

Universidad Católica de Santa María
Facultad de Ciencias e Ingenierías Físicas y
Formales
Escuela Profesional de Ingeniería de Minas



“AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE CONSORCIOS BACTERIANOS NATIVOS OBTENIDOS DEL DISTRITO MARIANO NICOLÁS VALCÁRCEL ANEXO DE SECOCHA COMO ALTERNATIVA PARA LA BIORREMEDIACIÓN DE AGUA CONTAMINADA POR METALES PESADOS”

Tesis presentada por el Bachiller:

Gongora Flores, Juan Jesus

Para optar el Título Profesional de:

Ingeniero de Minas

Asesor:

Dr. Molina Rodríguez, Fredy Nicolas

Arequipa – Perú

2021

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

INGENIERIA DE MINAS

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 03 de Noviembre del 2021

Dictamen: 004808-C-EPIM-2021

Visto el borrador del expediente 004808, presentado por:

2015221161 - GONGORA FLORES JUAN JESUS

Titulado:

**AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE CONSORCIOS BACTERIANOS NATIVOS
OBTENIDOS DEL DISTRITO MARIANO NICOLÁS VALCÁRCEL ANEXO DE SECOCHA COMO
ALTERNATIVA PARA LA BIORREMEDIACIÓN DE AGUA CONTAMINADA POR METALES PESADOS**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

**2781 - BARREDA DEL CARPIO JAIME ERNESTO
DICTAMINADOR**



**2872 - LOPEZ CASAPERALTA PATRICIA YANETH
DICTAMINADOR**



**9571 - BERNEDO TITO EDWIN JOSE
DICTAMINADOR**



Dedicatoria

Esta tesis va dedicada:

A mis queridos padres Juan Gongora Vera y Adela Flores Amesquita, quienes con todo su esfuerzo, amor y comprensión lograron sacarme adelante, por formarme en valores y enseñarme a ser mejor cada día, a ser resiliente en todo momento y saber que mientras la familia este unida, todo se puede.

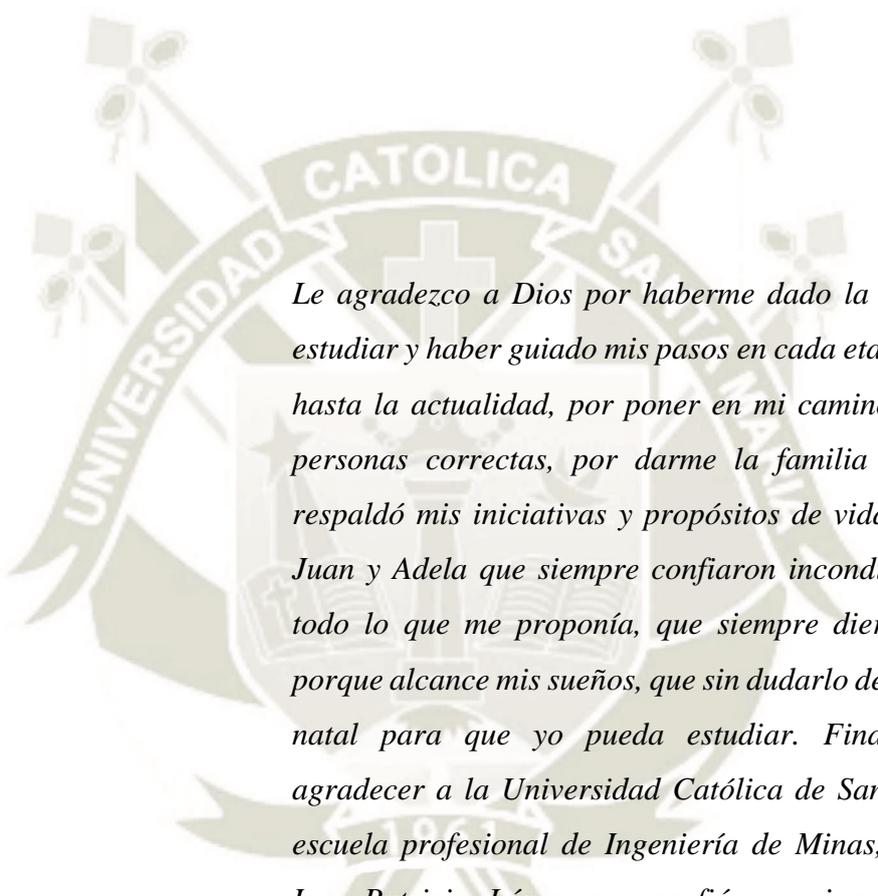
A mis abuelitos Martha Amésquita y Andrés Flores por su apoyo incondicional y celebrar cada triunfo mío como el suyo, por confiar en cada cosa que me proponía y sus consejos que siempre fueron los mejores.

A mis abuelitos Juan Gongora Llerena y Enriqueta Vera, que desde el cielo han guiado todos mis pasos y me han cuidado siempre, Quetita, falleciste en navidad a los dos días de haber ingresado a la carrera que tanto anhelé, meta cumplida como algún día lo soñamos.

A mis tías Victoria y Natividad Gongora que desde pequeño me enseñaron a ser competitivo y siempre creyeron que llegaría este momento soñado, están en el cielo y al igual que mis abuelitos sé que han cuidado de mí todo este tiempo.

Finalmente, dedico a todas aquellas personas que en el transcurso de mi carrera pude conocer y aprender de ellas.

Agradecimiento



Le agradezco a Dios por haberme dado la oportunidad de estudiar y haber guiado mis pasos en cada etapa transcurrida hasta la actualidad, por poner en mi camino siempre a las personas correctas, por darme la familia que tengo que respaldó mis iniciativas y propósitos de vida. A mis padres Juan y Adela que siempre confiaron incondicionalmente en todo lo que me proponía, que siempre dieron todo y más porque alcance mis sueños, que sin dudarlo dejaron su ciudad natal para que yo pueda estudiar. Finalmente, quiero agradecer a la Universidad Católica de Santa María, a mi escuela profesional de Ingeniería de Minas, a la directora Ing. Patricia López que confió en mi persona distintas iniciativas y actividades que llevamos adelante con éxito, les estoy eternamente agradecido.

RESUMEN

El presente proyecto de investigación consistirá en aislar e identificar molecularmente consorcios bacterianos nativos obtenidos de aguas contaminadas por el desarrollo de actividades mineras. Para tal efecto se realizará un muestreo de las aguas contaminadas en la mina artesanal ubicada en el anexo de Secocha. Las muestras serán llevadas al laboratorio y se realizarán los cultivos y las réplicas necesarias hasta aislar colonias con cepas bacterianas puras. Luego se realizará la extracción de ADN de las cepas bacterianas identificadas para proceder con el desarrollo de su secuenciación de nucleótidos e identificación de árboles filogenéticos. Finalmente se desarrollarán ensayos de laboratorio en donde se mostrará la capacidad de remoción de mercurio y mediante modelos matemáticos se identificará el comportamiento de la cepa bacteriana con respecto al tiempo.

Asimismo, se realizará el análisis bioinformático correspondiente para encontrar la mayor homología de los microorganismos aislados y así se podrá identificar la existencia de nuevas cepas bacterianas, las cuáles serán utilizadas para realizar los ensayos de biorremediación en agua contaminada con mercurio. Efluente presente en aguas residuales donde se recupera oro.

Palabras clave:

Identificación molecular, consorcios bacterianos, extracción de ADN, análisis bioinformático, biorremediación.

ABSTRACT

Mining planning today and has always been a fundamental part of the production process in the mining industry, as this is what determines what portion of the deposit will be extracted, based on a detailed and exhaustive analysis of the costs required to extract each portion of the deposit, with the objective of providing the greatest utility to the operation.

This research work aims to develop an algorithm that allows incorporating environmental remediation costs into the mining planning process, thus covering a significant fraction of the costs that are inherent in any operation and that by law corresponds an adequate occupation thereof. The environmental problems generated by mining operations have established a high degree of disapproval on the part of the population, due to the lack of foresight on the part of the companies that assume the role of taking advantage of mineral wealth. The application of this algorithm in the mining planning will allow to determine from the beginning the costs generated by the extraction of each portion of material, including the generated environmental impact and consequently produce a full, integral and modern mining planning.

Keywords:

Mining, Planning, Block Model, Recovery.

INTRODUCCIÓN

El proceso de recuperación del mineral en la actualidad depende del tipo de yacimiento, la escala de producción, los costos y presupuestos planificados.

El anexo de Secocha es un tipo de yacimiento mesotermal, la escala de producción es a pequeña escala del tipo artesanal y la inversión en frentes de recuperación se encuentra sujeta a la inversión realizada por los dueños de determinadas concesiones o asociaciones que financian el desarrollo de la explotación minera y por consiguiente recuperación del mineral.

El material que contiene oro es molido mediante el uso de quimbaletes en donde mediante el uso de mercurio se concentra el oro mediante la generación de una amalgama. Posterior a ello la amalgama es quemada y por efecto de la temperatura se libera el mercurio al medio ambiente y se recupera el oro concentrado. Este proceso da lugar a la liberación del mercurio gaseoso al medio ambiente, mientras que las aguas residuales tanto en los relaves como en las zonas circundantes contaminan los suelos, aguas freáticas, zonas de cultivo y medio ambiente en general.

El impacto por la manipulación y generación de contaminación por el uso de mercurio origina daños sobre la salud de los trabajadores mineros, así como a sus familias. Dicha contaminación es a gran escala y origina impactos sobre la salud y el ecosistema, en el año 2019 los pobladores del anexo de Secocha solicitaron a las entidades propias del estado declarar en estado de emergencia ambiental a Secocha por el incremento de mineros artesanales en el lugar y por el uso indiscriminado del mercurio en la recuperación del oro.

Los metales pesados son uno de los contaminantes más tóxicos y difíciles de tratar. Las aguas contaminadas con mercurio se obtienen como proceso de salida de en la recuperación del oro. Cabe aclarar que estos metales pesados se encuentran en la corteza terrestre de forma natural, pero si su distribución a lo largo de los ecosistemas no es la correcta se convierten en los agentes tóxicos más peligroso para el ecosistema. Uno de los metales pesados que afectan más al ecosistema y a la salud de persona es el mercurio. Este metal se puede encontrar de manera natural o se puede originar por el desarrollo de actividades antrópicas como lo es la minería del oro, en cuyo proceso de recuperación se genera actividades de alto impacto sobre el medio ambiente.

Una característica propia del mercurio es que es bioacumulable, afectando principalmente a mujeres embarazadas, ancianos y sobre todo a la población infantil. El ingreso del mercurio en el organismo da lugar a que este actúe como una neurotoxina, afectando el cerebro y el sistema nervioso en general.

A partir del grave impacto ambiental y del severo daño que genera el mercurio se propone el desarrollo del presente proyecto de investigación, con el objetivo de identificar cepas bacterianas presentes en aguas contaminadas con mercurio, las mismas que luego de un proceso experimental permitan demostrar la capacidad de biorremediación. Esto con el propósito de mejorar las condiciones técnicas, ambientales y sociales de las poblaciones en donde se desarrollan actividades mineras. Con el presente proyecto se busca motivar la generación de programas y proyectos ambientales desarrollados con el objetivo de controlar y presentar alternativas de solución a tan graves efectos ambientales y sobre la salud de las personas, causados por el uso de mercurio.



ÍNDICE GENERAL

DICTAMEN APROBATORIO

Dedicatoria iii

Agradecimientoiv

RESUMEN..... v

ABSTRACTvi

INTRODUCCIÓNvii

CAPITULO I..... 1

1. GENERALIDADES DE LA INVESTIGACIÓN 1

1.1. Ubicación..... 1

1.2. Zonas de Acceso a Secocha..... 1

1.3. Cuencas hidrográficas..... 2

1.4. Servicios básicos en Secocha 3

1.5. Actividad económica desarrollada en Secocha 4

1.6. Impacto del Mercurio 6

1.7. Marco legal que aporta al proyecto de investigación 12

1.8. Planteamiento Del Problema 14

1.9. Justificación del Problema..... 15

1.10. Propósito de la Investigación..... 18

1.11. Objetivos..... 18

1.11.1. Objetivos General..... 18

1.11.2. Objetivos Específicos.....	18
1.12. Impactos Esperados por la Implementación del Proyecto de Investigación	18
1.12.1. Impactos Ambientales	18
1.12.2. Impactos Sociales.....	19
1.12.3. Impactos en Tecnología	20
1.13. Limitaciones	21
1.14. Hipótesis.....	21
1.14.1. Variables Independientes y Dependientes	21
1.14.2. Variables dependientes.....	21
CAPÍTULO II	22
2. MARCO TEÓRICO.....	22
2.1. Presencia del oro en la naturaleza.....	23
2.2. Extracción artesanal de la amalgama del oro con el mercurio	23
2.3. Quemado de la amalgama	24
2.4. Liberación del mercurio al medio ambiente.....	24
2.5. Impacto ambiental	25
2.6. Antecedentes de la Emisión del Mercurio en el Mundo.....	26
CAPITULO III.....	27
3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	27
3.1. Desarrollo de la Investigación	27
3.2. Colección y aislamiento de cepas bacterianas.....	27

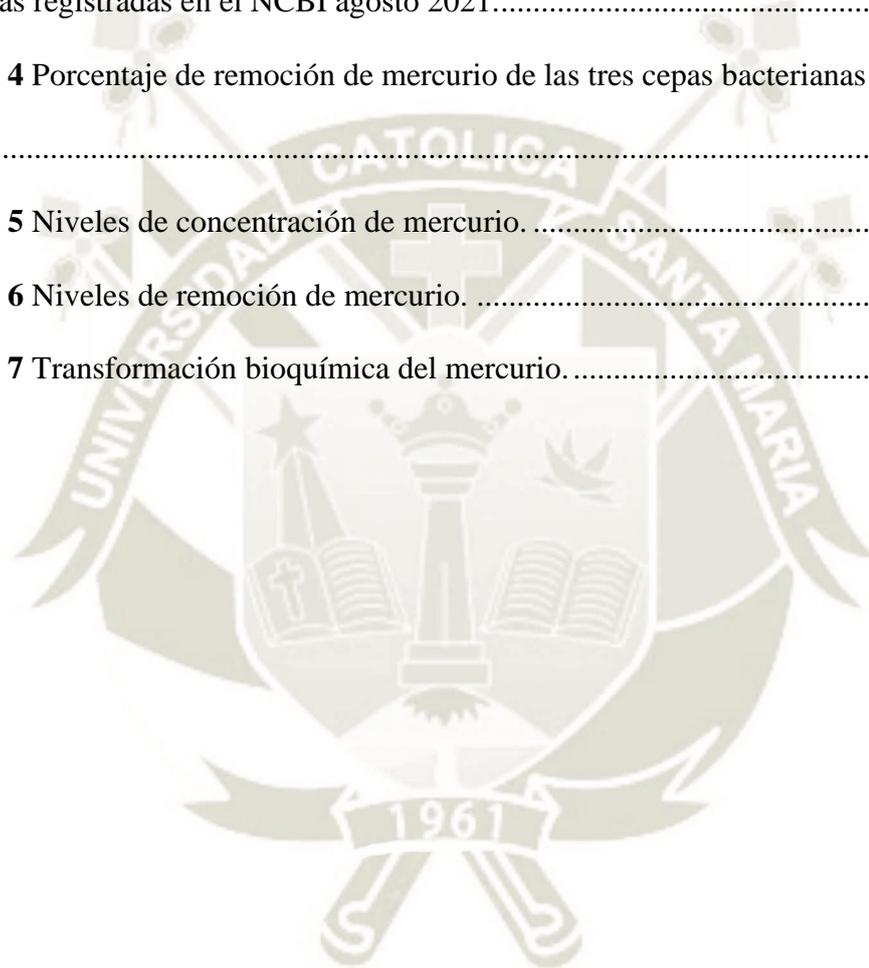
3.3. Cultivo y Aislamiento bacteriano	27
3.4. Preparación del Agar Nutritivo.....	27
3.5. Análisis Bioquímico de las Cepas Bacterianas.....	28
3.6. Descripción macroscópica de la colonia en estudio	28
3.7. Purificación.....	29
3.8. Extracción de ADN	29
3.9. Secuenciación	30
3.10. Cepa bacteriana A4.....	30
3.11. Identificación de la cepa bacteriana ingresada al Gen Bank	31
3.12. Bioinformática.....	33
3.13. Electroferograma de la Cepa Bacteriana A4	33
3.14. Análisis de laboratorio para el proceso de remoción de mercurio	34
3.15. Dinámica del comportamiento de la cepa bacteriana según GeoBra	35
3.16. Evaluación in vitro de la resistencia al mercurio de las cepas bacterianas.....	36
3.17. Modelo matemático de la cepa bacteriana A 4.....	40
3.18. Bioadsorción como técnica para la recuperación de aguas contaminadas	40
3.19. Degradación Microbiológica	41
3.20. Utilización de bacterias para la remediación de mercurio.....	42
3.21. Mecanismo de Remoción de Mercurio.....	43
3.22. Mer A.....	43
3.23. Mer B	43

CAPITULO IV	46
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
4.1. Análisis e interpretación de resultados	46
4.2. Análisis de Aplicabilidad.....	48
CONCLUSIONES	49
RECOMENDACIONES	50
REFERENCIAS	53



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Rutas de acceso a Secocha.	2
Tabla 2 Contenido de Mercurio en aguas del área de Secocha.	22
Tabla 3 Porcentaje de similitud de la cepa bacteriana A4 con las diez primeras cepas bacterianas registradas en el NCBI agosto 2021.	32
Tabla 4 Porcentaje de remoción de mercurio de las tres cepas bacterianas en distintos tiempos.	34
Tabla 5 Niveles de concentración de mercurio.	35
Tabla 6 Niveles de remoción de mercurio.	35
Tabla 7 Transformación bioquímica del mercurio.	44

