

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**

**FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**



**DEGRADACION DE ACEITE DE MOTOR CON BIOMASA DE *Pseudomonas*  
EXTRAIDA DE UN SUELO AGRÍCOLA EN LA LOCALIDAD DE PACAE,  
DISTRITO DE SANTO DOMINGO DE ANDA**

**Tesis**

**Para optar el título de:**

**INGENIERO AMBIENTAL**

**PRESENTADO POR:**

**YURICO VICTORIA RODRIGUEZ FIGUEROA**

**Tingo María – Perú**

**2024**



**ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS N° 039-2024-FRNR-UNAS**

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 29 de febrero de 2024, a horas 07:00 p.m. de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental de la Facultad de Recursos Naturales Renovables para calificar la tesis titulada:

**“DEGRADACIÓN DE ACEITE DE MOTOR CON BIOMASA DE *Pseudomonas*  
EXTRAIDO DE UN SUELO AGRÍCOLA EN LA LOCALIDAD DE PACAE,  
DISTRITO DE SANTO DOMINGO DE ANDA”**

Presentado por la Bachiller: **RODRIGUEZ FIGUEROA, Yurico Victoria**, después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara **APROBADO** con el calificativo de “**MUY BUENA**”.

En consecuencia, el sustentante queda apto para optar el Título Profesional de **INGENIERO AMBIENTAL** que será aprobado por el Consejo de Facultad, Tramitándolo al Consejo Universitario para el otorgamiento del Título Correspondiente.


Tingo María, 21 de marzo de 2024

  
Dr. CÉSAR SAMUEL LÓPEZ LÓPEZ  
PRESIDENTE



  
Mtblgo. M. Sc. LUIS A. SANCHEZ ROMERO  
MIEMBRO

  
Blgo. MSc. CÉSAR AUGUSTO GOZME SULCA  
MIEMBRO

  
Dr. VICTOR MANUEL BETETA ALVARADO  
ASESOR



"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

## CERTIFICADO DE SIMILITUD T.I. N° 130 - 2024 - CS-RIDUNAS

El Director de la Dirección de Gestión de Investigación de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, quien suscribe,

### CERTIFICA QUE:

El Trabajo de Investigación; aprobó el proceso de revisión a través del software TURNITIN, evidenciándose en el informe de originalidad un índice de similitud no mayor del 25% (Art. 3° - Resolución N° 466-2019-CU-R-UNAS).

Programa de Estudio:

Ingeniería Ambiental

Tipo de documento:

Tesis	X	Trabajo de Suficiencia Profesional	
-------	---	------------------------------------	--

TÍTULO	AUTOR	PORCENTAJE DE SIMILITUD
DEGRADACION DE ACEITE DE MOTOR CON BIOMASA DE Pseudomonas EXTRAIDA DE UN SUELO AGRÍCOLA EN LA LOCALIDAD DE PACAE, DISTRITO DE SANTO DOMINGO DE ANDA	YURICO VICTORIA RODRIGUEZ FIGUEROA	07 % Siete

Tingo María, 10 de abril de 2024

  
UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA  
UNIDAD DE GESTIÓN DE LA INVESTIGACIÓN  
Dr. Tomas Menacho Mallqui  
JEFE

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**  
**FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AMBIENTAL**



**DEGRADACION DE ACEITE DE MOTOR CON BIOMASA DE *Pseudomonas***  
**EXTRAIDO DE UN SUELO AGRÍCOLA EN LA LOCALIDAD DE PACAE,**  
**DISTRITO DE SANTO DOMINGO DE ANDA**

Autor : Yurico Victoria Rodriguez Figueroa  
Asesor : Dr. Victor Manuel Beteta Alvarado  
Programa de investigación : Biorremediación y recuperación de ambientes degradados  
Línea de investigación : Ciencias y Tecnologías Ambientales  
Eje temático : Remediación Microbiana  
Lugar de Ejecución : Laboratorio de Microbiología FRNR UNAS  
Duración : 6 meses  
Financiamiento : S/. 5,872.50  
FEDU : No  
Propio : Sí  
Otros : No

