



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERIA  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA  
AMBIENTAL

Eficiencia en el cultivo de microorganismos eficaces para reducir  
hidrocarburos totales de petróleo contenidos en fuentes de grifo,  
Huarochirí – 2017

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
Ingeniero Ambiental

AUTOR:

Jason Leonardo Colca Rodríguez

ASESOR:

Mg. Rita Jaqueline Cabello Torres

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

TRATAMIENTO Y GESTION DE RESIDUOS

LIMA – PERÚ

**Año 2017 - II**

El Jurado encargado de evaluar la tesis presentada por don (a) Jason Leonardo Colca Rodríguez cuyo título es:  
Eficiencia en el cultivo de microorganismos eficaces para reducir hidrocarburos totales de petróleo contenidos en fuentes de grifo, Huarochiri – 2017

Reunido en la fecha, escuchó la sustentación y la resolución de preguntas por el estudiante, otorgándole el calificativo de: 14 (número) Catorce(letras).

Lima, San Juan de Lurigancho .....13.....de ~~Octubre~~ del 2017



Mg. Fernando Antonio Sernaqué Aucoahuasi

PRESIDENTE



Mg. Marco Antonio Herrera Díaz

SECRETARIO



Mg. Rita Jaqueline Cabello Torres

VOCAL

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Representante de la Dirección / Vicerrectorado de Investigación y Calidad	Aprobó	Rectorado
---------	----------------------------	--------	--	--------	-----------

## Dedicatoria

Dedico este trabajo a mis padres y en especial a mi madre Elizabeth Rodríguez Velásquez, también a Cindy Lizeth Chávez Apare por apoyarme en los buenos y malos momentos a lo largo de toda mi formación profesional, asegurándose de siempre tener presente mis valores y principios, también dedicar este trabajo a mis familiares y amistades por motivarme a seguir adelante y no rendirme.

## Agradecimiento

Agradezco a los maestros que me supieron guiar con sus conocimientos y experiencias, también por su paciencia a lo largo del desarrollo de mi tesis, así como a Daniel Neciosup Gonzales que me guio en los análisis y procedimiento de laboratorio.

Agradezco a los compañeros, amigos y a la universidad como tal por abrirme las puertas al mundo y brindarme copiosos conocimientos en general.


## Declaración de autenticidad

Yo, Jason Leonardo Colca Rodríguez, con DNI N° 71020786 a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el reglamento de grados y reglamentos de la universidad César Vallejo, Facultad de Ingeniería, Escuela de ingeniería ambiental, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompaño es veraz y auténtica.

Así mismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presentan en esta tesis son auténticos y veraces.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada, por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la universidad César Vallejo.

Lima, diciembre del 2017



---

Jason Leonardo Colca Rodríguez  
DNI: 71020786

## Presentación

La presente investigación se refiere al tema de remediación de aguas contaminadas con hidrocarburos utilizando microorganismos eficaces, el cual se puede definir como aquel tratamiento que no genera impactos negativos al medio ambiente y tampoco a los humanos. Existen otras técnicas que sirven para biodegradar el contenido de hidrocarburos de cuerpos de aguas como es el caso de la fitorremediación con algas o con cepas bacterianas autóctonas ayudadas con nutrientes para potenciar su capacidad de degradación, como estas existen otras técnicas.

Esta técnica tiene como característica principal que a comparación de otra técnica de remediación demanda menor cantidad de tiempo para poder observar resultados, además nos indica la importancia que tienen los consorcios bacterianos en tema de recuperación de cuerpos de agua.

Para analizar la problemática son necesarias mencionar las causas, entre ellas tenemos las condiciones adecuadas que se le deben dar a los microorganismos para su desarrollo, el tiempo que se debe emplear en los diferentes tratamientos y la cantidad de degradación que estas pueden llegar a alcanzar en un tiempo determinado, de esta manera se afianzarán los conocimientos que las personas tienen sobre este tipo de recuperación de cuerpos hídricos. Es de vital importancia tomar conciencia que el agua es un recurso que cada vez se vuelve más escaso y que se podría agotar muy pronto.

La investigación de la problemática se dio por interés de conocer y aprender cuales son condiciones óptimas en el que los microorganismos presentan mayor cantidad de degradación de hidrocarburos en cuerpos de agua.

Profundizar los conocimientos sobre recuperación de cuerpos de agua a través de la biorremediación fue un interés académico. Asimismo, aportaremos datos

estadísticos fiables y actuales sobre el problema de la biorremediación utilizando microorganismos.

En el ámbito profesional como futuro ingeniero ambiental, el interés surgió por adquirir conocimientos de la variable independiente la eficiencia en el cultivo de microorganismos eficaces a través de diferentes condiciones en el cual ellas se van a degradar los hidrocarburos totales de petróleo.

Con respecto a la teoría de tipo experimental nos indica que la investigación se realizó con fichas de observación las cuales nos proporcionaron los datos sobre los diferentes tratamientos.

En la observación de las condiciones de cultivo de los microorganismos eficaces, la ficha de observación de laboratorio presenta los siguientes indicadores, nutriente, dispersante, temperatura y el consorcio bacteriano.

La ficha de observación se realizó para comparar los cambios que se dieron entre las diferentes muestras no probabilísticas o también conocida como muestra intencional. Este tipo de muestra fue la empleada para esta investigación.

Durante la investigación en laboratorio, el obstáculo más grande fue el de proporcionar la cantidad de oxígeno necesaria para que las cepas bacterianas se desarrollen y logren la degradación esperada.

## Índice

1. INTRODUCCIÓN .....	12
1.1. Realidad Problemática .....	13
1.2. Trabajos Previos.....	15
1.3. Teorías Relacionadas al tema .....	23
1.4. Formulación al Problema.....	35
PROBLEMA GENERAL.....	35
PROBLEMAS ESPECIFICOS .....	35
1.5. Justificación .....	36
1.6. Hipótesis .....	37
HIPOTESIS GENERAL .....	37
HIPOTESIS ESPECIFICOS.....	37
1.7. Objetivo.....	38
OBJETIVO GENERAL.....	38
OBJETIVO ESPECIFICO .....	38
II. MÉTODO .....	39
2.1. Diseño de investigación .....	39
2.2. Variables, Operacionalización.....	39
2.3. Población y muestra .....	42
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.....	43
2.5. Métodos de análisis de datos .....	48
2.6. Aspectos éticos. ....	49
III. RESULTADOS .....	50
IV. DISCUCION .....	54
V. CONCLUSIONES.....	56
VI. RECOMENDACIONES.....	58
VII. REFERENCIAS .....	59



## Índice de cuadros y tablas

Cuadro 1: Bacterias degradadoras.....	24
Cuadro 2: Límites máximos permisibles .....	34
Cuadro 3: Validación .....	48
Cuadro 4: Muestra inicial .....	50
Cuadro 5: Concentraciones.....	50
Cuadro 6: Tratamientos .....	50

## Índice de figuras

Gráfico 1: Temperatura de Octubre.....	14
Gráfico 2: Temperatura de Noviembre .....	14
Gráfico 3: Vista de la Pseudomona .....	29
Gráfico 4: Vista de Lactobacillus .....	30
Gráfico 5: Vista de Rhodopseudomona.....	31
Gráfico 6: Vista de Saccharomyces .....	31
Gráfico 7: Difosfato de Amonio .....	32
Gráfico 8: Comparación de muestras.....	51

## Resumen

La problemática central no solo radica en las grandes industrias que transportan o comercializan los compuestos derivados de los hidrocarburos, sino también los pequeños locales que comercializan estos compuestos en menores cantidades (grifos), y su descarga ilegal que realizan en los suelos y aguas del distrito de Huarochirí. Para dar solución a este problema se aplicó tratamientos para reducir la concentración de estos contaminantes en el agua utilizando microorganismos eficaces. Se planteó como objetivo evaluar la eficiencia de los microorganismos eficaces en la biodegradación de los hidrocarburos totales de petróleo provenientes del efluente de grifo. Para la metodología se planteó utilizar tres muestras las cuales fueron acondicionadas en reactores con aireación permanente empleando microorganismos eficaces, nutrientes, sales y dispersante. La fase experimenta se prolongó por 30 días de tratamiento. Los resultados indicaron una reducción en la muestra N° 1 del 98% de HTP, la muestra N° 2 redujo 99% de HTP y la muestra N° 3 logro reducir 51% de HTP.

Palabras clave: degradación, biorremediación, microorganismos eficaces, hidrocarburos

## **Abstracción**

The central problem not only lies in the large industries that transport or market the compounds derived from hydrocarbons, but also the small stores that commercialize these compounds in smaller quantities (taps), and their illegal discharge that they carry out in the soils and waters of the district of Huarochirí. To solve this problem, treatments were applied to reduce the concentration of these contaminants in the water using effective microorganisms. The objective was to evaluate the efficiency of the effective microorganisms in the biodegradation of the total petroleum hydrocarbons coming from the tap effluent. For the methodology it was proposed to use three samples which were conditioned in reactors with permanent aeration using effective microorganisms, nutrients, salts and dispersant. The phase experienced lasted for 30 days of treatment. The results indicated a reduction in the sample N ° 1 of 98% of HTP, the sample N ° 2 reduced 99% of HTP and the sample N ° 3 managed to reduce 51% of HTP.

Key words: degradation, bioremediation, effective microorganisms, hydrocarbon1.

## INTRODUCCIÓN

### 1.1. Realidad Problemática

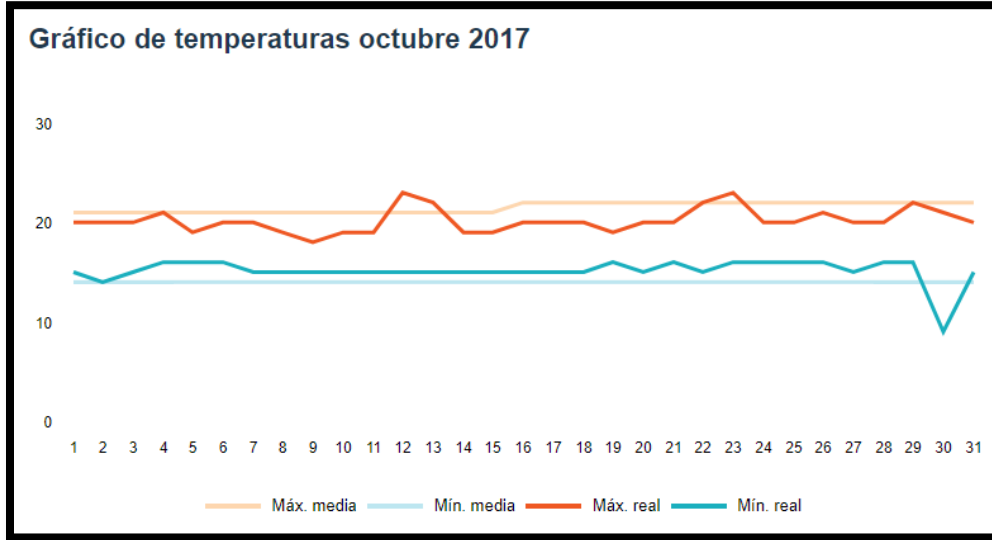
El problema que ocasiona la contaminación de hidrocarburos totales de petróleo no solo trasciende desde la manipulación o al transporte que efectúan las grandes empresas, sino también en las áreas de comercialización y distribución menores tales como los grifos, estos puntos están presentes en todo tipo de gobiernos ya sea local o regional de todo el país. Según Osinergmin (2016) nos indica que existen 3, 850 estaciones de servicio (de las cuales 979 se ubican en Lima y Callao), 62% (2,044) de ellas son independientes, es decir, no forman parte de las cuatro grandes cadenas (Repsol, Pecsá, Primax y la estatal Petroperú).(p. 45)

En ese sentido se evaluó en específico el problema que genera el grifo ubicado en Huarochirí – Jicamarca Anexo 22, el cual elimina las aguas residuales oleosas de sus servicios de manera ilegal, es decir, directamente en el suelo. Esta acción ocasiona problemas ambientales apreciables como son la desaparición de la cobertura vegetal de los alrededores.