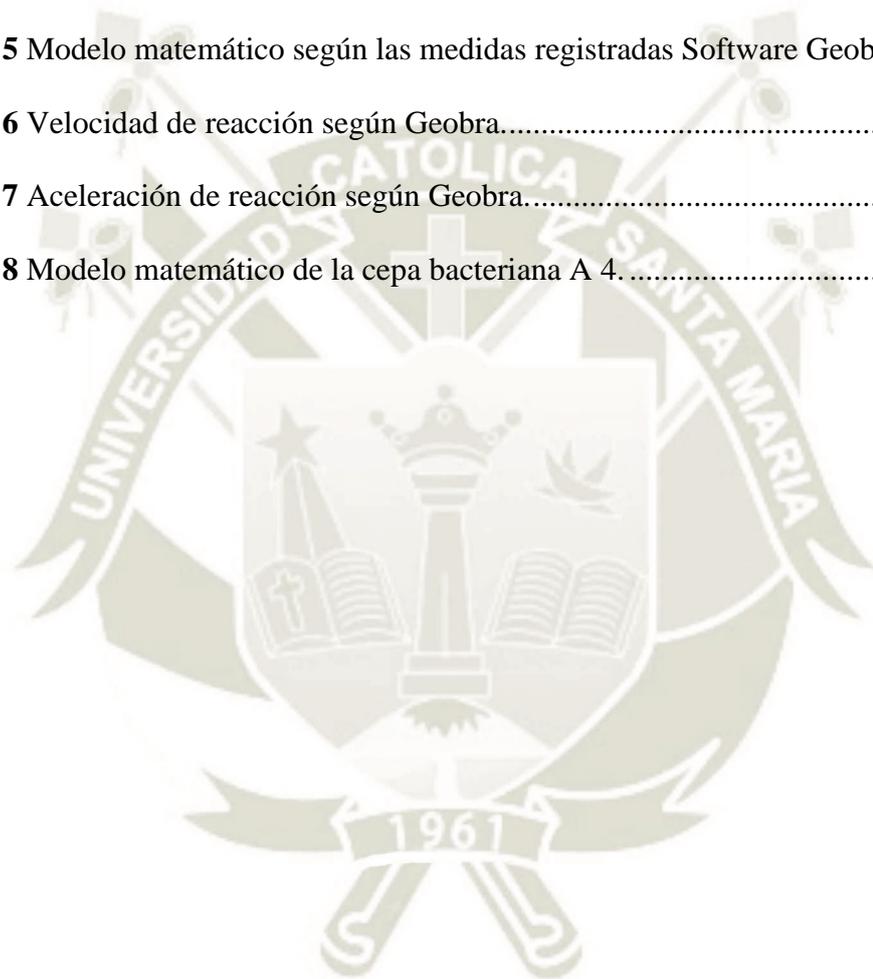


ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Ubicación del Anexo de Secocha.	1
Figura 2 Calles del anexo de Secocha.	3
Figura 3 Actividad económica desarrollada en Secocha.	4
Figura 4 Extracción del oro desarrollada por mineros artesanales.	5
Figura 5 Monitoreo Ambiental - Secocha.....	5
Figura 6 Propiedades del Mercurio.....	6
Figura 7 Mineros artesanales.....	12
Figura 8 Obtención de la amalgama de oro mediante el uso de quimbaletes.....	23
Figura 9 Quemado de la amalgama.	24
Figura 10 Árbol filogenético de la Cepa Bacteriana A4.....	32
Figura 11 Electroferograma de la Cepa Bacteriana A4.....	33
Figura 12 Porcentaje de remoción de mercurio de las tres cepas bacterianas en distintos tiempos.....	¡Error! Marcador no definido.
Figura 13 Esquema de las estrategias de remediación biológica de Hg.....	41
Figura 14 Esquema del proceso y funcionamiento del operón mer.....	45

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Cuencas hidrográficas.....	3
Gráfico 2 Bioacumulación de mercurio.....	8
Gráfico 3 Biomagnificación del Mercurio.....	9
Gráfico 4 Convenio de MINAMATA.....	15
Gráfico 5 Modelo matemático según las medidas registradas Software Geobra.....	37
Gráfico 6 Velocidad de reacción según Geobra.....	38
Gráfico 7 Aceleración de reacción según Geobra.....	39
Gráfico 8 Modelo matemático de la cepa bacteriana A 4.....	40



CAPITULO I

1. GENERALIDADES DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Ubicación

Secocha, se encuentra ubicada en el distrito de Mariano Nicolás Valcárcel, provincia de Camaná, en el departamento de Arequipa.

La minera artesanal de Secocha posee un yacimiento de oro que fue explotado por diversas empresas mineras desde el año 1893, aunque hay referencias de extracciones desde la época de la colonización.

Durante los últimos años Secocha ha sufrido un gran incremento en cuanto población y por consiguiente uso de materiales e insumos para la recuperación del oro dentro de lo que destaca el uso del mercurio. Las características actuales de Secocha hacen que no sea posible el trabajo trabajos de recuperación del mineral a gran escala por las compañías mineras formales.

Figura 1

Ubicación del Anexo de Secocha.



Fuente: UTO Ocoña (2011)

Nota. La figura muestra la ubicación geográfica, departamental y los distritos presentes en la provincia.

1.2. Zonas de Acceso a Secocha

La ruta por carretera más corta desde Arequipa es rumbo a Camaná, con una distancia de 112 Km y la duración aproximada del viaje es de 3h 25 min.

Tabla 1*Rutas de acceso a Secocha.*

Origen	Destino	km	Tipo de Carretera
Arequipa	Camaná	178	Asfaltada
Camaná	Secocha	114.4	Asfaltada /Afirmada

Nota. En la tabla se muestra el origen, destino y distancias correspondientes a la zona de Secocha.

1.3. Cuencas hidrográficas

La zona se ve relacionada con la cantidad de agua que tiene el río Ocoña. Este lugar (Valle de Ocoña) tiene como principal actividad la agricultura y en su transcurso está el pueblo de Ocoña, que es la capital del distrito. Ocoña tiene 2 cuencas hidrográficas, las cuales sus aguas terminan en el Océano Pacífico, estamos refiriéndonos al río Ocoña y Pescadores.

Toda la extensión del río Ocoña tiene un recorrido de 270 kilómetros, considerado por la cantidad de agua que registra uno de los más caudalosos del Perú, uno de los que aportan mayor cantidad de recurso hídrico al río Ocoña nace en la parte Sur de Ayacucho, en la frontera con la región Apurímac y otro aportante en la provincia de La Unión en la Región Arequipa. El distrito de Ocoña no tiene afluentes en su recorrido de 15.58 kilómetros, en el río Ocoña cuenta con una gran variedad de flora y fauna, en dicho valle se encuentra el 90% de los poblados incluido la capital del distrito. El recurso hídrico que lleva el río Ocoña es el recurso más importante ya que es usado para la agricultura, pesca y la minería.

En toda la cuenca del río Ocoña cuenta con alrededor de 70 mil habitantes, existen más de 70 comisiones de regantes, 17 grupos de pescadores artesanales del camarón, 19 grupos existentes de mineros artesanales, todos ellos se encuentran en los 38 distritos y 5 provincias de los departamentos de Arequipa y Ayacucho.

Gráfico 1

Cuencas hidrográficas.



Fuente: Sistema de Información Ambiental del Perú (2011)

Nota. Sistema de información ambiental del Perú, las cuencas 1042 y 1043 que corresponden a las de Caravelí y Ocoña respectivamente.

1.4. Servicios básicos en Secocha

El anexo de Secocha carece de agua y desagüe, lo que acrecienta el nivel de contaminación en el medio ambiente y el incremento de enfermedades infecciosas.

Figura 2

Calles del anexo de Secocha.



Nota. En la imagen se puede apreciar el vertimiento de desechos orgánicos y desechos de relaves producto del proceso de recuperación del oro con el mercurio.

1.5. Actividad económica desarrollada en Secocha

En el distrito de Mariano Nicolás Valcárcel tenemos el involucramiento de 32 concesiones mineras, de las cuales 5 de estas cuentan como titular a CIA Minera Caravelí, la cual tiene a Posco N°2, N°3, N°4 y Consuelo II; cuenta en total con 2440 hectáreas donde se desarrollan la actividad minera 5237 informales.

La segunda empresa más importante y cuyas operaciones predominan es la Empresa Minera Secocha del Sur integrada por 184 socios. La empresa posee 2 concesiones: Asppmacsu 1 y Asppmacsu 2, con 100 hectáreas cada una, ambas concesiones fueron tituladas en el 2005.

Fuente: Macro Región Sur: Formalización minera, Realidad y fracaso. Arequipa, 2015.

Figura 3

Actividad económica desarrollada en Secocha.



Fuente: Revista digital El Buhu (2018)

Nota: Frentes artesanales improvisados y delimitados según las asociaciones predominantes en el lugar.

La actividad económica productiva de la que viven los cientos de familias desde el 2003 es del desarrollo de la minería artesanal. Todo ello es impulsado por los costos de recuperación del oro y la baja inversión en cuanto uso de insumos, factores que permitieron que la población fuera creciendo de tal manera que, según el Instituto Nacional de Estadística e Informática, el distrito donde se aloja mayor cantidad de personas en el distrito de Mariano Nicolás Valcárcel, que en el año 2000 registro 2919 habitantes, en el 2015 se contabilizo más del doble 6890 habitantes. Según los resultados del censo del 2017, el distrito registro 20,200 habitantes. Siendo el 87% de la población (mineros artesanales en el caso de los hombres y en el caso de las mujeres y niños pallaqueros). Las labores más desarrolladas se encuentran en frentes bien delimitados, mientras que el resto busca el oro entre los escombros y basureros.

Según los reportes brindados por la Gerencia de Energía y Minas de Arequipa, se indica que se extrae aproximadamente cerca de seis kilos diarios de oro recolectados entre los 150 frentes de explotación en donde trabajan laboran alrededor de 10,000 mineros ilegales.

Figura 4

Extracción del oro desarrollada por mineros artesanales.



Fuente: Revista digital El Buho (2018)

Nota: El material con presencia de oro es recuperado y trasladado a los quimbaletes en donde se realizará el proceso de recuperación del oro a partir de su conformación en amalgama.

Figura 5

Monitoreo Ambiental - Secocho.



Fuente: Google Earth (2018)

1.6. Impacto del Mercurio

El mercurio y su contacto con el medio ambiente en todas sus formas es extremadamente tóxico, tanto para animales, seres humanos, para todo el medio ambiente en su totalidad. En cantidades altas el mercurio es mortal, la inhalación de vapor de mercurio es la forma más común de penetración de dicho elemento al cuerpo humano. Se calcula que un 80% de mercurio inhalado en forma de vapor es retenido en nuestro organismo. Luego que este es absorbido, el mercurio fácilmente es dispersado por todo nuestro cuerpo, tiene la gran capacidad de poder pasar con facilidad los obstáculos que muestre nuestro sistema inmunológico.

El mercurio en su estado elemental es oxidado a mercurio inorgánico divalente a través de la vía hidrógeno peroxidasa-catalasa, este se encuentra en la gran parte de tejidos. La dispersión del mercurio en su estado elemental absorbido se ve limitada primordialmente por la oxidación a mercurio divalente, ya que el último mencionado tiene una movilidad menor.

Figura 6

Propiedades del Mercurio.



Figura 1. Mercurio
Fuente. (Sotomayor, 2017)

Metal noble soluble únicamente en soluciones oxidantes. (Escuela de Química, 2016)

Masa atómica: 200, 59 g/mol. (Escuela de Química, 2016)

Densidad: 16,6 g/ml. (Escuela de Química, 2016)

Punto de ebullición: 357 ° C. (Escuela de Química, 2016)

Forma soluciones llamadas amalgamas con algunos metales como el oro, plata, cobre y plomo. (Escuela de Química, 2016)

La tensión superficial del mercurio líquido es de 484 dinas/cm, 6 veces mayor que el agua en contacto con el aire, por este motivo no puede mojar ninguna superficie con la que este en contacto. En aire seco no se oxida pero en húmedo se cubre con una capa de óxido. (Escuela de Química, 2016)

Tiene capacidad para reaccionar en forma líquida, sólida o acuosa. (Escuela de Química, 2016)

La absorción a través de la inhalación de mercurio tiene grandes posibilidades de poder ocasionar dolores de pecho, hemoptisis y en algunos casos neumotitis intersticial, la que puede

generar hasta la muerte. Si se ingiere compuestos con mercurio, refiriéndonos en específico al cloruro de mercurio, este llega a causar gastroenteritis ulcerosa y necrosis tubular aguda, esto lleva hasta la muerte por motivos de anuria si es que es el caso que no se pudo realizar la diálisis. Si la dosis de mercurio es pequeña, éste puede afectar directa y gravemente un óptimo desarrollo del sistema nervioso.

Es gravemente afectado el sistema nervioso central al estar expuesto este a los vapores de mercurio, una exposición constante a este puede ocasionar reacciones psicóticas que tienen la característica de generar delirios, querer atentar contra su vida, cambio brusco de ánimo, en varios casos genera un incremento considerado en la escala de agresividad.

El nivel de toxicidad para otros organismos como para el ser humano va a depender directamente de la forma en que se presente el mercurio, la cantidad, las vías o en medio en el cual se está expuesto.

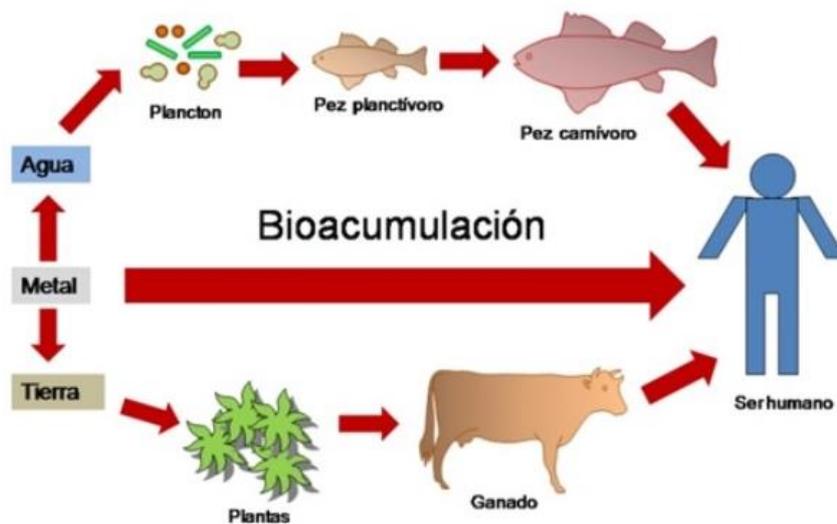
Hay casos en que se presentan casos con personas que son considerablemente vulnerables y sensibles al exponerse al mercurio, particularmente hablamos del feto, un recién nacido, los niños de menores años o los ancianos. En los casos anteriormente mencionados sus sistemas nerviosos están en formación o ya en degeneración en el caso de los ancianos. Es por ello que se debe toma conciencia sobre los problemas y daños que puede generar la exposición al mercurio, es un peligro latente para toda la población.

Para poder evitar efectos ecológicos existen los límites críticos permisibles, para el mercurio en suelos que son orgánicos está fijado en 0,07 – 0,3 mg/kg de mercurio total en los suelos, de todos los órganos es el riñón el más expuesto y afectado, ya que se puede desarrollar en él síndromes nefríticos, esto como respuesta a la exposición de mercurio.

Está demostrado que al estar expuestos de manera moderada al mercurio, este afecta y daña en particular un sistema de enzimas de la tiroides, teniendo concentraciones en la orina de 15-30 mg/g de creatinina, estos mismos niveles se ven en los informes de efectos en menores sobre sus riñones y en el sistema nervioso central. Uno de los factores muy resaltante de lo que puede llegar a causar el mercurio en el medio ambiente es la alta capacidad que tiene este para poder almacenarse en el organismo y así tener ingreso en otros organismos vivos, esto dado por la cadena alimenticia en base a su alta capacidad bioacumuladora y de biomagnificación. A partir de estas características particulares que cuenta el mercurio es que este metal esta presenta en gran mayoría de los pescados de color azul, por lo tanto, si bien es cierto que el consumo de pescado es bueno y muy beneficioso para la salud, en este caso en particular nos llega a generar un alto nivel de riesgo debido a la acumulación de este metal en los mismos.

Gráfico 2

Bioacumulación de mercurio.



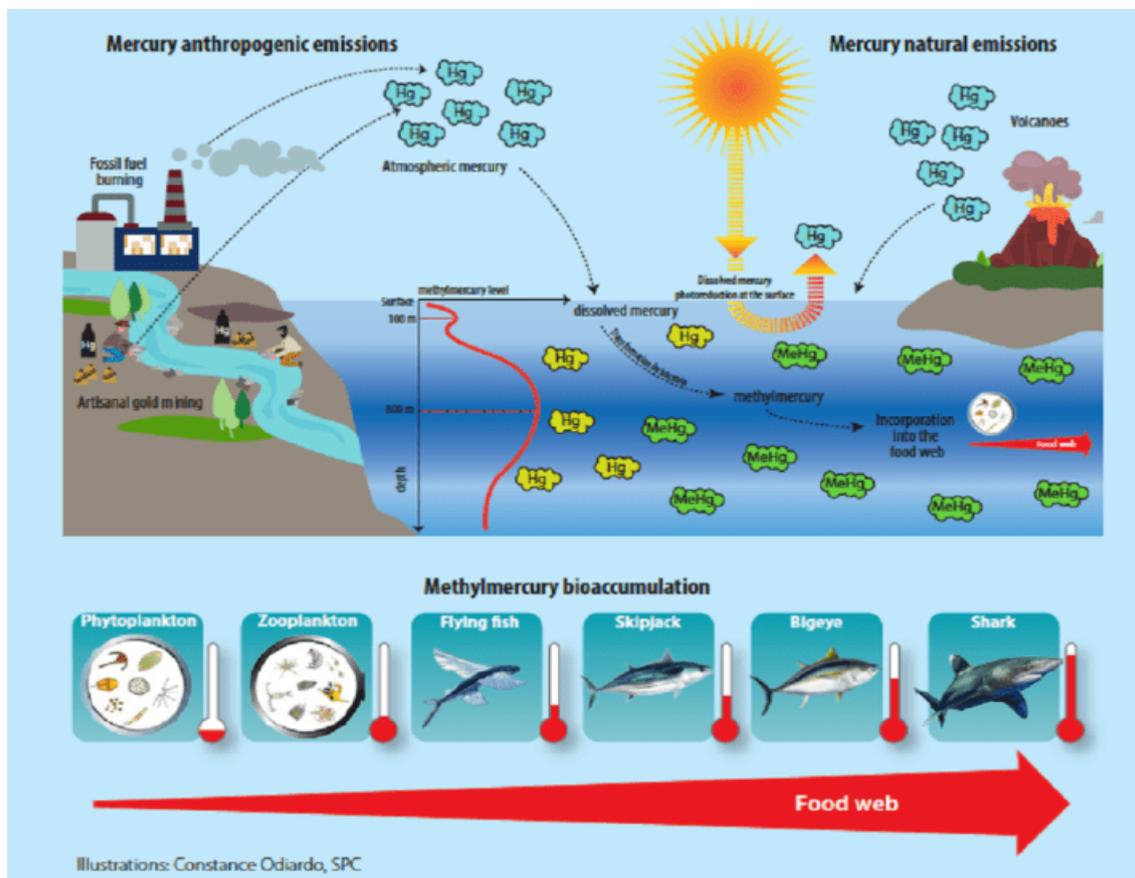
Fuente: Revista digital Ecoticias (2016)

Nota. La bioacumulación es un proceso de depósito gradual y durante un determinado tiempo, de una sustancia química en el organismo de un ser vivo.

