

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

FACULTAD DE CIENCIAS Y FILOSOFÍA

“ALBERTO CAZORLA TALLERI”



**Evaluación de la capacidad de remoción de Cd, Pb y As
utilizando biomasa inactiva de diferentes especies y cepas
de *Lactobacillus*, en condiciones de pH y temperatura de la
laguna Quiulacocha (Pasco, Perú)**

**Trabajo de Investigación para optar el grado de Bachiller
en Ciencias con mención en Biología**

Autoras:

Brigitte Fiorella Rivera Huaraz

Carol Margareth Rocca Huaman

Asesora:

Dra. Jasmín Elena Hurtado Custodio De Berastain

Lima, Perú

2022

Evaluación de la capacidad de remoción de Cd, Pb y As utilizando biomasa inactiva de diferentes especies y cepas de *Lactobacillus*, en condiciones de pH y temperatura de la laguna Quiulacocha (Pasco, Perú)

Trabajo de investigación para obtener el grado de bachiller en Biología

Autores:

Brigitte Fiorella Rivera Huaraz

Carol Margareth Rocca Huamán

Asesor:

Dra. Jasmin Hurtado

The image shows a software interface for document matching. At the top, a red header reads 'Resumen de coincidencias' with a close button. Below it, a large red '10%' indicates the overall match percentage. A list of six sources is shown, each with a rank, the source name, and its percentage contribution. A sidebar on the left contains navigation icons and a red button with the number '10'. A second instance of the source list is partially visible at the bottom.

Rango	Fuente de Internet	Porcentaje
1	sedici.unlp.edu.ar	2 %
2	hdl.handle.net	2 %
3	muqui.org	1 %
4	Rafaat M. Elsanhoty, S...	1 %
5	doczz.es	1 %
6	www.researchgate.net	<1 %

TABLA DE CONTENIDOS

Resumen	3
1. Estado del arte	7
I. Laguna Quiulacocho y metales pesados	7
I.1. Estado actual y características fisicoquímicas de la laguna	7
I.2. Efecto de la contaminación en las poblaciones aledañas	9
I.3. Efecto de la contaminación en el ecosistema	9
II. Biorremediación mediante el uso de bacterias	10
II.1. Por biomasa inactiva	10
II.2. Por biomasa activa.....	11
III. Bacterias ácido lácticas (BAL) y su uso como biorremediadores	12
III.1 Características generales de las BAL.....	12
III.2 El género <i>Lactobacillus</i> y su uso en la eliminación de metales pesados	13
III.2.1. <i>L. acidophilus</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. plantarum</i> y <i>L. rhamnosus</i>	13
III.2.2. Como biomasa inactiva.....	13
III.2.3. Como biomasa activa	15
2. Problema de Investigación	16
3. Estrategia de abordaje	18
Referencias bibliográficas	20

RESUMEN

La laguna Quiulacocha muestra condiciones altamente ácidas (pH 2.4) y un elevado contenido de metales pesados, principalmente Cd, Pb y As. Consecuentemente, sus aguas se han convertido en una fuente de contaminación para el poblado de Quiulacocha y el ecosistema de esta zona. Una solución a este problema ambiental es la biorremediación, proceso que utiliza organismos vivos para remover y reducir los contaminantes en el medio ambiente. Entre los microorganismos, varias especies pertenecientes al género *Lactobacillus* pueden unirse y secuestrar iones metálicos. Diversos estudios han demostrado la eficacia de *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* y *L. fermentum* en la remoción de Cd, Pb y As bajo los procesos de biosorción y bioacumulación. No obstante, la capacidad para remover estos metales depende de factores como el pH, la temperatura, la cepa o especie evaluada, las características de los iones metálicos y el tipo de biomasa empleada. Se tiene poco conocimiento de la capacidad de remoción de Cd, Pb y As de las especies *L. plantarum* y *L. fermentum*; así como de las cepas de *L. acidophilus* ATCC 20552 y *L. rhamnosus* GG ATCC 53103, a las condiciones de pH, temperatura y concentración de iones metálicos de la laguna Quiulacocha. Por ello, el presente proyecto propone evaluar la capacidad para remover Cd, Pb y As por la biomasa inactiva de los lactobacilos seleccionados, individualmente y en conjunto, a pH 2.4 y temperatura 14.7°C de la laguna. Asimismo, se propone simular las condiciones de temperatura usando agua de la laguna en un entorno de laboratorio con el objetivo de determinar si estas especies y cepas pueden eliminar eficazmente Cd, Pb y As como biomasa inactiva; ello permitirá sugerir especies de lactobacilos cuya biomasa podría ser aplicada para la remoción de Cd, Pb y As en la laguna Quiulacocha.

Palabras claves: Laguna Quiulacocha, metales pesados, *Lactobacillus*, pH, temperatura, remoción, biomasa inactiva.