Para dar solución a este problema se planteó biorremediar las aguas oleosas presentes en el grifo, para esto se han empleado microorganismos eficaces con el fin de reducir los hidrocarburos totales de petróleo contenidos en las mismas, esta técnica demanda una menor cantidad de inversión y de tiempo.

Además, se utiliza la temperatura del ambiente para la adaptación de los microorganismos.

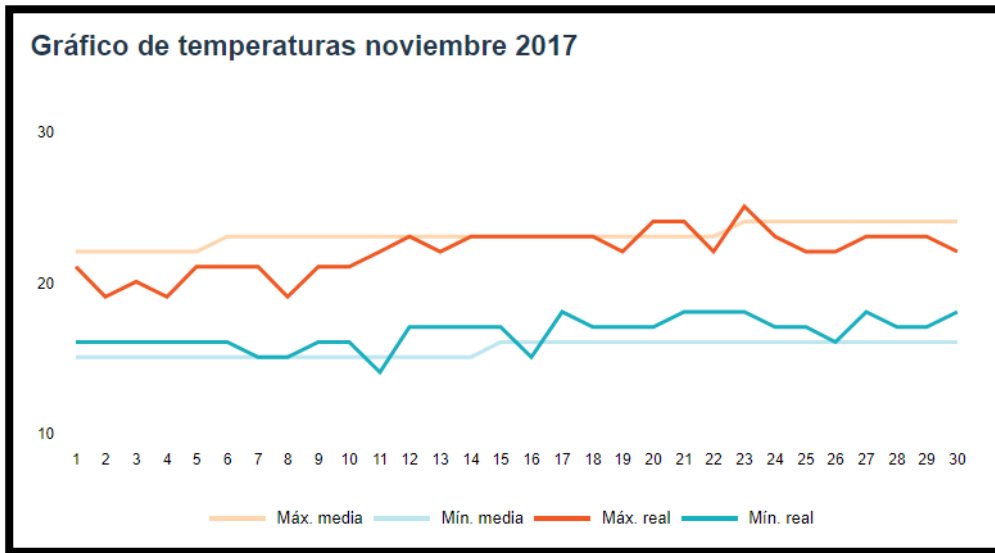
Gráfico 1: Temperatura de Octubre



Fuente: Accuweather 2017

Este gráfico muestra el promedio de temperaturas en Lima metropolitana del mes de octubre.

Gráfico 2: Temperatura de Noviembre



Fuente: Accuweather 2017

Este grafico muestra el promedio de temperaturas en Lima metropolitana del mes de noviembre.

## **1.2. Trabajos Previos.**

### **1.2.1. Antecedentes Internacionales**

Vera, D. (2016) quien realizo el trabajo “Composición de microorganismos eficientes autóctonos de un suelo contaminado por hidrocarburos”, el cual fue sustentado en la Escuela superior politécnica agropecuaria de Manabí Manuel Félix López – Facultad de ingeniería ambiental, se planteó como objetivo determinar la influencia de los suelos contaminados por hidrocarburos a la composición de microorganismos eficientes. Este trabajo busca la obtención de microorganismos eficaces de suelos contaminados y no contaminados con hidrocarburos, luego de obtenerlos se realizará una prueba de t-student. Además de probar cuales son las condiciones ambientales que permitirían obtener microorganismos eficaces en ambos casos. En cuanto a la metodología, se determinaron las propiedades físico – químicas del suelo, temperatura que tenía que estar entre 10 a 40 °C y TPH que tenían que tener una concentración de 20% del contenido total para lograr reducir de manera eficiente el contenido de HTP, luego se determinó la presencia de EM en UFC/ml para poder hacer una comparación de la composición de EMA en ambos suelos. Se concluyó que los resultados del análisis de EMAS en suelos contaminados y no contaminados mostraron diferencias significativas, pero en una comparación de solo suelo no contaminado obtenido de distintos puntos muestra una uniformidad en sus valores.

Mendo, W. (2014) quien realizo el trabajo “alternativa de biorremediación con bacterias autóctonas de sedimento contaminado de la laguna de Tomiahua, Veracruz, México”, el cual fue sustentado

en la Universidad Veracruzana – Facultad de ciencias biológicas y agropecuarias, se planteó como objetivo evaluar el proceso de biorremediación utilizando bacterias autóctonas que degradan hidrocarburos para contaminar sedimentos de la laguna de Tamiahua. Este trabajo busca adquirir conocimientos sobre la evaluación del proceso de biorremediación en columnas de acrílico a los sedimentos contaminados con hidrocarburos, empleando para ello bacterias autóctonas de la laguna. En cuanto a la metodología se decidió llevar a cabo dos fases, en el cual se identificó la bacteria *Ochrobactrum anthropi*, la cual comprende la instalación de un sistema de hipoventilación para estimular las actividades metabólicas. Estos puntos se instalaron en diferentes partes del área contaminada y a través de ello se inyectó la cepa bacteriana bioaumentada, después de esto se realizaron monitoreos constantes de agua y sedimentos para determinar la concentración de hidrocarburos. Concluyéndose que, el tratamiento con bacterias al finalizar el proceso de biorremediación mostró una degradación de 68.36%, además que el proceso de biorremediación fue considerado un éxito ya que es una alternativa eficiente con un bajo costo en comparación a otras tecnologías utilizadas en recuperación de sitios contaminados con hidrocarburos. Este trabajo presenta relación con la investigación, puesto que dicho material nos permite identificar los distintos tipos de técnicas de biorrecuperación, ya que su estructura hace, un enfoque clásico donde la observación, clasificación y rigurosidad del método centrado en el análisis de las partes buscan respuestas y considerar que primero se debía contribuir al conocimiento de los procesos de jerarquización de los gestores del cambio.

Martínez, M. (2013) quien realizó el trabajo “Remediación de agua contaminada con petróleo utilizando *Pennisetum clandestinum* como bioadsorbente”, el cual fue sustentado en la Universidad Central del



Ecuador – Facultad de ciencias químicas en Ecuador, se planteó como objetivo evaluar la capacidad de adsorción del kikuyo para ser utilizado como bioadsorbente para remover hidrocarburos de sistemas acuosos. Este trabajo busca adquirir conocimientos sobre el kikuyo una de las plantas invasoras que ha llegado al continente y en ciudades del Ecuador esta planta se puede encontrar en casi todas partes. Queda claro entonces que el kikuyo genera muchos residuos a los cuales no se les da ningún tipo de uso. Esta planta tiene el potencial de adsorber el petróleo del agua, esto ayudaría a solucionar los problemas de los ríos donde toneladas de crudo se impregnan en la vegetación, estos envenenan lentamente toda la cadena trófica de la selva ecuatoriana. En cuanto a la metodología, se buscó desarrollar una interpretación del fenómeno estudiado, para esto se usaron aguas contaminadas con hidrocarburos provenientes de shushufendi en distintas cantidades, con respecto al kikuyo, esta se secó al ambiente, se limpió y seco a 50°C durante 48 horas y se cortó en segmentos de 1 cm de largo. Concluyéndose que estadísticamente se determinó que el tiempo de contacto, la cantidad de contaminante y adsorbente influyen considerablemente en el proceso de bioadsorción. Este trabajo guarda relación con la investigación, puesto que dicho material nos permite identificar los distintos medios, por lo cual su estructura hace, como base, un enfoque clásico donde la observación, clasificación y rigurosidad del método centrado en el análisis de las partes buscan respuestas y considerar que primero se debía contribuir al conocimiento de los procesos de jerarquización de los gestores del cambio.

Bermúdez, J. (2012) quien realizo el trabajo “Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos a partir del uso de un consorcio bacteriano autóctono en la zona costera de Punta Majagua.

Cienfuegos, Cuba”, el cual sustentado en la Universidad central “Marta Abreu “de las villas – Facultad de química-farmacia en Cuba, se planteó como objetivo realizar el saneamiento ambiental de “la punta Majagua” mediante la biorremediación con el uso del consorcio bacteriano BIOIL-FC. Este trabajo busca adquirir conocimientos sobre el saneamiento y contaminación de del área costera de “la punta Majagua”, además de cuáles fueron las actividades realizadas en el proceso de bioaumentación de las bacterias BIOIL-FC. También nos habla de monitoreo de las variables fisicoquímicas y microbiológicas. En cuanto a la metodología, se bioaumentó el consorcio bacteriano además se aplicó un diseño de bloques completos. Se diseñó un área para la biorremediación de 115 x 75 m donde se añadieron 479 m<sup>3</sup> de residual mezclado con tierra fértil en proporciones de 1/3. Se aplicaron 76 640L de BIOIL-FC, producidos en un birreactor de 12 000L utilizando para su producción industrial un cultivo semicontinuo con adición y extracción de 7 000L cada 4h, hasta lograr el volumen final de producción. Concluyéndose que, las parcelas acondicionadas fueron acertadas para el tratamiento residual del material con petróleo, logrando condiciones ideales de homogeneidad, aireación y humedad, también se logró una reducción significativa de hidrocarburos después de 120 días de la aplicación del BIOIL-FC obteniéndose porcentajes de remoción del 90%. Se aplicaron 76 640L de BIOIL-FC, producidos en un birreactor de 12 000L utilizando para su producción industrial un cultivo semicontínuo con adiciones y extracciones de 7 000L cada 4h, hasta lograr el volumen final de producción.