También puede ser absorbido el mercurio inorgánico, en la mayoría de los casos en cantidades menores y a su vez con una menor eficiencia en comparación con el metil mercurio. El componente que tiene más incidencia en el bienestar y salud de los animales y los humanos es la biomagnificación; el metil de mercurio es lo que los peces adhieren con más fuerza, esto gracias a la afinidad por los compuestos proteínicos; muy cerca al 100% de mercurio es bioacumulado en los peces depredadores como consecuencia de la cadena alimenticia.

Gráfico 3

Biomagnificación del Mercurio.



Fuente: Constance Odiardo, SPC (2019)

Nota. El mercurio derivado de la actividad industrial como la minería incrementa la cantidad de mercurio en el aire, agua, suelos dando lugar a que este llegue finalmente a los ríos y océanos, luego se abre paso a través de la cadena alimenticia, acumulándose en animales marinos y bioacumulándose en los depredadores más grandes como el pez espada y los tiburones.

Las emisiones y las transformaciones son aquellos procesos que terminan definiendo el destino y por ende el transporte del mercurio por la atmósfera. El origen de las emisiones de mercurio puede ser por procesos naturales o también por antrópicos, entre los procesos naturales tenemos la volatilización que parte de la vegetación, la liberación de gases de emisiones volcánicas y por ende de materiales geológicos.

Las emisiones antropogénicas son inferidas de aquellas fuentes de combustión de un contenido que varía en mercurio y de procesos industriales, esta tiene la posibilidad de mostrarse en forma gaseosa como en particular. Ya cuando el mercurio este en contacto con el suelo, dicha sustancia está sujeta a reacciones biológicas y reacciones químicas diferentes. Las

características que presente el suelo como la temperatura, el pH, ácido húmico, estas son en su mayoría a favor de la formación de compuestos inorgánicos de mercurio libres con aniones inorgánicos.

No obstante, unos compuestos de Mercurio (II) tienen un alto nivel de solubilidad y normalmente estos forman complejos con las arcillas de suelos y materia orgánica. Dicha conducta restringe en una alta medida el movimiento del Hg en la superficie, haciendo que actúen como grandes reservas de Hg antropogénico.

Hay distintas formas en las cuales el Hg puede lograr a tener el dominio del agua. El Mercurio (II) y específicamente el metilmercurio, pueden depositarse directamente de la atmósfera a través de una vía con humedad o una seca en los cuerpos; también logran ser sumados por acción de las precipitaciones; además el mercurio aparte que puede ser trasladado por arrastre por aguas superficiales, también este mismo puede ser arrastrado y trasladado por aguas subterráneas a través de cadenas hídricas.

El recurso hídrico de la costa está altamente afectado en un alto grado por especies reactivas de mercurio y Hg elemental libres a la atmósfera por actividades humanas colindantes o cercanas, como se presenta en nuestro proyecto de investigación.

Si hacemos una comparación entre las aguas oceánicas y las aguas costeras, el aporte de mercurio en la primera mencionada es mucho menos a comparación de la otra. Para las aguas oceánicas la contaminación de mercurio llega directamente de la atmósfera. El proceso de metilación es realizado especialmente en cuerpos de aguas continentales y en sedimentos.

Hay dos rutas las cuales los compuestos metilados de mercurio pueden seguir, una es la vía anaeróbica y la otra es la vía aeróbica.

La inicial involucra a bacterias anaeróbicas, estas metilan Hg inorgánico usando la metilcobalamina, este es equivalente a la cianocobalamina o también conocida como la vitamina B.

Las bacterias reductoras de sulfato pueden generar la metilcobalamina. El *Desulfovibrio desulfuricans* y el *Clostridium cochlearium* destacan como los organismos anaeróbicos que metilan el Hg. La elaboración de metilcobalamina depende de un catalizador enzimático, la biosíntesis de metilmercurio desde la reacción de mercurio con metilcobalamina pasa en forma no enzimática.

Como sustancia neurotóxica es también conocido el metilmercurio. Según la International Programa of Chemical Safety (IPCS) hay 6 sustancias químicas consideradas las más nocivas para el medio ambiente, dentro de estas se encuentra el metilmercurio.

La alta contaminación registrada en el anexo de Secocha es dada principalmente por el mercurio, usado en la minería informal del sector para la recuperación del oro, el cual pasa primero por un proceso de trituración para luego ser mezclado por el mercurio, formar una amalgama, esta es presionada a mano para eliminar el exceso que tenga esta de mercurio. Este proceso anteriormente mencionado es el que genera el derramamiento de grandes cantidades de mercurio en los ríos, suelos y ambiente, esto dado a la gran cantidad de puntos de procesamiento de oro con este método considerado uno de los más contaminantes y peligrosos para el ser humano y el ambiente. Lo obtenido luego de mezclar el mercurio con el material rico en oro (amalgama) es normalmente quemada a campo abierto dejando así liberado el oro pero a su vez liberando el mercurio en forma de vapor directamente a la atmósfera. Casi la totalidad de todos estos procesos son realizados en zonas muy cercanas a las viviendas del sector o incluso dentro de ellas mismas. En el anexo de Secocha gran cantidad de casas se encuentran equipadas con los instrumentos necesarios para realizar este proceso, como quimbaletes dentro de ellas que sirve para la etapa de molienda y zonas de quemado, haciendo que el vapor de mercurio ingrese directo a sus hogares y por ende gran porcentaje de la población se encuentre contaminada con este metal.

Debido al grave daño que genera el mercurio en la salud de los pobladores y al medio ambiente es que se propone la realización del presente proyecto de investigación ya que este nos permitirá estudiar y utilizar variedades de tipos de microorganismos los cuales sean competentes para remover, absorber o eliminar ciertos tipos de contaminantes de las aguas o suelos contaminados por mercurio.

Existen métodos convencionales para poder darle un tratamiento a las aguas residuales y así disminuir los niveles de contaminación, estas aguas residuales con metales contienen: Precipitación, oxidación, reducción, intercambio iónico, filtración, tratamiento electroquímico, resultan con costos elevados y no al alcance de los pequeños mineros, y en algunos casos estas son ineficientes, puntualmente cuando las concentraciones del metal son muy bajas.

La aplicación de sistemas biológicos para poder erradicar los metales pesados desde soluciones diluidas posee gran potencial para lograrlo de una mejor manera y a un menor costo. Al usar métodos químicos incurren en un elevado costo, esto se debe a que el agente activo no logra ser recuperado para poder ser reutilizado. Además, el resultado final de un proceso químico resulta un lodo con más concentraciones de metales, microorganismos y otros productos los cuales también pueden ser bioacumuladores con alta eficiencia de metales particulados y solubles, es por ello que aquellas tecnologías basadas en los microorganismos

ofrecen una buena alternativa o apoyan a aquellos métodos convencionales para la eliminación o recuperación de metales.

En el ambiente el Hg que es emitido producto de la actividad minera del oro es acumulado principalmente en forma de Hg metálico y sus compuestos, tal como sucede con el nitrato de Hg que es producido producto de la división química de la amalgama en los sedimentos de los suelos o ríos, donde por una acción de la bacteria y en ciertas condiciones, es que se puede llegar a convertir en Hg orgánico, especialmente metil mercurio.

1.7. Marco legal que aporta al proyecto de investigación

- Ley N° 28611, Ley General del Ambiente.
- Ley N° 30011, Ley que modifica la ley 29235. Ley del sistema de Evaluación y Fiscalización Ambiental en sus artículos 10, 11, 13, 15, 17 y 19; así como la sexta y séptima.
- Ley N° 27446, Ley del Sistema Nacional de Evaluación de Impacto Ambiental (SEIA).
- D.L. N° 1078, Decreto que modifica la Ley N° 27446 (LSNEIA).
- D.L. N° 1105, Formalización de las actividades de pequeña minería y minería artesanal.
- D.S. N°004-2012-MINAM, Disposiciones complementarias para los IGAC.
- Ley N° 27867, Ley Orgánica de Gobiernos Regionales.
- O.R. N° 010-Arequipa, Modificación de la Estructura Orgánica y del ROF de la ARMA
- O.R. N° 033-Arequipa, Concentran las Funciones Ambientales sectoriales en la Autoridad Regional Ambiental.
- O.R. N° 302-Arequipa, Aprueban ROF de la Autoridad Regional Ambiental – ARMA.

Figura 7

Mineros artesanales.



Fuente: Revista digital Energiminas (2018)

El principio de prevención de agentes contaminantes y la óptima gestión ambiental tiene como objetivos prioritarios prevenir, vigilar y evitar la degradación ambiental.

En materia del derecho y deber fundamental establecido en la ley que todas las personas tenemos el derecho a vivir en un lugar saludable, adecuado y equilibrado para que nuestra vida se desarrolle adecuadamente, pero a su vez nosotros debemos contribuir a una gestión ambiental efectiva y proteger nuestro ambiente, así aseguramos de manera particular la salud de la población, la diversidad biológica, el aprovechamiento sostenible de los recursos naturales y el desarrollo sostenible de nuestro país.

En referencia al principio de sostenibilidad en materia de gestión del medio ambiente y de sus componentes se sustenta la integración equilibrada de los aspectos sociales, ambientales y económicos del desarrollo nacional, así como en la satisfacción de las necesidades de las actuales y futuras generaciones y cuando no sea posible eliminar las causas que generan la contaminación se deben adoptar las medidas de mitigación, recuperación, restauración o eventual compensación

Con respecto a la gestión ambiental y en materia del objetivo de la política nacional del ambiente se considera que para ello se debe brindar las condiciones adecuadas para cambiar positivamente la calidad de vida de las personas, de esta manera poder garantizar la existencia de saludables ecosistemas, que sean funcionales en el largo plazo y viables asegurando el desarrollo sostenible de nuestro país, todo esto mediante la protección, prevención y recuperación del ambiente con sus componentes, el aprovechamiento de manera sostenible y la conservación de los recursos naturales, de una manera responsable y respetando los derechos de las personas.

Finalmente es importante mencionar que debe de ser continua y permanente la gestión ambiental, que está constituido por actividades, normas entre otras que están orientadas hacia la administración de los intereses y recursos que se ven relacionados con los objetivos de la política ambiental y de esta manera poder lograr mejorar la calidad de vida, un íntegro desarrollo de actividades económicas y la preservación del patrimonio natural y ambiental de nuestro país.

Los principios determinados en las normas y leyes anteriormente mencionadas son las que rigen la gestión ambiental.

1.8. Planteamiento Del Problema

El Hg es un elemento metálico único que se encuentra en estado líquido a temperatura ambiente. Cuenta con un brillo similar a la plata, pero a 25°C tiene su densidad de 13.456 g/ml a 20°C la presión de vapor es 0,00212 mmHg, es por ello que un almacenamiento de mercurio metálico que se encuentre expuesto en un ambiente cerrado desprende el vapor necesario para poder saturar la atmósfera y sobrepasar el límite máximo seguro de exposición ocupacional.

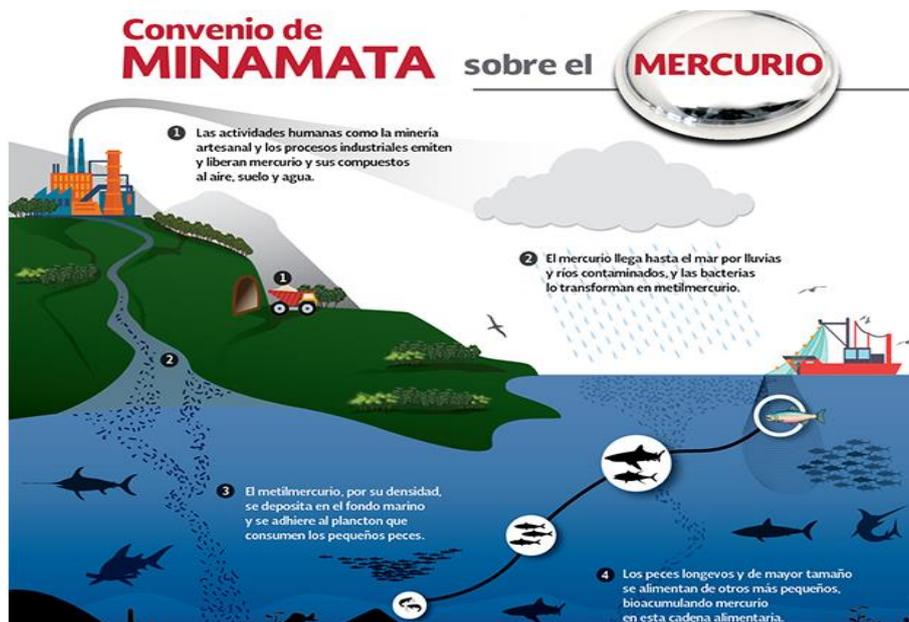
Viendo desde la perspectiva toxicológica, hay 3 formas de mercurio: inorgánico, el elemental y el orgánico. Estas tres cuentan con diferentes espectros de toxicidad, pero a su vez estas 3 poseen una similitud, que es causar cambios en los sistemas neuronales de los seres humanos. Lo que más debe de causar preocupación en los mineros debe ser la inhalación de vapor de mercurio que es liberado durante la quema de la amalgama que a diario se realiza en el sector de Secocha, en las casas, en presencia de personas, incluyendo niños y ancianos, en el anexo de Secocha un 30% de viviendas posee zonas de quemado de amalgamas y un 50% posee quimbaletes dentro de sus domicilios.

Esta situación de exposición a mercurio elemental conlleva el riesgo de padecer todo tipo de enfermedades ocupacionales y sobre todo lesiones irreversibles al sistema nervioso central. Las zonas mineras que son críticas, es decir zonas con niveles altos de concentraciones de mercurio son importantes fuentes de dispersión de este en el agua, esta ayuda a la contaminación por medio de metilmercurio, que es muy tóxico, más que el Hg elemental y las sales inorgánicas. La contaminación por mercurio llega a los peces, flora y fauna silvestres, y por la cadena alimenticia llega también a la vida de miles de personas, tanto para las que activamente participan en la actividad minera, como las que viven en zonas cercanas a estas operaciones.

Aproximadamente el 90% del metilmercurio que se encuentra en los alimentos es absorbido por medio del sistema digestivo, esto se produce en los seres humanos como en los animales. Clínicamente la intoxicación se conoce como “enfermedad de Minamata”, esta produce daños neurológicos. Estos daños pueden manifestarse en niños de madres que han estado expuestas al metilmercurio, especialmente en la parte final de la gestación, sin obviar su gran capacidad teratogénica.

Gráfico 4

Convenio de MINAMATA.



Fuente: Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático-México (2017)

Nota. El Convenio de Minamata sobre el Mercurio entró en vigencia el 16 agosto y obliga al control en el mundo del metal cuya emisión es gravemente tóxica para los humanos y otros seres vivos del planeta. Crédito: INECC.

1.9. Justificación del Problema

A través de la historia, la actividad minera ha sido el principal motor de la economía y siempre presente como el fundamento de riqueza más contundente del Perú. Según el Ministerio de Energía y Minas (MINEM), en el mundo y en Latinoamérica, nuestro país está ubicado siempre entre los primeros productores de oro, plomo, plata, hierro, cobre, zinc, molibdeno, estaño, entre otros que son solicitados en el mercado de Estados Unidos, China, Unión Europea, Suiza, Canadá y Japón. Refiriéndonos en el sector económico, el sector minero representa una cifra muy significativa en los tributos, generaciones de empleo y en las exportaciones.

Un daño ambiental ocurre cuando se produce la pérdida, disminución o degradación significativa de uno o más de los componentes o compartimentos ambientales (Gherzi et al., 2004). Estos daños pueden ocurrir de manera rápida en cortos periodos, o mostrar sus efectos de manera lenta a lo largo del tiempo (Parellada, 2005). Entre ellos, tenemos la alteración de los ríos, lagos y zonas marino costeras, y del aire, suelos, flora, fauna y paisajes, por el vertimiento o emisiones de residuos minerales y gases con alto contenido de metales tóxicos;

la deforestación de la cobertura vegetal, que pone en peligro la estabilidad de taludes y los procesos de almacenamiento e infiltración del agua en el suelo; y la eliminación o disposición inadecuada de residuos minerales y escombreras, que ocupan áreas mayormente expuestas a la intemperie, y que los ponen en contacto con el entorno y las personas. Si bien el daño ambiental puede ser puntual en términos de áreas geográficas, es también colectivo, pues las aguas, la atmósfera, la flora y la fauna afectadas, son bienes que pertenecen a todo un grupo social o colectividad, que ven afectada su capacidad para usar y aprovechar de manera racional los servicios que les brinda. (Brañes, 2000; Wieland & Velarde, 2008)

En Perú existen oficialmente un total de 94.858 mineros informales según cifras emitidas por el MEM. En el anexo de Secocha se encuentran desarrollando la actividad minera artesanal 16000 personas dentro de los que se encuentran considerados los mineros artesanales y mujeres conocidas como pallaqueras.

