

**REMOCIÓN DE HIERRO EN AGUAS SUBTERRÁNEAS MEDIANTE EL USO DE
BACTERIAS DEL MUNICIPIO DE SUTAMARCHÁN, BOYACÁ.**



ERIKA NAYARITH SAAVEDRA GAMEZ

LAURA JULIANA HERRERA RODRÍGUEZ

UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL

TUNJA – BOYACÁ

2024

**REMOCIÓN DE HIERRO EN AGUAS SUBTERRÁNEAS MEDIANTE EL USO DE
BACTERIAS DEL MUNICIPIO DE SUTAMARCHÁN, BOYACÁ.**

ERIKA NAYARITH SAAVEDRA GAMEZ

LAURA JULIANA HERRERA RODRÍGUEZ

**INFORME FINAL DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL EN
INGENIERÍA AMBIENTAL**

DIRECTORA. Mg. ADRIANA MARCELA VALERO POSADA

CODIRECTORA. PhD. MARTHA ELIZABETH BENAVIDES ROZO

UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL

TUNJA – BOYACÁ

2024

Autoridades Académicas

Fr. Álvaro José ARANGO RESTREPO, O.P.

Rector General

Fr. Mauricio Antonio CORTÉS GALLEGO, O.P.

Vicerrector Académico General

Fr. José Fernando MANCIPE, O.P.

Rector Seccional Tunja

Fr. José Gregorio HERNÁNDEZ TARAZONA, O.P.

Vicerrector Académico Seccional Tunja

Doctora. Luz Angela CUELLAR RODRÍGUEZ

Decana de la Facultad de Ingeniería Ambiental

NOTA DE ACEPTACIÓN

Firma presidente del Jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

Tunja, 4 de octubre del 2024

DEDICATORIA

Esta tesis la dedicamos a nuestros padres y personas que con tanto amor, empatía y esfuerzo nos han apoyado día a día en este proceso para llegar a ser profesionales, a nuestra directora y codirectora de trabajo de grado, dos mujeres aplicadas e iluminadas por la sabiduría, el conocimiento y la experiencia, que se han empeñado en guiarnos en esta innovadora investigación.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por brindarnos la oportunidad y el entendimiento necesario para elaborar este trabajo de grado, por rodearnos de las personas correctas y ayudarnos a tener la sabiduría en la actualidad para aprender y evolucionar día a día como persona y profesionalmente.

A nuestros padres, principalmente por el apoyo y amor incondicional que nos han dado para poder culminar esta etapa de nuestras vidas, así mismo, a la directora y codirectora de la tesis, el cual han sido indispensables y promotoras de la excelencia con la que se desarrolló esta investigación.

Agradecemos a nuestros docentes y a la doctora Luz Angela Cuellar, decana de la Facultad de Ingeniería Ambiental, quienes hicieron un gran aporte en la formación tanto ingenieril como humana, además de ser el pilar para presentar esta propuesta investigativa que impactará positivamente el campo de la ingeniería ambiental.

Agradecimientos a la dirección de laboratorios por brindarnos el espacio, el tiempo y los recursos necesarios para utilizar el laboratorio de procesos ambientales y biología, valoramos profundamente el suministro de materiales, reactivos, equipo y sobre todo el acompañamiento por parte de las analistas Alejandra y Eliann quienes nos apoyaron incondicionalmente a la hora de realizar las fases experimentales del proyecto, gracias al esfuerzo conjunto de todos, nos sentimos orgullosas del trabajo que se presenta a continuación...

Tabla de Contenido

1. Introducción	15
1.1 Planteamiento del Problema	21
1.2. Justificación	24
2. Objetivos de la Investigación	26
2.1. Objetivo General	26
2.2. Objetivos Específicos.....	26
3. Estado del Arte.....	27
3.1. La Importancia del Manejo de las Aguas Subterráneas y las Consecuencias del Hierro en la Vida.	27
3.2. Normativas y Artículos en Colombia que den Solución a los Contaminantes de Metales Pesados Presentes en las Aguas Subterráneas como el Hierro.	28
3.2.1. Remoción de Hierro en Aguas Subterráneas	29
3.3. Normativas y Metodologías Innovadoras a Nivel Internacional para Degradar el Hierro con Bacterias.	30
4. Metodología.....	33
4.1. Primera Fase del Proyecto.....	33
4.1.1. Caracterización Fisicoquímica	34
4.1.2. Caracterización Microbiológica	35
4.1.3. Microbiota Presente en Aguas Subterráneas	36
4.2. Segunda Fase del Proyecto	37
4.2.1. Preparación de Pre-Inóculo	37
4.2.2. Adaptación de Aislados Bacterianos a Alta Concentración de Fe.....	38
4.2.3. Bio-solubilización de Fe a Partir de un Medio Sintético Modificado con Diversas Fuentes de Carbono	38
4.2.4. Efecto del pH Sobre la Biosolubilización de Fe (III) en SSM que Contiene 1,5% de Glucosa y Óxido Férrico	39
5. Resultados y Análisis de Resultados.....	42
5.1. Primera Fase del Proyecto.....	42
5.1.1. Caracterización Fisicoquímico	42
5.1.2. Calidad Microbiológica de Agua	43

5.1.3 Aislados Bacterianos de Muestras Contaminadas con Hierro.	44
5.2. Segunda Fase del Proyecto	46
5.2.2. Aislados Bacterianas Resistentes al Hierro.	46
5.2.3. Efecto de las Fuentes de Carbono Sobre el Crecimiento Bacteriano y la Solubilización del Hierro a Partir del Óxido de Fe.	47
5.2.4. Crecimiento Bacteriano y Solubilización del Hierro en el Medio Sintético a Distintos pH.....	55
6. Conclusiones.....	60
7. Anexos.....	61
8. Bibliografía.....	70

Índice de Figuras

Figura 1. <i>Georreferenciación de los Puntos de Muestreo</i>	34
Figura 2. <i>Tratamiento de muestra y método estandarizado 3030F.</i>	40
Figura 3. <i>Curva de Calibración del Hierro</i>	41
Figura 4. <i>Caracterización Micro-Morfológica de los Aislados.</i>	46
Figura 5. <i>Aislamientos con Capacidad de Degradación de Fe^3.</i>	47
Figura 6. <i>Bio-solubilidad de Fe^{3+} con Celulosa Como Fuente de Carbono.</i>	49
Figura 7. <i>Biosolubilidad de Fe^{3+} en Diferentes Fuentes de Carbono.</i>	53
Figura 8. <i>Bio-solubilidad de Fe^{3+} en Diferentes pH y con una Única Fuente de Carbono.</i>	57

Índice de tablas

	Página
Tabla 1. <i>Georreferenciación y Descripción de los Puntos de Muestreo.</i>	34
Tabla 2. <i>Marco Metodológico Usado para las Pruebas Fisicoquímicas.</i>	35
Tabla 3. <i>Los Datos para la Calibración son:</i>	41
Tabla 4. <i>Resultados Fisicoquímicos Pozos ubterráneos.</i>	43
Tabla 5. <i>Microbiología de las Muestras.</i>	43
Tabla 6. <i>Conteo de Población Bacteriana Presente en Cada una de las Muestras en los 3 Puntos de Muestreo (UFC/mL)</i>	45

Índice de Anexos

	Página
Anexos 1. <i>Extracción de Muestras en Sutamarchán Límite con Villa de Leyva</i>	62
Anexos 2. <i>Extracción de Muestras en Sutamarchán Límite con Sáchica</i>	62
Anexos 3. <i>Extracción de Muestras en Sutamarchán Límite con Sáchica</i>	63
Anexos 4. <i>Espectrómetro de Absorción Atómica novAA 800D.</i>	63
Anexos 5. <i>Presencia de Coliformes Totales y E. coli</i>	64
Anexos 6. <i>Crecimiento Bacteriano en Disoluciones.</i>	64
Anexos 7. <i>Preparación del Medio Líquido en Medio Controlado.</i>	65
Anexos 8. <i>Siembra de las Muestras Bacterianas en las Cajas de Petri y los Erlenmeyer.</i>	65
Anexos 9. <i>Incubación del Medio con Bacterias en Erlenmeyer y Cajas Petri.</i>	66
Anexos 10. <i>Conteo de Bacterias para las 3 Muestras en Glucosa.</i>	66
Anexos 11. <i>Conteo de Bacterias para las 3 Muestras en Celulosa</i>	67
Anexos 12. <i>Degradación de Hierro en Glucosa y Celulosa en las 3 Muestras.</i>	67
Anexos 13. <i>Conteo Bacteriano con Diferentes Valores de pH en M1-3.</i>	68
Anexos 14. <i>Conteo Bacteriano con Diferentes Valores de pH en M2-1.</i>	68
Anexos 15. <i>Conteo Bacteriano con Diferentes Valores de pH en M2-2.</i>	69

Resumen

La presente propuesta de investigación surgió ante la ascendente preocupación por el agotamiento de las fuentes de agua superficial utilizadas para el tratamiento de agua potable. En respuesta a esta problemática, se propuso estudiar la aplicación de bacterias modificando su ambiente para la biorremediación de metales pesados, como el hierro, en aguas subterráneas. Estas aguas representan un porcentaje importante del recurso hídrico mundialmente y enfrentan una creciente contaminación, debido a actividades humanas como la industria, la agricultura y la minería. La presencia de estos contaminantes plantea un desafío ambiental y de salud pública de gran relevancia.

La propuesta de investigación se desarrolló en tres fases; La primera se llevó a cabo una caracterización fisicoquímica detallada de las aguas subterráneas en el municipio de Sutamarchán, Boyacá con el objetivo de identificar cuáles son los valores y presencia de contaminantes en las tomas de muestra. La segunda fase se centró en la selección y modificación de cepas bacterianas específicas. Finalmente, en la tercera fase, se optimizó su capacidad para capturar metales pesados como el hierro, empleando técnicas avanzadas de biotecnología que garantizarán la eficacia de las bacterias tanto en condiciones de laboratorio como en entornos reales.

Los resultados obtenidos impactarán positivamente las políticas públicas relacionadas con la gestión del agua y la protección ambiental, ofreciendo nuevas estrategias para la restauración de ecosistemas acuáticos y promoviendo prácticas sostenibles en el manejo de los recursos hídricos.

Además, este estudio podrá servir como referencia para futuras investigaciones y para la formulación de políticas enfocadas en la conservación del agua y la protección del medio ambiente.

Palabras Claves: Biorremediación, bacterias, metales pesados, aguas subterráneas.

Abstract

The present research proposal arose from the growing concern about the depletion of surface water sources used for the treatment of drinking water. In response to this problem, it was proposed to study the application of bacteria modifying their environment for the bioremediation of heavy metals, such as iron, in groundwater. These waters represent a significant percentage of the world's water resources and face increasing contamination due to human activities such as industry, agriculture and mining. The presence of these contaminants poses a highly relevant environmental and public health challenge.

The research proposal was developed in three phases; The first was a detailed physicochemical characterization of groundwater in the municipality of Sutamarchán, Boyacá with the aim of identifying the values and presence of contaminants in the sample collections. The second phase focused on the selection and modification of specific bacterial strains. Finally, in the third phase, their capacity to capture heavy metals such as iron was optimized, using advanced biotechnology techniques that will guarantee the effectiveness of the bacteria both in laboratory conditions and in real environments.

The results obtained will positively impact public policies related to water management and environmental protection, offering new strategies for the restoration of aquatic ecosystems and promoting sustainable practices in the management of water resources. In addition, this study may serve as a reference for future research and for the formulation of policies focused on water conservation and environmental protection.

Keywords: Bioremediation, bacteria, heavy metals, groundwater.

1. Introducción

A nivel mundial se observa una disminución en el porcentaje de agua dulce de los ríos y en gran parte se debe al uso intensivo de este recurso, tanto por industria como el efecto de las actividades antrópicas, que han deteriorado la calidad del agua afectando los factores fisicoquímicos y microbiológicos. El aumento poblacional y el cambio climático también han tenido un efecto negativo sobre el recurso hídrico, por tanto, surge la necesidad de buscar estrategias sostenibles para el tratamiento de aguas, (Bermudez & Ortiz, 2017). La inaccesibilidad del agua potable en algunas partes del mundo ha generado problemas de salubridad, aumentado la propagación de enfermedades y afectación en la calidad de vida de las comunidades (UNESCO, 2023).

Es crucial garantizar el acceso al agua potable de calidad mediante estrategias que minimicen el uso de productos químicos nocivos para el medio ambiente. A nivel mundial, el Objetivo de Desarrollo Sostenible (ODS) número 6 de la Agenda 2030 tiene como meta asegurar la disponibilidad y gestión sostenible del agua y el saneamiento para todos, Sin la implementación de acciones efectivas se estima que para el año 2030, parte importante de la población podría continuar sin acceso a servicios básicos en lo que concierne al agua potable (Naciones Unidas, 2024).

América Latina, enfrenta serios desafíos en el tratamiento del agua, agravados por la contaminación por metales pesados, como plomo y mercurio, que afecta no solo aguas superficiales sino también las subterráneas, especialmente en países como Perú y Bolivia (Organización de las Naciones Unidas, 2021). La falta de infraestructura y escasez de recursos complican aún más la situación. En este contexto, es importante encontrar nuevos tratamientos de

aguas, que sean accesibles evitando así, la necesidad de extensas redes de tuberías y plantas de tratamiento centralizadas (Franco *et al.*, 2023), de esta forma se podría mejorar la gestión del agua en la región.

La contaminación de las aguas en Colombia por metales pesados, se da principalmente por mercurio sin embargo, (Torregroza-Espinosa *et al.*, 2018) reportan también la presencia de plomo (Pb), zinc (Zn) y cadmio Cd, con concentraciones que alcanzan los máximos permitidos, los cuales monitoreado bajo en el Índice de Riesgo de Calidad de Agua para el Consumo Humano (IRCA), este índice considera el análisis de las características físico químicas y microbiológicas a nivel nacional reportadas por las Direcciones de Salud (DTS) y el sistema de información para la vigilancia de la Calidad de Agua para el Consumo Humano (SIVICAP), Para el año 2021 se reportó una mayor de metales pesados como contaminantes en aguas, y se resalta el magnesio, aluminio, manganeso y plomo, en los departamentos de Antioquia, Cundinamarca y Boyacá (Ministerio De Salud y Protección Social, 2021).

El Departamento de Boyacá enfrenta un alto riesgo en el abastecimiento de agua potable; en gran parte por la contaminación y la presencia de metales pesados. Sutamarchán uno de los municipios que se han visto afectados, pues dejó de ser atendido por municipios prestadores directos, en este caso el municipio de Tunja en acueducto, alcantarillado y aseo (Ministerio de Vivienda, 2022). La problemática de la escasez de agua en Sutamarchán es alarmante, ya que la comunidad depende en gran medida del uso de pozos subterráneos, lo que a largo plazo puede

agravar la disminución de los acuíferos y la calidad del agua disponible a largo plazo (Derly Lorena Molano Rodríguez, 2023).

Los problemas de agua en la región no son nuevos; durante el Fenómeno del Niño, ya se habían experimentado crisis similares. Sin embargo, el desabastecimiento no solo afecta a los habitantes del casco urbano, si no también afecta negativamente la actividad agrícola y pecuaria local, un sector crucial para de la economía del municipio (Gaitán, 2020).