ABSTRACT

The Quiulacocha lake (Pasco, Peru), classified as a mining environmental liability, shows highly acidic conditions (pH 2.4) and a high content of levels of different heavy metals, among which Cd, Pb and As stand out. Consequently, its waters have become a source with great potential for contamination for the town of Quiulacocha and the ecosystem of this area [2]. A promising solution to this environmental problem is bioremediation, a process that uses living organisms to remove contaminants in the environment and reduce their effects on soil, water, and air [15]. Among microorganisms, several species belonging to the genus *Lactobacillus* can bind and sequester metal ions [19]. Several studies have shown the efficacy of *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* and *L. fermentum* in the removal of Cd, Pb and As under biosorption and bioaccumulation processes [19, 25, 26, 27]. However, the ability to remove these metals depends on a variety of factors such as pH, temperature, the strain or species evaluated, the characteristics of the metal ions and the type of biomass used [19, 25, 26, 27]. Little is known about the removal capacity of Cd, Pb and As by the species *L. plantarum* and *L. fermentum*; as well as the strains of *L. acidophilus* ATCC 20552 and *L. rhamnosus* GG ATCC 53103 [25, 26], at the conditions of pH, temperature and metal ion concentration of the Quiulacocha lagoon. Therefore, this project proposes to evaluate the capacity to remove Cd, Pb and As by the inactive biomass of the selected lactobacilli, individually and together, at pH 2.4 and a temperature of 14.7°C from the Quiulacocha lagoon. To do this, it is proposed to simulate the temperature conditions using lagoon water in a laboratory environment in order to determine if these species and strains can effectively remove Cd, Pb and As as inactive biomass; which will allow suggesting species of lactobacilli whose biomass could be applied for the removal of Cd, Pb and As in the Quiulacocha lagoon.

Key words: Quiulacocha Lake, heavy metals, *Lactobacillus*, pH, temperature, removal, inactive biomass.

1. Estado del arte

I. Laguna Quiulacocha y metales pesados

La laguna Quiulacocha, un pasivo ambiental minero [1], se encuentra ubicada en el distrito de Simón Bolívar, departamento de Pasco, Perú [2]. Asimismo, tres relaves en Cerro de Pasco la circundan: Quiulacocha, Excélsior y Ocroyoc, las cuales se consideran como posibles causantes de su contaminación por metales pesados dada la conexión hidrológica que poseen con la laguna [2].

I.1 Estado actual y características fisicoquímicas de la laguna

La caracterización fisicoquímica de las aguas de la laguna Quiulacocha, según un estudio realizado por Vizarrata en 2021 [2], indica la presencia de un número considerable de distintos metales pesados, tales como cobre (2,738 mg/L), cromo (0,013 mg/L), cadmio (0,937 mg/L), níquel (0,526 mg/L), selenio (0,007 mg/L), plomo (0,171 mg/L), talio (0,081 mg/L), zinc (1176,277 mg/L), arsénico (0,777 mg/L) entre otros. Los cuales sobrepasan los Estándares de Calidad Ambiental (ECA), para cobre (0,1 mg/L), cromo (0,011 mg/L), cadmio (0,00025 mg/L), níquel (0,052 mg/L), selenio (0,005 mg/L), plomo (0,0025 mg/L), talio (0,0008 mg/L), zinc (0,12 mg/L) y arsénico (0,15 mg/L) [2, 3]. Los metales de mayor interés para el presente proyecto son cadmio (Cd), plomo (Pb) y arsénico (As), debido a un alto nivel de concentración reportado [2]. Asimismo, su presencia en el suelo, la atmósfera y el agua es altamente nociva, incluso a cantidades muy pequeñas, ya que pueden ocasionar graves problemas en la salud humana y el ecosistema [2, 4, 5].

Otra investigación conducida por *Source International* en 2020 [6], también ha documentado elevadas concentraciones de Cd y As con 1,1 mg/L y 0,63 mg/L, respectivamente, encontrándose con valores por encima de los ECA [3, 6]; y los Límites