Tingo María – Perú

## DEDICATORIA

*A Dios por su amor e infinita misericordia, por permitirme alcanzar mis objetivos, metas trazadas y por estar a mi lado en cada paso que doy, dándome la fuerza que necesito; a quien le debo mi existencia, mi felicidad y mis logros.*

*A mis padres que desde lo alto guían mis pasos para que me convierta en mejor profesional y persona. A mi amor bonito, mi mi querida hija SAHORI fuente de inspiración y amor, para darle un mensaje de superación; quien es mi alegría, mi fuerza, mi vida.*

*A, FRANKLIN quien siempre cuidó de mí, a MARISOL Y MILAGROS familiares que son el apoyo motivacional para el desarrollo de la presente tesis; a SAB por la motivación y el apoyo brindado; a ROMULO y DORITA por el cariño y amor que le dan a mi adorada niña convirtiéndose en un soporte para mí.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por seguir brindándome la vida y el conocimiento necesario para poder realizar mi presente investigación.

A la Universidad Nacional Agraria de la Selva y docentes por formarme como un profesional al servicio de la sociedad.

Al Dr. Víctor Manuel Beteta Alvarado por su apoyo, exigencia, paciencia, tiempo y conocimiento brindando, sobre todo por participar como asesor de esta investigación. Asimismo, al Dr. César Samuel López López, por todo el apoyo y conocimiento brindado en la presente investigación, al Mtblgo. M. Sc. Luis Alberto Sánchez Romero, Ing. M. Sc. Cesar Augusto Gozme Sulca y al Ing. Richard Sías Rodríguez; por sus sugerencias y observaciones en la mejora de este trabajo de investigación, Gracias.

A mi hija, mi hermano Franklin, a mis Hermanas Marisol y Milagros por su apoyo y motivación para culminación de mi investigación.

A mis amigos por su amistad, cariño, aliento y motivación para seguir adelante a pesar de las adversidades: Barbara y Luz.

## ÍNDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Antecedentes.....	3
2.2. Degradacion microbiana.....	4
2.2.1. Microorganismos biodegradadores.....	5
2.2.2. Pseudomonas .....	8
2.3. Aceite Lubricante de motor .....	8
2.3.1. Factores asociados a la biodegradación del suelo.....	11
2.3.2. Componentes químicos y densidades de los contaminantes.....	11
2.3.3. Condiciones de operación .....	14
2.4. Biorreactores.....	16
2.4.1. Biorreactores de Air Lift.....	16
2.4.2. Componentes asociados a la operatividad en el biorreactor Air Lift .....	16
2.5. Procesos en remediación .....	18
2.5.1. Proceso de remediación biológica .....	18
III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	21
3.1. Lugar de ejecución.....	21
3.1.1. Ubicación política .....	21
3.1.2. Características climáticas.....	21
3.1.3. Aspectos geológicos .....	22
3.1.4. Clasificación geomorfológica.....	22
3.2. Unidades experimentales .....	22
3.3. Metodología.....	22
3.3.1. Aislamiento de bacterias del género Pseudomona de suelo agrícola.....	22
3.3.2. Determinación del comportamiento de los parámetros físicoquímicos durante los tratamientos en los biorreactores tipo air lift.....	25
3.3.4. Determinacion de la eficiencia de las bacterias del género Pseudomonas aisladas de un suelo agrícola.....	25

3.4.	Diseño experimental .....	26
3.4.1.	Variables .....	26
3.5.	Análisis estadísticos.....	26
3.5.1.	Análisis de la variancia (ANVA).....	26
3.5.2.	Comparación de medias HSD Tukey.....	27
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	28
4.1.	Aislamiento de Bacterias del género Pseudomonas de un suelo agrícola .....	28
4.2.	Determinación del comportamiento de los parámetros fisicoquímicos durante los tratamientos en los biorreactores tipo air lift .....	28
4.2.1.	Oxígeno disuelto .....	28
4.2.2.	Nivel de pH.....	32
4.2.3.	Temperatura .....	34
4.3.	Determinación de la biomasa bacteriana en los biorreactores air lift con respecto a la concentración de aceite residual lubricante de motor.....	38
4.4.	Determinación de la eficiencia de las bacterias del género Pseudomonas aisladas de un suelo agrícola.....	39
V.	CONCLUSIONES .....	42
VI.	PROPUESTAS A FUTURO.....	43
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
	ANEXO.....	51