En el numeral 22 del artículo 2° de la Constitución Política del Perú, se reconoce el derecho fundamental de todo ciudadano a gozar de un ambiente equilibrado y adecuado para el desarrollo de su vida. Para el ejercicio idóneo de este derecho, el Estado ejecuta políticas públicas que expresan acciones de prevención y conservación de los recursos naturales, la diversidad biológica y las áreas naturales protegidas; de planificación y ordenación territorial; de gestión ambiental de los recursos naturales y las áreas naturales protegidas; de evaluación del impacto ambiental de las actividades económicas; de fiscalización de las obligaciones ambientales de las empresas; y de remediación de los impactos ambientales negativos. Al respecto, el Tribunal Constitucional sostiene que “el derecho a gozar de un ambiente equilibrado y adecuado comprende la facultad de las personas de disfrutar de un ambiente en el que sus elementos interactúan de manera natural y armónica; y en el que la intervención del hombre no suponga una alteración sustantiva de la interacción de dichos elementos.

El derecho a la preservación de un ambiente sano y equilibrado implica que los poderes públicos asuman la obligación ineludible de mantener los bienes ambientales en condiciones adecuadas para su disfrute. Tal obligación también alcanza a los particulares, y con mayor razón, a aquellos cuyas actividades económicas inciden, directa o indirectamente, en el ambiente” (Gómez, 2013).

Lamentablemente estos principios no llegan a ejecutarse ni a considerarse en las actividades mineras informales y/o artesanales.

A partir del grave impacto ambiental que genera la minería artesanal en nuestro país se propone el desarrollo del proyecto de investigación “Biorremediación de aguas contaminadas con Mercurio mediante el uso de microorganismos con capacidad de remoción de mercurio”.

“Un ecosistema es un sistema biológico constituido por una comunidad de organismos vivos y el medio físico donde se relacionan. Se trata de una unidad compuesta de organismos interdependientes que comparten el mismo hábitat”. El principal impacto de la industria minera sobre el ecosistema es sustancialmente la ocupación del área para el establecimiento de la infraestructura necesaria para el desarrollo de esta industria, el consumo de los recursos naturales y la generación de residuos que desde un punto de vista holístico cualquier actividad productiva genera. (Tansley, 1934)

De los puntos mencionados se desprende por su relevancia y mayor impacto la generación de residuos, que desde el punto de vista ambiental se define como cualquier material cuyo productor o dueño considera que no tienen valor suficiente para ser retenido, la cuestión planteada a continuación es el manejo de dicho residuo, en la industria minera los residuos suelen ser de carácter peligroso en especial los provenientes del procesamiento y esta tiene una disposición establecida de acuerdo al reglamento ambiental de cada país.

El consumo y la contaminación del agua es un tema crítico en este sector, sobre todo cuando los residuos llegan a zonas agrícolas, el agua es uno de los insumos más críticos para llevar a cabo una actividad minera ya sea para la extracción del mineral del yacimiento como para su subsiguiente procesamiento y recuperación del mineral. Para su uso se debe considerar que dichas fuentes son limitadas, en el anexo de Secocha tal como se mencionó líneas arriba no hay agua ni desagües.

La propuesta del presente trabajo de investigación se enmarca en demostrar el proceso de remoción de mercurio a partir del uso de cepas bacterianas, las mismas que serán identificadas, cultivadas y puestas a prueba mediante un proceso experimental que permita demostrar su capacidad de remoción de mercurio. La Bioadsorción es un proceso que permite la captación activa o pasiva de iones metálicos, debido a la propiedad que diversas biomasas vivas o muertas con la capacidad de enlazar y acumular este tipo de contaminantes por diferentes mecanismos. (Candelaria Tejada Tovar, et Al. 2014)

En el transcurso del tiempo, han venido realizándose estudios para que la flora microbiana, algas y residuos agroindustriales puedan reemplazar a los métodos convencionales en la eliminación de contaminantes, como lo son los metales pesados. Entre aquellos metales que más daño le hacen al ambiente por su alto nivel de toxicidad y compleja eliminación se encuentra el mercurio, níquel, cromo, plomo y cadmio.

Identificaron bacterias capaces de soportar altas concentraciones de estos metales pesados, las que pueden servir como herramientas potenciales para la biorremediación, lo que inspiró la propuesta de desarrollo del presente trabajo de investigación. Además, una vez identificadas

las cepas bacterianas y demostrada su capacidad de remoción de mercurio también se desarrollará la información referente a la morfología, bioquímica y bioinformática cuya información nos permitirá realizar el registro en el banco de datos de bacterias presente en el NCBI. (Fashola, M. et al., 2016)

1.10. Propósito de la Investigación

EL propósito del presente trabajo de investigación es generar una alternativa de recuperación de aguas contaminadas con mercurio mediante el uso de cepas bacterianas identificadas en ambientes contaminados producto del proceso de recuperación del mineral empleado en la minería artesanal.

Brindando alternativas para la remoción de mercurio mediante la biorremediación de ambientes contaminados generando de esa manera un aporte al desarrollo de la minería artesanal de nuestro país.

1.11. Objetivos

1.11.1. Objetivos General

Aislar y caracterizar molecularmente consorcios bacterianos nativos obtenidos en el Anexo de Secocha como alternativa para la biorremediación de agua contaminada por metales pesados.

1.11.2. Objetivos Específicos

- Aislar y caracterizar molecularmente cepas bacterianas con capacidad de crecimiento en aguas contaminadas con mercurio.
- Realizar la bioinformática de las cepas bacterianas identificadas
- Realizar el análisis estadístico para identificar el comportamiento de las cepas bacterianas identificadas.
- Realizar el modelo experimental para demostrar su capacidad para la biorremediación.

1.12. Impactos Esperados por la Implementación del Proyecto de Investigación

1.12.1. Impactos Ambientales

El tratamiento de los contaminantes provenientes de las actividades mineras y la recuperación de las aguas contaminados. Permitirá el aprovechamiento adecuado de las mismas y por consiguiente la eliminación de riesgos a su salud, tratándose a costo cero.

En los últimos tiempos se ha ido incrementando la demanda de la sociedad para descontaminar los efluentes industriales, sean líquidos o gaseosos, esto a través de restringir cada vez más de forma más estricta, esto ha motivado en los últimos 10 años una intensa búsqueda de opciones que contribuyan a poder dar solución a los problemas de carácter ambiental.

Si comparamos la biorremediación con las tradicionales técnicas físico-químicas para la remediación de los compuestos que contaminan, éstas se han vuelto una alternativa muy atractiva debido a sus bajos costos y efectividad. La biorremediación ha demostrado ser económica por lo tanto es rentable y a su vez óptima, ya que esta se puede degradar selectivamente los contaminantes de determinada superficie sin generar daños en su fauna o flora.

El aplicar el método de biorremediación es una opción que actualmente se encuentra constantemente en desarrollo. Esto es por la complejidad de las comunicades microbianas, de plantas o microorganismos que son parte de estos procesos.

Para la aplicación de la biorremediación se aconseja hacer un análisis previo de factibilidad económica, tecnológica y ecológica, para esto se debe tener en cuenta las condiciones en las que se encuentra el ecosistema ya dañado y también aquellas posibilidades de aplicación de alguno de los tipos de biorremediación.

1.12.2. Impactos Sociales

El presente trabajo de investigación será beneficioso para las comunidades expuestas al procesamiento y tratamiento de minerales en el Anexo de Secocha. Si la eficiencia se da colectivamente junto con las acciones, entonces estas sumadas nos darán muy buenas oportunidades de progreso competitivo.

Los recursos naturales son parte primordial de la biorremediación, pues esta depende directamente de ellos, es decir de algún organismo vivo. Es por lo mencionado que se establecen tecnologías para dar prioridad al tratamiento biológico y avanzado con el fin de disminuir la concentración de estos compuestos en las aguas residuales, suelo y aire.

Un factor importante por considerar es que la industria pequeña local necesita tecnologías limpias y amigables con el ambiente, para dar un óptimo tratamiento a los medios que han sido contaminados por sus actividades productivas sin controles oportunos. De esta manera el aporte, desarrollo y aplicación contribuirá en el corto, mediano o largo plazo el encuentro del objetivo de poder tener un desarrollo sustentable y así poder reducir los daños, lesiones

o enfermedades que son causadas por químicos tóxicos debido a la contaminación del aire, suelo y agua.

1.12.3. Impactos en Tecnología

Gracias a su capacidad bioquímica y ecológica, los consorcios bacterianos pueden degradar aquellos contaminantes orgánicos e inorgánicos y estos son resistentes a los metales pesados, haciéndolos útiles para la recuperación de aguas contaminadas.

Las documentaciones muestran que en Estados Unidos durante muchos años se ha venido usando la biorremediación, pero de una manera no refinada en la industria petrolera. De esta manera surge el concepto empírico de quienes operaban las refinerías del petróleo, ellos desechaban los lodos de los separadores tipo API (Instituto Americano del Petróleo) y otros residuos aceitosos en forma de una delgada capa encima del suelo, en un lugar próximo a la refinería. Dicha técnica llamada landfarming ha sido ampliamente usada, pero sin entender los procesos que se estaban haciendo, se causaba la degradación de los lodos. Luego fue entendida científicamente, esto porque los científicos e industriales pudieron comprobar que algunos microorganismos, sobre todo unas bacterias, utilizaban a los hidrocarburos del petróleo como fuente de energía y alimento.

Luego de realizar diversos estudios se ha demostrado que los microorganismos eran los principales responsables de descomponer los aceites que se encontraban en el suelo, dando lugar al tratamiento de aguas residuales usando los lodos activados, aporte crucial de la biotecnología en aplicaciones de biorremediación.

En el control de contaminación de aguas, el tratamiento de lodos activados ha venido siendo un instrumento importante para la biotecnología ambiental.

Para mejorar cada vez más la biorremediación, los microorganismos y enzimas han sido el punto principal para poder realizarlo, también, el uso en fitorremediación de las plantas superiores. Actualmente los procesos de biorremediación son usados tanto para el tratamiento de suelos contaminados como el de aguas contaminadas. Al usar las diferentes herramientas que están relacionadas a la biorremediación se ha podido demostrar que a medida que se den las condiciones necesarias del medio al que se intervendrá, el proceso de biorremediación ofrecerá una disminución significativa de beneficios ambientales y costos a comparación de otras tecnologías alternativas. Por otro lado, la biorremediación ha podido demostrar ser útil para la disminución de emisiones de vapores de compuestos orgánicos, en particular de aquellos efluentes gaseosos que son bajos en compuestos Orgánicos Volátiles.

Se logra evidenciar que la biorremediación en el transcurso del tiempo ha venido siendo una parte importante en la parte de poder mantener el ambiente limpio, la cual se irá ampliando y multiplicando a medida que se desarrollen más estudios y aplicaciones de esta para el tratamiento de efluentes, residuos y las emisiones. A pesar de que la biorremediación es reconocida por su alta efectividad y bajos costos para su aplicación, tiene que enfrentar otro reto, que es poder tener la confianza necesaria de todas las compañías e instituciones relacionadas.

Para poder lograr el desarrollo sostenible se requiere poder implementar un enfoque de gestión que implique innovación constante y desarrollo de nuevas tecnologías para que estas puedan darnos un control mejor de la contaminación del ambiente.

Impactos en la Formación de Cadenas Productivas o Clusters

Crear una fuerza de trabajo especializada y comprometida con el cuidado del medio ambiente en beneficio de ellos mismos y la comunidad de su entorno.

Es decir que se pueda sostener un progreso competitivo (upgrading). Estimulando la colaboración pública y privada en materia de investigación y difusión de resultados a fin mejorar las destrezas, habilidades y por consiguiente un mejor desempeño para la obtención de resultados.

1.13. Limitaciones

La intervención sobre una zona contaminada demanda inversión y la suma de esfuerzos de distintos organismos tanto estatales como privados que permitan y den inicio al proceso de recuperación de las zonas mineras y/o industriales donde existan niveles de contaminación

1.14. Hipótesis

Considerando que los consorcios bacterianos de distintas especies presentan propiedades biorremediadoras, es probable aislar e identificar consorcios bacterianos nativos del Anexo de Secocha para aplicarlos en la biorremediación de agua contaminada por metales pesados (mercurio).

1.14.1. Variables Independientes y Dependientes

- Variables Independientes
- Agua contaminada
- PH

1.14.2. Variables dependientes

- Remoción de mercurio

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

El proceso de recuperación del mineral de manera artesanal. Provoca una serie de efectos contaminantes y críticos tanto para la salud de los pobladores como para el ecosistema. La criticidad del proceso inicia en los quimbaletes cuyas emisiones de mercurio al medioambiente y el contacto del mismo con el hombre durante la conformación de la amalgama originan múltiples impactos negativos. (Pfeiffer y Lacerda, 1988)

Por otro lado, los lodos que surgen como producto del proceso de la molienda contienen una elevada concentración de mercurio. Para la recuperación del oro de la amalgama se realiza la quema o refogeo, en este proceso se pierde un elevado porcentaje de mercurio, que es emitido directamente a la atmosfera. Se estima que por cada gramo de oro recuperado se libera al medio ambiente 2 gramos de mercurio.

El mercurio liberado en el agua se acumula en forma de metilmercurio o dimetil mercurio, estas sustancias son altamente tóxicas por su contaminación en el agua, aire y suelo y porque en presencia de organismos acuáticos se bioacumula y se biomagnifica generando un circuito de contaminación que afecta al aire, al suelo, al agua, a los animales y al hombre.

Al lado de Secocha pasa el Río Ocoña con un alto caudal. En la parte más alta de este río también hay situados otros asentamientos mineros desde donde se distribuye todos los agentes contaminantes desde las partes altas hacia las partes bajas del lugar. Teniendo presente esta hidrografía, se recogieron muestras de agua en los puntos considerados potencialmente críticos y se llevaron para analizar la concentración de mercurio por absorción atómica, siguiendo el método de vapor frío. Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 2

Contenido de Mercurio en aguas del área de Secocha.

Muestra N°	Procedencia	Hg (ppm)
1	Rio Ocoña (Secocha)	9.09
2	San Martín 1	4.53
3	Zona de quimbaletes parte alta de Secocha	186,00

Nota. El estudio de control periódico del pH de todos los puntos de agua muestreados dio como resultado valores de entre 7 y 9. La concentración máxima permitida por la OMS es de 1,00 ppb.

2.1. Presencia del oro en la naturaleza

En la naturaleza el oro puede presentarse en una de estas 4 formas:

a) Oro libre

b) Oro con superficie limpia, sencilla de formar amalgama

c) Oro con superficie sucia, forma amalgama pero previamente se tiene que realizar una limpieza de la superficie, puede ser seca o a través de lavado con reactivos apropiados o también a través de resfregado en un medio acuoso.

d) Oro en solución sólida: Oro encontrado en ganga en ganga silicea, esta manera de presentarse el oro hace sencilla la manera de amalgamar luego de haber pasado por el proceso de trituración.

2.2. Extracción artesanal de la amalgama del oro con el mercurio

La minería del oro artesanal y en pequeña escala son procesos rentables para la extracción del oro, las personas que trabajan en labores de explotación del oro en pequeña o mediana escala, usan técnicas antiguas, que no requieren inversiones de dinero grandes sino todo lo contrario. El uso del mercurio es para retirar el oro del mineral, generalmente el mercurio es manipulado por personas que no tienen claro los riesgos que esto implica, no han tenido una capacitación previa para disminuir los riesgos y el uso de equipos de protección personal son casi nulos. La minería artesanal o conocida como minería a pequeña escala, es una de las fuentes principales de ingresos para los mineros de las comunidades rurales donde las oportunidades de trabajo son escasas, por ende encuentran en esta actividad un punto muy atractivo.

Figura 8

Obtención de la amalgama de oro mediante el uso de quimbaletes.



Fuente: Marc Costa, Pura Alfonso, Silvia Palacios (2009)

Nota. El mercurio se usa para separar y extraer el oro de las rocas o piedras en las que se encuentra. El mercurio se adhiere al oro, formando una amalgama que facilita su separación de la roca, arena u otro material.

En esta etapa se añade el Hg al mineral durante el proceso de trituración, molienda y lavado. Este uso del mercurio es el que más contaminación produce. En la mayoría de los casos, solo la décima parte del mercurio agregado para la formación de la amalgama se llega a combinar con el oro, es decir, que el resto es retirado o es liberado al medio ambiente.

Los lugares en los cuales se realiza el proceso de amalgamación son aquellos que presentan los niveles más altos de contaminación, tanto de sus suelos, aguas freáticas, sus sedimentos, entre otros.

2.3. Quemado de la amalgama

La amalgama se coloca en una pala o cazo de metal y se quema directamente sobre el fuego, a cielo abierto. En Secocha los vapores de mercurio escapan al aire y son inhalados por los mineros, sus familias y demás personas que se encuentren cerca. Esta práctica produce emisiones atmosféricas de mercurio de alrededor de 300 toneladas métricas anuales en todo el mundo. (GMP, 2006)

Figura 9

Quemado de la amalgama.



Fuente: Galo Carrillo Rojas (2009)

Nota. Para la recuperación del oro se calienta la amalgama para que se evapore el mercurio y quede el oro. Se usan varias técnicas diferentes que liberan distintas cantidades de mercurio.

2.4. Liberación del mercurio al medio ambiente

Una de las vías más contaminantes del mercurio es la del vapor generado por la quema de la amalgama, liberando el mercurio al medio ambiente, siendo inhalado por las personas cercanas a esta actividad. Cuando es realizada de manera manual la amalgamación, parte del mercurio ingresa directamente al cuerpo a través de la piel.

La amalgamación y quemado en este sector se hace sin tomar ninguna medida de protección y constantemente se hace en presencia de niños, ancianos, gestantes o hasta incluso es realizado dentro del hogar de los mineros en presencia de su familia, en las mesas o lugares que son usados usualmente para las actividades cotidianas. El mercurio en forma de vapor presenta un peligro no solo para los pobladores locales ya que este puede recorrer largas distancias en la atmósfera y llegar a contaminar pueblos cercanos a su entorno.

El Hg que es depositado en agua y es absorbido por las bacterias, se bioacumula en la cadena alimenticia y este es la principal fuente de mercurio en nuestros alimentos que consumimos. El mercurio es altamente tóxico incluso en pequeñas cantidades, así sean estas mínimas de igual manera causan problemas neurológicos, pero de forma más peligrosa para mujeres embarazadas, ancianos y niños.

