. (2019). Biorremediación: Actualidad de conceptos y aplicaciones. *Biotecnia*, *21*(1), 37-44.

Cubillos Rodríguez, M. C., & Rozo Rodriguez, D. (2009). El concepto de calidad: Historia, evolución e importancia para la competitividad. *Revista de la Universidad de la Salle, 2009*(48), 80-99.

Custodio, M., Fow, A., Chanamé, F., Orellana-Mendoza, E., Peñaloza, R., Alvarado, J. C., Cano, D., & Pizarro, S. (2021). Ecological risk due to heavy metal contamination in sediment and water of natural wetlands with tourist influence in the central region of Peru. *Water, 13*(16), 2256.

D'Anna, T., Puntarello, M., Cannella, G., Scalzo, G., Buscemi, R., Zerbo, S., & Argo, A. (2023). The chain of custody in the era of modern forensics: from the classic procedures for gathering evidence to the new challenges related to digital data. Healthcare,

Dell'Anno, F., Brunet, C., van Zyl, L. J., Trindade, M., Golyshin, P. N., Dell'Anno, A., Ianora, A., & Sansone, C. (2020). Degradation of hydrocarbons and heavy metal reduction by marine bacteria in highly contaminated sediments. *Microorganisms, 8*(9), 1402.

Deugoue, S. D. (2024). Abandono progresivo de los combustibles fósiles: un imperativo para la justicia climática. *Noticias en Español*.

Deborah, S., & Raj, J. S. (2016). Bioremediation of heavy metals from distilleries effluent using microbes. *J Appl Adv Res, 1*(2), 23-28.

Dr. Jorje Galdos Tejada, DR. Juan Manuel Lopez Auilar, LIC. TM. Jose Daniel Torres Garibay . (2021). *Hospital reginal del cusco-Manual de Procedimientos DEPARTAMENTO DE APOYO AL DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO Servicio de*

Microbiología 2021 . Obtenido de https://hrcusco.gob.pe/wp-content/uploads/2021/11/MAPRO-MICROBIOLOGIA.pdf

Feruke-Bello, Y., Odeyemi, O., & Babalola, G. (2023). Bioremediation Potential of Heavy Metal Multi-Tolerant *Pseudomonas Spp*. Isolated From a Municipal Waste Dumpsite at Ile-Ife, Osun State, Nigeria. *J Pet Environ Biotechnol, 14*, 543.

Filler, D. M., Snape, I., & Barnes, D. L. (2008). *Bioremediation of petroleum hydrocarbons in cold regions*. Cambridge University Press.

Galarza, C. A. R. (2020). Los alcances de una investigación. *CienciAmérica: Revista de divulgación científica de la Universidad Tecnológica Indoamérica, 9*(3), 1-6.

Galarza, C. A. R. (2021). Diseños de investigación experimental. *CienciAmérica: Revista de divulgación científica de la Universidad Tecnológica Indoamérica, 10*(1), 1-7.

Garrity, G. M., Brenner, D. J., Krieg, N., Staley, J., & Manual, B. (2005). Systematic bacteriology. *The Proteobacteria, Part C: The AlpHa-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria, Bergey's Manual Trust, Department of Microbiology and Molecular Genetics, 2*.

Gomez, S. (2024). Biorremediacion. *Logos Boletín Científico de la Escuela Preparatoria No. 2, 11*(22), 30-31.

Gil-Mora, J. E., & Flores-Boza, Á. H. (2022). Índice de calidad del agua de dos ríos urbanos en la ciudad del Cusco: SapHy y Cachimayu. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research, 5*(1), 154-178.

Hausbrand, R., Stratmann, M., & Rohwerder, M. (2003). Delamination resistant zinc alloys: simple concept and results on the system zinc-magnesium. *steel research international, 74*(7), 453-458.

Hussain, A., Rehman, F., Rafeeq, H., Waqas, M., Asghar, A., Afsheen, N., Rahdar, A., Bilal, M., & Iqbal, H. M. (2022). In-situ, Ex-situ, and nano-remediation strategies to treat polluted soil, water, and air–A review. *ChemospHere*, *289*, 133252.

Hu, F., Wang, P., Li, Y., Ling, J., Ruan, Y., Yu, J., & Zhang, L. (2023). Bioremediation of environmental organic pollutants by *Pseudomonas aeruginosa*: Mechanisms, methods and challenges. *Environmental Research*, 117211.