Máximos Permisibles (LMP) para Cd (0,05 mg/L) y As (0,1 mg/L) [7]. Cabe destacar que no se detectó Pb disuelto en las muestras de agua evaluadas [6]; sin embargo, en el estudio antes mencionado de Vizarrata, se encontraron niveles superiores de Pb a los establecidos en los ECA [2, 3]. Asimismo, se ha reportado una temperatura de 14.7°C y condiciones altamente ácidas (pH 2.4) superando los LMP, al igual que los ECA, cuyo pH debería encontrarse en un rango de 6.5 a 9 [3, 6, 7]. Por otro lado, se han encontrado valores altamente positivos de potencial redox, esto sugiere que la laguna es un ambiente en el cual predominan las reacciones de oxidación [2]. La misma investigación también indica condiciones de hipoxia, con valores de oxígeno disuelto **menores a 3 mg/L, encontrándose por debajo de los ECA (≥ 5 mg/L); de modo que contribuye** directamente en la supervivencia de la biota del ecosistema. También se ha documentado elevados niveles de conductividad (22038 $\mu\text{S/cm}$) a los establecidos en los ECA (≤ 1000 $\mu\text{S/cm}$), lo cual es un indicador de un alto grado de contaminación que presenta esta laguna. Asimismo, en el estudio concluyen que el nivel de conductividad presentado es a causa de la gran cantidad de metales disueltos en forma de iones disociados [2]. Entonces, la presencia de diferentes metales pesados, en concentraciones elevadas en algunos casos, y factores ambientales como el pH (2.4) y el potencial redox (22038 $\mu\text{S/cm}$) han favorecido la biodisponibilidad y movilidad de estos metales en el agua de la laguna [2]. De acuerdo a las características ya mencionadas, se espera que en el agua de la laguna predomine el arseniato pentavalente, ya que se ha documentado que la especie química del arsénico en el agua está determinada principalmente por el pH y potencial redox [5]. Siendo las especies como $\text{H}_3\text{As(V)}\text{O}_4$ las que predominan en condiciones oxidantes. Asimismo, se sabe que puede haber un aumento de las cantidades disueltas de Cd, debido a un contenido elevado de materia orgánica disuelta y un pH bajo,

lo mismo que para el caso del Pb [5].

I.2 Efecto de la contaminación en las poblaciones aledañas

Por su cercanía a la laguna, la comunidad de Quiulacocha se encuentra expuesta a la contaminación directa de sustancias químicas presentes en la laguna, dada principalmente por la contaminación del aire, suelo y agua, enriquecidos de metales pesados tóxicos [8]. Por ejemplo, un estudio realizado por Astete et al., en 2009 [9] reportó niveles de Pb en sangre por encima de los 10 $\mu\text{g/dL}$, límite recomendado por el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos, en los niños de la comunidad de Quiulacocha [2, 9]. Adicionalmente, un informe realizado por el Ministerio de Salud (Minsa) en 2018 [10] reveló la presencia de niveles de As en creatinina (orina) superior a 20 $\mu\text{g/gr}$ en niños y gestantes del poblado Quiulacocha, estas concentraciones superan los valores existentes para adultos. No obstante, aún no se han encontrado valores de referencia de metales en creatinina establecidos para menores de 18 años [6]. Ambas investigaciones descritas anteriormente confirman la crítica situación que vive esta población vulnerable de Quiulacocha.

I.3 Efecto de la contaminación en el ecosistema

La exposición prolongada a metales pesados en el medio ambiente representa una amenaza para las poblaciones silvestres, afecta a las comunidades y pone en peligro la integridad del ecosistema [11]. También se sabe que los metales pesados tienen la predisposición de acumularse en los tejidos de los organismos vivos [4]. Por ejemplo, en un estudio realizado en esta laguna Quiulacocha por Peña et al., en 2017 [4], se encontró elevadas concentraciones de cobre (Cu) y zinc (Zn) en las raíces de *Calamagrostis rigida*, especie herbácea de la familia Poaceae, las cuales estarían relacionadas con la conexión hidrológica que existe entre los tres relaves en Cerro de Pasco, ya mencionados

anteriormente, y esta laguna. Estos relaves acumulados en más de un siglo, contienen metales como Cd, As, Zn, Cu y Pb [4]. En otra investigación realizada por Baylón Coritoma et al., en 2018 [12], se ha reportado que la elevada contaminación por metales como Cd, As, Zn, Cu y Pb afecta la riqueza y diversidad de las comunidades fitoplanctónicas en la laguna Quiulacocha, con una dominancia del género *Nitzschia* sp., diatomeas de pequeño tamaño tolerantes a la contaminación [12].

II. Biorremediación mediante el uso de bacterias

La contaminación por metales pesados representa un gran problema ambiental puesto que son potencialmente tóxicos y pueden afectar tanto la salud humana, así como al ecosistema [13]. Una solución a este problema ambiental es la biorremediación, un proceso factible y ecosostenible para el tratamiento de ambientes acuáticos contaminados [14], en el cual los organismos vivos descomponen o remueven los contaminantes para reducir sus efectos en el suelo, el agua o el aire [15]. Asimismo, el uso de células microbianas en este proceso es de gran ayuda por su papel como adsorbente natural para los iones metálicos debido a la naturaleza y composición de la pared celular [16]. En la biorremediación se utilizan ciertas biomoléculas o tipos de biomasa para captar y unir los iones de los metales pesados en soluciones acuosas [17]. En este contexto, el término “biomasa” es muy amplio e incluye tanto a las células vivas intactas como a los compuestos derivados de origen biológico con diferentes grados de transformación (residuos, carbón orgánico, etc) [18]. Esta biomasa puede ser usada como activa (células viables o vivas) o inactiva (células no viables o muertas por calor) [18].

