



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

Eficiencia en la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.*, Ancón - Lima, 2023

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Ingeniero Ambiental

AUTORES:

Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio (orcid.org/0000-0003-0875-3202)

Collantes Soto, Jean Pierre (orcid.org/0000-0001-6701-0738)

ASESOR:

Dr. Jave Nakayo, Jorge Leonardo (orcid.org/0000-0003-3536-881X)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Calidad y Gestión de los Recursos Naturales

LÍNEA DE RESPONSABILIDAD SOCIAL UNIVERSITARIA:

Desarrollo sostenible y adaptación al cambio climático

LIMA - PERÚ

2023

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación se dedica, en primer lugar, a nosotros mismos. Es un tributo a la determinación, el esfuerzo y la dedicación que hemos depositado en nuestra carrera. Refleja el fruto de innumerables horas de estudio, la perseverancia frente a los desafíos y la pasión inquebrantable que alimentó nuestro camino académico.

Extendemos esta dedicación a nuestros padres y a nuestras amistades cercanas, cuyo apoyo incondicional ha sido un faro constante en nuestro viaje. Sus palabras de aliento y sus consejos sabios nos han proporcionado la fuerza y la dirección necesarias para seguir adelante incluso en los momentos más difíciles.

Además, queremos honrar a todas las personas que han cruzado nuestras vidas y que han dejado una huella duradera. Cada encuentro, cada risa compartida, cada debate y cada gesto de apoyo, han jugado un papel en conformar las personas y los estudiantes que somos hoy.

AGRADECIMIENTO

Deseamos expresar nuestro más sincero agradecimiento a nuestro mentor, el Dr. Jave Nakayo, Jorge Leonardo, así como a nuestros asesores externos. Valoramos profundamente su dirección y la sabiduría que han impartido en el desarrollo de esta materia.

Nuestra gratitud más profunda se dirige a nuestras familias, que son el impulso central y la razón detrás de nuestra perseverancia en cumplimiento de nuestros sueños. Su apoyo inquebrantable ha sido un pilar fundamental en nuestro camino.

Queremos reconocer también a todos los docentes que nos han guiado a través de las distintas materias de nuestra carrera. Su conocimiento y dedicación han sido esenciales para nuestro crecimiento académico. De manera particular, deseamos destacar a nuestra docente, Martha Kelly Aviles Pavon, cuyo compromiso con la enseñanza de alta calidad ha dejado una impresión duradera en nosotros. Finalmente, queremos expresar nuestra gratitud a nuestros amigos. Apreciamos todos los buenos momentos que hemos pasado juntos y valoramos profundamente su apoyo y amistad.



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

Declaratoria de Autenticidad del Asesor

Yo, JAVE NAKAYO JORGE LEONARDO, docente de la FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA de la escuela profesional de INGENIERÍA AMBIENTAL de la UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO SAC - LIMA NORTE, asesor de Tesis titulada: "EFICIENCIA EN LA BIODEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS EN AGUA DE MAR POR UN CO-CULTIVO DE ASPERGILLUS SPP. Y ENTEROBACTER SPP., ANCÓN - LIMA, 2023", cuyos autores son COLLANTES SOTO JEAN PIERRE, BUSTAMANTE GARCIA CRISTHIAN INOCENCIO, constato que la investigación tiene un índice de similitud de 15.00%, verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin, el cual ha sido realizado sin filtros, ni exclusiones.

He revisado dicho reporte y concluyo 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.

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 vigentes de la Universidad César Vallejo.

LIMA, 09 de Agosto del 2023

Apellidos y Nombres del Asesor:	Firma
JAVE NAKAYO JORGE LEONARDO DNI: 01066653 ORCID: 0000-0003-3536-881X	Firmado electrónicamente por: JJAVERN el 17-08- 2023 21:08:06

Código documento Trilce: TRI - 0646395





UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

Declaratoria de Originalidad de los Autores

Nosotros, BUSTAMANTE GARCIA CRISTHIAN INOCENCIO, COLLANTES SOTO JEAN PIERRE estudiantes de la FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA de la escuela profesional de INGENIERÍA AMBIENTAL de la UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO SAC - LIMA NORTE, declaramos bajo juramento que todos los datos e información que acompañan la Tesis titulada: "EFICIENCIA EN LA BIODEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS EN AGUA DE MAR POR UN CO-CULTIVO DE ASPERGILLUS SPP. Y ENTEROBACTER SPP., ANCÓN - LIMA, 2023", es de nuestra autoría, por lo tanto, declaramos que la Tesis:

1. No ha sido plagiada ni total, ni parcialmente.
2. Hemos mencionado todas las fuentes empleadas, identificando correctamente toda cita textual o de paráfrasis proveniente de otras fuentes.
3. No ha sido publicada, ni presentada anteriormente para la obtención de otro grado académico o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados.

En tal sentido asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de la información aportada, por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Nombres y Apellidos	Firma
COLLANTES SOTO JEAN PIERRE DNI: 74821810 ORCID: 0000-0001-6701-0738	Firmado electrónicamente por: JCOLLANTESSO el 29-08-2023 14:32:35
BUSTAMANTE GARCIA CRISTHIAN INOCENCIO DNI: 72196408 ORCID: 0000-0003-0875-3202	Firmado electrónicamente por: CBUSTAMANTEGAR el 15-08-2023 14:29:35

Código documento Trilce: INV - 1362605



ÍNDICE DE CONTENIDOS

Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Declaratoria de Autenticidad del Asesor	iv
Declaratoria de Originalidad de los Autores	v
Índice de tablas	vii
Índice de figuras	viii
Índice de abreviaturas	x
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
III. METODOLOGÍA	15
3.1. Tipo y diseño de investigación	15
3.2. Variables y operacionalización	15
3.3. Población, muestra, muestreo, unidad de análisis	17
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	18
3.5. Procedimientos	20
3.6. Método de análisis de datos	39
3.7. Aspectos éticos	39
IV. RESULTADOS	40
V. DISCUSIÓN	70
VI. CONCLUSIONES	80
VII. RECOMENDACIONES	82
REFERENCIAS	83
ANEXOS	

Índice de tablas

Tabla 1.	Promedio de calificación del Instrumento de recolección de datos. ..	19
Tabla 2.	Análisis de varianza para la degradación de HTP.....	40
Tabla 3.	Rangos promedio de la prueba de Friedman para la degradación de HTP.....	41
Tabla 4.	Estadísticos de prueba de Friedman para la degradación de HTP. ..	42
Tabla 5.	Porcentaje de degradación.	42
Tabla 6.	Caracterización de la muestra.	45
Tabla 7.	Condiciones de operación para microorganismos.	47
Tabla 8.	Medición de parámetros fisicoquímicos.	49
Tabla 9.	Mediciones de Temperatura (°C) en el tratamiento.....	52
Tabla 10.	Mediciones de pH en el tratamiento.....	54
Tabla 11.	Mediciones de Demanda Bioquímica de Oxígeno (mg/L) en el tratamiento.....	56
Tabla 12.	Mediciones de Conductividad eléctrica (mS/cm) en el tratamiento. ..	58
Tabla 13.	Mediciones de Oxígeno disuelto (mg/L) en el tratamiento.	60
Tabla 14.	Mediciones de Hidrocarburos Totales de Petróleo (mg/L) en el tratamiento.....	62
Tabla 15.	Resumen de parámetros evaluados.	65

Índice de figuras

Figura 1. Proceso pre-experimental.	20
Figura 2. Proceso experimental.....	21
Figura 3. Muestreo en playa costera.	22
Figura 4. Medición de Ph.	23
Figura 5. Medición de Oxígeno Disuelto.....	23
Figura 6. Medición de conductividad eléctrica.	24
Figura 7. Medición de DBO ₅ en una muestra blanco.	24
Figura 8. Extracción de agua contaminada.	25
Figura 10. Drenado de la fase líquida.	26
Figura 11. Proceso de filtrado en bomba de vacío.	26
Figura 12. Extracción de microorganismos.	27
Figura 13. Preparación de agar EMB.	27
Figura 14. Preparación de agar Sabouraud.	28
Figura 15. Esterilización en autoclave.	28
Figura 16. Incubación de las placas Petri.....	29
Figura 17. Obtención de hongo filamentoso.	29
Figura 18. Obtención de la bacteria gramnegativa.	30
Figura 19. Extracción de microorganismo en solución salina.	30
Figura 20. Dilución de solución fúngica y bacteriana.....	31
Figura 21. Placas Petri Agar Sabouraud (Hongos), Agar EMB (Bacteria).	32
Figura 22. Identificación de un hongo filamentoso	33
Figura 23. Identificación de bacteria gramnegativa	34
Figura 24. Preparación solución fúngica y bacteriana ($6 \cdot 10^8$, $9 \cdot 10^8$, $12 \cdot 10^8$)	35
Figura 25. Solución fúngica y bacteriana ($6 \cdot 10^8$, $9 \cdot 10^8$, $12 \cdot 10^8$).....	36
Figura 26. Mezcla de solución fúngica y bacteriana ($6 \cdot 10^8$, $9 \cdot 10^8$, $12 \cdot 10^8$) ...	37
Figura 27. Inicio del tratamiento del co-cultivo de un hongo filamentoso y una bacteria gramnegativa.....	38
Figura 28. Post tratamiento del co-cultivo, 48 horas.....	38
Figura 29. Curva del porcentaje de degradación de TPH según concentraciones.	43
Figura 30. Curva de la temperatura.....	53
Figura 31. Curva del pH según concentraciones.....	55

Figura 32. Curva de la DBO ₅ según concentraciones.	57
Figura 33. Curva de la conductividad eléctrica según concentraciones.....	59
Figura 34. Curva del oxígeno disuelto según concentraciones.....	61
Figura 35. Curva de TPH según concentraciones.	63

Índice de abreviaturas

DBO₅: Demanda Biológica de Oxígeno

HTP o TPH: Hidrocarburos Totales de Petróleo

OD: Oxígeno disuelto

Rpm: Revoluciones por minuto

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

EMB: Eosina Azul de Metileno

DS: Decreto Supremo.

ASV: Variantes de Secuencia de Amplicones

SW: Agua de mar

PCO: Petróleo crudo

GC-MS: Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas.

SL: Soforolípidos

FTIR: Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier

NMR: Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear

HAP: Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos

Sp.: Una especie no especificada dentro de un género determinado.

Spp.: Más de una especie no especificada dentro de un género determinado.

RESUMEN

El trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar la eficiencia de biodegradación de hidrocarburos en agua de mar mediante un co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* La investigación fue de tipo aplicada con un diseño experimental y enfoque cuantitativo. Se llevaron a cabo pruebas con concentraciones diferentes de la solución del co-cultivo: 12×10^8 (UFC/mL) y 6×10^8 (UFC/mL) para evaluar en la eficiencia de degradación. Los resultados obtenidos tras un periodo de 48 horas indicaron que la concentración más alta de la solución del co-cultivo (12×10^8 UFC/mL) logró una eficiencia de degradación del 79.83%, mientras que la concentración más baja (6×10^8 UFC/mL) mostró eficiencia del 68.35%. Estos hallazgos destacaron la influencia directa de variación en la concentración de la solución del co-cultivo en la eficiencia de biodegradación de los hidrocarburos. A pesar de que la hipótesis inicial proponía una eficiencia del 75%, los resultados demostraron la posibilidad superar este valor, dependiendo de la concentración de la solución del co-cultivo. En conclusión, la metodología experimental resaltó que la cantidad de concentración de solución del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* tuvo impacto directo en la eficiencia de biodegradación, observándose un rendimiento superior al 75% en concentraciones más altas (12×10^8 UFC/mL).

Palabras clave: Biodegradación, co-cultivo, hidrocarburos, hongos filamentosos, bacterias gram negativas.

ABSTRACT

The objective of the research work was to determine the biodegradation efficiency of hydrocarbons in seawater through a co-culture of *Aspergillus Spp.* and *Enterobacter Spp.* The research was applied with an experimental design and quantitative approach. Tests were carried out with different concentrations of the co-culture solution: 12×10^8 (CFU/mL) and 6×10^8 (CFU/mL) to evaluate the degradation efficiency. The results obtained after a period of 48 hours indicated that the highest concentration of the co-culture solution (12×10^8 CFU/mL) achieved a degradation efficiency of 79.83%, while the lowest concentration (6×10^8 CFU/mL) showed efficiency of 68.35%. These findings highlighted the direct influence of variation in the concentration of the co-culture solution on the hydrocarbon biodegradation efficiency. Although the initial hypothesis proposed an efficiency of 75%, the results demonstrated the possibility of exceeding this value, depending on the concentration of the co-culture solution. In conclusion, the experimental methodology highlighted that the amount of solution concentration of the co-culture of *Aspergillus Spp.* and *Enterobacter Spp.* had a direct impact on biodegradation efficiency, observing a yield greater than 75% at higher concentrations (12×10^8 CFU/mL).

Keywords: Biodegradation, co-culture, hydrocarbons, filamentous fungi, gram negative bacteria.

I. INTRODUCCIÓN

Los problemas ambientales que se vinculan a la presencia de hidrocarburos, son múltiples y complejos por su composición de mezcla (Ronda *et al.*, 2019), que le proporciona propiedades de no polaridad, hidrofobia (baja solubilidad en agua), altos niveles de toxicidad, bioacumulación en los organismos expuestos y estabilidad en los cuerpos de agua (Li y Wu, 2022).

A nivel mundial, cada año se registra el derrame de aproximadamente 6,1 millones de toneladas métricas de hidrocarburos en los océanos en su mayoría por responsabilidad de fuentes antropogénicas (Struch *et al.*, 2019), debido a la ejecución de actividades de exploración, explotación, transporte o descargas mal ejecutadas o accidentales; así como también, vandalismos en las tuberías que transportan hidrocarburos (Binazadeh *et al.*, 2020), causando gran impacto en la vida marina y la salud de las personas (Gonzales, Ordoñez, y Vásquez, 2022).

En el Perú, a mediados del mes de enero del 2022 ocurrió el “peor desastre ecológico” en el mar del distrito de Ventanilla, donde se derramó más de 10,000 barriles de petróleo (Argota y Iannacone, 2022). Sumado a ello, el mismo mes ocurrió el derrame de 1.18 barriles de hidrocarburo en la costa norte de Piura, el cual fue denunciado por pescadores de la caleta de Cabo indicando como presunto responsable a la empresa Savia Perú (RPP Noticias, 2022, párr. 2-3).

En consecuencia, a estos sucesos, se reportó la afectación económica directa de 2500 pescadores artesanales y sus familias en el distrito de Ventanilla (El Peruano, 2022), y la supervivencia de los animales rescatados (pingüinos de Humboldt, pelícanos zarcillos, piqueros, entre otras) es de un 60% (France 24, 2022, párr. 3-11), caso similar fue lo ocurrido en Piura, donde disminuyeron las especies marinas, tales como, el robalo, el jurel y la caballa, ocasionado disminución del 50% de la pesca y la afectación económica a más de 400 pescadores artesanales (RPP Noticias, 2022, párr. 8-10).

Ante la realidad expuesta, se planteó como problema general: ¿Cuál es la eficiencia de biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de *Aspergillus Spp?* y *Enterobacter Spp.*, Ancón – Lima, 2023?, y como problemas específicos: ¿Cuáles son las características de crecimiento en el co-cultivo de *Aspergillus Spp?* y *Enterobacter Spp.*, Ancón – Lima, 2023?, ¿Cuáles son las condiciones de operación que necesita el co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* para la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar, Ancón – Lima, 2023?, ¿Cuáles son los parámetros fisicoquímicos del agua de mar después de aplicado el tratamiento de biodegradación de hidrocarburos por un co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.*, Ancón – Lima, 2023?.

El presente estudio aportará teóricamente la búsqueda de nuevas soluciones, esto a través de biodegradación por un co-cultivo el cual ayuda a una mejor eficiencia para la descontaminación de hidrocarburos, además de que es un método que contribuye con la limpieza y mejora de los ecosistemas marinos. El estudio se justificó metodológicamente ya que se utiliza medios de cultivos a partir de microorganismos, para ello se analiza los parámetros y las ECAS del agua para un mayor análisis de la contaminación que existe por hidrocarburos en el mar. El estudio se aportará de forma práctica ya que se ha propuesto una solución a los grandes problemas que hoy en día aqueja diferentes partes del mundo, afectando su economía y el ambiente, además, la incidencia de los microorganismos en la biodegradación se vería como una tecnología limpia y natural, ya que al contener dentro de las aguas marinas diversos microorganismos no requiere mucho coste para su implementación rápida en el medio.

Esta investigación tuvo como objetivo general: Determinar la eficiencia de biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de un hongo filamentoso y una bacteria gramnegativa, Ancón – Lima, 2023 y como objetivos específicos: Identificar las características de crecimiento en el co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* para la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar, Ancón – Lima, 2023; Determinar las condiciones de operación que necesita el co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* para la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar, Ancón – Lima, 2023; Determinar

los parámetros fisicoquímicos del agua de mar después de aplicado el tratamiento de biodegradación de hidrocarburos por un co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.*, Ancón – Lima, 2023.

En el presente trabajo de investigación, adoptó como hipótesis general: La eficiencia de biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* fue del 75%; y como hipótesis específicas: Las características de crecimiento en el co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.*, son las idóneas para la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar; Las condiciones de operación son las adecuadas para el co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* para la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar; Los parámetros fisicoquímicos del agua mar están dentro de los estándares de calidad ambiental después del tratamiento por un co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.*

II. MARCO TEÓRICO

Das & Chandran (2011) usaron varios tipos de bacterias están involucradas en el proceso de **biodegradación** del petróleo, y gracias a la participación y combinación de diferentes procesos metabólicos de bacterias presentes en el medio marino, se pueden lograr tasas de consumo de hasta el 100%. Además, otros factores esenciales que determinan la población microbiana durante la degradación del petróleo son los factores abióticos del medio ambiente (pH, oxido-redox, temperatura, salinidad, etc.), las propiedades físicas y químicas del petróleo (ligero o pesado). Una combinación de ambos factores puede beneficiar o dañar la diversidad bacteriana (p. 2-3).

Chuah *et al.* (2022), mejoraron la biodegradación del petróleo en agua de mar utilizando una mezcla de petróleo y microorganismos. Los resultados apoyan la hipótesis que el retraso de la degradación del aceite se debe a la inhibición de los metabolitos en el crecimiento y que con el uso de un sistema de consorcio de bacterias se logró una alta eficiencia de degradación del crudo en agua de mar, aumentando en 8,7% la degradación del aceite en el sistema de consorcio de bacterias (bacterias consorcio-68,6% y cultivo puro 59,9%).

Nanami, Ismayana y Yani (2022), buscaron aislar cepas bacterianas capaces de degradar el petróleo crudo de la costa de Bekasi a través de la caracterización de aislados bacterianos y pruebas de biodegradación del petróleo crudo utilizando un modelo de microcosmos enriquecido con petróleo crudo. Entre las bacterias aisladas se seleccionaron dos cepas con valores más altos de degradación de TPH, a saber, *CYA20* y *CYA27*, que específicamente mostraron valores de 46% y 66%, respectivamente. Estas cepas fueron tolerantes a concentraciones de NaCl de hasta 4% y 12%, respectivamente, y también toleraron valores de pH entre 5 y 9 y temperaturas entre 10°C y 50°C.

Zhang *et al.* (2021), evaluaron la biodegradación del petróleo crudo en condiciones alcalinas por co-cultivo de *Acinetobacter baumannii* y *Talaromyces Spp.* Los n-alcanos en el petróleo crudo fueron degradados por bacterias y hongos

con una proporción de 1:1 a pH 9 en un experimento de simulación de agua de 14 días. La tasa de degradación total del petróleo crudo fue del 80%. Los hongos tenían una mayor capacidad para degradar los n-alcanos, mientras que las bacterias podían degradar mejor otros componentes, como los compuestos aromáticos y los alcanos ramificados.

Lofthus *et al.* (2020), biodegradaron el petróleo derramado en agua de mar fría. Los n-alcanos totales se degradaron más rápidamente en presencia que en ausencia de hielo, mientras que ocurría lo contrario con los naftalenos y los PAH de 2 o 3 anillos. Sin degradación de 4–6 anillos. Las comunidades microbianas cambiaron con el tiempo como resultado de la degradación del compuesto de aceite activo. Las comunidades microbianas fueron moldeadas no solo por el tiempo y la presencia de petróleo, sino también por la presencia o ausencia de hielo frágil. Las diferencias entre los dos tratamientos (con y sin hielo frazil) se debieron a la alta abundancia de dos ASV, uno clasificado como *Perlucidibaca* en hielo y el otro como *Cycloclasticus* en SW sin hielo.

Concepta y Prasad (2020), compararon la degradación de PCO en agua de mar con y sin fuente de nitrógeno (extracto de levadura) por *Acinetobacter baumannii* OCB1. Se aplicó un estudio de tipo aplicada y diseño experimental, el crecimiento de OCB1 aumentó drásticamente en presencia de extracto de levadura ($5,42 \pm 0,17$ g/l) en comparación con su ausencia ($2,35 \pm 0,12$ g/l). *A. baumannii* OCB1 degradó solo hidrocarburos C8 hasta un 69,69 % en ausencia de extracto de levadura. Sin embargo, cuando se complementó con extracto de levadura además de glucosa, la bacteria se degradó hasta hidrocarburos C14. Se observó que la eficiencia de degradación disminuyó con el aumento de la complejidad de los hidrocarburos. Se concluye que *A. baumannii* OCB1 podría degradar los hidrocarburos C8–C14 en agua de mar complementada con PCO y glucosa cuando se añadían trazas de extracto de levadura.

Según un estudio realizado por Han, Du y Shang (2020), uno de los factores más importantes que afectan el rendimiento de la degradación por bacterias degradadoras de petróleo es el valor del pH. En este estudio, encontraron que bajo

la condición de un pH de 7.15, una concentración de masa de petróleo crudo de 3387 mg/L y un tamaño de inóculo biológico de 75 mL/L, las bacterias mixtas tuvieron la tasa de degradación más alta de petróleo crudo, hasta un 55.76%.

Yang et al. (2019), biodegradaron el petróleo crudo por un cultivo mixto de bacterias aisladas de la meseta de Qinghai-Tíbet mediante cromatografía de gases-espectrómetro de masas (GC-MS) y el método gravimétrico. Los resultados mostraron que un cultivo mixto tiene una mayor capacidad para degradar hidrocarburos que los cultivos puros. El cultivo demostró la mayor eficiencia de eliminación de aceite crudo de casi el 100 % después de 10 días de incubación a 20 °C. Además, un análisis más detallado de los mecanismos de degradación utilizados por las cepas anteriores, que reveló la utilización de diferentes n-sustratos de alcanos, indicó la diversidad de evolución y variaciones en diferentes cepas, así como la importancia de múltiples mecanismos metabólicos para la degradación de alcanos.

Liporace et al. (2019), evaluó la capacidad de los microorganismos para degradar estos hidrocarburos. Para ello, aislaron 13 cepas de zonas contaminadas y se cultivaron en medios mínimos con una mezcla de tres hidrocarburos comerciales (HC; queroseno, Diesel y gasolina RON 95), una única fuente de carbono y energía. El análisis de biodegradación fue realizado a través del análisis cromatográfico de gases y se registró una tasa de degradación tan alta como 46,5% después de 10 días por el aislado de *Pseudomonas sp.*, una de las cepas, Ag HC identificada como *Pseudomonas koreensis*, reduce el valor de la tensión superficial en más del 46% cuando se cultivó con medios mínimos y glicerol como coproductos industriales económicos alternativos.

Moniruzzaman et al. (2019), se enfocaron tipos glicolípido, soforolípidos (SL), que son producidos por *Starmerella bombicola*. Como alternativa de baja toxicidad, en este artículo presentamos un dispersante de aceite basado en una mezcla binaria de un tensioactivo líquido iónico, laurato de colina ([Cho] [Lau]) y un soforolípidos lactónico bio tensioactivo. Investigamos las propiedades micelares, incluida la concentración crítica de micelas, el parámetro de interacción micelar (β)

y los coeficientes de actividad (f_1 y f_2) para el sistema de surfactante mixto. Con esta relación, se logró una efectividad de dispersión del 83% con un dispersante-relación a aceite de 1:25 (v/v). Observamos las gotas de aceite dispersas con un microscopio óptico y evaluamos su tamaño usando dispersión de luz dinámica. El tamaño de las gotas disminuye con el aumento de la proporción de dispersante a aceite.

Los microorganismos a menudo liberan compuestos conocidos como biosurfactantes que pueden disolver las gotas de diésel, permitiendo que los hidrocarburos estén más disponibles para la degradación. Simultáneamente, los microorganismos pueden adherirse a las gotas de diésel. Según Patiño, Robles y León (2021), la biorremediación es una técnica que consiste en utilizar microorganismos para eliminar o transformar contaminantes presentes en el ambiente. [...] Los microorganismos utilizados para la biorremediación pueden ser autóctonos (presentes naturalmente en el sitio contaminado) o exógenos (introducidos deliberadamente). [...] Los principales factores que influyen en el **mecanismo de biodegradación** de los hidrocarburos son, la naturaleza y composición del hidrocarburo, la disponibilidad de nutrientes, el oxígeno, el pH, la temperatura, la salinidad y la presencia de inhibidores. Los microorganismos pueden producir y secretar enzimas que rompen los hidrocarburos en el diésel. Estas enzimas oxidativas (como las monooxigenasas y las dioxigenasas) a menudo actúan en las moléculas de hidrocarburo para convertirlas en compuestos más solubles en agua, lo que los hace más accesibles para la degradación microbiana.

Las **bacterias Gram-negativas** son organismos coloniales que utilizan señales químicas, como los derivados de la homoserina lactona, para comunicarse y adaptarse a su entorno. Este fenómeno, conocido como quorum-sensing, les permite regular su comportamiento en función de la densidad celular. (Whitehead et al., 2001, p. 1-2). Las bacterias gramnegativas son un grupo diverso de bacterias que se encuentran ampliamente distribuidas en diversos entornos, como el suelo, el agua y el cuerpo humano. Mientras que algunas bacterias gramnegativas pueden ser patógenas y causar enfermedades en humanos y otros organismos, como la *Escherichia coli*, la *Salmonella* y la *Pseudomonas aeruginosa*, también existen

bacterias gramnegativas beneficiosas que desempeñan funciones importantes en la naturaleza. Estas bacterias beneficiosas pueden participar en procesos como la fijación de nitrógeno y la descomposición de materia orgánica.

Ganesan *et al.* (2022), evaluaron la capacidad de las bacterias identificadas para degradar varios contaminantes relacionados con el petróleo y sus componentes. Varios estudios han demostrado que la población microbiana juega un papel clave en ambientes altamente contaminados con hidrocarburos y su destrucción. Es obvio que los factores ambientales, como los niveles de hidrocarburos y los dispersantes químicos, pueden influir en las poblaciones microbianas e interrumpir los procesos de descomposición del petróleo. El comportamiento del microorganismo, *in situ* y *ex situ*, debe ser explorado. La degradación será una solución para superar la contaminación de hidrocarburos y sus derivados más rápido.

Atakpa *et al.* (2022), determinaron el efecto combinado de una bacteria *Acinetobacter spp.* y *Scedosporium spp.* en la degradación de Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH). La presencia de *Acinetobacter spp.* estimuló el crecimiento de hongos, promovió una alta actividad enzimática, aumentó la emulsificación de los sustratos, lo que mejoró el contacto directo con los microorganismos. Los resultados determinaron una degradación significativa de PAH, n -alcanos y una alta reducción de TPH.

Riccardi *et al.* (2022), analizaron el genoma de *Psychrobacter Spp. TAE2020* que se cultivó en el medio sintético Gut (ácido L-glutámico 10 g/L, NaCl 10 g/L; NH₄NO₃ 1 g/L; KH₂PO₄ · 7 H₂O 1 g/L; MgSO₄ · 7 H₂O 200 mg/L; FeSO₄ · 7 H₂O 5 mg/L; CaCl₂ · 2 H₂O 5 mg/L) en condiciones planctónicas a 15 °C bajo agitación vigorosa (180 rpm) hasta la fase estacionaria de crecimiento (72 h). Los resultados indicaron que el compuesto bioactivo fue capaz de reducir la tensión superficial de una solución acuosa, con el método del anillo de Du Nouy y se obtuvo el valor de tensión superficial para *Psychrobacter sp.*

Soares *et al.* (2021), aplicaron un cultivo formulado como agente dispersante en la remoción de petroderivados. Se proporcionó una cepa de *Pseudomonas cepacia* CCT6659. Las bacterias eran mantenidas en agar nutritivo a 4 °C. Para preparar el cultivo de semilla en concentración de 1,5 % (v/v), la cepa de un cultivo de 24 horas se transfirió a 50 mL de caldo nutritivo a 28 °C. Demostró baja toxicidad frente a organismos indicadores propios de ambientes marinos. Tiene, un alto potencial como agente de biorremediación a través de resultados de dispersión y biodegradación de petroderivados en agua de mar, sin dañar el microbiota marino.

Nawavimarn *et al.* (2021), demostraron que solo las formulaciones dispersantes que producían micro emulsiones Winsor Tipo III fueron seleccionadas para una prueba de matraz con deflectores utilizando aceites combustibles. Su eficiencia en el rango de temperatura de 28 a 30 °C dependía de los aceites dispersantes y no de la salinidad del agua. El proceso de formulación y optimización de dispersantes podría aplicarse a otras mezclas de tensioactivos. Dado que todos los experimentos se realizaron en laboratorio a temperatura ambiente, la investigación futura debe investigar la aplicación de una formulación FI2 seguida de la adición inóculo de bacterias degradadoras de petróleo para la remediación de derrames de hidrocarburos en un entorno simulado con temperaturas variables.