Hongve, D., Riise, G., & Kristiansen, J. F. (2004). Increased colour and organic acid concentrations in Norwegian forest lakes and drinking water–a result of increased precipitation? *Aquatic sciences, 66*, 231-238.

Ince, M., & Ince, O. K. (2019). *Hydrocarbon Pollution and its Effect on the Environment*. BoD–Books on Demand.

Javier Mujica, E. F.-M. (2023). *Repsol:una catastrofe que se pudo evitar* . Lima .

JIMÉNEZ, C. D. C. (2017). *Estudio de la bioadsorción de Pb (II) y Cd (II) usando como biomasa a Escherichia coli aislada de las aguas contaminadas del Río Huatanay de la Ciudad del Cusco* UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTIN].

Kcana Puma, H. M. (2021). Microorganismos eficientes (EM) en la recuperación de un suelo contaminado con cadmio del distrito de San Jerónimo, Cusco.

Koncagül, E., Tran, M., & Connor, R. (2021). Informe mundial de las Naciones Unidas sobre el desarrollo de los recursos hídricos 2021: el valor del agua; datos y cifras.

Krishan, A., Yadav, S., & Srivastava, A. (2023). Water Pollution's Global Threat to Public Health: A Mini-Review.

López-Casaperalta, P., Febres-Molina, C., Aguilar-Pineda, J. A., Bernabe-Ortiz, J. C., & Fernandez-F, F. (2022). Peruvian Native Bacterial Strains as Potential Bioremediation Agents in Hg-Polluted Soils by Artisanal Mining Activities in Southern Peru. *Sustainability*, *14*(16), 10272.

Mala Cortez, C. C., & Quingatuña Andy, L. M. (2024). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos totales de petróleo usando bacterias nativas del género *Pseudomonas spp*.

Martínez, M. (2023). China frente al cambio climático: desafíos y repercusiones de la implementación de las políticas energéticas actuales. *Asiadémica: revista universitaria de estudios sobre Asia Oriental*(18), 313-338.

Mathiyazhagan, N., & Natarajan, D. (2011). Bioremediation on effluents from Magnesite and Bauxite mines using *Thiobacillus Spp* and *Pseudomonas Spp*. *J Bioremed Biodegrad*, *2*(115), 2.

McCann, S. R. (2020). Taxonomy. *Bone Marrow Transplantation*, *55*(12), 2221-2223.

Medfu Tarekegn, M., Zewdu Salilih, F., & Ishetu, A. I. (2020). Microbes used as a tool for bioremediation of heavy metal from the environment. *Cogent Food & Agriculture*, *6*(1), 1783174.

Medić, A. B., & Karadžić, I. M. (2022). *Pseudomonas* in environmental bioremediation of hydrocarbons and pHenolic compounds-key catabolic degradation enzymes and new analytical platforms for comprehensive investigation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *38*(10), 165.

Mejia, D. S. (19 de Enero de 2024). *Universidad Catolica De Manizales.* Obtenido de Universidad Catolica De Manizales: https://repositorio.ucm.edu.co/bitstream/10839/4391/1/CardonaMejiaDavidSantiago_2024_BACT.TG.pdf

Nagpal, S., Chuichulcherm, S., Peeva, L., & Livingston, A. (2000). Microbial sulfate reduction in a liquid–solid fluidized bed reactor. *Biotechnology and bioengineering*, *70*(4), 370-380.

Nnaji, N. D., Onyeaka, H., Miri, T., & Ugwa, C. (2023). Bioaccumulation for heavy metal removal: a review. *SN Applied Sciences*, *5*(5), 125.

Nugroho, D., Benchawattananon, R., Janshongsawang, J., Pimsin, N., Porrawatkul, P., Pimsen, R., Nuengmatcha, P., Nueangmatcha, P., & Chanthai, S. (2024). Ultra-trace analysis of chromium ions (Cr3+/Cr6+) in water sample using selective fluorescence turn-off sensor with natural carbon dots mixed grapHene quantum dots nanohybrid composite synthesis by pyrolysis. *Arabian Journal of Chemistry*, *17*(1), 105443.

Ochoa Ramos, K. J. (2021). Modelamiento de la calidad de aguas residuales no domesticas vertidas a la red de alcantarillado sanitario de la ciudad de Cusco, antes y después de la normativa de valores máximos admisibles.

Odesa, G., Ozulu, G., Eyankware, M., Mba-Otike, M., & Okudibie, E. (2024). A Holistic Review of Three-Decade Oil Spillage across the Niger Delta Region, with EmpHasis on Its Impact on Soil and Water. *Reading Time, 2024*, 02-02.