II.1 Por biomasa inactiva

En la biomasa inactiva, los contaminantes se unen de forma pasiva e independiente del

metabolismo a este tipo de biomasa a través de mecanismos iónicos, químicos o físicos (biosorción) [18]. Algunos mecanismos como la adsorción, el intercambio iónico, la complejación, la quelación y la microprecipitación intervienen en el proceso de biosorción [19]. Este proceso rápido y complejo, depende de las características y concentración de los iones metálicos, las propiedades de las cepas (grupos funcionales ubicados en la superficie celular) y las características fisicoquímicas del medio ambiente (pH, temperatura, concentración de iones metálicos) [16]. Por ejemplo, el pH es un parámetro clave que afecta la solubilidad de los cationes metálicos y los sitios de unión cargados negativamente de la biomasa [16]. Como consecuencia, la biosorción de metales es muy baja a pH menores de 2-3, observándose una mayor eficiencia en medios ligeramente ácidos (pH entre 4 y 6), así como la formación de hidróxidos de metal y otros complejos metal-ligando a pHs altos, lo cual reduce significativamente la cantidad de iones metálicos adsorbidos [16]. Otro factor importante es la temperatura, dado que un mayor valor mejorará la adsorción causada por el aumento de la actividad superficial y la energía cinética del soluto. No obstante, se puede esperar daño físico de la biomasa a elevadas temperaturas [16]. El uso de este tipo de biomasa evita problemas relacionados con la toxicidad, no requiere mantenimiento, su almacenamiento puede realizarse por largos periodos sin perder la efectividad y posee una regeneración factible [18].

II.2 Por biomasa activa

El proceso de unión de metales pesados de la biomasa activa sigue dos pasos: Primero, el contaminante se une a la superficie celular (biosorción en sentido estricto) en un proceso independiente del metabolismo [18]. Segundo, el contaminante se transporta a través de la membrana citoplasmática al interior de la célula [18], es decir, ocurre la bioacumulación que es un proceso dependiente del crecimiento mediado solamente por

la biomasa activa [20]. Esta acumulación intracelular de los iones metálicos comienza cuando la mayoría de los lugares disponibles para la unión en la pared celular están ocupados. Después de la entrada del contaminante, los sitios de unión de la pared celular están nuevamente vacíos y pueden unir nuevos iones metálicos hasta el equilibrio. Este mecanismo proporciona una concentración celular de iones metálicos necesarios para todas las reacciones metabólicas sin el riesgo de una posible toxicidad [21]. La principal ventaja que presenta su uso es el aumento de la capacidad de remoción si en caso este sistema activo realiza procesos como biotransformación o biodegradación. Sin embargo, esta biomasa necesita de sistemas de cultivo y aporte de nutrientes por lo que lo vuelve un proceso costoso [18]; adicionalmente, se inhibe a temperaturas bajas y no es un proceso renovable [22].

III. Bacterias ácido lácticas (BAL) y su uso como biorremediadores

III.1 Características generales de las BAL

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son un grupo de bacterias Gram-positivas fermentativas, que como producto principal de su metabolismo producen ácido láctico y pueden encontrarse en forma de bacilos o cocos no esporulantes, oxidasa y catalasa negativos [23]. Entre sus características destacan ser anaerobios aerotolerantes y poseer una resistencia a condiciones ácidas (ácidos tolerantes). Las BAL son de gran importancia en la producción y conservación de alimentos, y comúnmente se encuentran en los productos lácteos [23]. En su mayoría no son consideradas patógenas debido a que poseen el status GRAS (*Generally Recognized As Safe*) otorgada por la FDA (*Food and Drug Administration*) [24], entre los principales géneros de las BAL resaltan *Lactobacillus* y *Streptococcus* [23].

III.2 El género *Lactobacillus* y su uso en la eliminación de metales pesados

III.2.1. *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. plantarum* y *L. rhamnosus*

Lactobacillus es un género de bacterias que posee la capacidad para unirse y secuestrar una variedad de metales pesados; por lo tanto, representa un enfoque prometedor para la descontaminación de estos metales tóxicos en agua. Esta unión es un proceso complejo que depende principalmente de la cepa, la temperatura y el pH [19]. Diversos estudios han reportado la aplicación de especies de *Lactobacillus* para la descontaminación de metales pesados en soluciones acuosas; entre ellas destacan *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. plantarum* y *L. rhamnosus*. Estas investigaciones han demostrado que las especies mencionadas poseen capacidades exitosas en la remoción de distintos metales pesados principalmente Cd, Pb y As como biomasa inactiva y activa [19, 25, 26, 27].

