



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA
AMBIENTAL

“BIODEGRADACION DE HIDROCARBUROS TOTALES DE PETROLEO
POR BACTERIAS NATIVAS SOMETIDAS A DISTINTAS CONDICIONES
DE CULTIVO APLICADOS EN AGUAS RESIDUALES, CALLAO – 2017”

TESIS PARA OBTENER EL TITULO DE INVESTIGACION DE
INGENIERA AMBIENTAL

AUTORA:

LESLIE VICENTA YAYA CHILENO

ASESOR:

Mg. Rita Jaqueline Cabello Torres

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

CONSERVACIÓN Y MANEJO DE LA BIODIVERSIDAD

LIMA-PERÚ

Año 2017

Página del Jurado

.....
Dr. Cesar Eduardo Jiménez Calderón
(Jurado N°1)

.....
Dr. Ing. Elmer Alfaro Benítez
Ingeniero Químico
(Jurado N°2)

.....
Mg. Rita Jaqueline Cabello Torres
Magister en Química Ambiental
Y fundamental
(Jurado N°3)

Dedicatoria

A Dios, por darme la fuerza y fortaleza de seguir adelante día a día a pesar de las adversidades, por darme la dicha de ponerme en mi camino a personas maravillosas durante el proceso de mencionado estudio.

No obstante, agradecer a mis padres por verme apoyado; gracias a ellos soy todo lo que soy hoy en día, en todo aspecto, por su amor y apoyo incondicional.

A mi Asesora Mg. Rita Jaqueline Cabello Torres por ser mi compañera y guía en todo el proceso de la Investigación. Gracias a ellos ha sido posible este trabajo.

Agradecimientos

A la empresa “Camisea Combustibles S.R.L.” por brindarme sus instalaciones para la toma de muestras de mis análisis.

Asimismo agradezco al Área del Laboratorio de Fisicoquímica de la Universidad Privada Cesar Vallejo por permitirme desarrollar mi tesis en sus instalaciones, además del apoyo del personal técnico Román.

Al Ing. De Petróleo José María Elmer Huamán Jiménez por su guía en el estudio y aprobación en la parte metodológica

Declaración de autenticidad

Yo **Leslie Vicenta Yaya Chileno** con DNI N° **70097615** a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ingeniería, Escuela Académica Profesional de Ingeniería Ambiental, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompaño es veraz y auténtica. Así mismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis son auténticos y veraces. En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad César Vallejo.

Lima, 01 de Julio del 2017.

.....
Leslie Vicenta Yaya Chileno
DNI: 70097615

Presentación

Estimados Señores miembros del Jurado: De acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada **“Eficiencia en la biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo en aguas residuales mediante bacterias nativas sometidas a distintas condiciones de cultivo, callao - 2017”** la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Ingeniera Ambiental.

La autora.

.....
Leslie Vicenta Yaya Chileno

DNI: 70097615

ÍNDICE

	Pág.
Caratula.....	i
Página del Jurado.....	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimiento.....	iv
Declaración de Autenticidad.....	v
Presentación	vi
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT	xiv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Realidad problemática	1
1.2. Trabajos previos	2
1.3. Teorías relacionadas al tema.....	11
1.4. Formulación del problema.....	19
1.5. Justificación del estudio	20
1.6. Hipótesis	21
1.7. Objetivos.....	21
II. MÉTODO.....	22
2.1. Diseño de investigación	24
2.2. Variables, Operacionalización.....	24
2.3. Población y muestra	25
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos... 26	
2.5. Validez y Confiabilidad	49
2.6. Métodos de análisis de datos.....	49

2.7.	Aspectos éticos.....	49
III.	RESULTADOS	49
IV.	DISCUSIÓN	58
V.	CONCLUSIÓN.....	59
VI.	RECOMENDACIONES.....	60
VII.	REFERENCIAS	61
VIII.	ANEXOS.....	70
8.1.	Anexo 1.....	70
8.2.	Anexo 2.....	71
8.3.	Anexo 3.....	71
8.4.	Anexo 4.....	72
8.5.	Anexo 5.....	73
8.6.	Anexo 6.....	74
8.7.	Anexo 7.....	74
8.8.	Anexo 8.....	74
8.9.	Anexo 9.....	74
8.10.	Anexo 10.....	76
8.11.	Anexo 11.....	78
8.12.	Anexo 12.....	80