Durval *et al.* (2020), en este estudio, se caracterizó a partir de *B. cereus* UCP 1615, se evaluó su toxicidad y determinó su aplicabilidad como agente para la biorremediación del agua de mar. El *Bacillus cereus* UCP 1615 producido en el presente estudio se caracterizó como un lipopéptidos. Además, dicho microorganismo demostró ser biocompatible y tener potencial para la producción industrial y la aplicación a derrames de petróleo en ambientes marinos utilizando una fórmula comercial estable.

Los **hongos filamentosos** son organismos multicelulares compuestos por estructuras alargadas conocidas como hifas, estas hifas tienen la capacidad de ramificarse, formando un conjunto llamado micelio. En cuanto a su morfología, las células son de forma elongada, con longitudes variables y un diámetro que oscila entre 3 y 15 µm. Las principales características de los hongos filamentosos incluyen

un aspecto que se asemeja a algodón y es bastante denso, un color que puede variar desde blanco hasta tonos de crema o gris claro, tiene un crecimiento bastante rápido (Universidad Nacional de la Patagonia, 2016, p. 11-12). Los hongos filamentosos y levaduras se mantienen a una temperatura de 22-25 °C durante un periodo de 5 días.

Zhou *et al.* (2021), evaluaron el biopotencial mediador de *Acinetobacter sp.* Y2 y *Scedosporium sp.* ZYY en degradación del petróleo crudo en un co-cultivo definido. Se aplicó un estudio experimental donde se utilizaron agar papa dextrosa (PDA) y agar Luria Bertani (LB) como medio de cultivo en placas, mientras que el caldo LB para bacterias y patata caldo de dextrosa. Se concluyó que la presencia de *Acinetobacter sp.* Y2 estimuló el crecimiento de hongos, promovió una alta actividad enzimática, aumentó la emulsificación de los sustratos, lo que mejoró el contacto directo con los microorganismos. Además, tanto el monocultivo como los co-cultivos indujeron la expresión relativa de los genes *alkB* y *CYP52*, y se encontró que su abundancia se correlaciona positivamente con n-alcano degradación.

Los **co-cultivos** de bacterias y hongos mejoran la biorremediación que los cultivos axénicos. Según Alisi *et al.* (2009) afirmó que el sistema de componentes múltiples del consorcio microbiano proporciona una rica red metabólica, que puede superar las limitaciones de una sola especie microbiana en los procesos de biorremediación, lo que garantiza una biodegradación completa (p. 3024).

Zhoua *et al.* (2023), evaluaron la eficacia de un consorcio bacteriano construido de degradadores de petróleo. La inoculación del consorcio construido mejoró significativamente la eliminación de C8 -C40n - alcanos ($80,2 \pm 2,8$ % de eficiencia de eliminación) y compuestos aromáticos ($34,4 \pm 10,8$ % de eficiencia de eliminación) en 10 semanas. El consorcio desempeñó funciones duales de degradación del petróleo, mejorando el crecimiento microbiano y las actividades metabólicas. Asimismo, se identificó que el consorcio aumentó las poblaciones autóctonas que degradan alcanos (hasta 3,88 veces más que la del tratamiento de control) y microflora autóctona.

Nápoles *et al.* (2022), realizaron experimentos de degradación de gasóleo comercial utilizando un consorcio bacteriano formado por cepas bacterianas y dos medios: agua de mar estéril y agua de mar no estéril. Los resultados mostraron que los parámetros estudiados fueron similares a los regulados por la NC 22:1999 y la NC 25:1999. La población heterótrofa fue de 87 UFC mL⁻¹ con una diversidad morfológica que no interfirió con los experimentos de degradación. El consorcio bacteriano pudo degradar el 53% y 62 % de gasoil en ambientes estériles y no estériles en 30 días. Se demostró que este consorcio se puede utilizar en la biorremediación de agua de mar contaminada con diésel.

Chen *et al.* (2020), en su estudio emplearon dos bacterias degradadoras de petróleo crudo tolerantes a la sal, *Dietzia sp. CN-3* y *Acinetobacter sp. HC8-3S*, que fueron combinados funcionalmente para construir un consorcio bacteriano. Los resultados mostraron que el consorcio logró una eficiencia de degradación del petróleo crudo del 95,8 % obtenido en 10 días y diversos n-alcanos, cicloalcanos, alcanos ramificados e hidrocarburos aromáticos se agotaron con mayor eficacia que las cepas individuales.

Dai *et al.* (2020), en su estudio establecieron un sistema inmovilizado la casa-bacteria, con la liberación sostenida de nitrógeno y fósforo y otros nutrientes a mantener la viabilidad bacteriana, para el tratamiento de la contaminación por petróleo pesado sustancias que son difíciles de degradar. El sistema se evaluó con la ayuda de piscinas experimentales intermareales construidas en la zona costera. Se ha encontrado que la eficiencia de degradación del consorcio inmovilizado lacasa-bacteria para petróleo pesado fue del 66,5 % después de 100 días remediación, con la constante de velocidad de reacción de 0.018 d⁻¹.

Kumar *et al.* (2019), degradaron hidrocarburos a partir del co-cultivo de *Oceanobacillus sp.*, *Nesiotobacter sp.*, *Ruegeria sp.*, *Photobacterium Spp.*, *Enterobacter sp.*, *Haererehalobacter sp.*, *Exiguobacterium sp.*, *Acinetobacter Spp.* y *Pseudoalteromonas Spp.* El consorcio autoinmovilizado degradó más del 85 % de los hidrocarburos totales después de 10 días de incubación con 1 % (v/v) de petróleo crudo y 0,05 % (v/v) de Tween 80 (tensioactivo no iónico) a 28 ± 2 °C. La adición de fuentes de nitrógeno y fósforo por separado, es decir, 0,1 % (v/v) de CO

(NH₂)₂ o K₂HPO₄ mejoró el porcentaje de utilización de hidrocarburos. Las vías de degradación microbiana de los hidrocarburos se confirmaron mediante análisis de espectroscopia FTIR, GC-MS, ¹H y ¹³C NMR. Estos resultados demostraron un enfoque novedoso que utiliza un consorcio de bacterias hidrocarbonoclasticas autoinmovilizadas de aguas profundas para la biorremediación ecológica.

Poddar, Sarkar y Sarkar (2019), se aislaron cepas bacterianas nativas de suelos contaminados con hidrocarburos y se construyó un consorcio potencial para evaluar la degradación de hidrocarburos. Las bacterias que degradan los hidrocarburos se aislaron de muestras enriquecidas con 2% de hidrocarburos recolectadas de estaciones de reparación de vehículos, garajes y gasolineras. La eficiencia del consorcio bacteriano seleccionado mostró un total de 16,20% degradación del hidrocarburo mixto después de 4 días, donde el compuesto cíclico alifático (1-(1,5-Dimetilhexil)-4-(4-metilpentil)-ciclohexano) se degradaron por completo, los derivados de naftaleno se redujeron al 36,72%, los ácidos alifáticos se degradaron al 78,13% y los derivados del benceno al 24,16%.

Las técnicas de **aislamiento** permiten la recuperación de microorganismos de muestras complejas con alta diversidad microbiana (suelo, agua, alimentos, etc.) y la confirmación de la pureza de los cultivos recolectados. Un cultivo purificado consta de un solo microorganismo, los cuales son esenciales para caracterizar su crecimiento, conocer sus características morfológicas, características de tinción, actividad bioquímica, patogenicidad, susceptibilidad a antibióticos e identificación de especies microbianas. El aislamiento de los microorganismos cultivados se puede realizar mediante el método de dilución, medio sólido o medio líquido (Aquiáhuatl y Pérez, 2004, p. 38).

Sayed et al. (2021), sustentan que los métodos físicos y químicos de limpieza de derrames de petróleo son ineficaces para limpiar por completo los hidrocarburos de petróleo derramado en el agua de mar y no son capaces de eliminar el petróleo emulsionado que queda después de aplicar técnicas físico-químicas. Para contrarrestar esto, usaron microorganismos los cuales fueron aislados para que puedan usarse de manera efectiva en el mar (entorno nativo - in situ).

Los crudos de **petróleo** contienen una mezcla de varios hidrocarburos alifáticos de bajo y alto peso molecular y varios tipos de compuestos aromáticos monocíclicos y policíclicos, en los que uno o más átomos de carbono en su columna vertebral también pueden ser reemplazados por nitrógeno, azufre u oxígeno (Abbasian [et. al], 2015, pág. 2).

Liu et al. (2021), analizaron las propiedades de degradación de la cepa de *Acinetobacter venetianus* que degradó tres petróleos crudos con excelente actividad de emulsificación e hidrofobicidad en la superficie celular, al mismo tiempo exhibe una amplia tolerancia ambiental. Los resultados mostraron que se logró una degradación mejorada (10 días) de petróleo crudo ligero (73,42% a 88,65%), petróleo crudo viscoso (68,40% a 90,05 %) y aceite crudo con alto contenido de cera (47,46 % a 60,52 %) en comparación con la única cepa de tipo salvaje. Las propiedades de degradación de la cepa de *Acinetobacter venetianus* tienen un uso potencial en aplicaciones de biodegradación microbiana.

Sayed et al. (2021), sustentaron que los métodos físicos y químicos de limpieza de derrames de petróleo son ineficaces para limpiar por completo los hidrocarburos de petróleo derramado en el agua de mar y no son capaces de eliminar el petróleo emulsionado que queda después de aplicar técnicas físico-químicas. Para contrarrestar esto, usaron microorganismos los cuales fueron aislados para que puedan usarse de manera efectiva en el mar (entorno nativo - in situ). Estos bioestimulantes son de bajo costo, tienen un gran potencial y pueden ser utilizados en la remediación de hidrocarburos de petróleo.

Según Villarroel, Torrico y Torrico (2017), Los **parámetros fisicoquímicos** son indicadores de la calidad de las aguas residuales y su potencial impacto en el medio ambiente y la salud humana. Los parámetros fisicoquímicos incluyen el pH, la conductividad eléctrica, el oxígeno disuelto, la demanda química de oxígeno, los sólidos suspendidos totales, los sólidos disueltos totales y los nutrientes.

Estos parámetros son utilizados para evaluar la calidad y contaminación del agua mediante índices que expresan matemáticamente el estado del recurso hídrico. Según el MINAM (2017), que aprueba los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua en Perú el valor promedio de la **temperatura** Δ 2. Además, en la misma línea encontramos el **pH**, el cual tiene un promedio de 6,8 - 8,5, lo que significa que tu solución se encuentra en un rango ligeramente ácido a ligeramente alcalino. Un pH de 6.8 se considera ligeramente ácido, mientras que un pH de 8.5 se considera ligeramente alcalino. Es importante tener en cuenta que estos valores están dentro de un rango relativamente neutral. Además, el **DBO₅** tiene un promedio de 10 mg/L, seguidamente, encontramos a la **conductividad**, parámetro no aplica para esta subcategoría. el valor mínimo de **Oxígeno Disuelto (OD)** debe ser ≥ 4 mg/L. Por último, contemplamos los **hidrocarburos totales de petróleo (HTP)** el valor promedio es de 0,5 mg/L.

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

Enfoque de esta investigación adoptó un enfoque cuantitativo, este es un proceso sistemático donde se lleva a cabo pasos ya determinados, además, consiste en estructurar de forma lógica las decisiones con estrategias que oriente a la obtención de resultados o respuestas adecuadas para la solución de problemas específicos o generales (Monje, 2011, p. 19-20).

La investigación fue de tipo aplicada, se fundamenta en ser una herramienta que nos ayuda a complementar los conocimientos teóricos con los prácticos, además de que busca en dar soluciones o proponer ante diferentes problemas que nos aquejan, este tipo de investigación se da en la investigación básica, analítica y de campo (IBERO, 2020, párr. 2-3).

Esta investigación tuvo un diseño experimental, su objetivo principal es verificar cuantitativamente la causalidad de una variable sobre otra, donde se manipula la variable independiente sobre la variable dependiente, para ello se aplica un plan de acción donde se establecen etapas, asimismo, la variable independiente hace énfasis en donde el investigador la controla y manipula para la indagación de efectos sobre la variable dependiente (González, 2020, p. 46).

3.2. Variables y operacionalización

Variable independiente: Co-cultivo *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.*

Definición conceptual: Según Li, Y. , y Li, B. (2011) la introducción del consorcio de hongos y bacterias para la biodegradación de hidrocarburos de petróleo fue más eficiente que la suma de la remoción individual obtenida en un cultivo puro de hongos y bacterias.

Definición operacional: Un co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* generan biodegradación de derivados de hidrocarburos.

Variable dependiente: Eficiencia de degradación de hidrocarburos.

Definición conceptual: Los estudios se centraron primordialmente en la eliminación de contaminantes del medio ambiente peligrosos y persistentes, los hidrocarburos poliaromáticos (HAP) que se hallan naturalmente en el petróleo crudo y se crean a lo largo de la combustión inconclusa de materias orgánicas (Nhi-Cong et al., 2021, p. 2).

Definición operacional: Para la degradación de hidrocarburos del agua de mar existen diferentes técnicas, en el cual se puede evaluar la eficiencia de cada una de estas.

Más detalle referente a la operacionalización variables, se encuentra en el anexo 2.

3.3. Población, muestra, muestreo, unidad de análisis

3.3.1. Población

Según, Hernández y Mendoza (2018) "la población es la totalidad de fenómenos a evaluar, que tienen una función común, que se estudia y ofrece información sobre la investigación" (p. 187). Por ello, la población de esta investigación es el agua que ha sido contaminada por hidrocarburos, está ubicada en el distrito de Ancón en la provincia de Lima.

3.3.2. Muestra

Hernández, et al. (citado en Arias, 2020, p. 81), señaló que "la muestra es la parte representativa de la población, y mantiene sus particularidades". Basado en ello, la muestra seleccionada es una cantidad de 10000 mL de agua que está contaminada por hidrocarburos, además, debe ser representativa para la medición de parámetros y posterior análisis de resultados arrojados por el laboratorio. El muestreo se tomó en 5 puntos de interés de la zona contaminada en un radio de 2.5 m, en cada punto se tomó 1000 mL a nivel de superficie y a 50 cm de profundidad, dando en cada punto escogido un total de 2000 mL.

3.3.3. Muestreo

El tipo de muestreo seleccionado fue el muestreo por conveniencia, según Otzen y Manterola (párr. 13, 2017) nos indica que, este permite seleccionar casos accesibles y que acepten ser incluidos, esto se fundamenta en la conveniencia, proximidad y accesibilidad que tiene el investigador de las variables de estudio seleccionados.

3.3.4. Unidad de análisis

Nuestra unidad de análisis fue de 100 mL de agua de mar recogida en la playa en el distrito de Ancón, provincia de Lima, la cual está contaminada con hidrocarburos.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

En la técnica de recolección de datos permiten el desarrollo metodológico y científico del estudio, las técnicas son el medio, mas no el fin, además son herramientas y el procesamiento para la investigación, lo cual nos permite obtener los datos necesarios para encaminar el estudio (Gonzáles, 2020, p. 54).

Los instrumentos de recolección de datos son herramientas las cuales sirven de apoyo para obtener el propósito del estudio a realizar, estos son aplicados a la población o a nuestra muestra de estudio, es por ello que todo estudio a ejecutar debe tener una técnica y un instrumento, esto dependiendo del alcance y el tipo de la investigación, en algunos casos el instrumento debe ser validado por expertos (Gonzáles, 2020, p. 54).

En el estudio se utilizó la observación, esto nos ayudó a identificar, analizar y detallar los sucesos o aspectos que se está evaluando en nuestro objeto de estudio, esto dado a que nos conducirá a un análisis del nuestra problemática y objetivo a tratar.

En los instrumentos de recolección de datos se han elaborado 4 fichas, las cuales están elaboradas a partir de nuestra matriz de operacionalización, dando seguimiento desde la identificación de la muestra y posterior tratamiento.

Ficha 1. Etiqueta de identificación de muestra.

Ficha 2. Caracterización de los microorganismos.

Ficha 3. Control de condiciones de operación para microorganismos.

Ficha 4. Determinación de parámetros y evaluación microbiana.

Los instrumentos fueron validados por expertos de nuestra carrera los cuales fueron especialistas en la materia, dando como calificación del 10-100%, es por ello que se desarrolló una tabla de promedios dados por los 3 expertos, esto se encuentra en la Tabla 1. Promedio de calificación del Instrumento de recolección de datos. Además, las validaciones de nuestro instrumento se encuentran en anexos.

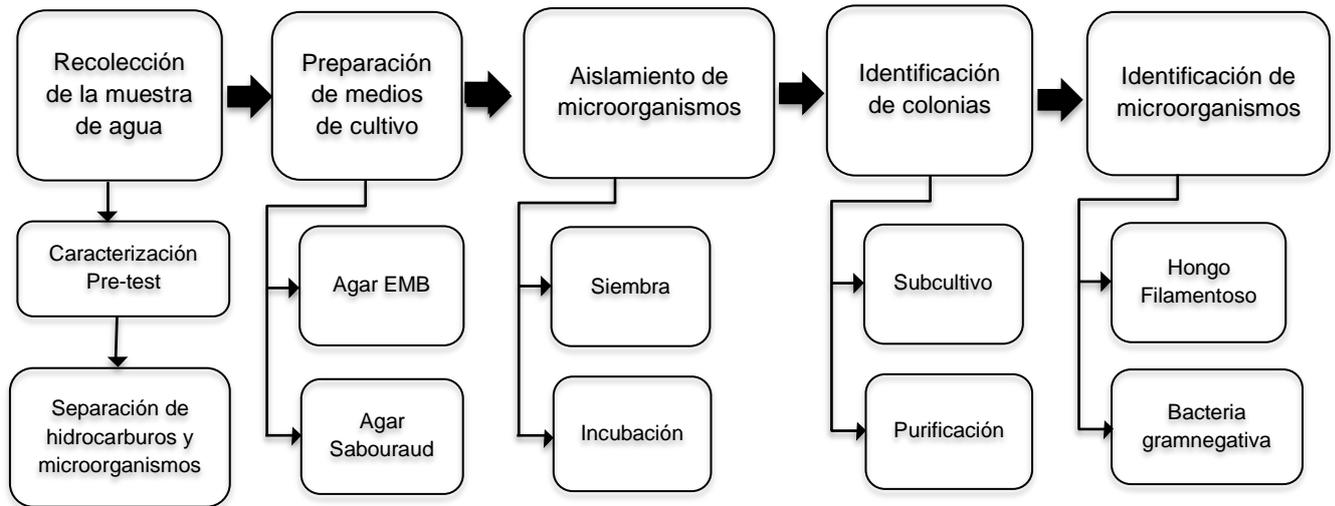
Tabla 1. Promedio de calificación del Instrumento de recolección de datos.

EXPERTOS	Puntaje 10-100%	Inaceptable, Mínimamente Aceptable o Aceptable
Ing. Holguín Aranda, Luis Fermin Especialidad: Ingeniería Ambiental CIP: N° 111611	85%	ACEPTABLE
Mg. Mendoza Mogollón, Gianmarco Jorge Especialidad: Ingeniería Ambiental CIP: N° 200348	90%	ACEPTABLE
Dr. Aylas Humareda, Maria Del Carmen Especialidad: Medio Ambiente y Desarrollo Sostenible. CIP: N° 55149	90%	ACEPTABLE
PROMEDIO	88.33%	ACEPTABLE

Fuente: Elaboración propia

3.5. Procedimientos

3.5.1. Proceso Pre-Experimental



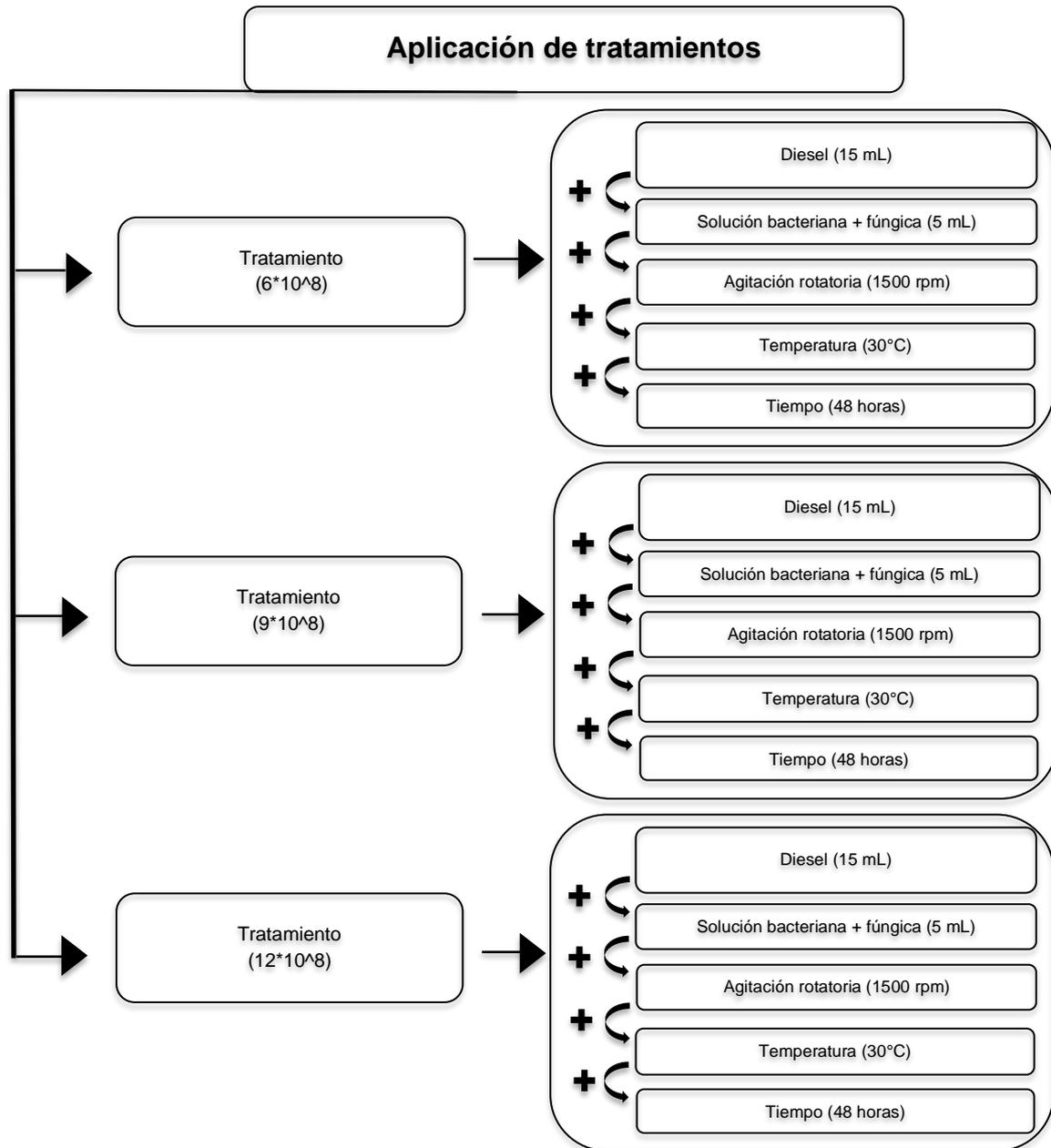
Fuente: Elaboración propia

Figura 1. Proceso pre-experimental.

Para la purificación de colonias, se subcultivaron colonias individuales de las placas de cultivo que mostraban características de crecimiento en presencia de hidrocarburos, como apariencia oleosa o zona de decoloración alrededor de la colonia y posteriormente se hizo diluciones seriadas en tubos de ensayo de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} , se extrajo 1 mL de cada uno y se colocó en sus placas Petri respectivamente con el Agar para la incubación, la muestra se esparció con una aza de vidrio, se llevó a la incubadora por 48 horas a una temperatura de 30 °C.

Para la identificación del hongo, se realizaron una serie de pruebas, como la tinción de Azul Lactofenol, la observación de la morfología de las esporas e hifas, la prueba de hidrólisis de almidón y para la identificación de la bacteria, se realizó la tinción Gram, la prueba de fermentación de carbohidratos, la prueba de la Voges-Proskauer (VP), la prueba de citrato y la prueba de ureasa. Al identificarse la bacteria gramnegativa (*Enterobacter Spp.*) y el hongo filamentoso (*Aspergillus Spp.*), se extrajo un número de colonias fúngicas y bacterianas que sea proporcional a las concentraciones usadas para los tratamientos.

3.5.2. Proceso experimental



Fuente: Elaboración propia

Figura 2. Proceso experimental.

Los tratamientos experimentales se realizaron en tubos de ensayos que contuvieron 2,5 mL de solución fúngica (*Aspergillus Spp.*), 2,5mL solución bacteriana (*Enterobacter Spp.*) y 15mL de Diesel y se mantuvieron en un agitador rotatorio a 1500 rpm y 30 °C por 48 horas.

Durante el tratamiento se monitoreo y evaluó la temperatura, pH, conductividad eléctrica, oxígeno disuelto, Hidrocarburos Totales de Petróleo (HTP), Demanda Bioquímica de Oxígeno y el % de degradación de los HTP. Se determinó los parámetros fisicoquímicos y de hidrocarburos totales de petróleo se realizaron en el laboratorio de fisicoquímica de la Universidad César Vallejo.

3.5.3. Procedimiento

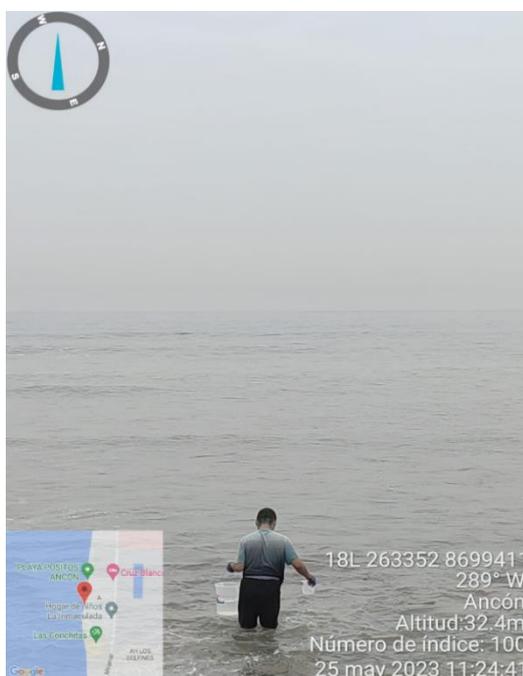


Figura 3. Muestreo en playa costera.

Se utilizó recipientes estériles para recolectar muestras de agua de mar de la playa rocosa. Es importante obtener muestras representativas de diferentes áreas de la playa y de diferentes profundidades para capturar la diversidad microbiana. Asegúrese de que los recipientes estén bien cerrados para evitar la contaminación durante el transporte al laboratorio.



Figura 4. Medición de Ph.

Se tomó la muestra de agua de mar y se prosiguió a medir el pH, primero, el pH-metro se tuvo que pasar por soluciones de Buffer (4, 7 y 10) para la calibración del equipo, seguidamente se colocó en el vaso precipitado una muestra de agua de mar de 250 mL, dando como resultado de pH 8.01.



Figura 5. Medición de Oxígeno Disuelto.

Se midió el oxígeno disuelto en la misma muestra de agua de 250 mL, dando como resultado 5.31 mg/L.



Figura 6. Medición de conductividad eléctrica.

De la misma muestra de 250 mL, se midió la conductividad eléctrica la cual da como resultado de 31.2 mS/cm y en temperatura 20.3 °C.

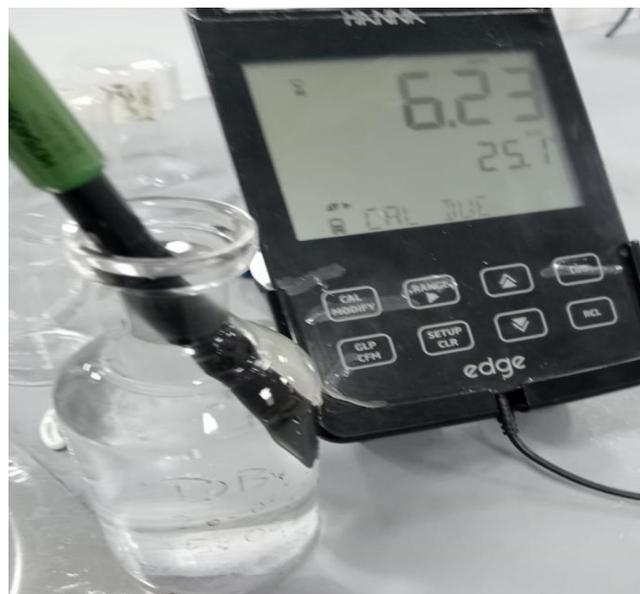


Figura 7. Medición de DBO₅ en una muestra blanco.

Se midió la demanda biológica de oxígeno (DBO₅) en la misma muestra de agua de 250 mL, dando como resultado 6.23 mg/L.



Figura 8. Extracción de agua contaminada.

En un vaso precipitado se colocó 250 mL de muestra de agua de mar contaminada con Diesel, se procede a mezclar la muestra.



Figura 9. Proceso de decantación.

Seguidamente se colocó en una pera de decantación la muestra de 250 mL de agua de mar contaminada con Diesel, donde se esperó de 1 minuto para que se separe la fase líquida de la fase acuosa del derivado del hidrocarburo.



Figura 10. Drenado de la fase líquida.

Luego se drenó de la pera de decantación la fase líquida de la muestra en un vaso precipitado.