III.2.2. Como biomasa inactiva

En la biomasa inactiva, la pared celular de las bacterias es fundamental en la unión de iones metálicos. La superficie celular de los lactobacilos está compuesta por una capa gruesa de peptidoglicano, ácidos (lipo) teicoicos, polisacáridos, proteínas y las proteínas de la capa S [16, 19]. Estas estructuras contienen diferentes tipos de grupos cargados como carboxilo, hidroxilo y fosfato; por esta razón, los lactobacilos tienen un gran número de posibles ligandos capaces de unirse a iones catiónicos como Pb y Cd [19].

La aplicación de esta biomasa, conformada por especies de *lactobacillus*, para la remoción de metales pesados ha sido estudiada en los últimos años debido al interés por descubrir nuevas opciones no nocivas para solucionar el problema ambiental de estos metales tóxicos [18,25,26]. Un ejemplo de ello es un estudio elaborado por Elsanhoty et

al., en 2016 [25], en el que las cepas *L. rhamnosus* TISTR 541, *L. acidophilus* ATCC 20552, *L. plantarum* y la combinación de estas dos últimas, lograron remover Cd, Pb y As a partir de agua contaminada [25]. Se encontró que la capacidad de remoción se incrementó a una mayor temperatura y a un pH cercano a neutro; las cepas individuales fueron las que trabajaron mejor que la combinación de *L. plantarum* y *L. acidophilus* [25]. Adicionalmente, se realizaron pruebas a pH 7 y 37°C y se observó que la cepa *L. acidophilus* ATCC 20552 presentó un mayor porcentaje de remoción de Cd (65.5%), Pb (72.6%) y As (49.8%) frente a las demás cepas de lactobacilos evaluadas [25]. Es importante señalar que en este estudio se empleó biomasa bacteriana inactivada por calor a una temperatura de 60°C durante 24h y este proceso ayudó en el aumento de la eliminación de los metales pesados, particularmente de Cd, al disponer de mayores sitios de unión de metales en la superficie bacteriana [25]. Igualmente, se ha reportado que cepas de *L. acidophilus* producen proteínas de la capa S que contienen grupos cargados positivamente, lo que podría explicar su actividad contra el As aniónico [27, 28]. Paralelamente, otro estudio que confirma la influencia de parámetros como el pH y la temperatura en la remoción de los metales pesados, es el realizado por Halttunen et al., en 2007 [26], en el cual se evaluó la capacidad de remoción de Pb y Cd a concentraciones iniciales de 50 mg/L y 10 mg/L, respectivamente. En este estudio, se empleó biomasa inactiva liofilizada de las cepas *L. rhamnosus* GG (ATCC 53103) y *L. fermentum* ME3; siendo este último el que obtuvo una mayor eliminación de Cd a condiciones de pH 6, y de Pb a pH 5 [26]. En ambos estudios, el uso de biomasa inactiva bajo el proceso de biosorción de las especies *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* y *L. fermentum* mostraron ser capaces de remover concentraciones importantes de metales como el Pb, Cd y As. Asimismo, se demuestra la influencia del pH y la temperatura en la capacidad de remoción de estos metales.

III.2.3. Como biomasa activa

La biomasa activa de los lactobacilos también se ha investigado para la remoción de metales pesados en alimentos y aguas en la búsqueda de mecanismos de resistencia por parte de los lactobacilos. Tal es el caso de un estudio elaborado por Kirillova et al., en 2017 [19], en donde se evaluó la capacidad de remoción de Cd y Pb por diferentes cepas de *Lactobacillus*, las cuales se incubaron por 24 horas en caldo Man Rogosa Sharpe (MRS) con 5 mg/L de Cd o Pb a 37°C. Las cepas *L. plantarum* B-578 y *L. fermentum* 3-3 demostraron un mayor porcentaje de remoción de Cd del caldo MRS con 16% y 12%, respectivamente; frente a las demás cepas de lactobacilos evaluadas. Cabe señalar que en esta investigación las células de lactobacilos no pudieron remover el Pb del caldo MRS, entre ellas, la cepa *L. rhamnosus* I2L que a la vez no pudo remover Cd del medio de cultivo. Por otra parte, se evaluaron las propiedades fisicoquímicas de la superficie celular bacteriana, para caracterizar su capacidad de remoción de Cd y Pb; sin embargo, no se observó correlación entre ninguna de las características de la superficie y la remoción de Cd. Es por ello, que en el estudio se concluye que la acumulación de Cd dependiente del metabolismo dentro de las bacterias, no depende en mayor grado de las propiedades físicas de la superficie celular bacteriana [19]. De manera análoga, en otro estudio realizado por Monachese et al., en 2012 [27] se determinó la capacidad para remover Cd, Pb y As de la solución por parte de diferentes cepas de *Lactobacillus*. Entre ellas *L. plantarum* 14917 obtuvo un porcentaje de remoción para Cd (68%), Pb (37%) y As (5%) y *L. rhamnosus* GR-1 de Cd (60%), Pb (43%) y As (11%). Cabe resaltar que, en esta investigación, la concentración de los metales utilizada fue de 1 mg/L (ppm) y se agregaron a un buffer HEPES 50 mM, cuya función es mantener la concentración de iones hidrógeno de la solución a un nivel ideal, para después ser tratada con lactobacilos [29].