Llado, S. (2012) quien realizó el trabajo “biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos pesados y caracterización de comunidades microbianas aplicadas” el cual fue sustentado en la Universidad Veracruzana – Facultad de ciencias biológicas en México, se planteó como objetivo generar un documento informativo sobre las

principales técnicas de tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos, así como diferentes criterios considerados en las diferentes técnicas remediativas que definen su efectividad. Este trabajo busca adquirir conocimientos sobre diferentes medidas de remediar las propiedades del suelo y el agua, estas técnicas determinan la relación entre microorganismos, características del contaminante. Los logros alcanzados oscilaron entre los 25 y 90 días. El diésel se logró remover en mayor cantidad gracias a los microorganismos especializados. En cuanto a la metodología, se procedió a la recopilación de información sobre distintos tipos de microorganismos, su función para degradar y su familia de procedencia, a su vez los distintos tipos de información buscada fueron comparadas entre si obteniendo resultados similares en muchos microorganismos. Concluyendo que las técnicas biorremediativas se mostraron en principio controvertidas ya que su aplicación era costosa, también se puede afirmar que las técnicas remediativas requieren una caracterización minuciosa, así como el grado del contaminante que se encuentra presente Se aplicaron 76 640L de BIOIL-FC, producidos en un birreactor de 12 000L utilizando para su producción industrial un cultivo semicontinuo con adiciones y extracciones de 7 000L cada 4h, hasta lograr el volumen final de producción.

Uad, I. (2012) quien realizo el trabajo “caracterización fisiológica y molecular de bacterias degradadoras de hidrocarburos aisladas en fondos marinos (del prestige)” el cual fue sustentado en la Universidad de Granada – Departamento de microbiología en España, se planteó como objetivo realizar el estudio taxonómico de los microorganismos aislados de muestras de agua, fuel y sedimentos marinos aislados a 4000 m de profundidad en la zona del hundimiento del buque Prestige. Este trabajo busca adquirir conocimientos acerca del estudio de 18

cepas bacterianas aisladas de agua y sedimentos. Las muestras fueron obtenidas a más de 4000 m de profundidad por lo cual este estudio puso de manifiesto la variabilidad metabólica dentro de las cepas del género *Basillus*, así mismo se estudió la capacidad de los microorganismos para producir bioemulgentes, tanto a nivel cuantitativo como cualitativo. En cuanto a la metodología el aislamiento de las 18 cepas, estas fueron seleccionadas por su capacidad en presencia de diferentes hidrocarburos, se emplearon también medios de cultivos a distintas concentraciones. Concluyéndose que todas las cepas presentaron la capacidad de reducir bioemulgentes a distintas concentraciones salinas y a distintos tiempos de incubación, además las cepas degradadoras de hidrocarburos aisladas de las muestras son capaces de crecer en un amplio rango de salinidad, pudiéndose establecer su óptima capacidad al 3% de sales. Este trabajo se relaciona con la investigación, puesto que este material nos permite identificar los distintos medios, por lo cual su estructura hace, como base, un enfoque clásico donde la observación, clasificación y rigurosidad del método centrado en el análisis de las partes buscan respuestas y considerar que primero se debía contribuir al conocimiento de los procesos de jerarquización de los gestores del cambio.

Echeverri, G, Manjarrez, G y Cabrera, M. (2010) quienes realizaron el trabajo “Aislamiento de bacterias potencialmente degradadoras de petróleo en hábitats de ecosistemas costeros en la bahía de Cartagena, Colombia” el cual fue sustentado en la Universidad de San Buenaventura – Facultad de Microbiología y Ambiente, se planteó como objetivo aislar e identificar cepas bacterianas con capacidad de para biodegradar petróleo en cuatro hábitats diferentes zonas aledañas a una industria petroquímica en la bahía de Cartagena. Este trabajo busca adquirir conocimiento acerca del petróleo y sus cuatro

fracciones, esto considerando que es el contaminante más propagado en el ambiente marino y por lo tanto es un problema global. En Cartagena la calidad del agua se ha visto afectada por las descargas de la industria del petróleo. La biorremediación de este contaminante es económica, práctica y versátil debido al aislamiento de bacterias puras y mixtas, estos consorcios microbianos tienen la capacidad de degradar petróleo. Existen bacterias capaces de utilizar el petróleo para su desarrollo como son las *Pseudomonas*, *Bacillus* sp, *Rhodococcus*, etc. Sin embargo, este proceso también tiene algunas limitaciones ya que son poco solubles en medio acuoso. En cuanto a la metodología, se utilizaron caldos de cultivo agar nutritivo marca Merck. El caldo pre-enriquecido se preparó con  $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$  (0.9 mg/L) marca R.A agregado ACPM al 1%. Todo esto en 1 litro de agua destilada suplementados con crudo de petróleo al 1%. Los medios fueron esterilizados en autoclave horizontal por 15 minutos a 20 libras de presión y 121°C. Concluyendo que, la tendencia de los cuatro hábitats fue la prevalencia de bacilos. Asimismo, se puede decir que la biorremediación de derrames de petróleo depende de los microorganismos especializados y de los factores ambientales adecuados. Este trabajo se relaciona con la investigación, puesto que este material nos permite conocer los distintos medios, para lo cual la estructura que se hace uso tiene como base un enfoque clásico donde la observación, clasificación y rigurosidad del método centrado en el análisis de las partes buscan respuestas y considerar que primero se debía contribuir al conocimiento de los procesos de jerarquización de los gestores del cambio.

Abad, G. (2008) quien realizó el trabajo "Tratamiento de fondos de tanques de petróleo usando el método de biorremediación" el cual fue sustentado en la Universidad técnica particular de Loja – Facultad de ciencias biológicas y ambientales en Ecuador, se planteó como

objetivo afinar un método para remediar mediante un proceso biológico los residuos procedentes de los fondos de tanques de petróleo. Este trabajo busca adquirir conocimientos acerca de los residuos con hidrocarburos y su disposición en el suelo y en el agua, además de demostrar cómo estos pasivos ambientales pueden degradarse hasta alcanzar parámetros legales con la ayuda de la biorremediación. En cuanto a la metodología, el proceso de biorremediación se realizó en un relleno sanitario del complejo de Indillana y se dividió en las siguientes etapas, que se ejecutaron simultáneamente, en un mini laboratorio montado sobre el lugar y en el laboratorio de la ciudad de Quito. Se tomaron muestras del lugar y se llevaron al laboratorio para medir sus propiedades físico-químicas, después de esto se aislaron bacterias con capacidad de degradar el hidrocarburo, de estas cepas aisladas, se seleccionaron las que presentaban mejor adaptabilidad a medios contaminados. Concluyendo con la demostración progresiva de hidrocarburo, como factor más crítico, también que la temperatura ideal para que estas cepas se desarrollen es entre 10 a 40 °C. Este trabajo se relaciona con la investigación, puesto que este material nos permite conocer los distintos medios, para lo cual la estructura que se hace uso tiene como base un enfoque clásico donde la observación, clasificación y rigurosidad del método centrado en el análisis de las partes buscan respuestas y considerar que primero se debía contribuir al conocimiento de los procesos de jerarquización de los gestores del cambio.

Araujo I. (2002) quien realizó el trabajo “biorremediación de aguas contaminadas con derivados de hidrocarburos utilizando cepas bacterianas autóctonas” el cual fue sustentado en el XVIII congreso interamericano de ingeniería sanitaria y ambiental en México. El cual se planteó como objetivo aislar las cepas autóctonas capaces de degradar hidrocarburos y realizar el tratamiento del contaminante

mediante inyección de aire y nutrientes. El trabajo busca adquirir conocimientos acerca de las principales bacterias que potencialmente degradan hidrocarburos, así también de demostrar que se puede acelerar el proceso mediante condiciones específicas de su ambiente. En cuanto a su metodología, el tratamiento se realizó en una planta piloto donde se acondicionaron mangueras que sirven para inyectar oxígeno a la muestra. Se concluyó que el potencial de degradación de los microorganismos alcanzo el 65.6% y 72% específicamente.

### **1.3. Teorías Relacionadas al tema**

#### **1.3.1. Marco teórico**

Según Lozano (2005) nos indica que la degradación de hidrocarburos utilizando microorganismos (bacterias), estos degradan rápidamente los hidrocarburos, pero para llevar a cabo esto se debe tener en cuenta los factores físicos como son la temperatura y el pH. La degradación de hidrocarburos utilizando bacterias es rápida, por esto se está estudiado constantemente cuales son los microorganismos que asimilen mejor los compuestos de hidrocarburos, así mismo debe cumplir con criterios específicos como son el no generar residuos tóxicos al final del proceso de biorremediación, el sitio a tratar no debe tener agentes inhibitorios. Con respecto a la degradación de hidrocarburos, muchas de las bacterias del suelo pueden descomponer moléculas de fenol, naftaleno y antraceno que contiene anillos de benceno. Además, con un tratamiento anaeróbico solo se podría degradar pequeñas cantidades de hidrocarburos, esto es un indicador que no se puede descomponer los hidrocarburos e un sistema anaeróbico (p.75)

Sin embargo, Escalante (2002) nos indica que entre las bacterias degradadoras encontramos *Pseudomonas sp* que degradan hidrocarburos, este microorganismo se puede hallar en agua y suelo, es la bacteria más utilizada por su propiedad de degradar hidrocarburos, siendo unas de las más importantes. Los microorganismos del género *pseudomonas* son importantes en la degradación del petróleo, también que los microorganismos más importantes en la degradación de hidrocarburos tanto en agua como suelo son *Pseudomonas sp.*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, etc. En el año 1998 se encontraron algunos cultivos que presentaron mayor capacidad biodegradativa como son *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter* y *Flavobacterium* y Tantaleán, también se encontró un cultivo mixto de *Pseudomonas sp.* Nativas con capacidad mayor para biodegradar el petróleo diésel D2 (p.35)

Cuadro 1: Bacterias degradadoras

BACTERIAS DEGRADADORAS DE HIDROCARBUROS			
COMPUESTO	BACTERIAS	COMPUESTO	BACTERIAS
<i>Alcanos</i>	<i>Acinetobacter sp</i>	<i>Mono-Aromaticos</i>	<i>Ralstonia sp.</i>
	<i>Actinomicetes sp</i>		<i>Rhodococcus sp</i>
	<i>Arthobacter</i>		<i>Pseudomonas sp</i>
	<i>Bacillus sp</i>	<i>Poli-aromaticos</i>	<i>Alteromonas sp.</i>
	<i>Micrococcus sp.</i>		<i>Arthobacter sp.</i>
	<i>Planococcus</i>		<i>Bacillus sp</i>
	<i>Rhodococcus sp</i>		<i>Mycobacterium</i>
	<i>Pseudomonas sp</i>		<i>Pseudomonas sp</i>

Fuente: Biodegradación de petróleo por bacterias.