La falta de infraestructura municipal ahonda la situación, ya que muchas zonas no cuentan con acueductos, y los habitantes dependen de reservorios privados que están agotados por la sequía. Aunque existe un pozo profundo construido hace varios años, no se ha conectado a una red de distribución efectiva; lo que resalta la necesidad de acciones a corto y mediano plazo, como la implementación de estrategias que minimicen el impacto en la salud de la población (Gaitán, 2020).

El uso de agua de baja calidad puede reducir la productividad y aumentar los costos operativos. Las impurezas como metales pesados, pesticidas, bacterias y virus, pueden tener consecuencias graves si no se remueven eficazmente del agua antes de su consumo. Un sistema eficiente de tratamiento de agua ayuda a preservar los recursos hídricos, asegurando su disponibilidad para las futuras generaciones (Manuel *et al.*, 2023).

Los análisis realizados por Rivas Johandra, (2021) destacan la presencia de hierro y manganeso en aguas subterráneas, dos contaminantes comunes que, en altas concentraciones, pueden afectar la calidad del agua potable, provocando no solo problemas estéticos, sino también de salud pública; este estudio también compara varias metodologías para remover estos dos contaminantes, explorando tanto tecnologías convencionales como innovadoras.

Entre las tecnologías convencionales más usadas esta para la eliminación de Mn y el Fe se encuentra una combinación de oxidación, precipitación y filtración utilizando una variedad de agentes oxidantes como oxígeno, cloro, permanganato de potasio dióxido de cloro y ozono. También se emplea el ablandamiento por zeolita que favorece el intercambio de iones: catiónicos o aniónicos (Rivas Johandra, 2021).

Los medios filtrantes también son estrategias utilizados para diferentes procesos incluida la remoción de metales pesados en las aguas tanto superficiales como subterráneas; Las membranas empleadas permiten la eliminación de estos contaminantes como el arsénico, pero generan grandes volúmenes de aguas residuales (Esteban Manuel Villena Martínez, 2022) Las técnicas de membranas y microfiltración y ultrafiltración se basan en el tamaño de los poros, mientras que en nanofiltración y ósmosis inversa que logra desalinizar y remover los contaminantes mediante flujo capilar o difusión. La eliminación de otros metales como zinc, hierro y manganeso aún requiere más investigación. Recientemente, los procesos híbridos, como el uso de Biorreactores de Membranas (MBRs) (Mulyati & Syawaliah, 2018).

La coagulación -floculación es uno de los tratamientos más empleados. Este proceso consiste en la eliminación de la doble capa eléctrica de las partículas coloidales suspendidas, lo

que permite su aglomeración. Se emplean sustancias químicas como sulfato de aluminio, cloruro férrico o algunos polímeros sintéticos que permiten unir estos sólidos, Posteriormente las partículas son retiradas por gravedad o filtración, eliminando así las bacterias que causan color y turbiedad al agua. (Valeriano-Mamani & Matos-Chamorro, 2019).

Estos procesos convencionales de remoción de metales pesados presentan eficiencias superiores al 90%; sin embargo, estos métodos pueden ser costosos y no siempre accesibles para comunidades apartadas o rurales. En este contexto, la biorremediación, que emplea microorganismos para la degradación del hierro (III), ha surgido como una alternativa para reducir el uso de químicos (Montenegro et al., 2019).

Los tratamientos biológicos son otra forma de eliminar contaminantes, también se denomina biorremediación, e implica la utilización de microorganismos para eliminación de los diversos contaminantes en el agua. La capacidad de algunas especies de bacterias para oxidar o reducir hierro facilita su precipitación y posterior eliminación de agua- Estas bacterias son efectivas en entornos con bajos niveles de oxígeno, lo que las convierte en una opción útil para la remediación de aguas subterráneas (Xu *et al.*, 2024).

En ambientes acuáticos contaminados, como lagos o acuíferos, el uso de tecnologías que implementan determinadas bacterias que pueden ayudar en la reducción de metales pesados, incluido el hierro, y en la eliminación de otros contaminantes. Se ha observado que los cambios en las condiciones fisicoquímicas del agua, como el pH o la concentración de oxígeno disuelto

(OD), afectan la actividad de las bacterias reductoras de hierro y su capacidad para influir en la solubilidad y movilidad de este metal (Techniques, 2024).

El presente trabajo de investigación en la contaminación de aguas subterráneas, con especial énfasis en la aplicación de bacterias para la degradación de metales pesados, específicamente hierro (III). La contaminación de estas fuentes hídricas constituye un problema creciente de carácter ambiental y de salud pública en diversas regiones del mundo (Gani et al., 2024).

Se desarrolló una alternativa a partir de las muestras de aguas subterráneas de Sutamarchán donde se manejó una metodología mixta que permitió analizar e identificar en detalle los mecanismos de degradación de hierro (III) mediante el uso de bacterias, empleando métodos fisicoquímicos y microbiológicos. Esto permitió explorar su potencial y parámetros necesarios para convertirse en una solución sostenible y eficiente en el tratamiento de agua, evaluando las condiciones óptimas para maximizar la eficacia de este proceso biológico (Mejía, 2024).

1.1 Planteamiento del Problema

En los municipios del departamento de Boyacá la actividad económica se basa en la industria, el transporte, la minería y la agricultura, entre otras actividades. Estas actividades producen contaminantes, que en su mayoría son metales pesados, lo que ha permitido que por escorrentía estos metales lleguen a las aguas subterráneas y éstas se vean afectadas por mercurio, cadmio, plomo, hierro entre otros. (Díaz Alarcón *et al.*, 2024), Algunos de estos elementos, aunque esenciales en trazas mínimas para la salud humana y los ecosistemas, pueden ser perjudiciales cuando sus concentraciones exceden los límites máximos permisibles. El consumo de agua con altas concentraciones de estos metales no solo representa un riesgo para la salud pública, manifestándose a través de diversas afecciones médicas, sino que también implica desafíos significativos para las industrias locales y el mantenimiento de infraestructuras de conducción de agua, debido a los procesos de corrosión y acumulación de sedimentos (Bazán Ramírez *et al.*, 2022).

El mapa de riesgo y calidad del agua sirve como una herramienta clave para determinar la inspección, vigilancia y control necesarios para mitigar los riesgos asociados a la calidad del agua, medidas en las cuencas que proveen a los sistemas de suministro de agua potable. Los aspectos físicos, químicos y biológicos del agua provenientes tanto de fuentes superficiales como subterráneas, pueden representar peligros para la salud humana si no se someten a un tratamiento adecuado (Secretaría de Salud de Boyacá, 2011).

Se atribuye que para el municipio de Sutamarchán se han presentado complicaciones principalmente climáticas y de gestión ambiental, además posee una precipitación anual registrada

de solo 804.2 milímetros por la Estación Sutamarchán, este déficit hídrico se ve extremo por la gestión inadecuada de las 17 microcuencas del Río Sutamarchán, ubicadas dentro de la jurisdicción municipal. Las prácticas como la deforestación sin control, métodos agrícolas ineficientes y la presión por maximizar la explotación de los recursos para sobrevivir han llevado a la degradación ambiental. Esta situación ha provocado consecuencias negativas como la disminución de afluentes secundarios, la agudización de la escasez hídrica en la temporada invernal, la erosión y pérdida de suelo, la disminución de la productividad y la reducción de la rentabilidad de la producción agrícola, entre otras (Secretaría de Salud de Boyacá, 2011); (Departamento Nacional de Planeación, 2022)

Por lo anterior, Sutamarchán ha tenido muchos inconvenientes con el agua potable porque la planta de tratamiento de agua no se encuentra en óptimas condiciones (Ministerio de Vivienda, 2022), adicionalmente un estudio del Instituto Nacional de Salud, (2024) evidenció que el riesgo del agua potable que llega a los hogares en el municipio de Sutamarchán es inviable (nivel de riesgo alto) con un valor de 47,3%, los lugares que se inspeccionaron dentro del municipio fue los aposentos de la vereda Pedregal, vereda Santo Eccehomo, Roa y Carrizal. Un reporte del Ministerio De Salud y Protección Social, (2021) encontró microorganismos de la especie *Escherichia Coli* y en *Coliformes Totales*, alterando así sus características microbiológicas, también se identificó valores superiores a los máximos permitidos de la norma como lo son: turbiedad y color aparente, aluminio, cloro libre, hierro y manganeso.

Este municipio no tiene más fuentes de aguas superficiales para tratar debido al agotamiento y contaminación del recurso con temas de la minería y vertimientos de desechos,

industrias cercanas, emisiones del transporte y demás (Instituto Nacional de Salud, 2024), lo que ha llevado a que el municipio de Sutamarchán busque abastecerse del Río Cane y el Río Sáchica (Secretaria de salud de Boyaca, 2011) y estos ríos en la actualidad están bajando demasiado su cuenca hídrica (IDEAM, SNGRD, 2024) además de que también en las zonas rurales es difícil la accesibilidad, lo que puede afectar la economía y la calidad de vida de las personas.

Se tiene en cuenta que el agua tratada en la planta de tratamiento de agua de Sutamarchán proviene mayormente de los ríos, lo cual la Comisión Nacional del Agua, (2015) ha evidenciado que el agua de los cuerpos hídricos superficiales de lagos y ríos a nivel mundial es del 4%, mientras que los almacenados en los subsuelos poseen un 21% del agua total del mundo. Por lo anterior, se ha visto la afectación a nivel mundial a raíz de la contaminación y el cambio climático, esto ha generado épocas de alteración y escasez de los cuerpos de agua superficiales y biodiversidad, por esa razón se apoya la idea de ampliar y trabajar en el tratamiento de aguas subterráneas con fines de obtener en un futuro la accesibilidad al agua potable. (Yu *et al.*, 2023).

En Sutamarchán, la calidad del agua potable es deficiente debido a las limitaciones de la planta de tratamiento actual, y los recursos hídricos superficiales están en vías de agotamiento, lo que afecta negativamente la calidad de vida de sus habitantes (Derly Lorena Molano Rodríguez, 2023). A medida que el acceso a aguas superficiales y los tratamientos convencionales disminuyan, se hace necesario explorar alternativas sostenibles. Por lo anterior, se plantea cómo puede la aplicación de bacterias contribuir a la biorremediación del hierro III en las aguas subterráneas contaminadas del municipio de Sutamarchán, Boyacá, y cuál sería su impacto en la gestión del recurso hídrico del municipio. Este estudio podría aplicarse a futuro en el municipio de Sutamarchán y en su defecto, servir como guía a otros municipios del país debido a que en Colombia hay muy pocos estudios que den solución a los contaminantes de aguas subterráneas.

1.2. Justificación

La dependencia que posee la población local y rural con el consumo de agua es inevitable, por esa razón se necesitan buscar nuevas fuentes abastecedores como alternativa, que den paso al bienestar de las futuras generaciones, además de reconocer que las aguas superficiales son las que se manejan actualmente en la mayoría del país para tratar y consumir como agua potable, lo que con el tiempo ocasionará que este recurso superficial llegue a su límite y lo es lo que ya se está viendo en la actualidad. Es desconcertante no tener agua potable, pero lo es más para aquellas personas del campo que no tienen ningún tipo de recurso hídrico cercano y que dependen de factores como la economía, la infraestructura y la accesibilidad (Derly Lorena Molano Rodríguez, 2023).

Se eligió la biorremediación para tratar los metales pesados como el hierro presente en las aguas subterráneas del municipio de Sutamarchán (Derly Lorena Molano Rodríguez, 2023); pues no solo beneficiaría a la zona local sino también a la rural, además de tener un avance en la ciencia a nivel nacional e internacional para el tratamiento de agua potable en las aguas subterráneas, planteando de esta manera en el futuro poder consumirla y beneficiar a los animales también en su consumo.

Para esta alternativa se investigó que las aguas subterráneas poseen contaminantes relacionados con los metales pesados como el hierro, estos traen consigo efectos nocivos siempre y cuando tengan altas concentraciones, los riesgos para la salud incluyen mal desempeño neurológico, renal y enfermedades como la hemocromatosis (Bazán Ramírez *et al.*, 2022).

Además, la incidencia de estos compuestos no solo plantea un desafío para la salud humana, sino también para la viabilidad operativa de las industrias locales, ya que, al no tener contaminantes pesados en el agua, la durabilidad y ciclo de vida de las infraestructuras se verán más conservadas. (Bazán Ramírez *et al.*, 2022).

La importancia de conocer y determinar el potencial del mecanismo de absorción del hierro por parte de los microorganismos radica en la posibilidad de desarrollar tecnologías biológicas para la remediación del agua. Este enfoque se basa en el concepto de biorremediación, que utiliza microorganismos para eliminar o neutralizar contaminantes como los metales pesados, el cual representa una estrategia prometedora debido a su eficacia, bajo costo y sostenibilidad ambiental (Hidalgo-Cantabrana *et al.*, 2017).

Esta investigación proporcionará una base científica para influir en las políticas públicas y las estrategias de gestión del agua a nivel nacional, promoviendo así un marco regulador que proteja a la población y el medio ambiente. Además, establecerá un precedente importante para futuras investigaciones y desarrollos tecnológicos enfocados en la purificación del agua y la preservación de los recursos naturales (Rodolfo & Almanza, 2024).

2. Objetivos de la Investigación

2.1. Objetivo General

Determinar la capacidad de remoción de hierro en aguas subterráneas del municipio de Sutamarchán, Boyacá.

2.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de los pozos seleccionados.
- Evaluar la capacidad de degradación del hierro por parte de las bacterias en un medio controlado.
- Establecer las condiciones óptimas de remoción de hierro en pozos de aguas subterráneas.

3. Estado del Arte

3.1. La Importancia del Manejo de las Aguas Subterráneas y las Consecuencias del Hierro en la Vida.

Las aguas subterráneas cubren alrededor del 25% de todas las reservas de agua dulce del mundo, además estas proveen directa e indirectamente el 50% del agua potable en la población mundial (UNESCO, 2022), sin embargo, estas aguas poseen diversos contaminantes como los pesticidas, disolventes, hidrocarburos, nitratos, por otra parte, los más comunes son los metales pesados como el hierro, plomo, el arsénico y el mercurio, esta contaminación puede provenir de la agricultura, las industrias y la eliminación de desechos (Mir & Rather, 2024).

Los metales pesados son elementos con características metálicas que usualmente presentan tanto la densidad y el peso atómico elevado, entre los más comunes están el hierro (Fe), Plomo (Pb), Zinc (Zn), Mercurio (Hg), Cobre (Cu), Cadmio (Cd) y Níquel (Ni). La toxicidad de estos elementos depende de su estado de oxidación (Fuentes-Gandara *et al.*, 2021).

La contaminación por metales pesados en cuerpos de agua fuentes hídricas y suelos afecta también a las aguas subterráneas, donde estos contaminantes pueden desplazarse o transformarse en presencia de bacterias, la viscosidad del agua y la estructura del suelo son factores que deben tenerse en cuenta para dar una solución ambiental más conveniente” (Safari *et al.*, 2023). Por otro lado, entre los metales pesados el hierro en aguas superficiales y subterráneas se encuentra en diversas formas, solubles o minerales (sulfuros, carbonatos, silicatos u óxidos) y su reactividad depende si su naturaleza es orgánica o inorgánica (Rivas Johandra, 2021).