TABLAS

1. Propiedades Óptimas para bioremediación	6
2. Requerimientos y factores para bioremediación	12
3. Bacterias degradadoras de Hidrocarburos.....	18
4. Diagrama Metodológico	23
5. Operacionalizacion de Variables.....	24
6. Materiales e Insumos Químicos.....	27
7. Grado y Orden de Concentraciones.....	31
8. Monitoreo en el sistema de reactores	33
9. Nutrientes para el medio de cultivo	35
10. Cuadro de Monitoreo.....	47
11. Diferencia entre <i>Pseudomonas Auriginosas</i> y nativas...50	
12. Cuadro de Análisis de HTP con bacterias nativas	51
13. Cuadro de Análisis de HTP con <i>Pseudomonas</i>	52
14. Monitoreo en diferentes reactores.....	53
15. Cuadro de Tratamiento	54
16. Cuadro de eficiencia de Bacterias nativas	55
17. Cuadro de Eficiencia de <i>Pseudomonas Auriginosas</i>56	
18. Cuadro de Comparación	57

FIGURAS

1. Ventajas de bioremediación bacteriana	9
2. Bioremediación del petróleo	13
3. Pasos para el tratamiento	23
4. Puesto de Salida del Tanque	25
5. Materiales para el sistema del biorreactor.....	28
6. Procedimiento para el diseño del reactor	29
7. Soluciones Nutritivas	30
8. Preparación del extracto de carne	30
9. Adición de insumos al bioreactor	31
10. Instalación de los motores.....	32
11. Cambios Organolépticos, día 17	34
12. Cambios Organolépticos, día 18	34
13. Cambios Organolépticos, día 19	34
14. Muestra elegida, día 20.....	35
15. Medios de cultivo en el autoclave	36
16. Preparación del medio de cultivo	36
17. Muestras llevadas a la estufa.....	37
18. Muestras en placa de Petri.....	37
19. Muestras llevadas a la incubadora.....	38
20. Muestras después de cinco días de incubación.....	38
21. Vertimiento de bacterias nativas al bioreactor.....	39
22. Procedimiento de las Soluciones Nutritivas	40
23. Preparación del Agua peptonada	40
24. Vertimiento de muestra a los tubos de ensayo.....	41
25. Procedimiento dilución sucesiva	41

26. Preparación del medio de cultivo	42
27. Muestras terminadas y etiquetadas	43
28. Insumos para la caracterización Gram I.....	43
29. Procedimiento caracterización Gram II	44
30. Procedimiento caracterización Gram Vertimiento	44
31. Observación de bacterias degradadoras de HB.....	44
32. Caracterización de bacterias <i>Micrococcus</i>	45
33. Caracterización de bacterias <i>Rhodococcus</i>	45
34. Caracterización de bacterias <i>Pseudomonas Auriginosas</i>	46
35. Estructura del tratamiento	46
36. Tratamiento de aguas hidrocarbonadas	47
37. Retiro de muestra para ser analizadas	48

RESUMEN

La presente investigación como fase exploratoria se buscó acondicionar bacterias nativas provenientes de la muestra de agua a tratar mediante un Diseño de un Sistema de biorreactores. Se trabajó con una población infinita puesto que estuvo representada por el TQ1 (100 L. agua residual), la muestra fue aleatoria simple representada por una muestra de ocho litros para el tratamiento.

Durante la fase experimental, para el crecimiento y reproducción de las bacterias nativas se diseñó cinco reactores con las adiciones de Soluciones Nutritivas (Sales Hidropónicas al 5% y 3% respectivamente), Biodiesel, Extracto de carne, surfactantes y Dextrosa Anhidra.

