



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Bacteria *Bacillus Safensis* en la degradación sobre hidrocarburos (gasolina) en laboratorio Arequipa 2021

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Ingeniero Ambiental

AUTOR:

Manchego Madueño, Hans Duilio (ORCID: [0000-0003-3144-5435](https://orcid.org/0000-0003-3144-5435))

ASESOR:

MSc. Quijano Pacheco, Wilber Samuel (ORCID: [0000-0001-7889-7928](https://orcid.org/0000-0001-7889-7928))

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Tratamiento y Gestión de los Residuos

LIMA - PERÚ

2021

Dedicatoria

A mis abuelos Julia Holguin Gutierrez, Artemio Madueño Ramos a mi madre Mary Liz Madueño Holguin y a Adolfo Paucar Zuñiga que siempre estuvieron en esos momentos difíciles brindandome su amor, paciencia y comprensión.

Agradecimientos

A Dios por permitirme tener tan buena experiencia dentro de mi universidad

A la universidad Alas Peruanas y Cesar Vallejo por permitirme convertirme en ser un profesional en lo que tanto me apasiona,

A cada maestro que hizo parte de este proceso integral de formación, que deja como producto a este graduado, y como recuerdo y prueba viviente en la historia: esta tesis; que perdurara dentro de los conocimientos y desarrollo de las demas generaciones que estan por llegar.

Índice de contenidos

Dedicatoria	ii
Agradecimientos	iii
Índice de tablas.....	v
Índice de figuras	vi
Resumen	vii
Abstract	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO	4
III. METODOLOGÍA	15
3.1 Tipo y diseño.....	15
3.2 Variables y Operacionalización	15
3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	17
3.5 Procedimientos.....	19
3.5.1 Ubicación.....	19
3.5.2 Materiales y equipos.....	19
3.5.3 Reactivación de las bacterias.....	22
3.5.4 Preparación de unidades experimentales	22
3.5.5 Proceso del trabajo y la toma de datos (periodo de evaluación).....	22
3.6. Método de análisis de datos	30
3.7. Aspectos éticos	30
IV. RESULTADOS.....	30
V. DISCUSIONES.....	37
VII. RECOMENDACIONES	41
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
ANEXOS.....	48

Índice de tabla

Tabla 1. Técnicas e instrumentos utilizados en el trabajo.....	18
Tabla 2 Flujograma del proceso	21
Tabla 3. Resultados del efecto del tratamiento sobre la gasolina	31
Tabla 4. Análisis de varianza para la degradación de la gasolina	32
Tabla 5 Prueba de contraste de Tukey sobre la gasolina	32
Tabla 6. Resultado de la degradación de la gasolina por las bacterias	34
Tabla 7. Resultado porcentual de la eficiencia de degradación de la gasolina	36

Índice de figuras

Figura 1. Mapa de ubicacion	19
Figura 2 Estufa.....	20
Figura 3. Autoclave.....	20
Figura 4 Espectrofotometro	20
Figura 5 Balanza.....	20
Figura 6. Mechero	200
Figura 7 Homogeneizador	20
Figura 8: Balanza	240
Figura 9: frascos	¡Error! Marcador no definido. 0
Figura 10 Pipeta.....	¡Error! Marcador no definido. 0
Figura 11: Autoclavado de material	23
Figura 12: Preparación de material y agar	23
Figura 13: Cocción del agar sangre.....	24
Figura 14: Plaqueo	24
Figura 15: Vertido de agar sangre	24
Figura 16: Flameado del agar sangre	25
Figura 17: Limpieza de material	28
Figura 18 Pesado del caldo peptonado	27
Figura 19 Caldo peptonado con agua destilada.....	27
Figura 20. Llenado de gasolina y caldo peptonado.....	30
Figura 21. Inoculación en tubos	29
Figura 22. Frascos con bacterias.....	29
Figura 23 Lectura en el espectrofotómetro	29
Figura 24 Bacterias.....	30
Figura 25. Efecto de los tratamientos sobre la gasolina. (Azul con concentración de 6×10^8 , rojo con concentraciones de 9×10^8 y plomo con concentraciones de 12×10^8	33
Figura 26 Efecto del tratamiento sobre la degradación de la gasolina (Azul con concentración de 6×10^8 , rojo con concentraciones de 9×10^8 y plomo con concentraciones de 12×10^8	35
Figura 27. Efecto del tratamiento sobre la eficiencia de degradación de la gasolina.....	36

Resumen

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar a las Bacterias *Bacillus safensis* en la Degradación sobre Hidrocarburos (gasolina) en Laboratorio Arequipa 2021, es de tipo aplicado, diseño experimental. El trabajo se planteó bajo el diseño completamente al azar con arreglo factorial de 3 x 4 (6×10^8 , 9×10^8 y 12×10^8 cantidad de bacterias x 0, 24, 48 y 72 horas) con 12 tratamientos y 3 repeticiones para cada uno y la unidad experimental fue de 0.5 ml de gasolina (36 unidades experimentales). Para el cual se reactivaron la Bacterias *Bacillus safensis* encontrando sus características típicas; así mismo, se determinó que existe diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) para todos los tratamientos evaluados tanto para el residual y la degradación de la gasolina en los frascos y el tratamiento óptimo a través de la prueba de contraste de Tukey fueron los tratamientos 6×10^8 UFC con 9×10^8 UFC de bacterias con 72 horas de evaluación y el tratamiento 3×10^8 UFC con 6×10^8 UFC con 48 horas de evaluación con menores residuales de gasolina y la eficiencia de degradación mostraron como mínimo de 75.06% y el máximo de 95.85%. En conclusión, la mejor eficiencia lo obtuvo los tratamientos 3 y 8 con 95.53%.

Palabras Clave: *Bacillus safensis*, gasolina, degradación

Abstract

The objective of this work was to evaluate *Bacillus safensis* Bacteria in Degradation on Hydrocarbons (gasoline) in Laboratorio Arequipa 2021, it is applied type, experimental design, The work was raised under the completely random design with a factorial arrangement of 3 x 4 (6 x 10⁸, 9 x 10⁸ and 12 x 10⁸ amount of bacteria x 0.24, 48 and 72 hours) with 12 treatments with their respective 3 repetitions and 0.5 ml of gasoline as an experimental unit (36 experimental units) with which it was determined its degradation, the *Bacillus safensis* bacteria were activated, finding their typical characteristics. Finding that there is a statistically significant difference ($p < 0.05$) for all the treatments evaluated for the residual and the degradation of gasoline in the bottles, and the optimum with the Tukey contrast test were treatments 6 with 9 * 10⁸ of bacteria with 72 hours of evaluation and treatment 3 with 6 x 10⁸ with 48 hours of evaluation with lower residual gasoline and the degradation efficiency of gasoline showed a minimum of 75.06% and the maximum of 95.85 and 95.53% was obtained by treatments 3 and 8 respectively

Keywords: *Bacillus safensis*, gasoline, degradation

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe un peligro permanente hacia el medio ambiente debido al acrecentamiento de las actividades económicas y sociales de los pueblos, y este peligro se acrecienta en la fabricación de novísimos compuestos orgánicos, que no se dispone de su presencia en los ecosistemas y del cual su degradación se ve dificultoso, entre estos compuestos se ubican los combustibles, no obstante ellos han sido derivados del petróleo, su composición actual y concentraciones durante la refinación, los transforma en compuestos orgánicos perennes (COP´s) Según Geetha, et al (2013) los microorganismos pueden ser logrados mediante el incremento de cultivos, donde la concentración final celular se puede emplear como criterio de selección

Las investigaciones que aseveran sobre una gran multiplicidad de microorganismos y que poseen una gran capacidad que permiten un rápido restablecimiento de espacios descompuestos con carburantes (Roy, Dutta, Pal, Gupta, Sarkar, Chatterjee, Saha, Sarkar, Sar, Kazy, 2018). Esto porque son capaces de contaminar elementos procedentes de compuestos orgánicos Según Geetha et al., (2013).

Los hidrocarburos como la gasolina, querosén, aceites, combustibles, parafinas y el asfalto, y otro más no solo impactan la superficie de la tierra, por supuesto corren el peligro de ser traslocados hacia aguas profundas ocasionando de esta forma su contagio, inclusive pueden ser trasladados por escorrentía aumentando todavía más el deterioro del medioambiente. Esta contaminación modifica las condiciones fisicoquímicas de agua al darse una reducción de oxígeno diluido debido a la disminución del traspaso de oxígeno entre la fase atmósfera agua, similar a la entrada de luz al ambiente, lo que inhibe el desarrollo de algunas especies y empequeñece la sujeción de nutrimentos (Jiménez, 2006).

De lo mencionado se plantea el problema general: ¿Cómo son las Bacterias *Bacillus safensis* en la Degradación sobre Hidrocarburos (gasolina) en Laboratorio Arequipa 2021? y los problemas específicos: ¿Cuáles son las características del crecimiento del *Bacillus safensis* para degradar la gasolina?; ¿cuál es la cantidad optima de bacterias para la degradación de gasolina? ¿Cuál

es la velocidad de degradación de la bacteria *Bacillus safensis* sobre gasolina de 95 octanos?

Para la solución del problema se tiene como objetivo general: Evaluar a las Bacterias *Bacillus safensis* en la Degradación sobre Hidrocarburos (gasolina) en Laboratorio Arequipa 2021 y como objetivos específicos: Identificar las características del crecimiento del *Bacillus safensis* para degradar la gasolina; Determinar la cantidad optima de bacterias para la degradación de gasolina; Determinar la velocidad de degradación de la bacteria *Bacillus safensis* sobre gasolina de 95 octanos. También mencionamos la hipótesis general: las Bacterias *Bacillus safensis* mejoran la Degradación sobre Hidrocarburos (gasolina) en Laboratorio Arequipa 2021, así mismo se plantea las hipótesis específicas: las características del crecimiento del *Bacillus safensis* posee un efecto para degradar la gasolina; la cantidad optima de bacterias es 12×10^8 UFC para la degradación de la gasolina y la velocidad es alta en la degradación de la bacteria *Bacillus safensis* sobre gasolina de 95 octanos.

La motivación del trabajo es porque en el mundo en general se existe el problema de contaminación a raíz de combustibles derivados de petróleo que afectan al agua suelo y aire, debido a que el transporte del petróleo es a nivel mundial dicha contaminación se da por derrames ya sea por un cisterna terrestre que trasporta el hidrocarburo o en grandes embarcaciones que llevan el combustible de un país a otro y el Perú no es ajeno a este problema a su vez en las personas viene generando enfermedades muchas veces toxicas con efectos adversos.

El estudio se evidencia teóricamente, porque colaborará con información propiciando conocimiento acerca de la degradación de hidrocarburos (gasolina) con bacterias. De igual manera se demuestra en terreno práctico, por ser un procedimiento parcialmente caro, sencillo y realizable en laboratorio. La investigación se justifica a nivel ambiental debido al hallazgo de procesos biológicos que dio origen a una nueva alternativa, conducentes al recobro de espacios infectados, que se le ha llamado biorremediación (degradación). Esta consiste en el uso productivo de procesos biológicos para remover, degradar o transformar los contaminantes a una forma menos toxica y menos móvil en el ambiente. Se justifica a nivel social, porque actualmente a nivel del mundo se

dispone de múltiples técnicas biológicas que permiten brindar opciones de purificación de áreas impactadas en tierra, aire y agua. La degradación es un proceso de purificación que hace uso de variadas reacciones bioquímicas por una población o consorcios de microorganismos inoculados en una zona determinada para modificar estructuras, como la de hidrocarburos, en componentes menos tóxicos. El uso de microorganismos para la degradación y la industria, cada vez cobra suma importancia, debido a que las sustancias y surfactantes que producen las bacterias son ecológicamente amigables. La investigación se justifica a nivel económico las cepas no tienen un costo muy elevado y dependiendo de sus características se pueden adquirir fácilmente para el cultivo de las bacterias y su adquisición.

II. MARCO TEÓRICO

Cerna(2018) Redujeron la agrupación de hidrocarburos existentes en la litósfera. De acuerdo a la metodología, fue un diseño de carácter experimental al llevarse a cabo una muestra obtenida de la corteza terrestre y que posteriormente fue conducida en laboratorio para conducir los experimentos en octubre y noviembre.

Llanco & Reategui(2020) Identificaron las bacterias degradadoras de petróleo en ecosistemas acuáticos impactadas por actividades de hidrocarburos. Se empleó el método exploratorio, en referencia a la población, se tomaron muestras recogidas de la quebrada Anis Caño que traspasa la empresa MAPLE GAS, para obtener muestras se escogieron el punto 01 con coordenadas 08°23'28"S, 74°31'53"W, y punto 02, con coordenadas 08°23'36"S, 74°31'55"W.

Yaya(2017) Organizaron bacterias originarias procedentes de la muestra de agua a tratada por medio de un diseño de un procedimiento de biorreactores. En referencia a la metodología, fue un estudio experimental, la población infinita, constituida por el TQ1 (100 L. agua residual), la muestra fue de ocho litros para su estudio.

Contreras & Carreño(2018) Estudio referido a la biodegradación que restringe el impacto ambiental negativo de los derrames de hidrocarburos de petróleo. El propósito principal consistió en determinar la eficiencia de biodegradación de hidrocarburos de petróleo de diez cultivos de hongos filamentosos hidrocarbonoclasticos seleccionado/s.