En el anexo de Secocha se han hallado altas concentraciones de Hg en la leche de las madres lactantes que se encuentran en constante contacto con la actividad minera, lo que demuestra que las mujeres lactantes corren un serio peligro al permanecer en estos ambientes contaminados. El polvo con mercurio se pega a la ropa de los mineros y es de esta manera que el metal ingresa a sus hogares. En distintas partes del mundo se han realizado estudios de salud donde la población cercana a las operaciones de minería artesanal donde se usa el método de amalgamación, tienen altos niveles de mercurio. Algunos de estos mineros se encuentran expuestos a más de 50 veces superior del límite máximo aceptable de exposición de mercurio, fijado por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Hay lugares que los mineros que trabajan con el método de la amalgamación, el 50% presenta temblores involuntarios, es decir tienen su sistema nervioso dañado por el mercurio.

2.5. Impacto ambiental

Las zonas que cuentan con altos niveles de mercurio en el ambiente, normalmente ubicados en cursos de agua o en las cercanías de este, son denominados “zonas mineras críticas”. El anexo de Secocha está considerado como tal. Las dimensiones de zonas críticas afectadas por la actividad minera y su contaminación que esta genera pueden ir desde unos metros cuadrados hasta varios cientos de esta. Los medios acuáticos son importantes medios para poder dispersar y expandir el mercurio, esto contribuye a la contaminación por metilmercurio de los peces, flora y fauna silvestre, con efectos consiguiente para la salud de miles de personas, esto para los que participan de manera directa como los que lo hacen indirectamente, incluso los que no se encuentran en la localidad, ya que está comprobado que a través del aire el mercurio puede ser transportado cuando se encuentra en estado de vapor.

Los relaves con contenido de mercurio son normalmente vertidos en masas de agua, estos quedan cerca de ríos, arroyos, estanques, los cuales también vienen a ser contaminados por largos periodos de tiempo. Si no se interviene de manera oportuna estos lugares contaminados, pues estos seguirán afectando de manera directa a las poblaciones en general durante un largo período, atentando contra la salud y sistemas nerviosos de sus pobladores sin restricciones de edad, si trabajan directamente o no en la actividad minea. Es considerado de gran peligro el uso combinado de mercurio con cianuración, esta combinación es peligrosa ya que esta promueve la metilación del mercurio.

2.6. Antecedentes de la Emisión del Mercurio en el Mundo

La problemática de la pérdida del mercurio durante el proceso de recuperación del oro, ha sido ampliamente estudiado: “En Tanzania por 1 g de oro producido 1.2 – 1.5 g de mercurio son emitidos al medioambiente” (Van Straaten, 2000). “En la minería del sur de Colombia, se emiten entre 3 Kg a 10 Kg de mercurio por un kilogramo de oro producido” (Pantoja, 2001).

Como valor medio se puede tomar 5 Kg. De mercurio por 1Kg de oro obtenido. En las minas primarias de Brasil y Bolivia que utilizan mercurio directamente en los molinos, para realizar molienda y amalgamaciones simultáneas pierden entre 5 Kg a 10 Kg de mercurio (en casos extremos hasta 25 Kg) para recuperar 1 Kg de oro. Las perdidas promedio que ocasionan los mineros informales de Brasil o “Garimpeiros” se han estimado en 2 Kg. Hg/Kg. de oro obtenido.

“En Ecuador se utiliza entre 1.5 y 2 kg de mercurio para la producción de 1 kg de oro” (Bermeo, 2001).

“Los valores típicos promedios para emisiones en procesos de concentración en circuitos abiertos son de 1 a 30 kg de mercurio por 1 kg de oro recuperado” (Wotruba, 2002).

“En China las pérdidas son de 40 partes de mercurio por 1 parte de oro producido, en Bolivia la relación Hg: Au es 5, en Ghana la relación Hg: Au es 4, en Indonesia es de 2.5” (Veiga, 2004).

Por cada gramo de oro producido se queman dos gramos de mercurio, estimando que en las zonas de Puno (la Rinconada) y el Sur medio (Ica – Arequipa – Ayacucho), se vierten al medio ambiente 105 toneladas/ anuales de mercurio, correspondiendo a 85 toneladas/ anuales de mercurio líquido los vertidos en los relaves y a 20 toneladas/ anuales de mercurio gaseoso los emitidos durante el refogado. (GAMA, 2000)

CAPITULO III

3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Desarrollo de la Investigación

El estudio se llevó a cabo en el laboratorio de la microbiología de la Universidad Católica de Santa María. Las muestras fueron recolectadas de los relaves de la mina artesanal de Secocha específicamente de las zonas de descarga de los quimbaletes. En donde se evidencio un valor excedente de 185 ppm. Asimismo, los análisis de laboratorio brindaron la información de cepas bacterianas con las siguientes características: pH 7.5 valor favorable para el crecimiento de bacterias.

3.2. Colección y aislamiento de cepas bacterianas

Las muestras fueron recogidas de los relaves contaminados con mercurio presentes en las áreas de recuperación y formación de amalgamas del mineral (quimbaletes).

3.3. Cultivo y Aislamiento bacteriano

Para la Preparación de la suspensión y la obtención de la solución madre de HgCl₂ se disolvió 1 gr. de HgCl₂ en 100 mL de agua destilada desionizada estéril. El medio de cultivo empleado fue agar nutritivo.

Cada una de las suspensiones fueron preparadas en y sembradas en 2 placas de Agar nutritivo con 5 ppm de HgCl₂, las muestras fueron ingresadas en una incubadora por 48 horas a 35° C en ambiente aeróbico.

Al cabo de 48 horas se realizaron subcultivos de las colonias aparentemente diferentes que crecieron en el medio de cultivo con 5 ppm de HgCl₂ Obteniéndose una colonia macroscópicamente pura y aislada en medio con HgCl₂.

3.4. Preparación del Agar Nutritivo

- Suspender 4.6 gr de polvo de Agar Nutritivo (Difco™) en 200 mL de agua destilada
- Mezclar bien y agregar 100 µL de solución madre de HgCl₂ para obtener un medio de cultivo con 5 ppm de HgCl₂
- Calentar sobre un mechero agitando frecuentemente hasta disolver completamente
- Autoclavar a 121° C por 15 minutos
- Dejar enfriar hasta 50° C y colocar en placas Petri

- Preparación del Agar Sangre
- Disolver 8 gr de Agar sangre base (Merck™) en 200 mL de agua destilada
- Mezclar bien y agregar 100 µL de solución madre de HgCl₂ para obtener un medio de cultivo con 5 ppm
- Calentar sobre un mechero agitando frecuentemente hasta disolver completamente
- Autoclavar a 121° C por 15 minutos
- Dejar enfriar hasta 50° C en baño María
- Agregar 10 mL de sangre desfibrilada estéril de ovino y mezclar
- Colocar en placas Petri

De esta mezcla se pesó 10 gr de tierra y se mezcló con 10 mL de agua destilada desionizada estéril en un frasco pírax estéril de 100 mL

- De esta mezcla se sembraron en 2 placas de Agar nutritivo con 5 ppm de HgCl₂ para cultivarlos en una incubadora por 72 horas a 35° C en ambiente aeróbico.
- Al cabo de 72 horas se realizaron subcultivos de las 3 colonias aparentemente diferentes que crecieron en el medio de cultivo con 5 ppm de HgCl₂ Obteniéndose colonias macroscópicamente puras y aisladas en medio con HgCl₂.

3.5. Análisis Bioquímico de las Cepas Bacterianas

Las pruebas bioquímicas realizadas de la cepa bacteriana identificada a la que inicialmente nombraremos como A4 mostro los siguientes resultados:

Cepa Bacteriana: A4 Halomona

Gram: Positiva

Oxidasa: Negativa

Catalasa: Positiva

3.6. Descripción macroscópica de la colonia en estudio

A partir del aumento del tamaño de las colonias, de las cepas aisladas en las placas de cultivo en condiciones ambientales se evaluaron sus características macroscópicas registrando lo siguiente:



Cepa Bacteriana A 4

Color	Blanquecina
Tamaño	2.7 mm
Forma de la colonia	circular
Borde de la colonia	regular
Elevación	convexa
Reacción Gram	positiva
PH Favorable para su crecimiento	7-9
Temperatura ideal para su crecimiento	37°C

3.7. Purificación

Para obtener una colonia pura se realizó un sembrado con un asa de siembra la técnica aplicada fue tendido de muestra por agotamiento, la incubación se realizó por 72 horas a 35°C. El procedimiento fue repetido 10 veces siguiendo los pasos indicados. (Fernández F. F, 2017)

3.8. Extracción de ADN

El método de extracción de ADN se realizó en el laboratorio ADN Uchumayo. Para la rotura celular se realizó una rotura por golpe de perlas de vidrio para ello se usó Beads Cell Disrupter Micro Smash (Tomy Seiko Co., Ltd., Tokio). Se colocaron perlas de vidrio en tubos de muestra de 2,0 mL y se añadió al tubo una suspensión de bacterias en tampón tapadas herméticamente

la velocidad de batido fue de 4800 rpm por un periodo de tiempo de 30 seg. (Shuji Fujimoto, Yoshiko Nakagami, 2004)

3.9. Secuenciación

Una vez extraído el ADN se envió para la secuenciación de nucleótidos la cepa bacteriana identificada A4.

3.10. Cepa bacteriana A4

NNNNNNNNNNNNNNANNTGTCAGTCGAGCGGTAACAGNGNGNTGCTTGCTN
 NNGCTGACGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCATAGGAATCTGCCCGATAGTG
 GGGGATAACCTGGGGAAACCCAGGCTAATACCGCATAACGTCCTACGGGAGAAAG
 GGGGCTNCNGCTCCCGCTATCGGATGAGCCTATGTTCGGATTAGCTGGTTGGTGAG
 GTAACGGCTACCAAGGCGACGATCCGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCA
 CATCGGGACTGAGACACGGCCCGAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATAT
 TGGACAATGGGGGGAACCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCCT
 CGGGTTGTAAAGCACTTTCAGTGAGGAAGAACGCCTGGTGGTTAATACCCATCA
 GGAAAGACATCACTCACAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCG
 GTAATACGGAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTA
 GGTGGCTTGATAAGCCGTTGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAACGGCATC
 CGGAACTGTCAAGCTAGAGTGCAGGAGAGGAAGGTAGAATTCGGTGTAGCGG
 TGAAATGCGTAGAGATCGGGAGGAATACCAGTGGCGAANGCGGCCTTCTGGACT
 GACTGACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGTAGCINNAGGATTAGATACCCTGG
 TAGTCCACGCCGTANCGATGTTCGACCAGCCNTTGGGTGCCTAGCGCACTTTGTGG
 CGAANTTAACGCGATAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAAC
 TCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGA
 TGCAACGCNNAACCTTACCTACTCTTGACATCCTGCGAATNNGTAGAGATAACC
 TTANTGCCTTCNGGAACGCANANACNGGTGCTGCATGGNTGTCGTCNGCTCGTGT
 TGTGAAATGTTGNNNTCCNTNCGAGCGCNCNNNNNNNNNTNNNNNCNGT
 ANNNNGNNNTCTNNNNACNNNNNNANNNNNNNNNNNNNNNNNNTCANNCATCN
 NNNNTNNNNNNNGNTNNNNNNNCNNNANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
 NNNNNNNNANNCNAAANNNNNNTNNNNNNNNNANNNNNNNNN

3.11. Identificación de la cepa bacteriana ingresada al Gen Bank

Título profesional

Cepa 14-12F c ## digo A4

DESHACERSE

[JAMX8URP013](#) *La búsqueda vence el 08-26 04:16 am*

- [Descargar todo](#)

Programa

BLASTN [Ayudar](#)

- [Citación](#)

Base de datos

rRNA_typestrains / 16S_ribosomal_RNA

- [Ver detalles](#)

ID de consulta

lcl | Query_30809

Descripción

Ninguno

Tipo de molécula

adn

Longitud de la consulta

1229

Tabla 3

Porcentaje de similitud de la cepa bacteriana A4 con las diez primeras cepas bacterianas registradas en el NCBI agosto 2021.

Descripción	Nombre científico	Cubierta de consulta	Por. Ident	Acc. Len	Adhesión
Halomonas hamiltonii cepa W1025 ARN ribosómico 16S, secuencia parcial	Halomonas hamiltonii	83%	96,59%	1455	NR_115089.1
Halomonas johnsoniae cepa T68687 ARN ribosómico 16S, secuencia parcial	Halomonas johnsoniae	83%	96,49%	1455	NR_115090.1
Halomonas stevensii S18214 ARN ribosómico 16S, secuencia parcial	Halomonas stevensii S18214	83%	96,00%	1455	NR_115088.1
Halomonas magadiensis cepa 21M1 ARN ribosómico 16S, secuencia parcial	Halomonas magadiensis	83%	95,81%	1473	NR_044880.1
Halomonas aquamarina cepa DSM 30161 ARN ribosómico 16S, secuencia parcial	Halomonas aquamarina	83%	95,41%	1528	NR_042063.1
Halomonas axialensis cepa Althf1 ARN ribosómico 16S, secuencia parcial	Halomonas axialensis	83%	95,41%	1438	NR_027219.1
Halomonas meridiana cepa NBRC 15608 ARN ribosómico 16S, secuencia parcial	Halomonas meridiana	83%	95,03%	1460	NR_113779.1
Halomonas meridiana cepa DSM 5425 ARN ribosómico 16S, secuencia parcial	Halomonas meridiana	83%	95,32%	1528	NR_042066.1
Halomonas zhaodongensis cepa NEAU-ST10-25 ARN ribosómico 16S, secuencia parcial	Halomonas zhaodongensis	83%	95,22%	1410	NR_125612.1
Halomonas venusta cepa DSM 4743 ARN ribosómico 16S, secuencia parcial	Halomonas venusta	83%	95,13%	1530	NR_042069.1

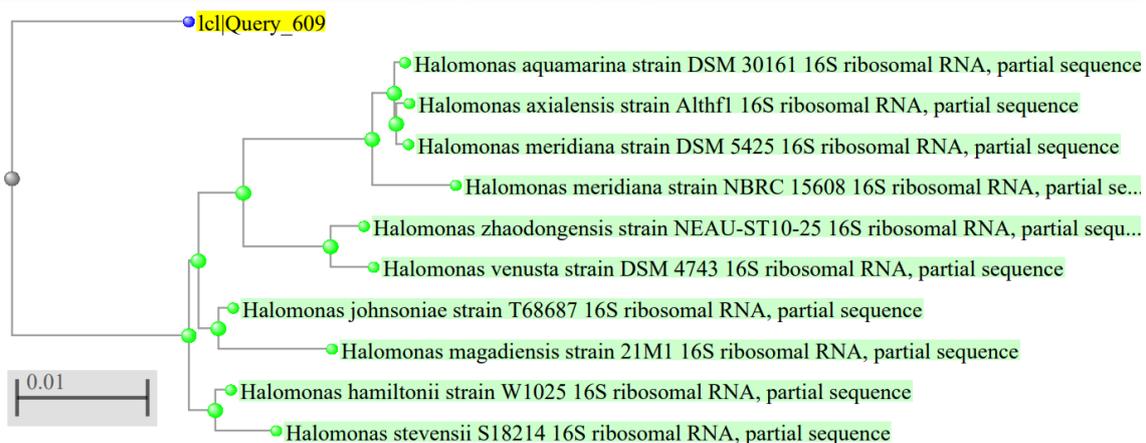
Fuente: Elaboración propia (2021)

Nota. En la tabla se puede visualizar el agrupamiento de las secuencias del gen 16S ribosomal de la cepa bacteriana comparada con la cepa bacteriana en estudio. Mostrando una similitud entre 95.13% y 96.59% según el proceso de alineamiento por medio de BLAST y bajo los parámetros del programa MEGA mencionado por Kumar y Col, 2004.

El Árbol Filogenético ha sido construido por medio de programas informáticos los cuales han permitido el acceso a la manifestación gráfica de la Genealogía Molecular con las 10 primeras cepas con más similitud dentro de las cepas registradas en el Banco de genes, en donde se puede visualizar la posición evolutiva con los otros 10 macroorganismos comparados. El árbol Filogenético se ha diseñado mediante el método Neighbourjoining (Saito y Nei, 1987) y el modelo Kimura-2.

Figura 10

Árbol filogenético de la Cepa Bacteriana A4.



Nota. El Árbol filogenético muestra la comparación con las 10 primeras cepas bacterianas que describen con mayor porcentaje de similitud de acuerdo al Gen Bank.

3.12. Bioinformática

Para el Análisis de la secuencia de nucleótidos del gen 16S RNA ribosomal de las cepas bacterianas en estudio, se realizó una comparación aislada y una alineación particular por cada cepa. Los resultados fueron comparados con secuencias de consorcios bacterianos almacenadas en la base de datos de GENBANK del NCBI

(<https://www.google.com/search?q=ncbi&oq=ncbi&aqs=chrome..69i57j0j0i39516.2418j1j15&sourceid=chrome&ie=UTF-8>), para ello se empleó el algoritmo Nucleotide Web BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST) y Sequence Match en donde se encuentran regiones de similitud entre secuencias biológicas. Las secuencias encontradas fueron alineadas con los scores más altos (Max ident).

Para ello se utilizó el método Neighbor Joining. A partir de los trayectos calculados se construyeron los árboles filogénicos de cada una de las cepas bacterianas, una vez alineadas las secuencias se obtuvieron las distancias genéticas y parámetros de base de sustitución de acuerdo al modelo Kimura2. Para analizar el alineamiento de las secuencias se usó ClustalW, las secuencias en estudio se ingresaron al Programa Mega con la finalidad de relacionarlas con sus similares de especies bacterianas del mismo género.

3.13. Electroferograma de la Cepa Bacteriana A4

El electroferograma de Cepa Bacteriana A4 fue analizado por electroforesis capilar en el secuenciador automático ABI 3730XL DNA Analyzer que transcribe los signos fluorescentes, graficado en BioEdit Sequence Alignment Editor.

Figura11

Electroferograma de la Cepa Bacteriana A4.

3.15. Dinámica del comportamiento de la cepa bacteriana según GeoGebra

GeoGebra es un programa informático de matemática que junta de manera dinámica la algebra, geometría, la estadística y el cálculo en registros gráficos, organización de hojas de cálculo y su análisis.