Se investigaron los efectos secundarios que puede ocasionar el hierro en agua potable sobre la salud humana y se encontró que la presencia elevada puede contribuir a la pérdida de memoria, fatiga extrema e infecciones si está presente en grandes cantidades (Hang Yang *et al.*, 2024), además de generar dolor de estómago, náuseas, diarrea, problemas pulmonares o respiratorios, disfunción renal, cálculos renales, cáncer, (Ayejoto & Egbueri, 2023); Amatriain, en el (2000) reportó afectaciones en el funcionamiento de los órganos como el hígado, páncreas y corazón, además de propiciar la deficiencia en la aceptación nutricional de otros minerales y abortos. Cuando el hierro excede los límites permisibles de 0,3 mg/l o ppm el agua presenta un sabor metálico, olor desagradable, además de manchar la ropa y lavaderos de un color naranja o marrón (Truque, 2003).

3.2. Normativas y Artículos en Colombia que den Solución a los Contaminantes de Metales Pesados Presentes en las Aguas Subterráneas como el Hierro.

La normatividad vigente para el tratamiento del agua potable en Colombia se maneja por la Resolución 2115 del 2007, exponiendo los límites máximos permisibles en diversos contaminantes como el hierro (0,3mg/L), cadmio (0,003mg/L), cobre (1,0mg/L), plomo (0,01mg/L), cromo (0,05mg/L) y otros (Ministerio de la Protección Social, Ministerio de Ambiente, 2007), por lo anterior, si no se cumplen con estos límites máximos permisibles pueden tener sanciones legales en las empresas de suministro de agua potable y riesgos en la salud pública.

3.2.1. Remoción de Hierro en Aguas Subterráneas

Actualmente, procesos como la biorremediación, son de gran interés para la Ingeniería Ambiental, siendo un proceso natural o inducido que utiliza organismos vivos, como bacterias, hongos, plantas o enzimas, para eliminar, degradar o neutralizar contaminantes en el medio ambiente, como suelos, aguas (Jain *et al.*, 2023). El uso de bacterias y hongos en estos procesos puede provocar cambios morfológicos, transporte activo y biotransformación, además de eso, la fitorremediación que emerge como una técnica clave para la limpieza de suelos, aguas y aire contaminados, resaltando subprocesos como la Fito-extracción y la Fito-degradación (Tufail *et al.*, 2022).

En Colombia Amaya, en el (2010) propuso en Turbo Antioquia estrategias de remediación para optimizar el abastecimiento y minimizar la contaminación de metales pesados en aguas superficiales y subterráneas. Entre los metales encontrados en su estudio fueron: hierro, cromo, mercurio y plomo, se identificó que la presencia de estos contaminantes asociados a las actividades industriales, agricultura y minería. Propuso 4 estrategias de tratamiento para el hierro: el primer método se enfocó en la degradación de metales por medio del uso de microorganismos presentes en el agua, el segundo es la filtración que se enfoca en la eliminación física de partículas de hierro, el tercer método es la oxidación química que busca convertirlo el hierro soluble en una forma insoluble para finalmente eliminarlo con sedimentación o filtrado, por último el ajuste de pH puede ayudar a precipitar el hierro y mejorar su remoción.

Oyuela y colaboradores., (2017), identificaron la presencia de metales pesados, en humedales y algunos de estos están conectados a aguas subterráneas o acuíferos. En Bogotá para el año 2017, se halló que los humedales estaban contaminados debido a un sistema de alcantarillado deficiente, aunado a actividades de la industria y la construcción. Se buscó minimizar la contaminación de los suelos de los humedales por medio de una “Fito-corrección empleando plantas tolerantes que absorben los contaminantes y *biochar* derivado de la pirólisis que retiene metales pesados y previene su lixiviación (Oyuela Leguizamo et al., 2017).

3.3. Normativas y Metodologías Innovadoras a Nivel Internacional para Degradar el Hierro con Bacterias.

La normatividad vigente para el tratamiento del agua potable en Estados Unidos por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) se maneja igual que la de Colombia por las guías y estándares de la OMS, al igual que Canadá, México y Ecuador, por lo tanto, los límites máximos permisibles en el contaminante del hierro son de 0,3mg/L (Truque, 2003). Así mismo, el valor 0,3mg/l también aplica para el continente asiático en Japón e India, mientras que en España, Francia, Alemania, Italia y Reino Unido es el límite máximo permisible 0,2mg/l (Rivas., Johandra Raquel Guillen, Alex Raziel Jaramillo Cedeño, 2021).

Estudios realizados por Pan y colaboradores (2023), indican que la contaminación de aguas subterráneas en China proviene de actividades agrícolas en un (31,12 %), seguidas de las fuentes naturales (26,33 %), actividades industriales (22,47 %) y la deposición atmosférica (20,09 %). Algunas fuentes agrícolas, permiten la presencia de deposición atmosférica y el aumento de Cr y

el As. Estos se identificaron como los factores de control prioritarios para la contaminación de las aguas subterráneas, las cuales generan un alto riesgos cancerígenos en poblaciones rurales y aunque en este estudio no se enfoque directamente con esos 2 contaminantes específicos, la presencia del hierro y su concentración en el ambiente si se ve influenciada por los mismos tipos de actividades que en China.

En el campo de la biorremediación y la búsqueda en la resolución de problemas se encontró una bacteria que ha sido útil para la eliminación del hierro llamada *Bacillus sp*, lo cual los autores Sivakami y colaboradores., (2012) demostraron el potencial de la solubilización del hierro férrico en un medio sintético mineral, analizando la resistencia del hierro y su efectividad en la reducción.

Uno de los estudios más novedosos realizado en China en por Wu y colaboradores., (2017), comprobaron que por medio de la sinergia entre una bacteria reductora de sulfato (BRS), como *Bacillus cereus*, y *Camellia oleifera* Cake (COC), han sido removido hasta el 97% de metales pesados en aguas contaminadas.

Otro método aplicado en China de biorremediación es la bio-aumentación que consiste en seleccionar bacterias, en este caso el artículo encontró 3 géneros de bacterias degradadoras de metales pesados como las *Pseudomonas*, *Alcaligenes* y *Bacillus*, estas se aislaron y se inyectaron en múltiples ubicaciones del acuífero, efectivamente si hubo una degradación de los contaminantes entre ellos está el hierro, arsénico, cadmio, cromo, cobre plomo y mercurio. Los autores decidieron complementar la limpieza con el método de barreras reactivas permeables (BRP), el cual es un filtro que absorbe, disminuye o elimina el porcentaje de estos contaminantes, las propiedades que

pueden variar y aun así aplicar con este método el “hierro cero valent” el cual se utiliza por su capacidad de reducir metales pesados y compuestos orgánicos (Yuan *et al.*, 2024).

El uso de bacterias pertenecientes al género *Pseudomona*, se han reportado como microorganismos eficientes en la degradación de diferentes metales, algunos estudios indican que cepas de *Pseudomonas* y *P. alcaligenes* YLS18, presentan la capacidad de producción de alginato en diferentes condiciones ambientales. Presentando un mecanismo de adsorción de Pb^{2+} y Cd^{2+} por perlas de hidrogel de alginato que implican la captación física de iones, interacciones electrostáticas, formación de complejos, intercambio de cationes y precipitación, esto en un pH ligeramente ácido y a una temperatura de 37°C, este hidrogel proviene del género de bacteria *Pseudomonas* por la cual ciertas cepas aisladas son capaces de sintetizar el alginato bajo las condiciones anteriormente descritas (Zhang y *et al.*, 2022).

La biorremediación mejorada térmicamente (BMT) optimiza la degradación de contaminantes como el hierro en suelos y aguas subterráneas, sus efectos térmicos mejoran las características físicas, químicas y biológicas del suelo y los cambios correspondientes en la biodisponibilidad de los contaminantes, lo cual permite las actividades metabólicas microbianas. Concluyendo que el aumento de la temperatura dentro de un rango adecuado puede proliferar el enriquecimiento de enzimas, la producción de bacterias u hongos y bio-surfactantes y mejorar aún más los procesos de biorremediación. (Wang *et al.*, 2022).

4. Metodología

Esta investigación mixta combinó elementos cualitativos y cuantitativos en un solo estudio que consistió en recopilar, analizar y combinar datos para abordar preguntas y/o actividades de manera completa y enriquecedora; Además de ser flexible, se utilizó en diversas disciplinas y alcanzó una profunda comprensión de temas estadísticos, contextualización, autenticidad y confiabilidad de la investigación (Johnstone, 2004).

4.1. Primera Fase del Proyecto

Teniendo en cuenta el uso de los suelos aledaños y el uso final de las aguas de los pozos, se eligieron tres puntos de muestreo ubicados en la zona rural del municipio de Sutamarchán (Tabla 1. Figura 1).

La toma de las muestras se realizó teniendo en cuenta el protocolo del IDEAM (Área Metropolitana del Valle de Aburrá, 2019).

Se tomaron 3 frascos previamente esterilizados a los cuales se les adicionó ácido nítrico con el fin de preservar las muestras. Con ayuda de la motobomba y para garantizar que la muestra provenga del pozo, se realizó un purgado del mismo, donde se extrayendo tres volúmenes de agua.

Una vez completado el purgado, se lleva a cabo la recolección de la muestra, tomando 1000 mL de agua, evitando la presencia de burbujas de aire. Posteriormente, se etiquetaron las muestras teniendo en cuenta la hora de recolección y las coordenadas del sitio. Todos los datos relevantes se registran en fichas de campo.

Las muestras se preservaron adecuadamente mediante refrigeración a una temperatura de $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y fueron trasladadas al Laboratorio de Procesos Ambientales de la Universidad Santo

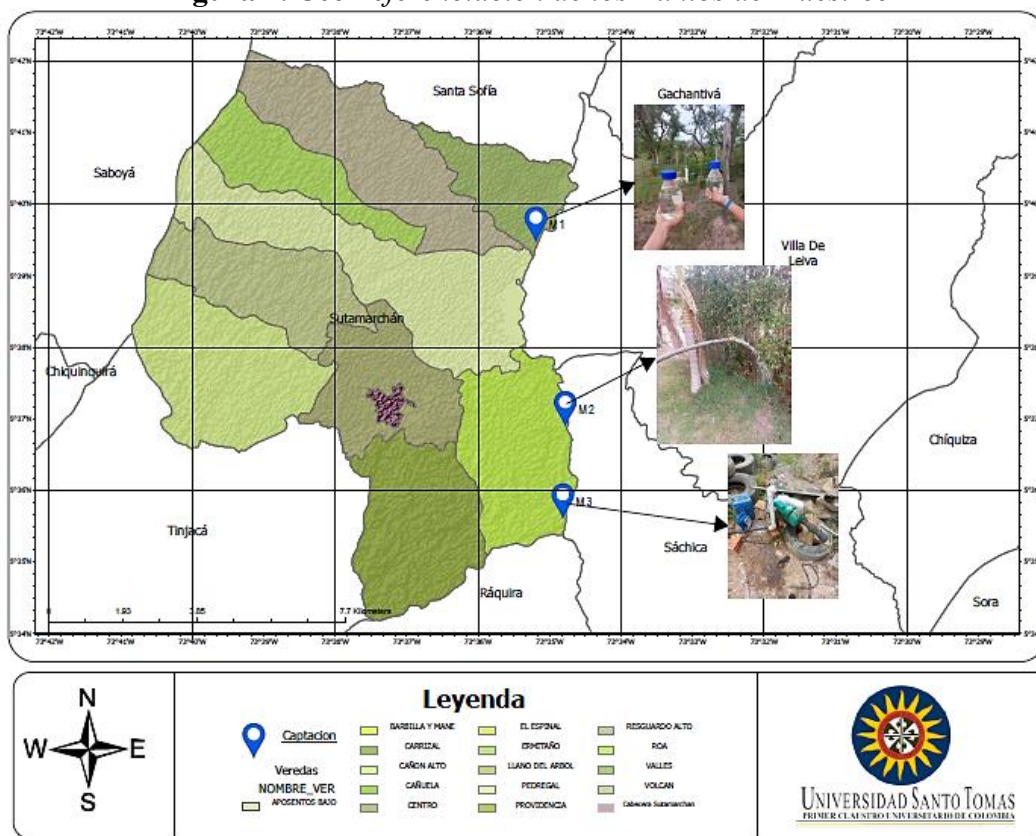
Tomás, Sede Tunja, para su respectivo análisis. (**Anexo 1, 2 y 3**). La georreferenciación y las condiciones de cada punto de muestreo se describen a continuación (**Tabla 1**):

Tabla 1. *Georreferenciación y Descripción de los Puntos de Muestreo.*

Punto de Muestreo	Georreferenciación	Ubicación	Profundidad del Pozo (metros)
M1	X -73.5865W Y 5.6577N	Noreste.	37
M2	X -73.5796W Y 5.6148N	Sureste.	39
M3	X -73.5802W Y 5.5933N	Sureste.	45

Fuente: Los autores.

Figura 1. *Georreferenciación de los Puntos de Muestreo*



Fuente: Los autores.

4.1.1. Caracterización Físicoquímica

Se realizó el análisis físico químico de cada una de las muestras teniendo en cuenta la normativa para la calidad de aguas (Ministerio de la Protección Social, Ministerio de Ambiente,

2007). Este se realizó haciendo uso del Espectrómetro de Absorción Atómica novvAA 800D (**Anexo 4**) y los procesos analíticos del Standard Methods (Ceballos-Escalera *et al.*, 2021), para cada uno de los analitos los cuales se especifican en la tabla 2.

Tabla 2. Marco Metodológico Usado para las Pruebas Fisicoquímicas.

PARAMETRO	METODO	TECNICA ANALITICA
Plomo, Cobre, Cromo, Cadmio.	Standard Methods 3030 F, 3111B. Ed 24th-2023.	Espectrofotométrico (FLAAS)/ C2H2-Aire.
Hierro.	Standard Methods 3030 F, 3111B. Ed 24th-2023	Espectrofotométrico (FLAAS)

Fuente: Los autores.

La metodología aplicada 3111 B. Direct Air-Acetylene Flame Method se basa en la espectrofotometría de absorción atómica para determinar metales en soluciones.

Para asegurar que los metales estuvieran en solución, las muestras se disolvieron utilizando digestión ácida, posteriormente, se prepararon estándares de calibración con concentraciones conocidas de los metales a analizar, y se introdujeron junto con las muestras en la llama mediante un nebulizador. Los átomos del metal absorbieron la luz emitida por una lámpara de cátodo hueco, y se midió la cantidad de luz absorbida. Finalmente, se calculó la concentración de los metales en las muestras comparando los resultados con la curva de calibración generada y la resolución 2115 del 2007 (E.W. Rice, R.B. Baird, A.D. Eaton, 2017).

4.1.2. Caracterización Microbiológica

Se determinaron las características microbiológicas de las muestras teniendo en cuenta la resolución 2115 del 2007 del Ministerio de Protección Social. Para identificar la presencia de

coliformes totales y *E. coli*, se hizo uso de la técnica de Sustrato Definido, mediante la prueba de *Colilert*.