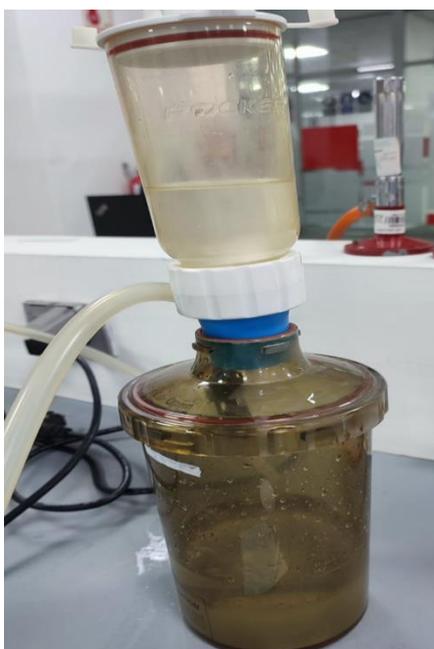


Figura 11. Proceso de filtrado en bomba de vacío.

Extraída la fase líquida se llevó a una bomba de vacío, donde se colocó un filtro de membrana de $0.22\ \mu\text{m}$ para posteriormente verter la fase líquida y luego filtrarse.



Figura 12. Extracción de microorganismos.

Se extrajo el filtro de membrana de 0,22 μm y es colocada en una placa Petri esterilizada, en el cual se colocó 20 mL de solución salina al 0.9 % hasta cubrir por completo la membrana.

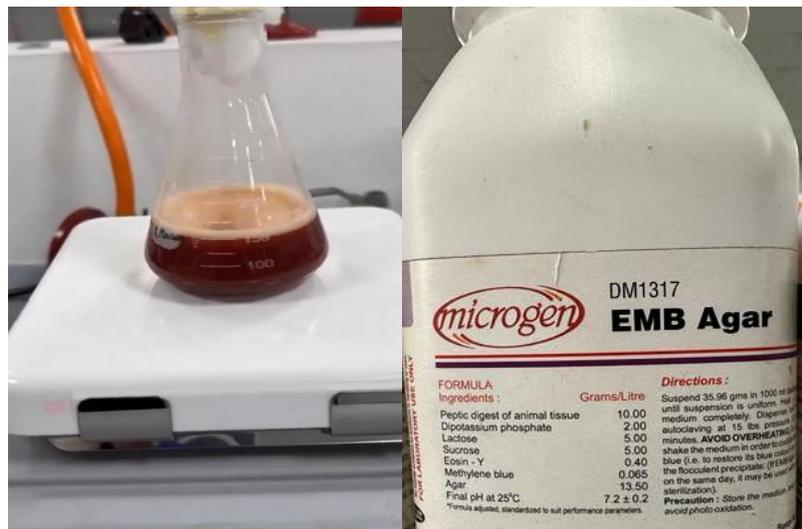


Figura 13. Preparación de agar EMB.

El agar EMB para las bacterias, se comenzó pesando 3.596 gramos de agar EMB, que se mezcló en un matraz Erlenmeyer con 100 mL de agua destilada. Este matraz se colocó en una estufa con un agitador magnético configurado a 100 °C y 1000 rpm,

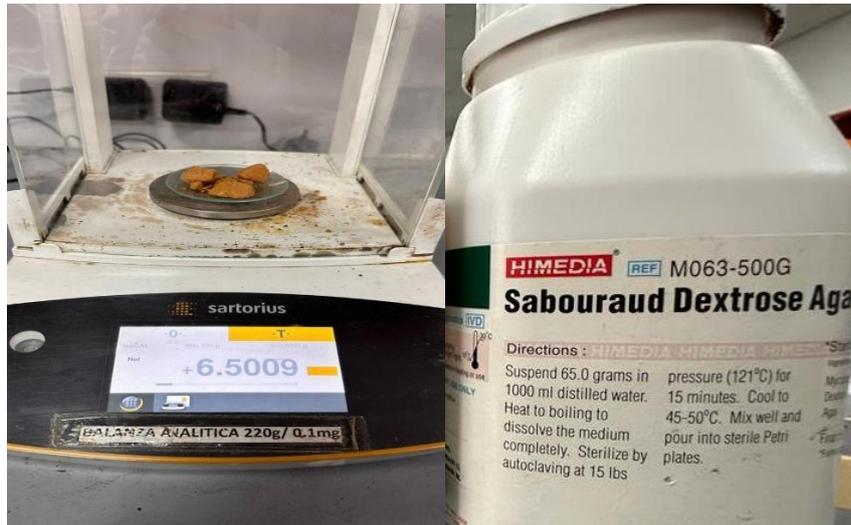


Figura 14. Preparación de agar Sabouraud.

El agar Sabouraud para los hongos, se pesaron 6.500 gramos de agar Sabouraud que se mezclaron en un matraz Erlenmeyer con 100 mL de agua destilada. Este matraz también se calentó en una estufa con un agitador magnético a 100 °C y 1000 rpm.



Figura 15. Esterilización en autoclave.

Las mezclas de agar y las placas Petri se esterilizaron en una autoclave a 121°C durante 15 minutos para eliminar cualquier microorganismo presente, lo que permitió que el agar se solidificara sin riesgo de contaminación. Una vez esterilizado, se dejó enfriar el agar hasta una temperatura segura de 50°C. Tras una mezcla cuidadosa, se vertió los agares en placas de Petri estériles.



Figura 16. Incubación de las placas Petri.

Se vertió los agares preparados a las placas Petri, seguidamente se llevaron a una incubadora a una temperatura adecuada, generalmente alrededor de 30°C, durante 48 horas. Las placas fueron revisadas periódicamente para monitorear el crecimiento de las colonias.

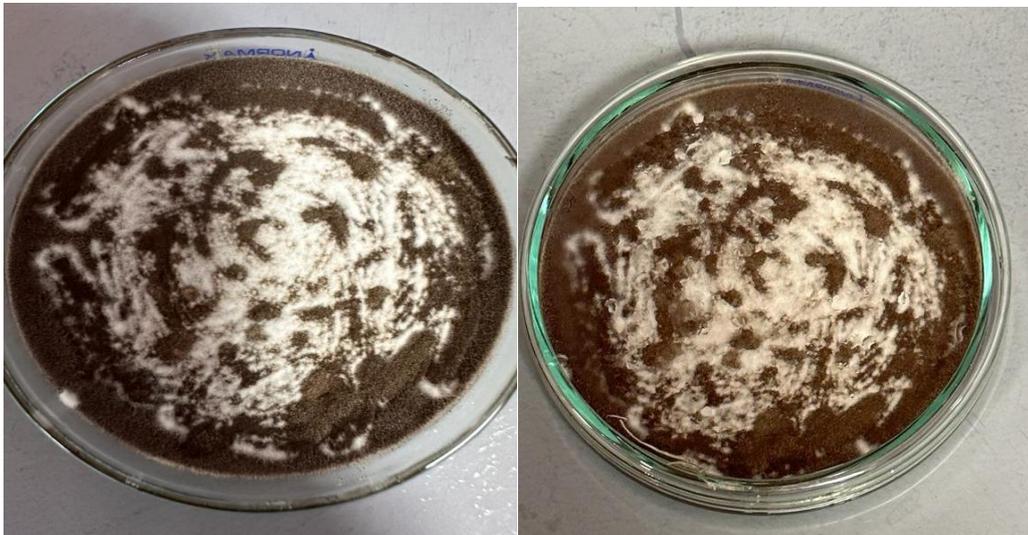


Figura 17. Obtención de hongo filamentoso.

Después de 48 horas de incubación, se obtuvo en las placas Petri un hongo filamentoso con las siguientes características, su color es blanco, presenta tonalidades verdosas y negras, con forma algodonosa.

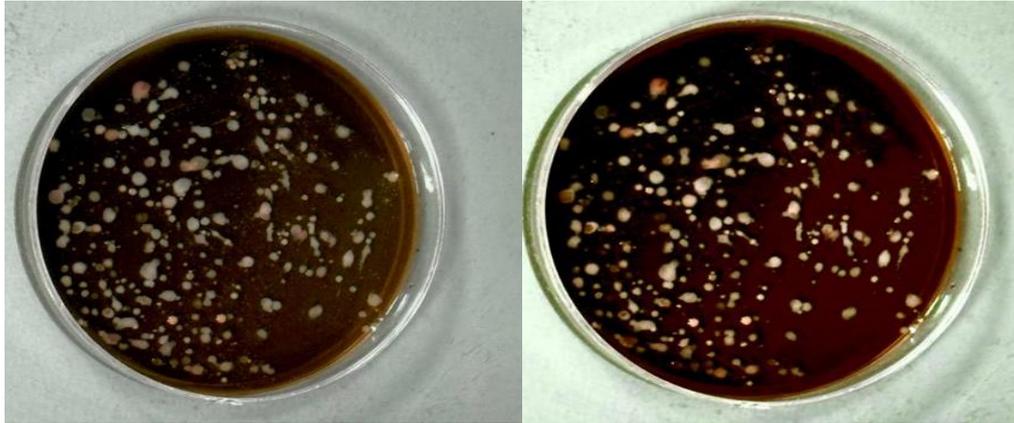


Figura 18. Obtención de la bacteria gramnegativa.

Se observó el crecimiento de bacterias en las placas Petri después del tiempo estimado de 48 horas, donde se observa varias colonias que han desarrollado con las siguientes características, color cremas y algunas rosadas, forma plana y de bordes semicirculares, colonias separadas.



Figura 19. Extracción de microorganismo en solución salina.

Del cultivo obtenido, para la obtención de un cultivo más puro se colocó en un tubo de ensayo 1 mL de solución salina, seguidamente con un isopo esterilizado, se extrajo las colonias fúngicas que están en la placa Petri, al mismo paso con un aza de siembra se extrajo de las placas Petri las colonias de bacterias.



Figura 20. Dilución de solución fúngica y bacteriana.

En 6 tubos de ensayo se colocó 9 mL de solución salina tanto para la dilución de la solución fúngica, como para la solución bacteriana; se tomó con la pipeta de Pasteur 1 mL de solución fúngica, y se colocó en el primer tubo de ensayo 10^{-1} , seguidamente se sustrajo 1 mL (del primer tubo de ensayo 10^{-1}) y se colocó en

siguiente tubo de ensayo 10^{-2} , este procedimiento se repitió en los 6 tubos de ensayos obteniendo tubos de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} . El procedimiento fue replicado en 6 tubos de ensayo a parte con la solución bacteriana.

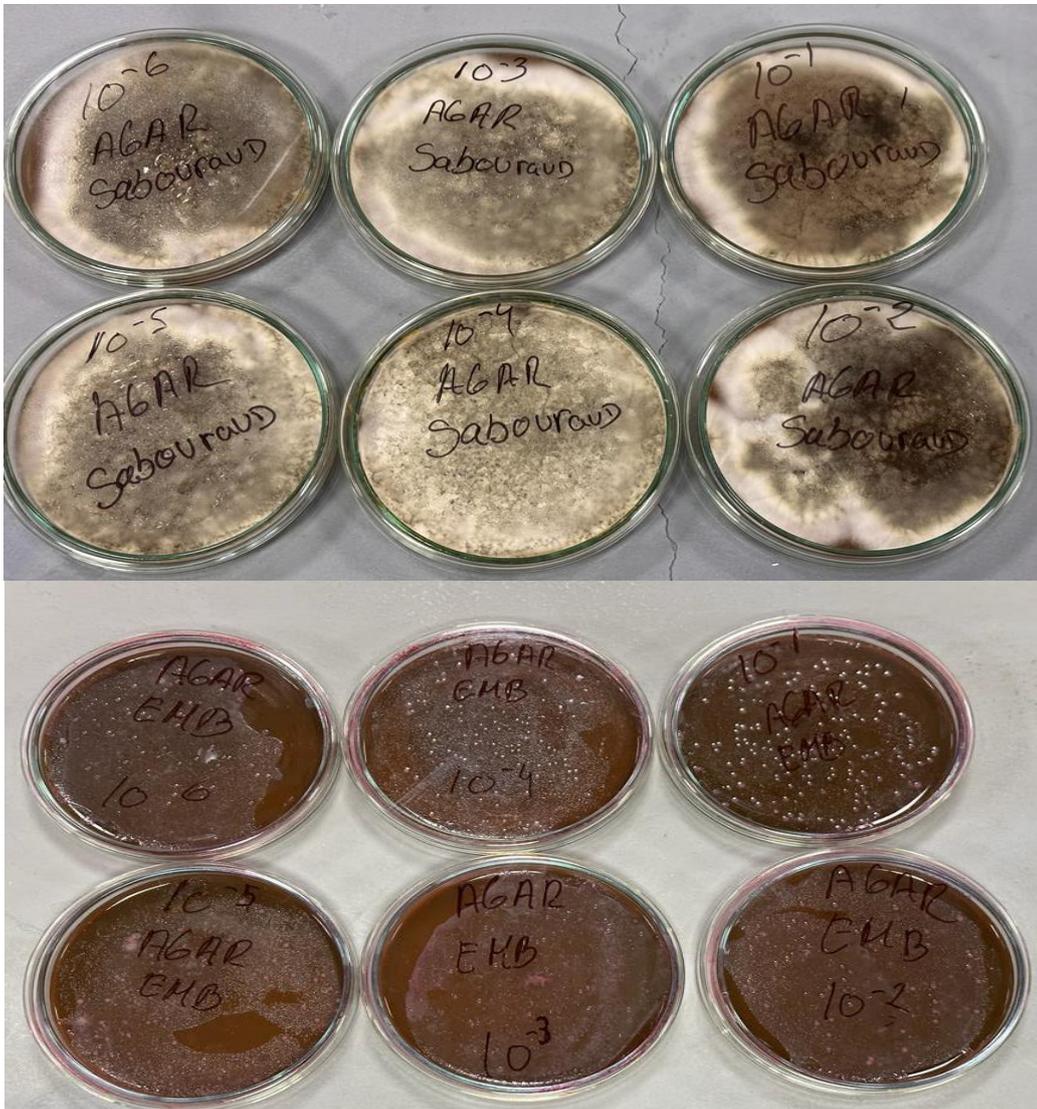


Figura 21. Placas Petri Agar Sabouraud (Hongos), Agar EMB (Bacteria).

De las diluciones tubos de ensayo de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} , se extrajo 1 mL con una pipeta estéril para tomar una alícuota de la suspensión de microorganismos y depositarla en la superficie del medio de cultivo sólido presente en una placa de Petri. Con ayuda de una espátula estéril o un esparcidor de vidrio con forma de L, se extendió la suspensión de microorganismos sobre la superficie del medio de cultivo. A medida que se esparcía la suspensión, se rotó la placa para

lograr una distribución uniforme de los microorganismos. Esta acción permitió el crecimiento de colonias separadas en la superficie del medio. Tras dejar secar las placas durante unos minutos en la campana de flujo laminar, se colocaron las tapas se invirtieron. Posteriormente, se incubaron las placas de Petri invertidas en una incubadora a una temperatura adecuada, generalmente alrededor de 30°C, durante 48 horas. Las placas fueron revisadas periódicamente para monitorear el crecimiento de las colonias.



Figura 22. Identificación de un hongo filamentoso

Para la identificación del hongo, se realizaron una serie de pruebas, como la tinción de Azul Lactofenol, la observación de la morfología de las esporas e hifas, y la prueba de hidrólisis de almidón.

Para la tinción de Azul Lactofenol, se tomó una pequeña muestra del hongo y se colocó en un portaobjetos limpio y seco. Luego, se agregaron unas gotas de azul de lactofenol para teñir y conservar las estructuras del hongo. El portaobjetos con la muestra fue calentado suavemente para eliminar burbujas de aire y se colocó un cubreobjetos cuidadosamente sobre la muestra. Mediante microscopía directa, se pudo distinguir hifas septadas y conidios en cadena, que son morfología típica del hongo del género *Aspergillus Spp*. También se realizó la prueba de la hidrólisis de almidón, en el cual se preparó placas de agar almidón y se inoculó la muestra fúngica en el centro de cada placa. Después de la incubación durante 24-48 horas, se aplicó solución de yodo para revelar la formación de un halo claro alrededor del

crecimiento microbiano, indicando un resultado positivo de hidrólisis de almidón debido a la descomposición del almidón en la placa. Con base en los resultados obtenidos, se identificó que el microorganismo aislado pertenecía al género *Aspergillus Spp.*

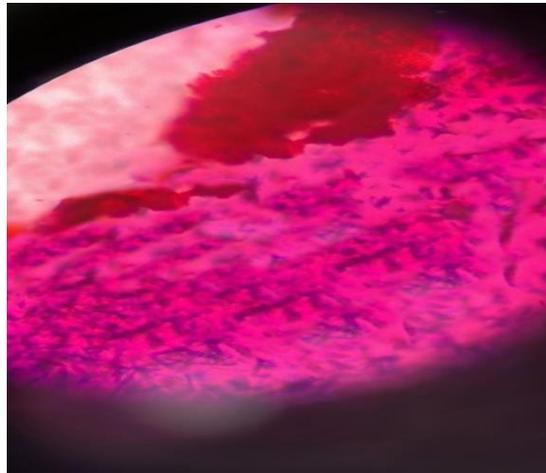


Figura 23. Identificación de bacteria gramnegativa

Para la identificación de la bacteria, se realizaron una serie de pruebas, como la tinción Gram, la prueba de fermentación de carbohidratos, la prueba de la Voges-Proskauer (VP), la prueba de citrato y la prueba de ureasa.

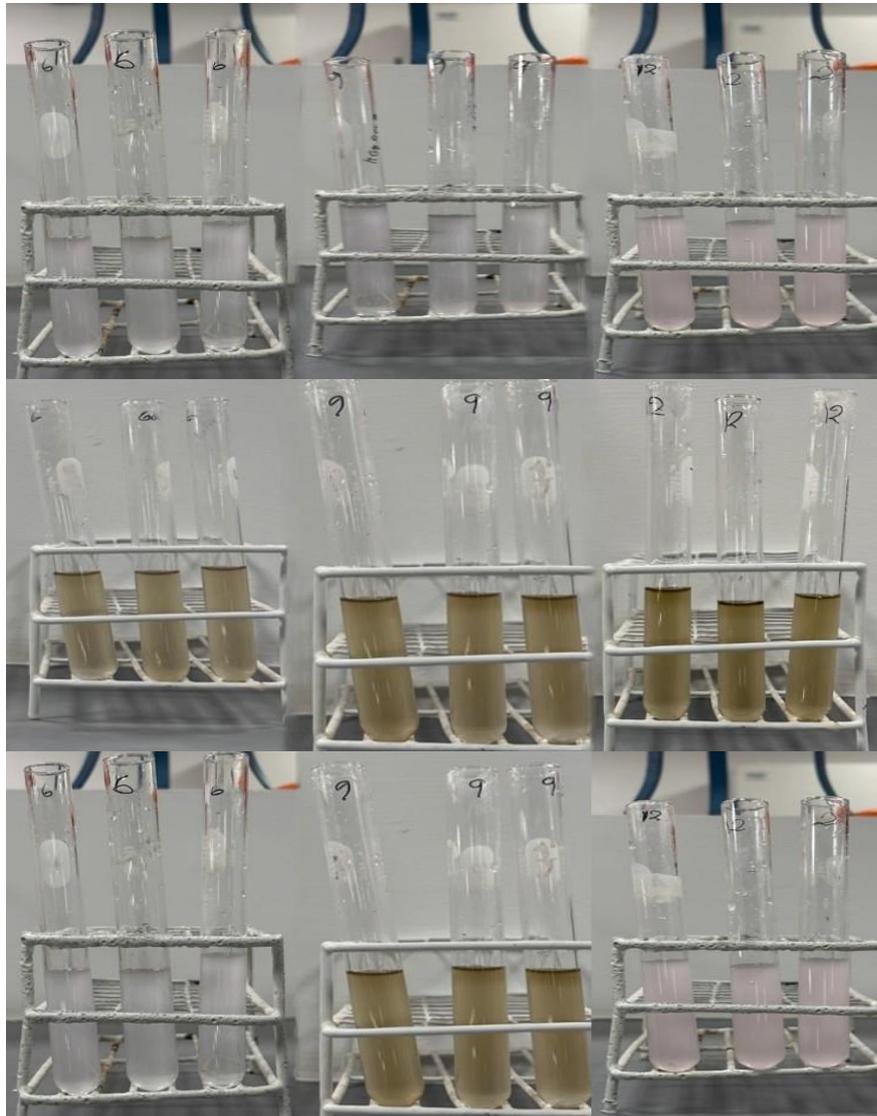
En primer lugar, para la tinción de Gram, la muestra bacteriana fue preparada tomando una pequeña cantidad y fijándola en un portaobjetos limpio y seco mediante calor. aplicando cristal violeta para teñir las células bacterianas y lugol como mordiente, tras la decoloración con alcohol-acetona, se aplicó safranina para teñir las bacterias gramnegativas, que adquirieron un color rojo/rosado, tras ser observada bajo el microscopio reveló la presencia de una bacteria gramnegativa. Posteriormente para la prueba de fermentación de carbohidratos, se etiquetó tres tubos de ensayo para glucosa, lactosa y sacarosa respectivamente, los tubos fueron inoculados con la bacteria y se incubaron a 37 °C durante 24-48 horas, se observaron signos de fermentación de glucosa y lactosa con producción de ácido y gas, indicativo del género *Enterobacter Spp.* En la prueba de Voges-Proskauer (VP), se incubó la bacteria en un tubo de ensayo con medio de cultivo de VP y se incubó durante 24-48 horas a 37 °C, se agregaron los reactivos VP al tubo de

ensayo y se reincubó a temperatura ambiente durante 30 minutos a 1 hora, un cambio a color rojo oscuro indicó un resultado positivo de VP, sugiriendo la producción de acetonas por fermentación de glucosa. Para la prueba del citrato, se inoculó la bacteria en un tubo de ensayo con medio de cultivo de citrato y se incubó a 37 °C durante 24-48 horas. La bacteria utilizó el citrato como única fuente de carbono, mostrando un cambio de color del medio de cultivo de verde a azul, indicando un resultado positivo de citrato. Finalmente, se realizó la prueba de la ureasa, en el cual se inoculó la bacteria en un tubo de ensayo con medio de cultivo de urea y se incubó a 37 °C durante 24-48 horas, no se observó cambio en el color del medio, indicando un resultado negativo de ureasa, lo que sugiere que la bacteria no pudo hidrolizar la urea. Con base en los resultados obtenidos, se identificó que el microorganismo aislado pertenecía al género *Enterobacter Spp.*



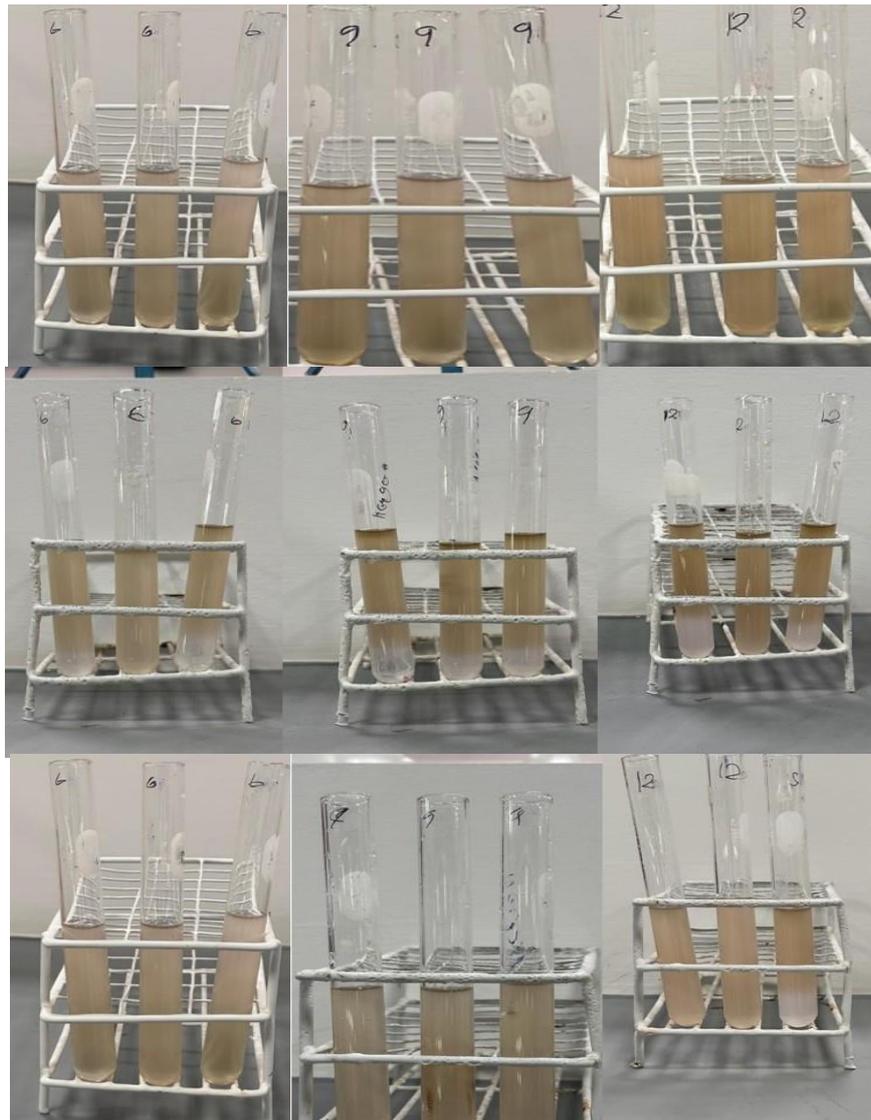
Figura 24. Preparación solución fúngica y bacteriana ($6 \cdot 10^8$, $9 \cdot 10^8$, $12 \cdot 10^8$)

En 6 vasos precipitados se colocaron 25 mL de solución salina individualmente, con un isopo esterilizado se extrajo un número de colonias fúngicas que sea proporcional a las concentraciones requeridas $6 \cdot 10^8$, $9 \cdot 10^8$, $12 \cdot 10^8$, dicho procedimiento también fue aplicado para la solución bacteriana.



*Figura 25. Solución fúngica y bacteriana
($6 \cdot 10^8$, $9 \cdot 10^8$, $12 \cdot 10^8$)*

En 3 tubos de ensayo de concentración $6 \cdot 10^8$, $9 \cdot 10^8$, $12 \cdot 10^8$ se vertió 2,5 mL de Solución salina fúngica, respectivamente de los vasos precipitados, dicho procedimiento también fue aplicado para la solución bacteriana, con 3 repeticiones respectivas, para la medición de parámetros posteriores



*Figura 26. Mezcla de solución fúngica y bacteriana
($6 \cdot 10^8$, $9 \cdot 10^8$, $12 \cdot 10^8$)*

Se mezcló la solución fúngica y la solución bacteriana, en total se obtuvo 27 tubos de ensayo con 2,5 de solución fúngica y 2,5 mL de solución bacteriana cada una con concentraciones de $6 \cdot 10^8$, $9 \cdot 10^8$, $12 \cdot 10^8$ y sus respectivas repeticiones.

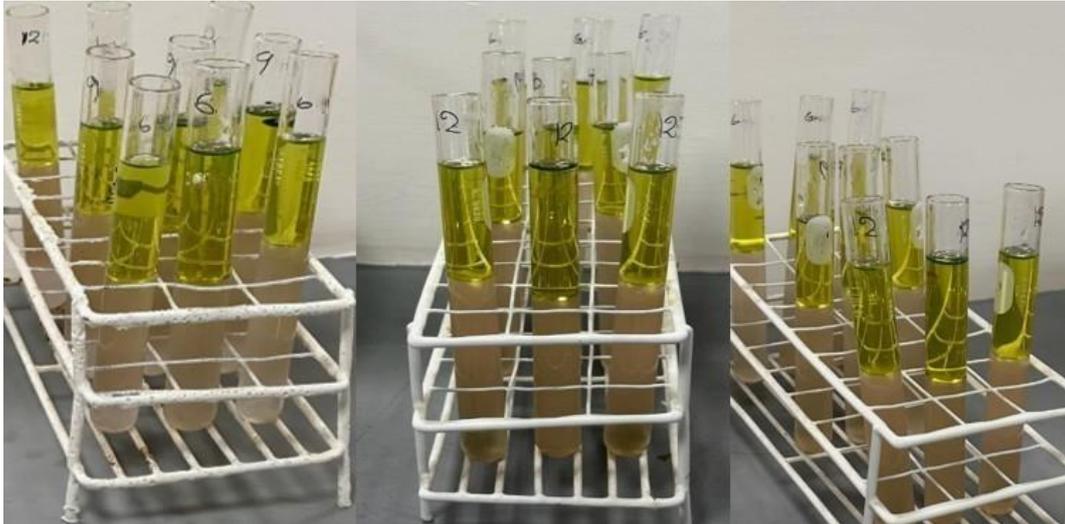


Figura 27. Inicio del tratamiento del co-cultivo de un hongo filamentoso y una bacteria gramnegativa

Se coloca 15 mL de Diesel a los 27 tubos de ensayo que contiene 2,5 de solución fúngica y 2,5 mL de solución bacteriana, para el inicio del tratamiento se llevó al agitador magnético, esto para ayudar a garantizar una dispersión uniforme de los componentes y microorganismos en la muestra. El tratamiento en el agitador se llevó a cabo de 0, 24 y 48 horas.



Figura 28. Post tratamiento del co-cultivo, 48 horas.

Después del tratamiento del co-cultivo, se observa una disminución en el Diesel, se llevó al laboratorio para toma de medición de parámetros físicos y químicos.

Caracterización de la muestra de agua después del tratamiento

La determinación de los parámetros físicos, químicos, hidrocarburos y eficiencia de la degradación se realizaron en el laboratorio de fisicoquímica de la Universidad César Vallejo.