Ludeña (2020) Evaluaron el potencial degradador de hidrocarburos de bacterias de la especie *Pseudomonas fluorescens* que fueron aisladas de sistemas radiculares de plantas cultivadas en la finca de producción ecológica Casa Blanca, Pachacamac. La investigación se llevó a cabo por dos periodos de 30 y 60 días, durante los meses de setiembre y octubre del año 2017 en el invernáculo de la Universidad Católica Sedes Sapientiae.

Cerratos et al.,(2017), La biorremediación de hidrocarburos representa actualmente un reto biotecnológico por la lentitud con el que este contaminante es eliminado del sitio de impacto, actualmente, se han reportado varios géneros

bacterianos capaces de degradar hidrocarburos aromáticos. En este trabajo se realizó un análisis bioinformático para el diseño de oligonucleótidos degenerados, cuyo blanco son los genes de degradación de naftaleno.

Mayz & Manzi(2017), Se denominó recogimiento, determinación e individualización de especies de organismos ubicuos que viven en la rizosfera de la semilla en la tierra descompuesta por dispersión de combustible para analizar y propiciar el desarrollo de la misma mediante la disminución de la contaminación.

Pinto & Sanchez(2018) Se identificó la consecuencia verdadera que proporcionan algunas bacterias al momento de la disminución de varios hidrocarburos existentes en la tierra, las más empleadas en esta labor son la *Pseudomona putida* y el cocobacilo gramnegativo.

Velasquez (2017) Se elaboró una síntesis con información sobre la contaminación de suelos y agua por hidrocarburos y evaluar la fitorremediación como estrategia biotecnológica de recuperación. Los resultados obtenidos muestran que la principal causa de contaminación en suelos y agua se debe principalmente a derrames accidentales.

Corona (2018) Evaluaron el crecimiento y la Actividad Reductora de Acetileno (ARA) a nueve cepas de bacterias promotoras de crecimiento vegetal en diferentes concentraciones de hidrocarburos. Las conclusiones de la investigación se refieren a que el petróleo en México es extraído en su mayoría de yacimientos marinos, en seguida es refinado para la obtención de múltiples productos y finalmente es transportado para su comercialización y uso.

Dos Santos y Maranhó (2018), Estudio denominado La contaminación ambiental por petróleo, las técnicas de tratamiento convencionales y la biorremediación, una herramienta que se dispone para recobrar los suelos degradados con petróleo. El propósito principal fue discutir la contaminación ambiental por petróleo, las técnicas de tratamiento convencionales y la biorremediación, una herramienta alternativa para recobrar los suelos degradados con petróleo. Centrándose en el proceso de rizodegradación, las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), una estrategia de

fitorremediación en la que los microorganismos que colonizan las raíces de las plantas fitorremediadoras son causantes de la biodegradación del petróleo.

Kong, Sun y Liu (2018) Estudiaron la disminución de los compuestos orgánicos aromáticos policíclicos (HAP) en un terreno envejecido y altamente contaminado, cuatro estrategias de biorremediación (microorganismos autóctonos , bioaumentación microbiana con una cepa productora de bioemulsionante y degradante de HAP, *Rhodococcus ruber* Em1, bioaumentación vegetal con *Orychophragmus violaceus* y su combinación) y se investigó el mecanismo de degradación mejorado en mesocosmos del suelo . Las tasas de degradación durante un período de 175 días mostraron que Em1 combinado con *Orychophragmus violaceus* promovió una mejora significativa de la degradación de los PAH.

Camacho, Montes y Rogerio (2019), Se Evaluó la biodegradación del petróleo crudo por comunidades microbianas presentes en suelos rizosféricos de *Bulbostylis nesiotesis* y *Cyperus atlanticus* en la isla Trindade y la estructura compositiva de estas comunidades. Después de 60 días en condiciones aeróbicas, la descomposición de los compuestos orgánicos Totales de Petróleo osciló entre 66 y 75%, dependiendo de la especie de planta y el origen de las muestras de suelo. No hubo respuesta de biodegradación del petróleo a la fertilización con N: P: K (80: 160: 80 mg dm⁻³).

Silva, Bispo, Correia, Quintella y De Abreu(2019) Se aislaron cepas bacterianas del tracto digestivo de gusanos poliquetos y se evaluó el potencial de las bacterias para degradar compuestos del petróleo (*Acinetobacter* sp., *Bacillus* sp., *Pantoea* sp. Y *Enterobacter* sp.). Las cepas se examinaron por separado con respecto a su potencial para degradar el aceite después de 24 h.

Roy, Dutta, Pal, Gupta, Sarkar, Chatterjee, Saha, Sarkar, Sar, Kazy(2018) Se investigó el alcance para desarrollar una estrategia de biorremediación diseñada para el tratamiento de residuos de refinerías de petróleo ricos en compuestos orgánicos mediante enfoques de bioestimulación y bioaumentación. Se consiguió una disminución perfeccionada (46-55%) de los compuestos orgánicos (TPH) a través de corrección de fosfato, nitrato o nitrato + fosfato en el barro con gran exuberancia de oxidación incompleta, denigración de compuestos orgánicos, reductor de sulfato, asimilador de CO₂ y microorganismos metanogénicos.

Bellino, Baldantoni, Picariello, Morelli, Alfani y De Nicola(2019) La degradación microbiana es la principal responsable de la eliminación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) de los suelos contaminados, y la comprensión de este proceso es fundamental para definir enfoques eficaces de biorremediación. Para evaluar la contribución de varios grupos microbianos en la degradación del antraceno y el benzo [a] pireno del suelo, se empleó el análisis de perfiles de ácidos grasos fosfolípidos (PLFA) y técnicas de aprendizaje automático. Para ello, se analizaron las concentraciones de PLFA y PAH, a lo largo de 274 días de incubación en mesocosmos, en suelos contaminados artificialmente con antraceno y benzo [a] pireno, sometidos a diferentes tratamientos: suelos no tratados y suelos tratados con compost de residuos biológicos o consorcio fúngico.

Zeneli, Kastanaki, Simantiraki y Gidarakos(2019) Se apreció el efecto de la atenuación natural, bioestimulación y bioaumentación-bioestimulación sobre la remoción de contaminantes del petróleo, concretamente Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH), así como Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP) en un residuo sólido de refinería. El procedimiento experimental se llevó a cabo a escala de laboratorio en tres tanques separados (tanque de atenuación natural, bioestimulación y bioestimulación-bioaumentación) por un período de 80 días. Se aplicaron condiciones óptimas de temperatura, humedad y ventilación para asegurar un desempeño eficiente de los microdigestores

Lara, Morillo, Merchán y Villaverde (2021) Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) son los principales contaminantes tóxicos y recalcitrantes del medio ambiente. Investigación que evaluó la capacidad de un consorcio microbiano del suelo (OMC) aislado para biodegradar PAH. OMC pudo alcanzar el 100% de biodegradación de naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno y fenantreno en solución, y hasta 76% y 50% de antraceno y fluoranteno, respectivamente, a partir de una mezcla de 16 HAP.

Bharathi, Gayathiri, Natarajan, Selvadhas y Kalaikandhan(2017) Se identificaron que los microbios que tienen la capacidad de disminución de los compuestos orgánicos presentes en la tierra o el agua, de modo que, en caso de un gran derrame, estos puedan ser estimulado aún más para limpiar el área. El mundo de hoy depende en gran medida del crudo petróleo, ya sea para alimentar la gran mayoría de su equipo de transporte mecanizado o como principal materia prima para muchas de las industrias petroquímicas.

Castillo (2020) El propósito principal del estudio fue indagar variantes de la especie *Rhodococcus* aptos de escarnecer pocos de los trascendentales elementos del petróleo: benceno, tolueno y xileno, generalmente acreditados mediante signos. Tomando en cuenta 16 cepas se examinó inicialmente la contaminación de compuestos orgánicos. Las cepas que resistieron esta situación lograron enrumbar para que se haga tratamientos múltiples.

Martínez, López, Jurado, Suárez, López, Sáez, Moral y Moreno(2020) El método común para la eliminación de aguas residuales de almazara (OMW) ha sido su acumulación en estanques de evaporación donde se concentran los sedimentos de OMW. Debido al efecto fitotóxico y antimicrobiano de OMW, las fugas de los estanques pueden contaminar suelos y cuerpos de agua. Este trabajo se centró en la búsqueda de microorganismos que puedan utilizarse como inóculos para la biorremediación de matrices contaminadas en estanques de OMW mediante compostaje in situ.

Vizuite, Pascual, Taco y Morales (2020), La indagación de novísimos procedimientos de biorremediación ha aumentado recientemente debido a la urgencia de conducir actividades de lavado acelerados y que demanden costos mínimos.

Alvaro, Arocena, Martínez y Nudelman (2017) En el estudio se midieron las consecuencias que generan, por un lado la puesta en práctica de una corriente de mínima fuerza y de otro lado el accionar de ciertos organismos unicelulares en la contaminación del mencionado compuesto.

Vásquez, Montes y Lara (2018), Se evaluaron las actividades hemolíticas y lipolíticas. Finalmente, las bacterias desarrolladas se sembraron en medios selectivos para determinar cuáles tenían propiedades biosurfactantes. El análisis demostró que los suelos tienden a perder sus propiedades fisicoquímicas, al primer mes después de una contaminación.

Villalobos y Niño (2020) el presente estudio apoyó la fase II del macro-proyecto “Comportamiento de las características físicas, químicas y microbiológicas en suelos de vocación agrícola artificialmente contaminados con Gasolina y Diésel en el piedemonte llanero del Municipio de Cumaral (Meta)”, al determinar el consumo de crudo de petróleo como única fuente de carbono, de la cepa de actinomiceto *Kribbella* sp, a la vez, que continúe realizando la fijación de nitrógeno atmosférico, capacidad enzimática demostrada a partir de los aislamientos realizados en la primer fase del proyecto

Guillén (2017) Se evaluaron compuestos de desechos verdes (GW) de diferente estabilidad por su potencial de biorremediación. Doce muestras de compost se caracterizaron por parámetros que incluyen la estabilidad (utilizando una configuración modificada validada en este proyecto), recuentos de placas de *Pseudomonas* y actinomicetos cultivables y profusión degradativa de genes (*alkB*, PAH-RHD GP y PAH-RHD GN). Los resultados mostraron que la abundancia de *alk B* (que codifica el alcano monooxigenasa) fue mayor en las muestras de compost menos estables, lo que corresponde al mayor recuento de *Pseudomonas*.

Lustosa, López, Santos Freire, Padilha, Hernández y Cabrera (2018) Investigación conducente por sus autores a concretizar un proceso evaluativo sobre el proceso de degradación de multiplicidad de compuestos orgánicos; llevado a cabo el tratamiento genético empleando diversos marcadores los resultados obtenidos determinaron un progresivo incremento y desarrollo de

bacterias en medio salino mineral (MSM) conteniendo petróleo o diesel al 1%, como fuentes de carbono.

Pereira, Rodriguez, Gomes y Rieger (2018) Se evaluó el potencial microbiano de una biopila en la biorremediación de tierras degeneradas por compuestos orgánicos, instalada en una base de distribución de combustibles en una región de Rio Grande do Sul. En nueve puntos, durante cuatro etapas de operación y a tres profundidades por punto. A partir de estas muestras, buscamos identificar hongos y levaduras analizando sus estructuras reproductivas en portaobjetos de microcultivo y bacterias a través del procedimiento de reacción en silla de polimerasa (PCR) y secuenciando el gen que codifica el ARNr 16S.

Salinas (2019), La investigación abordó factibilidad y desplazamiento de gérmenes y líquenes epidémicos en la preservación de la facultad de engendrar moléculas orgánicas; considerando una de las actividades fundamentales de la medida de los alimentos y la capacidad de fertilización de ecosistemas.

Wu, Li, Dick, Ye, Chen, Kost y Chen (2017) Se precisó la tasa de degradación y la eficiencia de los compuestos orgánicos totales de petróleo (TPH), alcanos e hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) en un suelo contaminado con petróleo utilizando un analizador de contenido de aceite con fotómetro infrarrojo y una espectrometría de masas por cromatografía de gases (GC- SRA).

Marchand, St-Arnaud, Hogland, Bell y Hijri(2017), Se investigó el potencial de biodegradación de hidrocarburos de petróleo por 95 cepas bacterianas y 160 fúngicas aisladas de una antigua industria petroquímica. A continuación, se midió la productividad de las cepas de alto rendimiento en estos ensayos de detección para mineralizar una mezcla de cuatro hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) durante 49 días, utilizando cuantificación por GC-MS.

Alvaro, Arocena, Martínez y Nudelman (2017) La investigación llevada a cabo se encarga de determinar la celeridad de la pérdida de varios fragmentos de petróleo por medio de agregación de líquidos al terreno infectado; se comprobó la congregación de compuestos orgánicos y el control de organismos unicelulares vivientes en la corteza terrestre durante el proceso de biosorción; la disminución de fragmentos de compuestos orgánicos se abordó a pausas habituales del curso de los hechos.