## ÍNDICE DE TABLAS

Tablas	Página
1. Registros de los microorganismos aislados en medios edáficos contaminados.....	6
2. Componentes principales contenidos en el aceite lubricante.....	9
3. Contenidos de metales pesados en aceites de motores.....	10
4. Contenido de hidrocarburos aromáticos policíclicos en aceites usados.....	10
5. Parámetros para una biorremediación eficaz.....	15
6. Parámetros físicos y químicos para una biorremediación.....	18
7. Diseño experimental.....	26
8. Bacteria identificada para la operación de biorreactores tipo air lift.....	28
9. Análisis de varianza del oxígeno disuelto para los tratamientos con aceite residual lubricante de motor.....	30
10. Pruebas de Tukey para el Oxígeno Disuelto según la concentración de aceite residual lubricante de motor (mg/L).....	31
11. ANOVA para promedio de pH en relación a la concentración de aceite residual lubricante de motor (mg/L) y tiempo (días).....	33
12. Las Pruebas de múltiples rangos HSD de Tukey, son medidas de pH según la concentración de aceite residual lubricante de motor (mg/L).....	34
13. ANVA para promedio de temperatura en relación a la concentración de aceite residual lubricante de motor (mg/L).....	36
14. Pruebas de múltiples rangos HSD de Tukey para medidas de temperatura según la concentración de aceite residual lubricante de motor (mg/L).....	37
15. ANOVA para promedio de crecimiento en relación a la concentración de aceite residual lubricante de motor (mg/L).....	38
16. Pruebas de múltiples rangos HSD de Tukey para medidas de temperatura según la concentración de aceite residual lubricante de motor (mg/L).....	38
17. Crecimiento temporal de las bacterias dentro del biorreactor y la eficiencia bacteriana al biorremediar el petróleo refinado para la repetición uno.....	40
18. Crecimiento temporal de las bacterias en el biorreactor y su eficiencia bacteriana al biorremediar el petróleo refinado para la repetición dos.....	40
19. Crecimiento temporal de las bacterias en el biorreactor y su eficiencia bacteriana al biorremediar el petróleo refinado para la repetición tres.....	40

20.	Crecimiento del consorcio bacteriano durante la operación. ....	52
21.	Datos de la degradación de aceite lubricante en los días de tratamiento (Día 1, Día 8 y el Día 15) a diferentes concentraciones (0, 10, 20, 30, 40 mg/L).....	52

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figuras	Página
1. Recorrido metabólico para degradar hidrocarburos (Nápoles et al., 2008).....	12
2. Recorrido del agregado xenobiótico en los ecosistemas (Nápoles et al., 2008).....	13
3. Secuencia del agregado xenobiótico en los medios (Nápoles et al., 2008).....	14
4. Diagrama del biorreactor en fase líquida (Solanas, 2002). ....	16
5. Ubicación política y geográfica de la UNAS. ....	21
6. Esquema de Bioreactor air lift.....	24
7. Relación del OD y el crecimiento bacteriano en la primera repetición del estudio. ....	29
8. Relación del OD y el crecimiento bacteriano en la segunda repetición del estudio. ....	29
9. Relación del OD y el crecimiento bacteriano en la tercera repetición del estudio. ....	30
10. Relación del pH el crecimiento bacteriano en la primera repetición del estudio. ....	32
11. Relación del pH el crecimiento bacteriano en la segunda repetición del estudio. ....	32
12. Relación del pH el crecimiento bacteriano en la tercera repetición del estudio. ....	33
13. Relación de la temperatura y el crecimiento bacteriano en la primera corrida.....	35
14. Relación de la temperatura y el crecimiento bacteriano en la segunda corrida.....	35
15. Relación de la temperatura y el crecimiento bacteriano en la tercera corrida.....	36
16. Procesamiento para el aislamiento de <i>Pseudomonas</i> sp.....	53
17. Siembra en agar citramide para el crecimiento de bacterias <i>Pseudomonas</i> .....	53
18. Crecimiento de <i>Pseudomonas</i> sp.....	54
19. Placas petri de la etapa de adaptación de bacterias, para su posterior uso en los bioreactores air lift.....	54
20. Lectura del nivel de pH. ....	55