OEFA, O. d. E. y. f. A. (2014). Fiscaliacion Ambiental en aguas residuales. 42. www.oefa.gob.pe (1 era)

Ostos-Ortíz, O. L., Rosas-Arango, S. M., & González-Devia, J. L. (2019). Aplicaciones biotecnológicas de los microorganismos. *Nova*, *17*, 129-163. http://www.scielo.org.co/scielo.pHp?script=sci_arttext&pid=S1794-24702019000100129&nrm=iso

Paliz, K. I. P., Quiroga, L. M. S., & Uscátegui, M. R. V. (2021). Capacidad degradadora de *pseudomonas aeruginosa* frente a metales pesados presentes en muestras de

sedimentos del río Chibunga. *Polo del Conocimiento: Revista científico-profesional, 6*(5), 496-519.

Pande, V., Pandey, S. C., Sati, D., Pande, V., & Samant, M. (2020). Bioremediation: an emerging effective approach towards environment restoration. *Environmental Sustainability, 3*, 91-103.

Paz-Zarza, V. M., Mangwani-Mordani, S., Martínez-Maldonado, A., Álvarez-Hernández, D., Solano-Gálvez, S. G., & Vázquez-López, R. (2019). *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. *Revista chilena de infectología, 36*, 180-189. http://www.scielo.cl/scielo.pHp?script=sci_arttext&pid=S0716-10182019000200180&nrm=iso

Pérez Castaños, S., & García Santamaría, S. (2023). La investigación cuantitativa. *¿ Cómo investigar en Didáctica de las Ciencias Sociales? Fundamentos metodológicos, técnicas e instrumentos de investigación. 2023, p. 121-196*.

Pinzón-Junca, A. (2019). *Pseudomonas*. *Acta Medica Colombiana, 44*, 52-52. http://www.scielo.org.co/scielo.pHp?script=sci_arttext&pid=S0120-24482019000100052&nrm=iso

Piñeiro, X. F., Ave, M. T., Mallah, N., Caamaño-Isorna, F., Jiménez, A. N. G., Vieira, D. N., Bianchini, F., & Muñoz-Barús, J. I. (2021). Heavy metal contamination in Peru: implications on children's health. *Scientific reports*, *11*(1), 22729.

Pretell Masias, J. L. (2021). Evaluación de las propiedades para biorremediación de las bacterias psicrotolerantes aisladas en la base peruana "Machu Picchu"-Antártida.

Puig, L., & Monzó, O. (2013). Fenómenos y ajustes. Un modelo de enseñanza del proceso de modelización y los conceptos de parámetro y familia de funciones. *Las tecnologías digitales en la enseñanza de las matemáticas*, 9-35.

Pumacayo Huamán, I. (2023). Bioestimulación y Bioaumentación a Microorganismos en la Biorremediación de Suelos Contaminados por Hidrocarburos–Vilcabamba-Grau.

Rai, R. K., Upadhyay, A., Ojha, C. S. P., & Singh, V. P. (2011). *The Yamuna river basin: water resources and environment* (Vol. 66). Springer Science & Business Media.

Rehm, B. H. (2008). *Pseudomonas: model organism, pathogen, cell factory*. John Wiley & Sons.

Rojas García, M. A., & Rengifo Torrejón, N. N. J. (2021). Biodegradación de petróleo por *Pseudomonas aeruginosa* en aguas de derrame de la actividad petrolera, Ucayali-2020.

Sahoo, T. R., & Prelot, B. (2020). Adsorption processes for the removal of contaminants from wastewater: the perspective role of nanomaterials and nanotechnology. In *Nanomaterials for the detection and removal of wastewater pollutants* (pp. 161-222). Elsevier.

Salcedo-Martínez, S., Moreno-Limón, S., & Rocha-Estrada, A. (2019). BIORREMEDIACIÓN CON ALGAS. *Secretario General*, *15*(26), 24.

Sánchez, R. D. (2021). Caso experimental de remedición ex–situ en suelos contaminados por plaguicidas organoclorados, oxidación química y biosólidos. *Revista Tierra*, *1*(1).

Sánchez-Rojas, T. L., Macedo-Prada, D., Ramírez, P. S., Arrieta, L. K., Durán, Y., Flores, A., Manya, W. F., & Guerra, G. (2023). Cepas de Yarrowia lipolytica, aisladas de lagunas altoandinas del Perú contaminadas con relaves mineros, como potenciales

agentes para la biorremediación de metales pesados. *Ecología aplicada, 22*(1), 1-16.