3.6. Método de análisis de datos

Se empleó la recolección de datos a través de fichas las cuales sirven para la recopilación de datos del muestreo en la recolección de la muestra, control de condiciones, control de tratamientos y el control de las propiedades tensioactivas, además, se emplea las herramientas informáticas, estas principales son: Microsoft Excel y el SPSS, la cual permite la generación de gráficos a través de tablas, las cuales proporcionarán gráficas respecto a los resultados obtenidos. Además de la aplicación de Google Earth o Google Maps, la cual ayuda a una mayor referenciación del sitio muestreado, ayudando a la limitación del área muestreada. Dichas herramientas son usadas para un mayor análisis y entendimiento de nuestro trabajo de investigación.

3.7. Aspectos éticos

Este trabajo de investigación cumplió con los códigos éticos de la Universidad César Vallejo, vinculada con el Consejo Universitario N°0126 - 2017, ofreciendo autonomía y honestidad de parte de los autores. Debido a que esta investigación es aplicada, la mayoría de fuentes analizadas fueron artículos científicos y trabajos de investigación, por lo cual se respetó la autoría de los investigadores, también fueron citadas correctamente las fuentes utilizadas, empleando la norma internacional ISO 690. Se cumple con los principios éticos, con la intención a que en un futuro este trabajo sea utilizado en investigaciones donde recolectan datos sobre el co-cultivo de microorganismos degradadores de hidrocarburos de petróleo y por último mencionar la justicia, ya que los participantes tuvieron un trato igualitario.

IV. RESULTADOS

4.1. Eficiencia de biodegradación de hidrocarburos

4.1.1. Análisis Inferencial

A la hipótesis:

Ho = Todos los tratamientos son iguales (No hay efecto)

Ha = Al menos un tratamiento es diferente (Hay efecto)

El análisis de varianza realizado para todos los tratamientos, como se muestra en la Tabla 2, indica que hay una diferencia significativa entre los grupos. Esto lleva a rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alternativa. En otras palabras, los resultados sugieren que la cantidad de bacterias y las horas de evaluación tienen un impacto significativo en la degradación del Diesel, tal como se refleja en la Tabla 2.

Tabla 2. *Análisis de varianza para la degradación de HTP.*

ANOVA					
HTP	Suma de		Media		
	cuadrados	gl	cuadrática	F	Sig.
Entre Tratamientos	593,055	8	74,132	67849,46	<.001
				7	
Dentro de Tratamientos	,020	18	,001		
Total	593,074	26			

Fuente: Elaboración propia

Dado que el análisis de varianza resultó ser significativo, lo que sugiere que al menos un tratamiento es diferente de los demás, se decide avanzar con la prueba de Friedman. Esta prueba nos permitirá determinar cuál de los tratamientos es el más efectivo. Los detalles de esta comparación se pueden encontrar en la Tabla 2.

Tabla 3. Rangos promedio de la prueba de Friedman para la degradación de HTP.

Rangos	
	Rango promedio
C6_0	7,00
C6_24	6,00
C6_48	3,00
C9_0	8,00
C9_24	5,00
C9_48	2,00
C12_0	9,00
C12_24	4,00
C12_48	1,00

Fuente: Elaboración propia

En esta prueba, para cada fila de los datos, los diferentes tratamientos (las diferentes combinaciones de concentración y tiempo) se clasifican en función de sus valores. El tratamiento con el valor más bajo obtiene el rango 1, el segundo valor más bajo obtiene el rango 2, y así sucesivamente. Luego, para cada tratamiento, se calcula el rango promedio.

En este caso, los rangos promedio indican el rango promedio de los valores de Hidrocarburos Totales de Petróleo (HTP) para cada combinación de concentración y tiempo. Por ejemplo, el valor de 7,00 para C6_0 significa que, en promedio, los valores de HTP para la concentración de $6 \cdot 10^8$ a tiempo 0 tienen el séptimo rango más alto entre los nueve tratamientos.

Un rango promedio más bajo indica un valor promedio más bajo de HTP, lo que en este caso indicaría una mayor degradación del diésel. Por lo tanto, según estos resultados, la combinación de concentración y tiempo que resultó en la mayor degradación del diésel fue $12 \cdot 10^8$ a las 48 horas (C12_48), que tuvo el rango promedio más bajo de 1,00.

Tabla 4. Estadísticos de prueba de Friedman para la degradación de HTP.

Estadísticos de prueba ^a	
N	3
Chi-cuadrado	24,000
gl	8
Sig. asin.	,002

a. Prueba de Friedman

Fuente: Elaboración propia

Los resultados de la prueba de Friedman mostraron una diferencia estadísticamente significativa en la degradación del diésel entre al menos dos de los tratamientos (Chi-cuadrado = 24,000, grados de libertad = 8, $p = 0.002$). Esto indica que la concentración de colonias y el tiempo tienen un efecto significativo en la degradación del diésel.

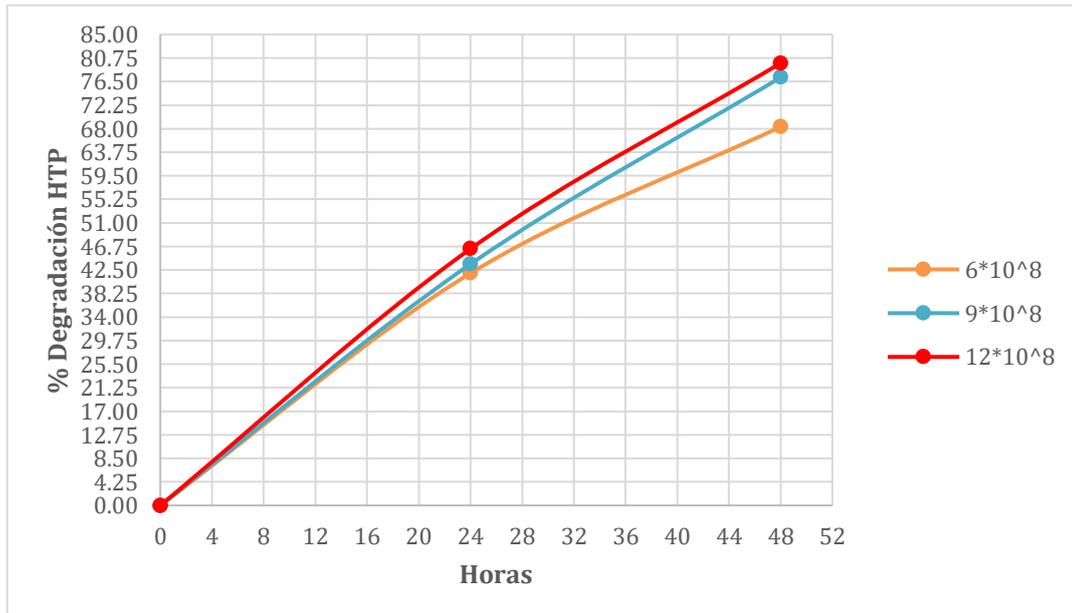
4.1.2. Análisis descriptivo

Tabla 5. Porcentaje de degradación.

% Degradación HTP (15 mL)			
Horas	Cantidad de concentración de solución del co-cultivo (5 mL) de <i>Aspergillus Spp.</i> (2.5 mL) y <i>Enterobacter Spp.</i> (2.5 mL)		
	6*10 ⁸ (UFC/mL)	9*10 ⁸ (UFC/mL)	12*10 ⁸ (UFC/mL)
0	0.00	0.00	0.00
24	41.90	43.57	46.32
48	68.35	77.26	79.83

Fuente: Elaboración propia

La tabla 5 está organizada en tres columnas, cada una representando una cantidad diferente de la concentración de solución del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.*: 6×10^8 (UFC/mL), 9×10^8 (UFC/mL) y 12×10^8 (UFC/mL) con una cantidad de Diesel de 15 (mL) que se colocó en todos los tubos de ensayos respectivamente. La primera fila de la tabla muestra la cantidad de degradación del HTP en el momento inicial, que es cero para todas las cantidades. Las filas siguientes muestran la cantidad de degradación del HTP en diferentes momentos en el tiempo, que van desde 0 horas hasta 48 horas. Cada fila muestra la cantidad de degradación del HTP en porcentaje para cada cantidad de concentración de solución del co-cultivo. Se puede observar que a medida que pasa el tiempo, la cantidad de degradación del HTP aumenta para todas las cantidades. Además, cuanto mayor es la cantidad de concentración de la solución del co-cultivo, mayor es la cantidad de degradación. Por ejemplo, después de 48 horas, la cantidad de degradación del HTP es del 79.83% para la cantidad de 12×10^8 (UFC/mL), mientras que es del 68.35% para la cantidad de 6×10^8 (UFC/mL).



Fuente: Elaboración propia

Figura 29. Curva del porcentaje de degradación de TPH según concentraciones.

De figura 29, muestra la cantidad de degradación del HTP en porcentaje en función del tiempo en horas. El eje horizontal representa el tiempo en horas, mientras que el eje vertical representa el porcentaje de degradación del HTP. El gráfico muestra tres líneas diferentes, cada una representando una cantidad diferente de concentraciones: 6×10^8 (UFC/mL), 9×10^8 (UFC/mL) y 12×10^8 (UFC/mL). En general, se puede observar que a medida que pasa el tiempo, la cantidad de degradación del HTP aumenta.

En las primeras 24 horas, la cantidad de degradación es relativamente baja, pero después de 48 horas, la cantidad de degradación aumenta significativamente. También se puede observar que cuanto mayor es la cantidad de concentración del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.*, mayor es la cantidad de degradación. La línea que representa 12×10^8 (UFC/mL) muestra la mayor cantidad de degradación en comparación con las otras dos líneas.

De acuerdo con los resultados proporcionados. La hipótesis establece que la eficiencia de biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* fue del 75%. Según los resultados, las eficiencias de biodegradación superaron este porcentaje en algunos casos. Tenemos que para la cantidad de concentración de solución del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* 12×10^8 (UFC/mL), la eficiencia de degradación fue del 79.83% después de 48 horas. Esto es superior al 75% propuesto en la hipótesis. Sin embargo, para la cantidad de concentración de solución del co-cultivo de 6×10^8 , la eficiencia de degradación fue del 68.35% después de 48 horas, lo cual es inferior al 75% propuesto en la hipótesis. Entonces, la hipótesis es correcta en el sentido de que se puede alcanzar o incluso superar el 75% de eficiencia de biodegradación, pero depende de la concentración inicial de solución del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.*, con concentraciones mayores, la eficiencia de biodegradación puede ser más alta, mientras que, con concentraciones menores, la eficiencia puede ser inferior al 75% propuesto.

4.2. Caracterización de los microorganismos

Tabla 6. *Caracterización de la muestra.*

Ficha 2. Caracterización de los microorganismos				
Título	Eficiencia en la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i> , Ancón - Lima, 2023			
Investigadores:	Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio			
	Collantes Soto, Jean Pierre			
Microorganismo	Concentración (UFC/mL)	Tamaño de colonia (mm)	Forma de Colonia	Color de colonia
<i>Aspergillus Spp.</i>	1*10 ⁶	2 - 5 mm	Algodonosa y circular	Color blanco, presenta tonalidades verdosas y negras
<i>Enterobacter Spp.</i>	1*10 ⁶	2 - 4 mm	Redondas y lisas	Puede pasar de color crema a rosado.

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 6, presenta la caracterización de dos microorganismos utilizados en un co-cultivo. El primer microorganismo *Aspergillus Spp*, identificado como un hongo filamentoso, muestra una alta concentración de 1×10^6 (UFC/mL). Las colonias de este microorganismo varían en tamaño entre 2 y 5 mm. La forma de las colonias es descrita como algodonosa y circular, características típicas de muchos hongos filamentosos. El color de las colonias es principalmente blanco, pero presenta tonalidades verdosas y negras, lo que podría indicar la producción de esporas u otros pigmentos. El segundo microorganismo *Enterobacter Spp*, identificado como una bacteria gramnegativa, también muestra una alta concentración de 1×10^6 UFC/mL. Las colonias de esta bacteria varían en tamaño entre 2 y 4 mm. Las colonias son descritas como redondas y lisas, características comunes en muchas bacterias. El color de las colonias puede variar de crema a rosado, lo que podría ser indicativo de cambios metabólicos o de la producción de pigmentos bacterianos.

Basándonos en los resultados proporcionados, en relación al crecimiento y características de las colonias de los microorganismos, los resultados muestran que la concentración de las colonias de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* es alta, además los detalles sobre el tamaño, forma y color de las colonias también corroboran el crecimiento adecuado de estos microorganismos.

4.3. Condiciones de operación

Tabla 7. Condiciones de operación para microorganismos.

Ficha 3. Control de condiciones de operación para microorganismos			
Título	Eficiencia en la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i> , Ancón - Lima, 2023		
Investigadores:	Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio Collantes Soto, Jean Pierre		
Microorganismo	Temperatura de incubación	Tiempo de incubación	Concentración (UFC/mL)
<i>Aspergillus Spp.</i>	30 °C	48 horas	6*10 ⁸
	30 °C	48 horas	9*10 ⁸
	30 °C	48 horas	12*10 ⁸
<i>Enterobacter Spp.</i>	30 °C	48 horas	6*10 ⁸
	30 °C	48 horas	9*10 ⁸
	30 °C	48 horas	12*10 ⁸

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 7, la temperatura y el tiempo de incubación son factores críticos que afectan el crecimiento y la actividad metabólica de los microorganismos. Los resultados del tratamiento muestran que la temperatura de incubación óptima para ambos tipos de microorganismos es de 30°C, y el tiempo de incubación óptimo es de 48 horas. Además, los resultados muestran que la cantidad de UFC/mL de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* aumenta a medida que aumenta el tiempo de incubación. Basándonos en los resultados proporcionados, se afirma que las condiciones de operación son adecuadas para el co-cultivo de un hongo filamentoso y una bacteria gramnegativa para la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar. Los resultados indican que la temperatura óptima de incubación para ambos microorganismos es de 30°C, y el tiempo de incubación óptimo es de 48 horas, lo que sugiere que estas son las condiciones adecuadas para su operación. Además, el aumento en la cantidad de UFC/mL de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* con el tiempo de incubación sugiere que estas condiciones son

propicias para su crecimiento y actividad metabólica, lo que es fundamental para la biodegradación de los hidrocarburos. Por lo tanto, la hipótesis de que las condiciones de operación son adecuadas para el co-cultivo de estos microorganismos se cumple basándonos en los resultados presentados.

4.4. Parámetros fisicoquímicos

Tabla 8. Medición de parámetros fisicoquímicos.

Ficha 4. Determinación de parámetros y evaluación microbiana

Título	Eficiencia en la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i> , Ancón - Lima, 2023
Línea de investigación	Calidad y Gestión de los Recursos
Investigadores:	Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio
	Collantes Soto, Jean Pierre
Fecha:	30/06/2023

Datos de la muestra

Muestra						Parámetros fisicoquímicos						
Codificación	Tiempo (Horas)	Concentración (UFC/mL)	Repetición	Tipo de muestra	Cantidad (mL)	Temperatura (°C)	pH	DBO ₅ (mg/L)	Conductividad eléctrica (mS/cm)	Oxígeno Disuelto (mg/L)	Hidrocarburos totales de petróleo (mg/L)	% Degradación
CJ - 001	---	---	---	Blanco	20 mL agua de mar	20.3	8	62.3	31.1	5.85	---	---
CJ - 002	0 horas	6*10 ⁸	1	Co-cultivo (<i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.6	6.68	84.07	25.51	2.18	15.04	0.00
			2		2.5 mL solución bacteriana	24.6	6.68	84.12	25.57	2.14	15.06	
			3		15 mL Diesel	24.6	6.69	84.15	25.65	2.19	15.05	

CJ - 003	24 horas	9*10^8	1	Co-cultivo (<i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.6	6.64	82.08	23.76	2.48	15.11	0.00
			2		2.5 mL solución bacteriana	24.6	6.66	82.04	23.78	2.57	15.15	
			3		15 mL Diesel	24.6	6.64	82.08	23.71	2.63	15.12	
		12*10^8	1	Co-cultivo (<i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.6	6.61	76.89	23.42	2.83	15.18	0.00
			2		2.5 mL solución bacteriana	24.6	6.63	76.85	23.45	2.85	15.24	
			3		15 mL Diesel	24.6	6.65	76.87	23.46	2.89	15.24	
	24 horas	6*10^8	1	Co-cultivo (<i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.6	6.21	47.14	17.14	4.18	8.72	41.90
			2		2.5 mL solución bacteriana	24.6	6.24	47.18	17.26	4.17	8.75	
			3		15 mL Diesel	24.6	6.22	47.16	17.22	4.21	8.76	
		9*10^8	1	Co-cultivo (<i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.6	6.49	45.11	17.73	4.63	8.52	43.57
			2		2.5 mL solución bacteriana	24.6	6.51	45.11	17.78	4.67	8.55	
			3		15 mL Diesel	24.6	6.48	45.13	17.78	4.67	8.54	
12*10^8		1	Co-cultivo (<i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.6	5.99	45.01	18.07	4.94	8.15	46.32	
		2		2.5 mL solución bacteriana	24.6	5.98	45.04	18.12	4.92	8.18		
		3		15 mL Diesel	24.6	5.99	45.06	18.19	4.92	8.18		

CJ - 004	48 horas	6*10^8	1	Co-cultivo (<i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.8	6.39	43.87	17.66	4.97	4.74	68.35
			2		2.5 mL solución bacteriana	24.8	6.37	43.83	17.62	4.97	4.77	
			3		15 mL Diesel	24.8	6.39	43.85	17.65	4.96	4.78	
		9*10^8	1	Co-cultivo (<i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.8	6.24	43.22	15.65	4.99	3.52	77.26
			2		2.5 mL solución bacteriana	24.8	6.24	43.19	15.63	4.97	3.44	
			3		15 mL Diesel	24.8	6.28	43.19	15.62	4.98	3.36	
		12*10^8	1	Co-cultivo (<i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.8	5.92	43.11	17.16	4.97	3.05	79.83
			2		2.5 mL solución bacteriana	24.8	5.97	43.12	17.18	4.96	3.08	
			3		25 mL Diesel	24.8	6.04	43.1	17.17	4.97	3.08	

Fuente: Elaboración propia

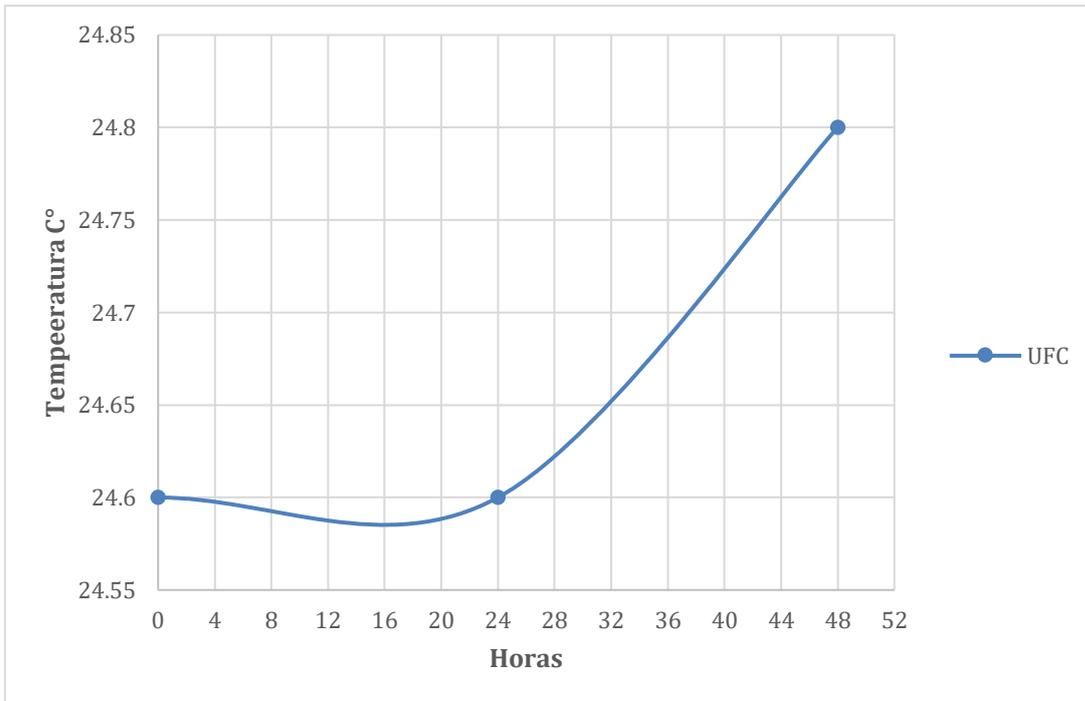
En la Tabla 8, se presentan los resultados detallados por parámetros en las siguientes tablas, dando un análisis realizado en la muestra, incluyendo los valores de pH, temperatura, conductividad, oxígeno disuelto, demanda bioquímica de oxígeno y los hidrocarburos totales de petróleo.

Tabla 9. Mediciones de Temperatura (°C) en el tratamiento.

Temperatura (°C)						
Tiempo	Tipo de resultado	Unidad de medida	Repeticiones	Resultados		
				6 x 10 ⁸ (UFC/mL)	9 x 10 ⁸ (UFC/mL)	12 x 10 ⁸ (UFC/mL)
0 horas	Muestra	°C	1	24.6	24.6	24.6
			2	24.6	24.6	24.6
			3	24.6	24.6	24.6
24 horas	Muestra	°C	1	24.6	24.6	24.6
			2	24.6	24.6	24.6
			3	24.6	24.6	24.6
48 horas	Muestra	°C	1	24.8	24.8	24.8
			2	24.8	24.8	24.8
			3	24.8	24.8	24.8

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 9, se presenta que, se midió la temperatura en 27 muestras donde existe la misma concentración de solución del co-cultivo (5 mL) de *Aspergillus Spp.* (2.5 mL) y *Enterobacter Spp.* (2.5 mL), además se suministró 15 mL de Diesel y se midió en tres momentos distintos: 0 horas, 24 horas y 48 horas. Los resultados se presentan en la tabla 9, donde se muestra el valor de temperatura para cada muestra y cada momento de medición. En todas las muestras y momentos de medición, se obtuvo un valor constante de temperatura de 24.6°C. Esto indica que no hubo variaciones significativas en la temperatura durante el período de medición de 48 horas.



Fuente: Elaboración propia

Figura 30. Curva de la temperatura.

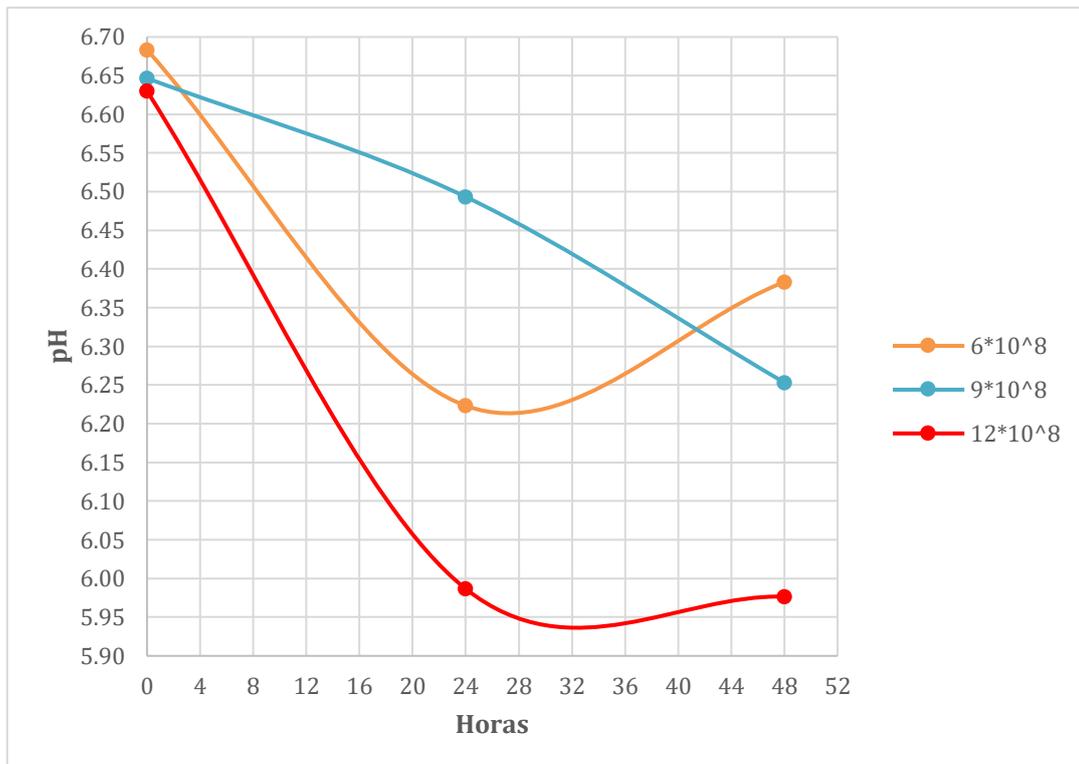
En la Figura 30, se presenta que, el eje x representa el tiempo en horas y el eje y representa la temperatura en grados Celsius. El gráfico muestra que la temperatura se mantiene constante a 24.6°C durante las primeras 24 horas, luego aumenta ligeramente a 24.8°C durante las siguientes 24 horas y se mantiene constante a esa temperatura.

Tabla 10. Mediciones de pH en el tratamiento.

				pH		
Tiempo	Tipo de resultado	Unidad de medida	Repeticiones	Resultados		
				6 x 10 ⁸ (UFC/mL)	9 x 10 ⁸ (UFC/mL)	12 x 10 ⁸ (UFC/mL)
0 horas	Muestra	pH	1	6.68	6.64	6.61
			2	6.68	6.66	6.63
			3	6.69	6.64	6.65
24 horas	Muestra	pH	1	6.21	6.49	5.99
			2	6.24	6.51	5.98
			3	6.22	6.48	5.99
48 horas	Muestra	pH	1	6.39	6.24	5.92
			2	6.37	6.24	5.97
			3	6.39	6.28	6.04

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 10, se presenta que, se determinó el pH en las 27 muestras donde existe la misma concentración de solución del co-cultivo (5 mL) de *Aspergillus Spp.* (2.5 mL) y *Enterobacter Spp.* (2.5 mL), además se suministró 15 mL de Diesel y se midió en tres momentos distintos: 0 horas, 24 horas y 48 horas. Los resultados se presentan en la tabla 10, donde se muestra el valor promedio de pH para cada concentración de la solución del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* con 3 repeticiones y cada momento de medición. En la muestra tomada en el momento 0 horas, el valor promedio de pH en todas las concentraciones fue de 6.65. En la muestra tomada a las 24 horas, el valor promedio de pH disminuyó a 6.23. Finalmente, en la muestra tomada a las 48 horas, el valor promedio de pH disminuyó minúsculamente a 6.20. El pH es una medida de la acidez o alcalinidad de una solución. Un pH de 7 se considera neutral, mientras que un pH menor a 7 indica acidez y un pH mayor a 7 indica alcalinidad. En este caso, los valores de pH obtenidos en las muestras se mantuvieron en un rango ligeramente ácido.



Fuente: Elaboración propia

Figura 31. Curva del pH según concentraciones.

En la Figura 31, se presenta que, el eje x representa el tiempo en horas y el eje y representa el pH, cada curva es presentada en un color diferente, siendo la curva naranja para la concentración de 6×10^8 (UFC/mL), la curva azul para la concentración de 9×10^8 (UFC/mL) y la curva roja para la concentración de 12×10^8 (UFC/mL). El gráfico muestra que el pH disminuye con el tiempo para todas las concentraciones de la solución del co-cultivo, pero la tasa de disminución es mayor para concentración más alta la cual es 12×10^8 (UFC/mL), donde a las 0 horas se mantuvo en un pH promedio de 6.63, después de 24 horas paso a tener un pH de 5.99, posteriormente transcurrido las 48 horas se obtuvo un pH de 5.98 esto nos da a entender que el pH en esta concentración es ligeramente ácido. En general, se muestra una relación inversa entre las concentraciones de la solución del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* y el pH, lo que se infiere que la presencia de UFC en el agua puede disminuir el pH del agua.

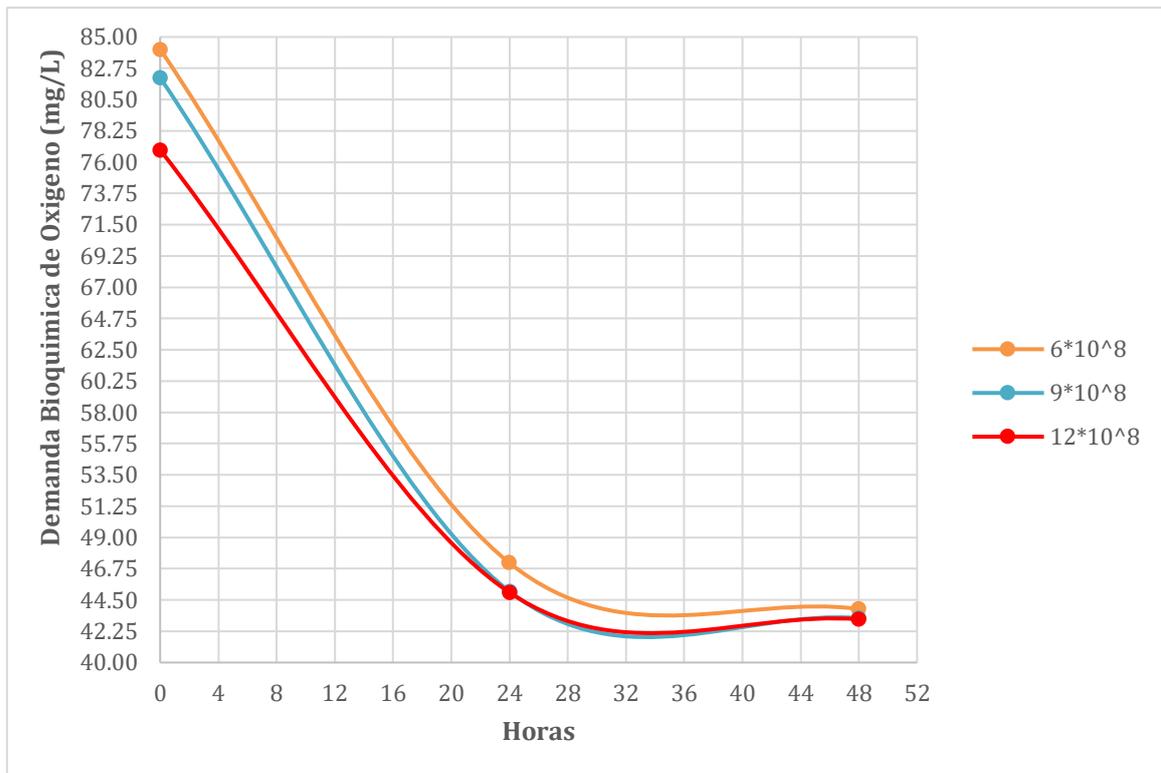
Tabla 11. Mediciones de Demanda Bioquímica de Oxígeno (mg/L) en el tratamiento.