Después de dos semanas se seleccionó la muestra N°2 mediante el aislamiento por diluciones sucesivas y de manera directa. Se diseñó un sistema con 2 reactores: R1: Tratamiento de aguas residuales con *Pseudomonas Auriginosas* y R2: Tratamiento de aguas residuales con Bacterias Nativas con el fin de evaluar la diferencia del proceso de metabolización por doce días. Se adicionaron 50 mL. de Agar Nutritivo para ambos reactores. Se realizó la caracterización Gram, y entre las bacterias nativas se encontraron (*Pseudomonas Auriginosas*, *Rhodococcus* y *Micrococcus*). Se analizaron las fracciones de hidrocarburo (C5-C10), (C10-C28), (C28-C40), antes y después del tratamiento, lo que permitió analizar la eficiencia de dichas bacterias en la degradación del Hidrocarburo.

En la fase concluyente, se evidencian una mejora significativa en la velocidad de crecimiento, reproducción y estado microbiológico con las bacterias nativas. Los resultados muestran que en la fracción de hidrocarburo (C5-C10) redujo a un 55.3%, mientras que en la fracción de hidrocarburos (C10-C289 y C28-C40) redujo a un 65.3% lo que indica una disminución en la biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo.

Palabras claves:

Biodegradación: Transformación de una combinación orgánica llevado a cabo por bacterias u Hongos.

Cultivo: Método para la multiplicación de microorganismos, bacterias en el que cual se prepara un medio óptimo para favorecer el proceso del crecimiento, proceso metabólico.

Eficiencia: Capacidad de alcanzar un objetivo fijado con anterioridad en el menor tiempo posible y con el mínimo uso posible de los recursos.

Hidrocarburos Totales de Petróleo: Mezcla de productos químicos compuestos principalmente de hidrógeno y carbono, divididos en grupos de hidrocarburos de petróleo que se comportan en forma similar en el suelo o el agua. Estos grupos se llaman fracciones de hidrocarburos de petróleo. Cada fracción contiene muchos productos químicos individuales.

Reducción: Reacción química que disminuye cierto contenido de elementos o químicos.

ABSTRACT

The present investigation as an exploratory phase was to condition native bacteria from the water sample to be treated by a Design of a Bioreactor System. We worked with an infinite population since it was represented by TQ1 (100 L. residual water), the sample was simple random represented by an eight liter sample for treatment. During the experimental phase, five reactors were designed with the addition of Nutrient Solutions (Hydroponic Salts at 5% and 3% respectively), Biodiesel, Meat Extract, Surfactants and Anhydrous Dextrose.

After two weeks the sample No. 2 was selected by isolation successive and direct dilutions. A system with two reactors was designed: R1: Wastewater treatment with *Pseudomonas Auriginosas* and R2: Treatment of wastewater with Native Bacteria in order to evaluate the difference of the process of metabolization by twelve days. 50 mL was added. Nutrient Agar for both reactors. The Gram characterization was performed, and among the native bacteria were found (*Pseudomonas Auriginosas*, *Rhodococcus* and *Micrococcus*). The hydrocarbon fractions (C5-C10), (C10-C28), (C28-C40), before and after treatment, were analyzed, which allowed to analyze the efficiency of said bacteria in the hydrocarbon degradation.

In the concluding phase, a significant improvement in the speed of growth, reproduction and microbiological status with the native bacteria is evidenced. The results show that in the hydrocarbon fraction (C5-C10) reduced to 55.3%, while in the hydrocarbon fraction (C10-C289 and C28-C40) reduced to 65.3% indicating a decrease in the biodegradation of Total oil hydrocarbons.

Keywords:

Biodegradation: Transformation of an organic combination carried out by bacteria or fungi.

Culture: Method for the multiplication of microorganisms, bacteria in which an optimal medium is prepared to favor the growth process, metabolic process.

Efficiency: Ability to reach a goal previously set in the shortest possible time and with the least possible use of resources.

Total Petroleum Hydrocarbons: A mixture of chemicals composed mainly of hydrogen and carbon, divided into groups of petroleum hydrocarbons that behave similarly in soil or water. These groups are called petroleum hydrocarbon fractions. Each fraction contains many individual chemicals.

Reduction: Chemical reaction that diminishes certain content of elements or chemicals.