GeoGebra, dinamiza el estudio y permite conocer el comportamiento de la cepa bacteriana armonizando lo experimental y lo conceptual. Para calcular y conocer el comportamiento de la cepa bacteriana A4 en referencia a su capacidad de remoción de mercurio se consideraron las siguientes medidas a las 0 horas 162 ppm, a las 12 horas mostro una medida de 152 ppm, a las 24 h midió 144 ppm, a las 48 horas 129 ppm, a las 720 horas 108 ppm y a las 1080 horas se midió 98 ppm.

Tabla 5
Niveles de concentración de mercurio.

t (horas)	Niveles de concentración	
	(ppm)	
0	162	
12	152	
24	144	
48	129	
720	108	
1080	98	

Nota. Para el desarrollo del trabajo experimental se realizaron distintas mediciones, considerando para ello las variables del tiempo vs niveles de concentración

Tabla 6
Niveles de remoción de mercurio.

t (horas)	Remoción (ppm)
4.08	0
12	10
24	18
48	33
720	54
1080	64

Nota. Para el desarrollo del trabajo experimental se realizaron distintas mediciones, considerando para ello las variables del tiempo vs niveles de remoción de mercurio.

3.16. Evaluación in vitro de la resistencia al mercurio de las cepas bacterianas

Con el fin demostrar el efecto de remoción de mercurio por las cepas bacterianas aisladas de suelos contaminados, se realizó en siguiente procedimiento:

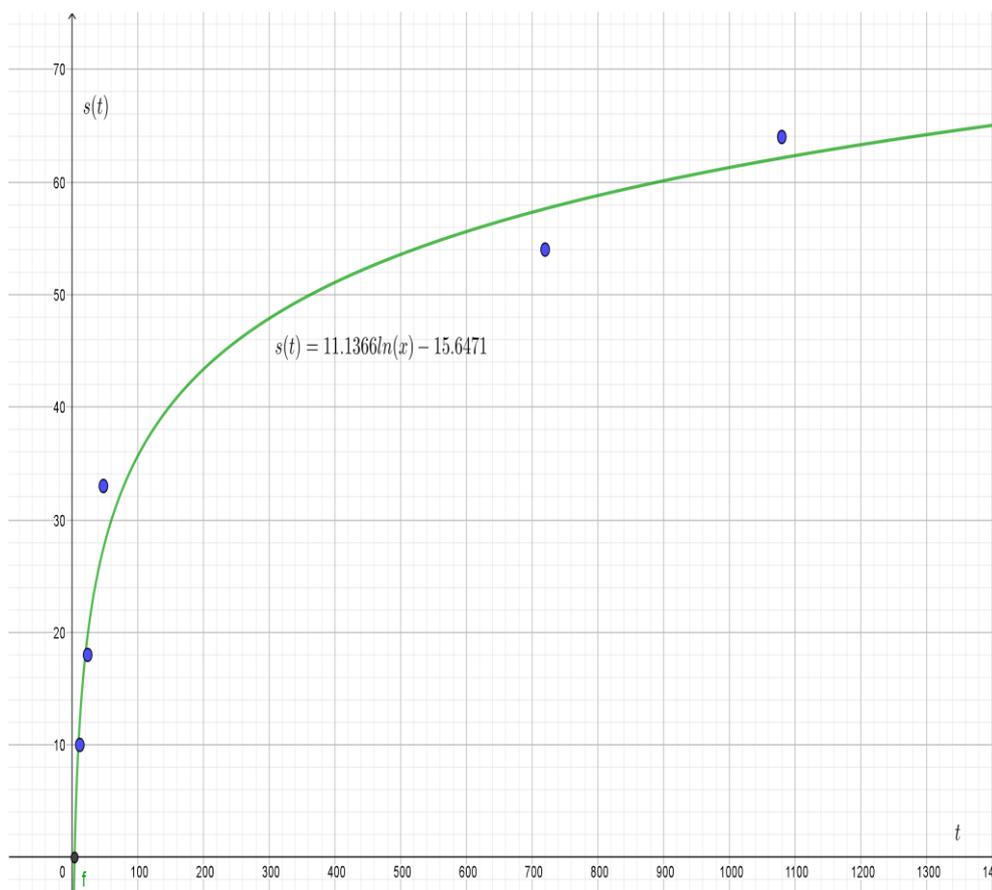
- Se pesó 200 gr de tierra y se diluyó en 1 litro de agua destilada estéril, se dejó en reposo por 24 horas
- Se filtró la suspensión de agua y tierra con papel filtro Whatman 41
- Se esterilizó el filtrado a 121°C por 20 minutos a 1 BAR de presión
- Se vertió 500 mL de este filtrado en botellas Pírex, agregando mercurio a 162 ppm
- A esta suspensión se agregó 1 mL de suspensión de cada colonia bacteriana a una proporción de turbidez de Macfarlán 1.
- Las botellas conteniendo la suspensión de mercurio y colonias bacterianas se colocaron en un agitador horizontal manteniéndoles por tiempos de 12, 24, 48, 720 (30 días) y 1080 (45 días) horas, tiempos a los cuales se extrajo 15 mL de suspensión para someterlos a ultra centrifugación de 10 000 ppm durante 10 minutos según la metodología descrita. (Kieser, 2000)
- Se extrajo el sobrenadante de 10 mL y se colocaron en tubos Falcón estériles para la determinación mercurio.
- Medición de mercurio en cada sobrenadante tomado según lo indicado en el sexto punto acerca de la preparación de las muestras para el ensayo experimental para analizar la remoción de mercurio, con el método de espectrometría con vapor frío, por cada cepa bacteriana en diferentes tiempos (distintos momentos).

Gráfico 5

Modelo matemático según las medidas registradas Software Geobra.

$$S(t) = -15,64710401634848 + 11,13663880843691 * \log(t)$$

$$S(t) = -15,6471 + 11,1366 \ln(t)$$

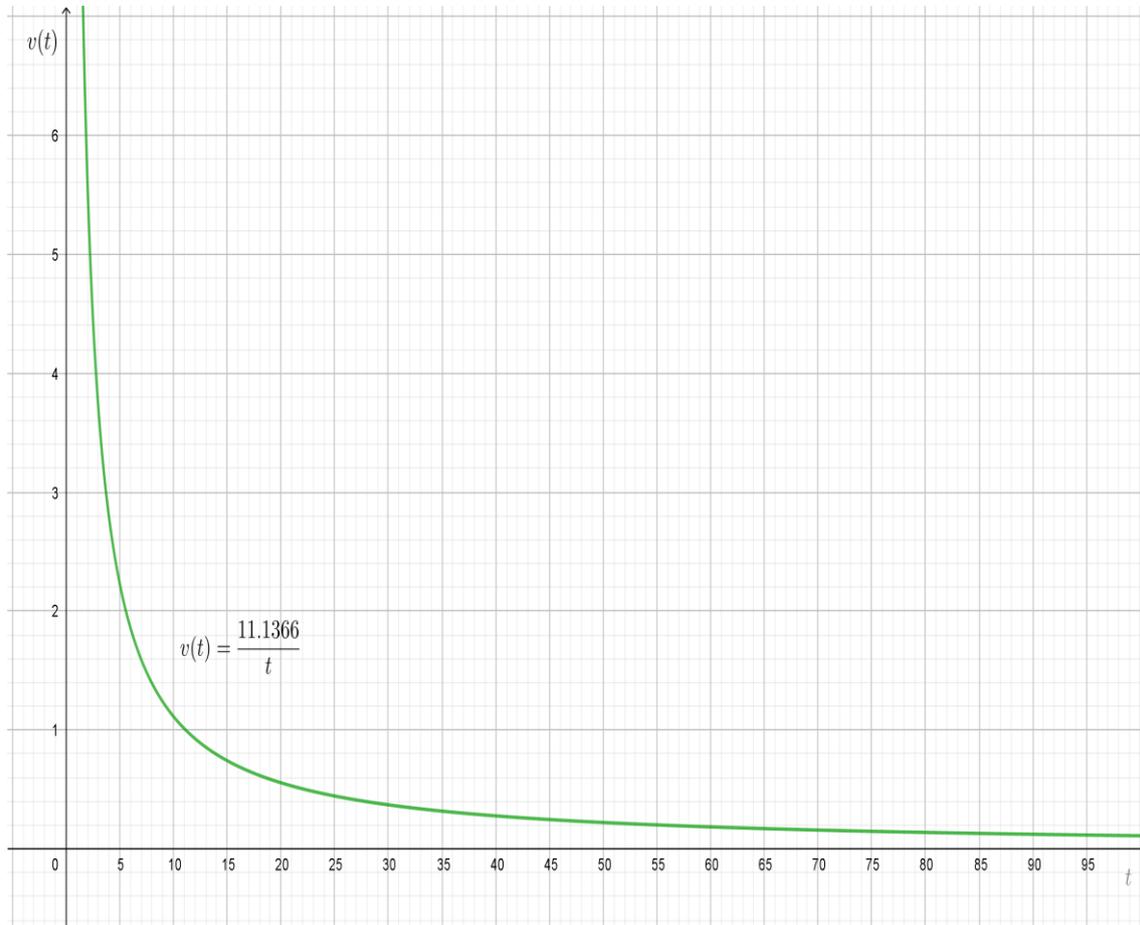


Nota. Los resultados registrados en la tabla muestran que la remoción de mercurio se incrementa a medida que se incrementa el tiempo de exposición.

Gráfico 6

Velocidad de reacción según Geobra.

$$v(t) = s'(t) = 11.1366/t$$



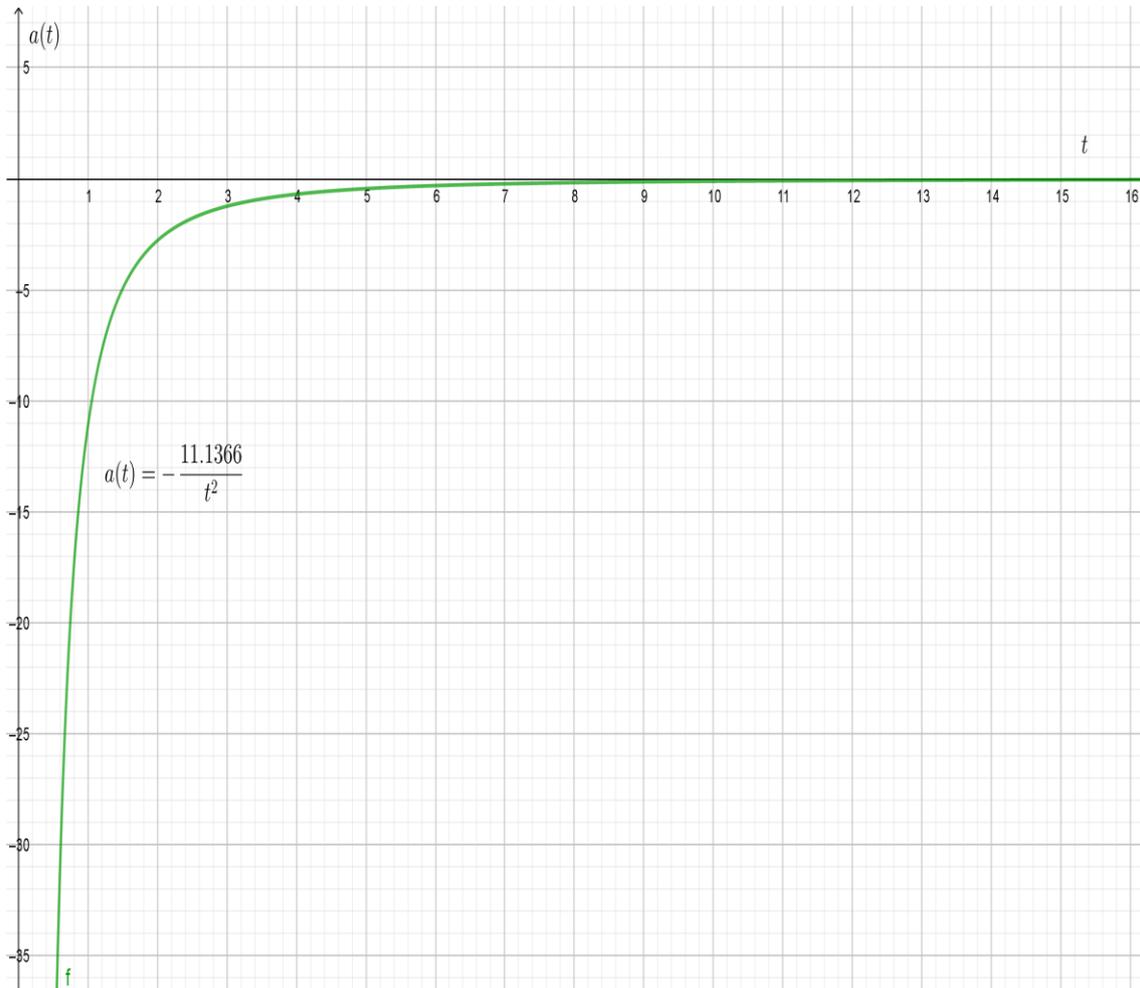
Nota. La velocidad nos representa el cambio de la posición con respecto al tiempo. Por cada hora que pasa hay una remoción de mercurio de 11.1366 ppm.

A medida que pasa el tiempo disminuye la velocidad de remoción de mercurio en una primera parte de forma rápida y luego disminuye en forma lenta hasta que parece estabilizarse, mostrando una región asintótica (eje t).

Gráfico 7

Aceleración de reacción según Geobra.

$$a(t) = v'(t) = s''(t) = -11.1366/t^2$$



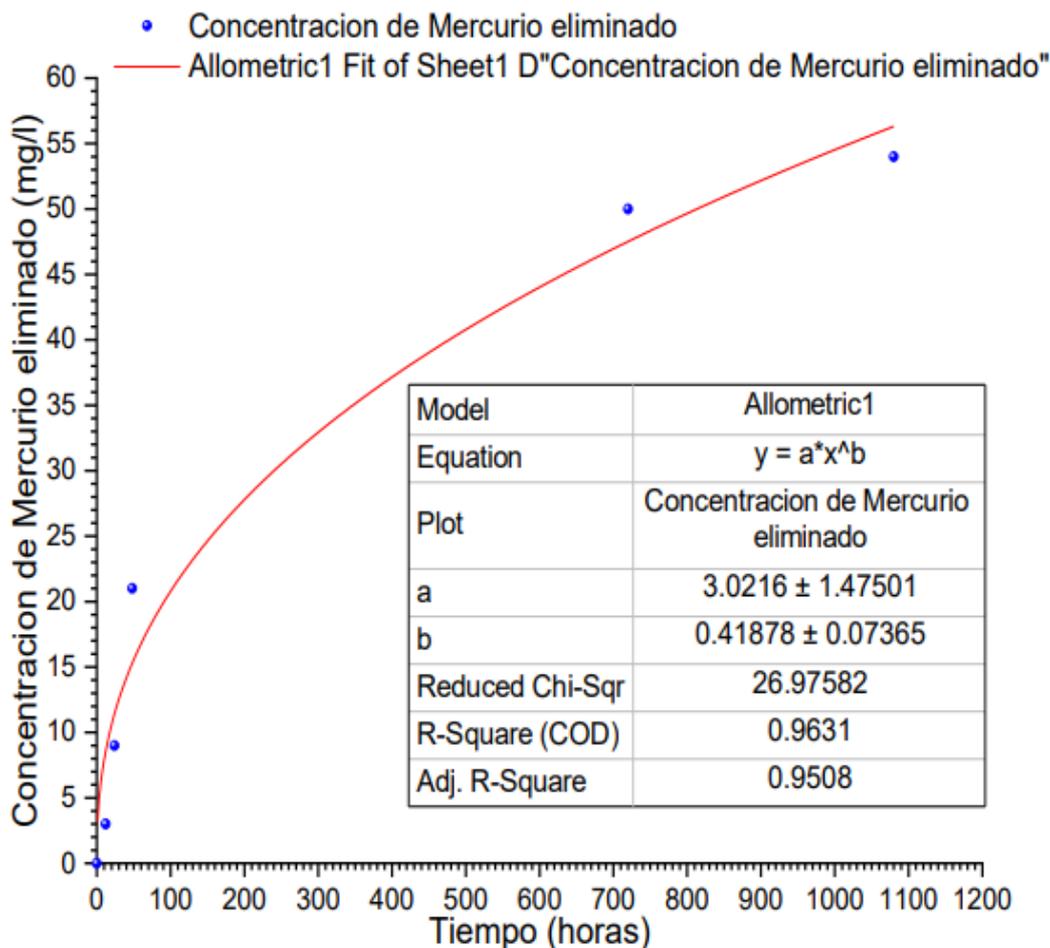
Nota. La aceleración representa el cambio de la velocidad de un cuerpo respecto al tiempo.

En el gráfico se puede observar que el comportamiento es negativo. Lo que nos permite deducir que existe una desaceleración en el proceso de remoción del mercurio, y por tanto a medida que pase el tiempo siempre tendremos una aceleración en la remoción en aumento, por cada hora que pase la velocidad disminuye en 11.1366 ppm.

3.17. Modelo matemático de la cepa bacteriana A 4

Gráfico 8

Modelo matemático de la cepa bacteriana A 4.



Nota. Dicho modelo es una curva de potencial con una región inicial de rápido crecimiento y una región final de crecimiento lento y permanente

En referencia al R², coeficiente de determinación. En el modelo matemático de la cepa bacteriana se visualiza que su valor se encuentra por encima del 96% por lo que indica que los resultados cuentan con un óptimo y eficiente desempeño frente a la remoción de mercurio.