Demanda Bioquímica de Oxígeno (mg/L)						
Tiempo	Tipo de resultado	Unidad de medida	Repeticiones	Resultados		
				6 x 10 ⁸ (UFC/mL)	9 x 10 ⁸ (UFC/mL)	12 x 10 ⁸ (UFC/mL)
0 horas	Muestra	mg/L	1	84.07	82.08	76.89
			2	84.12	82.04	76.85
			3	84.15	82.08	76.87
24 horas	Muestra	mg/L	1	47.14	45.11	45.01
			2	47.18	45.11	45.04
			3	47.16	45.13	45.06
48 horas	Muestra	mg/L	1	43.87	43.22	43.11
			2	43.83	43.19	43.12
			3	43.85	43.19	43.10

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 11, se presenta que, se midió la demanda bioquímica de oxígeno en las 27 muestras donde existe la misma concentración de solución del co-cultivo (5 mL) de *Aspergillus Spp.* (2.5 mL) y *Enterobacter Spp.* (2.5 mL), además se suministró 15 mL de Diesel y se midió en tres momentos distintos: 0 horas, 24 horas y 48 horas. Los resultados se presentan en la tabla 11, donde se muestra el valor de demanda bioquímica de oxígeno para cada concentración del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* con 3 repeticiones y cada momento de medición. En la muestra tomada en el momento 0 horas, el valor promedio de demanda bioquímica de oxígeno fue de 81.02 mg/L. En la muestra tomada a las 24 horas, el valor promedio de demanda bioquímica de oxígeno disminuyó a 45.77 mg/L. Finalmente, en la muestra tomada a las 48 horas, el valor promedio de demanda bioquímica de oxígeno disminuyó aún más a 43.39 mg/L. En general, una mayor demanda bioquímica de oxígeno indica una mayor cantidad de materia orgánica presente en la muestra.

En este caso, los resultados indican que la cantidad de materia orgánica presente en la muestra disminuyó significativamente durante las 0, 24 y 48 horas de medición.



Fuente: Elaboración propia

Figura 32. Curva de la DBO₅ según concentraciones.

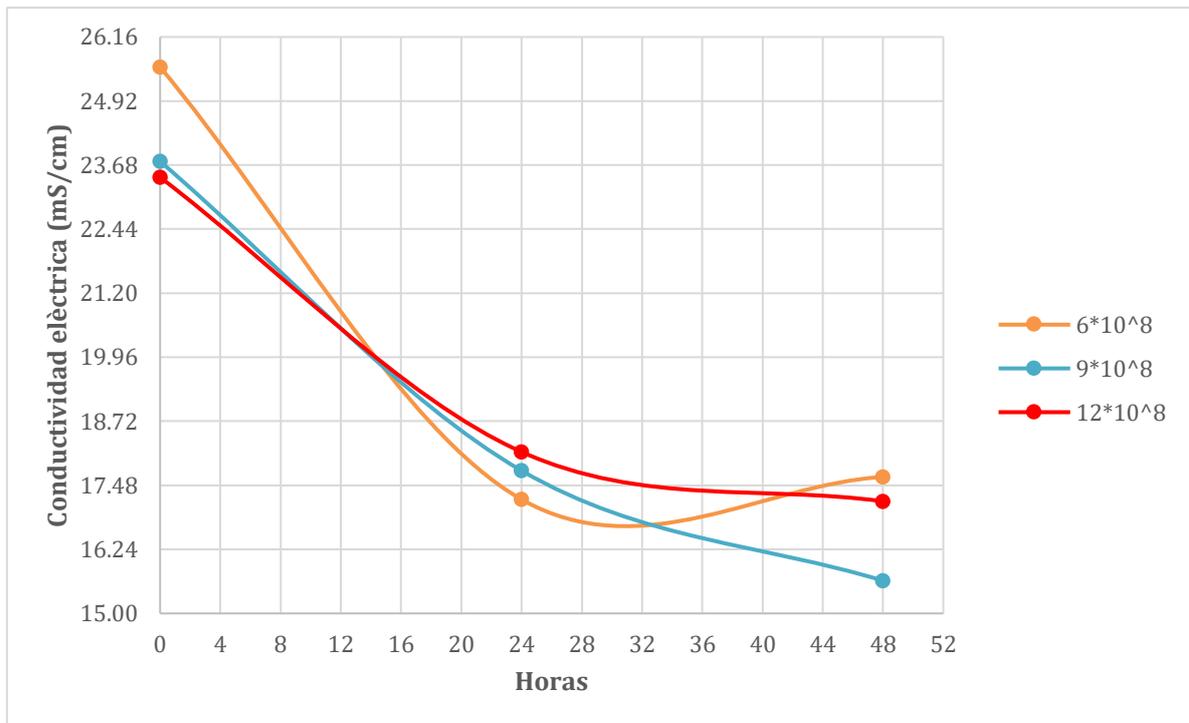
En la Figura 32, se presenta que, el eje x representa el tiempo en horas y el eje y representa la DBO₅ en mg/L. Cada curva es presentada en un color diferente, siendo la curva naranja para la concentración de 6×10^8 (UFC/mL), la curva azul para la concentración de 9×10^8 (UFC/mL) y la curva roja para la concentración de 12×10^8 (UFC/mL). El gráfico muestra que la DBO₅ disminuye con el tiempo para todas las concentraciones de la solución del co-cultivo, pero la tasa de disminución es mayor para concentración más alta la cual es 12×10^8 (UFC/mL), donde a las 0 horas se mantuvo en un promedio de DBO₅ 76.87 mg/L, después de 24 horas paso a tener una DBO₅ de 45.04 mg/L, posteriormente transcurrido las 48 horas se obtuvo un DBO₅ de 43.11 mg/L, se observa que hay un aumento de las 24 horas a 48 horas. Además, el gráfico muestra que la DBO₅ es más baja para concentraciones más altas (12×10^8) de UFC en todas las horas. La curva de DBO₅ para la concentración del co-cultivo de 12×10^8 (UFC/mL) es la más baja con un 43.11 mg/L, consecutivamente a la par le sigue la curva para la concentración del co-cultivo de 9×10^8 (UFC/mL) con 43.20 mg/L y la curva para la concentración del co-cultivo de 6×10^8 (UFC/mL) que está en la misma línea de 43.85 mg/L.

Tabla 12. Mediciones de Conductividad eléctrica (mS/cm) en el tratamiento.

Conductividad eléctrica (mS/cm)						
Tiempo	Tipo de resultado	Unidad de medida	Repeticiones	Resultados		
				6 x 10 ⁸ (UFC/mL)	9 x 10 ⁸ (UFC/mL)	12 x 10 ⁸ (UFC/mL)
0 horas	Muestra	mS/Cm	1	25.51	23.76	23.42
			2	25.57	23.78	23.45
			3	25.65	23.71	23.46
24 horas	Muestra	mS/Cm	1	17.14	17.73	18.07
			2	17.26	17.78	18.12
			3	17.22	17.78	18.19
48 horas	Muestra	mS/Cm	1	17.66	15.65	17.16
			2	17.62	15.63	17.18
			3	17.65	15.62	17.17

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 12, se presenta que, se midió la conductividad eléctrica en las 27 muestras donde existe la misma concentración de solución del co-cultivo (5 mL) de *Aspergillus Spp.* (2.5 mL) y *Enterobacter Spp.* (2.5 mL), además se suministró 15 mL de Diesel y se midió en tres momentos distintos: 0 horas, 24 horas y 48 horas. Los resultados se presentan en la tabla 12, donde se muestra el valor de conductividad eléctrica para cada concentración del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* con 3 repeticiones y cada momento de medición. En la muestra tomada en el momento 0 horas, el valor promedio de conductividad eléctrica fue de 24.26 mS/cm. En la muestra tomada a las 24 horas, el valor promedio de conductividad eléctrica disminuyó a 17.70 mS/cm. Finalmente, en la muestra tomada a las 48 horas, el valor promedio de conductividad eléctrica disminuyó aún más a 16.81 mS/cm. En general, una mayor conductividad eléctrica indica una mayor concentración de iones disueltos en la solución. Esto indica que la conductividad eléctrica disminuyó significativamente durante las 24 y 48 horas de medición en el tratamiento analizado. La concentración de iones disueltos en la muestra disminuyó, lo cual puede ser indicativo de una disminución en la concentración de sustancias disueltas.



Fuente: Elaboración propia

Figura 33. Curva de la conductividad eléctrica según concentraciones.

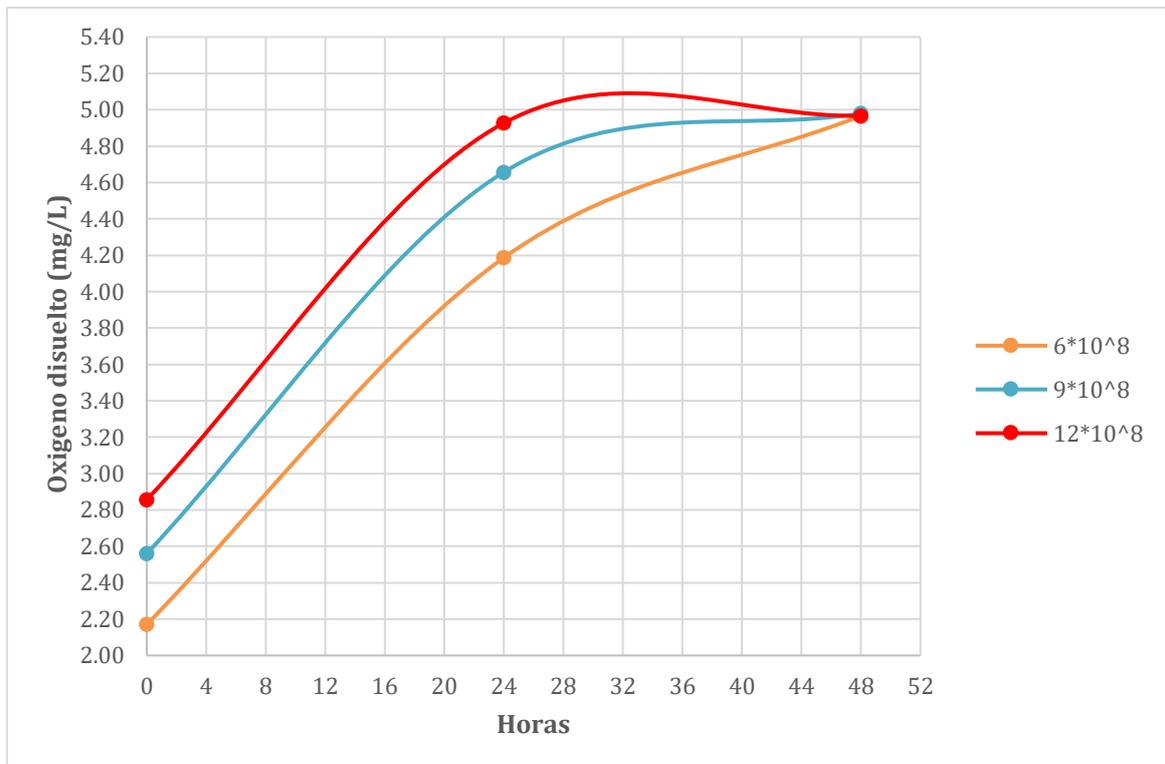
En la Figura 33, se presenta que, el eje x representa el tiempo en horas y el eje y representa la conductividad eléctrica en mS/cm. Cada curva es presentada en un color diferente, siendo la curva naranja para la concentración de 6×10^8 (UFC/mL), la curva azul para la concentración de 9×10^8 (UFC/mL) y la curva roja para la concentración de 12×10^8 (UFC/mL). El gráfico muestra que la conductividad eléctrica disminuye con el tiempo para todas las concentraciones de la solución del co-cultivo, pero la tasa de disminución es mayor para concentraciones de 9×10^8 de UFC. Para la concentración del co-cultivo de 6×10^8 (UFC/mL), la conductividad eléctrica disminuye de 25.58 mS/cm a 17.21 mS/cm en 24 horas y a 17.64 mS/cm en 48 horas. Para la concentración del co-cultivo de 12×10^8 (UFC/mL), la conductividad eléctrica disminuye de 23.44 mS/cm a 18.13 mS/cm en 24 horas y a 17.17 mS/cm en 48 horas. Sin embargo, para la concentración del co-cultivo de 9×10^8 (UFC/mL), la conductividad eléctrica disminuye de 23.75 mS/cm a 17.76 mS/cm en 24 horas y a 15.63 mS/cm en 48 horas, siendo esta concentración con la mayor tasa de disminución en cuanto a conductividad.

Tabla 13. Mediciones de Oxígeno disuelto (mg/L) en el tratamiento.

Oxígeno disuelto (mg/L)						
Tiempo	Tipo de resultado	Unidad de medida	Repeticiones	Resultados		
				6 x 10 ⁸ (UFC/mL)	9 x 10 ⁸ (UFC/mL)	12 x 10 ⁸ (UFC/mL)
0 horas	Muestra	mg/L	1	2.18	2.48	2.83
			2	2.14	2.57	2.85
			3	2.19	2.63	2.89
24 horas	Muestra	mg/L	1	4.18	4.63	4.94
			2	4.17	4.67	4.92
			3	4.21	4.67	4.92
48 horas	Muestra	mg/L	1	4.97	4.99	4.97
			2	4.97	4.97	4.96
			3	4.96	4.98	4.97

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 13, se presenta que, se midió el oxígeno disuelto en las 27 muestras donde existe la misma concentración de solución del co-cultivo (5 mL) de *Aspergillus Spp.* (2.5 mL) y *Enterobacter Spp.* (2.5 mL), además se suministró 15 mL de Diesel y se midió en tres momentos distintos: 0 horas, 24 horas y 48 horas. Los resultados se presentan en la tabla 13, donde se muestra el valor de oxígeno disuelto para cada concentración del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* con 3 repeticiones y cada momento de medición. En la muestra tomada en el momento 0 horas, el valor promedio de oxígeno disuelto fue de 2.52 mg/L. En la muestra tomada a las 24 horas, el valor promedio de oxígeno disuelto aumentó a 4.6 mg/L. Finalmente, en la muestra tomada a las 48 horas, el valor promedio de oxígeno disuelto aumento aún a 4.9 mg/L. En general, un mayor valor de oxígeno disuelto indica una mayor cantidad de oxígeno disponible para los organismos acuáticos presentes en la muestra. En este caso, los resultados indican que la cantidad de oxígeno disuelto en la muestra aumentó significativamente durante las 24 y 48 horas de medición.



Fuente: Elaboración propia

Figura 34. Curva del oxígeno disuelto según concentraciones.

En la Figura 34, se presenta que, el eje x representa el tiempo en horas y el eje y representa el oxígeno disuelto en mg/L. Cada curva es presentada en un color diferente, siendo la curva naranja para la concentración de 6×10^8 (UFC/mL), la curva azul para la concentración de 9×10^8 (UFC/mL) y la curva roja para la concentración de 12×10^8 (UFC/mL). El gráfico muestra que la concentración de oxígeno disuelto aumenta con el tiempo para todas las concentraciones del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* Además, muestra que la concentración de oxígeno disuelto es más alta para concentración más alta la cual es 12×10^8 (UFC/mL) en 0 y 24 horas. Para la concentración del co-cultivo de 6×10^8 (UFC/mL), la concentración de oxígeno disuelto aumenta de 2.17 mg/L a 4.97 mg/L en 48 horas. Para la concentración del co-cultivo de 9×10^8 (UFC/mL), la concentración de oxígeno disuelto aumenta de 2.56 mg/L a 4.98 mg/L en 48 horas. Para la concentración del co-cultivo de 12×10^8 (UFC/mL), la concentración de oxígeno disuelto aumenta de 2.86 mg/L a 4.97 mg/L en 48 horas, en las 3 concentraciones después de 48 horas tienen un resultado de 4.97 mg/L.

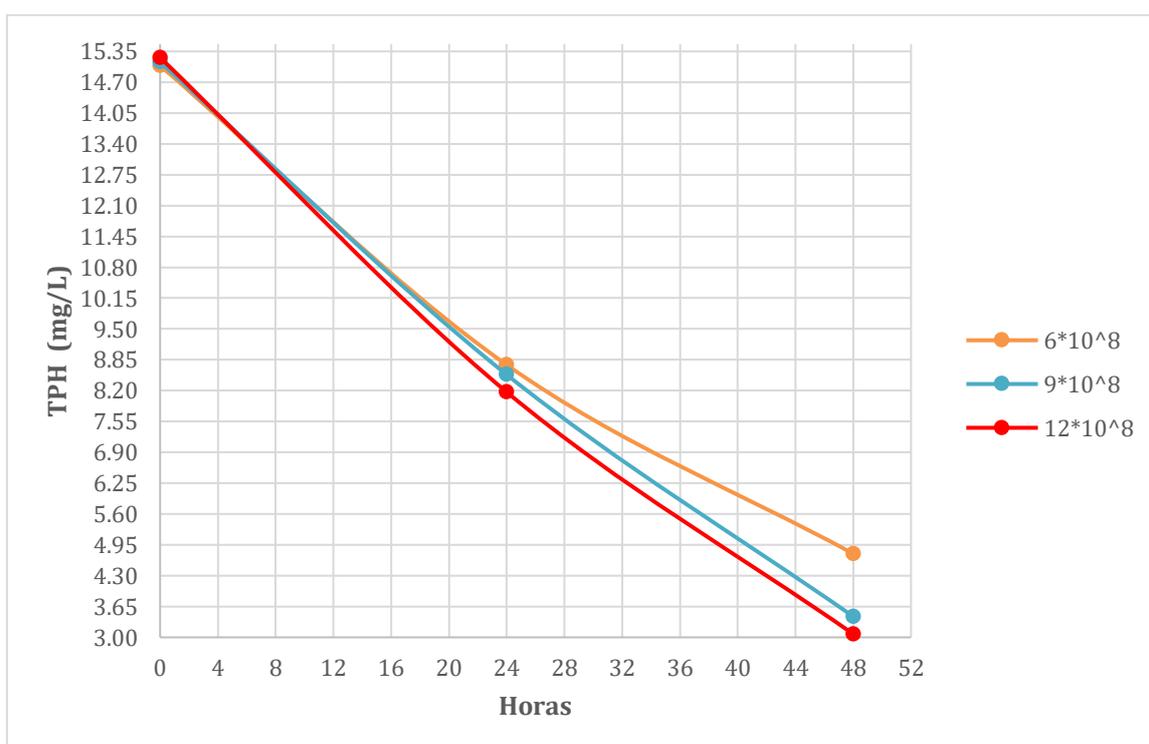
Tabla 14. Mediciones de Hidrocarburos Totales de Petróleo (mg/L) en el tratamiento.

TPH (mg/L)						
Tiempo	Tipo de resultado	Unidad de medida	Repeticiones	Resultados		
				6 x 10 ⁸ (UFC/mL)	9 x 10 ⁸ (UFC/mL)	12 x 10 ⁸ (UFC/mL)
0 horas	Muestra	mg/L	1	15.04	15.11	15.18
			2	15.06	15.15	15.24
			3	15.05	15.12	15.24
24 horas	Muestra	mg/L	1	8.72	8.52	8.15
			2	8.75	8.55	8.18
			3	8.76	8.54	8.18
48 horas	Muestra	mg/L	1	4.74	3.52	3.05
			2	4.77	3.44	3.08
			3	4.78	3.36	3.08

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 14, se presenta que, se midió el TPH en las 27 muestras donde existe la misma concentración de solución del co-cultivo (5 mL) de *Aspergillus Spp.* (2.5 mL) y *Enterobacter Spp.* (2.5 mL), además se suministró 15 mL de Diesel y se midió en tres momentos distintos: 0 horas, 24 horas y 48 horas. Los resultados se presentan en la tabla 14, donde se muestra el valor de TPH para cada concentración del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* con 3 repeticiones y cada momento de medición. En la muestra tomada en el momento 0 horas, el valor promedio de TPH fue de 15.13 mg/L. En la muestra tomada a las 24 horas, el valor promedio de TPH disminuyó a 8.48 mg/L. Finalmente, en la muestra tomada a las 48 horas, el valor promedio de TPH disminuyó aún más a 3.75 mg/L. Los resultados indican que la concentración de TPH en la muestra disminuyó significativamente durante las 24 y 48 horas de medición en el tratamiento analizado. A mayor concentración (12x10⁸, 9x10⁸ y 6x10⁸) de solución del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* mayor será la disminución de Hidrocarburos Totales de Petróleo, la disminución de hidrocarburos totales de petróleo en presencia de una mayor concentración de la solución del co-cultivo se debe a un proceso conocido como "biodegradación". Tanto las bacterias como los

hongos tienen la capacidad de metabolizar ciertos compuestos presentes en el petróleo, lo que lleva a su descomposición y reducción en concentración. Estos microorganismos utilizan los hidrocarburos como fuente de alimento y energía para su crecimiento y reproducción. Durante el proceso de biodegradación, las enzimas producidas por las bacterias y hongos actúan sobre los hidrocarburos, rompiendo sus enlaces químicos y transformándolos en compuestos más simples y menos tóxicos. Cuanto mayor sea la concentración de la solución del co-cultivo, mayor será la cantidad de microorganismos presentes para realizar la biodegradación, lo que resultará en una mayor reducción de los hidrocarburos totales de petróleo.



Fuente: Elaboración propia

Figura 35. Curva de TPH según concentraciones.

En la Figura 35, se presenta que, el eje x representa el tiempo en horas y el eje y representa la concentración de TPH en mg/L. Cada curva es presentada en un color diferente, siendo la curva naranja para la concentración de 6×10^8 (UFC/mL), la curva azul para la concentración de 9×10^8 (UFC/mL) y la curva roja para la concentración de 12×10^8 (UFC/mL). El gráfico muestra que la concentración de TPH disminuye con el tiempo para todas las concentraciones del co-cultivo de

Aspergillus Spp. y *Enterobacter Spp.* Para la concentración del co-cultivo de 6×10^8 (UFC/mL), la concentración de TPH disminuye de 15.05 mg/L a 4.76 mg/L en 48 horas. Para la concentración del co-cultivo de 9×10^8 (UFC/mL), la concentración de TPH disminuye de 15.13 mg/L a 3.44 mg/L en 48 horas. Para la concentración del co-cultivo de 12×10^8 (UFC/mL), la concentración de TPH disminuye de 15.22 mg/L a 3.07 mg/L en 48 horas, siendo esta la que contiene un mayor índice de disminución del parámetro en comparación a las otras concentraciones.

Basado en los datos y resultados presentados, la hipótesis se cumple parcialmente. Tenemos que, la temperatura se mantiene constante durante el período de estudio, lo cual está dentro de los parámetros normales y no parece ser afectada por el co-cultivo. El pH indica que los valores obtenidos están en un rango ligeramente ácido, lo que no está dentro de los estándares ambientales. En la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO_5), indica que, la disminución de los valores de DBO_5 sugiere que la cantidad de materia orgánica en el agua disminuyó durante el período de tratamiento, lo cual es un indicativo positivo de la efectividad del tratamiento en mejorar la calidad del agua. La conductividad eléctrica, manifiesta que la disminución de los valores de conductividad eléctrica sugiere una disminución en la concentración de iones disueltos en el agua, lo cual es otro indicador de mejora de la calidad del agua. En oxígeno disuelto, el aumento en los valores indica que hay más oxígeno disponible para los organismos acuáticos, lo cual es un indicador muy positivo de mejora de la calidad del agua. Por último, en TPH (Hidrocarburos Totales de Petróleo), los valores de TPH disminuyeron significativamente, lo que sugiere que la cantidad de contaminantes de hidrocarburos en el agua se redujo durante el período de tratamiento, lo que también es un indicativo positivo. En general, la mayoría de los parámetros medidos mostraron mejoras significativas, lo que sugiere que el co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* puede tener un efecto positivo en la calidad del agua.

Tabla 15. Resumen de parámetros evaluados.

Tabla resumen de parámetros evaluados										
Muestra				Parámetros fisicoquímicos						
Tiempo	Concentración (UFC/mL)	Tipo de muestra	Cantidad (mL)	Temperatura (°C)	pH	DBO ₅ (mg/L)	Conductividad eléctrica (mS/cm)	Oxígeno Disuelto (mg/L)	Hidrocarburos totales de petróleo (mg/L)	% Degradación
0 horas	6*10 ⁸	Cocultivo (<i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.6	6.68	84.11	25.58	2.17	15.05	0.00
			2.5 mL solución bacteriana							
			15 mL Diesel							
	9*10 ⁸	Cocultivo (<i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.6	6.65	82.07	23.75	2.56	15.13	0.00
			2.5 mL solución bacteriana							
			15 mL Diesel							
	12*10 ⁸	Cocultivo (<i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.6	6.63	76.87	23.44	2.86	15.22	0.00
			2.5 mL solución bacteriana							
			15 mL Diesel							
48 horas	6*10 ⁸	Cocultivo (<i>Aspergillus</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.8	6.38	43.85	17.64	4.97	4.76	68.35

	<i>Spp. y Enterobacter Spp.)</i>	2.5 mL solución bacteriana								
		15 mL Diesel								
9*10 ⁸	Cocultivo (<i>Aspergillus Spp. y Enterobacter Spp.)</i>	2.5 mL solución fúngica	24.8	6.25	43.20	15.63	4.98	3.44	77.26	
		2.5 mL solución bacteriana								
		15 mL Diesel								
12*10 ⁸	Cocultivo (<i>Aspergillus Spp. y Enterobacter Spp.)</i>	2.5 mL solución fúngica	24.8	5.98	43.11	17.17	4.97	3.07	79.83	
		2.5 mL solución bacteriana								
		25 mL Diesel								

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 15, se presenta que en la concentración del co-cultivo de $6 \cdot 10^8$ (UFC/mL) en 0 horas, la temperatura es de 24.6°C , el pH tiene un valor de 6.68, la DBO_5 es de 84.11, la conductividad está en 25.58 mS/cm, seguidamente tenemos el oxígeno disuelto que tiene el valor de 2.17 mg/L, los hidrocarburos totales de petróleo que se encuentra en 15.05 mg/L y por último tenemos el % degradación que está en 0%.

Continuamos con la concentración del co-cultivo de $9 \cdot 10^8$ (UFC/mL) en 0 horas, la temperatura es de 24.6°C , el pH tiene un valor de 6.65, la DBO_5 es de 82.07, la conductividad está en 23.75 mS/cm, seguidamente tenemos el oxígeno disuelto que tiene el valor de 2.56 mg/L, los hidrocarburos totales de petróleo que se encuentra en 15.13 mg/L y por último tenemos el % degradación que está en 0%.

Finalizamos con la concentración del co-cultivo de $12 \cdot 10^8$ (UFC/mL) en 0 horas, la temperatura es de 24.6°C , el pH tiene un valor de 6.63, la DBO_5 es de 76.87, la conductividad está en 23.44 mS/cm, seguidamente tenemos el oxígeno disuelto que tiene el valor de 2.86 mg/L, los hidrocarburos totales de petróleo que se encuentra en 15.22 mg/L y por último tenemos el % degradación que está en 0%. Aunque la temperatura se mantiene constante, hay una disminución gradual en el pH, la DBO_5 y la conductividad con el aumento de la concentración del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* ($12 \cdot 10^8$), lo que puede tener implicaciones significativas para la eficiencia y eficacia de cualquier proceso biológico o químico que esté ocurriendo.

Por otro lado, se ve un incremento gradual en los niveles de oxígeno disuelto y de hidrocarburos totales de petróleo a medida que aumenta la concentración de dicho co-cultivo. El incremento de oxígeno disuelto puede indicar una mayor disponibilidad de oxígeno para la degradación, mientras que el aumento en los hidrocarburos totales de petróleo sugiere que más de estos compuestos están presentes.

Es importante resaltar que, en el punto de tiempo 0, no se observó ninguna degradación, lo cual es esperado ya que es el inicio del tratamiento y transcurrido las 48 horas, se observa grandes cambios en la mayoría de parámetros

fisicoquímicos, para la concentración del co-cultivo de $6 \cdot 10^8$ (UFC/mL), la temperatura es de 24.8°C , el pH tiene un valor de 6.38, la DBO_5 es de 43.85 mg/L, la conductividad está en 17.64 mS/cm, seguidamente tenemos el oxígeno disuelto que tiene el valor de 4.97 mg/L, los hidrocarburos totales de petróleo que se encuentra en 4.76 mg/L y por último tenemos el % degradación que está en 68.35%.