La velocidad con la que se oxigena las muestras contiene los microorganismos ayudan a su desarrollo y su propiedad degradante, además Gomes (2008) sostiene que la biorremediación es fundamental para un proceso metabólico. La respiración microbiana explica que la cadena respiratoria produce reacciones de óxido-reducción cuyo fin es obtener energía, además cuando se utiliza el oxígeno aceptor de electrones; la respiración microbiana se realiza en medio aerobio, estos microorganismos de  $\text{CO}_2$ , agua y masa celular de las *Pseudomonas* por enzimas oxigenadas, a este proceso se le conoce como mineralización. Sin embargo, si se utilizan los sulfatos o dióxido de carbono, estas se producen en condiciones anaerobias (p. 25)

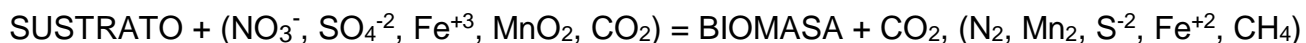
Se puede esquematizar la reacción de la siguiente manera:



Este tipo de degradación es más rápida y extensa, según Izquierdo (2013) el hidrocarburo es utilizado como fuente de carbono para que las bacterias con mecanismos respiratorios puedan crecer, lo cual implica una degradación gradual del contaminante. (p.17)

Por otro lado, en la degradación anaeróbica los hidrocarburos, requieren de otros aceptores finales de electrones diferentes al oxígeno. Estos ambientes anaeróbicos la acumulación de compuestos aromáticos es muy abundante y su degradación por parte de los microorganismos es un proceso de especial importancia. Las bacterias en estas condiciones emplean como aceptores finales de electrones moléculas inorgánicas tales como el  $\text{NO}_3^-$  o  $\text{NO}_2^-$  que son reducidos

hasta  $N_2$  (desnitrificado), el  $Fe^{+3}$  que es reducido a  $Fe^{+2}$  (reducción de hierro). (Blázquez 2009, p. 3)



Del esquema anterior se puede decir que generalmente el mejor aceptor de electrones produce mayor energía libre en una reacción completa, para el mismo sustrato orgánico el empleo de oxígeno genera mayor energía que el sustrato que emplea nitratos o sulfatos, logrado de esta manera que los microorganismos crezcan con mayor velocidad. Por lo tanto, la biorremediación aerobia es más eficiente que la anaerobia.

Con respecto a la temperatura para Redmond y Valentine (2012) los microorganismos, esta juega un papel muy importante en el crecimiento de la fisiología y la degradación de los hidrocarburos, así también la química del petróleo. Cuando la temperatura baja su viscosidad se incrementa y se reduce la volatilidad de los compuestos de bajo peso molecular y se eleva la solubilidad. (p. 17). Además, Das y Chandran (2011) nos indica que se puede observar también que a mayor temperatura la actividad microbiana aumenta, encontrándose mayor actividad enzimática, (p. 12).

Sin embargo, para Ron y Rosenberg (2002) cuando las bacterias crecen en medios con hidrocarburos o en presencia de estos producen sustancias tensoactivas (biosurfactantes) capaces de solubilizar compuestos no polares, como los que presenta el petróleo, además estas moléculas estimulan el crecimiento microbiológico, esto quiere

decir que ayuda a acelerar el proceso de biodegradación del hidrocarburo en zonas contaminadas, (p. 32)

Además, Edwards (2003) afirma que los biosurfactantes son más efectivos que los surfactantes químicos por que incrementan la biodisponibilidad de los compuestos hidrofóbicos además son más amigables con el medio ambiente (p. 37)

### 1.3.2. Marco conceptual

#### **Biorremediación**

La biorremediación se ha convertido en un tema muy importante para investigar ya que ha desarrollado estrategias para acelerar la degradación de contaminantes e suelos y aguas, también se puede decir que este proceso acelera la tasa de degradación natural de los hidrocarburos. (Ñustez, 2012, p15)

#### **Hidrocarburos**

Los hidrocarburos son sustancias formadas por átomos de carbono e hidrogeno, estas se encuentran en el ambiente e forma sólida líquida y gaseosa. Un ejemplo de ello es el metano que se encuentra en el petróleo y el gas natural. El peso molecular de los hidrocarburos es de 16.04 a 9000 en parafinas de alto peso molecular, además aporta el 96% de la energía mundial, el 40% lo da el petróleo, el 34% el carbón y el 22% el gas natural. (MEM, 2000, p.12)

#### **Microorganismos Eficaces**

Los Microorganismos Eficaces consisten en el cultivo mixto de microorganismos beneficiosos que pueden ser utilizados como inoculantes para incrementar la capacidad microbial de los suelos y plantas, esta puede generar incremento en la salud del suelo y el crecimiento de los cultivos. Los EM contienen especies seleccionadas, incluyendo poblaciones predominantes como las ácido lácticas, levaduras y bacterias fotosintéticas. (Higa y James, 2012, p.5).

### **Degradación de contaminantes en el agua**

La bioremediación es una técnica en apariencia reciente, la cual utilizan microorganismos los cuales degradan contaminantes y compuestos xenobióticos. Por otro lado, se encuentran en muy poca cantidad, por lo general menos del 1% de la masa microbiana. El consorcio microbiano, estimula al contaminante, por medio de la adición de fertilizantes específicos (nutrientes), que ayudan al aumento metabólico de interés llegando hasta un 10% de la colonia microbiana, de esta forma se procede de inmediato el proceso de descontaminación. Estudios exitosos que hablan de bioremediación de HTP en el cual se utilizaron cepas de origen nativo, en el caso de aguas como en suelos. Cuando los microorganismos terminan de degradar el contaminante, estos vuelven a su estado inicial, esto por falta de un sustrato para degradar, teniendo en cuenta eso, se explica que en la mayoría de los casos se utilizó la adición de oxígeno. (Fonturbel e Ibañez, 2004, p12).

### **Pseudomonas**

La *Pseudomonas* sp, su morfología colonial se caracteriza e algunos medios de cultivo como es el agar Cetrimicina es un vacilo curvo o recto aislado o gran negativa. Puede crear biofilm tiene aroma a fruta y es una de las principales bacterias causantes de infecciones e heridas, quemaduras y cuando se presenta cepas mucoides. Hay una alta mortalidad en casos de fibrosis quística. (Microbitos, 2009, p3).

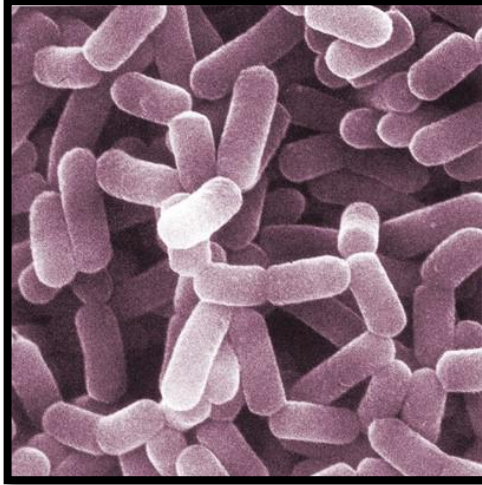
*Gráfico 3: Vista de la Pseudomona*



### **Lactobacillus spp**

Son microorganismo beneficioso para el ser humano en el ámbito de la salud, producen ácidos orgánicos y otros metabolismos inhibidores y otros derivados del metabolismo del oxígeno, así como compuestos aromáticos (diacetilo, acetaldehido), derivados deshidratados del glicerol (reuterina), enzimas bacteriolíticas, bacteriocinas y otros. (Samaniego y Sosa, 2001, p5)

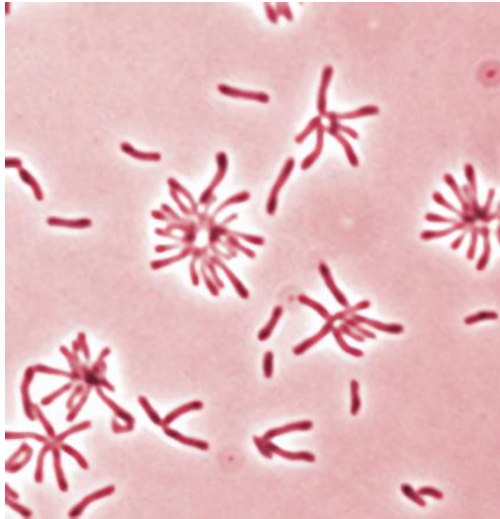
Gráfico 4: Vista de Lactobacillus



### **Rhodopseudomonas spp**

Se caracterizan por ser fotótrofas, además producen enzimas que degradan compuesto orgánicos e inorgánicos. Estas bacterias sintetizan sustancias útiles a partir de secreciones de raíces, materia orgánica, y gases dañinos usando la luz solar como fuente de energía. Las sustancias sintetizadas son los aminoácidos, ácidos nucleicos, sustancias bioactivas y azúcares. Estos son absorbidos directamente por ella y sirven como sustrato para incrementar la población de otros microorganismos eficientes. (Ecorrganicas Medellín, 2017, p7)

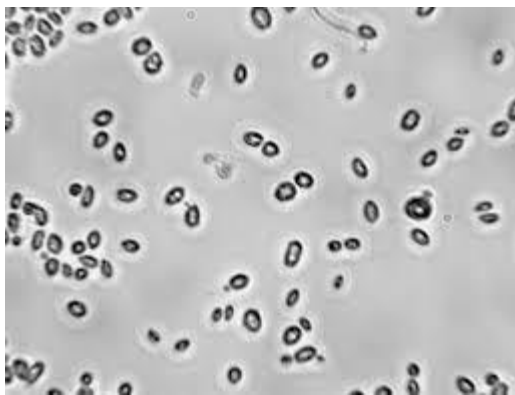
Gráfico 5: Vista de Rhodopseudomona



### **Saccharomyces spp**

Hongos microscópicos unicelulares, anaerobios, que son importantes por su capacidad para realizar la descomposición mediante fermentación de diversos cuerpos orgánicos, principalmente los azúcares o hidratos de carbono, produciendo distintas sustancias.( Microorganismos Eficaces,2013 , p.3)

Gráfico 6:Vista de Saccharomyces



*Figura 3: Saccharomyces spp*

## **Biodegradación microbiana de Hidrocarburos**

Se refiere a la capacidad que presenta los microorganismos para desarrollarse a expensas de la utilización de este tipo de compuesto químico, esto supone que los microorganismos crecen en compuestos biogénicos como los azúcares o las proteínas, estos compuestos han ido conviviendo a lo largo de los millones de años en el suelo, esto finalmente ha dado paso a la formación de crudos de petróleo actuales. (Solanas, 2009, p9-10).

## **Nutrientes**

Se adicionan a los microorganismos cuando estos se encuentran en concentraciones bajas de nutrientes (NPK), esta situación es desfavorable para la reproducción de los microorganismos. Es de entendimiento común que el nitrógeno y el fósforo limita la degradación de los microorganismos para los HTP (Martinez y Gaju, 2005, p12).