García, Jácome, Pulluquitin y Guambo García, Jácome, Pulluquitin y Guambo (2018) En el presente estudio se utilizaron 81 bacterias aisladas a partir de suelos contaminados con petróleo. Los cultivos fueron recibidos en forma de suspensiones de células en glicerol, de la Colección de Cultivos del Departamento de Ciencias Biológicas de la ESPOCH.

Ordoñez, Abella, Echeverry, Paz y Benítez (2019) Estudio referido al hecho de identificar la capacidad de organismos unicelulares oriundos de corteza descompuesta con combustible que disminuye el querosén; la sustracción de minados de arenas bituminosas se llevaron a cabo con cepas escogidas que demostraron pasividad a agrupaciones por encima del diez por ciento de querosén. La congregación de compuestos orgánicos se realizó empleando la técnica cromatográfica y las deducciones fueron tratadas confrontando las exuberancias respectivas.

Leyton y Pérez (2020), Se centró en la técnica de biorremediación, siendo la más abordada y empleada para la remoción de hidrocarburos. La biorremediación es el uso de organismos naturales que degradan los hidrocarburos como parte esencial de su metabolismo. Algunos de los organismos más utilizados son bacterias, plantas y hongos con eficiencias de eliminación de varios tipos de hidrocarburos superiores al 60%.

Asemoloye, Tosi, Daccó, Wang, Xu, Marchisio, Gao, Jonathan y Pecoraro (2020) Se aislaron cepas de hongos de campos de petróleo crudo contaminados en Nigeria. Los hongos dominantes fueron seleccionados de cada sitio e identificados como *Aspergillus oryzae* y *Mucor irregularis*. Basado en caracterización morfológica y molecular, con incidencias porcentuales de sitio de 56,67% y 66,70%, respectivamente. La respuesta / tolerancia de cepas seleccionadas a hidrocarburos complejos (aceite de motor usado) se estudió cultivándolas en agar mineral Bushnell Haas (BH) suplementado con el hidrocarburo en diferentes concentraciones, es decir, 5%, 10%, 15% y 20%, con un control que tiene dextrosa

Mesa, et al., (2019), Se aislaron tres bacterias endofíticas que degradan el fenantreno de los tejidos de *S. densiflora* y se utilizaron para la inoculación de plantas. Los tratamientos de bioaumentación bacteriana mejoraron ligeramente el crecimiento de *S. densiflora*, los parámetros fotosintéticos y de fluorescencia. El trabajo demostró que la inoculación endofítica de *S. densiflora* en condiciones de invernadero con las cepas seleccionadas que degradan los PAH no aumentó significativamente la capacidad inherente de disipación de fenantreno en el suelo del halófito..

García, Peñafiel, Rodriguez (2019), Se analizó el proceso de biosorción de compuestos orgánicos en aguas de composición variada, se usó la siembra variada de organismos unicelulares descomponedores de compuestos orgánicos, a través de la introducción de especies de microorganismos.

Chen, Li, Liu, Sun y Bao (2017) Se usó cinco cepas de bacterias, a saber, *Exiguobacterium* sp. ASW-1, cepa ASW-2 de *Pseudomonas aeruginosa*, *Alcaligenes* sp. ASW-3, *Alcaligenes* sp. ASS-1 y *Bacillus* sp. ASS-2, fueron aislados de la costa de Zhejiang en China. La flora mixta de las cinco cepas se comportó bien con la degradación del 75,1% de petróleo crudo (1%, p / v) en 7 días. El vehículo de inclusión de alginato de calcio y carbón activado se utilizó para inmovilizar el consorcio bacteriano. Las células inmovilizadas se desempeñaron mejor que las libres en variaciones de factores ambientales que contienen temperatura incubada, pH inicial, salinidad del medio y concentración de petróleo crudo.

Pérez (2018), Estudio realizado con la finalidad de analizar la potencialidad de la descomposición orgánica de *Pseudomonas fluorescens* en la corteza terrestre de la selva del Ecuador altamente descompuestos; el tratamiento de la investigación comprendió dos vertientes: la primera se llevó a cabo en el campo y la segunda fue conducida en laboratorio. Los resultados obtenidos al concluir el estudio fueron que inicialmente se demostró que las tres congregaciones de *P. fluorescens* degradaron TPHs y HAPs; mientras que, T3 implicó mayor grado de superioridad en el abordaje con una degradación del 99,25 % para HAPs y 97,50% para TPHs.

Peekate, Abu, Ogugbue (2018), Su objetivo fué Investigar la efectividad del uso de *Pseudomonas fluorescens* y su biosurfactante en la biosorción de territorios descompuestos con compuestos orgánicos. Se cultivó de *Pseudomonas fluorescens* para la producción de biosurfactantes utilizando un medio optimizado de sal mineral de glicerol. Se usó por separado el biosurfactante y la bacteria para remediar el suelo contaminado con hidrocarburos, se determinó el grado de remoción de hidrocarburos entre el uso de la bacteria y su biosurfactante. El estudio se hizo en el Departamento de Microbiología, Universidad de Port Harcourt, Nigeria; Entre febrero de 2017 y julio de 2017.

Como teoría del trabajo mencionamos a la bacteria *Bacillus safensis* posee la característica de ser Gram-positivo, posee mesófilo, posee esporas, es de carácter aeróbica y de metabolismo quimio-heterotrófica. Es tolerante a sal, metales pesados y radiaciones ultravioleta y gamma (Kothari y col. 2013). Bacteria que ha servido para identificar otras bacterias que poseen endosporas (Probst et al. 2012), con esta diferencia se puede como esta bacteria puede descontaminar zonas como industrias alimentarias y programas de naves espaciales. Lo importante de esta bacteria *B. safensis* es que puede colonizar en diferentes ambientes, inclusive en zonas que otros microorganismos puedan prosperar. Los lugares donde crecen estas bacterias son naves espaciales, desiertos salinos, efluentes industriales, lugares contaminados con petróleo, rizosfera, vísceras de insectos, en vegetal, excrementos humanos y animales, suelo y otros. Es una de las especies amplia (Branquinho et al. 2014).

Otros usos que se le da a esta bacteria Cepas de *B. safensis*, es que se pueden obtener productos tipo enzimas, como amilasa, celulasa, proteasa, lipasa, xilanasas, quitinasas, inulinasa, queratinasa y β -galactosidasa. También son promotoras del desarrollo de plantas en biocontroladores, probióticos y como organismos biorremediadores (Lateef et al., 2015). Mathe et al. (2012) demostró la tolerancia a los metales pesados y resistente a antibióticos, además esta bacteria demostró que son buenos degradadores de hidrocarburos aromáticos.

Toda bacteria que se desarrolla en presencia de derivados de petróleo, generan metabolitos con propiedades tenso-activas llamadas biosurfactantes, son productos con propiedades no polares, que actúan sobre la composición del petróleo. Estas moléculas motivan al desarrollo y crecimiento de las bacterias y con ella aceleran el proceso de biorremediación en los lugares contaminadas. Estos biosurfactantes poseen molécula que se acoplan fácilmente a las moléculas del petróleo y con ello se hacen simples en su biodegradación en consecuencia son poco tóxicos, no perjudican el ambiente además son más activos con bajas concentraciones (Araujo et al., 2008).

biorremediación, se define como una técnica que utiliza cualquier forma biológica, la mayor parte son los microorganismos, con ello minimizan los contaminantes de la zona, puede ser el suelo, sedimento, fango o mar. Es un sistema que posee metodologías que ayudan a descontaminar el ambiente, donde este ya no puede superar por si misma el gran desequilibrio. Este sistema mejora las condiciones naturales en sistemas ecológicos contaminados, aumentando el proceso de regeneración al proceso natural. Estos microorganismos permiten mediante su metabolismo generar productos menos tóxicos, por otro lado concentran e inmovilizan toda sustancia dañina, los metales pesados; reducen los residuos de las industrias y remedian zonas dañadas con diferentes contaminantes.

La diferencia entre el tratamiento de efluentes con un sistema de compostaje este último no son biorremediación, estos se consideran tratamientos biológicos o mixtos que evita una contaminación; por el contrario se recurre a la biorremediación para poder curar un daño ya ocasionado. En consecuencia tanto el tratamiento de residuos como la biorremediación si utilizan a los microorganismos, pero en la biorremediación su tratamiento es un sistema que se utiliza para remediar el daño producido en el ambiente.

III. METODOLOGÍA

3.1 Tipo y diseño

Es una investigación Aplicada, según **(Baena 2017)** esta cuenta con el propósito de ser analizado en un contexto de acción. La investigación aplicada definitivamente pasa por incorporar situaciones nuevas. Si programamos en gran medida y razonablemente nuestro estudio, de tal forma que convendría fiarnos en las situaciones descubiertas en esencia, los hallazgos descubiertos fueron altamente beneficiosos y útiles para la nueva teoría.

El diseño es experimental, porque se encargó de analizar el impacto ocasionado por el manejo y control de una o más variables independientes sobre una o varias dependientes **(Bernal 2010)**

El enfoque es cuantitativo, debido a que permitió al investigador realizar estimaciones y generalizaciones de los datos registrados y logrados a través del proceso investigativo; de igual manera se puede establecer procesos comparativos entre estudios similares **(Hernández, Fernández y Baptista , 2014)**

3.2 Variables y Operacionalización

✓ Variables

- **Variable independiente (VI):** Bacterias Bacillus Safensis
- **Variable Dependiente (VD):** Hidrocarburos (gasolina)
- **Operacionalización (anexo cuadro operacionalización)**

Definición conceptual

Bacillus safensis es una bacteria Gram-positiva, mesófila, formadora de esporas, aerobia y quimio-heterotrófica. Es una bacteria móvil y en forma de bastón con alta tolerancia a la sal, metales pesados, ultravioleta y radiaciones gamma (Satomi et al.2006; Raja & Omine 2012; Kothari et al. 2013).

B. safensis se aisló por primera vez como contaminante de la instalación de ensamblaje de naves espaciales (SAF) en el Laboratorio de Propulsión a Chorro, EE. UU. Del cual derivó su epíteto específico (Satomi et al, 2006).

Definición operacional

Biorremediación, caracterizado por el empleo de una gran variedad de organismos unicelulares que van a permitir la disminución de los compuestos orgánicos (Volke et al., 2012)

3.3 Población, muestra y muestreo

Población

La población del trabajo de investigación está referida a toda la cantidad de gasolina en Arequipa. **(Hernández, Fernández y Baptista , 2014)**. La población establecida en este estudio son los Hidrocarburos producidos en la ciudad de Arequipa (gasolina).

Muestra

Se usó 18 ml de gasolina distribuidos en 36 frascos (de 100 ml de capacidad) que contenía 0.5 ml cada uno. Es una parte proporcional y representativa de toda la población, de la cual obtenemos los datos requeridos para el análisis de la investigación y sobre las que recaerán la medición y la observación de las variables.

Muestreo

El muestreo de 18 ml se obtuvo de 500 ml de gasolina a través de una pipeta de 5ml y se absorbió cada minuto hasta completar las cantidad, antes de extraer la muestra se homogenizó, el método fue probabilístico, se refiere a que cada uno de los elementos que conforman la población puedan ser comprendidos en la muestra final (Olzen y Materola. 2017).

Unidad de análisis

La unidad de análisis para el trabajo fue la gasolina. Se refiere al elemento de utilidad en un estudio de haber establecido la unidad de análisis (Hernández, Mirabal y Uzcátegui 2014).

3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica utilizada fue la observación, porque se observaron a través de los frascos como la bacteria actuaba sobre la gasolina, esto con el propósito de obtener información para el desarrollo de la investigación, a través de una serie de estrategias permite organizar en un control o ficha el registro de la observación de la investigación y que este facilite el entendimiento (Hernández-Sampieri & Mendoza, 2018)

Los instrumentos que nos permitieron recabar la información o los datos colectados se muestran en el anexo los que fueron validados por los expertos.

Se muestra en la tabla la misma que se desarrolló en cada fase: se observa la Tabla 1

Tabla 1. Técnicas e instrumentos utilizados en el trabajo

PROCEDIMIENTO	FUENTE	TÉCNICA	INSTRUMENTOS	RESULTADO
1. Reactivación de la bacteria Bacillus safensis cepa 39 (2016) caldo peptonado	Laboratorio	Experimentación	Ficha N° 1 registro de datos	UFC viables de Bacillus safensis cepa 39
2. siembra y el cultivo en un medio enriquecido (agar base sangre)	Laboratorio	Experimentación	Ficha N° 2 registro de datos	Multiplicación de UFC viables bacillus safensis cepa 39
3. Agregado a los frascos de 100ml el hidrocarburo (gasolina)	Laboratorio	Experimentación	Ficha N° 3 Recogida de datos antes del experimento	Gasolina en frascos
4. Inoculación de caldo peptonado en los frascos con gasolina	Laboratorio	Experimentación	Ficha N° Recolección de datos antes del tratamiento	Frascos con gasolina y Bacillus Safensis
5. Evaluar la concentración de gasolina a las 0, 24, 48 y 72 horas mediante espectrofotometría	Laboratorio	Experimentación	Recolección de datos	Lectura de la absorbancia de los tratamientos
6. Comparar los resultados con respecto al tiempo en cada tratamiento y con el control negativo	Laboratorio	Experimentación	Procesamiento de datos	Comparación de resultados
7. Análisis de resultados	Laboratorio	Experimentación	Procesamiento de datos	Datos finales

3.5 PROCEDIMIENTOS

3.5.1 UBICACIÓN

El estudio se llevó a cabo en el departamento de Arequipa, la provincia de Arequipa, distrito de Miraflores en el laboratorio Cerper Como se observa en la figura 1



Figura 1 Mapa de ubicación del laboratorio

3.5.2 MATERIALES Y EQUIPOS

Se usaron los siguientes equipos: Estufa, autoclave, espectrofotómetro, mechero Bunsen, homogeneizador, destilador, balanza analítica.