Asimismo, todas las cepas de lactobacilos evaluados pudieron bioacumular concentraciones significativas de Pb y Cd luego de un periodo de incubación de 5 horas, removiendo entre 40 y 70 % del metal en solución, el cual dependía de la cepa evaluada. Por otro lado, todas las cepas no tuvieron la capacidad de bioacumular correctamente el As, por lo tanto, la remoción fue baja en comparación con el Cd y Pb evaluados [27]. En ambas investigaciones, se demuestra la capacidad de las especies de *L. plantarum* y *L. rhamnosus* en la remoción de Cd, Pb y As, y *L. fermentum* en Cd, mediante el proceso de bioacumulación. No obstante, se evidencia que el porcentaje de remoción de estos metales es mucho menor en comparación con la reportada anteriormente por la biomasa inactiva. Además, el uso del buffer HEPES empleado aumenta costos en el proceso.

2. Problema de Investigación

La laguna Quiulacocha está severamente impactada debido a la presencia de altas concentraciones de diversos metales pesados, siendo el Cd, Pb y As los más tóxicos [2, 6, 8]; como resultado, se ha convertido en una fuente de contaminación representando así un riesgo para la población, el ambiente y la biodiversidad [6]. En la actualidad, se han desarrollado nuevas tecnologías como la biorremediación, una alternativa para reducir la acumulación de metales pesados [24]. Además, el uso de bacterias ácido lácticas en este proceso ha recibido recientemente gran atención para abordar este tipo de contaminación [30], dentro de este grupo de bacterias, el género *Lactobacillus* ha demostrado ser capaz de remover metales tóxicos (Cd, Pb y As) del medio ambiente. La remoción de estos metales pesados se verá condicionada por la composición de la superficie celular de los lactobacilos y las características de los iones metálicos [16]. Los lactobacilos, entre ellas *L. rhamnosus*, *L. fermentum*, *L. acidophilus* y *L. plantarum*, presentan una capa gruesa de peptidoglicano u otros ácidos que contienen grupos funcionales con carga negativa,

por lo que tienen la capacidad de unirse a iones catiónicos como el Pb y Cd. Además, se sabe que cepas de *L. acidophilus* tienen en su estructura proteínas de la capa S por lo que, al poseer una carga positiva, estarían más ligadas al As aniónico [19]. Por lo tanto, se esperaría una mayor remoción de Cd y Pb realizado por los lactobacilos ya mencionados, y una menor proporción para el caso del As. Asimismo, las investigaciones descritas anteriormente de Halttunen et al. [26] y Elsanhoty et al. [25] han demostrado la influencia de factores ambientales (pH y temperatura) evaluados por separado, en la remoción de Cd, Pb y As por parte de los lactobacilos ya mencionados. Sin embargo, no existen estudios científicos publicados que hayan evaluado la capacidad de remoción de estos metales a las condiciones de la laguna Quiulacocha (pH 2.4 y temperatura 14.7°C), ambos parámetros evaluados simultáneamente, por las especies *L. plantarum* y *L. fermentum*; así como de las cepas *L. acidophilus* ATCC 20552 y *L. rhamnosus* GG ATCC 53103. Asimismo, en las mismas investigaciones se ha evidenciado un mayor porcentaje de remoción de Cd y Pb, pero una menor para As, a un pH neutro. De igual manera, se observó una mayor remoción a temperaturas elevadas por la biomasa inactiva [25, 26]. No obstante, en un estudio realizado por Ameen et al. [24], en 2020, se encontró una mayor remoción de Pb y Cd a 22 °C y pH 2 por *L. plantarum* MF042018, mediante el proceso de biosorción. Por lo que, no se conoce con certeza cuál será el comportamiento y la capacidad de remoción de Cd, Pb y As por parte de las especies y cepas, individualmente y en conjunto, a las condiciones ya descritas de la laguna Quiulacocha, como biomasa inactiva. Por lo que esta propuesta de investigación tiene como propósito evaluar la capacidad de remoción de Cd, Pb y As por la biomasa inactiva de *L. acidophilus* ATCC 20552, *L. rhamnosus* GG ATCC 53103, *L. plantarum*, y *L. fermentum*, individualmente y en conjunto, a pH 2.4 y temperatura 14.7°C de la laguna Quiulacocha. Este proyecto nos permitirá conocer qué especies y cepas de lactobacilos podrían ser las

mejores candidatas para la remoción de Cd, As y Pb a las condiciones de pH y temperatura de la laguna Quiulacocha. Finalmente, esta información podrá ser utilizada en futuros estudios en el campo de la biorremediación dado la capacidad potencial de eliminación de Cd, Pb y As que podría observarse en los lactobacilos seleccionados para la recuperación del ecosistema.