Gráfico 7: Difosfato de Amonio





### 1.3.3. MARCO LEGAL

Ley N° 28611 (Ley general del ambiente)

El LMP guarda relación entre el nivel de protección ambiental establecido para una fuente determinada y los niveles generales que se establecen en los ECA. La implementación de estos instrumentos debe asegurar que no se exceda la capacidad de carga de los ecosistemas, de acuerdo con las normas sobre la materia.

Ley N° 28245 (Ley del sistema nacional de gestión ambiental)

La presente Ley tiene por objeto asegurar de manera eficaz la realización de los objetivos ambientales de las entidades públicas; fortalecer los mecanismos de transectorialidad en la gestión ambiental, el rol que le corresponde al Consejo Nacional del Ambiente - CONAM, y a las entidades sectoriales, regionales y locales en el ejercicio de sus atribuciones ambientales a fin de garantizar que cumplan con sus funciones y de asegurar que se evite en el ejercicio de ellas superposiciones, omisiones, duplicidad, vacíos o conflictos.

D.S. N° 037-2008-PCM (Establecen Límites Máximos Permisibles de Efluentes Líquidos para el Subsector Hidrocarburos)

DECRETA: Artículo 1º.- Límites Máximos Permisibles (LMP) de Efluentes Líquidos para las Actividades del Subsector Hidrocarburos: Apruébese y adóptese como Límites Máximos Permisibles (LMP) de Efluentes Líquidos para las Actividades del Subsector Hidrocarburos, los valores que a continuación se detallan:

Cuadro 2: Límites máximos permisibles

Parámetro regulado	LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES mg/L = ppm (concentraciones en cualquier momento)
Hidrocarburos totales de petróleo (HTP)	20

*Fuente:* Decreto Supremo N° 037-2008-PCM (LMP) sub sector hidrocarburos

#### **1999 – EPA 1664A**

Material extraíble con n-hexano, tratado con gel de sílice. Un método basado en extracción, seguida de secado y gravimetría.

#### *Características:*

- Utiliza un solvente de baja toxicidad y costo.
- Demanda una intensa manipulación de la muestra y un aparato dedicado para la evaporación.
- Los resultados no se pueden correlacionar con los obtenidos por 418.1 si la muestra contiene compuestos de media o alta volatilidad (se evaporan parcialmente junto con el hexano).
- El tiempo requerido para el análisis de una muestra es considerable

## 1.4. Formulación al Problema

### PROBLEMA GENERAL

- ¿cuán eficientes son los microorganismos eficaces en la biodegradación de los hidrocarburos totales de petróleo (HTP) proveniente del efluente de grifo, Huarochirí 2017?

### PROBLEMAS ESPECIFICOS

- ¿De qué manera las condiciones fisicoquímicas influyen en la eficiencia de los microorganismos eficaces para reducir hidrocarburos totales de petróleo contenidos en efluentes de grifo Huarochirí 2017?
- ¿Cuánto reducen las condiciones biológicas el contenido de hidrocarburos totales de petróleo provenientes de efluentes de grifo Huarochirí 2017?

## 1.5. Justificación

Frente los problemas que sucede en el mundo entero a causa de la contaminación ocasionada por derrames de hidrocarburos en el mar y en los ríos, se intenta buscar soluciones que nos permita remediar dichos sitios contaminados utilizando microorganismos eficaces. Es necesario encontrar una pronta solución que nos permita mejorar las técnicas actuales, ya que con los últimos incidentes producidos en el Perú en el año 2016 las poblaciones cercan al río Chiriaco han sufrido los impactos producidos por el derrame de hidrocarburos.

Para dar una solución de fácil aplicación se utilizaran tres cepas de bacterias las cuales puede ser utilizada de manera insitu y ex.situ, además para dar un sustento teórico se ha tomado investigaciones hechas en el Perú y el extranjero.

Actualmente se ha realizado investigaciones con distintas cepas bacterias presentes en el agua y el suelo, siendo las Pseudomonas una de las más eficaces para reducir el contenido de hidrocarburos totales de petróleo (HTP). Teniendo en cuenta ello se ha ido ampliado la investigación de esta bacteria dejando de lado distintas cepas como es el Rhodococcus que también es degradadora de hidrocarburos. Para esta investigación se utilizarán consorcios bacterianos (microorganismos eficaces) y se evaluarán las condiciones en las cuales puedan desarrollar mejor su capacidad de degradar de manera más eficiente el contaminante.

La obtención y aplicación de estas bacterias es baja con respecto a otras técnicas de biorremediación, estas pueden ser aprovechado por distintas instituciones públicas y privadas que pretenda mejorar la calidad de sus aguas contaminadas con hidrocarburos.

## 1.6. Hipótesis

### HIPOTESIS GENERAL

- Los microorganismos eficaces biodegradan al menos el 65% de los hidrocarburos totales de petróleo proveniente del efluente de grifo petrolero, Huarochirí - 2017.

### HIPOTESIS ESPECIFICOS

- Las condiciones fisicoquímicas ayudan a degradar en un 50% los hidrocarburos totales de petróleo contenidos en efluentes de grifo, Huarochirí 2017
- Las condiciones Biológicas reducirán en un 50% el contenido de hidrocarburos totales de petróleo provenientes de grifo, Huarochirí 2017

## 1.7. Objetivo

### OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la eficiencia de los microorganismos eficaces en la biodegradación de los hidrocarburos totales de petróleo provenientes del efluente de grifo, Huarochirí 2017

### OBJETIVO ESPECIFICO

- Estimar las condiciones fisicoquímicas que influyen en la eficiencia de los microorganismos eficaces para reducir hidrocarburos totales de petróleo contenidos en efluentes de grifo, Huarochirí 2017
- ✓ Determinar cuánto reducen las condiciones biológicas el contenido de hidrocarburos totales de petróleo provenientes de grifo, Huarochirí 2017

## **II. MÉTODO**

### **2.1. Diseño de investigación**

Esta investigación se aplica se aplicó el nivel experimental, debido a que se manipulan las variables de estudio. (Hernández S, 2010, p121).

El diseño utilizado es el experimental puro ya que incluye dos grupos de comparación, uno de control y otro de prueba. Al grupo de control no se alteró sus características, mientras que a los tratamientos posteriores se les vario las condiciones que presentaban al inicio. Los experimentos puros llegan a incluir una o más variables independientes y una o más dependientes, también se puede utilizar pruebas y post pruebas para el análisis de la evolución de los grupos antes y después del tratamiento experimental. (Hernández S, 2010, p121).

Esta investigación es de tipo de estudio exploratorio, ya que el tema de estudio ha sido poco estudiado, además busca recabar información para que permita como resultado la posterior elaboración de una investigación descriptiva, (Hernández S, 2010, p121)

### **2.2. Variables, Operacionalización**

#### **Variable Independiente**

Eficiencia en el cultivo de microorganismos eficaces

VARIABLE INDEPENDIENTE

**Variable Dependiente**

Reducir hidrocarburos totales de petróleo contenido en efluentes



	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDADES
EFICIENCIA EN EL CULTIVO DE MICROORGANISMOS EFICACES	El termino condiciones culturales nos hace referencia a las condiciones en las que se desarrollaran los microorganismos eficaces. Los EM son la unión de tres grupos de microorganismos naturales que comúnmente se encuentran en los suelos y alimentos, estos no son nocivos ni tóxicos ni genéticamente modificados, por el contrario, son benéficos y altamente eficientes. Manual Práctico de uso de EM (2009 p.6)	Se emplearon diferentes condiciones de desarrollo para los microorganismos a fin de demostrar cuál de ellas es la mejor para degradar los HTP	Condiciones Físicoquímicas	pH	3 a 4
				Dispersante	gr/L
				Nutriente	gr/L
				temperatura	°C
			Material Biológico	Rhodopseudomonas spp.	ml
				Lactobacillus spp.	ml
				Saccharomyces spp.	ml
VARIABLE DEPENDIENTE					
REDUCIR HIDROCARBURO TOTALES DE PETROLEO CONTENIDO EN EFLUENTES	La degradación de los hidrocarburos totales de petróleo mediante microorganismos es una técnica muy conocida y aplicada. sin embargo, es lenta y poco eficiente en el caso de los suelos y su permeabilidad (suelos arcillosos y limo arcillosos). Texaco (2005)	Las aguas contaminadas con hidrocarburos serán tratadas mediante un tratamiento a base de microorganismos eficaces, en el cual los EM degradarán los HTP presentes en la muestra	Características Físicoquímicas de la muestra	pH	6 a 8
				Temperatura	°C
			Contenido de hidrocarburos totales de petróleo (HTP)	HTP antes del tratamiento	mg/L
				HTP después del tratamiento	mg/L

## **2.3. Población y muestra**

### **2.3.1. Población**

Para poder establecer la población se debe medir la unidad de análisis, de esta manera se podrá delimitar y estudiar. (Sampieri et al., 2010) cuando se haya definido la unidad de análisis, recién se puede delimitar la población sobre la cual se pretende generalizar los resultados. La población es el conjunto de todos los casos que concuerdan con una serie de especificaciones.

Teniendo en cuenta la definición de población se ha tomado como tal el efluente del grifo, el cual se utilizó para su posterior tratamiento.

### **2.3.2. Muestra**

El tipo de muestra que se realizara es la muestra no probabilística, ya que esta no depende de la probabilidad, por el contrario, dependen de las causas relacionadas a la investigación. (Sampieri et al., 2010) la muestra no probabilística depende de las causas relacionadas a las características de la investigación o de quien hace las muestras. Este procedimiento no es mecánico ni con bases en formulas probabilísticas sino de la toma de decisiones del investigador, también depende de los objetivos del estudio.

Por lo tanto, la muestra se ha tomado a juicio de experto, la cual es 1 litro para cada tratamiento de efluente conseguido.

## 2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad

### 2.4.1. Descripción del procedimiento

- **Elaboración de los reactores**
  - Se empleó material reciclado como frascos de plástico.
  - Se hizo 1 agujero en la parte superior del frasco de plástico, se selló contra presión en la burbuja de aire
  
- **Etapa de tratamiento**
  - Activación de microorganismos eficaces
  - Toma de muestra de efluentes del grifo petrolero
  - Medición del contenido de hidrocarburos totales de petróleo inicial de la muestra en el laboratorio de la UCV.
  - División de muestras en diferentes (botellas) de 1 litro de capacidad, estos contenedores a su vez estarán acondicionados con una bomba que inyectó aire a las muestras mediante una manguera pequeña.
  - Inoculación de microorganismos a la primera muestra, además de nutrientes y sales.

- Inoculación de microorganismos a la primera muestra además de un dispersante, sales y nutrientes.
- Inoculación de microorganismos a la primera muestra además de las sales y el nutriente, esto a fin de evaluar en qué condiciones culturales las bacterias se desarrollarán mejor.