3.18. Bioadsorción como técnica para la recuperación de aguas contaminadas

La bioadsorción, surge como una alternativa que llama la atención en la remoción de iones de metales pesados en los efluentes industriales, ya que, es una tecnología que permite no solo

removerlos, si no también, permite dar un tratamiento a los desechos, estos materiales biosorbentes son de bajo costo y fácil adquisición. (L. D. Fiorentin, D. E. G. Trigueros, et al. 2010), (J. Mao, S. W. Won, K. Vijayaraghavan, et al. 2009)

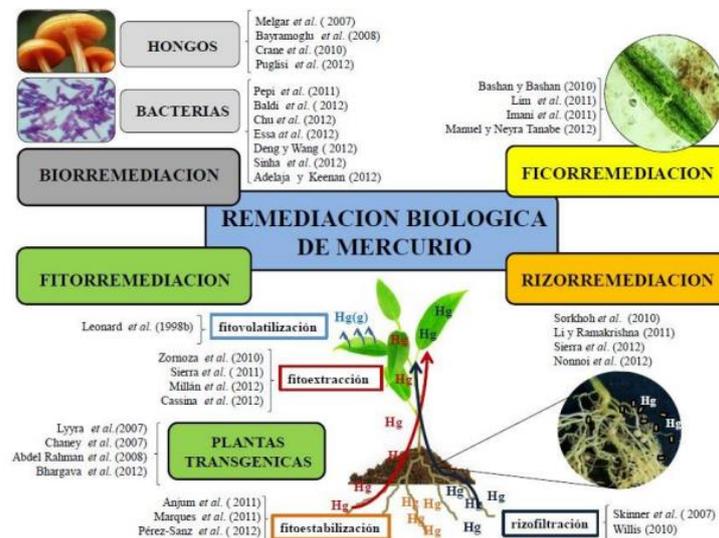
Entre las ventajas que presenta la bioadsorción, en comparación con las técnicas convencionales se tiene: bajo costo, alta eficiencia, minimización de productos químicos y lodos biológicos, no se requieren nutrientes adicionales, regeneración de los biosorbentes, y posibilidad de recuperación de metales. Sin embargo, a pesar de las ventajas que presenta este método de remoción de metales pesados, se encuentra aún en su etapa de investigación y no se le ha transferido conocimiento tecnológico, por esta razón en la actualidad no ha sido implementado a nivel industrial. (N. Das, 2010) & (J.H. Ramírez Franco et al. 2013)

3.19. Degradación Microbiológica

En la actualidad se han encontrado diferentes tipos de cepas bacterianas que permiten degradar de manera eficiente el mercurio. Diferentes trabajos de investigación desarrollados en las distintas partes del mundo han mostrado factores como la oxidación biológica como una nueva alternativa de tratamiento

Figura 12

Esquema de las estrategias de remediación biológica de Hg.



Fuente: Giancarlo Sora Velazco (2016)

Nota. En la figura se muestran los distintos procesos y trabajos de investigación desarrollados alrededor del mundo con el objetivo de generar nuevas alternativas y procesos para la remediación biológica de Hg contribuyendo de esta manera al desarrollo y conocimiento del metabolismo y remoción del metal.

3.20. Utilización de bacterias para la remediación de mercurio

Reducción enzimática de mercurio y la presión selectiva ejercida por los ambientes contaminados con metales ha llevado al desarrollo de sistemas de resistencia metal. Estos mecanismos han sido estudiados en profundidad desde la década de los 60. Desde entonces, se publicaron una gran cantidad de trabajos en los que se describe la organización y la expresión de este operón (Novick y Roth, 1968; Schaefer et al., 2002; Nascimento y Chartone-Souza, 2003; Barkay et al., 2003). La estructura del operón mer varía entre las distintas especies bacterianas, encontrándose dos tipos de operones: de espectro reducido (confiere resistencia a Hg inorgánico) y de espectro amplio (confiere resistencia a Hg inorgánico y orgánico). En conjunto, estos genes codifican para una serie de enzimas que pueden demetilar el Hg orgánico a Hg microbianos, hipotéticamente, para todos los metales tóxicos, entre ellos el Hg. (Rouch et al., 1995)

En el proceso de biorremediación se han identificado cinco mecanismos o formas de liberación de toxinas para el mercurio. La genética y la bioquímica de estos mecanismos está regida por la presencia del operon (Osborn, Bruce, Strike, & Ritchie, 1997), varios genes están involucrados en el operon mer, entre los que se consideran el mer R/ mer D para detección de monómeros, mer P/mer T/mer C para transporte o movilización y finalmente mer B/ mer A para la desintoxicación enzimática de los compuestos de mercurio inorgánico y orgánico en las bacterias. (Mathema, thakuri, & Sillanpaa, 2011)

En general los mecanismos de tolerancia para metales pesados pueden ser clasificados como:

- Bloqueo, donde la célula impide la entrada del ion tóxico
- Expulsión activa del ion metálico de la célula a través de un sistema codificado por el gen de resistencia de alta especificidad
- Secuestro física intercelular del metal por la unión de las proteínas
- Secuestro extracelular a menudo por los polisacáridos extracelulares sobre la pared celular
- Conversión enzimática del metal o formas menos tóxicas o volátiles (Mathema, thakuri, Sillanpaa, 2011). En la naturaleza, la función del microorganismo resistente al mercurio es importante para la bioquímica del mercurio ya que desempeña un papel clave en la degradación del MeHg y la reducción del Hg²⁺

En la forma volátil del Hg. (Siciliano, O'Driscoll, & Lean, 2002)

3.21. Mecanismo de Remoción de Mercurio

La presión selectiva ejercida por los ambientes contaminados con metales ha llevado al desarrollo de sistemas de resistencia a raíz de la presencia del operon mer (Novick y Roth, 1968; Schaefer et al., 2002; Nascimento y Chartone-Souza, 2003; Barkay et al., 2003). En conjunto, estos genes codifican para una serie de enzimas que pueden demetilar el Hg orgánico a Hg inorgánico, y reducir el Hg inorgánico a Hg (0), el cual es menos tóxico y se puede liberar al medioambiente debido a su alta volatilidad.

El operón mer está constituido por genes que codifican para proteínas asociadas con varias funciones, tales como regulación, transporte y reducción.

La mayoría de los operones de resistencia a Hg son inducibles y se hallan bajo un control regulatorio a nivel transcripcional, tanto positiva como negativamente (Hutchison y Atwood, 2003; Jan et al., 2009; Rojas et al., 2011).

En el presente trabajo de investigación se identifica una especie bacteriana resistente al mercurio del tipo Gram-Positiva, portadoras de un operón (mer). Todos los operones (mer) producen la enzima reductasa mercúrica encargada de reducir el Hg²⁺ del suelo a Hg⁰. Además, poseen los genes mer T y mer P, los cuales son necesarios para la completa operación del operón mer. La proteína Mer P se localiza en el periplasma celular y posee residuos de cisteína a los cuales se une el Hg (II), luego éste se transfiere a los residuos cisteína de la proteína Mer T, localizada en la membrana celular, El gen mer A, codifica para la enzima mercurio reductasa, y mer B, codifica para una enzima órgano mercurial liasa.

3.22. Mer A

La actividad del Mer A en ambientes anaerobios afecta de manera significativa a la producción del MeHg compitiendo por H₂⁺ con microbios metilantes, específicamente bacterias sulfato reductoras. El gen Mer A se encarga de la producción de una enzima denominada reductasa de mercurio, la cual se encarga de la conversión Hg(II) a Hg (0) y utiliza el NADPH como fuente de electrones. Recientemente bacterias que trabajan con reductasa de mercurio han sido utilizadas en procesos industriales para la remoción de Hg₂⁺. (Barkay, Miller, & Summers, 2003; Mathema, Thakuri, & Sillanpaa, 2011)

3.23. Mer B

El gen Mer B codifica generalmente para la enzima liasa de organomercurio, esta es una de las enzimas fundamentales para lograr la desintoxicación y la biorremediación de compuestos

organomercuriales. Los productos que son elaborados por esta enzima son posteriormente volatilizados por el gen Mer A.

En la naturaleza tenemos dos tipos de resistencia del Hg que se presentan de forma frecuente en la naturaleza: Amplio espectro y Espectro estrecho.

En el espectro estrecho solo el gen Mer A se encuentra presente y el mecanismo de resistencia se ve limitado a la desintoxicación enzimática de Hg inorgánico. Para amplio espectro, Mer A y Mer B actúan en conjunto como un sistema de desintoxicación de Hg y la tolerancia se muestra a compuestos orgánicos, así como a inorgánicos de Hg, a través de la conversión de las dos formas de compuestos a sus formas volátiles.

En la tabla presentada a continuación se llega a describir la transformación biótica del Hg en su ciclo bioquímico, Todos los mecanismos anteriormente descritos y las enzimas que se han utilizado son controladas por el operon mer, que esta presente en las bacterias vinculadas al proceso de biorremediación.

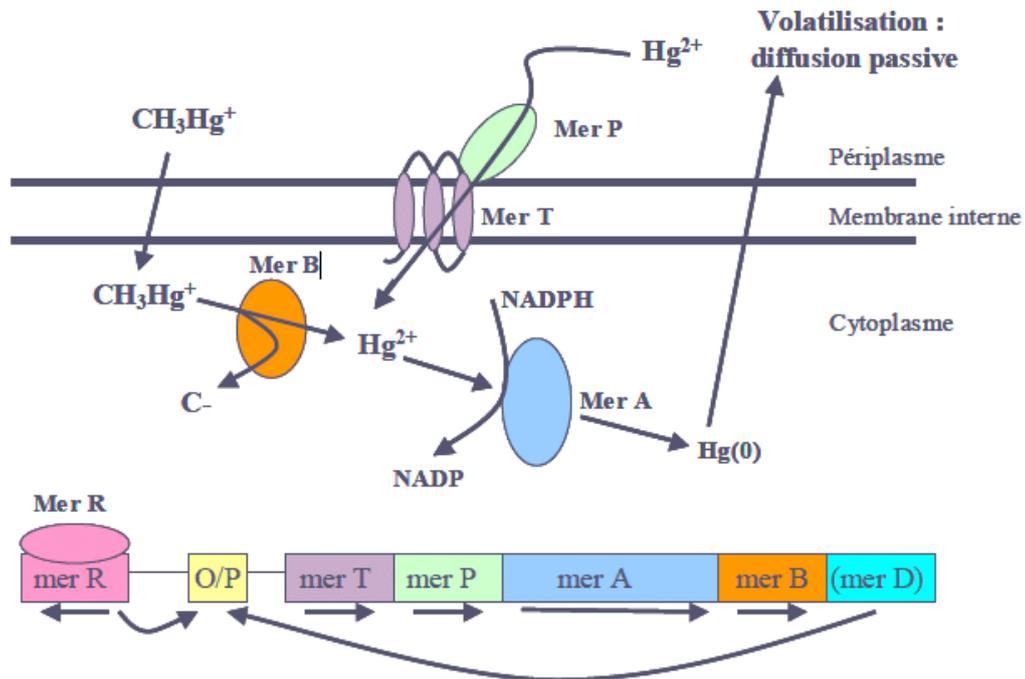
Tabla 7

Transformación bioquímica del mercurio.

Transformación	Mecanismo	Referencia
Metilación Hg(II)	Transformación del metil a través de la transferencia de CH_3^- a través de la ruta acetyl-CoA en bacterias sulfato reductoras	(Choi, Chase, & Bartha, 1994)
Demetilación $\text{CH}_3\text{Hg(I)}$	Demetilación reductiva por el merAB produciendo CH_4 y Hg(0)	(Barkay, Miller, & Summers, 2003)
Reducción de Hg(II)	Reductasa de mercurio bacterial y rutas indefinidas de crecimiento de algas	(Ogunseitan, 1998) (Devars, Aviles, Cervantes, & Moreno-Sanchez, 2000)
Oxidación Hg	Oxidación por hidroperoxidasas en microorganismos, plantas y animales	(Smith, Pitts, McGarvey, & Summers, 1998)

Figura 13

Esquema del proceso y funcionamiento del operón mer.



Fuente: Harris Hellal (2008)

Nota. Esquematización y organización del operón mer Mer A: mercurio reductasa, reducción de Hg 2+ a Hg 0. Mer B: organomercurio liasa, hidroliza el enlace C-Hg. Mer T: transporte de mercurio en la celda. Mer P: transporte de mercurio periplásmico. Mer R: regulación del operón, se une al ADN del operador (O) e inactiva la transcripción del operón. Mer D: involucrado en la regulación.

CAPITULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis e interpretación de resultados

Se ha encontrado que el género *Halomona* es considerado un biosorbente utilizado para la biorremediación de metales pesados (Sharma et al. 2018) y de acuerdo con el proceso experimental desarrollado en el presente trabajo de investigación se evidencia la capacidad de remoción de mercurio en ambientes contaminados, demostrando su capacidad y efectividad en el proceso de biorremediación

El principal objetivo ha sido evaluar la remoción y la capacidad de tolerancia del Hg mediante el uso de bacterias. Para cumplir el objetivo ha sido necesario la realización de distintos ensayos y estudios previos en laboratorio, y así poder determinar cuál sería la capacidad de tolerancia de los microorganismos antes de poder probar su capacidad para remover o absorber el metal, ya que esta depende de la eficiencia, capacidad y selectividad, además de su equivalencia con los tratamientos fisicoquímicos, en la actualidad se encuentran en uso y su economía, ya que al ya poder utilizar las cepas bacterianas identificadas solo se necesitaría los distintos reactores o infraestructuras en donde ellos deberán encontrarse para actuar como un medio filtrante, de esta manera se obtiene un costo de mantenimiento y de operación mucho menor, en cambio si comparamos con los métodos fisicoquímicos se necesitarían agentes químicos para poder lograr el objetivo, además que todo esto subiría los costos debido a que se genera desgaste por la abrasión. Si bien es cierto se logra alta eficiencia al momento de remover metales o recuperarlos a través de la biorremediación, esto no significa que llegaría a reemplazar totalmente a los métodos convencionales usados en la actualidad, ya que no se estaría analizando el efecto costo beneficio de estas tecnologías, pero se podría hacer de este un tratamiento adicional a los tratamientos convencionales.

Las tecnologías microbianas vienen siendo mencionadas constantemente en la web, bases de datos, a primera vista muy costosas y las aplicaciones de esta son muy selectas, esto gracias a la poca investigación de los microorganismos, pero dichas tecnologías, especialmente aquellas que usan las cepas bacterianas para la remoción de los metales pesados en medios líquidos contaminados son las más apropiadas para su aplicación debido al crecimiento de corto plazo, su manipulación es sencilla y las demandas no son tan exigentes a la hora de pH, oxígeno, espacio o nutrientes.

Al analizar el porcentaje de similitud de la cepa bacteriana A4 con las diez primeras cepas bacterianas registradas en el NCBI agosto 2021 nos dieron como resultado una similitud entre 95.13% y 96.59% según el proceso de alineamiento por medio de BLAST y bajo los parámetros del programa MEGA mencionado por Kumar y Col, 2004.

En el presente trabajo de investigación los resultados de la espectrometría de absorción atómica de vapor frío nos dieron como resultado que la remoción de mercurio se incrementa a medida que se incrementa el tiempo de exposición. También se identificó a través de GeoGebra que por cada hora que pasa hay una remoción de mercurio de 11.1366 ppm.

En el análisis del cambio de velocidad de un cuerpo respecto al tiempo no ha permitido deducir que existe una desaceleración en el proceso de remoción del mercurio, y por tanto a medida que pase el tiempo siempre tendremos una aceleración en la remoción en aumento, por cada hora que pase la velocidad disminuye en 11.1366 ppm.

En el presente trabajo de investigación se identifica una especie bacteriana resistentes al mercurio del tipo Gram-Positiva, portadoras de un operón (mer). Todos los operones (mer) producen la enzima reductasa mercúrica encargada de reducir el Hg^{2+} del suelo a Hg^0 . Además, poseen los genes mer T y mer P, los cuales son necesarios para la completa operación del operón mer. La proteína Mer P se localiza en el periplasma celular y posee residuos de cisteína a los cuales se une el Hg (II), luego éste se transfiere a los residuos cisteína de la proteína Mer T, localizada en la membrana celular, El gen mer A, codifica para la enzima mercurio reductasa, y mer B, codifica para una enzima órgano mercurial liasa.

En la actualidad se han encontrado diferentes tipos de cepas bacterianas que permiten degradar de manera eficiente el mercurio. Diferentes trabajos de investigación desarrollados en las distintas partes del mundo han mostrado factores como la oxidación biológica como una nueva alternativa de tratamiento.

Al observar los resultados de laboratorio de la cepa bacteriana identificada, podemos afirmar que así no tengamos conocimiento de las vías metabólicas, la química de esta cepa bacteriana, se está aprovechando de la capacidad microbiana para el procedimiento de cuerpos de agua, o el de la biosfera misma, en este caso, el presente proyecto de investigación quiere explorar aquellas capacidades que cuenta esta cepa bacteriana para así poder generar soluciones a los distintos problemas de contaminación ambiental.

4.2. Análisis de Aplicabilidad

La aplicación de los proyectos de biorremediación depende de un gran número de factores dentro de los que destacan los aspectos económicos, técnicos y culturales. Para considerar su aplicabilidad en una prueba piloto y luego llevarla a la práctica, lo que se busca con el desarrollo del presente trabajo de investigación es emplear aquellos conceptos de las técnicas de extracción y recuperación del oro para así poder realizar el tratamiento de una problemática específica como es la amalgamación y por lo tanto el uso del mercurio.

En un proceso de degradación tenemos como primera consideración que este tiene que estar en estado líquido con el objetivo de poder facilitar la tarea de degradación por parte de los microorganismos. En términos prácticos, el tomar acciones frente a la contaminación generada por la minería artesanal, que no tiene estándares ni cuidados frente a los impactos que genera esta frente al ambiente, constituye un gran desafío social y cultural importante, ya que es una oportunidad para la implementación de nuevas tecnologías.

Para poder cambiar las prácticas que se han venido dando generación tras generación, solo podríamos lograrla con una serie de capacitaciones a los trabajadores que son parte de ella, esto requiere tiempo, inversión y esfuerzo humano. Para lograr ello, es necesario que nuestro estado tenga acercamiento a estas comunidades y trabaje junto con ellas para lograr que los mineros artesanales cuenten o se formen mejor en conciencia ambiental en el desarrollo de sus actividades, generar la apertura a aprender el uso de nuevas tecnologías y técnicas de extracción y un manejo adecuado de los desechos que este produce. Sin embargo, este proceso anteriormente mencionado es muy complicado al ser minería informal e ilegal.

Para lograr lo anterior mencionado, es necesaria la generación de políticas que incentiven las buenas prácticas minera y a su vez permitan el libre acceso a poder implementar técnicas limpias. Es realmente fundamental que los trabajadores mineros acepten los peligros que están enfrentando y los efectos que este causa al seguir usando sus métodos y técnicas convencionales, no solo para ellos sino para sus familias.