Se tomaron 100 mL de muestra y se adicionaron a un frasco Schott al cual se le adicionó un vial de sustrato colilert y se agitó vigorosamente. Posteriormente, se tomó un sobre Quanti-tray 2000, se separó un poco el recubrimiento halando la pestaña de la parte superior y se vació en el sobre todo el contenido del frasco que contiene el sustrato y la muestra, se selló y se llevó a incubación por 24 horas a $34 \pm 1^\circ\text{C}$ (G. Sivakami *et al.*, 2012).

Finalizado el tiempo de incubación se examinaron las celdas de los sobres para determinar el cambio de color. Las celdas que presentaron color amarillo determinaron la presencia Coliformes Totales.

Para determinar *E. coli*, se hizo uso de una lampara de luz UV de longitud de onda larga (365 nm), las celdas fluorescentes indica la presencia de este microorganismo.

Por medio de la tabla de NMP Quanti- tray 2000 se determinó el NMP de Coliformes Totales y *E. coli* en 100 mL de muestra.

4.1.3. Microbiota Presente en Aguas Subterráneas

Para determinar los microorganismos presentes en cada uno de los pozos, se tomaron 10 mL de muestra y se adicionaron a un frasco Schott que contenía 90 mL de solución salina al 8%, posteriormente se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-4} se tomaron 0.1 mL de todas diluciones 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} y se sembraron por triplicado mediante el método de siembra masiva en superficie en placas que contenían Agar Nutritivo (AN) (Merck).

Finalizado el tiempo de incubación se determinó la cantidad de unidades formadoras de colonia (UFC) mediante el conteo en placas y se determinó la población final haciendo uso de la fórmula:

$$N = \frac{\sum c}{V \times 1,1 \times d}$$

Se eligieron para el conteo aquellas placas que tenían entre 30 a 300 UFC.

Se determinó la micro morfología de los aislados mediante tinción de Gram y observación microscópica, haciendo uso de un microscopio compuesto marca Olympus Nx300 (**Anexo 5**, **Anexo 6**) (Esaú López-Jácome et al., 2014). Los aislados obtenidos en esta fase se sembraron en Caldo Nutritivo (Merck) y se incubaron por 24 horas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ y se purificaron para la siguiente fase.

4.2. Segunda Fase del Proyecto

4.2.1. Preparación de Pre-Inóculo

Para determinar la concentración del inóculo inicial, los aislados sembrados en Caldo Nutritivo se centrifugaron a 10.000 rpm por 20 minutos.

Para determinar la población bacteriana, se hizo uso del espectrofotómetro a una longitud de onda de 540nm. Para esto, se tomaron tubos tapa rosca que contenían 10 ml de solución salina al 8% (p/v) y se llevaron a una concentración de 9×10^8 UFC/mL equivalente a una absorbancia de 0.846 (G. Sivakami et al., 2012).

4.2.2. Adaptación de Aislados Bacterianos a Alta Concentración de Fe.

Para determinar la capacidad de degradación de hierro de los aislados, se preparó Agar Nutritivo (Merck) suplementado con 300mg de óxido férrico dializado. Las placas que contenían el medio de cultivo se sembraron con 100µl del inóculo inicial a una concentración de 9×10^8 UFC/mL. Finalizado el procedimiento las placas se llevaron a incubación a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas. La presencia de halo en la superficie del medio de cultivo determina la capacidad de degradación del Fe^{3+} por el aislado (G. Sivakami *et al.*, 2012).

4.2.3. Bio-solubilización de Fe a Partir de un Medio Sintético Modificado con Diversas Fuentes de Carbono

Se identificaron tres aislados con capacidad degradadora de hierro, los cuales se establecieron en el apartado 4.2.1 y 4.2.2.

Los tres aislados fueron sembradas en una Solución de Sales Minerales (SSM), suplementado con 1gr de óxido férrico amorfo, se ensayaron dos fuentes de carbono: glucosa y celulosa a tres concentraciones: 0,5, 1,0 y 1,5% m/v, se ajustó el pH a 7 y sembró 1% de inóculo bacteriano a una concentración 9×10^8 UFC/mL (**Anexo 7, Anexo 8**). Una vez finalizado el procedimiento, los cultivos fueron llevados a incubación por 6 días (144 horas) a $35 \pm 1^\circ\text{C}$.

Durante el periodo de incubación, se determinó el crecimiento bacteriano y la degradación de hierro cada 48 horas o cada 2 días. Se tomaron alícuotas de 10 mL del cultivo y se midió la absorbancia a 540nm de cada una de las muestras de los cultivos, además, se determinó la población bacteriana mediante cultivo en placa.

Para determinar la presencia de Fe^{2+} en las muestras de los cultivos, se realizó mediante espectrofotometría Atómica novvAA 800D, siguiendo los lineamientos del Standard Methods 3030 F, 3111B. Ed 24th-2023 (**Anexo 4**) (G. Sivakami et al., 2012).

El tratamiento control se mantuvo en SSM con la misma cantidad de óxido férrico, pero sin fuente de carbono e inóculo bacteriano. Todos los cultivos y el control se realizaron por duplicado. (G. Sivakami et al., 2012).

4.2.4. Efecto del pH Sobre la Biosolubilización de Fe (III) en SSM que Contiene 1,5% de Glucosa y Óxido Férrico

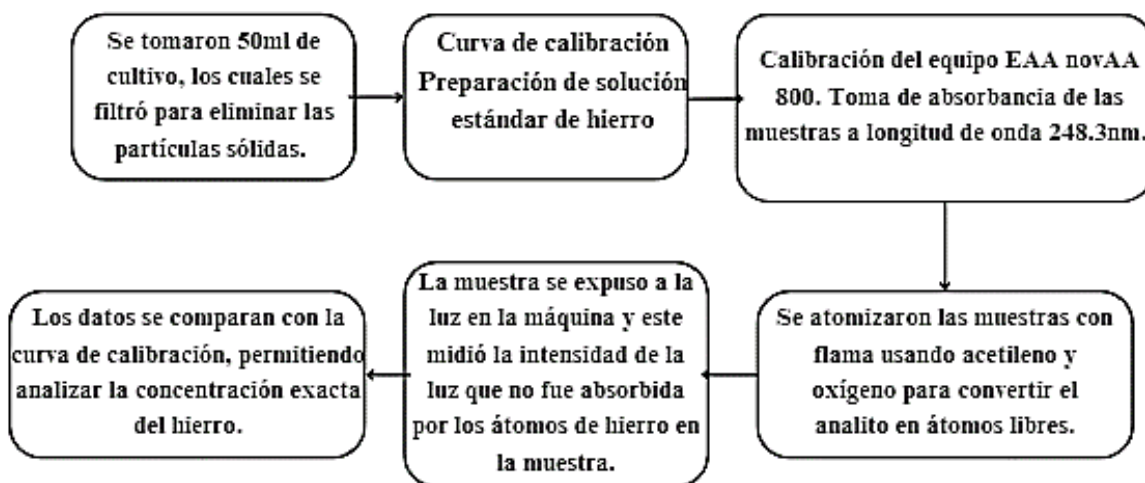
Para determinar como el pH influyen en la capacidad que tienen los aislados en la solubilización de Fe^{3+} , se ajustó el Solución de Sales Minerales (SSM) a diferentes pH y se tomó como fuente de carbono el de mejor rendimiento en el apartado 4.2.3.

Debido a las necesidades nutricionales de los aislados, se mantuvo el uso de SSM suplementado con 1gr de oxido férrico amorfo, 1,5% de glucosa (mejor crecimiento bacteriano apartado 4.2.3) y 1% del inóculo bacteriano a una concentración de 9×10^8 UFC/mL, se ajustó a pH 5,6,7,8 y 9. Los cultivos junto con el testigo se realizaron por duplicado.

Durante el periodo de incubación, se determinó el crecimiento bacteriano y la degradación de hierro cada 48 horas. Se tomaron alícuotas de 10 mL del cultivo y se midió la absorbancia a 540nm de cada una de las muestras de los cultivos, además, se determinó la población bacteriana mediante cultivo en placa (**Anexo 9**).

Para el análisis de la presencia de Fe^{2+} se empleó el, Standard Methods 3030 F, 3111B. Ed 24th-2023, el cual consiste en tomar 50 mL de la muestra problema y diluyéndola en una proporción de 1:2, con agua tipo 1 (milli q); posteriormente se le añadieron 5 mL de ácido nítrico concentrado al 65% y se llevó a digestión lenta hasta evaporar 1/5 del volumen (de 15 a 20mL), terminada la digestión se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y se aforó hasta un volumen de 100mL, una vez digestada la muestra se analizó haciendo uso del espectrofotómetro de absorbanza atómica novAA 800D, del laboratorio de análisis de aguas de la Universidad Santo Tomás Seccional Tunja, (Anexo 4) (G. Sivakami *et al.*, 2012).

Figura 2. Tratamiento de muestra y método estandarizado 3030F.



Fuente: Modificada de (Zamora-Martínez *et al.*, 2019).

Para conocer la concentración de hierro de acuerdo con su absorbancia, y fue necesario construir la curva de calibración a partir de las soluciones estándar previamente preparadas, se tomó como base los valores establecidos por el laboratorio de procesos ambientales. Esta curva relacionó la concentración conocida de las soluciones estándar con la absorbancia de cada una de ellas obtenida en la fase experimental (Ruiz, 2018). La ecuación de curva de calibración es la siguiente:

La ecuación de línea de ajuste será de la forma $A = m \times C + b$ donde:

A es la absorbancia

C es la concentración del hierro

M es la pendiente de la línea (coeficiente de calibración)

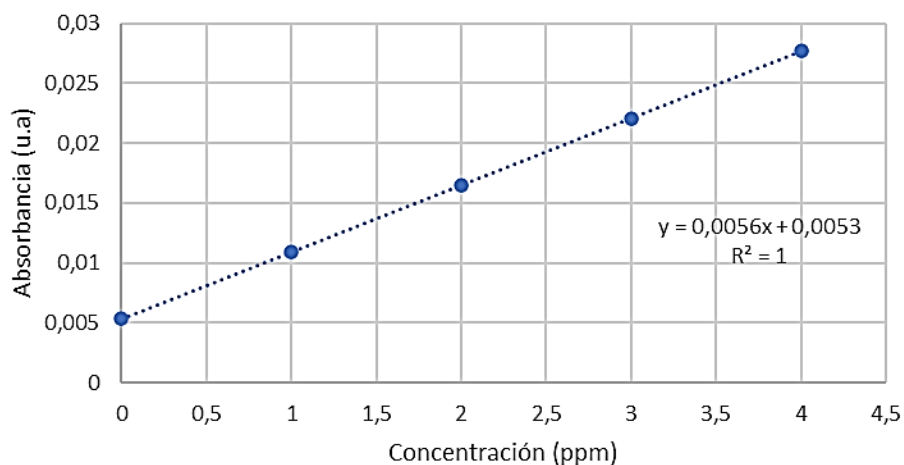
B es el intercepto en el eje Y (debería ser cercano a 0 si no hay absorbancia residual)

Tabla 3. *Los Datos para la Calibración son:*

Metal	Ecuación de la curva de calibración	Coefficiente de regresión	Pendiente	intercepto
Hierro	$Y = 0.0056x + 0.0053$	0.9973	0.018	0.001547

Fuente: Laboratorio de procesos ambientales USTA Tunja

Figura 3. *Curva de Calibración del Hierro*



Fuente: Los autores.

5. Resultados y Análisis de Resultados

5.1. Primera Fase del Proyecto

5.1.1. Caracterización Fisicoquímico

El hierro (Fe) disueltos en las aguas subterráneas proviene de forma natural o por efecto de la acumulación de contaminantes de la industria agrícola, dificultan el uso de este recurso debido al cambio en el sabor, aumento de la turbidez y por presentan un riesgo potencial para la salud (Podgorski et al., 2022).

En los tres pozos muestreados en el municipio de Sutamarchán, la presencia de contaminantes tales como Plomo, Cromo y Cadmio sobrepasan los límites máximos permisibles de la resolución 2115 del 2007. El hierro y cobre presentan concentraciones admisibles según lo establecido por el gobierno nacional. (Ministerio de la Protección Social, Ministerio de Ambiente, 2007) (**Tabla 4**).

Sin embargo, en este estudio se busca disminuir la presencia de hierro, debido a que este contaminante genera efectos en la salud de animales, hombre y está directamente relacionado con problemáticas de salud pública y con la disminución en la capacidad productiva de las plantas

El punto de muestreo M3 presentó una concentración de Plomo superior que las muestras M1 y M2, este incremento se atribuye a la mayor producción de desechos en el Sureste de Sutamarchán, donde se desarrollan cultivos intensivos de tomate y fresa, lo que permite identificar el aumento en la agricultura intensiva en la región, así como el uso de agroquímicos y la contaminación derivada de actividades urbanas, estos factores contribuyen a que los contaminantes lleguen a los pozos subterráneos a través de procesos de escorrentía (Mahecha *et al.*, 2017).

Tabla 4. *Resultados Fisicoquímicos Pozos ubterrúneos.*

Parámetro	Resolución 2115 de 2007 (mg/L)	Incertidumbre	M1 (mg/L)	M2 (mg/L)	M3 (mg/L)
Plomo	0.01	0.0555	4.721	4.702	>5
Cobre	1	0.0365	<0.20	<0.20	<0.20
Cromo	0.05	0.0365	<0.30	<0.30	<0.30
Hierro	0.3	0.0637	<0.20	<0.20	<0.20
Cadmio	0.003	0.0098	<0.03	<0.03	<0.03

Nota: Relación de los resultados del hierro de las 3 muestras con respecto a la normatividad colombiana. Fuente: Los autores.

5.1.2. Calidad Microbiológica de Agua

Los microorganismos indicadores de contaminación como los coliformes totales, *Escherichia coli* (*E. coli*) son frecuentemente empleados como señal de advertencia de una alteración de la calidad del agua ((Ricardo Nahuel Valenzuela Antezana, 2022); Rodríguez et al., 2019; (Piguave-Reyes et al., 2019). Peñaloza Piña & Aspiazu Hinostroza, (2021) señalan que los indicadores más utilizados para medir contaminación de origen fecal han sido los coliformes termo-tolerantes; los *Streptococcus* fecales y *Escherichia coli*.

En este estudio, de los tres pozos muestreados el 100% presentaron valores por encima de los permitido para Coliformes Totales. En cuanto a la presencia de *E. coli*, solo el pozo M3 fue negativo para la presencia de este microorganismo (**Tabla 5, Anexo 5**). Teniendo en cuanto lo establecido por la resolución 2115 del 2007, las aguas de estos pozos no son aptas para consumo humano.

Tabla 5. *Microbiología de las Muestras.*

Características microbiológicas	Resolución 2115 de 2007	M1	M2	M3
<i>Coliformes Totales</i> <i>NMP/100mL</i>	0 microorganismo en 100 cm ³	547,5	>2419,6	315
<i>Escherichia Coli</i>	0 microorganismo en 100 cm ³	98,5	214,3	0

Fuente: Los autores.