Materiales: Placas Petri, frascos de 100 mL, tubos de ensayo, rejilla, pipetas de 1ml. y 10 ml., asas de siembra redonda

Reactivos: medios de cultivo (agar base sangre, caldo peptonado), agua destilada, suero fisiológico, kit de coloración de Gram, alcohol de 70°, alcohol de 96°, peróxido de hidrógeno.

Se observan en las figuras 2,3,4,5,6,7,8,9 y 10



Figura 2. Estufa



Figura 3. Autoclave



Figura 4. Espectrofotómetro



Figura 5. Mechero



Figura 6. Homogenizador



Figura 7. Balanza



Figura(8). Frascos de 100ml



Figura 10. Pipetas de 1ml y 10 ml



Figura 9. Placas Petri

De acuerdo al siguiente cuadro se realizar el trabajo se observa la Tabla 2

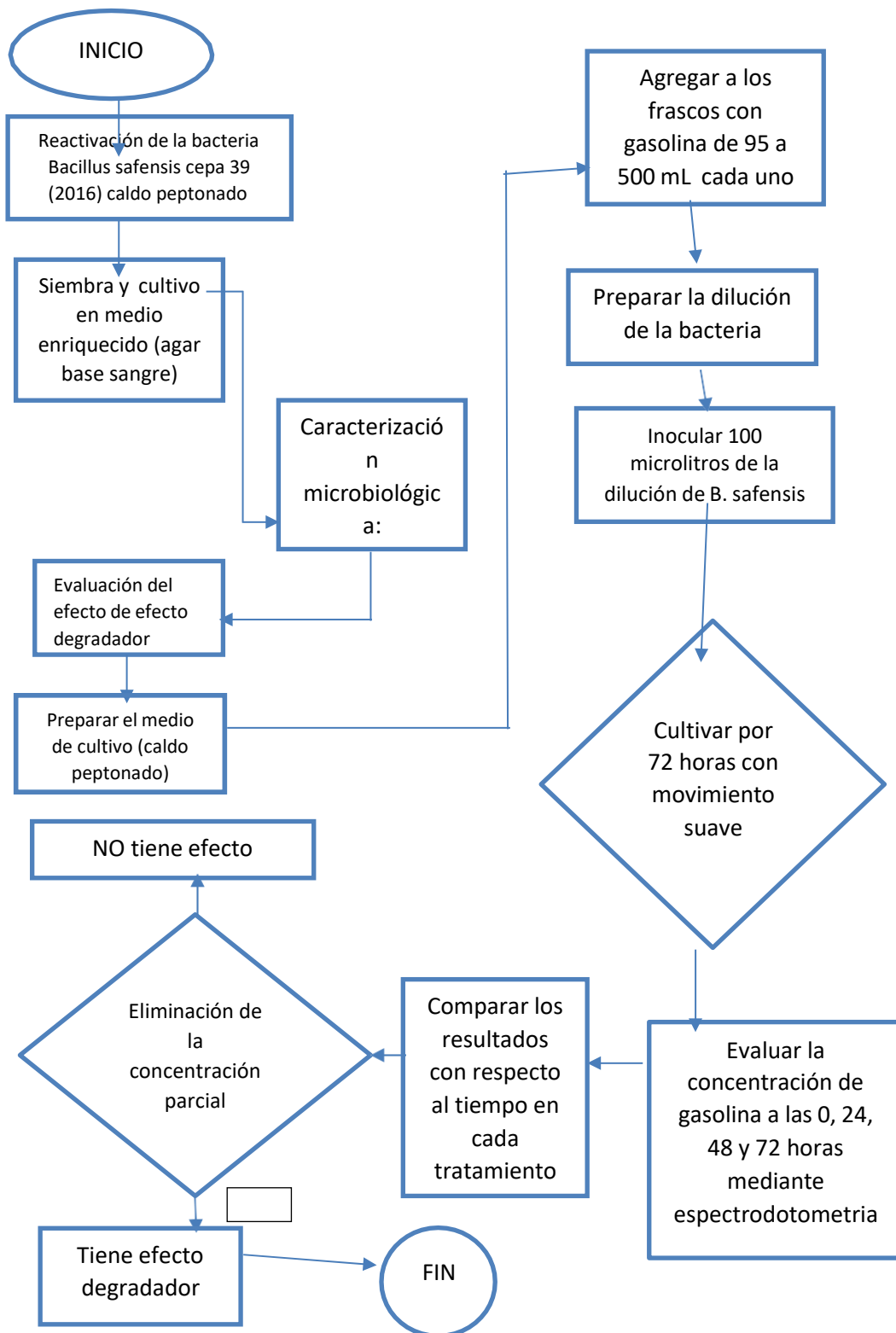


Tabla 2 Flujograma del proceso

3.5.3 Reactivación de las bacterias

Reactivación de la bacteria *Bacillus Safensis* cepa 39 (2016) para así obtener Unidades formadoras de colonias (UFC) viables

3.5.4 Preparación de unidades experimentales

Se hará la siembra y el cultivo en un medio enriquecido, para este caso usaremos el Agar Sangre que es una combinación de un agar base (agar nutritivo). El agar sangre aporta muchos factores de enriquecimiento. Se usa también para ver la capacidad hemolítica de los microorganismos patógenos (que es un factor de Virulencia). Observando los halos hemolíticos alrededor de las colonias se determina el tipo de hemólisis que posee. Se hará el aislamiento de las UFC esto implica hacer diluciones de una suspensión microbiana y su difusión en capas delgadas de agar que contienen nutrientes para su crecimiento. Después de la incubación en condiciones ideales, algunas placas están completamente cubiertas y otras poco crecimiento y algunas estarán cubiertas con puntos aislados individuales que son colonias microbianas los puntos representan las UFC. Se hará la caracterización microbiológica, microscópica y cultural.

3.5.5 Proceso del trabajo y la toma de datos (periodo de evaluación)

PREPARACIÓN DEL AGAR SANGRE

El agar sangre su principal componente es la sangre al 5% de lo que se va a preparar. El agar base sangre tiene más enriquecimiento de acuerdo a formula es 40 gramos para un litro

Se preparó 200 ml para 10 placas se esterilizo la placa durante 3 horas se esteriliza en un horno seco a 170 °C.

1. Autoclavado de material

Se realizó el autoclavado de los materiales que son el matraz de 200 ml. conjunto las placas Petri.

Se observa en la figura 11



Figura 11: Autoclavado de material

2. Preparación de material

Se preparo el medio colocando en agua destilada los 8 gramos agar base sangre se hizo hervir para que disuelva el agar de ahí se llevo al auto clave por 20 minutos a 121 °C y 1.5 atmosfera de presión.

Se observa en la figura 12



Figura 12: Preparación de material y agar

3. Cocción del Agar Sangre

Seguidamente se llevó a 40 °C en baño maria seguidamente se hecho la sangre 10 ml.

Se observa en la figura 13.



Figura 13: Cocción del agar sangre

4. Plaqueo y Flameado de placas

Seguidamente se plaqueó, se depositó el agar sangre en las placas y se flameo para eliminar las burbujas debido a que ya estaba a 35 a 36 grados y rápidamente solidifica y se volvió a flamear para eliminar algunos componentes del medio que quizá cayeron.

se observa en las imágenes 14,15 y16



Figura 14: Plaqueo



Figura 15: Vertido de agar sangre

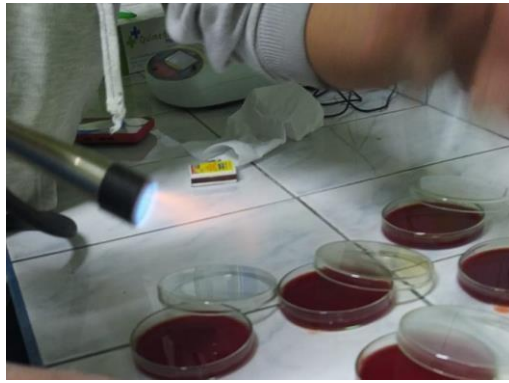


Figura 16: Flameado del agar sangre

5. Reactivación de colonias bacterianas.

A partir del cultivo de almacenamiento se reactivan las cepas bacterianas se hace la siembra en agar base sangre se hace una siembra en una placa Petri y se hace una re siembra en otra placa Petri para la reactivación de la cepa bacteriana por el tiempo de 48 horas con la técnica estría a cuatro planos o estría por agotamiento a temperatura ambiente se observa que no haya contaminación Esta técnica permite que las colonias estén aisladas para observar la morfología de las colonias una vez que se obtenga una buena cantidad de UFC en la cepa a partir de aquí se hace la dilución en suero fisiológico en el inóculo deseado para el tratamiento.

6. PREPARACIÓN DEL CALDO PEPTONADO

Primer día

Hora de inicio: 4:00 pm

Preparación de material

Se realizó en el laboratorio el lavado del material de trabajo en el ambiente correspondiente, se lavó vaso por vaso con una escobilla de laboratorio mediana que permitía una buena limpieza de estos seguidamente se procedió al enjuague de cada uno estos y luego procedió a secar junto con sus tapas.

De la misma manera con los tubos ensayo con una escobilla pequeña se realizó la limpieza tubo por tubo. Como se observa la imagen 17



Figura 17: Limpieza de material

Segundo día

Hora de inicio: 3:30

Preparación del caldo peptonado

Se inició con el pesado del polvo del caldo peptonado 12.75 gramos en la balanza electrónica de tal manera que sea exacta la preparación de este.

A continuación, se preparó el caldo peptonado en un frasco de 500 mililitros disolviendo agua destilada los 12.75 gramos del polvo de caldo peptonado con un mechero bunsen se empezó a disolver con movimientos suaves.

Teniendo ya el caldo peptonado disuelto en agua destilada tanto los frascos de 100 ml. y los tubos de ensayo cerrado con agua destilada se llevó a la autoclave previamente se forraron las tapas de los frascos con papel craf para esterilizar por 15 minutos a 121 grados

Se observa la figura 19 y 20



Figura 18

Pesado del caldo peptonado



Figura 19

Caldo peptonado con agua destilada

Tercer día

Hora de inicio: 4 pm

Llenado de frascos de 100 mililitros (caldo peptonado y gasolina)

Una vez sacados el caldo peptonado de la autoclave, junto con los vasos y los tubos de ensayo, se prosigue a quitar el papel craf de las tapas de los frascos esterilizados para iniciar la preparación del medio de cultivo.

Con una pipeta de 1 ml y un pipeteador se procedió a extraer 0.5 ml de gasolina y con sumo cuidado sin tocar la boca de los frascos con la punta de la pipeta se depositó los 0.5 en cada frasco de 100 ml. para tener una concentración ideal para la muestra. Con una pipeta de 10 ml. de igual manera con un pipeteador y una pipeta de 10 ml se procedió a sacar con cuidado de 10 ml en 10 ml. caldo peptonado del frasco estéril con caldo peptonado y depositarlo en cada uno de los frascos a utilizar. Para terminar el trabajo del día se procedió a guardar el material en el refrigerador.

Se observa figura 20



Figura 20. Llenado de gasolina y caldo peptonado

Cuarto día

Hora de inicio: 2:20

3.5.6 Sembrado de bacterias y posterior inoculación a frascos

Con el mechero Bunsen se procedió a esterilizar las asas de siembra de 3 hasta que se ponga de un color rojo intenso y se dejó enfriar. Se prepararon 3 tubos ensayo cada tubo con 4 mililitros de suero fisiológico y se los dejó en la rejilla. Se procede a destapar las placas con el agar y siembra de las bacterias y con movimientos suaves del asa se procede a sacar las bacterias (asadas). Cada asada se lo coloca en las paredes de los tubos de ensayo con suero fisiológico y se procedió a enturbiar cada tubo de ensayo.

En la primera muestra de tubo de ensayo se colocó 6×10^8 UFC (unidad formadora de colonia), la cual tuvo una absorbancia de 0.55 con un tiempo de 10 minutos para encontrar la turbidez. Previamente se midió en el espectrofotómetro la muestra blanca para comparar (previa muestra 1).

Se volvió a enturbiar el segundo tubo de ensayo para la muestra de 9×10^8 UFC, la cual tuvo una absorbancia de 0.90, se realizó el mismo procedimiento y el tiempo fue 18 minutos debido a que se tuvo que aumentar dos asadas más de bacteria (previa muestra 2).