Continuamos con la concentración del co-cultivo de $9 \cdot 10^8$ (UFC/mL), la temperatura es de 24.8°C , el pH tiene un valor de 6.25, la DBO_5 es de 43.20 mg/L, la conductividad está en 15.63 mS/cm, seguidamente tenemos el oxígeno disuelto que tiene el valor de 4.98 mg/L, los hidrocarburos totales de petróleo que se encuentra en 3.44 mg/L y por último tenemos el % degradación que está en 77.26%.

Finalizamos con la concentración del co-cultivo $12 \cdot 10^8$ (UFC/mL), la temperatura es de 24.8°C , el pH tiene un valor de 5.98, la DBO_5 es de 43.11 mg/L, la conductividad está en 17.17 mS/cm, seguidamente tenemos el oxígeno disuelto que tiene el valor de 4.97 mg/L, los hidrocarburos totales de petróleo que se encuentra en 3.07 mg/L y por último tenemos el % degradación que está en 79.83%. Los parámetros fisicoquímicos como el pH, la DBO_5 y la conductividad han disminuido notablemente, lo que sugiere que se están produciendo procesos químicos o biológicos. Por otro lado, los niveles de oxígeno disuelto han aumentado, posiblemente indicando mayor disponibilidad de oxígeno para procesos de degradación.

En cuanto a los hidrocarburos totales de petróleo, se observa una reducción notable, junto con un aumento en el porcentaje de degradación, indicando que los procesos de degradación han sido efectivos en descomponer los hidrocarburos presentes. Es importante destacar que la degradación parece ser más eficiente a mayor concentración. Al comparar los datos en 0 horas con los de 48 horas, se observan cambios significativos, sin embargo, en la temperatura es constante, aunque aumenta ligeramente, permanece en un rango similar, lo que indica que el tratamiento se ha llevado a cabo en condiciones de temperatura controlada. El pH disminuye en todas las concentraciones del co-cultivo tras 48 horas. Esto puede sugerir que los procesos metabólicos que se están produciendo generan compuestos ácidos, acidificando el medio. La demanda bioquímica de oxígeno

disminuye en todas las concentraciones del co-cultivo tras 48 horas, lo que indica que una cantidad significativa del material orgánico inicialmente presente (probablemente hidrocarburos) ha sido degradada. Disminuye en todas las concentraciones del co-cultivo, lo que puede estar relacionado con cambios en la concentración de iones en la solución a medida que se degradan los hidrocarburos. Aumenta en todas las concentraciones tras 48 horas, lo que podría ser el resultado de la actividad metabólica que consume material orgánico y libera oxígeno. Los hidrocarburos totales de petróleo disminuyen notablemente en todas las concentraciones, lo que indica que ha habido una degradación significativa de estos compuestos. El % de degradación aumenta en todas las concentraciones del co-cultivo tras 48 horas, con un aumento más pronunciado a mayor concentración.

V. DISCUSIÓN

Los resultados muestran una relación directa entre la concentración de solución del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* y la cantidad de HTP, ya que en concentraciones mayores la eficiencia de biodegradación de HTP supera el 75%. Este hallazgo es especialmente relevante en el contexto de la biodegradación de hidrocarburos en ambientes marinos, donde las concentraciones de hidrocarburos pueden variar ampliamente. Además, los resultados indican que la eficiencia de biodegradación aumenta con el tiempo, lo que sugiere que la biodegradación de hidrocarburos es un proceso que puede requerir un período de tiempo significativo para alcanzar su máxima eficiencia. Este descubrimiento es consistente con la literatura existente, que muestra que la biodegradación de hidrocarburos es un proceso que puede llevar desde días hasta semanas o incluso meses, dependiendo de varios factores, incluyendo las condiciones ambientales y la presencia de microorganismos degradadores de hidrocarburos. Respecto a los resultados hechos por Das & Chandran (2011), los datos respaldan su afirmación de que varios tipos de bacterias pueden lograr tasas de consumo de petróleo de hasta el 100% en el medio marino. Sin embargo, también destacan la importancia de considerar la concentración inicial de solución del co-cultivo o cultivo utilizado, ya que los resultados muestran que la eficiencia de biodegradación puede variar dependiendo de esta variable. Los estudios de Al-Hawash et al. (2018) y Allamin et al. (2021) proporcionan evidencia adicional de que ciertos microorganismos, como *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.*, pueden jugar un papel importante en la biodegradación de hidrocarburos. En particular, el estudio de Al-Hawash et al. (2018) muestra que *Aspergillus sp.* puede degradar hidrocarburos de petróleo, lo que sugiere que la presencia de este hongo en un co-cultivo con una bacteria podría mejorar la eficiencia de biodegradación.

En los resultados obtenidos, al compararlos con los hallazgos de Zhou et al. (2021) y Atakpa et al. (2022), se puede observar una similitud en el comportamiento de los microorganismos en co-cultivo. El estudio reveló que tanto el hongo filamentoso (*Aspergillus Spp.*) como la bacteria gramnegativa (*Aspergillus Spp.*) mostraron una alta concentración de 1×10^6 UFC/mL, lo que indica un crecimiento robusto en el medio de cultivo. Este crecimiento puede atribuirse a la interacción simbiótica entre

los dos microorganismos, tal como se ha observado en investigaciones anteriores, donde la presencia de *Acinetobacter sp.* estimuló el crecimiento del hongo *Scedosporium sp.*, promoviendo una alta actividad enzimática y aumentando la emulsificación de los sustratos. La morfología de las colonias observada en el estudio también proporciona información valiosa. El hongo filamentoso (*Aspergillus Spp.*) presentó colonias de forma algodonosa y circular, con tonalidades verdosas y negras, lo que podría indicar la producción de esporas u otros pigmentos. Por otro lado, la bacteria gramnegativa presentó colonias redondas y lisas, con colores que variaban de crema a rosado, lo que podría ser indicativo de cambios metabólicos o de la producción de pigmentos bacterianos. Estas características morfológicas son típicas de estos tipos de microorganismos y pueden ser útiles para su identificación y monitoreo durante el proceso de biodegradación de hidrocarburos.

Los resultados indican que tanto *Aspergillus Spp.* como *Enterobacter Spp.* crecen de manera óptima a 30°C durante 48 horas. La concentración creciente de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por mililitro para ambos microorganismos durante este periodo sugiere que las condiciones son adecuadas para su crecimiento y actividad metabólica. Esta temperatura proporciona un entorno favorable para el crecimiento y la actividad metabólica de ambos microorganismos, lo cual es esencial para su eficiencia en la biodegradación de los hidrocarburos. Universidad Nacional de la Patagonia (2016), los hongos filamentosos respaldan los resultados encontrados. Según la descripción, los hongos filamentosos, que incluyen el género *Aspergillus*, son organismos multicelulares con estructuras alargadas llamadas hifas. Estas hifas pueden ramificarse y formar un conjunto conocido como micelio. Además, se menciona que los hongos filamentosos tienen un crecimiento rápido y una temperatura de mantenimiento de 22-25°C durante un período de 5 días. Por otro lado, Whitehead et al (2001), indica que las bacterias gramnegativas son organismos coloniales que utilizan señales químicas, como los derivados de la homoserina lactona, para comunicarse y adaptarse a su entorno a través de un fenómeno conocido como quorum-sensing. Esto les permite regular su comportamiento en función de la densidad celular. Se destaca que las bacterias gramnegativas son ampliamente distribuidas en diferentes entornos, como el suelo, el agua y el cuerpo humano. Si bien algunas bacterias gramnegativas pueden ser

patógenas y causar enfermedades, como la *Escherichia coli*, la *Salmonella* y la *Pseudomonas aeruginosa*, también existen bacterias gramnegativas beneficiosas que desempeñan funciones importantes en la naturaleza, como la fijación de nitrógeno y la descomposición de materia orgánica. El tiempo de incubación óptimo de 48 horas, según los resultados de la Tabla 3, también es un hallazgo relevante. El aumento en la cantidad de UFC/mL de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* a medida que aumenta el tiempo de incubación indica que estas condiciones son propicias para el crecimiento y la actividad metabólica de ambos microorganismos. Este crecimiento y actividad metabólica son fundamentales para la biodegradación de los hidrocarburos presentes en el agua de mar.

La temperatura es un factor crítico en cualquier proceso biológico, incluyendo la degradación de hidrocarburos por microorganismos. Afecta la tasa de las reacciones químicas, la solubilidad de los gases y la estructura y función de las proteínas y enzimas. La temperatura se mantuvo constante en todas las concentraciones de la solución del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* y repeticiones (24.6°C a 0 y 24 horas, y 24.8°C a 48 horas). Esto es importante por varias razones, permite el control de variable, manteniendo la temperatura constante, esto significa que cualquier cambio observado en los otros parámetros (pH, DBO₅, conductividad, oxígeno disuelto, HTP) puede atribuirse a la actividad de los microorganismos y no a cambios en la temperatura. Por otro lado, optimización de la actividad microbiana, en los microorganismos tienen rangos de temperatura óptimos para su crecimiento y actividad. Si la temperatura se mantiene dentro de este rango, se puede esperar una actividad microbiana óptima. Dando un análisis de los resultados, el *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* utilizadas, han actuado a una temperatura de 24.6 a 24.8°C, dando un rango óptimo. Por último, la estabilidad de las enzimas son críticas para la degradación de los hidrocarburos, son sensibles a la temperatura. Una temperatura constante ayuda a mantener la estabilidad y funcionalidad de las enzimas. El hecho de que la temperatura se mantuviera constante a lo largo del tratamiento es un buen indicador de que se mantuvo un control adecuado de las condiciones experimentales. Otro aspecto a considerar es la estabilidad de las enzimas involucradas en la degradación de hidrocarburos. Las enzimas son sensibles a la temperatura y pueden perder su funcionalidad si se

exponen a temperaturas extremas. Mantener una temperatura constante, como se hizo en el tratamiento, ayuda a preservar la estabilidad y funcionalidad de las enzimas, lo cual es crucial para la eficiencia de la degradación. Es importante destacar que diferentes microorganismos tienen rangos de temperatura óptimos para su crecimiento y actividad metabólica. En el caso específico de las cepas bacterianas mencionadas en la cita de Nanami, Ismayana y Yani (2022), se encontró que eran tolerantes a temperaturas entre 10°C y 50°C. Yang et al. (2019) respalda esta idea al mencionar que su cultivo mixto de bacterias tuvo una mayor capacidad para degradar hidrocarburos cuando se incubó a 20°C. Esto demuestra que la temperatura óptima puede variar dependiendo de los microorganismos y las condiciones específicas del estudio.

El análisis de los resultados indica que el pH tiene una influencia significativa en los procesos de degradación de hidrocarburos por microorganismos. Se observó que el pH disminuyó con el tiempo en todas las concentraciones de la solución del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.*, lo cual puede ser atribuido a la producción de ácidos como subproductos del metabolismo de los microorganismos. Esta disminución del pH puede afectar la solubilidad y disponibilidad de nutrientes, así como la actividad de las enzimas involucradas en la degradación de los hidrocarburos. Se encontró que la concentración más alta de microorganismos resultó un pH más bajo, lo cual puede indicar una mayor actividad metabólica y una mayor producción de ácidos. Sin embargo, también se menciona la posibilidad de que un pH más bajo pueda inhibir el crecimiento y la actividad de los microorganismos, limitando así la tasa de degradación del Diesel a largo plazo. Es importante tener en cuenta que el pH puede afectar la solubilidad de los hidrocarburos, lo que a su vez puede influir en su disponibilidad para la degradación. Algunos hidrocarburos son más solubles en condiciones ácidas, mientras que otros son más solubles en condiciones alcalinas. Por lo tanto, la disminución del pH puede afectar la disponibilidad de ciertos hidrocarburos para la degradación. En tu experimento, la disminución del pH con el tiempo sugiere una actividad metabólica activa de los microorganismos. Esto coincide con el estudio de Han, Du y Shang (2020), que encontró que el pH es un factor clave en la degradación del petróleo por bacterias. Además, el hecho de que la mayor

concentración de microorganismos resultara en el pH más bajo podría estar en línea con la observación de Das & Chandran (2011) de que factores abióticos como el pH pueden influir en la población microbiana durante la degradación del petróleo. Zhang et al. (2021), la biodegradación de los hidrocarburos puede ser efectiva en condiciones alcalinas (pH 9) gracias a la acción combinada de bacterias y hongos. Esto sugiere que diferentes microorganismos pueden tener diferentes rangos de pH óptimos y que una comunidad microbiana diversa puede ser capaz de degradar hidrocarburos en un rango más amplio de pH. Por último, el estudio de Nanami, Ismayana y Yani (2022) proporciona un ejemplo de bacterias que pueden tolerar un amplio rango de pH (5 a 9) y aún degradar eficazmente los hidrocarburos. Esto respalda tu observación de que un pH más bajo (posiblemente causado por la actividad metabólica de los microorganismos) no necesariamente inhibe la degradación de los hidrocarburos. El rango normal para el pH del agua en el mar, según los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) en Perú, es de 6,8 a 8,5, es decir, un rango que va de ligeramente ácido a ligeramente alcalino. En los resultados presentados, se observa que el pH disminuye con el tiempo para todas las concentraciones del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.*, especialmente para la concentración más alta de 12×10^8 (UFC/mL). Inicialmente, el pH promedio es de 6.63, luego después de 24 horas disminuye a 5.99 y luego a 5.98 después de 48 horas. Estos valores están dentro del rango de ligeramente ácido y se infiere que la presencia de UFC en el agua puede disminuir el pH del agua. En este sentido, los resultados concuerdan con la cita en que un pH por debajo de 7 es considerado ligeramente ácido. Sin embargo, el valor de pH obtenido después de 24 y 48 horas para la mayor concentración del co-cultivo está por debajo del valor mínimo establecido por los ECA de Perú que es de 6.8. Esto podría sugerir que la presencia y concentración de estos microorganismos en el agua puede contribuir a su acidificación, lo que podría ser una preocupación desde el punto de vista de la calidad del agua y su impacto en el medio ambiente y la salud humana.

En el análisis de los resultados, se menciona que la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO_5) disminuyó con el tiempo en para todas las concentraciones de la solución del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* del tratamiento, lo

cual indica que los microorganismos estaban consumiendo oxígeno para degradar el Diesel. Esta disminución de la DBO_5 sugiere que la cantidad de materia orgánica biodegradable, en este caso, el Diesel, se estaba reduciendo a medida que los microorganismos la descomponían. Se observa que la concentración del co-cultivo más alta de microorganismos ($12 \cdot 10^8$ UFC/mL) tuvo la DBO_5 más baja al final del tratamiento. Esto podría indicar una mayor tasa de degradación del Diesel en esta concentración, ya que una menor DBO_5 sugiere que se ha consumido una mayor cantidad de la materia orgánica inicial. Chen et al. (2020) mencionan que su consorcio bacteriano logró una alta eficiencia de degradación del petróleo crudo, lo que probablemente está reflejado en la disminución de la DBO_5 observada en el tratamiento. Además, Zhou et al. (2023) también encontraron que la inoculación de su consorcio bacteriano mejoró significativamente la eliminación de n-alcános y compuestos aromáticos, lo cual podría correlacionarse con una reducción en la DBO_5 . Es importante tener en cuenta que la DBO_5 es una medida indirecta de la degradación del Diesel y no proporciona información específica sobre los productos de degradación o la eficiencia de cada microorganismo en el uso del oxígeno. Sin embargo, la disminución de la DBO_5 en el tratamiento es un indicador alentador de que los microorganismos, como los presentes en los consorcios bacterianos mencionados, están activamente degradando el Diesel. Los resultados parecen indicar una correlación directa entre la concentración del co-cultivo (en UFC/mL) y la disminución de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO_5). Específicamente, se muestra que a medida que la concentración del co-cultivo aumenta, la DBO_5 disminuye. Esto podría implicar que el co-cultivo está ayudando a mejorar la calidad del agua al reducir la DBO_5 . El valor promedio de DBO_5 proporcionado por MINAM (2017) es de 10 mg/L. Sin embargo, el tratamiento inicial parece tener valores de DBO_5 bastante más altos. La disminución más grande se observó en la concentración de $12 \cdot 10^8$ (UFC/mL), donde la DBO_5 disminuyó de 76.87 mg/L a 43.11 mg/L en 48 horas. Esto es claramente mayor que el estándar de calidad ambiental, aunque hay una mejora notoria. Este fenómeno podría deberse a varias razones, entre ellas un posible agotamiento de nutrientes en el agua o la capacidad del co-cultivo para metabolizar ciertos componentes de la DBO_5 a un ritmo más lento después de cierto tiempo.

La conductividad eléctrica es una medida de la capacidad de una solución para conducir electricidad. Esta capacidad está directamente relacionada con la concentración de iones en la solución, ya que son los iones los que llevan la corriente eléctrica. En un contexto biológico, la conductividad puede ser un indicador de la concentración de nutrientes y desechos en la solución. En el tratamiento, la conductividad eléctrica disminuyó con el tiempo en todas las concentraciones. Esto podría ser debido a varios factores, por ejemplo, el consumo de nutrientes, los microorganismos presentes en el tratamiento podrían estar consumiendo iones de la solución como nutrientes. Esta hipótesis es respaldada por los estudios de Zhou et al. (2023) y Chen et al. (2020), quienes encontraron que los consorcios bacterianos mejoraron el crecimiento microbiano y las actividades metabólicas, lo que implicaría un mayor consumo de nutrientes y una disminución en la conductividad eléctrica. Otro factor influyente es la producción de compuestos no iónicos, los microorganismos podrían estar produciendo compuestos no iónicos como subproductos de su metabolismo. Esta producción de compuestos no iónicos podría contribuir a la disminución de la conductividad eléctrica en el tratamiento. El estudio de Zhou et al. (2023) menciona que el consorcio bacteriano evaluado produjo una alta eficiencia de eliminación de compuestos aromáticos, lo que podría estar relacionado con la producción de compuestos no iónicos y la disminución de la conductividad eléctrica. Por último, tenemos el cambio en el pH observado en el tratamiento también podría influir en la conductividad eléctrica. Algunos iones presentes en la solución pueden reaccionar con los ácidos o bases producidos durante el metabolismo de los microorganismos, formando compuestos no iónicos y reduciendo la conductividad eléctrica. Esto es respaldado por el estudio de Ganesan et al. (2022), que menciona que los niveles de hidrocarburos y los dispersantes químicos pueden influir en las poblaciones microbianas y afectar los procesos de descomposición del petróleo.

El oxígeno disuelto (OD) es una medida de la cantidad de oxígeno gaseoso (O₂) que está disuelto en una solución acuosa. En un contexto biológico, el OD es crítico para los organismos aeróbicos, como *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.*, que requieren oxígeno para su metabolismo. En el tratamiento, el oxígeno disuelto

aumentó con el tiempo en todas las concentraciones. Esto es un poco inusual, ya que normalmente esperaríamos que el OD disminuyera a medida que los microorganismos consumen oxígeno para su metabolismo. Tenemos que la producción de oxígeno, debido a que algunos microorganismos pueden producir oxígeno como subproducto de su metabolismo. Otro factor que interviene es la aireación, la solución fue aireada y agitada durante el tratamiento, esto haber introducido más oxígeno en la solución. Además, los microorganismos pueden estar consumiendo sustancias reductoras en el Diesel, lo que resultaría en la liberación de oxígeno. La concentración más alta de microorganismos (12×10^8 UFC/mL) tuvo el OD más alto al final tratamiento, lo que podría indicar una mayor actividad metabólica y/o aireación en esta concentración de OD. El MINAM (2017), el valor mínimo de Oxígeno Disuelto (OD) debe ser ≥ 4 mg/L. Si los niveles de OD son demasiado bajos, esto puede ser perjudicial, incluso letal, para los organismos acuáticos. Se observó un aumento en los niveles de oxígeno disuelto en todas las muestras en las primeras 24 y 48 horas. En la primera medición (0 horas), el valor promedio de oxígeno disuelto fue de 2.5 mg/L, por debajo del valor mínimo requerido por el MINAM (2017). Sin embargo, a las 24 horas, el valor promedio de oxígeno disuelto aumentó a 4.6 mg/L, y aún más a las 48 horas, alcanzando un promedio de 4.9 mg/L. Estos resultados indican que la cantidad de oxígeno disuelto en las muestras aumentó significativamente durante las primeras 24 y 48 horas de medición, lo que sugiere una mayor cantidad de oxígeno disponible para los organismos acuáticos presentes en la muestra. La concentración de OD en el tiempo para todas las concentraciones de UFC (Unidades Formadoras de Colonias), pero con una tendencia al alza para concentraciones del co-cultivo más altas en todas las horas. Es notable que para las concentraciones de la solución del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* de 6×10^8 (UFC/mL), 9×10^8 (UFC/mL) y 12×10^8 (UFC/mL), los niveles de OD aumentaron significativamente en 48 horas, incluso superando el umbral mínimo del MINAM. Los microorganismos como *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* que se encuentran en estas muestras, normalmente consumirían oxígeno para su metabolismo, lo que resultaría en una disminución de los niveles de OD. Whitehead et al. (2001), algunos microorganismos pueden producir oxígeno como subproducto de su metabolismo, aunque esto es más común en organismos fotosintéticos. En segundo lugar, las

condiciones de aireación y agitación durante el tratamiento podrían haber introducido más oxígeno en la solución. Por último, los microorganismos pueden estar consumiendo sustancias reductoras presentes en el Diesel, liberando oxígeno en el proceso.

Los Hidrocarburos Totales de Petróleo (HTP) son una medida de la concentración total de hidrocarburos en una muestra. En el contexto del tratamiento, los HTP representan la cantidad de Diesel que queda sin degradar en la solución. Los resultados obtenidos en el estudio muestran que los Hidrocarburos Totales de Petróleo (HTP) disminuyeron con el tiempo en todas las concentraciones de la solución del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.*, lo que indica que los microorganismos presentes en el tratamiento están degradando activamente el Diesel. Esta disminución de los HTP es consistente con la observación de una disminución en la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅), lo que sugiere una mayor actividad microbiana y una mayor degradación del Diesel. Se encontró que la concentración más alta del co-cultivo de microorganismos resultó en los HTP más bajos al final del tratamiento. Esto indica que una mayor concentración de la solución de microorganismos puede resultar en una mayor tasa de degradación del Diesel. Este hallazgo es respaldado por el estudio de Zhou et al. (2023), donde se evaluó un consorcio bacteriano construido de degradadores de petróleo y se observó una mejora significativa en la eliminación de alcanos y compuestos aromáticos. Algunos hidrocarburos pueden ser más fácilmente degradables que otros, y algunos pueden ser transformados en subproductos que aún pueden ser perjudiciales para el medio ambiente. Chuah et al. (2022) también utilizaron un sistema de consorcio de bacterias para mejorar la biodegradación del petróleo en agua de mar, y encontraron un aumento en la eficiencia de degradación del aceite cuando se usó el consorcio bacteriano en comparación con el cultivo puro. Ganesan et al. (2022) resaltaron el papel clave de la población microbiana en la degradación de hidrocarburos y su capacidad para superar la contaminación de hidrocarburos más rápido. Según los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua en Perú, se establece que el promedio de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) es de 0,5 mg/L. Los hidrocarburos totales de petróleo pueden ser un indicador de contaminación por petróleo y sus derivados, que son perjudiciales tanto para el

medio ambiente como para la salud humana. Estos resultados, se observa que la presencia del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* en las muestras de agua con Diesel provoca una disminución significativa del valor de HTP. En la medición inicial, el valor promedio de HTP es de 15.13 mg/L, muy por encima del promedio establecido por el MINAM. Sin embargo, después de 24 y 48 horas en presencia del co-cultivo, los niveles de HTP disminuyen a 8.48 mg/L y 3.75 mg/L respectivamente. Estos resultados indican que la biodegradación llevada a cabo por los microorganismos está funcionando para reducir los niveles de HTP, aunque todavía se encuentra por encima del promedio establecido por el MINAM después de 48 horas. Por lo tanto, a pesar de que después de 48 horas los valores de HTP aún superan el estándar establecido por el MINAM, tus resultados muestran la potencialidad del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* para la biodegradación de HTP en un medio acuoso contaminado con Diesel.

VI. CONCLUSIONES

En conclusión, los resultados subrayan que la concentración de la solución del co-cultivo de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* ejerce una influencia directa y significativa en la eficiencia de la biodegradación. Se evidencia que concentraciones más altas de microorganismos producen una mayor eficiencia, superando el umbral del 75% a una concentración de 12×10^8 UFC/mL. Este descubrimiento es particularmente pertinente en entornos marinos, donde las variaciones en las concentraciones de hidrocarburos son comunes. Además, se destaca el factor tiempo como un componente crucial en el proceso de biodegradación, dado que los resultados demuestran un aumento progresivo en la eficiencia a medida que avanza el tiempo de evaluación."

En el caso del hongo filamentoso (*Aspergillus Spp.*), se observó una alta concentración de colonias, indicando un crecimiento robusto. Las colonias presentaron una forma algodonosa y circular, con tonalidades verdosas y negras, lo que podría indicar la producción de esporas u otros pigmentos. Por otro lado, la bacteria gramnegativa (*Enterobacter Spp.*) también mostró una alta concentración de colonias y un crecimiento adecuado. Las colonias tenían una forma redonda y lisa, con colores que variaban de crema a rosado. Esta variación en el color podría indicar cambios metabólicos o la producción de pigmentos bacterianos.

El crecimiento y la actividad metabólica de *Aspergillus Spp.* y *Enterobacter Spp.* en condiciones específicas. Con una temperatura óptima de 30°C y un tiempo de incubación de 48 horas, se observó un crecimiento óptimo y aumento en las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por mililitro de ambos microorganismos, lo que sugiere condiciones favorables para su crecimiento y actividad metabólica.

La temperatura se mantuvo constante a 24.6°C durante las 48 horas de medición. Esto indica que no hubo variaciones significativas en la temperatura durante el período de tiempo analizado. La estabilidad de la temperatura es importante, ya que algunos microorganismos pueden ser sensibles a cambios bruscos de temperatura. En este caso, la constancia de la temperatura puede ser beneficioso para mantener las condiciones adecuadas para el crecimiento y actividad de los

microorganismos en el sistema. pH de las muestras se mantuvo en un rango ligeramente ácido, con valores promedio entre 6.2 y 6.6 a lo largo del tiempo. Se observa una ligera disminución en el pH a las 24 horas, seguida de un ligero aumento a las 48 horas. Además, se observa una relación inversa entre la concentración de unidades formadoras de colonias (UFC) y el pH, donde concentraciones más altas de la solución del co-cultivo (12×10^8 UFC/mL) están asociadas con un pH más bajo. Esto sugiere que la presencia del co-cultivo en el agua puede influir en la acidez del medio. La disminución significativa en la demanda bioquímica de oxígeno durante las 24 y 48 horas de medición en todas las muestras. Esto indica que la cantidad de materia orgánica presente en las muestras se redujo considerablemente durante el período de medición. La disminución en la DBO_5 sugiere una mayor eficiencia en la degradación de la materia orgánica por parte de los microorganismos presentes en el sistema. La disminución en la conductividad eléctrica durante las 24 y 48 horas de medición en todas las muestras. Esto indica una reducción en la concentración de iones disueltos en las muestras, lo cual puede ser indicativo de una disminución en la concentración de sustancias disueltas. La concentración de oxígeno disuelto durante las 24 y 48 horas de medición en todas las muestras. Esto indica una mayor disponibilidad de oxígeno para los organismos acuáticos presentes en las muestras. El aumento en la concentración de oxígeno disuelto sugiere una mejora en las condiciones de oxigenación del medio. La disminución significativa en la concentración de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) durante las 24 y 48 horas de medición en todas las muestras. Esto indica una eficiente degradación de los hidrocarburos presentes en las muestras por parte de los microorganismos estudiados. La disminución en la concentración de TPH sugiere una degradación efectiva de los hidrocarburos y una reducción en la contaminación por compuestos de petróleo.

VII. RECOMENDACIONES

Considerar la influencia de factores ambientales, como la temperatura, el pH y la salinidad, en la diversidad microbiana y la biodegradación de hidrocarburos. Esto te permitirá comprender cómo las condiciones ambientales pueden modular la actividad de los microorganismos degradadores y, por lo tanto, optimizar las estrategias de biorremediación en diferentes entornos.

La exploración de otros microorganismos potencialmente útiles para la biodegradación de hidrocarburos. Esta diversidad biológica puede mejorar la eficiencia de los procesos de biodegradación y proporcionar opciones más robustas y versátiles para la biorremediación. Además, sería útil investigar el efecto de otras temperaturas y tiempos de incubación en el crecimiento y la actividad metabólica de estos microorganismos.

Considerar la aplicación de técnicas moleculares avanzadas, como la secuenciación de ADN, para identificar y monitorear la diversidad microbiana presente en el co-cultivo. Esto proporcionará información valiosa sobre la comunidad microbiana y permitirá un mejor control y optimización del proceso de biodegradación.

Investigar la tolerancia de los microorganismos a cambios bruscos de temperatura o pH. Esto puede realizarse sometiendo los microorganismos a condiciones de estrés mediante cambios rápidos en estos parámetros y evaluando su supervivencia y capacidad de adaptación. Esta información puede ser relevante para comprender la resiliencia de los microorganismos y su capacidad de hacer frente a fluctuaciones ambientales.

Enfocarse en comprender más a fondo los mecanismos y las interacciones microbianas involucradas en estos procesos, así como en evaluar la efectividad de diferentes estrategias y condiciones para mejorar la eficiencia de la biodegradación y la calidad del agua.