Resultados similares fueron encontrados por (Faviel Cortez *et al.*, 2019) y (Silvia, Rodríguez *et al.*, 2024) quienes detectaron *Coliformes Totales*, especialmente *E. coli*, en las muestras de agua provenientes de pozos. Los resultados microbiológicos revelaron que no se puede garantizar la potabilidad del agua en todos los casos al analizar solo las coliformes (**Anexo 5**).

La calidad microbiológica del agua subterránea en el municipio de Sutamarchán es crucial debido a su uso como fuente principal para consumo humano, riego y actividades agrícolas. La contaminación con bacterias como *E. coli* y Coliformes Fecales puede poner en riesgo la salud pública, ocasionar enfermedades gastrointestinales y afectar la seguridad alimentaria (Silvia, Rodríguez *et al.*, 2024). Además, la calidad del agua subterránea impacta el desarrollo sostenible de la región, donde la agricultura es una actividad clave, por lo que es vital mantener controles rigurosos y monitoreos periódicos para prevenir riesgos.

5.1.3 Aislados Bacterianos de Muestras Contaminadas con Hierro.

Al finalizar el tiempo de incubación, las placas presentaron crecimiento significativo en cada una de las diluciones, aunque la muestra M2, en la dilución 10^{-4} no presentó crecimiento. De los tres puntos de muestreo, el pozo 2 presentó un mayor número de UFC/mL, 5.3×10^4 UFC/mL, seguido del pozo 1 con 5.2×10^4 UFC/mL, mientras que en el pozo 3 se observó la menor presencia de microorganismos con 4.1×10^4 UFC/mL.

Tabla 6. *Conteo de Población Bacteriana Presente en Cada una de las Muestras en los 3 Puntos de Muestreo (UFC/mL)*

Muestra/diluciones	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	UFC/mL
M1	33	25	17	5.2*10 ⁴
M2	40	19	-	5.3*10 ⁴
M3	20	26	24	4.1*10 ⁴

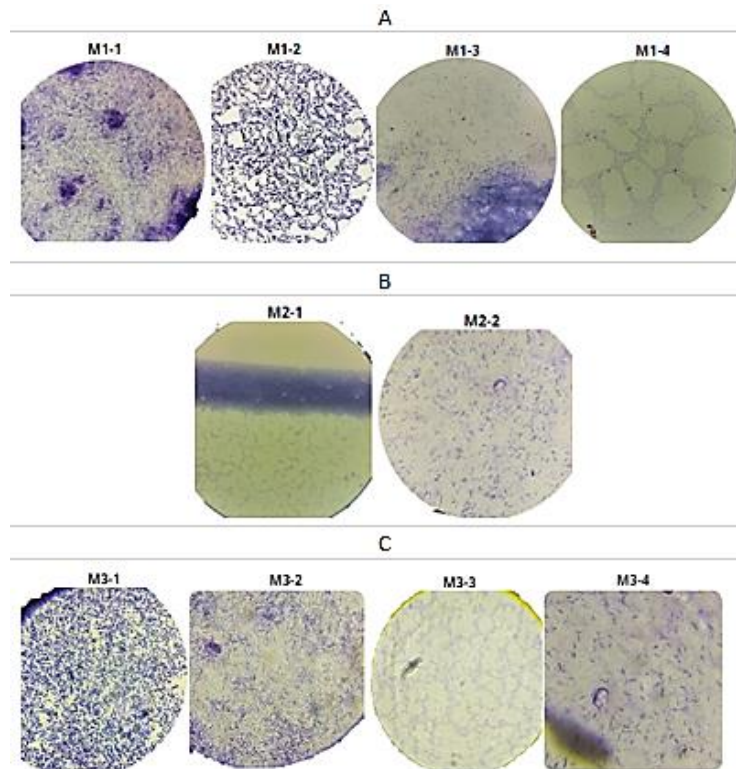
Fuente: Los autores.

En total se obtuvieron alrededor de 11 tipos de colonias morfológicamente diferentes. Los organismos fueron identificados con base en la morfología distintiva haciendo uso de la tinción de Gram y se caracterizaron como bacilos y cocos Gram positivos.

Los aislados descritos morfológicamente como cocos podrían pertenecer a géneros como *Staphylococcus* o *Streptococcus*, bacterias ampliamente distribuidas en entornos naturales y artificiales (**Figura 4**).

Mientras que los aislados que presentaron características morfológicas de bacilos probablemente pertenecen a géneros como *Bacillus* o *Clostridium*, conocidos por su alta resistencia ambiental (**Figura 4**).

Se ha demostrado que estos organismos utilizan Fe (III) como aceptor de electrones en ambientes acuosos (G. Sivakami et al., 2012).

Figura 4. Caracterización Micro-Morfológica de los Aislados.**A.** Muestra M1. **B.** Muestra M2. **C.** Muestra M3.

Fuente: Los autores.

5.2. Segunda Fase del Proyecto

5.2.2. Aislados *Bacterianas Resistentes al Hierro*.

El crecimiento bacteriano en el medio sólido enriquecido con Fe^{3+} permitió observar la formación de halos de degradación, identificando de esta forma la capacidad de las bacterias de transformar Fe^{3+} a Fe^{2+} .

Las muestras M1-1, M1-2, M1-4, M3-1, M3-2, M3-3 y M3-4, no presentaron un crecimiento significativo y ni halo de degradación del hierro. Mientras que los aislados M1-3, M2-

1 y M2-2, presentaron crecimiento bacteriano significativo y halos de degradación destacando su capacidad degradativa de Fe^{3+} (**Figura 5**).



5.2.3. Efecto de las Fuentes de Carbono Sobre el Crecimiento Bacteriano y la Solubilización del Hierro a Partir del Óxido de Fe.

El crecimiento de los organismos y la solubilización del hierro en el medio sintético que contiene óxido de hierro (III) tienen una asociación significativa con las fuentes de carbono. Se estudiaron los efectos de dos fuentes de carbono: celulosa y glucosa a diferentes concentraciones 0.5%, 1.0% y 1.5% (m/v).

A las 48 horas, la población bacteriana muestra un incremento en todas las concentraciones, especialmente en 1% y 1,5% con celulosa. En el medio M1-3, se registraron aproximadamente 4.0×10^6 UFC/mL para la concentración de 0.5%, mientras que las concentraciones de 1% y 1.5% alcanzaron cerca de 6.0×10^6 y 8.0×10^6 UFC/mL, respectivamente. En el medio M2-1, las tendencias de crecimiento en concentraciones de 1% y 1.5% se mantienen similares, con valores aproximados de 5.0×10^6 y 8.0×10^6 UFC/mL. Por otro lado, en el medio M2-2, el crecimiento en 1,5% alcanza un máximo relativo de 5.4×10^6 de UFC/ml. (**Figura 6 – A, Anexo 11**).

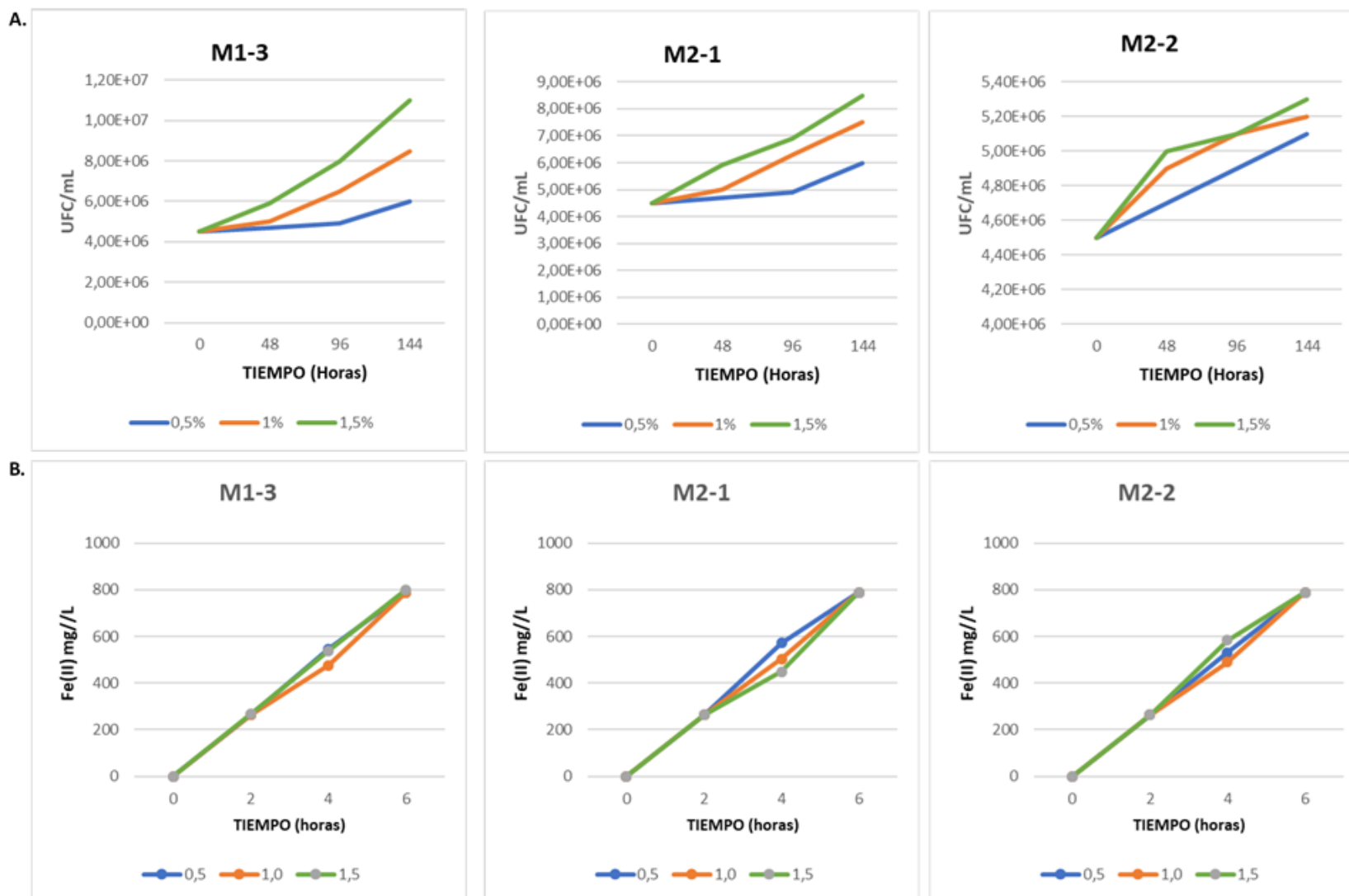
A las 96 horas, los valores de UFC/mL se incrementan significativamente, siendo las concentraciones más altas las que presentan el mayor crecimiento. En el medio M1-3, la concentración de 1.5% de celulosa registró aproximadamente 1.0×10^7 UFC/mL, mientras que en M2-1 y M2-2 los valores alcanzaron 7.0×10^6 y 5.4×10^6 UFC/mL, respectivamente. Esta tendencia indica que, a mayor tiempo de incubación y mayor concentración, se favorece el crecimiento bacteriano, especialmente en los medios M1-3 y M2-1 (**Figura 6 – A, Anexo 11**).

Finalmente, a las 144 horas, se observa el crecimiento máximo en todas las concentraciones. En la concentración de 1.5% se observaron los niveles más altos.

En M1-3, el conteo de UFC/mL en 1.5% llegó a 1.2×10^7 UFC/mL, mientras que M2-1 mostró un crecimiento cercano a 9.0×10^6 y M2-2 alcanzaron valores de 5.4×10^6 UFC/mL en 1,5%. Estos resultados sugieren que el medio M1-3 es el más efectivo para promover el crecimiento bacteriano en condiciones de alta concentración a las 144 horas (**Figura 6 – A, Anexo 11**).

Figura 6. Bio-solubilidad de Fe^{3+} con Celulosa Como Fuente de Carbono.

A. Efecto de celulosa en el crecimiento bacteriano, en un medio suplementado con Fe^{3+} . **B.** Bio-solubilidad de Fe (III) a Fe (II), con celulosa como fuente de carbono.



Fuente: Los autores.

La degradación de Fe (III) y la presencia de Fe (II) fue evaluada en función del tiempo y la concentración de la fuente de carbono en cada medio. A las 48 horas, se determinó la presencia de Fe (II) en todos los cultivos (**Anexo 12**).

De forma general, para todos los aislados cultivados con fuente de carbono celulosa, la degradación de hierro fue similar, se presentó 800 mg/L de Fe (II), lo cual evidencia un rendimiento del 80% de la degradación de Fe (III) en Fe (II). A las 96 horas, en el cultivo del aislado M1-3 y suplementado con 1,5% de celulosa se presentó un rendimiento del 45%, mientras que en M2-1 alcanza valores de rendimiento cercanos al 50%. En M2-2, se observó un rendimiento del 60% de disolubilidad de Fe (III) (**Figura 6 – B, Anexo 12**).

A las 144 horas, los niveles de Fe (II) alcanzan los valores más bajos. En M1-3, la presencia de Fe (II) en la concentración de 1.5% de celulosa se reduce aproximadamente un 30%. En M2-1, el Fe (II) baja a cerca de 40%, mientras que en M2-2, los valores se mantienen alrededor de 55%. Estos resultados sugieren que las bacterias hacen uso de la fuente de carbono primaria y posteriormente utilizan el Fe para sus procesos metabólicos esenciales (**Figura 6 – B, Anexo 12**).

En las soluciones suplementadas con glucosa a diferentes concentraciones, se observó un mayor crecimiento bacteriano en comparación a lo observado en las soluciones con celulosa.

Para el aislado M1-3 cultivado a una concentración de 0.5% de glucosa a las 48 horas de incubación, el crecimiento fue de aproximadamente 5.0×10^6 UFC/mL, mientras que en las concentraciones 1% y 1.5%, el crecimiento fue mayor, alcanzando valores cercanos a 1.0×10^7 y 1.5×10^7 UFC/mL, respectivamente. En los medios M2-1 y M2-2, en el mismo tiempo de incubación, se observó un comportamiento similar (**Figura 7 – A, Anexo 12**).

Para los aislados M2-1 y M2-2, sembrados en una concentración de 1.5% de glucosa, promovió el crecimiento, superando los $3,0 \times 10^7$ UFC/mL y los $4,5 \times 10^7$ UFC/mL, respectivamente **(Figura 7 – A, Anexo 12)**.

A las 96 horas, el crecimiento continuó incrementándose en todos los cultivos y en todas las concentraciones de glucosa, aunque se acentuó en la mayor concentración, 1.5% **(Figura 7 – A, Anexo 12)**.

Para el aislado M1-3, en la concentración 0.5% de glucosa, se registraron valores cercanos a $2,0 \times 10^7$ UFC/mL, para las concentraciones 1% y 1.5% se observó un crecimiento a las 96 horas de $3,5 \times 10^7$ y $4,0 \times 10^7$ UFC/mL, respectivamente. En el aislado M2-2, la concentración de 1.5% evidenció mayor crecimiento, llegando a aproximadamente $7,0 \times 10^7$ UFC/mL, lo que sugiere una mayor eficiencia para promover el crecimiento bacteriano en condiciones de alta concentración de glucosa. **(Figura 7 – A, Anexo 12)**.