En la tercera muestra de 12×10^8 UFC tuvo una absorbancia de 1.19 el tiempo fue de 24 minutos dado que se agregó dos asadas más para llegar a la absorbancia ideal (previa muestra 3). Una vez que se haya obtenido los

resultados y la turbidez ideal para cada muestra se procede a depositar en cada frasco un mililitro de la muestra en su frasco correspondiente de 055, 0.90 y 1.19 para luego colocarlo en el shaker y empiece el movimiento a 140 rpm

Se observa la imagen 21 y 22



Figura 21. Inoculación en tubos

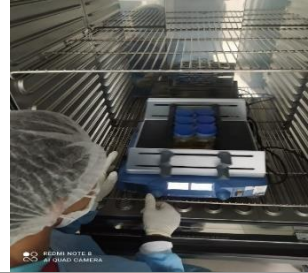


Figura 22. Frascos con bacterias

Cuarto día

Hora de inicio: 4:40

Lectura de datos de espectrofotómetro

Se procedió a sacar 1.5 ml en los tubos de ensayo de las repeticiones 3.1, 3.2 y 3.3 para llevarlas al espectrofotómetro, en la celda echar el contenido y proceder con sus lecturas dando como resultado 0.08, 0.1138 y 0.1075 a una longitud de onda de 250 nm, en las muestras 1, 2 y 3 respectivamente. Se observa la figura 23



Figura 23 Lectura en el espectrofotómetro

3.6. Método de análisis de datos

El trabajo se planteó bajo el diseño completamente al azar con arreglo factorial de 3x4 (Cantidad de bacterias x horas) con 12 tratamientos y tres repeticiones cada uno y 0.5 ml de gasolina que fue la unidad experimental (36 unidades experimentales) se procedió a determinar el análisis de varianza a los resultados de los residuales de la gasolina mediante el programa SAS y para determinar el mejor tratamiento se usó la prueba de contraste de Tukey. También para la construcción de las tablas y gráficos se utilizó el programa Excel.

3.7. Aspectos éticos

El presente informe se ejecutó con la claridad debida, basándose en el código de ética de la Universidad Cesar Vallejo puesto que, para recabar los datos, éstos se utilizaron con propósitos académicos, asimismo la información para el desarrollo se adquirió de fuentes confiables y toda información fue citada adecuadamente, se siguió la Guía detallada para la elaboración del informe de investigación de los lineamientos de la Universidad César Vallejo. Se redactó la tesis de acuerdo a los principios de la investigación primeramente con respeto total a las buenas costumbres y con ella la Veracidad, Autonomía, Confidencialidad, Equidad. Para tener un documento original se comprobó con el programa turnitin, se plasmó por escrito las ideas del propio del autor, el cual fueron procedentes de un proceso de lectura, reflexión, análisis y síntesis.

IV. RESULTADOS

4.1 Las características del crecimiento del *Bacillus safensis* para degradar la gasolina. Los resultados de este objetivo se encuentran detallados en el procedimiento en la cual se determinó y reconoció la especie de la bacteria a través del Color de colonia, Forma de colonia y la forma como es invasiva, resultados que nos da la seguridad de estar trabajando con la bacteria. Se observa la figura 24



Figura 24 Bacterias

4.2 Determinar la cantidad optima de bacterias para la degradación de gasolina.

Los resultados sobre el accionar de las bacterias en cantidad y horas de evaluación y por repetición se muestran en la Tabla 2. Resultados ordenados en la cual se observa los 12 tratamientos con sus 3 repeticiones se observa la Tabla 3.

Tabla 3. Resultados del efecto del tratamiento sobre la gasolina

Cantidad		6*10 ⁸				9*10 ⁸				12*10 ⁸			
horas		0 (1)	24 (2)	48 (3)	72 (4)	0 (5)	24 (6)	48 (7)	72 (8)	0 (9)	24 (10)	48 (11)	72 (12)
Rep	1	0.122	0.080	0.021	0.030	0.122	0.114	0.043	0.019	0.122	0.108	0.086	0.028
	2	0.122	0.078	0.021	0.032	0.122	0.115	0.040	0.026	0.122	0.099	0.083	0.031
	3	0.122	0.082	0.020	0.035	0.122	0.110	0.040	0.022	0.122	0.100	0.080	0.029
Prom residual gas		0.122	0.080	0.021	0.032	0.122	0.113	0.041	0.022	0.122	0.102	0.083	0.030
Prom. Degradación gas		0.378	0.420	0.479	0.468	0.378	0.387	0.459	0.478	0.378	0.398	0.417	0.470

De la Tabla 3 se puede observar que las bacteria desarrollaron con normalidad pues se nota que existe degradación, también se observa que en los doce tratamientos de acuerdo a la cantidad de bacterias y por el número de horas evaluadas, es el resultados del residual de gasolina que quedó en los frascos luego de efectuar el tratamiento, este resultados son de desarrollo normal por que poseen un coeficiente de variabilidad de 3.22%. siendo los valores para los doce tratamientos del 1 al 12 de 0.122, 0.080, 0.021, 0.032, 0.122, 0.113, 0.041, 0.022, 0.122, 0.102, 0.083 y de 0.030 ml respectivamente, de residual de gasolina en cada frasco

A la hipótesis:

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

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

Al análisis de varianza para todos los tratamientos (Tabla 4) se determinó que existe diferencia significativa, rechazando la hipótesis nula y aceptando la hipótesis alternante, lo que implica que hay un efecto de la cantidad de bacterias y horas de evaluación sobre la degradación de la gasolina se observa la Tabla 4.

Tabla 4. Análisis de varianza para la degradación de la gasolina

Fuente de variación	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Entre tratamientos	11	0.0590597	0.00536906	938.28	<.0001
Error	24	0.0001373	0.00000572		
Total corregido	35	0.059197			

CV = 3.22%

Como salió significativo y asumiendo que al menos un tratamiento es diferente se procede a realizar la prueba de contraste de Tukey para saber cuál de los tratamientos es mejor. Se observa la Tabla 5

Tabla 5 Prueba de contraste de Tukey sobre la gasolina

SIGNIFICANCIA	PROMEDIO	TRATAMIENTOS
A	0.1220	1
A	0.1220	5
A	0.1220	9
B	0.1130	6
C	0.1023	10
D	0.0830	11
D	0.0800	2
E	0.0410	7

F	0.0323	4
F	0.0293	12
G	0.0223	8
G	0.0207	3

La Tabla 5 muestra el resultado de la prueba de contraste de Tukey en la que se observa y se puede leer de abajo hacia arriba como del menor producto sobrante del residual de gasolina en los frascos de los tratamientos.

Encontrando en la lectura los mejores tratamientos el 6 con 9×10^8 de bacterias con 72 horas de evaluación y el 3 con 6×10^8 con 48 horas de evaluación y el resto mayores residuales de gasolina. Son resultados de acuerdo al mejor tratamiento, sin embargo de acuerdo al crecimiento bacteriano se observa otra cosa en las figuras 25 y 26. Lo que implica que no necesariamente a mayor cantidad de bacterias hacen que se obtenga mayores valores de degradación.

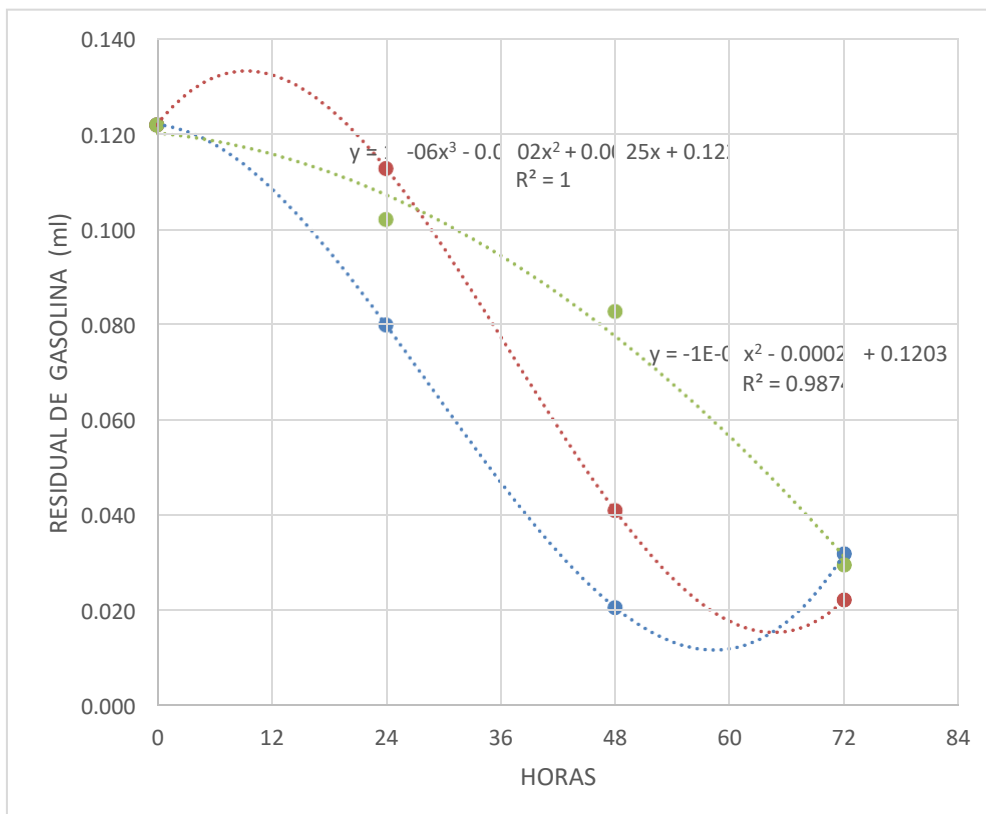


Figura 25. Efecto de los tratamientos sobre la gasolina. (Azul con concentración de 6×10^8 , rojo con concentraciones de 9×10^8 y plomo con concentraciones de 12×10^8).

De la figura 25 se observa que en los residuales de gasolina el que mayor degradó fue el tratamiento 3 y el tratamiento 8, con concentraciones de bacterias de 6 y 9×10^8 respectivamente, esto se corrobora con lo obtenido por la prueba de contraste de Tukey.

Por otro lado se tiene la cantidad de degradación de parte de las bacterias de la gasolina, esto por diferencia entre el residual y el inicial de ofrecido en cada tratamiento y repetición, sabiendo que se le ofreció en cada unidad experimental o en cada frasco de 0.5 ml de gasolina, con ello se inició el trabajo experimental. Se observa la Tabla 6.

Tabla 6. Resultado de la degradación de la gasolina por las bacterias

Horas	Concentraciones de bacterias		
	6×10^8	6×10^8	6×10^8
0	0.378	0.378	0.378
24	0.420	0.387	0.398
48	0.479	0.459	0.417
72	0.468	0.478	0.470

De la Tabla 6 se observa que la cantidad que pudo degradar a la gasolina por las bacterias en las diferentes concentraciones y a diferentes horas de evaluación, estos valores son el resultado de la diferencia entre el residual y lo ofrecido inicialmente, tomando como referencia los promedios de cada tratamiento.

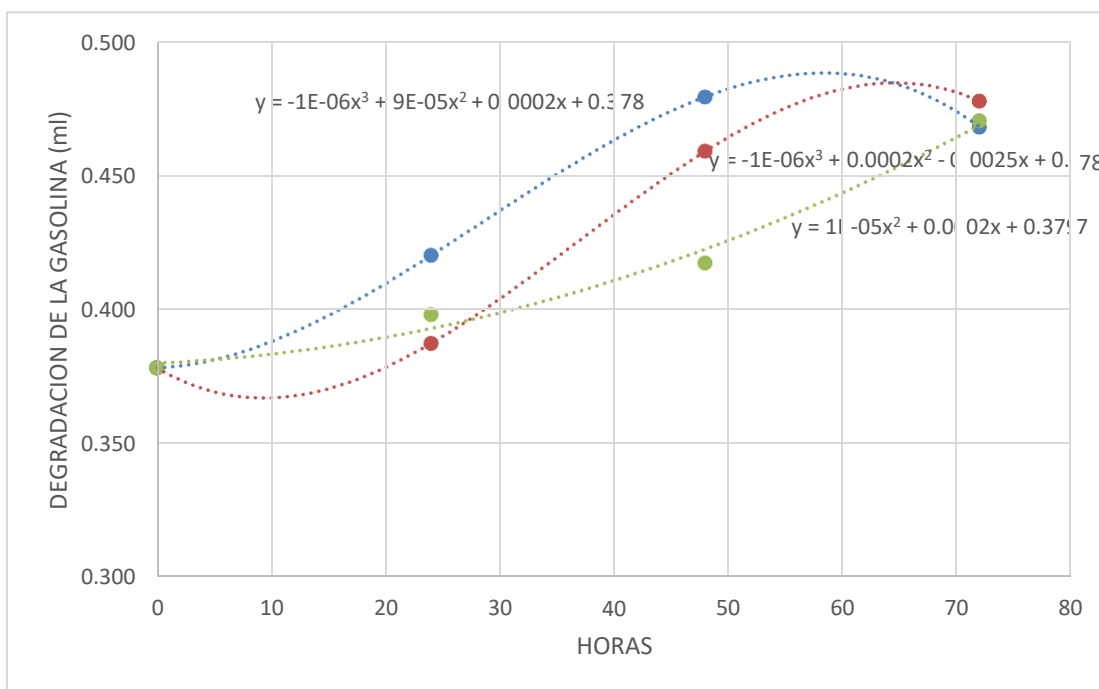


Figura 26 Efecto del tratamiento sobre la degradación de la gasolina (Azul con concentración de 6×10^8 , rojo con concentraciones de 9×10^8 y plomo con concentraciones de 12×10^8).