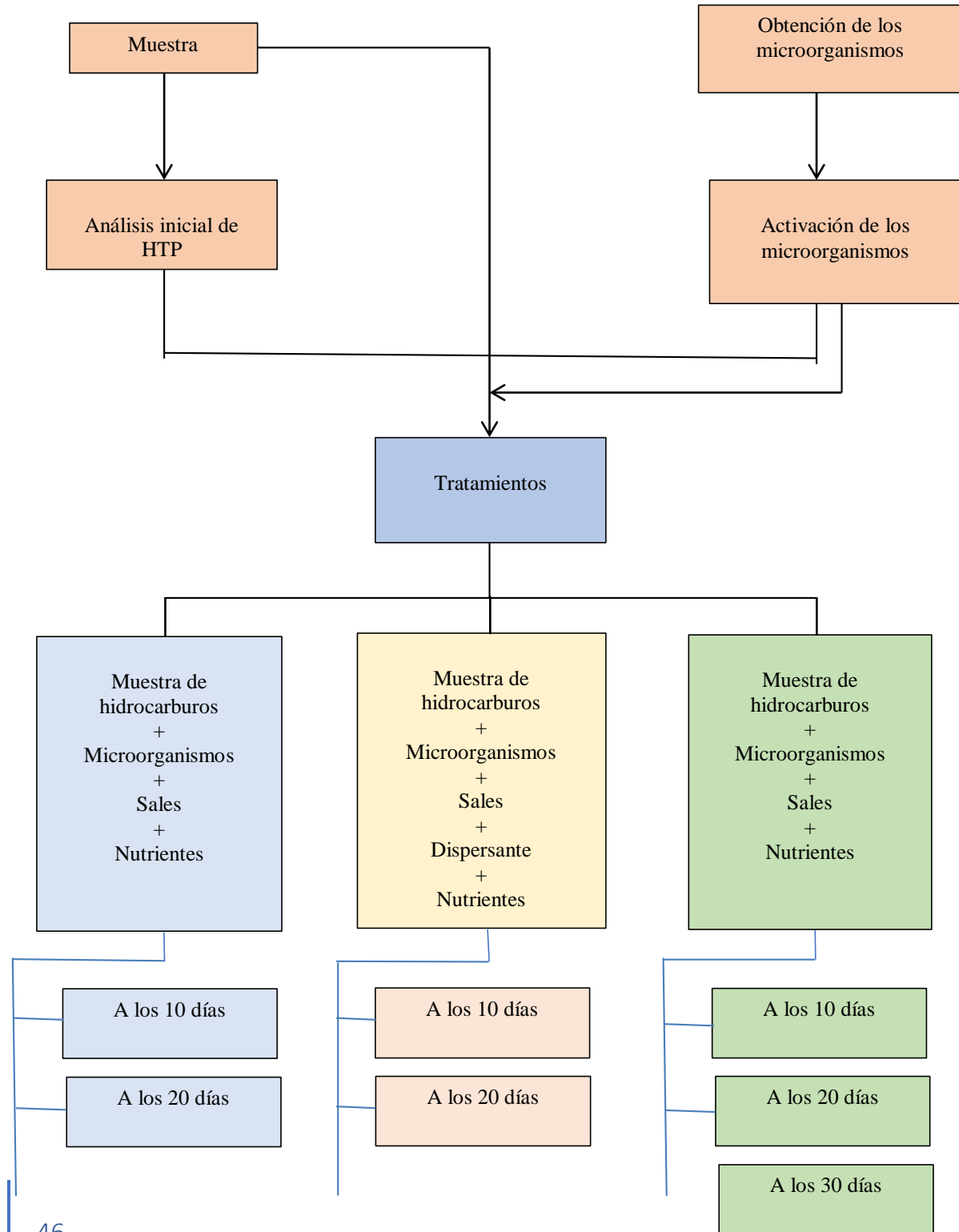
#### - **Tratamiento**

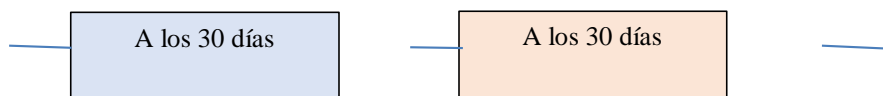
- Se conectó motores de 3L/min de capacidad que inyectaran oxígeno a las muestras mediante las mangueras de los reactores.
- Cada 10 días se realizaron toma de muestras de cada reactor para su análisis de hidrocarburos totales de petróleo.
- Durante el tiempo que la muestra se encuentre en los reactores, la inyección de oxígeno fue de manera constante (las 24 horas).

- **Análisis en el laboratorio**

- Se utilizaron peras de decantación a las cuales se le adicionaron 1 litro de agua, 1 ml de ácido, 50 ml de hexano y 10 ml de muestra.
- Se tapó la pera para poder mezclar todos los compuestos y luego se procedió a decantarlo en vasos precipitados de 50 ml que ya se pesaron antes.
- Luego se determinó la humedad a una temperatura de 105°C.
- El extracto fue evaporado para su posterior cuantificación por gravimetría.

## FLUJOGRAMA DE DISEÑO EXPERIMENTAL





Fuente: Elaboración propia.

## 2.4.2. Técnicas de recolección de datos

Son procedimientos utilizados para recabar datos e información objetiva para el logro de una investigación. (Sampieri et al., 2010) Para recolectar datos se disponen de una gran variedad de técnicas cualitativas como cuantitativas, a esto se le conoce como métodos mixtos, por esta razón en un mismo estudio podemos utilizar ambos tipos.

Para efectuar el siguiente trabajo de investigación se utilizó la técnica de observación.

## 2.4.2. Instrumentos

El instrumento de recolección de datos guarda relación entre lo real y lo conceptual, el primero tiene evidencia empírica y el segundo encuentra sentido a lo que buscamos describir del mundo real. (Sampieri et al., 2010) en toda etapa de investigación cuantitativa se aplican instrumentos para medir las variables incluidas en las hipótesis. Es efectiva cuándo el instrumento en realidad representa las variables que tenemos en mente.

Para realizar la presente investigación se utilizó la ficha de observación de laboratorio.

### 2.4.2. Validez y confiabilidad

Para validar la investigación fue imprescindible contar con la aprobación de cinco expertos especializados. El proyecto se presentó con una tabla de validación de instrumentos para ser calificada por los expertos.

*Cuadro 3: Validación*

Especialistas	Puntaje
Dr. Antonio Delgado Arenas	90%
Dr. Lorgio Valdivieso Gonzales	81%
Mg Alejandro Suarez Alvites	90%
Mg. Luis F. Gamarra Chavarri	95%

Los resultados que se obtuvieron son confiables ya que se realizaron en el laboratorio de biotecnología de la universidad Cesar Vallejo – Lima Este.

## 2.5. Métodos de análisis de datos

### 2.5.1. Recojo de datos



Los datos se recogieron en el laboratorio, mediante la ficha de observación de laboratorio, después de haber realizado la determinación de hidrocarburos totales de petróleo.

#### 2.5.2. Proceso de análisis de datos

Para analizar los datos se utilizó el programa MS Excel v. 2016, en el cual fueron utilizados los gráficos de dispersión para comparar los cambios que se obtuvieron de las diferentes muestras analizadas.

### **2.6. Aspectos éticos.**

En esta investigación se evidenciarán datos reales, los cuales se son corroborables ya que de acuerdo a la metodología y los resultados de la fase experimental se expondrán al público en general para su consulta según sea el caso.

No Obstante, la parte metodológica fue corroborada y validada por asesores expertos en el tema, y los análisis de las muestras se realizarán en el Laboratorio de Calidad de la Universidad César Vallejo.

### III. RESULTADOS

*Cuadro 4: Muestra inicial*

Muestra	PPM
M0	0,0147
M inicial	865,19
Diferencia	865.1753

Cuadro 5: Concentraciones

M1	EM + NUTRIENTES + SALES al 20%
M2	EM + NUTRIENTES + SALES + DISPERSANTE al 30%
M3	EM + NUTRIENTES + SALES al 50%

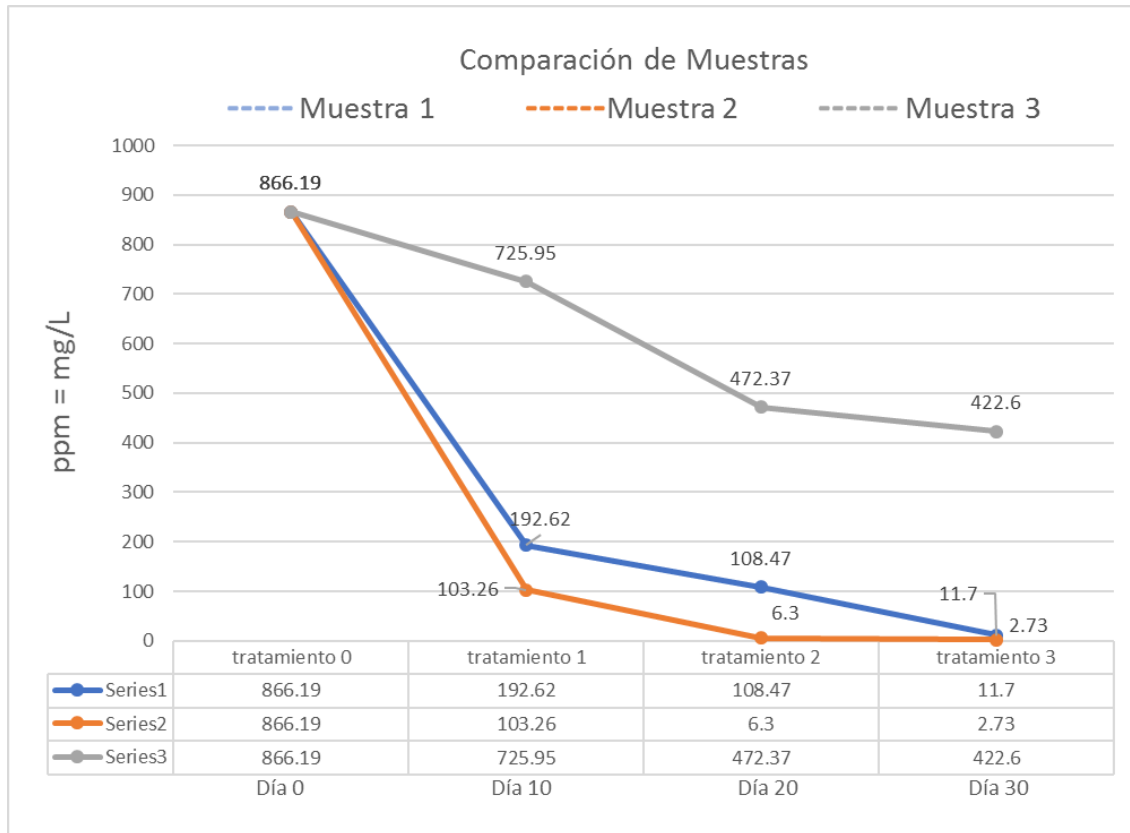
Cuadro 6: Tratamientos

	Tratamientos	mg/L	ppm	%
Muestra 1	Tratamiento 1	192,62	192,62	77,736
	Tratamiento 2	108,47	108,47	87,46
	Tratamiento 3	11,7	11,7	98,64
Muestra 2	Tratamiento 1	103,26	103,26	88,064
	Tratamiento 2	6,3	6,3	99,27
	Tratamiento 3	2,73	2,73	99,68

Muestra 3	Tratamiento 1	725,95	725,95	16,092
	Tratamiento 2	472,37	472,37	45,4
	Tratamiento 3	422,6	422,6	51,15

### Análisis de datos

Gráfico 8: Comparación de muestras



- La línea azul corresponde a la primera muestra la cual contenía un 20% de hidrocarburos, 5 ml de microorganismos eficaces, 1 gramos de nutrientes y 10 ml de sales, encontrando una concentración inicial de hidrocarburos totales de petróleo de 866,19 ppm. Después de diez días de tratamiento se redujo la concentración de hidrocarburos hasta

alcanzar 192,62 ppm, esto debido a que su capacidad de adaptación fue alta debido a que las sales y los nutrientes ayudaron a su desarrollo fisiológico.