Finalmente, a las 144 horas, se alcanzaron los valores más altos de UFC/mL en todas las concentraciones. En M1-3, el crecimiento máximo se observará en la concentración de 1.5%, con valores alrededor de $5,0 \times 10^7$ UFC/mL, mientras que en M2-1 los valores se mantuvieron en torno a $3,5 \times 10^7$ UFC/mL. Para M2-2, en la concentración de 1.5%, presentó mayor crecimiento respecto a los otros aislados, alcanzando aproximadamente $1,0 \times 10^8$ UFC/mL. Estos resultados sugieren que la concentración de 1.5%(m/v) de glucosa es la más adecuado para promover el crecimiento bacteriano en todos los aislados **(Figura 7 – A, Anexo 12)**.

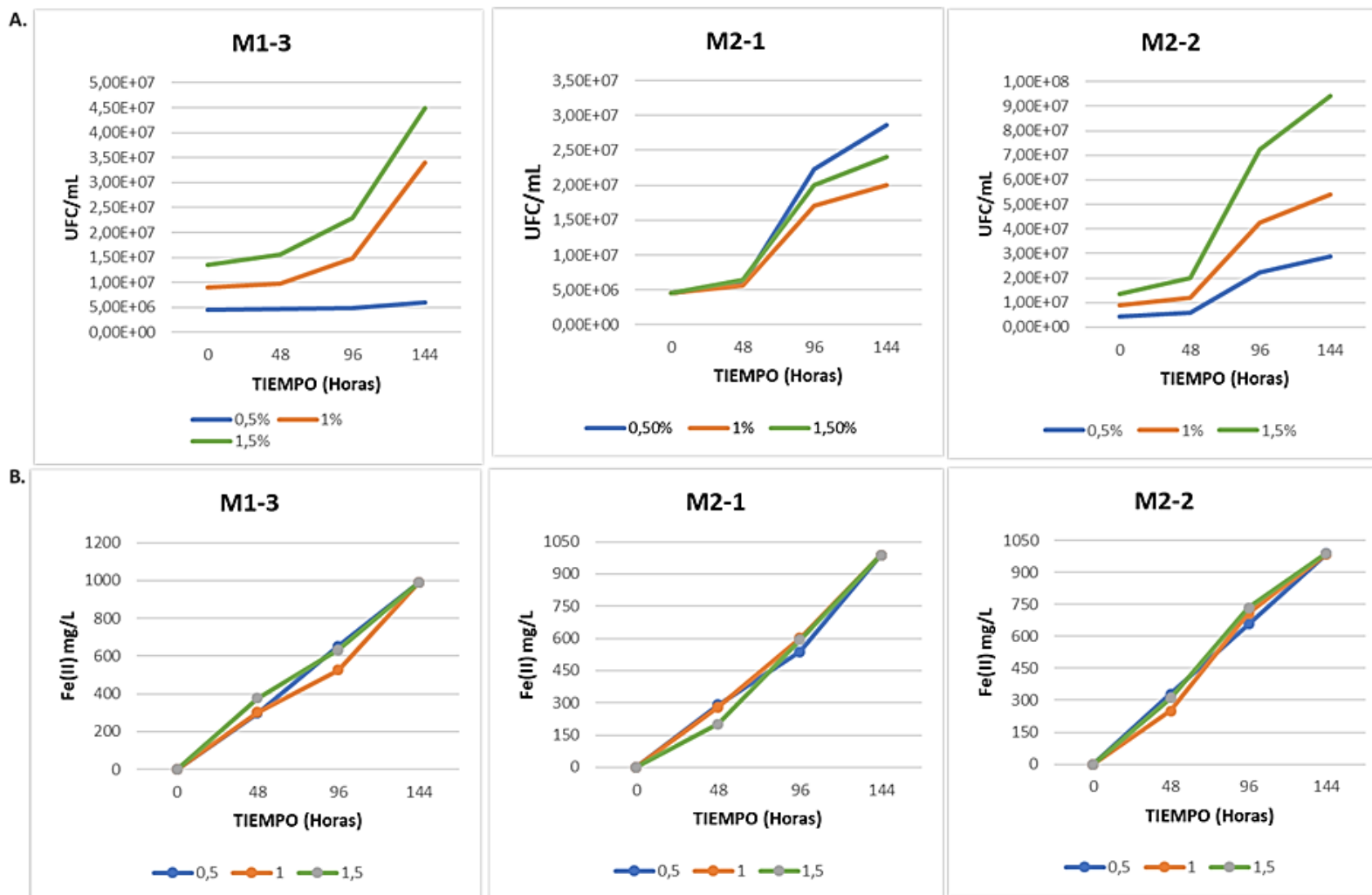
En este estudio, la glucosa favorece el crecimiento bacteriano más rápido, mientras que la celulosa, al ser un polímero más complejo, resulta en un crecimiento más lento, esto coincide con los estudios realizados por (Li *et al.*, 2022), el cual tuvo como objetivos aumentar la producción

de Fe^{2+} mediante la optimización de las condiciones de crecimiento bacteriano, donde hicieron uso de la glucosa y el citrato férrico, siendo estas las fuentes preferidas de carbono y hierro para la para la reducción de hierro.

Figura 7. Biosolubilidad de Fe^{3+} en Diferentes Fuentes de Carbono.

A. Efecto de glucosa en el crecimiento bacteriano, en un medio suplementado con Fe^{3+} .

B. Efecto de Glucosa en la biosolubilidad de hierro.



Fuente: Los autores.

La degradación de Fe(II) fue monitoreada en paralelo al crecimiento bacteriano, evaluando la concentración de Fe (II) en 1000 mg/L en los mismos medios y condiciones. A las 48 horas, se observará una disminución inicial de Fe (II) en todas las concentraciones.

En M1-3, a las 48 horas de cultivos con 0.5% de glucosa, se obtuvo una concentración de Fe (II) de 298,4 mg/L, esto indica un rendimiento del 30% de biotransformación, al comparar este resultado con los obtenidos en los aislados M2-1 y M2-2, a la misma concentración de glucosa, estos obtuvieron un rendimiento de 25 y 28%, respectivamente (**Figura 7 – B, Anexo 10, Anexo 12**).

A las 96 horas, la degradación de Fe (II) se hizo más evidente, especialmente en las concentraciones más altas de glucosa. Para las concentraciones de 1% y 1.5% en todos los aislados se presentó rendimiento en un rango entre el 52 y el 73%, esto equivale entre 525.2 y 735 mg/l Fe (II) presente en los cultivos (**Figura 7 – B, Anexo 10, Anexo 12**).

Finalizando el tiempo de incubación de los cultivos, se observó que en el aislado M2-2 en la concentración de 1.5% de glucosa, se obtuvo un rendimiento de transformación del 99.1% equivalente a 991.79 mg/L, comparado con la concentración de 0.5% de glucosa donde se evidencio un rendimiento del 65% de biotransformación (**Figura 7 – B, Anexo 10, Anexo 12**).

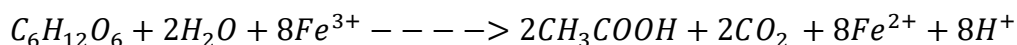
La razón por la que la glucosa mostró la tasa de solubilización más alta puede explicarse por el hecho de que nuestros cultivos bacterianos son heterótrofos y son capaces de utilizar glucosa como fuente de carbono. Nuestro resultado indica claramente que los aislados son capaces de obtener energía de la glucosa y Fe (III) como donante de electrones.

En la reducción de Fe (III) se realiza de acuerdo con la siguiente reacción indicada por (Coates *et al.*, 1998).

Glucosa

Bacteria

Ácido acético



Durante el proceso también se analizaron los testigos descritos en la muestra cómo las bacterias utilizan glucosa como fuente de carbono para reducir hierro férrico (Fe^{3+}) a hierro ferroso (Fe^{2+}). Durante la degradación, la glucosa se oxida, generando ácido acético (CH_3COOH), dióxido de carbono (CO_2) y protones (H^+), lo que acidifica el medio. Este mecanismo implica que el hierro actúa como aceptor de electrones en el metabolismo bacteriano, liberando además hidrógeno y promoviendo la reducción de hierro, lo que demuestra la capacidad de las bacterias para transformar compuestos metálicos en un entorno con glucosa.

5.2.4. Crecimiento Bacteriano y Solubilización del Hierro en el Medio Sintético a Distintos pH.

El crecimiento microbiano fue evaluado en función del pH lo largo de tres tiempos de muestreo: 48, 96 y 144 horas. En general, los datos muestran que el crecimiento está influenciado por el pH del medio.

A las 48 horas, se observa un incremento inicial en las UFC en todos los medios diferentes pH. En aislado M1-3, sembrado en solución con pH 8 alcanza un valor cercano a 5.0×10^6 UFC/mL, mientras que los pH más bajos, como el pH 5 y 6, presentan valores de alrededor de 4.6×10^6 UFC/mL. En el medio M2-1, el crecimiento es mayor en pH 7, con valores de aproximadamente 5.2×10^6 UFC/mL. El medio M2-2 muestra una tendencia similar, donde el pH 7 presenta el mayor

crecimiento bacteriano, alcanzando cerca de 5.6×10^6 concentración de UFC/ml (**Figura 8 – A, Anexo 13, Anexo 14, Anexo 15**).

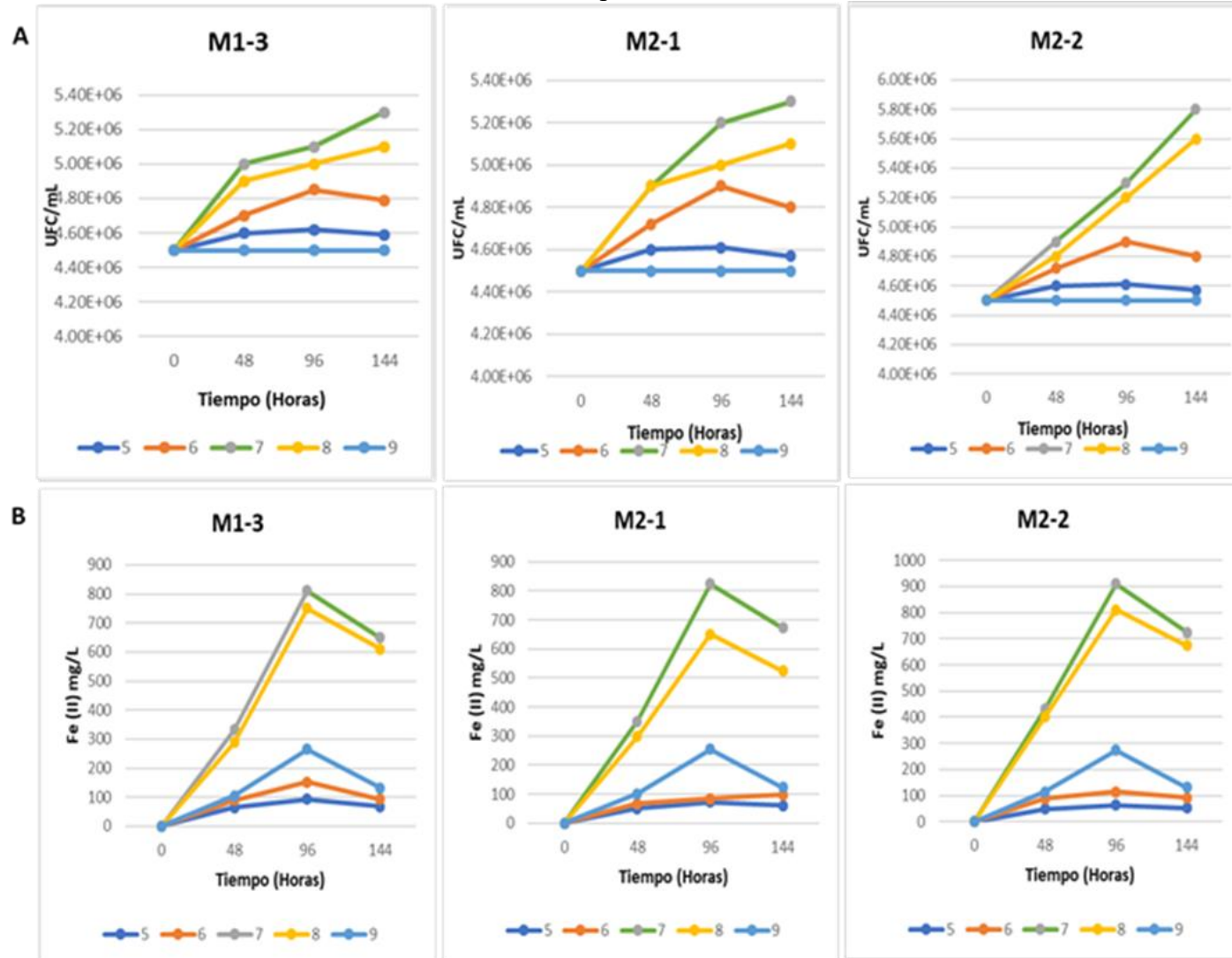
A las 96 horas, el crecimiento sigue aumentando y la influencia del pH se vuelve más evidente. En el medio M1-3, los valores de UFC/mL en pH 8 se estabilizan cerca de 5.3×10^6 mientras que en pH 8 y pH 9 los valores rondan los 5.1×10^6 . En el medio M2-1, el crecimiento en pH 7 se mantiene dominante con un valor de 5.4×10^6 UFC/mL. En el medio M2-2, se observa un pequeño incremento en todos los pH, con pH 8 alcanzando 5.7×10^6 Concentración de UFC/ml (**Figura 8 – A, Anexo 13, Anexo 14, Anexo 15**).

A las 144 horas, el crecimiento microbiano se estabiliza en todos los medios y pH, con el medio M2-2 manteniendo los niveles más altos en pH 7, aproximadamente 5.8×10^6 UFC/mL. Esto sugiere que, en general, el pH 7 favorece el crecimiento bacteriano en los tres medios estudiados, siendo M2-2 el que muestra los valores más altos de crecimiento en este pH (**Figura 8 – A, Anexo 13, Anexo 14, Anexo 15**).

Figura 8. Bio-solubilidad de Fe^{3+} en Diferentes pH y con una Única Fuente de Carbono.

A. Efecto del pH en el crecimiento bacteriano, en un medio suplementado con Fe^{3+} y glucosa al 1.5 como fuente de carbono.

B. Efecto de diferentes pH en la bio-solubilidad de hierro.



Fuente: Los autores.

La degradación de Fe (II) fue monitoreada en los mismos intervalos de tiempo y condiciones de pH para evaluar el efecto de estas variables en el consumo de hierro. A las 48 horas, se observa una disminución inicial en los niveles de Fe (II) en todos los medios y pH. En el medio M1-3, el pH 7 presenta la mayor degradación inicial, alcanzando aproximadamente 60% de Fe (II). En M2-1 y M2-2, los niveles de Fe (II) en pH 8 también disminuyen más rápido, alcanzando alrededor de 50%, respectivamente **(Figura 8 – B)**.