REFERENCIAS

- ABRANTES, Rubén. Diversidad de especies de *Scedosporium* provenientes de muestras clínicas de Argentina y su sensibilidad in vitro frente a antifúngicos. Tesis (Maestría en Micología Médica). Argentina: Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Medicina, 2017. 60 pp. Disponible en: https://repositorio.unne.edu.ar/bitstream/handle/123456789/871/RIUNNE_FMED_TM_Abrantes_RA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- AL-HAWASH, Adnan, et al. Isolation and characterization of two crude oil-degrading fungi strains from Rumaila oil field, Iraq. *Biotechnology Reports* [en línea]. marzo 2018, vol. 17, pp. 104–109. [Fecha de consulta: 28 de octubre de 2022]. Disponible en: doi:10.1016/j.btre.2017.12.006
ISSN: 2215-017X
- ALISI, Chiara, et al. Bioremediation of diesel oil in a co-contaminated soil by bioaugmentation with a microbial formula tailored with native strains selected for heavy metals resistance. *Science of The Total Environment* [en línea]. abril 2009, vol. 407, n°. 8, pp. 3024–3032. [Fecha de consulta: 29 de octubre de 2022]. Disponible en: doi: 10.1016/j.scitotenv.2009.01.011
ISSN: 0048-9697
- AQUIAHUATL, María y PÉREZ, María. Manual de prácticas de laboratorio de microbiología general [en línea]. México: Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa, 2004. [Fecha de consulta: 28 de octubre de 2022]. Disponible en: https://www.uamenlinea.uam.mx/materiales/licenciatura/diversos/AQUIAHUATL_RAMOS_MARIA_DE_LOS_ANGELES_Manual_de_practicas_de.pdf
ISBN: 9703101410
- ARGOTA, George, y IANNACONE, José. Potencial de riesgo ecotoxicológico por hidrocarburos en el ecosistema costero-marino de Ventanilla, Callao-Perú: parte-I. *The Biologist (Lima)* [en línea]. 2022, 20(1), 151–156. [Fecha de consulta: 29 de octubre de 2022]. Disponible en: <https://revistas.unfv.edu.pe/rtb/article/view/1321/1422>
ISSN: 1994-9073

- ARIAS, José. Técnicas e instrumentos de investigación científica [en línea]. Arequipa: ENFOQUES CONSULTING EIRL, 2020 [Fecha de consulta: 20 de octubre de 2022]. Disponible en: https://repositorio.concytec.gob.pe/bitstream/20.500.12390/2238/1/AriasGonzales_TecnicasEInstrumentosDeInvestigacion_libro.pdf
ISBN: 9786124844409
- ARIAS, José. Proyecto de Tesis guía para la elaboración [en línea]. Arequipa: Arias Gonzales, José Luis, 2020 [Fecha de consulta: 9 de octubre de 2022]. Disponible en: https://repositorio.concytec.gob.pe/bitstream/20.500.12390/2236/1/AriasGonzales_ProyectoDeTesis_libro.pdf
ISBN: 9786120054161
- ATAKPA, Edidiong, et al. Improved degradation of petroleum hydrocarbons by co-culture of fungi and biosurfactant-producing bacteria. *Chemosphere* [en línea]. marzo 2022, vol. 290, pp. 133337. [Fecha de consulta: 28 de octubre de 2022]. Disponible en: doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.133337
ISSN: 0045-6535
- BECERRA, Lizzie y HORNA, María. Isolation of biosurfactant producing microorganisms and lipases from wastewaters from slaughterhouses and soils contaminated with hydrocarbons. *Scientia agropecuaria* [en línea]. marzo 2016, vol. 7, pp. 23–31. [Fecha de consulta: 26 de octubre de 2022]. Disponible en: doi:10.17268/sci.agropecu.2016.01.03
ISSN: 2306-6741
- BAZO, Ana. Derrame de petróleo en Perú: una negligencia que se cobró la fauna y seguirá afectando vidas [en línea]. France 24. 2 de febrero de 2022. [Fecha de consulta: 9 de octubre de 2022]. Disponible en: <https://www.france24.com/es/medio-ambiente/20220202-peru-derrame-petroleo-repsol-especies-animales>
- BINAZADEH, M., LI, Z. y KARIMI, IA (2020). Optimization of Biodegradation of Long Chain n-Alkanes by *Rhodococcus* sp. Moj-3449 Using Response Surface Methodology. *Investigación en química física*, 8 (1), 45-59. Disponible en: https://www.physchemres.org/article_97339.html

- CAHYANI, Christy N., ISMAYANA, Andes y YANI, Mohamad. Crude Oil Biodegradation Potential using *Acinetobacter baumannii* CYA20 and *Bacillus subtilis* CYA27 from the Bekasi Coast, Indonesia. *HAYATI Journal of Biosciences* [en línea]. septiembre 2022, vol. 29, n°. 5, pp. 701–711. [Fecha de consulta: 30 octubre de 2022]. Disponible en: doi:10.4308/hjb.29.5.701-711
ISSN: 2086-4094
- CHEN, Weiwei, et al. Enhanced biodegradation of crude oil by constructed bacterial consortium comprising salt-tolerant petroleum degraders and biosurfactant producers. *International Biodeterioration & Biodegradation* [en línea]. octubre 2020, vol. 154, pp. 105047. [Fecha de consulta: 30 de octubre de 2022]. Disponible en: doi: 10.1016/j.ibiod.2020.105047
ISSN: 0964-8305
- CHUAH, Lai, et al. Biodegradation of crude oil in seawater by using a consortium of symbiotic bacteria. *Environmental Research* [en línea]. octubre 2022, vol. 213, pp. 113721. [Fecha de consulta: 26 de octubre de 2022]. Disponible en: doi:10.1016/j.envres.2022.113721
ISSN: 0013-9351
- DAI, Xiaoli, et al. Bioremediation of intertidal zones polluted by heavy oil spilling using immobilized laccase-bacteria consortium. *Bioresource Technology* [en línea]. agosto 2020, vol. 309, pp. 123305. [Fecha de consulta: 26 de octubre de 2022]. Disponible en: doi: 10.1016/j.biortech.2020.123305
ISSN: 0960-8524
- DE ALMEIDA, Darne, et al. Biodegradation of marine fuel MF-380 by microbial consortium isolated from seawater near the petrochemical Suape Port, Brazil. *International Biodeterioration & Biodegradation* [en línea]. enero 2017, vol. 116, pp. 73–82. [Fecha de consulta: 28 de octubre de 2022]. Disponible en: doi: 10.1016/j.ibiod.2016.09.028
ISSN: 0964-8305
- DURVAL, Italo, et al. Production, characterization, evaluation and toxicity assessment of a *Bacillus cereus* UCP 1615 biosurfactant for marine oil spills bioremediation. *Marine Pollution Bulletin* [en línea]. agosto 2020, vol. 157,

pp. 111357. [Fecha de consulta: 30 de octubre de 2022]. Disponible en: doi: 10.1016/j.marpolbul.2020.111357

ISSN: 0025-326X

EL desastroso derrame de combustible que puso en emergencia a una región ártica de Rusia [en línea]. BBC News Mundo. 4 de junio de 2020. [Fecha de consulta: 8 de octubre de 2022]. Disponible en: <https://www.bbc.com/mundo/noticias-52930291>

EVALUACIÓN de la calidad de los parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos de las aguas residuales de la ciudad de la Paz, Bolivia. Revista Boliviana de Química, vol. 34, no. 4, 2017, p. 104-111. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/4263/426353866001.pdf>

FACULTAD de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de la Patagonia. (2016). TP 8: Micología. Recuperado de <http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/microambiental/wp-content/uploads/2016/08/TP-8-Micolog%C3%ADa.pdf>

GANESAN, Mirunalini, et al. Bioremediation by oil degrading marine bacteria: An overview of supplements and pathways in key processes. *Chemosphere* [en línea]. septiembre 2022, vol. 303, pp. 134956. [Fecha de consulta: 28 de octubre de 2022]. Disponible en: doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.134956
ISSN: 0045-6535

GOVEAS, Louella y SAJANKILA, Shyama. Effect of yeast extract supplementation on halotolerant biosurfactant production kinetics coupled with degradation of petroleum crude oil by *Acinetobacter baumannii* OCB1 in marine environment. *Bioresource Technology Reports* [en línea]. septiembre 2020, vol. 11, pp. 100447. [Fecha de consulta: 26 de octubre de 2022]. Disponible en: doi:10.1016/j.biteb.2020.100447
ISSN 2589-014X

HAN, Zhiyong, DU, Chengzhen y SHANG, Ziming. Experiment study on the treatment effect of the hydrocarbon degradation microorganism to treat the oily wastewater. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science [en línea]. 2020, 467, 012161. [Fecha de consulta: 28 de octubre de 2022]. Disponible en: doi:10.1088/1755-1315/467/1/012161
ISSN: 1755-1315

- HERNÁNDEZ, Roberto y MENDOZA, Christian. Metodología de la investigación: Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta. Ciudad de México: Mc Graw Hill Interamericana, 2018. 753 pp.
ISBN: 9781456260965
- IBRAHIM, Haytham. Characterization of biosurfactants produced by novel strains of *Ochrobactrum anthropi* HM-1 and *Citrobacter freundii* HM-2 from used engine oil-contaminated soil. *Egyptian Journal of Petroleum* [en línea]. marzo 2018, vol. 27, pp. 21–29. [Fecha de consulta: 30 de octubre de 2022]. Disponible en: doi:10.1016/j.ejpe.2016.12.005
ISSN: 1110-0621
- KADRI, Tayssir, et al. Production and characterization of novel hydrocarbon degrading enzymes from *Alcanivorax borkumensis*. *International Journal of Biological Macromolecules* [en línea]. junio 2018, vol. 112, pp. 230–240. [Fecha de consulta: 28 de octubre de 2022]. Disponible en: doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.01.177
ISSN: 0141-8130
- KUMAR, Anand, et al. Biodegradation of crude oil using self-immobilized hydrocarbonoclastic deep sea bacterial consortium. *Marine Pollution Bulletin* [en línea]. septiembre 2019, vol. 146, pp. 741–750. [Fecha de consulta: 26 de octubre de 2022]. Disponible en: doi: 10.1016/j.marpolbul.2019.07.006
ISSN: 0025-326X
- LI, Yu y LI, Bing. Study on Fungi-Bacteria Consortium Bioremediation of Petroleum Contaminated Mangrove Sediments Amended with Mixed Biosurfactants. *Advanced Materials Research* [en línea]. 2011, 183-185, 1163–1167 [Fecha de consulta: 22 de octubre de 2022]. Disponible en: doi:10.4028/www.scientific.net/amr.183-185
ISSN 1662-8985
- LI, Wei y WU, Shimin. Halogenated polycyclic aromatic hydrocarbons and their parent compounds in ready-to-eat seafood rich in salt: Method validation, profiles, correlation, and exposure risks. *Food Control* [en línea]. 2022, 136, 108864 [Fecha de consulta: 26 de octubre de 2022]. Disponible en: doi: 10.1016/j.foodcont.2022.108864
ISSN 0956-7135

LIU, Jia et al. Enhanced degradation of different crude oils by defined engineered consortia of *Acinetobacter venetianus* RAG-1 mutants based on their alkane metabolism. *Bioresource Technology* [en línea]. 2021, 327, 124787 [Fecha de consulta: 26 de octubre de 2022]. Disponible en: doi: 10.1016/j.biortech.2021.124787

ISSN 0960-8524

LOFTHUS, Synnøve, et al. Biodegradation of weathered crude oil in seawater with frazil ice. *Marine Pollution Bulletin* [en línea]. mayo 2020, vol. 154, pp. 111090. [Fecha de consulta: 26 de octubre de 2022]. Disponible en: doi: 10.1016/j.marpolbul.2020.111090

ISSN: 0025-326X

METODOLOGÍA de la investigación Cuantitativa y Cualitativa Guía didáctica. (Boletín informativo de la Universidad Veracruzana) [en línea]. México: Monje, C., 2011. [Fecha de consulta: 28 de octubre de 2022]. Disponible en: <https://www.uv.mx/rmipe/files/2019/07/Guia-didactica-metodologia-de-la-investigacion.pdf>

NÁPOLES, Janet, et al. Degradación de Diesel en agua de mar utilizando un consorcio bacteriano. *Tecnología Química* [en línea]. agosto 2019, vol. 39, n.º 2, pp. 403-420. [Fecha de consulta: 28 de octubre de 2022]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852019000200403&lng=es&nrm=iso

ISSN: 2224-6185

NAWAVIMARN, Parisarin, et al. Bio-based dispersants for fuel oil spill remediation based on the Hydrophilic-Lipophilic Deviation (HLD) concept and Box-Behnken design. *Environmental Pollution* [en línea]. septiembre 2021, vol. 285, pp. 117378. [Fecha de consulta: 26 de octubre de 2022]. Disponible en: doi: 10.1016/j.envpol.2021.117378

ISSN: 0269-7491

ONG venezolana documenta 199 derrames petroleros en últimos cinco años [en línea]. Deutsche Welle. 25 de marzo de 2022. [Fecha de consulta: 10 de octubre de 2022]. Disponible en: <https://www.dw.com/es/ong-venezolana-documenta-199-derrames-petroleros-en-%C3%BAltimos-cinco-a%C3%B1os/a-61264572>

- OTZEN, Tamara y MANTEROLA, Carlos. Técnicas de Muestreo sobre una Población a Estudio. *International Journal of Morphology* [en línea]. marzo 2017, vol. 35, pp. 227–232. [Fecha de consulta: 8 de octubre de 2022]. Disponible en: doi:10.4067/s0717-95022017000100037
ISSN: 0717-9502
- PATIÑO, Omar, ROBLES, Heber y LEÓN, Luis (2021). Biodegradación de petróleo por *Bacillus thuringiensis* como alternativa para la recuperación de suelos agrícolas. [en línea]. [Fecha de consulta: 28 de junio de 2023]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2413-32992021000200339&ssp=1&darkschemeovr=1&setlang=es-XL&safesearch=moderate
- PERÚ. Ministerio del Ambiente. Aprueban Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua y establecen. Lima, Perú: Ministerio del Ambiente, 2017. [en línea]. Disponible en: <https://sinia.minam.gob.pe/normas/aprueban-estandares-calidad-ambiental-eca-agua-establecen-disposiciones>.
- PI, Yongrui, et al. The contribution of chemical dispersants and biosurfactants on crude oil biodegradation by *Pseudomonas* sp. LSH-7'. *Journal of Cleaner Production* [en línea]. junio 2017, vol. 153, pp. 74–82. [Fecha de consulta: 28 de octubre de 2022]. Disponible en: doi: 10.1016/j.jclepro.2017.03.120
ISSN: 0959-6526
- PIURA: Derrame de 200 barriles de petróleo afecta playas de Lobitos [en línea]. Gestión. 4 de julio de 2013. [Fecha de consulta: 9 de octubre de 2022]. Disponible en: <https://gestion.pe/peru/politica/piura-derrame-200-barriles-petroleo-afecta-playas-lobitos-42511-noticia/>
- PIURA: Nuevo derrame de petróleo en el mar de la playa Cabo Blanco [en línea]. RPP Noticias. 28 de enero de 2022. [Fecha de consulta: 10 de octubre de 2022]. Disponible en: <https://rpp.pe/peru/actualidad/piura-nuevo-derrame-de-petroleo-en-el-mar-de-la-playa-cabo-blanco-noticia-1383419?ref=rpp>
- PODDAR, Kasturi, SARKAR, Debapriya y SARKAR, Angana. Construction of potential bacterial consortia for efficient hydrocarbon degradation. *International Biodeterioration & Biodegradation* [en línea]. octubre 2019, vol.

144, pp. 104770. [Fecha de consulta: 28 de octubre de 2022]. Disponible en:
doi:10.1016/j.ibiod.2019.104770

ISSN: 0964-8305

¿QUÉ es la investigación aplicada y cuáles son sus principales características? [en línea]. México: Universidad Ibero Tijuana, (8 de octubre de 2020). [Fecha de consulta: 12 de octubre de 2022]. Disponible en:
<https://blogposgrados.tijuana.ibero.mx/investigacion-aplicada/>

RICCARDI, Christopher, et al. Genome analysis of a new biosurfactants source: The Antarctic bacterium *Psychrobacter* sp. TAE2020. *Marine Genomics* [en línea]. febrero 2022, vol. 61, pp. 100922. [Fecha de consulta: 26 de octubre de 2022]. Disponible en: doi:10.1016/j.margen.2021.100922

ISSN: 1874-7787

RINCÓN, Andrea. Declaran el estado de Emergencia Ambiental en la Isla Mauricio por derrame de petróleo [en línea]. France 24. 8 de agosto de 2020. [Fecha de consulta: 9 de octubre de 2022]. Disponible en:
<https://www.france24.com/es/20200808-mauricio-derrame-ambiental-petroleo-francia>

RONDA, Ana Carolina et al. Biomarker Responses to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Native Fish *Ramnogaster arcuata*, South America. *International Journal of Environmental Research* [en línea]. 2018, 13(1), 77–89 [Fecha de consulta: 24 de octubre de 2022]. Disponible en:
doi:10.1007/s41742-018-0155-2

ISSN 2008-2304

SALAS, Luis. Determinación de la concentración micelar crítica del octil sulfato de sodio (SOS) en medio acuoso usando dinámica molecular. Tesis (Maestría en Ciencias). México: Tecnológico Nacional de México en Celaya, Departamento de Ingeniería Química, 2019. 50 pp. Disponible en:
<https://rinacional.tecnm.mx/bitstream/TecNM/467/1/Tesis%20Alex%20Salas.pdf>

SAYED, Khalid, BALOO, Lavania y SHARMA, Naresh Kumar. Bioremediation of Total Petroleum Hydrocarbons (TPH) by Bioaugmentation and Biostimulation in Water with Floating Oil Spill Containment Booms as Bioreactor Basin. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [en línea].

- 2021, 18(5), 2226 [Fecha de consulta: 24 de octubre de 2022]. Disponible en: doi:10.3390/ijerph18052226
ISSN 1660-4601
- SHAH, Mansoor, et al. A binary mixture of a biosurfactant and an ionic liquid surfactant as a green dispersant for oil spill remediation. *Journal of Molecular Liquids* [en línea]. abril 2019, vol. 280, pp. 111–119. [Fecha de consulta: 26 de octubre de 2022]. Disponible en: doi: 10.1016/j.molliq.2019.02.049
ISSN: 0167-7322
- SOARES Da Silva, Rita de Cássia F., et al. Ecotoxicity of the formulated biosurfactant from *Pseudomonas cepacia* CCT 6659 and application in the bioremediation of terrestrial and aquatic environments impacted by oil spills. *Process Safety and Environmental Protection* [en línea]. octubre 2021, vol. 154, pp. 338–347. [Fecha de consulta: 28 de octubre de 2022]. Disponible en: doi: 10.1016/j.psep.2021.08.038
ISSN: 0957-5820
- STRUCH, Rachel E. et al. Hepatobiliary Analyses Suggest Chronic PAH Exposure in Hakes (*Urophycis spp.*) Following the Deepwater Horizon Oil Spill. *Environmental Toxicology and Chemistry* [en línea]. 2019, 38(12), 2740–2749 [Fecha de consulta: 26 de octubre de 2022]. Disponible en: doi:10.1002/etc.4596
ISSN 1552-8618
- USAL, "Recuento de hongos filamentosos y levaduras". [En línea]. Disponible en: http://coli.usal.es/web/demos/demo_alteracion/RtoHongosLev/RtoHongosLev.html
- VARJANI, Sunita J. y UPASANI, Vivek N. Biodegradation of petroleum hydrocarbons by oleophilic strain of *Pseudomonas aeruginosa* NCIM 5514. *Bioresource Technology* [en línea]. diciembre 2016, vol. 222, pp. 195–201. [Fecha de consulta: 28 de octubre de 2022]. Disponible en: doi:10.1016/j.biortech.2016.10.006
ISSN: 0960-8524
- VÁSQUEZ, Cinthya, ORDÓÑEZ, Carol y GONZALES, Gustavo. Derrame de petróleo y sus efectos sobre la salud. *Acta Médica Peruana* [en línea]. 2022,

39(1). [Fecha de consulta: 24 de octubre de 2022]. Disponible en:
doi:10.35663/amp.2022.391.2330

ISSN 1728-5917

WARR, Laurence N., et al. Nontronite-enhanced biodegradation of Deepwater Horizon crude oil by *Alcanivorax borkumensis*. *Applied Clay Science* [en línea]. junio 2018, vol. 158, pp. 11–20. [Fecha de consulta: 28 de octubre de 2022]. Disponible en: doi: 10.1016/j.clay.2018.03.011

ISSN: 0169-1317

WHITEHEAD, N., BARNARD, A., SLATER, H., SIMPSON, N., y SALMOND, G. Quorum-sensing in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 2001,25(4), 365-404. Disponible en: doi:10.1111/j.1574-6976.2001.tb00583.x

ISSN 1574-6976

YANG, Ruiqi et al. Degradation of crude oil by mixed cultures of bacteria isolated from the Qinghai-Tibet plateau and comparative analysis of metabolic mechanisms. *Environmental Science and Pollution Research* [en línea]. 2018, 26(2), 1834–1847 [Fecha de consulta: 26 de octubre de 2022]. Disponible en: doi:10.1007/s11356-018-3718-z

ISSN 1614-7499

ZHANG, Xinying et al. Combined microbial degradation of crude oil under alkaline conditions by *Acinetobacter baumannii* and *Talaromyces* sp. *Chemosphere* [en línea]. 2021, 273, 129666 [Fecha de consulta: 28 de octubre de 2022]. Disponible en: doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.129666

ISSN 0045-6535

ZHOU, Hanghai et al. Enhanced remediation of oil-contaminated intertidal sediment by bacterial consortium of petroleum degraders and biosurfactant producers. *Chemosphere* [en línea]. 2023, 330, 138763 [Fecha de consulta: 28 de octubre de 2022]. Disponible en: doi: 10.1016/j.chemosphere.2023.138763

ISSN 0045-6535

ANEXOS

Anexo 1. Instrumentos de recolección de datos.

Ficha 1. Etiqueta de identificación de la muestra						
Título	Eficiencia en la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i> , Ancón - Lima, 2023					
Investigadores:	Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio					
	Collantes Soto, Jean Pierre					
Datos de la muestra						
Código	N° de muestra	Cantidad (mL)	Coordenadas del punto de muestreo		Hora de muestreo	Fecha del muestreo
			Latitud	Longitud		

Ficha 2. Caracterización de los microorganismos				
Título	Eficiencia en la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i> , Ancón - Lima, 2023			
Investigadores:	Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio			
	Collantes Soto, Jean Pierre			
Microorganismo	Concentración (UFC/mL)	Tamaño de colonia (mm)	Forma de Colonia	Color de colonia

Ficha 3. Control de condiciones de operación para microorganismos			
Título	Eficiencia en la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i> , Ancón - Lima, 2023		
Investigadores:	Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio		
	Collantes Soto, Jean Pierre		
Microorganismo	Temperatura (°C)	Tiempo de incubación (Horas)	Concentración (UFC/mL)

Ficha 4. Determinación de parámetros y evaluación microbiana

Ficha 4. Determinación de parámetros y evaluación microbiana												
Título		Eficiencia en la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i> , Ancón - Lima, 2023										
Investigadores:		Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio Collantes Soto, Jean Pierre										
Fecha:												
Datos de la muestra												
Muestra						Parámetros fisicoquímicos						
Codificación	Tiempo (Horas)	Concentración (UFC/mL)	Repetición	Tipo de muestra	Cantidad (mL)	Temperatura (°C)	pH	DBO ₅ (mg/L)	Conductividad eléctrica (mS/cm)	Oxígeno Disuelto (mg/L)	Hidrocarburos totales de petróleo (mg/L)	% Degradación

Anexo 2. Matriz de Operacionalización.

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA
Co-cultivo de un <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>	Según Li, Y. , y Li, B. (2011) la introducción del consorcio de hongos y bacterias a la biorremediación de hidrocarburos de petróleo fue más eficiente que la suma de la remoción individual obtenida en un cultivo puro de hongos y bacterias.	Un co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i> generan biodegradación de derivados de hidrocarburos.	Características de crecimiento	Concentración	UFC/mL
				Tamaño de colonias	mm
				Forma de colonias	---
				Color de colonia	color
			Condiciones de operación	Temperatura	°C
				Tiempo de incubación	Horas
				Concentración	UFC/mL

Eficiencia de degradación de hidrocarburos.	Los estudios se centran primordialmente en la eliminación de contaminantes del medio ambiente peligrosos y persistentes, los hidrocarburos poliaromáticos (HAP) que se hallan naturalmente en el petróleo crudo y se crean a lo largo de la combustión inconclusa de materias orgánicas (Nhi-Cong et al., 2021, p. 2).	Para la degradación de hidrocarburos del agua de mar existen diferentes técnicas, en el cual se puede evaluar la eficiencia de cada una de estas.	Parámetros fisicoquímicos	Temperatura	°C
				pH	Unidad de pH
				DBO ₅	mg/L
				Conductividad eléctrica	μS/cm
				Oxígeno disuelto	mg/L
				Hidrocarburos totales de petróleo	mg/L
			Eficiencia de degradación	$\%D = \left[\frac{(C_i - C_f)}{C_i} \right] \times 100\%$ <p>%D: Porcentaje de degradación Ci: Concentración inicial Cf: Concentración final</p>	%

Anexo 3. Matriz de consistencia.

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES			METODOLOGÍA	
			Variables	Dimensiones	Indicadores		
<p>General ¿Cuál es la eficiencia de biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>, Ancón - Lima, 2023?</p>	<p>General Determinar la eficiencia de biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>, Ancón - Lima, 2023</p>	<p>General La eficiencia de biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i> fue del 75%.</p>	Co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>	Características de crecimiento	Concentración	<p>Enfoque: Cuantitativo</p> <p>Tipo: Aplicada</p> <p>Diseño: Experimental</p> <p>Población: Agua de mar contaminada con hidrocarburos</p> <p>Muestra: 10000 mL de agua</p> <p>Unidad de Análisis:</p>	
Tamaño de colonias							
Forma de colonias							
Color de colonia							
Condiciones de operación	Temperatura						
	Tiempo de incubación						
Concentración	Temperatura	pH	Parámetros Físicoquímicos	Conductividad eléctrica			
					DBO ₅		
						Hidrocarburos totales de petróleo	
							Oxígeno Disuelto

<p>¿Cuáles son las condiciones de operación que necesita el co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i> para la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar, Ancón - Lima, 2023?,</p>	<p>Determinar las condiciones de operación que necesita el co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i> para la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar, Ancón - Lima, 2023.</p>	<p>Las condiciones de operación son las adecuadas para el co-cultivo de un <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i> para la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar.</p>			<p>$%D = \left[\frac{C_i - C_f}{C_i} \right] \times 100\%$</p> <p>%D: porcentaje de degradación Ci: concentración inicial Cf: Concentración final</p>	<p>100 mL de agua marina contaminada con hidrocarburos</p> <p>Instrumentos: Fichas de recolección de datos.</p>
<p>¿Cuáles son los parámetros fisicoquímicos del agua de mar después de aplicado el tratamiento de biodegradación de hidrocarburos por un co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>, Ancón - Lima, 2023?,</p>	<p>Determinar los parámetros fisicoquímicos del agua de mar después de aplicado el tratamiento de biodegradación de hidrocarburos por un co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>, Ancón - Lima, 2023.</p>	<p>Los parámetros fisicoquímicos del agua mar están dentro de los estándares de calidad ambiental después del tratamiento por un co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i></p>		<p>Eficiencia de degradación</p>		

Anexo 4. Compromiso de honor.



COMPROMISO DE HONOR

Conforme a la Resolución del Consejo Directivo No033-2016-SUNEDU/CD y el Reglamento del Registro Nacional de trabajos de investigación para optar grados académicos y títulos profesionales – RENATI del 06 de setiembre de 2016 en el que se establece que “los estudiantes desarrollarán el Proyecto de Investigación de forma individual o en pares para obtener el título profesional”. Acatando la normatividad vigente y teniendo en cuenta si alguno de los integrantes se retira, se inhabilita por exceso de faltas, o por incumplimiento a las normas que estipula la universidad **pierde todo el derecho a la propiedad intelectual del proyecto de investigación**. En consecuencia, se sostiene que el estudiante que se retira, por los motivos anteriormente expuestos no podrá utilizar el tema elegido de manera personal en otra ocasión y tendrá que repetir la correspondiente experiencia curricular, cediendo la autoría al otro integrante del equipo de investigación.

Por tal motivo, Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio y Collantes Soto, Jean Pierre realizamos el correspondiente compromiso de honor, superando diferencias y dificultades para permanecer unidos y culminar el proyecto de investigación en un Informe de Tesis en la siguiente experiencia curricular que es Desarrollo de Proyecto de Investigación, el cual será sustentado y defendido para la obtención del título profesional.

Como señal de conformidad, firmamos el correspondiente compromiso y estampamos nuestra huella digital.

Lima, 14 de noviembre de 2022.

Apellidos y nombres	DNI	Firma	Huella digital
Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio	72196408		
Collantes Soto, Jean Pierre	74821810		

V° B° (ASESOR)

Jave Nakayo, Jorge Leonardo

Anexo 5. Validación de los instrumentos de datos.



SOLICITUD: VALIDACION DE INSTRUMENTO DE RECOJO DE INFORMACIÓN

ING. HOLGUÍN ARANDA, LUIS FERMIN

Nosotros **Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio** y **Collantes Soto, Jean Pierre**, identificados con DNI N° **72196408** y **74821810**, respectivamente, alumnos de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental, a usted con el debido respeto nos presentamos y le manifestamos:

Que siendo requisito indispensable el recojo de datos necesarios para el Proyecto de investigación que estamos elaborando titulada: **“Eficiencia en la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de Aspergillus Spp. y Enterobacter Spp., Ancón - Lima, 2023”**, solicitamos a Ud. se sirva validar el instrumento que le adjuntamos bajo los criterios académicos correspondientes. Para este efecto adjunto los siguientes documentos:

- Fichas de validación de instrumentos
- Matriz de operacionalización de variables
- Matriz de Consistencia
- Instrumentos

Por lo tanto:

A usted, ruego acceder mi petición.