De la figura 26 se observa que el tratamiento con concentración de 6 y 9×10^8 son los que mayormente degradaron la gasolina con respecto al tratamiento con concentraciones de 12×10^8 , con esto se corrobora con los presentados de los resultados de los residuales de la gasolina.

4.3 Eficiencia de degradación.

Los resultados porcentuales de la eficiencia de la degradación de los microorganismos *Bacillus safensis* sobre la gasolina, tomando como base los promedios de la degradación y el residual se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7. Resultado porcentual de la eficiencia de degradación de la gasolina

Horas	Cantidad de bacterias		
	6 x 10 ⁸	9 x 10 ⁸	12 x 10 ⁸
0	75.60	75.60	75.06
24	84.00	77.43	79.57
48	95.85	91.79	83.43
72	93.60	95.53	94.07

Como se observa en Tabla 7, los resultados porcentuales el mínimo es de 75.06% y el máximo de 95.85 y 95.53 para los tratamientos 3 y 8 con los que se corrobora todos los resultados en el presente trabajo.

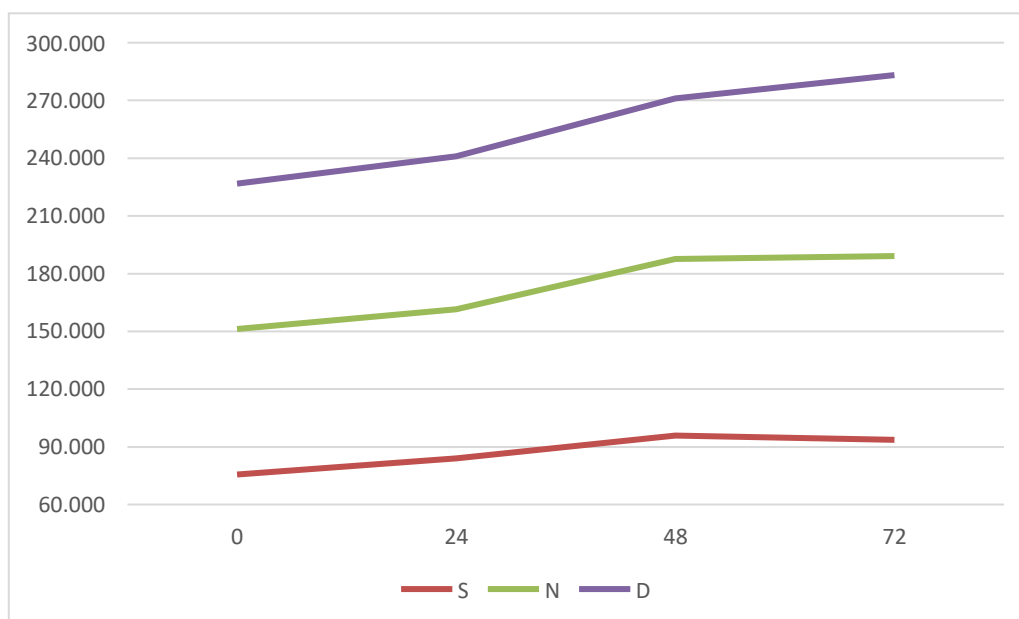


Figura 27. Efecto del tratamiento sobre la eficiencia de degradación de la gasolina

De la figura 27 se observa que efectivamente la concentración de 6x 10⁸ y 9 x 10⁸ son los que degradaron mayormente con respecto a los demás tratamientos, lo que se demuestra que no necesariamente la mayor concentración de bacterias es el que mayor degrada.

V. DISCUSIONES

A través de la reactivación de las bacterias en todo el proceso se pudo identificar sus características por los cultivos en cada placa petri evaluada, además se pudo observar el desarrollo y crecimiento en los tubos de ensayo identificar las características de la bacteria al agitarse logró enturbiar la gasolina pudiéndose así ver que tiene la acción degradadora porque estas estaban creciendo dentro de la gasolina y degradando, resultado que observó Pinto, Sánchez (2018) en muestras líquidas a través de Agitación - centrifugación y extracción Soxhlet y Mathe et al 2012 realizó trabajos en petróleo y sus derivados encontrando resultados similares.

En la determinación del tratamiento óptimo tanto en cantidad como en horas evaluadas, los resultados muestran que existe diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) para todos los tratamientos evaluados, esto implica que existe un efecto en los tratamientos para el residual de la gasolina en los frascos, y el óptimo de los tratamientos según la prueba de contraste de Tukey resultó el tratamientos 6 con 9×10^8 de bacterias con 72 horas de evaluación y el 3 con 6×10^8 con 48 horas de evaluación menores residuales y el resto mayores residuales de gasolina. Pinto, Sánchez (2018) afirma que en el espectrofotograma se puede observar, la degradación tanto natural como por acción de las bacterias utilizadas, se refleja las condiciones iniciales de los terrarios de experimentación contaminados con gasolina, una biorremediación natural debido a que la gasolina puede mediante otros procesos físico-químicos adicionales, evaporarse de manera que disminuya su concentración. Villalobos y Niño (2020), al determinó las características físicas, químicas y microbiológicas en suelos de vocación agrícola artificialmente contaminados con Gasolina y Diésel, pero Araujo et al 2008 y Mathe et al. (2012) determinaron degradación de petróleo y derivados obteniendo resultados similares, Castillo (2020) deduce que las cepas 578 (*Rhodococcus pyridinivorans*) y 722 (*Rhodococcus indicum*) son las más prometedoras para su selección como potenciales agentes biorremediadores de hidrocarburos. Además, cabe destacar el distinto comportamiento de cada una de ellas en función del medio empleado, 578 evolucionó mejor en general en ausencia de fuente de carbono extra, mientras que 722 presentó una mejor evolución en condiciones de cometabolismo, es decir, con fuente extra de

carbono, lo cual corrobora que no deben ser descartadas ninguna de las dos, antes al contrario, un siguiente experimento para un estudio enfocado en la optimización de su funcionalidad en condiciones a escala real, debería pasar por el empleo de ambas en forma de consorcio, puesto que podrían complementar las ligeras carencias que presentan cada una sobre la condición preferente de la otra.

En la determinación de la degradación de la gasolina por las bacterias, sabiendo que se le ofreció en cada unidad experimental o en cada frasco de 0.5 ml de gasolina, con ello se inició el trabajo experimental, los resultados muestran el tratamiento con concentración de 6 y 9×10^8 son los que mayormente degradaron la gasolina con respecto al tratamiento con concentraciones de 12×10^8 , con esto se corrobora con los presentados de los resultados de los residuales de la gasolina Silva, Bispo, Correia, Quintella y De Abreu (2019) encontró su potencial para degradar el aceite después de 24 h, García, Peñafiel, Rodríguez (2019) utilizó en el tratamiento biológico una mezcla de bacterias encargadas de la degradación de varios tipos de hidrocarburos: *Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas sp.* y *Mycobacterium sp.* cuando se intenta hacer simulaciones de degradación del petróleo se utilizan mezclas de bacterias, no una sola. La mezcla de bacterias se aplicó en forma sólida, tableta de 80 g, con una concentración mínima de 4×10^8 UFC/ml de microorganismos, fácilmente desgastable o soluble en agua, inoculó con células del consorcio bacteriano hasta alcanzar una concentración de 1×10^8 UFC/ml para la inmovilización de bacterias en capsulas de alginato de sodio en su estudio de biodegradación de hidrocarburos

.En cuanto a la eficiencia de degradación de la gasolina por los microorganismos *Bacillus safensis* los resultados porcentuales muestran el mínimo de 75.06% y el máximo de 95.85 y 95.53% para los tratamientos 3 y 8 con los que se corrobora todos los resultados en el presente trabajo lo que se demuestra que no necesariamente la mayor concentración de bacterias es el que mayor degrada, Lara, Morillo, Merchán y Villaverde (2021) el 100% de biodegradación de naftaleno hasta 76% y 50% de antraceno y fluoranteno, Camacho, Montes y Rogério (2019) descomposición de los compuestos orgánicos Totales de Petróleo osciló entre 66 y 75%, Asemoloye, Tosi, Daccò, Wang, Xu, Marchisio,

Gao, Jonathan y Pecoraro (2020), usando *Aspergillus oryzae* y *Mucor irregularis*. Determinó eficiencias de 56,67% y 66,70%, respectivamente en petróleo, Pérez (2018) al concluir el estudio los resultados fueron que inicialmente se demostró que las tres congregaciones de *P. fluorescens* degradaron TPHs y HAPs; mientras que, T3 implicó mayor grado de superioridad en el abordaje con una degradación del 99,25 % para HAPs y 97,50% para TPHs, Leyton y Pérez (2020) observaron que algunos de los organismos más utilizados son las bacterias, plantas y hongos, reportándose eficiencias de remoción de diversos tipos de hidrocarburos superiores al 60%, Corona (2018), uno de los tratamientos fue de bacterias autóctonas más *P. putida*, donde se logró una degradación del 59.2% del n-nonano, en contraste, ese mismo tratamiento sólo degradó el 8.7% de n-tridecano. A pesar de que ambos compuestos se encuentran en la gasolina, uno de éstos puede ser degradado con mayor facilidad o puede inhibir el crecimiento de las cepas, Ludeña (2020) demostro que el comportamiento del porcentaje de biorremediación del crudo de petróleo en cada uno de los tratamientos al 3 % en un periodo de 30 días el más eficaz fue el T3 con un 44,10 % y en un periodo de 60 días fue el T1 con 74,70 % de reducción de crudo de petróleo. Y con respecto a una dosis de 5 % en un periodo de 30 días el más eficaz fue el T4 con 75,26 % y en un periodo de 60 días fue el T4 con 85,50 %; (bacterias *Pseudomonas fluorescens*), Corona (2018) uno de los tratamientos fue de bacterias autóctonas más *P. putida*, donde se logró una degradación del 59.2% del n-nonano, en contraste, ese mismo tratamiento sólo degradó el 8.7% de n-tridecano. A pesar de que ambos compuestos se encuentran en la gasolina, uno de éstos puede ser degradado con mayor facilidad o puede inhibir el crecimiento de las cepas., Mesa, et al., (2019), se aislaron tres bacterias endofíticas que degradan el fenantreno de los tejidos de *S. densiflora* y se utilizaron para la inoculación de plantas. Los tratamientos de bioaumentación bacteriana mejoraron ligeramente el crecimiento de *S. densiflora*, los parámetros fotosintéticos y de fluorescencia. Pero *S. densiflora* inoculada con endófito mostró tasas de disipación de fenantreno en el suelo más bajas que *S. densiflora* no inoculada (30% menos) o incluso que el suelo a granel (23% menos). Nuestro trabajo demuestra que la inoculación endofítica en *S. densiflora* en condiciones de invernadero con las cepas seleccionadas que degradan los PAH.

VI CONCLUSIONES

A través de la reactivación de las bacterias se identificó sus características en los cultivos en cada placa petri evaluada, además se pudo observar el desarrollo y crecimiento en los tubos de ensayo identificar las características de la bacteria al agitarse logró enturbiar la gasolina pudiéndose así ver que tiene la acción degradadora porque estas estaban creciendo dentro de la gasolina y muy probable

Los resultados muestran que existe diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) para todos los tratamientos evaluados, para el residual y la degradación de la gasolina en los frascos, y el óptimo de los tratamientos según la prueba de contraste de Tukey resultó el tratamientos 6 con 9×10^8 de bacterias con 72 horas de evaluación y el 3 con 6×10^8 con 48 horas de evaluación menores residuales y el resto mayores residuales de gasolina.

La eficiencia de degradación de la gasolina por los microorganismos *Bacillus safensis* mostraron como mínimo de 75.06% y el máximo de 95.85 y 95.53% lo obtuvo los tratamientos 3 y 8.

VII. RECOMENDACIONES

Utilizar una mayor cantidad de bacterias y gasolina para así poder evidenciar en una mayor escala la degradación de la gasolina.

Desarrollar mayores trabajos utilizando otros equipos de mayor poder de resolución para poder observar la absorbancia de la gasolina.