A las 96 horas, la degradación de Fe (II) continúa en todos los pH, pero es nuevamente en pH 7 donde se registran el mayor rendimiento de transformación. En el medio M1-3, los niveles de Fe (II) en pH 8 bajan hasta aproximadamente 30%, mientras que en M2-1 y M2-2, los niveles se reducen a 35%, respectivamente **(Figura 8 – B)**.

A las 144 horas, la concentración de Fe (II) alcanza sus niveles mínimos en todos los medios, especialmente en pH 8. En M1-3, el Fe (II) en pH 8 se reduce alrededor de 20%, en M2-1 se mantiene cerca de 25%, y M2-2 a 30%. Esto indica que, similar al crecimiento microbiano, el pH 8 es el más favorable para la degradación de Fe (II), sugiriendo una compensación entre la actividad bacteriana y el consumo de hierro en condiciones de pH neutro a ligeramente alcalino **(Figura 8 – B)**.

Nuestros resultados coinciden con estudios similar realizados por G. Sivakami y colaboradores., (2012) donde concluyeron que la fuente de carbono que mejor respondió fue la glucosa al 1% con un pH de 7, en la biotransformación de Fe (III) a Fe (II).

El hierro es el metal pesado más abundante que contamina la superficie de suelos y sedimentos, permitiendo una alta disponibilidad y movilidad del hierro hacia pozos aguas subterráneas afectando a este tipo de fuente hídrica (Rivas Johandra, 2021).

A diferencia de la mayoría de los demás contaminantes orgánicos, los metales pesados, especialmente el hierro, no pueden degradarse de forma natural. La reducción biológica es una reacción combinada con la oxidación de materia orgánica a fuentes de carbono mediante procesos terminales, donde el óxido de Fe (II) actúan como aceptores de electrones en ciclos biogeoquímico. Esto se evidencio en este trabajo, con el uso de una fuente de carbono como la glucosa, generando un proceso de aceptación de electrones.

El pH juega un papel importante en la solubilización de metales pesados, ya que un pH bajo (ácido) favorece la solubilidad, esto coincide con los resultados obtenidos, ya que en el pH 5 de obtuvo una mayor biotransformación del Fe^{3+} a Fe^{2+} .

En cuanto a los aislados, todos presento capacidad de transformación del hierro, siendo más eficiente el aislado M2-1, en el cual se obtuvo 1.30 mg/L de Fe^{2+} .

Del estudio se concluyó que la glucosa al 1.5% podría sugerirse como la mejor fuente de carbono para apoyar el crecimiento bacteriano y también la solubilización de Fe del óxido metálico.

6. Conclusiones

Teniendo en cuenta los resultados de los análisis fisicoquímicos para determinar la presencia de metales pesados como plomo, cobre, cromo, hierro y cadmio, se concluyó que, al tratarse de una zona rural con una moderada actividad antrópica, las aguas presentan una baja concentración de hierro, el principal contaminante de interés en la presente investigación, sin embargo, se decidió continuar con el estudio debido al hallazgo de bacterias con la capacidad de reducir el hierro III a hierro II.

Los ensayos realizados con bacterias arrojaron que el tratamiento biológico (biorremediación) tiene un gran potencial para la remoción de hierro en aguas subterráneas, aunque la efectividad depende de factores físicos y químicos como la fuente de carbono y el pH.

Este estudio tuvo como objetivo aumentar la producción de Fe^{2+} mediante la optimización de las condiciones de crecimiento bacteriano. La glucosa fue la fuente de carbono que mejor se desempeñó a una concentración de 1.5% y la presencia de óxido férrico junto a un pH 7 fueron las condiciones preferidas para la reducción de hierro, por los tres aislados ensayados.

La biorremediación de hierro con bacterias es eficaz puesto que se estimó a través de este estudio, que a partir de un gramo de óxido férrico y una población de 4×10^6 UFC/mL y después de seis días de tratamiento se obtuvo un rendimiento de capacidad del 99.1% en el proceso.

Este trabajo abre las posibilidades de generar nuevas tecnologías para tratamiento de aguas y de suelo, tecnologías como la construcción de membranas o la nanotecnología que permite inmovilizar estos microorganismos para la disminución de contaminantes en diferentes tipos de ecosistemas.

7. Anexos

Anexos 1. *Extracción de Muestras en Sutamarchán Límite con Villa de Leyva*



Fuente: Los autores.

Anexos 2. *Extracción de Muestras en Sutamarchán Límite con Sáchica*



Fuente: Los autores

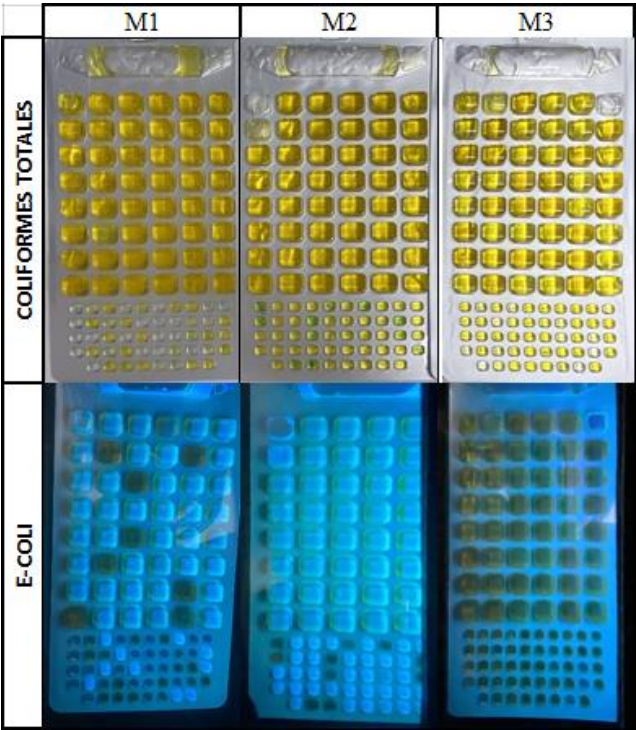
Anexos 3. *Extracción de Muestras en Sutamarchán Límite con Sáchica*

Fuente: Los autores

Anexos 4. *Espectrómetro de Absorción Atómica novAA 800D.*

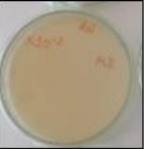
Fuente: Los autores

Anexos 5. Presencia de Coliformes Totales y E. coli



Fuente: Los autores

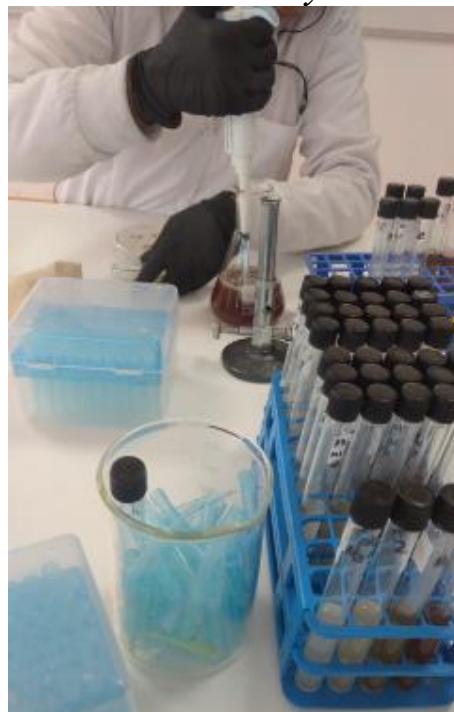
Anexos 6. Crecimiento Bacteriano en Disoluciones.

Disoluciones Crecimiento Bacteriano		
M1	M2	M3
10x-2	10x-2	10x-2
		
10x-4	10x-3	10x-3
		
10x-4	10x-4	10x-4
		

Fuente: Los autores.

Anexos 7. *Preparación del Medio Líquido en Medio Controlado.*

Fuente: Los autores.

Anexos 8. *Siembra de las Muestras Bacterianas en las Cajas de Petri y los Erlenmeyer.*

Fuente: Los autores.

Anexos 9. *Incubación del Medio con Bacterias en Erlenmeyer y Cajas Petri.*



Fuente: Los autores.

Anexos 10. *Conteo de Bacterias para las 3 Muestras en Glucosa.*

GLUCOSA		%	Día 1	Día 2	Día 3
m1-3	0,5		155	INFINITO	137
			192	464	77
	1,0				
			235	1265	50
	1,5				
m2-1	0,5		INFINITO	168	94
			215	98	240
	1,0				
			205	42	X
	1,5				
m2-2	0,5		427	INFINITO	INFINITO
			INFINITO	315	INFINITO
	1,0				
			INFINITO	INFINITO	INFINITO
	1,5				

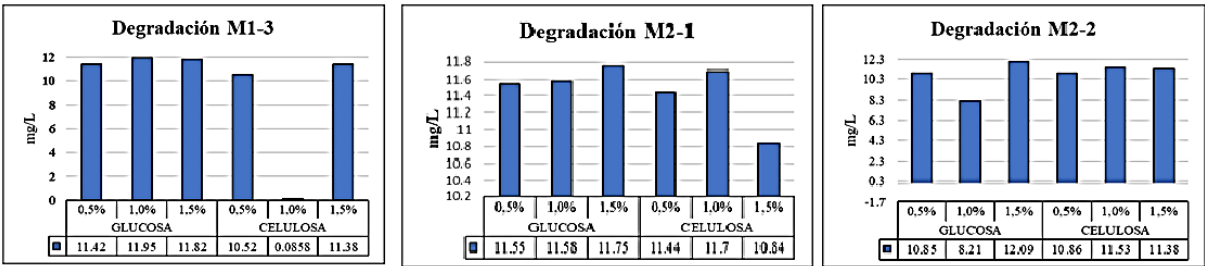
Fuente: Los autores.

Anexos 11. Conteo de Bacterias para las 3 Muestras en Celulosa

CELULOSA	%	Día 1	Día 2	Día 3
m1-3	0,5	362	166	127
		INFINITO	INFINITO	182
	1,0	INFINITO	79	98
		INFINITO	INFINITO	INFINITO
	1,5	189	236	55
		137,5	INFINITO	93
m2-1	0,5	33	INFINITO	90
		INFINITO	INFINITO	INFINITO
	1,0	INFINITO	INFINITO	INFINITO
		INFINITO	INFINITO	INFINITO
	1,5	293	INFINITO	14
		122	INFINITO	30
m2-2	0,5	51	365	75
		INFINITO	INFINITO	INFINITO
	1,0	INFINITO	INFINITO	INFINITO
		INFINITO	INFINITO	INFINITO
	1,5	INFINITO	INFINITO	INFINITO
		INFINITO	INFINITO	INFINITO

Fuente: Los autores.

Anexos 12. Degradación de Hierro en Glucosa y Celulosa en las 3 Muestras.



Fuente: Los autores.

Anexos 13. *Conteo Bacteriano con Diferentes Valores de pH en M1-3.*

M1-3						
pH	1		2		3	
	1.022		1.208		1.332	
5						
	0.947		1.083		1.108	
6						
	0.744		1.621		1.672	
7						
	0.868		1.302		1.101	
8						
	0.922		1.269		0.945	
9						

Fuente: Los autores.

Anexos 14. *Conteo Bacteriano con Diferentes Valores de pH en M2-1.*

M2-1						
pH	1		2		3	
	0.582		1.372		1.216	
5						
	0.936		1.367		1.471	
6						
	0.647		0.755		0.988	
7						
	1.272		1.337		1.496	
8						
	0.99		1.26		1.363	
9						

Fuente: Los autores.

Anexos 15. *Conteo Bacteriano con Diferentes Valores de pH en M2-2.*

M2-2						
pH	1		2		3	
	1.084		1.228		1.32	
5						
	0.991		1.318		1.434	
6						
	0.654		0.669		0.713	
7						
	1.281		1.381		1.51	
8						
	1.156		1.478		1.633	
9						

Fuente: Los autores.

8. Bibliografía

- Amatriain, M. (2000). Efectos del exceso de hierro. *Medicina Naturista*, 2, 92–95.
- Amaya Ruiz, G. (2010). Estudio de uso Combinado de Fuentes de Agua Superficial y Subterránea para el Suministro de Agua Potable para el Municipio de Turbo, Antioquia. *Universidad Nacional de Colombia*.
- Área Metropolitana del Valle de Aburrá. (2019). *Guía para la toma de niveles piezométricos y muestras de agua para análisis fisicoquímicos, hidrogeoquímicos e isotópicos en captaciones de agua subterránea*. 53. <https://www.metropol.gov.co/area/Documents/transparencia/M-GAA-RR-02 Manual para el monitoreo de aguas subterranas.pdf>
- Ayejoto, D. A., & Egbueri, J. C. (2023). Human health risk assessment of nitrate and heavy metals in urban groundwater in Southeast Nigeria. *Acta Ecologica Sinica*, June. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2023.06.008>
- Bazán Ramírez, M. Á., Rodríguez Delfín, A. S., Bazán Ramírez, W., & Chavez Cabrera, N. (2022). Impacto del hierro, magnesio y manganeso en la clorosis de la arúgula en sistemas hidropónicos. *Industrial Data*, 25(2), 7–28. <https://doi.org/10.15381/idata.v25i2.23591>
- Bermudez, M., & Ortiz, J. (2017). Agua limpia y saneamiento: tan cerca y tan lejos. *ResearchGate*, 1(August), 3–5.
- Ceballos-Escalera, A., Pous, N., Chiluiza-Ramos, P., Korth, B., Harnisch, F., Bañeras, L., Balaguer, M. D., & Puig, S. (2021). Electro-bioremediation of nitrate and arsenite polluted groundwater. *Water Research*, 190, 116748. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116748>
- Coates, J. D., Councell, T., Ellis, D. J., & Lovley, D. R. (1998). Carbohydrate oxidation coupled to Fe(III) reduction, a novel form of anaerobic metabolism. *Anaerobe*, 4(6), 277–282. <https://doi.org/10.1006/anae.1998.0172>
- Comisión Nacional del Agua. (2024). *Aguas Subterráneas*. <https://www.gob.mx/conagua/acciones-y-programas/agua-subterranea>
- Departamento Nacional de Planeación. (2022). *Optimización de la Planta de Tratamiento de Agua Potable del Municipio de Sutamarchán Departamento de Boyacá*. 1–7.
- Derly Lorena Molano Rodríguez, L. N. R. S. (2023). Pre-diseño planta de tratamiento de agua potable para las veredas ría y el carrizal, en el municipio de sutamarchán – boyacá. *UNIVERSIDAD SANTO TOMAS*, VIII(I), 1–19. <https://repository.usta.edu.co/bitstream/handle/11634/51400/2023leidyreinalorenamolano.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Díaz Alarcón, J. A., Fonseca Alfonso, P. M., Vergara Gómez, I., Díaz Lagos, M., Videira-Quintela, D., & Montalvo, G. (2024). Assessment of potentially hazardous elements in soils of the Boyacá industrial corridor (Colombia) using GIS, multivariate statistical analysis, and geochemical indexes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 269(November 2023). <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115725>