- A los veinte días de tratamiento se logró reducir la concentración de hidrocarburos hasta alcanzar los 108,47 ppm, a diferencia del resultado obtenido a los diez días, el porcentaje de remoción disminuyó ya que los microorganismos estaban adaptados al medio contaminado, por lo tanto, solo se mantuvieron degradando todo lo que podían.
- A los treinta días de tratamiento la concentración de hidrocarburos totales petróleo alcanzó 11,7 ppm, lo cual cumple con los límites máximos permisibles establecidos en el Decreto Supremo N° 037-2008-PCM (LMP) sub sector hidrocarburos, lo cual indica que el agua debe tener como máximo una concentración de 20 ppm. Se llegó a reducir un 98,64 % el contenido de hidrocarburos totales de petróleo
- La línea naranja corresponde a la segunda muestra la cual contenía un 30% de hidrocarburos, 5 ml de microorganismos eficaces, 5g de dispersante, 1 g de nutrientes y 10 ml de sales, encontrando una concentración inicial de 866.19 ppm. Después de diez días de tratamiento se redujo la concentración de hidrocarburos hasta un 103,26 ppm, esto se debe a que los microorganismos se lograron adaptar rápidamente a su ambiente, además el dispersante ayudó a que degrade más rápido el hidrocarburo ya que este rompió la tensión superficial y disminuyó la viscosidad del contaminante.
- A los veinte días de tratamiento se logró reducir la concentración de hidrocarburos hasta alcanzar los 6,3 ppm lo cual cumple con el Decreto Supremo N° 037-2008-PCM (LMP) sub sector hidrocarburos el cual nos indica que el máximo de concentración en el agua debe ser de 20 ppm.
- A los treinta días de tratamiento la concentración se redujo hasta alcanzar 2,73 ppm, la disminución significativa de hidrocarburos totales de petróleo se debió a que el dispersante ayudó para que los microorganismos siguieran degradando, rompiendo la tensión superficial

y viscosidad del hidrocarburo. Se llegó a reducir un 99,68 % el contenido de hidrocarburos totales de petróleo

- La línea ploma corresponde a la tercera muestra la cual contenía 50% de hidrocarburos, 5 ml de microorganismos eficaces, 1 g de nutrientes y 10 ml de sales, encontrando una concentración inicial de 866,19 ppm. Después de diez días de tratamiento se redujo la concentración de hidrocarburos hasta un 725,95 ppm, esto se debe a que la capacidad de adaptación de los microorganismos fue menor a comparación de las otras dos muestras fue menor, esto se debe a que la concentración de hidrocarburos fue mayor y por lo tanto se necesitó más tiempo para tener un porcentaje de remoción significativo.
- A los veinte días de tratamiento se logró reducir la concentración de hidrocarburos hasta alcanzar 472,27 ppm, se aprecia que los microorganismos se comienzan a adaptarse a su entorno.
- A los treinta días de tratamiento la concentración se redujo hasta alcanzar 422,6 ppm, no se aprecia una reducción significativa con respecto a los veinte días, esto quiere decir que, a mayor concentración de hidrocarburos totales de petróleo, los microorganismos necesitan más tiempo para adaptarse a su medio y degradar el contaminante. Se redujo un 51,15% el contenido de HTP.

#### IV. DISCUCION

- La degradacion de HTP utilizando microorganismos es rapida ya que los tratamientos duraron treinta dias y lograron reducir 98%, 99% y 51% del contenido de hirocarburos respectivamente, ya que para que se de esto se deben tener en cuenta la temperatura del ambiente y la concentracion de los mismos hidrocarburos el cual fue de 20% para la primera muestra, 30% para la segunda muestra y 50% en la tercera muestra. Lozano (2005) confirma que la degradacion con microorganismos es rapida, y los factores fisicos que influyen de manera directa son la temperatura, que a mayor sea esta logran degradar una mayor contidad del contenido de hidrocarburos y el pH que cuando baja hasta 3 o 4, los microorganismos se desarrollan mejor en su medio. Vera (2016) determino las condiciones fisicas en las cuales los microorganismos se desarrollan mejor son la temperatura que debe de estar entre 10 a 40 °C y la concentracion de hidrocarburos totales de petroleo que debian de estar al 20% de concetracion para asi degradar de manera eficiente el el contenido de HTP. En comparacion con Vera, se demostro que no solo al 20% de concentracion se logran reducir de manera eficiente los microorganismos, sino tambien al 30% y al 50% de concentracion de hidrocarburos totales de petroleo, por lo cual el metodo utilizado en este trabajo fue mas eficiente.

- Para degradar los hidrocarburos se utilizaron Rhodopseudomonas, Lactobacillus y Saccharomyces, los cuales son consorcios bacterianos que degradan hidrocarburos, según Escalante (2012) entre las bacterias capaces de degradar hidrocarburos totales de petróleo son las Pseudomonas y Rhodococcus como nos indica un estudio realizado en el año 1998 sobre la capacidad de degradación de los microorganismos. Llado (2012) utilizó biorremediación con comunidades microbianas aplicadas en una planta con biorreactores de 12000 litros, en dicho boletín informativo afirmó que la degradación de los microorganismos depende de la concentración de los hidrocarburos, además que las bacterias que más degradan los hidrocarburos son las Pseudomonas y los Lactobacillus en un periodo de 25 a 90 días. Se discute con Llado en el volumen del contaminante utilizado para su remoción ya que en este trabajo solo se utilizaron 3 litros de muestra, además del tiempo en el que los microorganismos degradaron la concentración de hidrocarburos totales de petróleo el cual fue de un mes.
- Se utilizaron condiciones aeróbicas y la adición de nutrientes, esto mediante oxigenación de las muestras para que los microorganismos se puedan desarrollar adecuadamente, al cabo de un mes se logró reducir 99%, 98% y un 51%, para Araujo (2002) quien también utilizó el método de oxigenación y adición de nutrientes en microorganismos para reducir el contenido de hidrocarburos en un tiempo determinado quienes lograron degradar un 65.6% y 72% respectivamente, este método que fue a una escala mayor, se logró reducir una mayor cantidad de hidrocarburos totales de petróleo en menor cantidad de tiempo, el cual fue de un mes y el de Araujo fue de 4 meses, además se utilizó el mismo nutriente (difosfato de amonio) para el desarrollo de los microorganismos el cual logró degradar 98,64% de HTP para la primera muestra y un 51% de HTP en la tercera muestra,. Otro componente que diferenció la eficiencia de este trabajo fue la aplicación del dispersante, el cual rompió la tensión superficial del

hidrocarburo, es decir ayudo a que el agua y el contaminante se junten, facilitando su degradación y del cual se logró degradar un 99,62% siendo este método más efectivo en relación con la cantidad de hidrocarburos en el agua.

## **V. CONCLUSIONES**



Existen diferencias entre la eficiencia de degradación que utiliza Vera (2016), la cual fue de un 20% de concentración de hidrocarburos totales de petróleo, mientras que en este trabajo se determinó que las condiciones óptimas para degradar hidrocarburos son 20%, 30% y 50%. Sin embargo, las condiciones de temperatura fueron similares, ya que se mantuvieron entre los 10 a 40 °C, indicando que entre estas temperaturas los microorganismos degradan hidrocarburos totales de petróleo. Los cambios fueron observados a partir de los 10 días de tratamiento, llegando a un punto máximo de degradación a los 30 días.

La técnica de inyección de oxígeno resultó efectiva, ya que proporcionó un ambiente óptimo para que los microorganismos se desarrollen muy rápido, también en la adición de nutrientes estimularon la degradación de los hidrocarburos.

La aplicación del dispersante facilitó la reducción del contenido de los HTP porque redujo la viscosidad del hidrocarburo y permitió una degradación más eficiente en la segunda muestra tratada logrando el mayor porcentaje de remoción de hidrocarburos del petróleo.

## **VI. RECOMENDACIONES**

La concentración de microorganismos, nutrientes, sales y dispersante sea la misma para todas las muestras que se deseen analizar.

Se debe mantener encendido el motor que proporciona el aire a la muestra durante las 24 horas al día, de esta manera los microorganismos tendrás las condiciones óptimas para su desarrollo fisiológico.

Mantener en un espacio adecuado y con ventilación los reactores donde se está llevando a cabo la experimentación.

Apuntar los cambios que se generen en las muestras como son el olor, el color y la densidad del contaminante, estos son indicadores de su reducción.

## VII. REFERENCIAS

- ABAD, Guido. (2008) quien realizo el trabajo “Tratamiento de fondos de tanques de petróleo usando el método de biorremediación” el cual fue sustentado en la Universidad técnica particular de Loja.
- *Accuweather-2017 temperatura del mes de octubre y noviembre del 2017. [En línea]. Perú: 2017 [10 de diciembre 2017]. Disponible en: <http://temperatura-mes-octubre-y-noviembre>.*
- ARAUJO VILCHES, Ismenia. “Biorremediación de aguas contaminadas con derivados hidrocarburos utilizando cepas bacterianas autóctonas”. En: *actas del XXVIII congreso internacional de ingeniería sanitaria y ambiental*. Cancún, 27–31 octubre 2002, p. 3–4.
- BERMÚDEZ, Jelvys. (2012) *Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos a partir del uso de un consorcio bacteriano autóctono en la zona costera de Punta Majagua. Cienfuegos, Cuba. Tesis (Magister en Ciencias técnicas) Cienfuegos: Universidad central “Marta Abreu “de las villas, 2012.*
- CAMASA, Adrián. (2010)” *Remediación de suelos contaminados en operaciones de perforación y manejo del petróleo crudo en la selva peruana*”. Universidad nacional de ingeniería -Facultad de gas natural y petroquímica. Lima: Perú.
- ECHEVERRI, Gustavo, Manjarrez, Ganiveth y Cabrera, Melody. (2010) quienes realizaron el trabajo “*Aislamiento de bacterias potencialmente degradadoras de petróleo en hábitats de ecosistemas costeros en la bahía de Cartagena, Colombia*” el cual fue sustentado en la Universidad de San Buenaventura.