21.	Lectura del oxígeno disuelto. ....	55
22.	Bioreactores Airt Lift en operación.....	56
23.	Suelo para extracción de inóculo <i>Pseudomona</i> sp. ....	56
24.	Medio de cultivo para crecimiento de <i>Pseudomonas</i> . ....	57
25.	Concentraciones de contaminantes para crecimiento de bacteria. ....	57

## RESUMEN

Este estudio se llevó a cabo con el propósito de evaluar la capacidad de degradación de *Pseudomonas* extraídas de un suelo agrícola, para aceite de motor en un laboratorio utilizando biorreactores tipo Air Lift. El cultivo de *Pseudomonas* Sp utilizado fue aislado de un suelo agrícola en Pacae, Distrito de Santo Domingo de Anda. Se empleó aceite lubricante usado de motor obtenido de un oleocentro en Tingo María. En la fase experimental de biodegradación del lubricante, se diseñaron biorreactores tipo tanque aireado y agitado con una capacidad de 1 litro, utilizando 0.7 litros. Estos biorreactores operaron con una aireación de 1 VVM, 240 RPM y a temperatura ambiente ( $20\pm 4^{\circ}\text{C}$ ) durante 15 días consecutivos. El caldo de cultivo consistió en el Medio Mínimo de Davies (MMD) con un 1 % de aceite lubricante. Los biorreactores (B) se inocularon con una suspensión inicial de *Pseudomonas* equivalente a 2232 UFC para cada tratamiento, así mismo se añadió el contaminante aceite residual lubricante T1 (10 mL), T2 (20 mL), T3 (30 mL) y T4 (40 mL) aforados a 700 mL con MMD. El T0 se utilizó como control sin contaminante. Se realizaron monitoreos del crecimiento bacteriano durante 15 días, y las mediciones de oxígeno disuelto, temperatura y pH se llevaron a cabo al primer día, el día ocho y el día quince, realizándose todas las determinaciones por triplicado. Los resultados indicaron un crecimiento activo de la bacteria, así mismo respecto a la evaluación del crecimiento de biomasa bacteriana concentraciones 20 y 30 mg /L de aceite residual tienen las mayores medias esto de acuerdo al análisis estadístico que demuestra que hay diferencias significativas entre las distintas concentraciones de aceite residual lubricante con un 95% confianza; por lo cual podemos afirmar que esta depende de la adaptación o el metabolismo que realizan los microorganismos dentro del biorreactores habiéndose obtenido hasta un 88.53% de crecimiento bacteriano medios en el último día de la evaluación respecto al día inicial; siendo este un indicador de degradación de aceite lubricante.

Palabras Clave: Degradación; aceite lubricante; OD; *Pseudomonas aeruginosa*

## ABSTRACT

This study was carried out with the purpose of evaluating the degradation capacity of *Pseudomonas* extracted from an agricultural soil for motor oil in a laboratory using Air Lift bioreactors. The *Pseudomonas* Sp culture used was isolated from an agricultural soil in Pacae, District of Santo Domingo de Anda. Used engine lubricating oil obtained from an oil center in Tingo María was used. In the experimental phase of lubricant biodegradation, aerated and agitated tank bioreactors with a capacity of 1 liter were designed, using 0.7 liters. These bioreactors operated with 1 VVM aeration, 240 RPM and at room temperature ( $20\pm 4^{\circ}\text{C}$ ) for 15 consecutive days. The culture broth consisted of Davies Minimum Medium (MMD) with 1 % lubricating oil. The bioreactors (T) were inoculated with an initial suspension of *Pseudomonas* equivalent to 2232 CFU, distributed in different in each treatment, likewise the contaminant lubricating residual oil T1 (10 mL), T2 (20 mL), T3 (30 mL) and T4 (40 mL) were added, gauged to 700 mL with MMD. T0 was used as a control without contaminant. Bacterial growth was monitored for 15 days, and measurements of dissolved oxygen, temperature and pH were carried out on day one, day eight and day 15, all determinations being made in triplicate. The results indicated an active growth of the bacteria, likewise with respect to the evaluation of the growth of bacterial biomass, concentrations 20 and 30 mg /L of residual oil have the highest averages according to the statistical analysis that shows that there are significant differences between the different concentrations of residual lubricating oil with 95% confidence; therefore we can affirm that this depends on the adaptation or metabolism that the microorganisms carry out inside the bioreactors having been obtained up to 88. 53% of average bacterial growth in the last day of the evaluation with respect to the initial day; this being an indication of lubricating oil degradation.