Desarrollar mayores trabajos de degradación de gasolina utilizando otros microorganismos que permitan la descontaminación del medio natural.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvaro, C. E. S., Arocena, L. A., Martínez, M. Á., & Nudelman, N. E. S. .
Biodegradación aerobia de fracciones de hidrocarburos provenientes de la actividad petrolera en un suelo de la región Patagonia Norte, Argentina.
Revista Internacional de Contaminacion Ambiental 2017, 33(2), 247–257.
<https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.02.06>
- Asemoloye, M. D., Tosi, S., Daccò, C., Wang, X., Xu, S., Marchisio, M. A., Gao, W., Jonathan, S. G., & Pecoraro, L. . Hydrocarbon degradation and enzyme activities of *Aspergillus oryzae* and *Mucor irregularis* isolated from nigerian crude oil-polluted sites. *Microorganisms* 2020, 8(12), 1–19.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8121912>
- Bellino, A., Baldantoni, D., Picariello, E., Morelli, R., Alfani, A., & De Nicola, F. (2019). Role of different microorganisms in remediating PAH-contaminated soils treated with compost or fungi. *Journal of Environmental Management*, 252(1), 8. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109675>
- Bharathi, B., Gayathiri, E., Natarajan, S., Selvadhas, S., & Kalaikandhan, R. *Original Research Article Original Research Article Open Access Biodegradation of Crude Oil By Bacteria Isolated From Crude Oil Contaminated Soil 2017 – a Review*. 07(12), 17392–17397.
- Camacho, C. M., Montes, E., & Rogério, M. Microbial diversity and bioremediation of rhizospheric soils from Trindade Island - Brazil. *Journal of Environmental Management* 2019, 236(1), 358–364.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.02.013>
- Castillo, I. *Búsqueda de agentes biorremediadores de hidrocarburos: el género Rhodococcus*. Tesis(Grado en Biotecnología) 2020. Universidad de Almería.
- Cerna, B. A. *Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos usando el hongo Penicillium janthinellum en los servicios generales de la UNALM – La Molina, 2018*. Tesis(Título Profesional de Ingeniero Ambiental). Universidad César Vallejo.
- Cerratos, F. D. J., Gutiérrez, M. I., López, V., & Álvarez, C. . Identificación de la

ruta de degradación de hidrocarburos aromáticos por medio de iniciadores degenerados en microorganismos 2017. *Jóvenes En La Ciencia*, 3(1), 264–268.

Chen, Q., Li, J., Liu, M., Sun, H., & Bao, M. Study on the biodegradation of crude oil by free and immobilized bacterial consortium in marine environment 2017. *PLoS ONE*, 12(3), 1–23.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174445>

Contreras, H., & Carreño, C. Eficiencia de la biodegradación de hidrocarburos de petróleo por hongos filamentosos aislados de suelo contaminado 2018. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 1(1), 27.
<https://doi.org/10.25127/ucni.v1i1.269>

Corona, A. M. *Evaluación de Cepas Bacterianas Promotoras del Crecimiento Vegetal para Degradar Hidrocarburos Ligeros y Compuestos Aromáticos (BTX) 2018. Tesis (Título Profesional de Ingeniero Ambiental)*. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Dos Santos, J. J., & Maranhão, L. T. Rhizospheric microorganisms as a solution for the recovery of soils contaminated by petroleum: A review. *Journal of Environmental Management*, 210(2018), 104–113.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.01.015>

García, J., Peñafiel, D., & Rodríguez, R. Bioremediación de hidrocarburos en aguas residuales con cultivo mixto de microorganismos: caso Lubricadora Puyango 2019. *Enfoque UTE*, 10(1), 185–196.

Guillén, D. *Assessment of Compost for Bioremediation of Polyaromatic Hydrocarbon (Pah) and Petroleum Hydrocarbon Soils. Tesis (Maestría en Innovación y Regulación Química) 2017*. 52.
[https://sapientia.ualg.pt/bitstream/10400.1/10159/1/DIANA NOEMÍ GUILLÉN FERRARI.pdf](https://sapientia.ualg.pt/bitstream/10400.1/10159/1/DIANA_NOEMÍ_GUILLÉN_FERRARI.pdf)

Hernández-Sampieri, R., & Mendoza, C. P. Metodología de la Investigación. Las rutas Cuantitativa Cualitativa y Mixta. In *Metodología de la investigación. Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta 2018*.

Hernández, R., Fernández, C., & Baptista, M. del P. *Metodología de la*

Investigación (Sexta). Mc Graw Hill. 2014

- Kong, F. xin, Sun, G. dong, & Liu, Z. pei. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil mesocosms by microbial/plant bioaugmentation: Performance and mechanism. *Chemosphere*, 2018 198, 83–91.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.097>
- Lara, A., Morillo, E., Merchán, F., & Villaverde, J. A comprehensive feasibility study of effectiveness and environmental impact of PAH bioremediation using an indigenous microbial degrader consortium and a novel strain *Stenotrophomonas maltophilia* CPHE1 isolated from an industrial polluted soil. *Journal of Environmental Management*, 2021 289.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112512>.
- Leyton, M. del P., & Pérez, A. *Technologies for bioremediation of soils and water contaminated with hydrocarbons*. 2020 1(1), 1–14.
- Llanco, R. L., & Reategui, B. I. Identificación de Bacterias Degradadoras de Petróleo en Ecosistema Acuático de una Actividad Petrolera de Coronel Portillo-Ucayali, 2018. Tesis (Título Profesional de Ingeniero Ambiental) [Universidad Nacional de Ucayali]. In (*Tesis para obtener el título profesional de contador público*) UNIVERSIDAD NACIONAL DE UCAYALI.
http://www.repositorio.unu.edu.pe/bitstream/handle/UNU/4160/UNU_FORESTAL_AC_2016-DANNY PEREZ_RUBEN MANTURANO.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Ludeña, P. N. *Evaluación del potencial degradador de hidrocarburos por bacterias del género Pseudomonas aisladas de suelos agrícolas de Casa Blanca, Pachacámac*. 2020 Tesis (Título Profesional de Ingeniero Ambiental). Universidad Católica Sedes Sapientiae.
- Lustosa, M. A., López, J. A., Santos Freire, K. C., Padilha, F. F., Hernández, M. L., & Cabrera, R. Y. Petroleum hydrocarbon degradation by isolated mangrove bacteria. *Revista Peruana de Biología*, 2018 25(4), 453–456.
<https://doi.org/10.15381/rpb.v25i4.15537>
- Marchand, C., St-Arnaud, M., Hogland, W., Bell, T. H., & Hijri, M. . Petroleum biodegradation capacity of bacteria and fungi isolated from petroleum-

- contaminated soil. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2017 116, 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.09.030>
- Martínez, M. R., López, M. J., Jurado, M. M., Suárez, F., López, J. A., Sáez, J. A., Moral, R., & Moreno, J. Bioremediation of Olive Mill Wastewater sediments in evaporation ponds through in situ composting assisted by bioaugmentation. *Science of the Total Environment*, 2020 703, 8. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135537>
- Mayz, J., & Manzi, L. Bacterias hidrocarburoclásticas del género *Pseudomonas* en la rizosfera de *Samanea saman* (Jacq.) Merr. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 2017 19(1), 29–37. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v19n1.57408>
- Mesa, J., Barcia, J. M., Mateos, E., Cox, L., Real, M., Pérez, J. A., Navarro, S., Rodríguez, I. D., Pajuelo, E., Parra, R., & Redondo, S. Soil phenanthrene phytoremediation capacity in bacteria-assisted *Spartina densiflora*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019 182, 8. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109382>
- Ordoñez, D. E., Abella, C. A., Echeverry, A., Paz, L. M., & Benítez, N. Biodegradación de hidrocarburos alifáticos saturados por microorganismos aislados de suelo contaminado con derivados del petróleo. *Revista de Ciencias*, 2019 22(2), 33–44. <https://doi.org/10.25100/rc.v22i2.7917>
- Peekate, P., Abu, G., & Ogugbue, C. Investigating the Effectiveness between Using *Pseudomonas fluorescens* and Its Biosurfactant in Bioremediation of Petroleum Hydrocarbon Contaminated Soil. *Asian Journal of Biotechnology and Bioresource Technology*, 2018 3(2), 1–10. <https://doi.org/10.9734/ajb2t/2018/40528>
- Pereira, R., Rodriguez, D. A., Gomes, M. V., & Rieger, A. Analysis of microbial potential of a biopile in soil bioremediation contaminated by petroleum hydrocarbons. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, 2018 23(3), 517–526. <https://doi.org/10.1590/s1413-41522018152421>
- Pérez, M. R. *Evaluación de la Biorremediación en Suelos Contaminados con Hidrocarburos Utilizando Pseudomonas Fluorescens*. 2018 Tesis(Título

Profesional de Ingeniero en Biotecnología de los Recursos Naturales)
[Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito].
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/15446/1/UPS-QT12601.pdf>

Pinto, D. L., & Sánchez, V. D. Biorremediación de Suelos Contaminados por Hidrocarburos Mediante la Utilización de Diferentes Cepas Bacterianas a Escala de Laboratorio. 2018 Tesis(Título Profesional de Ingeniero Ambiental) [Universidad Libre]. In *Universidad Libre*.
[https://repository.unilivre.edu.co/bitstream/handle/10901/15451/Proyecto de investigación Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante la ut.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repository.unilivre.edu.co/bitstream/handle/10901/15451/Proyecto%20de%20investigaci%C3%B3n%20Biorremediaci%C3%B3n%20de%20suelos%20contaminados%20por%20hidrocarburos%20mediante%20la%20ut.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Roy, A., Dutta, A., Pal, S., Gupta, A., Sarkar, J., Chatterjee, A., Saha, A., Sarkar, P., Sar, P., & Kazy, S. K. Biostimulation and bioaugmentation of native microbial community accelerated bioremediation of oil refinery sludge. *Bioresource Technology*, 2018 253, 22–32.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.004>

Salinas, J. D. *Evaluación del Potencial Celulolítico por Bacterias y Hongos a Diferentes Concentraciones de Diésel de Suelo no Perturbado y Disturbado del Piedemonte Llanero Obtenido del Instituto Agrícola Guacavía en el Municipio de Cumaral*. 2019 Tesis(Título Profesional de Universidad Santo Tomás).

Silva, C. J., Bispo, J. R., Correia, G., Quintella, C. M., & De Abreu, M. R. (2019). Analysis of petroleum biodegradation by a bacterial consortium isolated from worms of the polychaeta class (Annelida): Implications for NPK fertilizer supplementation. *Journal of Environmental Management*, 246(June), 617–624. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.06.018>

Vásquez, A., Montes, E., & Lara, M. Obtención de cepas productoras de biosurfactantes a partir de suelos contaminados artificialmente por crudo. *ChemScie*, 2018 1(1), 288–309.

Velasquez, J. A. Contamination of soil and water by hydrocarbons in Colombia . Analysis of phytoremediation as a biotechnology strategy for recovery.

Revista de Investigación y Ambiental, 2017 8(1), 151–168.

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6285716>

Villalobos, J. G., & Niño, G. A. *Caracterización de Consumo de Hidrocarburos Totales de Petróleo y Fijación de Nitrógeno Atmosférico por Kribbella SP Nativa del Piedemonte Llanero. 2020 Tesis(Título Profesional de Ingeniero Ambiental)*. Universidad Santo Tomás.

Vizuite, R. A., Pascual, A. E., Taco, C. W., & Morales, M. M. Bioremediation of soils contaminated with hydrocarbons based on bacteria used as bioproducts. *Revista Lasallista de Investigación*, 2020 17(1), 177–187. <https://doi.org/10.22507/rli.v17n1a19>

Wu, M., Li, W., Dick, W. A., Ye, X., Chen, K., Kost, D., & Chen, L. Bioremediation of hydrocarbon degradation in a petroleum-contaminated soil and microbial population and activity determination. *Chemosphere*, 2017 169, 124–130. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.11.059>

Yaya, L. V. “Biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo por bacterias nativas sometidas a distintas condiciones de cultivo aplicados en aguas residuales, Callao – 2017.” *Universidad César Vallejo*.

Zeneli, A., Kastanaki, E., Simantiraki, F., & Gidaracos, E. Monitoring the biodegradation of TPH and PAHs in refinery solid waste by biostimulation and bioaugmentation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2019 7(3), 7. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103054>

VIII. ANEXOS

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO 01

I. DATOS GENERALES.

- 1.1. Apellidos y Nombres:
 1.2. Cargo e institución donde labora:
 1.3. Especialidad o línea de investigación:
 1.4. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Características De La gasolina antes
 1.5. Autor (A) de Instrumento: Hans Duilio Manchego Madueño

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. INTENCIONALIDAD	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. METODOLOGÍA	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. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación SI
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:

SI
90

Los Olivos, 10 de agosto del 2021


 Nombre y apellido
 Denis Armando Pilares Figueroa
 CIP 44891

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO 02

I. DATOS GENERALES.

- 1.1. Apellidos y Nombres:
 1.2. Cargo e institución donde labora:
 1.3. Especialidad o línea de investigación:
 1.4. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Instrumento de recolección de datos De Las bacterias
 1.5. Autor (A) de Instrumento: Hans Duilio Manchego Madueño

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. INTENCIONALIDAD	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. METODOLOGÍA	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											X		

III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

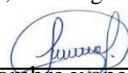
- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación SI
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

SI

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:

90

Los Olivos, 10 de agosto del 2021


 Nombre y apellido
 Denis Armando Pilares Figueroa
 CIP 44891

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO 03

I. DATOS GENERALES.

- 1.1. Apellidos y Nombres:
 1.2. Cargo e institución donde labora:
 1.3. Especialidad o línea de investigación:
 1.4. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Formato de recolección de datos del proceso
 1.5. Autor (A) de Instrumento: Hans Duilio Manchego Madueño

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. INTENCIONALIDAD	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. METODOLOGÍA	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. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

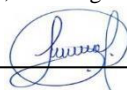
- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación SI
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

SI

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:

90

Los Olivos, 10 de agosto del 2021



Nombre y apellido
 Denis Armando Pilares Figueroa
 CIP 44891

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO 01

I. DATOS GENERALES.

- 1.1. Apellidos y Nombres:
 1.2. Cargo e institución donde labora:
 1.3. Especialidad o línea de investigación:
 1.4. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Características De La gasolina antes
 1.5. Autor (A) de Instrumento: Hans Duilio Manchego Madueño

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. INTENCIONALIDAD	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. METODOLOGÍA	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. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

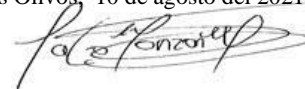
- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación SI
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

SI

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:

90

Los Olivos, 10 de agosto del 2021



Nombre y apellido
Lalo José Monzón Martínez
CIP: 208812

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO 02

I. DATOS GENERALES.

- 1.1. Apellidos y Nombres:
 1.2. Cargo e institución donde labora:
 1.3. Especialidad o línea de investigación:
 1.4. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Instrumento de recolección de datos De Las bacterias
 1.5. Autor (A) de Instrumento: Hans Duilio Manchego Madueño

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. INTENCIONALIDAD	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. METODOLOGÍA	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											X		

III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

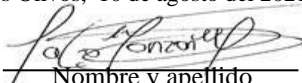
- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación SI
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

SI

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:

90

Los Olivos, 10 de agosto del 2021


 Nombre y apellido
 Lalo José Monzón Martínez
 CIP 208812

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO 03

I. DATOS GENERALES.

- 1.1. Apellidos y Nombres:
 1.2. Cargo e institución donde labora:
 1.3. Especialidad o línea de investigación:
 1.4. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Formato de recolección de datos del proceso
 1.5. Autor (A) de Instrumento: Hans Duilio Manchego Madueño

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. INTENCIONALIDAD	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. METODOLOGÍA	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. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

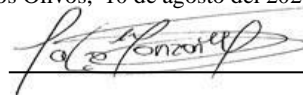
- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación SI
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

SI

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:

90

Los Olivos, 10 de agosto del 2021



Nombre y apellido
Lalo José Monzón Martínez
CIP 208812

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO 01

I. DATOS GENERALES.

- 1.1. Apellidos y Nombres:
 1.2. Cargo e institución donde labora:
 1.3. Especialidad o línea de investigación:
 1.4. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Características De La gasolina antes
 1.5. Autor (A) de Instrumento: Hans Duilio Manchego Madueño

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. INTENCIONALIDAD	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. METODOLOGÍA	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. OPINIÓN DE APLICABILIDAD


- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación SI
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

SI

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:

90

Los Olivos, 10 de agosto del 2021



Nombre y apellido
 Sonia Lazarte Arredondo
 CIP: 64295

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO 02

I. DATOS GENERALES.

- 1.1. Apellidos y Nombres:
 1.2. Cargo e institución donde labora:
 1.3. Especialidad o línea de investigación:
 1.4. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Instrumento de recolección de datos De Las bacterias
 1.5. Autor (A) de Instrumento: Hans Duilio Manchego Madueño

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. INTENCIONALIDAD	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. METODOLOGÍA	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											X		

III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

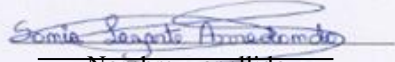
- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación SI
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

SI

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:

90

Los Olivos, 10 de agosto del 2021


 Nombre y apellido
 Sonia Lazarte Arredondo
 CIP : 64295

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO 03

I. DATOS GENERALES.

- 1.1. Apellidos y Nombres:
 1.2. Cargo e institución donde labora:
 1.3. Especialidad o línea de investigación:
 1.4. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Formato de recolección de datos del proceso
 1.5. Autor (A) de Instrumento: Hans Duilio Manchego Madueño

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. INTENCIONALIDAD	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. METODOLOGÍA	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. OPINIÓN DE APLICABILIDAD


- El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación SI
- El Instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

SI

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:


90

Los Olivos, 10 de agosto del 2021



Nombre y apellido
 Sonia Lazarte Arredondo
 CIP 64295

Variables	Definición Conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicador	Unidad
VI:	<p>Es una bacteria grampositiva, formadora de esporas y bastón, originalmente aislada de una nave espacial en Florida y California (Kothari y col. 2013).</p>	<p>Para determinar las características del Bacillus safensis se realizará el cultivo e identificación con caldo peptonado y para la determinación de lo óptimo en cantidad y horas se realizará el experimento bajo el diseño completamente al azar con arreglo factorial con lo cual se hará el Anava</p>	Características de crecimiento	tipo de colonia	UFC// ml (unidades)
<p>Bacterias Bacillus safensis</p>				forma de colonia	
				Cantidad de colonias	
			Cantidad optima debacteria	6*10 ⁸	UFC 1mL
				9*10 ⁸ UFC 1ml	UFC 1mL
				12*10 ⁸ UFC 1 ml	UFC 1mL
			Hora optimas de evaluación de evaluación	0 horas	
				24 horas	
48 horas					
72 horas					
Eficiencia de degradación	cantidad residual	ml			
	Porcentaje	%			
VD:	<p>Los microorganismos degradan los hidrocarburos hasta convertirlos en CO₂ y agua.</p>	<p>Para la determinación de la gasolina degradada se medirá con el espectrofotómetro el residual de gasolina y con ello se determinará la eficiencia de degradación de la gasolina</p>	Características químicas de la gasolina antes	Inmiscible con el agua	Rango
<p>degradación de hidrocarburos (gasolina)</p>				Longitud de onda	nm
				Octanaje	95
			Características químicas de la gasolina antes	Inmiscible con el agua	Rango
Longitud de onda				nm	
Octanaje				95	

	CARACTERÍSTICAS DE LA GASOLINA ANTES			INSTRUMENTO N°1
TÍTULO DE TESIS	Bacteria Bacillus Safensis en la degradación sobre hidrocarburos (gasolina) en laboratorio Arequipa 2021			
AUTOR				
ASESOR				
FECHA				
MUESTRA	MISIBILIDAD	LONGITUD DE ONDA	CANTIDAD	OCTANAJE
1				
2				
3				




NOMBRE Y APELLIDOS

DNI 29727348
CIP 64295



NOMBRE Y APELLIDOS

DNI 45826913
CIP 208812



NOMBRE Y APELLIDOS

DNI 29327618
CIP 44891



INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE LAS BACTERIAS

INSTRUMENTO N°2

TÍTULO DE TESIS	Bacteria Bacillus Safensis en la degradación sobre hidrocarburos (gasolina) en laboratorio Arequipa 2021			
AUTOR				
ASESOR				
FECHA				
MUESTRA	CONCENTRACIÓN	TAMAÑO DE COLONIA	FORMA DE COLONIA	COLOR DE COLONIA
1				
2				
3				

NOMBRE Y APELLIDOS


DNI 29727348
CIP 64295

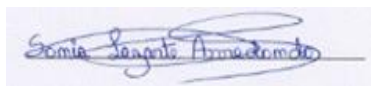
NOMBRE Y APELLIDOS

DNI 45826913
CIP 208812

NOMBRE Y APELLIDOS

DNI 29327618
CIP 44891

	FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS DEL PROCESO										INSTRUMENTO N°3	
TÍTULO DE TESIS	Bacteria Bacillus Safensis en la degradación sobre hidrocarburos (gasolina) en laboratorio Arequipa 2021											
AUTOR												
ASESOR												
FECHA												
REPETICIONES	0 horas			24 horas			48 horas			72 horas		
	6*10 ⁸ UFC	9*10 ⁸ UFC	12*10 ⁸ UFC	6*10 ⁸ UFC	9*10 ⁸ UFC	12*10 ⁸ UFC	6*10 ⁸ UFC	9*10 ⁸ UFC	12*10 ⁸ UFC	6*10 ⁸ UFC	9*10 ⁸ UFC	12*10 ⁸ UFC
1												
2												
3												

NOMBRE Y APELLIDOS

DNI 29727348
CIP 64295



NOMBRE Y APELLIDOS

DNI 45826913
CIP 208812



NOMBRE Y APELLIDOS

DNI 29327618
CIP 44891

INFORME DE ENSAYO N° 2-00307/21

RESULTADOS

		Estación de Muestreo	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
		Fecha y Hora de Muestreo	2021-08-05 15:30	2021-08-05 15:30	2021-08-05 15:30	2021-08-06 15:30
		Tipo de Muestra	Solución	Solución	Solución	Solución
Parámetro	Límite de Detección	Unidad	Resultados	Resultados	Resultados	Resultados
Parámetro Físico - Químico						
Componentes Orgánicos Absorbentes de UV (250 nm)	—	—	0,60	0,021	0,030	0,122

		Estación de Muestreo	Muestra 5	Muestra 6	Muestra 7	Muestra 8
		Fecha y Hora de Muestreo	2021-08-06 15:30	2021-08-06 15:30	2021-08-07 15:30	2021-08-07 15:30
		Tipo de Muestra	Ruido	Ruido	Solución	Solución
Parámetro	Límite de Detección	Unidad	Resultados	Resultados	Resultados	Resultados
Parámetro Físico - Químico						
Componentes Orgánicos Absorbentes de UV (620 nm)	—	—	0,122	0,114	0,043	0,019

		Estación de Muestreo	Muestra 9	Muestra 10	Muestra 11	Muestra 12
		Fecha y Hora de Muestreo	2021-08-07 15:30	2021-08-09 15:30	2021-08-09 15:30	2021-08-09 15:30
		Tipo de Muestra	Ruido	Ruido	Solución	Solución
Parámetro	Límite de Detección	Unidad	Resultados	Resultados	Resultados	Resultados
Parámetro Físico - Químico						
Componentes Orgánicos Absorbentes de UV (620 nm)	—	—	0,122	0,105	0,066	0,026

INFORME DE ENSAYO N° 2-00308/21

RESULTADOS

		Estación de Muestreo	Muestra 13	Muestra 14	Muestra 15
		Fecha y Hora de Muestreo	2021-08-09 15.30	2021-08-09 15.30	2021-08-09 15.30
		Tipo de Muestra	Solución	Solución	Solución
Parámetro	Límite de Detección	Unidad	Resultados	Resultados	Resultados
Parámetro Físico - Químico					
Componentes Orgánicos Absorbentes de UV (250 nm)	—	—	0,002	0,020	0,035

RESULTADOS (Continuación)

		Estación de Muestreo	Muestra 16	Muestra 17	Muestra 18
		Fecha y Hora de Muestreo	2021-08-10 15.30	2021-08-10 15.30	2021-08-10 15.30
		Tipo de Muestra	Solución	Solución	Solución
Parámetro	Límite de Detección	Unidad	Resultados	Resultados	Resultados
Parámetro Físico - Químico					
Componentes Orgánicos Absorbentes de UV (250 nm)	—	—	0,115	0,040	0,026

RESULTADOS (Continuación)

		Estación de Muestreo	Muestra 19	Muestra 20	Muestra 21
		Fecha y Hora de Muestreo	2021-08-11 15.30	2021-08-11 15.30	2021-08-11 15.30
		Tipo de Muestra	Solución	Solución	Solución
Parámetro	Límite de Detección	Unidad	Resultados	Resultados	Resultados
Parámetro Físico - Químico					
Componentes Orgánicos Absorbentes de UV (250 nm)	—	—	0,099	0,063	0,031

INFORME DE ENSAYO N° 2-00308/21

RESULTADOS

		Estación de Muestras	Muestra 22	Muestra 23	Muestra 24
		Fecha y Hora de Muestras	2021-05-08 15:30	2021-05-09 15:30	2021-05-08 15:30
		Tipo de Muestra	Solución	Solución	Solución
Parámetro	Límite de Detección	Unidad	Resultado	Resultado	Resultado
Parámetro Físico - Químico					
Componentes Orgánicos Absorbentes de UV (254 nm)	--	--	0.052	0.023	0.035

RESULTADOS (Continuación)

		Estación de Muestras	Muestra 25	Muestra 26	Muestra 27
		Fecha y Hora de Muestras	2021-05-10 15:30	2021-05-10 15:30	2021-05-10 15:30
		Tipo de Muestra	Solución	Solución	Solución
Parámetro	Límite de Detección	Unidad	Resultado	Resultado	Resultado
Parámetro Físico - Químico					
Componentes Orgánicos Absorbentes de UV (254 nm)	--	--	0.118	0.043	0.022

RESULTADOS (Continuación)

		Estación de Muestras	Muestra 28	Muestra 29	Muestra 30
		Fecha y Hora de Muestras	2021-05-11 15:30	2021-05-11 15:30	2021-05-11 15:30
		Tipo de Muestra	Solución	Solución	Solución
Parámetro	Límite de Detección	Unidad	Resultado	Resultado	Resultado
Parámetro Físico - Químico					
Componentes Orgánicos Absorbentes de UV (254 nm)	--	--	0.102	0.052	0.030

MÉTODOS

Componentes Orgánicos Absorbentes de UV: SM819W- APHA APHA-WEP 2nd. ED 2017. PART 5610 UV-Absorbing ORGANIC CONSTITUENTS

OBSERVACIONES

Prohibida la reproducción parcial de este informe, sin la autorización escrita de CERPER S.A.

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de la calidad de la entidad que lo produce.

Arequipa, 13 de agosto de 2021