Lima, 07 de noviembre del 2022

Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio
72196408

Collantes Soto, Jean Pierre
74821810

INFORME DE OPINIÓN DE EXPERTOS DE INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN

I. DATOS GENERALES

- 1.1. Apellidos y nombres: HOLGUÍN ARANDA, LUIS FERMIN
 1.2. Cargo e institución donde labora: Docente, Universidad Cesar Vallejo
 1.3. Especialidad o línea de investigación: Ingeniería Ambiental
 1.4. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Instrumento de recolección de datos
 1.5. Autores de Instrumento: Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio y Collantes Soto, Jean Pierre

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE						MINIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE			
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1.-CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.										X			
2.-OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.										X			
3.-ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.										X			
4.-ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.										X			
5.-SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales.										X			
6.-TENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.										X			
7.-CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.										X			
8.-COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.										X			
9.-METODOLOGIA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.										X			
10.- PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.										X			

III. OPINION DE APLICABILIDAD

- El Instrumento cumple con los requisitos para su aplicación.
- El Instrumento no cumple con los requisitos para su aplicación.

Si cumple

IV. PROMEDIO DE VALORACION



LUIS FERMIN
 HOLGUIN ARANDA
 INGENIERO AMBIENTAL
 Reg. CIP. Nº 111711

FIRMA DEL EXPERTO INFORMANTE

85%

Lima, 14 de noviembre del 2022

**SOLICITUD: VALIDACION DE INSTRUMENTO DE RECOJO
DE INFORMACIÓN**

MG. MENDOZA MOGOLLÓN, GIANMARCO JORGE

Nosotros **Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio** y **Collantes Soto, Jean Pierre**, identificados con DNI N° **72196408** y **74821810**, respectivamente, alumnos de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental, a usted con el debido respeto nos presentamos y le manifestamos:

Que siendo requisito indispensable el recojo de datos necesarios para el Proyecto de investigación que estamos elaborando titulada: **“Eficiencia en la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de un hongo filamentoso y una bacteria gramnegativa, Ancón - Lima, 2023”**, solicitamos a Ud. se sirva validar el instrumento que le adjuntamos bajo los criterios académicos correspondientes. Para este efecto adjunto los siguientes documentos:

- Fichas de validación de instrumentos
- Matriz de operacionalización de variables
- Matriz de Consistencia
- Instrumentos

Por lo tanto:

A usted, ruego acceder mi petición.

Lima, 24 de noviembre del 2022



Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio
72196408



Collantes Soto, Jean Pierre
74821810

**SOLICITUD: VALIDACION DE INSTRUMENTO DE
RECOJO DE INFORMACIÓN**

ING. AYLAS HUMAREDA, MARIA DEL CARMEN

Nosotros **Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio** y **Collantes Soto, Jean Pierre**, identificados con DNI N° **72196408** y **74821810**, respectivamente, alumnos de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental, a usted con el debido respeto nos presentamos y le manifestamos:

Que siendo requisito indispensable el recojo de datos necesarios para el Proyecto de investigación que estamos elaborando titulada: **“Eficiencia en la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de Aspergillus Spp. y Enterobacter Spp., Ancón - Lima, 2023, 2023”**, solicitamos a Ud. se sirva validar el instrumento que le adjuntamos bajo los criterios académicos correspondientes. Para este efecto adjunto los siguientes documentos:

- Fichas de validación de instrumentos
- Matriz de operacionalización de variables
- Matriz de Consistencia
- Instrumentos

Por lo tanto:

A usted, ruego acceder mi petición.

Lima, 07 de noviembre del 2022



Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio
72196408



Collantes Soto, Jean Pierre
74821810

INFORME DE OPINIÓN DE EXPERTOS DE INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN

I. DATOS GENERALES

- 1.1. Apellidos y nombres: DR. AYLAS HUMAREDA, MARIA DEL CARMEN
 1.2. Cargo e institución donde labora: Docente, Universidad Cesar Vallejo
 1.3. Especialidad o línea de investigación: Medio Ambiente y Desarrollo Sostenible.
 1.4. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Etiqueta de identificación de muestra;
 Determinación de parámetros y evaluación microbiana; Control de condiciones de operación para microorganismos; Caracterización de los microorganismos.
 1.5. Autores de Instrumento: Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio y Collantes Soto, Jean Pierre

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE					MINIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE				
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1.-CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.											X		
2.-OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.											X		
3.-ACTUALIDAD	Está adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.											X		
4.-ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.											X		
5.-SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales.											X		
6.-TENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.											X		
7.-CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.											X		
8.-COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.											X		
9.-METODOLOGIA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.											X		
10.- PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.											X		

III. OPINION DE APLICABILIDAD

- El Instrumento cumple con los requisitos para su aplicación.
- El Instrumento no cumple con los requisitos para su aplicación.

Si cumple

IV. PROMEDIO DE VALORACION



CIP N° 55149

90%

Lima, 24 de noviembre del 2022

FIRMA DEL EXPERTO INFORMANTE

Ficha 1. Etiqueta de identificación de la muestra						
Título		Eficiencia en la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i> , Ancón - Lima, 2023				
Investigadores:		Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio				
		Collantes Soto, Jean Pierre				
Datos de la muestra						
Código	N° de muestra	Cantidad (mL)	Coordenadas del punto de muestreo		Hora de muestreo	Fecha del muestreo
			Latitud	Longitud		



GIANMARCO JORGE
MENDOZA MOGOLLÓN
INGENIERO AMBIENTAL
Reg. CIP N° 200348

Ing. Gianmarco Jorge, Mendoza Mogollón
DNI: 72946347
CIP: 200348



CIP N° 55149



LUIS FERMIR
HOLGUIN ARANDA
INGENIERO AMBIENTAL
Reg. CIP. N° 111711

Ficha 2. Caracterización de los microorganismos				
Título	Eficiencia en la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i> , Ancón - Lima, 2023			
Investigadores:	Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio			
	Collantes Soto, Jean Pierre			
Microorganismo	Concentración (UFC/mL)	Tamaño de colonia (mm)	Forma de Colonia	Color de colonia



GIANMARCO JORGE
 INGENIERO AMBIENTAL
 Reg. CIP N° 200348
 Ing. Gianmarco Jorge, Mendoza Mogollón
 DNI: 72946347
 CIP: 200348



CIP N° 55149



LUIS FERRER
 HOLGUIN ARANDA
 INGENIERO AMBIENTAL
 Reg. CIP. N° 111711

Ficha 3. Control de condiciones de operación para microorganismos			
Título	Eficiencia en la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i> , Ancón - Lima, 2023		
Investigadores:	Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio		
	Collantes Soto, Jean Pierre		
Microorganismo	Temperatura (°C)	Tiempo de incubación (Horas)	Concentración (UFC/mL)



GIANMARCO JORGE
INGENIERO AMBIENTAL
Reg. CIP N° 200348

Ing. Gianmarco Jorge, Wariwoza Mogollón
DNI: 72946347
CIP: 200348



CIP N° 55149



LUIS FERMIN
HOLGUIN ARANDA
INGENIERO AMBIENTAL
Reg. CIP. N° 111211

Ficha 4. Determinación de parámetros y evaluación microbiana

Título	Eficiencia en la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i> , Ancón - Lima, 2023
Investigadores:	Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio Collantes Soto, Jean Pierre
Fecha:	

Datos de la muestra

Muestra						Parámetros fisicoquímicos						
Codificación	Tiempo (Horas)	Concentración (UFC/mL)	Repetición	Tipo de muestra	Cantidad (mL)	Temperatura (°C)	pH	DBO ₅ (mg/L)	Conductividad eléctrica (mS/cm)	Oxígeno Disuelto (mg/L)	Hidrocarburos totales de petróleo (mg/L)	% Degradación


 GIANMARCO JORGE MENDOZA MOGOLLÓN
 INGENIERO AMBIENTAL
 Reg. CIP N° 200348
 Ing. Gianmarco Jorge, Mendoza Mogollón
 DNI: 72946347
 CIP: 200348


 CIP N° 55149


 LUIS FERMÍN HOLGUÍN ARANDA
 INGENIERO AMBIENTAL
 Reg. CIP. N° 111711

Anexo 6. Validación de resultados por un especialista de laboratorio.

INFORME DE LABORATORIO N° 1

I. INFORMACIÓN GENERAL

Propietario	: Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio, Collantes Soto, Jean Pierre
Procedencia de la muestra	: Playa las Conchitas - Ancón
Número de muestras	: 6 muestras
Producto declarado	: Cultivos de microorganismos aislados y purificados
Presentación de muestras	: Tubos de ensayo
Lugar de ensayo	: Laboratorio de Biotecnología – Universidad César Vallejo
Fecha de análisis	: 28-06-2023




Hitler Román Pérez
ING. AMBIENTAL

II. MATERIALES E INSTRUMENTOS

Análisis o Prueba	Recursos
Tinción de Gram	Lámina portaobjetos
	Asa bacteriológica
	Cristal violeta
	Lugol
	Acetona
	Safranina
	Microscopio
Prueba de Fermentación de Carbohidratos	Tubos de ensayo con medios de cultivo de glucosa
	Lactosa y sacarosa
	Inóculo bacteriano
	Asa bacteriológica
	Incubadora
Prueba de Voges-Proskauer (VP)	Tubos de ensayo con medio de cultivo de VP
	Inóculo bacteriano
	Asa bacteriológica o asa de platino
	Incubadora
Prueba de Citrato	Tubo de ensayo con medio de cultivo de citrato
	Inóculo bacteriano
	Asa bacteriológica
	Incubadora



Hitler Román Pérez
ING. AMBIENTAL

Laboratorio de Biotecnología
Dirección: Av. Alfredo Mendíola 6232, Los Olivos 15314 - Lima

Prueba de Ureasa	Tubo de ensayo con medio de cultivo de urea
	Inóculo bacteriano
	Asa bacteriológica
	Incubadora
Tinción de Lactofenol-Algodón Azul	Lámina portaobjetos
	Asa bacteriológica
	Lactofenol-algodón azul
	Microscopio
	Cubreobjetos
Características de las Esporas	Microscopio
	Muestra de hongo
Características de las Hifas	Microscopio
	Muestra de hongo
Prueba de Hidrólisis de Almidón	Placas de agar almidón
	Inóculo bacteriano o fúngico
	Asa bacteriológica
	Lugol
	Incubadora

III. RESULTADOS DE ANÁLISIS

1. Identificación de la Bacteria Gramnegativa:

1.1. Tinción de Gram:

La tinción de Gram reveló la presencia de una bacteria gramnegativa debido a la decoloración tras el lavado con alcohol-acetona.

1.2. Prueba de Fermentación de Carbohidratos:

La bacteria fermentó glucosa y lactosa con producción de ácido y gas, lo cual es consistente con el género *Enterobacter Spp.*

1.3. Prueba de la Voges-Proskauer (VP):

Se obtuvo un resultado positivo en la prueba VP, indicando la producción de acetonas por la bacteria, confirmado su pertenencia al género *Enterobacter Spp.*

1.4. Prueba de la Citrato:

La bacteria utilizó el citrato como única fuente de carbono, mostrando un cambio de color del medio de cultivo de verde a azul, reafirmando su identificación como *Enterobacter Spp.*

1.5. Prueba de la Ureasa:

La prueba de ureasa fue negativa, descartando la presencia de *Proteus spp.* dentro del género *Enterobacter Spp.*

Con base en los resultados obtenidos, el microorganismo aislado se identificó que pertenece al género *Enterobacter Spp.*

Prueba	Resultado	Interpretación
Tinción de Gram	Gramnegativa	Presencia de membrana externa y delgada capa de peptidoglicano en pared celular.
Prueba de Fermentación de Carbohidratos	Glucosa: +, Lactosa: +, Sacarosa: +	Fermentación de carbohidratos con producción de ácido y gas.
Prueba de la Voges-Proskauer (VP)	Positiva	Producción de acetonas por fermentación de glucosa.
Prueba de la Citrato	Positiva	Utilización del citrato como única fuente de carbono.
Prueba de la Ureasa	Negativa	Ausencia de hidrólisis de la urea.

Tabla 1: Resultados de la identificación del género de la Bacteria Gramnegativa (*Enterobacter Spp.*)



Hitler Román Pérez
ING. AMBIENTAL

Laboratorio de Biotecnología
Dirección: Av. Alfredo Mendíola 6232, Los Olivos 15314 - Lima

2. Identificación del Hongo Filamentoso:

2.1. Tinción Azul de Lactofenol:

La tinción azul de lactofenol permitió la observación detallada de las hifas y esporas del hongo, revelando características morfológicas específicas.

2.2. Características de las Esporas:

Las esporas del hongo se presentaron en forma de conidios en cadenas, lo que sugiere una posible identificación como *Aspergillus Spp.*

2.3. Características de las Hifas:

Las hifas septadas y ramificadas observadas son típicas de los hongos del género *Aspergillus Spp.*

2.4. Prueba de la Hidrólisis de Almidón:

El hongo demostró la capacidad de hidrolizar el almidón, formando una zona clara alrededor de la colonia en el medio de cultivo, coincidiendo con las características de *Aspergillus Spp.*

En base a los resultados obtenidos, el hongo aislado se identificó que pertenece al género *Aspergillus Spp.*

Prueba	Resultado	Interpretación
Tinción de Azul Lactofenol	Observación de hifas septadas y conidios en cadenas	Morfología típica de <i>Aspergillus Spp.</i>
Características de las Esporas	Conidios en cadenas	Presencia de esporas en forma de conidios.
Características de las Hifas	Septadas y ramificadas	Hifas con septos transversales y ramificaciones.
Prueba de la Hidrólisis de Almidón	Positiva	Capacidad de hidrolizar el almidón, formando una zona clara alrededor de la colonia.

Tabla 2: Resultados de la identificación del género del Hongo Filamentoso (*Aspergillus Spp.*)



Hitler Román Pérez
ING. AMBIENTAL

Laboratorio de Biotecnología
Dirección: Av. Alfredo Mendíola 6232, Los Olivos 15314 - Lima

IV. METODOLOGIA DEL ENSAYO

Pruebas de identificación	Normas técnicas de referencia
Tinción de Gram	ISO 6579-1:2017, Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella - Part 1: Detection of Salmonella spp.
Prueba de Fermentación de Carbohidratos	ISO 21528-2:2017, Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae - Part 2: Colony-count technique
Prueba de Voges-Proskauer (VP)	USP 62, Microbiological Examination of Nonsterile Products: Tests for Specified Microorganisms
Prueba de Citrato	ISO 6579-1:2017, Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella - Part 1: Detection of Salmonella spp.
Prueba de Ureasa	USP 62, Microbiological Examination of Nonsterile Products: Tests for Specified Microorganisms
Tinción de Lactofenol-Algodón Azul	USP 61, Microbiological Examination of Nonsterile Products: Microbial Enumeration Tests
Características de las Esporas	USP 61, Microbiological Examination of Nonsterile Products: Microbial Enumeration Tests
Características de las Hifas	USP 61, Microbiological Examination of Nonsterile Products: Microbial Enumeration Tests
Prueba de Hidrólisis de Almidón	USP 61, Microbiological Examination of Nonsterile Products: Microbial Enumeration Tests



Hitler Román Pérez
ING. AMBIENTAL

V. AUTORIZACIÓN DEL INFORME DEL ENSAYO


Hitler Román Pérez
ING. AMBIENTAL

Ing. Hitler Román Pérez
Esp. De Laboratorio



UCV
UNIVERSIDAD
CÉSAR VALLEJO

FIN DE INFORME DE ENSAYO

INFORME DE LABORATORIO N° 2

I. INFORMACIÓN GENERAL

Propietario : Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio,
Collantes Soto, Jean Pierre

Procedencia de la muestra : Playa las Conchitas - Ancón

Número de muestras : 5 muestras

Producto declarado : Agua de mar

Presentación de muestras : Frascos herméticos

Lugar de ensayo : Laboratorio de Físicoquímica – Universidad César Vallejo

Fecha de análisis : 28-05-2023




Hitler Román Pérez
ING. AMBIENTAL

II. MATERIALES E INSTRUMENTOS

Análisis	Recursos
pH	pHmetro
	Soluciones Buffer de pH
	Vasos de precipitados o tubos de ensayo
Conductividad	Conductímetro
	Vasos de precipitados o tubos de ensayo
Oxígeno disuelto	Medidor de Oxígeno Disuelto (OD)
	Soluciones de Calibración de OD:
Temperatura	Termómetro
Demanda Bioquímica de Oxígeno	Medidor de Oxígeno Disuelto
	Botellas de BOD (DBO)
	Incubadora
	Agitador Magnético y Barras de Agitación
Hidrocarburos totales de petróleo	Pera de decantación
	Probeta
	Estufa
	Ácido Clorhídrico
	Vaso precipitado
	Hexano
	Cronómetro



Hitler Román Pérez
ING. AMBIENTAL

III. RESULTADOS DE ANÁLISIS

Ficha 1: Etiqueta de identificación de la muestra						
Investigadores:	Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio					
	Collantes Soto, Jean Pierre					
Datos de la muestra						
Código	N° de muestra	Cantidad (mL)	Coordenadas del punto de muestreo		Hora de muestreo	Fecha del muestreo
			Latitud	longitud		
PM1	1	2 000	-11.758907	-77.171585	11:00	25/05/2023
PM2	2	2 000	11.758911	-77.171585	11:15	25/05/2023
PM3	3	2 000	-11.758918	77.171587	11:30	25/05/2023
PM4	4	2 000	-11.758932	-77.171588	11:45	25/05/2023
PM5	5	2 000	-11.758945	-77.171589	12:00	25/05/2023



Hitler Román Pérez
ING. AMBIENTAL

Ficha 2. Caracterización de los microorganismos				
Título	Eficiencia en la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i> , Ancón - Lima, 2023			
Investigadores:	Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio			
	Collantes Soto, Jean Pierre			
Microorganismo	Concentración (UFC/mL)	Tamaño de colonia (mm)	Forma de Colonia	Color de colonia
<i>Aspergillus Spp.</i>	1*10 ⁶	2 - 5 mm	Algodonosa	Color blanco, presenta tonalidades verdosas y negras
<i>Enterobacter Spp.</i>	1*10 ⁶	2 - 4 mm	Redondas y lisas	Puede pasar de color crema a rosado.



Hitler Román Pérez
ING. AMBIENTAL

Ficha 3. Control de condiciones de operación para microorganismos			
Investigadores:	Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio		
	Collantes Soto, Jean Pierre		
Microorganismo	Temperatura (°C)	Tiempo de incubación (Horas)	UFC/mL
<i>Aspergillus Spp.</i>	30 °C	48 horas	8*10 ⁸
	30 °C	48 horas	9*10 ⁸
	30 °C	48 horas	12*10 ⁸
<i>Enterobacter Spp.</i>	30 °C	48 horas	6*10 ⁸
	30 °C	48 horas	9*10 ⁸
	30 °C	48 horas	12*10 ⁸



Hitler Román Pérez
 ING. AMBIENTAL

Ficha 4. Determinación de parámetros y evaluación microbiana

Título	Eficiencia en la biodegradación de hidrocarburos en agua de mar por un co-cultivo de <i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i> , Ancón - Lima, 2023
Línea de investigación	Calidad y Gestión de los Recursos
Investigadores:	Bustamante Garcia, Cristhian Inocencio
	Collantes Soto, Jean Pierre
Fecha:	30/06/2023

Datos de la muestra

Codificación	Tiempo (Horas)	Muestra				Parámetros fisicoquímicos						
		Concentración (UFC/ml)	Repetición	Tipo de muestra	Cantidad (ml)	Temperatura (°C)	pH	DBO ₅ (mg/L)	Conductividad eléctrica (mS/cm)	Oxígeno Disuelto (mg/L)	Hidrocarburos totales de petróleo (mg/L)	% Degradación
CJ - 001	---	---	---	Blanco	20 mL agua de mar	20.3	8	62.3	31.1	5.85	---	---
CJ - 002	0 horas	6*10 ⁸	1	Co-cultivo (<i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.6	6.68	84.07	25.51	2.18	15.04	0.00
			2		2.5 mL solución bacteriana	24.6	6.68	84.12	25.57	2.14	15.06	
			3		15 mL Diesel	24.6	6.69	84.15	25.65	2.19	15.05	
		9*10 ⁸	1	Co-cultivo (<i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.6	6.64	82.08	23.76	2.48	15.11	0.00
			2		2.5 mL solución bacteriana	24.6	6.66	82.04	23.78	2.57	15.15	
			3		15 mL Diesel	24.6	6.64	82.08	23.71	2.63	15.12	
		12*10 ⁸	1	Co-cultivo (<i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.6	6.61	76.89	23.42	2.83	15.18	0.00
			2		2.5 mL solución bacteriana	24.6	6.63	76.85	23.45	2.85	15.24	
			3		15 mL Diesel	24.6	6.65	76.87	23.46	2.89	15.24	


 Hitler Román Pérez
 ING. AMBIENTAL

 Laboratorio de Fisicoquímica
 Dirección: Av. Alfredo Mendiola 6232, Los Olivos 15314 - Lima

CJ - 003	24 horas	6*10 ⁸	1	Co-cultivo (<i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.6	6.21	47.14	17.14	4.18	8.72	41.90
			2		2.5 mL solución bacteriana	24.6	6.24	47.18	17.26	4.17	8.75	
			3		15 mL Diesel	24.6	6.22	47.16	17.22	4.21	8.76	
		9*10 ⁸	1	Co-cultivo (<i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.6	6.49	45.11	17.73	4.63	8.52	43.57
			2		2.5 mL solución bacteriana	24.6	6.51	45.11	17.78	4.67	8.55	
			3		15 mL Diesel	24.6	6.48	45.13	17.78	4.67	8.54	
		12*10 ⁸	1	Co-cultivo (<i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.6	5.99	45.01	18.07	4.94	8.15	46.32
			2		2.5 mL solución bacteriana	24.6	5.98	45.04	18.12	4.92	8.18	
			3		15 mL Diesel	24.6	5.99	45.06	18.19	4.92	8.18	
CJ - 004	48 horas	6*10 ⁸	1	Co-cultivo (<i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.8	6.39	43.87	17.66	4.97	4.74	68.35
			2		2.5 mL solución bacteriana	24.8	6.37	43.83	17.62	4.97	4.77	
			3		15 mL Diesel	24.8	6.39	43.85	17.65	4.96	4.78	
		9*10 ⁸	1	Co-cultivo (<i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.8	6.24	43.22	15.65	4.99	3.52	77.26
			2		2.5 mL solución bacteriana	24.8	6.24	43.19	15.63	4.97	3.44	
			3		15 mL Diesel	24.8	6.28	43.19	15.62	4.98	3.36	
		12*10 ⁸	1	Co-cultivo (<i>Aspergillus Spp.</i> y <i>Enterobacter Spp.</i>)	2.5 mL solución fúngica	24.8	5.92	43.11	17.16	4.97	3.05	79.83
			2		2.5 mL solución bacteriana	24.8	5.97	43.12	17.18	4.96	3.08	
			3		25 mL Diesel	24.8	6.04	43.1	17.17	4.97	3.08	



Hitler Román Pérez
ING. AMBIENTAL

Laboratorio de Físicoquímica
Dirección: Av. Alfredo Mendiola 6232, Los Olivos 15314 - Lima

Mediciones de pH en el tratamiento

pH				Resultados		
Tiempo	Tipo de resultado	Unidad de medida	Repeticiones	6 x 10 ⁸ (UFC/mL)	9 x 10 ⁸ (UFC/mL)	12 x 10 ⁸ (UFC/mL)
0 horas	Muestra	pH	1	6.68	6.64	6.61
			2	6.68	6.66	6.63
			3	6.69	6.64	6.65
24 horas	Muestra	pH	1	6.21	6.49	5.99
			2	6.24	6.51	5.98
			3	6.22	6.48	5.99
48 horas	Muestra	pH	1	6.39	6.24	5.92
			2	6.37	6.24	5.97
			3	6.39	6.28	6.04

Mediciones de Temperatura (°C) en el tratamiento

Temperatura (°C)				Resultados		
Tiempo	Tipo de resultado	Unidad de medida	Repeticiones	6 x 10 ⁸ (UFC/mL)	9 x 10 ⁸ (UFC/mL)	12 x 10 ⁸ (UFC/mL)
0 horas	Muestra	°C	1	24.6	24.6	24.6
			2	24.6	24.6	24.6
			3	24.6	24.6	24.6
24 horas	Muestra	°C	1	24.6	24.6	24.6
			2	24.6	24.6	24.6
			3	24.6	24.6	24.6
48 horas	Muestra	°C	1	24.8	24.8	24.8
			2	24.8	24.8	24.8
			3	24.8	24.8	24.8


 Jhiffer Román Pérez
 ING. AMBIENTAL

Mediciones de Demanda Bioquímica de Oxígeno (mg/L) en el tratamiento

Demanda Bioquímica de Oxígeno (mg/L)						
Tiempo	Tipo de resultado	Unidad de medida	Repeticiones	Resultados		
				6 x 10 ⁸ (UFC/mL)	9 x 10 ⁸ (UFC/mL)	12 x 10 ⁸ (UFC/mL)
0 horas	Muestra	mg/L	1	84.07	82.08	76.89
			2	84.12	82.04	76.85
			3	84.15	82.08	76.87
24 horas	Muestra	mg/L	1	47.14	45.11	45.01
			2	47.18	45.11	45.04
			3	47.16	45.13	45.06
48 horas	Muestra	mg/L	1	43.87	43.22	43.11
			2	43.83	43.19	43.12
			3	43.85	43.19	43.1

Mediciones de Conductividad eléctrica (mS/cm) en el tratamiento

Conductividad eléctrica (mS/cm)						
Tiempo	Tipo de resultado	Unidad de medida	Repeticiones	Resultados		
				6 x 10 ⁸ (UFC/mL)	9 x 10 ⁸ (UFC/mL)	12 x 10 ⁸ (UFC/mL)
0 horas	Muestra	mS/cm	1	25.51	23.76	23.42
			2	25.57	23.78	23.45
			3	25.65	23.71	23.46
24 horas	Muestra	mS/cm	1	17.14	17.73	18.07
			2	17.26	17.78	18.12
			3	17.22	17.78	18.19
48 horas	Muestra	mS/cm	1	17.66	15.65	17.16
			2	17.62	15.63	17.18
			3	17.65	15.62	17.17



Hitler Román Pérez
ING. AMBIENTAL

Mediciones de Oxígeno disuelto (mg/L) en el tratamiento

Oxígeno disuelto (mg/L)						
Tiempo	Tipo de resultado	Unidad de medida	Repeticiones	Resultados		
				6 x 10 ⁸ (UFC/mL)	9 x 10 ⁸ (UFC/mL)	12 x 10 ⁸ (UFC/mL)
0 horas	Muestra	mg/L	1	2.18	2.48	2.83
			2	2.14	2.57	2.85
			3	2.19	2.63	2.89
24 horas	Muestra	mg/L	1	4.18	4.63	4.94
			2	4.17	4.67	4.92
			3	4.21	4.67	4.92
48 horas	Muestra	mg/L	1	4.97	4.99	4.97
			2	4.97	4.97	4.98
			3	4.98	4.98	4.97

Mediciones de Hidrocarburos Totales de Petróleo (mg/L) en el tratamiento

TPH (mg/L)						
Tiempo	Tipo de resultado	Unidad de medida	Repeticiones	Resultados		
				6 x 10 ⁸ (UFC/mL)	9 x 10 ⁸ (UFC/mL)	12 x 10 ⁸ (UFC/mL)
0 horas	Muestra	mg/L	1	15.04	15.11	15.18
			2	15.06	15.15	15.24
			3	15.05	15.12	15.24
24 horas	Muestra	mg/L	1	8.72	8.52	8.15
			2	8.75	8.55	8.18
			3	8.76	8.54	8.18
48 horas	Muestra	mg/L	1	4.74	3.52	3.05
			2	4.77	3.44	3.08
			3	4.78	3.36	3.08



Hitler Román Pérez
 ING. AMBIENTAL

Laboratorio de Físicoquímica
 Dirección: Av. Alfredo Mendíola 6232, Los Olivos 15314 - Lima

ENSAYO	NORMA DE REFERENCIA
pH	Organización Internacional de Normalización (ISO)- La ISO 10523:2010, Calidad del agua — Determinación del pH.
Conductividad	Organización Internacional de Normalización (ISO)- La ISO 10523:2010, Calidad del agua — Determinación del pH.
Oxígeno Disuelto	Organización Internacional de Normalización (ISO)-La norma ISO 5814:2012, Medición del oxígeno disuelto en agua.
Temperatura	Organización Internacional de Normalización (ISO)-La norma ISO 7887:2011, Determinación de la temperatura en agua.
DBO ₅	Organización Internacional de Normalización (ISO)-La norma ISO 5815-1:2019, Determinación de la demanda bioquímica de oxígeno durante n días (DBO _n) en agua y aguas residuales.
Hidrocarburos totales de petróleo (HTP)	Organización Internacional de Normalización (ISO)-La norma ISO 9377-2:2000, Determinación de los hidrocarburos de petróleo en agua y aguas residuales.



Hitler Román Pérez
ING. AMBIENTAL

V. AUTORIZACIÓN DEL INFORME DEL ENSAYO


.....
Hitler Román Pérez
ING. AMBIENTAL
.....

Ing. Hitler Román Pérez
Esp. De Laboratorio



FIN DE INFORME DE ENSAYO