Keywords: Degradation; lubricating oil; DO; *Pseudomonas aeruginosa*.

## I. INTRODUCCIÓN

El inadecuado manejo de sustancias, como los hidrocarburos, se convirtió en uno de los problemas importantes sobre contaminación del suelo. Este problema se ve agravado por el derrame del aceite utilizado para lubricación por los vehículos, lo que sería una contribución significativa a este problema. La producción de residuos por parte de distintos talleres concerniente a la mecánica automotriz es una de las razones de este tipo de derrames, ya que conlleva a la contaminación del suelo a largo plazo (Semarnat, 2005).

El sector petrolero a escala global es extenso, lucrativo e intrincado. La demanda anual asciende alrededor de los 40 millones de toneladas. El aceite usado representa el 60% del consumo de aceite lubricante; en Estados Unidos se utilizan alrededor de 7,6 millones, Japón unos 2,2 millones, la Unión Europea 4,7 millones y cerca de 500 000 toneladas en España; lo que significaría que dichos aceites utilizados son residuos de contaminación en mayor abundancia. Los productos de oxidación orgánica y el carbono, que se producen como resultado de desgastarse los metales y demás sólidos, pueden contaminar los lubricantes y reducir su calidad. Cada vez que estos contaminantes aumentan, el lubricante pierde su eficacia y se le reemplaza con uno nuevo. Reciclar o recolectar aceites utilizados para prevenir la contaminación ambiental y conservar los recursos naturales (Cabrera, 2018). La generación actual y futura está sufriendo una importante preocupación, ya que numerosos científicos e investigadores se dedican a mejorar, desarrollar y que promueven la biotecnología así como distintas técnicas ecológicas con fines de remediar medios edáficos contaminados, en donde resalta como técnica conocida la biorremediación (Chebbi et al., 2018).

La biorremediación se refiere al proceso de permitir que los organismos, o células vivas, se multipliquen en respuesta a un entorno propicio (Shmaefsky, 1999; Mack Kay, 2001). Algunos pueden descomponer compuestos de CO<sub>2</sub>, agua, minerales y más. Como resultado, producen subproductos que tienen poco impacto en el ecosistema (Biotecnología Avanzada, 2019). Para Molnaa y Grubbs (2001), esta capacidad permite el tratamiento de agentes que los modifican, dando lugar a un impacto más progresivo que otros métodos de purificación.

El proceso de degradación o remediación suele ser implementada en ubicaciones dentro o fuera de su entorno natural. Los métodos dentro de su entorno se diferencian del método ex situ en que se tratan en el área contaminada a remediar, mientras que estos últimos

pueden aplicarse y manipularse en el exterior.

La remediación se divide en el proceso de crecimiento y la cantidad de microorganismos se divide la remediación. El proceso de crecimiento implica la manipulación de fuentes de alimento para facilitar el desarrollo bacteriano y el desarrollo de microorganismos capaces en la naturaleza (Gruiz y Kriston, 1995 y Baheri y Meysami, 2002).

Cada año, el medio ambiente es afectado por aproximadamente 800 000 000 t de contaminantes que deriban del petróleo que se introducen a través de derrames en las etapas de exploración, explotación y transporte. El uso de aceites de motor usados como derivados del petróleo consume casi 38 millones de toneladas de petróleo crudo refinado por litro y puede provocar la contaminación de hasta 1 000 000 de galones de agua dulce, lo que genera impactos significativos en los ecosistemas expuestos. Estos están incluidos en el grupo de productos petrolíferos (Barrios et al., 2015).

Ante lo expresado en los párrafos anteriores se ha planteado la siguiente interrogante: ¿Cuál es la capacidad de degradación del aceite lubricante de motor por bacterias *Pseudomonas* aislados de un suelo agrícola?