Segundo, R.-F., De La Cruz-Noriega, M., Cabanillas-Chirinos, L., Otiniano, N. M., Soto-Deza, N., Rojas-Villacorta, W., & De La Cruz-Cerquin, M. (2024). The Potential Use of *Pseudomonas stutzeri* as a Biocatalyst for the Removal of Heavy Metals and the Generation of Bioelectricity. *Fermentation, 10*(2), 113. https://www.mdpi.com/2311-5637/10/2/113

Shafiq, M., & Rehman, Y. (2024). Mechanisms of Toxicity of Heavy Metals and the Microbial Strategies for their Mitigation: A Review. *THE JOURNAL OF MICROBIOLOGY AND MOLECULAR GENETICS, 5*(1), 45-63.

Shah, A., & Shah, M. (2020). Characterisation and bioremediation of wastewater: a review exploring bioremediation as a sustainable technique for pHarmaceutical wastewater. *Groundwater for Sustainable Development, 11*, 100383.

Sharma, I. (2020). Bioremediation techniques for polluted environment: concept, advantages, limitations, and prospects. In *Trace metals in the environment-new approaches and recent advances*. IntechOpen.

Suryatmana, P., Setiawati, M. R., Herdiyantoro, D., Fitriatin, B. N., & Kamaluddin, N. N. (2022). Characterization and Potential of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) Isolates Capacity Correlating with Their Hydrocarbon Biodegradation Capability.*AGRIVITA Journal of Agricultural Science, 44*(3), 559-574.

Talema, A. (2023). Causes, negative effects, and preventive methods of water pollution in Ethiopia. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods, 15*(2), 129-139.

Trujillo Peralta, F. A., López Avilés, G., Mondragón Camarillo, L., & Calderón, K. (2023). Bacterias tolerantes y resistentes a los metales pesados en el ambiente. *Epistemus (Sonora), 17*(35), 80-87.

Valladares Robles, L. C. (2016). Tratamiento de suelo contaminado por vertido de crudo de petróleo mediante la inmovilización de Aspergillus niger.

Vasquez-Velásquez, C., Ordóñez-Aquino, C., & Gonzales, G. F. (2022). Derrame de petróleo y sus efectos sobre la salud. *Acta Médica Peruana, 39*(1), 96-98.

Vega-Jara, L. Aplicación de métodos físico-químicos y biológicos en suelos contaminados con cadmio y plomo.

Vélez, J. M. B., Martínez, J. G., Ospina, J. T., & Agudelo, S. O. (2021). Bioremediation potential of *Pseudomonas* genus isolates from residual water, capable of tolerating lead through mechanisms of exopolysaccharide production and biosorption. *Biotechnology Reports*, *32*, e00685.

vivienda, M. d. (22 de Mayo de 2011). *gop.pe*. Obtenido de gop.pe: https://www.gob.pe/institucion/sedaayacucho/normas-legales/3979411-021-2009-vivienda

Wilcox, S. M., Mulligan, C. N., & Neculita, C. M. (2024). Microbially Induced Calcium Carbonate Precipitation as a Bioremediation Technique for Mining Waste. *Toxics, 12*(2), 107.

Yanuar, A. T., Amin, A., Salamah, L. N. m., Sujadi, F. M., Wiratno, E. N., Utama Dewi, C. S., & Kurniawan, A. (2024). Oxygenase Enzyme Activity and Compound Profile in Hydrocarbon Bioremediation by *Pseudomonas aeruginosa* and

Rhodococcus erythropolis Consortium. *Scientific Journal of Fisheries & Marine/Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan, 16*(1).

Zahoor, I., & Mushtaq, A. (2023). Water pollution from agricultural activities: A critical global review. *Int. J. Chem. Biochem. Sci, 23*(1), 164-176.

Zaynab, M., Al-Yahyai, R., Ameen, A., Sharif, Y., Ali, L., Fatima, M., Khan, K. A., & Li, S. (2022, 2022/01/01/). Health and environmental effects of heavy metals. *Journal of King Saud University - Science, 34*(1), 101653. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101653

Los anexos, panel fotográficos y otros documentos están resguardados en la oficina de repositorio digital institucional en la Biblioteca Central de la Universidad Tecnológica delos Andes.