- E.W. Rice, R.B. Baird, A.D. Eaton, E. (2017). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. *American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation*, 1496. <https://yabesh.ir/wp-content/uploads/2018/02/Standard-Methods-23rd-Perv.pdf>
- Esteban Manuel Villena Martínez. (2022). *Elaboracion De Un Modelo Matematico Que Permita El Analisis De La Eficacia De La Ósmosis Inversa En El Proceso De Eliminación De Plomo, Hierro Y Manganese En Fuentes De Abastecimiento De Agua Para Consumo Humano En La Alta Cuenca Alta Del Río Guadalquivir*. [https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/191412/Villena - Elaboracion de un modelo matematico que permita el analisis de la eficacia de la Osmosi....pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/191412/Villena%20-%20Elaboracion%20de%20un%20modelo%20matematico%20que%20permite%20el%20analisis%20de%20la%20eficacia%20de%20la%20osmosis....pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Faviel Cortez, E., Infante Mata, D., & Molina Rosales, D. O. (2019). Perception and water quality in rural communities of the protected area la encrucijada, chiapas, Mexico. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 35(2), 317–334. <https://doi.org/10.20937/RICA.2019.35.02.05>
- Franco, E. F., Ramos, R., Ovando-Javier, A., Montero-Espaillet, E., Bonilla, S., & Veda, A. (2023). Sensores de calidad de agua para el control de la contaminación fisicoquímica en los acuíferos de Latinoamérica: una revisión. *Ciencia, Ambiente y Clima*, 6(1), 45–70. <https://doi.org/10.22206/cac.2023.v6i1.pp45-70>
- Fuentes-Gandara, F., Pinedo-Hernández, J., Gutiérrez, E., Marrugo-Negrete, J., & Díez, S. (2021). Heavy metal pollution and toxicity assessment in Mallorquin swamp: A natural protected heritage in the Caribbean Sea, Colombia. *Marine Pollution Bulletin*, 167. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112271>
- G. Sivakami, R. Priyadarshini, V. Baby, S. Rajakumar, & P.M. Ayyasamy. (2012). Bioremediation of Ferric Iron in Synthetic Metal Oxide Using Bacillus Sp. (SO-10). *Journal of Current Perspectives in Applied Microbiology*, 1(2), 34–41. <https://www.researchgate.net/publication/266798246>
- Gaitán, P. A. R. (2020). Importancia del Programa de Agua no Contabilizada en el Departamento de Boyacá (Periodo de Análisis: 2019). *Universidad Santo Tomas*, 8(75), 147–154. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2020.125798%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.smr.2020.02.002%0Ahttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/810049%0Ahttp://doi.wiley.com/10.1002/anie.197505391%0Ahttp://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780857090409500205%0Ahttp://>
- Gani, A., Hussain, A., Pathak, S., & Omar, P. J. (2024). Analysing Heavy Metal Contamination in Groundwater in the Vicinity of Mumbai's Landfill Sites: An In-depth Study. *Topics in Catalysis*, 1009–1023. <https://doi.org/10.1007/s11244-024-01955-3>
- Hang Yang, Liu, L., Shu, Z., Zhang, W., Huang, C., Yanhuan Zhu, S. L., , Weichao Wang, Gang Li, Q. Z., & Qian Liu, G. J. (2024). Magnetic iron oxide nanoparticles: An emerging threat for the environment and human health. *Science Direct*, 15. <https://pdf.sciencedirectassets.com/273588/1-s2.0-S1001074224X00121/1-s2.0-S1001074224002316/main.pdf?X-Amz-Security->

Token=IQoJb3JpZ2luX2VjEFYacXVzLWVhc3QtMSJGMEQCIHt0XlWmC5cn4zF4eP6y6qDmEwSOrWzzW9iFH1f7g%2BcEAiAHR0ORy1RQl77TaU59FCh%2Fgsz8i%2FTh5ZfQMvg%2B

- Hidalgo-Cantabrana, C., Moro-García, M. A., Blanco-Míguez, A., Fdez-Riverola, F., Lourenço, A., Alonso-Arias, R., & Sánchez, B. (2017). In silico screening of the human gut metaproteome identifies Th17-promoting peptides encrypted in proteins of commensal bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 8(SEP), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01726>
- IDEAM, SNGRD, S. (2024). *Condiciones Hidrometereológicas Actuales*. https://ideam.gov.co/sites/default/files/prensa/boletines/2024-07-03/condiciones_hidrometeorologicas_actuales_ndeg_0554_03_de_julio_de_2024_0600.pdf
- Instituto Nacional de Salud. (2024). *Boletín de Vigilancia de la Calidad del Agua para el Consumo Humano* (p. 12). <https://www.ins.gov.co/BibliotecaDigital/boletin-vigilancia-de-la-calidad-del-agua-mayo-2024.pdf>
- Jain, H., Dhupper, R., Shrivastava, A., & Kumari, M. (2023). Enhancing groundwater remediation efficiency through advanced membrane and nano-enabled processes: A comparative study. *Groundwater for Sustainable Development*, 23(June), 100975. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2023.100975>
- Johnstone, P. L. (2004). Mixed methods, mixed methodology health services research in practice. *Qualitative Health Research*, 14(2), 259–271. <https://doi.org/10.1177/1049732303260610>
- Li, H., Ding, S., Song, W., Zhang, Y., Ding, J., & Lu, J. (2022). Iron reduction characteristics and kinetic analysis of *Comamonas testosteroni* Y1: a potential iron-reduction bacteria. *Biochemical Engineering Journal*, 177(October 2021), 108256. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2021.108256>
- Mahecha, J. D., Trujillo-González, J. M., & Torres-Mora, M. A. (2017). Analysis of Studies in Heavy Metals in Agricultural Areas of Colombia Análise de Estudos em Metais Pesados em Zonas Agrícolas ee Colômbia. *ORINOQUIA - Universidad de Los Llanos - Villavicencio, Meta. Colombia Suplemento*, 21(1), 83–93.
- Manuel, A., Susa, R., Fernanda, C. M., & Pérez, L. (2023). *Título del Trabajo de Grado : Hábitos de consumo de agua potable en una muestra representativa de la población de Boyacá Autor : Juan Pablo Rodríguez Parra.* 1–115. <https://repositorio.uniandes.edu.co/server/api/core/bitstreams/b7775262-975f-4b78-9c95-49d32aa1fbff/content>
- Mejía, L. (2024). *Sutamarchán enfrentará calamidad pública por grave escasez de agua*. Boyacá Le Informa. <https://www.boyacaleinforma.com/?p=24432>
- Ministerio de la Protección Social, Ministerio de Ambiente, V. y D. T. (2007). Resolución 2115 del 2007. *Revista Brasileira de Ergonomia*, 36. <https://www.infodesign.org.br/infodesign/article/view/355%0Ahttp://www.abergo.org.br/revista/index.php/ae/article/view/731%0Ahttp://www.abergo.org.br/revista/index.php/ae/article/view/269%0Ahttp://www.abergo.org.br/revista/index.php/ae/article/view/106>

- Ministerio De Salud y Protección Social. (2021). *Informe Nacional de Calidad del Agua para el Consumo Humano 2021*. 1–147. <https://www.superservicios.gov.co/sites/default/files/inline-files/inca-calidad-agua-consumo-humano-2023.pdf>
- Ministerio de Vivienda. (2022). *Informe Nacional de Monitoreo a los Recursos del SGP-APSB-Vigencia 2022*. www.minvivienda.gov.co
- Mir, D. H., & Rather, M. A. (2024). Kinetic and thermodynamic investigations of copper (II) biosorption by green algae *Chara vulgaris* obtained from the waters of Dal Lake in Srinagar (India). *Journal of Water Process Engineering*, 58(January), 104850. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2024.104850>
- Montenegro, S., Pulido, S., & Calderón, L. (2019). Prácticas de biorremediación en suelos y aguas. *Notas de Campus de La ECAPMA*, 1(2), 49.
- Mulyati, S., & Syawaliah. (2018). Removal of Cd²⁺ and Pb²⁺ heavy metals in water by using adsorption-ultrafiltration hybrid process. *Jurnal Teknologi*, 80(3–2), 17–22. <https://doi.org/10.11113/jt.v80.12738>
- Naciones Unidas. (2024). *Informe de los Objetivos de Desarrollo Sostenible* (pp. 42–43). <https://doi.org/10.18356/9789210056106c012>
- Organización de las Naciones Unidas. (2021). Resumen actualizado de 2021 sobre los progresos en el ODS 6: agua y saneamiento para todos. *Onu*, 1–58. https://www.unwater.org/sites/default/files/app/uploads/2021/12/SDG-6-Summary-Progress-Update-2021_Version-July-2021_SP.pdf
- Oyuela Leguizamo, M. A., Fernández Gómez, W. D., & Sarmiento, M. C. G. (2017). Native herbaceous plant species with potential use in phytoremediation of heavy metals, spotlight on wetlands — A review. *Chemosphere*, 168, 1230–1247. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.10.075>
- Podgorski, J., Araya, D., & Berg, M. (2022). Geogenic manganese and iron in groundwater of Southeast Asia and Bangladesh – Machine learning spatial prediction modeling and comparison with arsenic. *Science of the Total Environment*, 833(March), 155131. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155131>
- Rivas., Johandra Raquel Guillen, Alex Raziel Jaramillo Cedeño, R. A. C. M. (2021). *Estudio de los procesos de remoción de hierro y manganeso en aguas subterráneas: una revisión*. 6. <https://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/view/3118/6836>
- Rivas Johandra. (2021). Estudio de los procesos de remoción de hierro y manganeso en aguas subterráneas: una revisión. *Polo Del Conocimiento*, 6(9), 1385–1407. <https://doi.org/10.23857/pc.v6i9.3118>
- Rodolfo, E., & Almanza, L. (2024). *Análisis de las percepciones sobre el agua de consumo en Abasolo, México* *Analysis of perceptions about drinking water in Abasolo, Mexico* Resumen. 5, 1–16.
- Ruiz, C. (2018). *Cuantificación de metales por espectroscopia de absorción atómica en la piedra caliza para su selección cualitativa*.

- [https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/26000/Cuantificacion de metales por espectroscopia de absorcion atomica en la piedra caliza para su seleccion cualitativa.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/26000/Cuantificacion%20de%20metales%20por%20espectroscopia%20de%20absorcion%20atomica%20en%20la%20piedra%20caliza%20para%20su%20seleccion%20cualitativa.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Safari, F., Qingshan, T., & Chen, W. (2023). Time discretization for modeling migration of groundwater contaminant in the presence of micro-organisms via a semi-analytic method. *Computers and Mathematics with Applications*, 151(February), 397–407. <https://doi.org/10.1016/j.camwa.2023.10.014>
- Secretaria de salud de Boyaca. (2011). *Mapa de riesgo de la calidad del agua para consumo humano del río la Cebada, fuente abastecedora del casco urbano del municipio de Sutamarchan-Boyaca*. 1–40. [https://www.boyaca.gov.co/SecSalud/images/Documentos/Salud_Publica/Ano_2014/AGU A_CONSUMO_HUMANO/MAPA DE RIESGO DE SUTAMARCHAN.pdf](https://www.boyaca.gov.co/SecSalud/images/Documentos/Salud_Publica/Ano_2014/AGU_A_CONSUMO_HUMANO/MAPA_DE_RIESGO_DE_SUTAMARCHAN.pdf)
- Silvia, Rodríguez. María, Yfran Elvira. Cecilia, De Asmundis. María, S. (2024). *Cuantificacion de bacterias coliformes en fuentes de aguas subterraneas de productores del departamento de lavalle, corrientes*. 16–23.
- Techniques, R. (2024). *Iron Contamination in Groundwater : Risk Assessment and*. 4–6.
- Torregroza-Espinosa, A. C., Martínez-Mera, E., Castañeda-Valbuena, D., González-Márquez, L. C., & Torres-Bejarano, F. (2018). Contamination Level and Spatial Distribution of Heavy Metals in Water and Sediments of El Guájaro Reservoir, Colombia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 101(1), 61–67. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2365-x>
- Truque, P. A. (2003). Armonización de los estándares de agua potable en las Americas. *Armonizacion De Los Estándares De Agua Potable En Las Americas*, 1(1), 17. <https://www.oas.org/dsd/publications/classifications/Armoniz.EstandaresAguaPotable.pdf>
- Tufail, M. A., Iltaf, J., Zaheer, T., Tariq, L., Amir, M. B., Fatima, R., Asbat, A., Kabeer, T., Fahad, M., Naeem, H., Shoukat, U., Noor, H., Awais, M., Umar, W., & Ayyub, M. (2022). Recent advances in bioremediation of heavy metals and persistent organic pollutants: A review. *Science of the Total Environment*, 850(August), 157961. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157961>
- UNESCO. (2022). Informe mundial de las Naciones Unidas sobre el desarrollo de los recursos hídricos 2022: aguas subterráneas: hacer visible el recurso invisible. *Organización de Las Naciones Unidas Para La Educación, La Ciencia y La Cultura*, 12. https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000380726_spa?fbclid=IwAR37K3mY5OKdAaGGOS_9Foou2Kpk9S87EnDLf_MztKU0uGHVDjTKFmcwGPk
- UNESCO. (2023). *Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos 2023: alianzas y cooperación por el agua*.
- Valeriano-Mamani, J. J., & Matos-Chamorro, R. A. (2019). Influence of Tara (Caesalpinia spinosa) Gum as an Aid in the Coagulation-Flocculation Process to Remove the Turbidity of an Artificial Suspension of Bentonite. *Informacion Tecnologica*, 30(5), 299–308. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642019000500299>

- Wang, Q., Guo, S., Ali, M., Song, X., Tang, Z., Zhang, Z., Zhang, M., & Luo, Y. (2022). Thermally enhanced bioremediation: A review of the fundamentals and applications in soil and groundwater remediation. *Journal of Hazardous Materials*, 433(March), 128749. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128749>
- Wu, M., Liang, J., Tang, J., Li, G., Shan, S., Guo, Z., & Deng, L. (2017). Decontamination of multiple heavy metals-containing effluents through microbial biotechnology. *Journal of Hazardous Materials*, 337, 189–197. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.05.006>
- Xu, H., Qin, C., Zhang, H., & Zhao, Y. (2024). New insights into long-lasting Cr(VI) removal from groundwater using in situ biosulfidated zero-valent iron with sulfate-reducing bacteria. *Journal of Environmental Management*, 355(March), 120488. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.120488>
- Yu, H., Wang, L., Zhang, J., & Chen, Y. (2023). A global drought-aridity index: The spatiotemporal standardized precipitation evapotranspiration index. *Ecological Indicators*, 153(May), 110484. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2023.110484>
- Yuan, L., Wang, K., Zhao, Q., Yang, L., Wang, G., Jiang, M., & Li, L. (2024). An overview of in situ remediation for groundwater co-contaminated with heavy metals and petroleum hydrocarbons. *Journal of Environmental Management*, 349(June 2023), 119342. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.119342>
- Zamora-Martínez, O., Lozano-Santa Cruz, R., Samayoa-Oviedo, H. Y., Velázquez-Castro, M., & Prado-Pano, B. (2019). Adecuabilidad y comparación de técnicas espectroscópicas para el análisis de muestras de origen geológico. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 35(1), 65–79. <https://doi.org/10.20937/RICA.2019.35.01.05>