3. Estrategia de abordaje

Para responder a la pregunta de si las especies *L. plantarum* y *L. fermentum*; así como las cepas *L. acidophilus* ATCC 20552 y *L. rhamnosus* GG ATCC 53103, individualmente y en conjunto, pueden remover Cd, As y Pb a condiciones de pH 2.4 y temperatura 14.7°C de la laguna Quiulacocha. Se propone simular las condiciones de temperatura en un entorno de laboratorio empleando agua de la laguna. Para ello, se comprarán las cepas *L. acidophilus* ATCC 20552, *L. rhamnosus* GG ATCC 53103, y se aislarán *L. plantarum* y *L. fermentum* de productos alimenticios ya que, si bien pertenecen a los géneros descritos, se obtendrán cepas diferentes. En el presente proyecto se utilizará biomasa inactiva debido a que se evidenciaron mayores porcentajes de remoción de estos metales [25, 26] en comparación con la biomasa activa [19, 27]. Para ello las cepas serán inactivadas por calor a 60°C por 24h (como sugiere Elsanhoty et al. [25]). Además, es importante resaltar que de acuerdo al objetivo de nuestro trabajo estas cepas se evaluarán individualmente y en conjunto, determinando la capacidad de remoción de As, Pb y Cd de cada cepa mencionada a una temperatura de 14.7°C. Entonces, las concentraciones de cada metal serán Cd (1,1 mg/L), As (0,63 mg/L) y Pb (0,171 mg/L); datos tomados de informes realizados por *Source International* y Vizarrata de reciente publicación [2, 6]. Además, se planea utilizar como control positivo biomasa viva cultivadas en caldo MRS durante 24 horas a 37°C con el fin de comparar la capacidad de remoción de Cd, As y Pb con la

biomasa inactiva. Finalmente, para medir la concentración del metal remanente en solución se utilizará la espectrometría de absorción atómica [19, 25].

Referencias bibliográficas:

1. Andes MLOS, Anonima S, Andes MLOS, Anonima S, Evita I, Centro DEL, et al. Anexo: inventario de pasivos ambientales mineros. :1–515
2. Vizarreta Luna GA. Evaluación de riesgo tóxico y ecotoxicológico de la laguna Quiulacocha en el distrito Simón Bolívar, departamento de Pasco, Perú. 2021
3. MINAM. Aprueban Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua y establecen disposiciones complementarias. El Peru [Internet]. 2017; 6–9.

Available from: <http://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2017/06/DS-004-2017-MINAM.pdf>

4. Jara-Peña E. Acumulación de metales pesados en *Calamagrostis rigida* (Kunth) Trin. ex Steud. (Poaceae) y *Myriophyllum quitense* Kunth (Haloragaceae) evaluadas en cuatro humedales altoandinos del Perú. *Arnaldoa*. 2017;24(2):583–98.
5. Halttunen T. Removal of Cadmium , Lead and Arsenic From Water By Lactic Acid. *Statistics*. 2007.
6. Laura Grassi, Miguel Madrid, Flaviano Bianchini SS. Condiciones de la calidad ambiental y exposición humana a metales pesados en Cerro de Pasco. 2020. Available from: <https://laborpasco Peru.org.pe/presentacion-de-publicacion-condiciones-de-la-calidad-ambiental-y-exposicion-humana-a-metales-pesados-en-cerro-de-pas>
7. Ministerio del Ambiente (MINAM). (2010). Decreto Supremo N°010-2010-MINAM. In *El Peruano* (p. 4). <https://sinia.minam.gob.pe/normas/aprueban-limites-maximos-permisibles-descarga-efluentes-liquidos>
8. Calzada WOC, Bravo ZT, Atencio JE, Bianchini F, Grassi L. Estudios en Poblaciones Afectadas por Metales Pesados en Pasco. 2018;102. Available from: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/4957.pdf>
9. Astete J, Cáceres W, Gastañaga MC, Lucero M, Sabastizagal I, Oblitas T, et al. Intoxicación por plomo y otros problemas de salud en niños de poblaciones aledañas a relaves mineros. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2009; 26(1):15–9.
10. DIRESA Pasco, 2018. Informe final de las actividades desarrolladas en la declaratoria de emergencia sanitaria D.S. No. N° 005-2018-SA. Available from:

https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/187969/187465_DS_005-2018-SA.PDF20180823-24725-99a1jl.PDF