- ESCALANTE, R. *Biodegradación de crudo de petróleo en terrarios*. Tesis (Magister en biotecnología) Lima: UNMSM. Facultad de Farmacia y bioquímica, 2002. Cap.5 p.1.
- GOMES. R, [et al] *Factores bióticos y abióticos que condicionan la biorremediación por Pseudomonas en suelos contaminados por hidrocarburos*. Nova: publicaciones en ciencias biomédicas. 6(9). 4–5. Enero del 2008.
- La lista negra: más de 130 desastres por vertidos de petróleo desde 1960. [En línea]. España: 2010. [28 de abril 2017]. Disponible en: <http://www.20minutos.es/noticia/728547/0/vertidos/petroleo/claves/>
- Lozano, N. *Biorremediación de ambientes contaminados con hidrocarburos*. 2ª. Ed. Colombia: Tecnogestión. 2005. 2–3 p.
- LLADO, S. (2012) quien realizo el trabajo “*biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos pesados y caracterización de comunidades microbianas aplicadas*” el cual fue sustentado en la Universidad Veracruzana.
- MARTÍNEZ, M. *Remediación de agua contaminada con petróleo utilizando pennisetu clandestinum como bioadsorbente*. Ecuador: Universidad Central del Ecuador, 2013.
- MENDO, W. *Alternativa de biorremediación con bacterias autóctonas de sedimento contaminado de la laguna de Tomiahua, Veracruz, México*. Veracruz: Universidad Veracruzana, 2014.

- Microorganismos benéficos y efectivos para una agricultura y medio ambiente sostenible. [En línea]. EEUU: 2012. [15 de abril 2017]. Disponible en: [http://fundases.com/userfiles/file/MicroorG\\_Benef\\_Efect.pdf](http://fundases.com/userfiles/file/MicroorG_Benef_Efect.pdf)
- ÑUSTEZ, Diana. *Biorremediación para la degradación de hidrocarburos totales presentes en los sedimentos de una estación de servicio de combustible. Tesis (Maestría en Ecotecnología)*. Pereira: Universidad tecnológica de Pereira, 2012. 26 p.
- Petro-Perú confirma nuevo derrame de petróleo en Loreto. [En línea]. Perú: 2016 [28 de abril 2017]. Disponible en: <http://elcomercio.pe/peru/loreto/petro-peru-confirma-nuevo-derrame-petroleo-loreto-227060>.
- Pseudomonas aeruginosa, P. putida, P. fluorescens; Morfología, medios de cultivo, enfermedades y más. [En línea]. 2011. [3 Agosto, 2011]. Disponible en: <http://microbitosblog.com/category/bacterias-generos-y-especies/>
- SAMPIERI, Roberto [et al]. *Metodología de la investigación, 5ª. Ed. México, D.F: MCGRAWHILL, 2010. 172-200 p.* ISBN: 978-15-0291-9.
- ALONSO, Atenea [et al]. *“Métodos de investigación de enfoque experimental”*. Colombia: 3º Educación Especial. 2008.p5.
- UAD, I. (2012) quien realizo el trabajo *“caracterización fisiológica y molecular de bacterias degradadoras de hidrocarburos aisladas en fondos marinos (del prestigio)”* el cual fue sustentado en la Universidad de Granada.

- VERA, Darío. *Composición de microorganismos eficientes autóctonos de un suelo contaminado por hidrocarburos*, Escuela superior politécnica agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, 2016.

## ANEXOS

### Instrumentos

FICHA DE OBSERVACION DE LABORATORIO						
Experimento						
Encargado						
Lugar						
Fecha						
MUESTRA			pH	Temperatura	Contenido de HTP	
CODIFICACIÓN	CONTENIDO	MEDICIONES			mg/L	%
MUESTRA 1	EM - NUTRIENTE - SALES	Repetición 1				
		Repetición 2				
		Repetición 3				
MUESTRA 2	EM - NUTRIENTE - SALES - DISPERSANTE	Repetición 1				
		Repetición 2				
		Repetición 3				
MUESTRA 3	EM - NUTRIENTE - SALES	Repetición 1				
		Repetición 2				
		Repetición 3				

## **Validación de los instrumentos**

### **FICHAS DE VALIDACION**



## Matriz de consistencia

EFICIENCIA EN EL CULTIVO DE MICROORGANISMOS EFICACES PARA REDUCIR HIDROCARBUROS TOTALES DE PETROLEO CONTENIDOS EN FUENTES DEL GRIFO, HUAROCHIRI - 2017									
PROBLEMA	OBJETIVO	HIPOTESIS	VARIABLE INDEPENDIENTE						
PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS GENERAL	EFICIENCIA EN EL CULTIVO DE MICROORGANISMOS EFICACES	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDADES	
¿Cuan eficientes son los microorganismos eficaces en la biodegradacion de los hidrocarburos totales de petroleo (HTP) proveniente del efluente de grifo, Huarochiri 2017?	Evaluar la eficiencia de los microorganismos eficaces en la biodegradacion de los hidrocarburos totales de petroleo provenientes del efluente de grifo, Huarochiri 2017	Los microorganismos eficaces biodegradan al menos el 65% de los hidrocarburos totales de petroleo proveniente del wefluente de grifo petrolero, Huarochiri - 2017.		El termino condiciones culturales nos hace referencia a las condiciones en las que se desarrollaran los microorganismos eficaces. Los EM son la union de tres grupos de microorganismos naturales que comunmente se encuentran en los suelos y alimentos, estos no son nocivos ni toxicos ni geneticamente modificados, por el contrario son beneficos y altamente eficientes. Manual Practico de uso de EM (2009 p.6)	se emplearan diferentes condiciones de desarrollo para los microorganismos a fin de demostrar cual de ellas es la mejor para degradar los HTP	Condiciones Fisicoquímicas		pH	3 a 4
								Dispersante	gr/L
								Nutriente	gr/L
							temperatura	°C	
			Material Biológico		Rhodopseudomonas spp.	ml			
				Lactobacillus spp.	ml				
				Saccharomyces spp.	ml				
PROBLEMA ESPECIFICO	OBJETIVO ESPECIFICO	HIPOTESIS ESPECIFICO	VARIABLE DEPENDIENTE						
¿De qué manera las condiciones fisicoquímicas influyen en la eficiencia de los microorganismos eficaces para reducir hidrocarburos totales de petróleo contenidos en efluentes de grifo Huarochiri 2017?	Probar las condiciones fisicoquímicas que influyen en la eficiencia de los microorganismos eficaces para reducir hidrocarburos totales de petroleo conteidos en efluentes de grifo, Huarochiri 2017	Existen ciertas condiciones fisicoquímicas que ayudan a degradar en un 50% los hidrocarburos totales de petroelo contenidos en efluentes del grifo, Huarochiri 2017	REDUCIR HIDROCARBURO TOTALES DE PETROLEO CONTENIDO EN EFLENTE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDADES	
				La degradacion de los hidrocarburos totales de petroleo mediante microorganismos es una tecnica muy conocida y aplicada. sin embargo, es lenta y poco eficiente en el caso de los suelos y su permeabilidad (suelos arcillosos y limo arcillosos). Texaco (2005)	Las aguas contaminadas con hidrocarburos seran tratadas mediante un tratamiento a base de microorganismos eficaces, en el cual los EM degradaran los HTP presentes en la muestra	Características Fisicoquímicas de la muestra		pH	6 a 8
	Temperatura	°C							
Contenido de hidrocarburos totales de petróleo (HTP)		HTP antes del tratamiento				mg/L			
		HTP despues del tratamiento	mg/L						

## Activación de microorganismos eficaces



## Elaboración de los reactores



## Inicio del tratamiento





## Análisis en el laboratorio



Yo, Rita Jaqueline Cabello Torres, docente de la Facultad de Ingeniería y Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental de la Universidad César Vallejo Lima Este, revisor (a) de la tesis titulada:

"Eficiencia en el cultivo de microorganismos eficaces para reducir hidrocarburos totales de petróleo contenidos en fuentes de grifo, Huarochiri - 2017", del (de la) estudiante Jason Leonardo Colca Rodríguez constato que la investigación tiene un índice de similitud de 11.1% verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin.

El/la suscrito (a) analizó dicho reporte y concluyó que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

Lugar y fecha... UCV - LIMA ESTE ... 17-10-2018



Firma

Mg. Rita Jaqueline Cabello Torres

DNI: 08947396

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Representante de la Dirección / Vicerrectorado de Investigación y Calidad	Aprobó	Rectorado
---------	----------------------------	--------	---	--------	-----------

TURNITIN JASON.pdf - Adobe Acrobat Pro DC

Archivo Edición Ver Ventana Ayuda

Inicio Herramientas scan.pdf TURNITIN JASON.pdf x

67 / 72 75% Compartir

### suelos

INFORME DE ORIGINALIDAD

14%	13%	0%	7%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://intranet.cip.org.pe">intranet.cip.org.pe</a>	1%
Fuente de Internet		
2	<a href="http://www.dspace.uce.edu.ec">www.dspace.uce.edu.ec</a>	1%
Fuente de Internet		
3	Submitted to Universidad Andina del Cusco	1%
Trabajo del estudiante		
4	<a href="http://www.researchgate.net">www.researchgate.net</a>	1%
Fuente de Internet		
5	Submitted to Universidad Nacional del Centro del Peru	1%
Trabajo del estudiante		

09:43 19/10/2018







# UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

## AUTORIZACIÓN DE LA VERSIÓN FINAL DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

CONSTE POR EL PRESENTE EL VISTO BUENO QUE OTORGA EL ENCARGADO DE INVESTIGACIÓN DE

LA ESCUELA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Mg. FERNANDO ANTONIO SERRAQUE INCCAHUASI

A LA VERSIÓN FINAL DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA:

COLCA RODRÍGUEZ, JASON LEONARDO

INFORME TITULADO:

EFICIENCIA EN EL CULTIVO DE MICROORGANISMOS EFICACES

PARA REDUCIR HIDROCARBUROS AROMÁTICOS DE PETRÓLEO CONTINUOS EN EFLUENTES DE CAIFCO

PARA OBTENER EL TÍTULO O GRADO DE:

INGENIERO AMBIENTAL

SUSTENTADO EN FECHA:

13-12-17

NOTA O MENCIÓN:

14

FIRMA DEL ENCARGADO DE INVESTIGACIÓN