Para poder implementar el uso de biotecnologías es de suma importancia el realizar pruebas piloto, que es basada en la teoría microbiológica propuesta en el presente trabajo de investigación. Además, los efluentes resultantes de las plantas piloto se utilizan como prueba, como inóculo para proyectos de mayor magnitud. Los resultados obtenidos son clave para poder realizar el análisis a detalle sobre la aplicación de este proceso a gran escala.

CONCLUSIONES

1. El aislamiento y la caracterización molecularmente de las cepas bacterianas con capacidad de crecimiento en aguas contaminadas con mercurio dio como resultado la presencia de la cepa bacteriana A4. Identificada como una cepa bacteriana del género Halomona.
2. Al realizar la bioinformática de las cepas bacterianas identificadas y el significado y aplicación de las mismas podemos notar los claros efectos positivos de la biorremediación. No obstante, hay ciertas dificultades para la aplicación, esto gracias a las restricciones impuestas por el sustrato y a la variabilidad ambiental, el potencial limitado de la biodegradación y la viabilidad de los microorganismos de origen natural, entre otras.
3. Al realizar el modelo matemático para identificar el comportamiento de la cepa bacteriana identificada podemos notar claramente que conforme pasa el tiempo, el proceso de remoción de mercurio se incrementa es por ello que para complementar el proceso de biorremediación es necesario que implementar estrategias de gestión ambiental, orientadas a resolver, mitigar y/o prevenir los problemas de carácter ambiental, lo cual le permitirá al ser humano el mejor desempeño de sus procesos de investigación y por consiguiente contribución, esto garantiza su permanencia en el tiempo. Todo esto implica que sean gestionados de manera racional los recursos naturales; que se implementen más medidas preventivas, el uso de nuevas tecnologías que sumen a reducir y corregir en medida de lo posible el recurso impactado.
4. Desde 1970 se ha demostrado que la biorremediación es rentable y eficiente, destacando entre las principales tecnologías, tal como se muestra en el trabajo experimental en donde se demuestra claramente su capacidad para la biorremediación.
5. Al aplicar nuestra investigación ya en campo tendría como aspecto negativo que, al encontrar presencia de otros elementos, estos harían que no se de los resultados con el ritmo que se identificó en laboratorio.

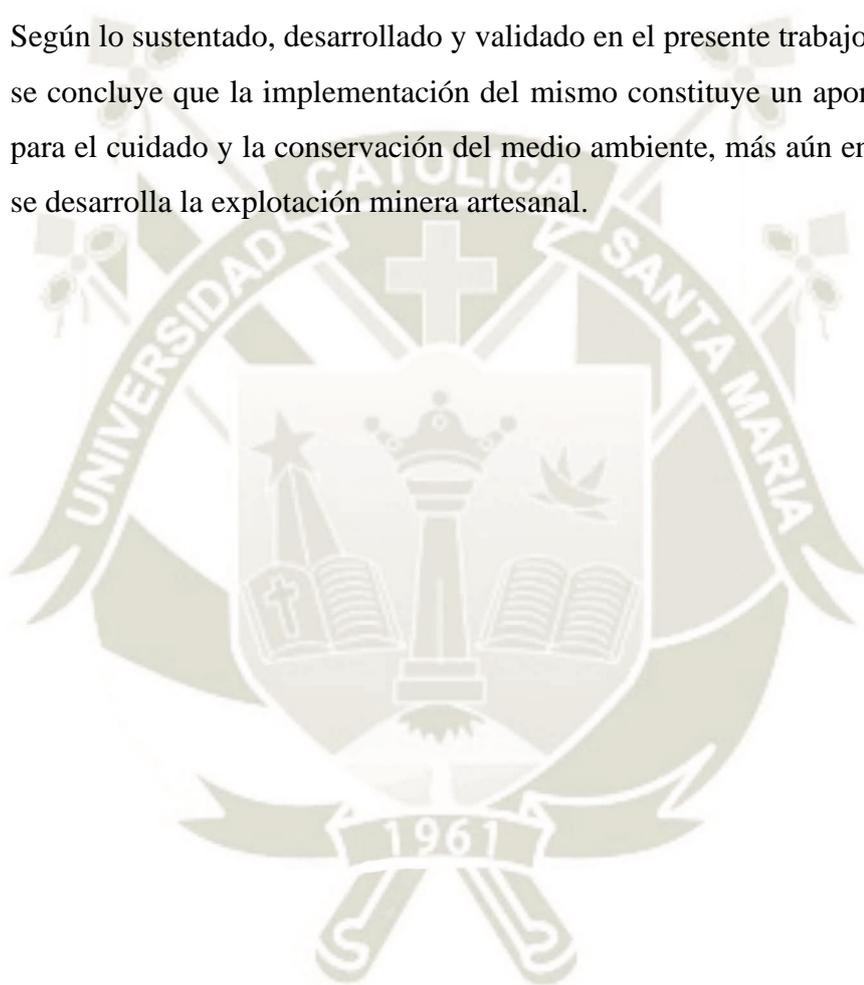
RECOMENDACIONES

- El uso de la biorremediación es una técnica atractiva en comparación con las tradicionales fisicoquímicas, la biorremediación es usada para la remediación de aquellos componentes que afectan de manera negativa el equilibrio del ambiente y esta técnica es sostenible en el tiempo.
- El mercurio es altamente tóxico en el ambiente y de manera general para todos los seres vivos, por este motivo en muchos países del mundo está terminantemente prohibido su uso en algún proceso productivo ya que este metal al encontrarse en los ecosistemas tiene la particularidad de acumularse a lo largo de la cadena alimenticia. También, hace un tiempo los ríos han venido pasando por un proceso de contaminación con mercurio, relacionado estrechamente con la minería del oro cercana a estos. Por lo tanto, es necesario el desarrollo de tecnologías, procesos que se direccionen en remover el mercurio o los metales pesados que son altamente tóxicos para las poblaciones cercanas, la flora y fauna. Actualmente la alternativa de remediar con el uso de microorganismos está siendo reconocidos últimamente por la comunidad científica, es una alternativa viable por sus bajos costos pero a su vez eficiente al momento de remover metales pesados con concentraciones mínimas.
- La biotecnología se desenvuelve en diversos campos, como la elaboración de alimentos, la agricultura, en el sector de salud, producción de materiales y productos químicos, la protección del ambiente entre otros. Esta se presenta como un conjunto de tecnologías que tiene gran potencial para poder contribuir de manera significativa para el desarrollo sostenible en la solución de problemas de contaminación.
- La Bioadsorción es una técnica de tratamiento de aguas residuales con alta efectividad, esto a sus costos bajos de implementación y mantenimiento en comparación con los tratamientos de recuperación de metales tradicionales los cuales generan altos costos, por lo que es recomendable continuar con la práctica presentada y aprovechar las bondades identificadas en la cepa bacteriana identificada.
- Se recomienda que los gobiernos faciliten la integración de los mineros artesanales y de pequeña escala en el sector estructurado de la economía, y que se dé inicio a una capacitación frecuente de tal forma que genere una conciencia ambiental adecuada para la protección de su entorno, así como de su salud e integridad

- Al tener conocimiento de la situación crítica en la cual viven y desarrollan sus actividades los pobladores del sector de Secocha es que se recomienda brindar apoyo en educación capacitación minera, campañas médicas, tanto a los mineros como al resto de pobladores de la comunidad respecto a los peligros que lleva trabajar o estar expuesto al mercurio y las alternativas de reemplazo para su actividad minera que sea amigable con el medio ambiente.
- Lograr una comprensión real de la situación en la zona identificada (Secocha) e implementar una estrategia con el fin de poder lograr cambios considerables para la recuperación ambiental de la zona y la salud de sus pobladores.
- Subsidiar la compra de equipos especiales para la extracción de oro como alternativa del uso del mercurio, esto afectaría directamente en la mejora de la salud de las personas y se reduciría el impacto ambiental que actualmente genera el uso del mercurio.
- Motivar y capacitar a la población que usen métodos actuales amigables con el medio ambiente, que produzcan y comercialicen “oro limpio” para mejorar su calidad de vida.
- Siguiendo lo establecido en la ley general del ambiente se recomienda fomentar la investigación ambiental científica y tecnológica. Considerando que su aplicación corresponde a los poderes del Estado y a las universidades, públicas y privadas, en cumplimiento de su obligación constitucional
- Se recomienda motivar y promover la investigación y desarrollo científico en el tema ambiental de manera permanente, haciendo que estas faciliten el cuidado y la conservación de buena salud de las personas y el ambiente donde se desarrollan actividades que actualmente generan daños considerables a los mismos.
- Se recomienda fomentar la formación de una cultura de cuidado y preservación ambiental, promoviendo y despertando el interés en la investigación del mismo en niños y jóvenes. Asimismo, promover el uso de tecnologías limpias en los sectores productivos como la minería que generan grandes impactos al medio ambiente con uso de tecnologías tradicionales.
- En referencia a la Política Nacional de Educación Ambiental, se da la recomendación de incentivar y promover la participación de la ciudadanía en general en educación ambiental, ya que esta es base fundamental para generar conocimientos, actitudes, valores y sobre todo prácticas para el desarrollo de

actividades que sean adecuadas con el medio ambiente y contribuyan o busquen el desarrollo sostenible del país.

- El estado tiene la obligación de generar los medios necesarios para promover una educación ambiental en coordinación con sus diferentes organismos y la sociedad civil, esto debe darse en todos los niveles educativos, estableciendo reconocimientos y estimulando a los docentes, instituciones u organismos que promuevan el desarrollo de esta.
- Según lo sustentado, desarrollado y validado en el presente trabajo de investigación se concluye que la implementación del mismo constituye un aporte y un referente para el cuidado y la conservación del medio ambiente, más aún en las zonas donde se desarrolla la explotación minera artesanal.



REFERENCIAS

- A. G. López, La preocupación por la calidad del medio ambiente. Un modelo cognitivo sobre la conducta ecológica, Universidad Complutense de Madrid, 2002.
- A. P. Preciado, El Problema del río Bogotá, 2000. Amer, R. A., Mapelli, F., El Gendi, H. M., Barbato, M., Goda, D. A., Corsini, A., Aracic, S., Manna, S., Petrovski, S., Wiltshire, J. L., Mann, G., & Franks, A. E. (2015).
- Avagyan AB. Water global resource management through the use of microalgae addressed to sustainable development. *Clean Technol Environ Policy*. 2011;13(3):431–45.
- Bisang R, Campi M, Cesa V. Biotecnología y desarrollo. Buenos Aires: CEPAL; 2009.
- Briceño H, Layling M, Méndez L. Comparación de potencial biodegradativo de técnicas de biorremediación. [Trabajo de Grado Ingeniero Químico]. Caracas: Universidad Central de Venezuela; 2006.
- C. X. Ramos, «Nivel de contaminación por mercurio en la región de la Mojana,» Centro de investigaciones de ingeniería ambiental, vol. A.A 4976, 2000.
- Cabrera C. El concepto y la visión del desarrollo como base para la evaluación. *Economía y Sociedad*. 2014;18(30):47–65.
- Candela D. Las microalgas y el tratamiento de aguas residuales: conceptos y aplicaciones. Una revisión bibliográfica. [Trabajo de grado Ingeniería Ambiental]. Bucaramanga: Universidad Abierta y a Distancia; 2016.
- Candelaria Tejada-Tovar, Ángel Villabona-Ortiz y Luz Garcés-Jaraba, (2014) Adsorción de metales pesados en aguas residuales usando materiales de origen biológico. ISSN 0123-7799 Vol. 18, No. 34, pp. 109-123
- Cavalca, Di Paola, M, Vicien C. Biorremediación: vinculaciones entre investigación, desarrollo y legislación. Argentina: CEUR-CONICET; 2010.
- EPA, «EPA mercury study report to congress,» 1997. [En línea]. Available: www.epa.gov/ttn/oarpg/t3/reports/volume5.pdf.
- García-Serna J, Pérez-Barrigón L, Cocero MJ. New trends for design towards sustainability in chemical engineering: Green engineering. *Chem Eng J*. 2007;133(1–3):7-30.
- Gavrilescu M, Chisti Y. Biotechnology - A sustainable alternative for chemical industry. *Biotechnol Adv*. 2005;23(7–8):471–99.
- Guerrini-Schenberg AC. Biotechnology and sustainable development. *Estud Avançados*. 2010;24(April 2008):7-17.

Hatti-Kaul R, Törnvall U, Gustafsson L, Börjesson P. Industrial biotechnology for the production of biobased chemicals - a cradle-to-grave perspective. Trends Igeri, B. E., Okoduwa, S., Idoko, G. O., Akabuogu, E. P., Adeyi, A. O., & Ejiogu, K. (2018).

Innovative biological approaches for monitoring and improving water quality. *Frontiers in Microbiology* 826. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00826>

Jennifer M. Garzón, et al., (2017) Aporte de la biorremediación para solucionar

K. Eto, Minamata disease. *Neuropathology*, 2000. Kinetics and mechanisms of mercury biosorption by an exopolysaccharide producing marine isolate *Bacillus licheniformis*. *Biotech*, 7(5), 313. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0958-4>

L., Fusi, M., Borin, S., Daffonchio, D., & Abdel-Fattah, Y. R. (2015). Bacterial Diversity and Bioremediation Potential of the Highly Contaminated Marine Sediments at El-Max District (Egypt, Mediterranean Sea). *BioMed research international*, 2015, 981829. <https://doi.org/10.1155/2015/981829>

Martínez AN, Porcelli AM, Derecho D, Ordinaria PA, Luján UN De. Consumo (in) sostenible : nuevos desafíos frente a la obsolescencia programada y la sustentabilidad. 2016;2016(6):105–35.

Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva. Boletín estadístico tecnológico. Argentina: BET; 2010.

Mishra M, Mohan D. Bioremediation of contaminated soils An Overview. In: Rakshit A, Abhilash P, Singh H, Ghosh S. (eds) *Adaptive Soil Management : From Theory to Practices*. Springer. 2017.

Muñoz A, Guillen G. Biorremediación: fundamentos y aspectos Sistema de biorremediación para la regeneración de suelos hidromorfo del estero Chicharrón y Río Cucaracha de la comuna Montañita, Provincia de Santa Elena. [Tesis Biólogo] Guayaquil: Escuela Superior Politécnica del Litoral; 2015.

Naciones Unidas. Informe de la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Medio Humano. Nueva York: Naciones Unidas; 1973.

New trends in removing heavy metals from industrial wastewater. *Arabian journal of chemistry*, 4(4), 361-377.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura. Estado Mundial del Recurso Suelo: Resumen Técnico. Roma: FAO; 2016.

P. Freddy Pantoja Timarán, tecnologías apropiadas para disminuir la contaminación ocasionada por mercurio en la minería del oro, pasto Colombia: A.A. 1476, 2001.

- P. van Straaten, «Mercury contamination associated with small-scale gold mining in Tanzania and Zimbabwe.», *Sci. Total Environ.*, vol. 259, n.o 1-3, pp. 105-13, oct. 2000.
- Pinzón, C. P., & Gomez, C. A. F. (2018). Impacto del mercurio en los ecosistemas colombianos y las técnicas aplicables para su biorremediación. Documentos de Trabajo ECAPMA, (1).
- PNUD. Objetivos de Desarrollo Sostenible. Rio de Janeiro: Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo; 2015.
- Prasad MN V, Freitas H, Fraenzle S, Wuenschmann S, Markert B. Knowledge explosion in phytotechnologies for environmental solutions. *Environ Pollut.*2010;158(1):18–23.
- Prince RC, Clark JR, Lindstrom JE. Field Studies Demonstrating the Efficacy of Bioremediation in Marine Environments. In: McGenity TJ, Timmis KN, Nogales B, editors. *Hydrocarbon and Lipid Microbiology Protocols: Pollution Mitigation and Waste Treatment Applications* [Internet]. Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2017. p. 81–93. Available from: https://doi.org/10.1007/8623_2015_172
- R. O. Cañazares-Villanueva, «Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana,» *Revista latinoamericana de Microbiología*, n° 42, pp. 131-143, 2000.
- Red de Desarrollo sostenible de Colombia. Gestión Ambiental [Internet]. Bogotá: RDS; 2001. Available from: <https://www.rds.org.co/es/recursos/gestionambiental>
- Rodriguez J, Sánchez J. Biorremediación: Fundamentos y aspectos microbiológicos. *Industria y minería.* 2003(351):12-6.
- Sent R, Chakrabarti S. Biotechnology – applications to environmental remediation in resource exploitation. *Curr Sci* [Internet]. 2009;97(6):768–75. Available from: <http://www.ias.ac.in/currsci/sep252009/768.pdf>
- Soares E V, Soares HMVM. Bioremediation of industrial effluents containing heavy metals using brewing cells of *Saccharomyces cerevisiae* as a green technology: A review. *Environ Sci Pollut Res.* 2012;19(4):1066–83.
- Stand Genomic Sci. 2014; 9: 30. Publicado en línea el 29 de diciembre de 2014. doi: 10.1186 / 1944-3277-9-30 Swati Sharma, Sakshi Tiwari, Abshar Hasan, Varun Saxena, Lalit M. Pandey Toxicity and Bioremediation of Heavy Metals Contaminated Ecosystem from Tannery Wastewater: A Review. *Journal of toxicology*, 2568038. <https://doi.org/10.1155/2018/2568038>

- United Nations. Report of the World Commission on Environment and Development: Our Common Future [Internet]. Vol. 42/187. 1987. p. 1–4. Available from: <http://www.un-documents.net/wced-ocf.htm>
- Upadhyay, K. H., Vaishnav, A. M., Tipre, D. R., Patel, B. C., & Dave, S. R. (2017).
- Vidali M. Bioremediation. An overview. *Pure Appl Chem*. 2001;73(7):1163–72.
- World Health Organization. Ambient air pollution: A global assessment of exposure and burden of disease. Geneva: WHO; 2016.
- WWAP. Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos 2017. Aguas residuales: El recurso desaprovechado. Paris: UNESCO; 2017.
- Xercavins J, Cayuela D, Cervantes G, Sabater A. Desarrollo sostenible. Catalunya: Ediciones UPC; 2005.
- Ying-Yi Huo, Zheng-Yang Li, Hong Cheng, Chun-Sheng Wang, Xue-Wei Xu
- Zalewski M. Ecohydrology, biotechnology and engineering for cost efficiency in reaching the sustainability of biogeosphere. *Ecohydrol Hydrobiol*. 2014;14(1):14-20.