11. Tovar-Sánchez E, Hernández-Plata I, Martínez MS, Valencia-Cuevas L, Galante PM. Heavy Metal Pollution as a Biodiversity Threat. *Heavy Met.* 2018
12. Baylón Coritoma M, Roa Castro K, Libio Sánchez T, Tapia Ugaz L, Jara Pena E, Macedo Prada D, et al. Evaluación de la diversidad de algas fitoplanctónicas como indicadores de la calidad del agua en lagunas altoandinas del departamento de Pasco (Perú). *Ecol Apl.* 2018;17(1):119.
13. Aquino E, Barbieri C, Oller Nascimento CA. Engineering Bacteria for Bioremediation. *Progress in Molecular and Environmental Bioengineering - From Analysis and Modeling to Technology Applications [Internet]*. 2011. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/17260>
14. Castillo Rogel RT, More Calero FJ, Cornejo La Torre M, Fernández Ponce JN, Mialhe Matonnier EL. Aislamiento de bacterias con potencial biorremediador y análisis de comunidades bacterianas de zona impactada por derrame de petróleo en Condorcanqui – Amazonas – Perú. *Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research [Internet]*. 2020; 22(3):2015–225. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2313-29572020000300215&script=sci_arttext
15. Silvana Alvaro CE, Arocena LA, Martinez MA. Estudio Comparativo Del Agregado De Enmiendas Orgánicas E Inorgánicas En Procesos De Biorremediación De Suelos Norpatagónicos Contaminados Con Petróleo. *Rev la Soc Química del Perú [Internet]*. 2014;80(4):251–61. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v80n4/a04v80n4.pdf>

16. Gerbino OE. Interacción de *Lactobacillus kefir* con plomo, cadmio, zinc y níquel: Análisis estructural y estudio de la capacidad secuestrante a nivel molecular. 2013. 71–72 p
17. Coelho LM, Rezende HC, Coelho LM, de Sousa PAR, Melo DFO, Coelho NMM. Bioremediation of Polluted Waters Using Microorganisms. *Advances in Bioremediation of Wastewater and Polluted Soil* [Internet]. 2015. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/48803>
18. Torres E. Biosorption: A Review of the Latest Advances. *Processes* [Internet]. 2020; 8(12):1584. Available from: <https://www.mdpi.com/2227-9717/8/12/1584/htm>
19. Kirillova A V, Danilushkina AA, Irisov DS, Bruslik NL, Fakhrullin RF, Zakharov YA, et al. Assessment of Resistance and Bioremediation Ability of *Lactobacillus* Strains to Lead and Cadmium. Falkinham J, editor. *Int J Microbiol* [Internet]; 2017:9869145. Available from: <https://doi.org/10.1155/2017/9869145>
20. Bahafid W, Joutey NT, Asri M, Sayel H, Tirry N, Ghachtouli NE. Yeast Biomass: An Alternative for Bioremediation of Heavy Metals. *Yeast - Industrial Applications* [Internet]. 2017; Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/56845>
21. Mrvčić J, Stanzer D, Šolić E, Stehlik-Tomas V. Interaction of lactic acid bacteria with metal ions: opportunities for improving food safety and quality. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* [Internet]. 2012; 28(9):2771–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22806724/>
22. Lin D, Ji R, Wang D, Xiao M, Zhao J, Zou J, et al. The research progress in mechanism and influence of biosorption between lactic acid bacteria and Pb(II): A review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2019;59(3):395–410.

23. T. Madigan M, S. Bender K, H. Buckley D, Sattley W, Stahl D. Brock biology of microorganisms. 15th ed. United States: Pearson Education; 2019.
24. Ameen FA, Hamdan AM, El-Naggar MY. Assessment of the heavy metal bioremediation efficiency of the novel marine lactic acid bacterium, *Lactobacillus plantarum* MF042018. Scientific Reports [Internet]. 2020.10(1). Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-57210-3>
25. Elsanhoty RM, Al-Turki IA, Ramadan MF. Application of lactic acid bacteria in removing heavy metals and aflatoxin B1 from contaminated water. Water Sci Technol [Internet]. 2016; 74(3):625–38. Available from: <https://doi.org/10.2166/wst.2016.255>
26. Halttunen T, Salminen S, Tahvonen R. Rapid removal of lead and cadmium from water by specific lactic acid bacteria. Int J Food Microbiol. 2007;114(1):30–5.
27. Monachese MA. Sequestration of lead, cadmium and arsenic by *Lactobacillus* species and detoxication potential. 2012 :Paper 729.
28. Zoghi A, Khosravi-Darani K, Sohrabvandi S. Surface Binding of Toxins and Heavy Metals by Probiotics. Mini-Reviews Med Chem. 2014;14(1):84–98.
29. What is HEPES Buffer? [Internet]. ReAgent Chemical Services. 2021 [cited 2 December 2021]. Available from: <https://www.reagent.co.uk/what-is-hepes-buffer/>
30. Balboa Luna C, Vergara Gonzalez L. Potential application of lactic acid bacteria in water treatment systems. Ecosistemas [Internet]. 2021; 30(2):1–9. Available from: <https://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/2224>