En relación a la problemática planteada, se formula la siguiente hipótesis: la capacidad de degradación del aceite lubricante de motor por las bacterias *Pseudomonas* aislados de un suelo agrícola es alta.

**Objetivo general:**

- Evaluar la capacidad de degradación de las *Pseudomonas* extraído de un suelo agrícola para aceite de motor.

**Objetivos específicos:**

- Aislar de un suelo agrícola bacterias del Género *Pseudomonas*.
- Determinar los parámetros fisicoquímicos (OD, pH, temperatura) durante los tratamientos.
- Determinar la biomasa bacteriana con respecto a la concentración de aceite residual lubricante de motor.
- Determinar la eficiencia bacteriana



## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Antecedentes

Gran parte de las investigaciones sobre biodegradación o biorremediación se ha centrado en las bacterias, ya que les resulta más fácil estudiar sus procesos metabólicos y producir estructuras genéticas que les permitan degradar específicamente algunos compuestos contaminantes.

En California, la biorremediación en el mismo lugar donde hay suelos con presencia de contaminación mediante diésel fue realizado utilizando microorganismos nativos, oxígeno y nutrientes, y se inoculó con una mezcla de comunidades bacterianas enriquecidas obtenidas del mismo suelo. Esto permitió encontrar las comunidades bacterianas degradadoras de hidrocarburos identificadas mediante la secuenciación del gen 16S RNA, entre otras *Pseudomonas* sp., *Bacillus sphaericus*, *Bacillus cereus*, *Acinetobacter junii*, *Bacillus fusiformis* y *Bacillus pumilis* (Volke y Velasco, 2002).

Hanson (1996) utilizó un método simple y rápido para detectar microorganismos que podrían degradar el petróleo crudo, probando así su actividad degradativa. Al utilizar aceites como fuente de carbono, ciertos microorganismos pueden indicar un cambio de coloración del Diclorofenolindofenol (proceso de oxidoreduccion) desde el azul hacia el incoloro (Bhasheer et al., 2014).

Utilizando consorcios microbianos, investigadores colombianos tuvieron éxito en sus esfuerzos por biorremediar lodo contaminado con aceite lubricante usado, eliminando el 94% de los contaminantes en 120 días y el 84% en 40 días (Vásquez et al., 2010).

En su investigación, Cevallos y García (2018) determinaron que *A. niger*, *Pleurotus ostreatus* y *Pseum onas aeruginosa* fueron responsables de biodegradar un suelo que se encontraba contaminado mediante hidrocarburos, con niveles de biodestrucción del 19% al 10% y 42% respectivamente, al utilizar los tres microorganismos dieron como resultado una degradación del 44%.

Mendoza-Ávalos y Guerrero-Padilla (2015) estudiaron la eficiencia en biodegradar el aceite Diésel 2 a través de *Ps. aeruginosa* en muestras del agua de mar durante cinco días a nivel nacional, observándose disminución en la tasa del oxígeno relacionados con los niveles de concentración del petróleo, siendo estadísticamente diferentes tanto en la degradación como en la DBO<sub>5</sub>, siendo esta última inversa proporcionalmente con la concentración de biomasa, sosteniendo la biodegradación del petróleo. En Lima (Perú), Chirre

et al. (2019), realizó una investigación respecto a la biodegradación del aceite lubricante automotriz introducido en arcillas mediante el uso de una mezcla de las bacterias *Bacillus* sp., *Rhodococcus pyridinivorans* y *Pseudomonas montielli*. La biodegradación del TPH usado fue del 50 % después de 59 días, pero menos del 2 % en 13 días. Se utilizaron suelos de talleres automotrices para aislar bacterias del género *Pseudomonas auriginosa* con potencial de degradación. Quiliche y Huayna (2015), Sirlopu y Rojas (1997) evaluaron el impacto que genera utilizar sustratos y inóculos para degradar el aceite durante la producción de agua de mar artificial aplicando un cultivo bacteriano mixto. Identificaron efectos como que, la eficiencia de degradación del aceite Diesel II por *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Micrococcus* sp., *Rhodopseudomonas* sp y consorcios formados por los microorganismos mencionados dentro de biorreactores de tanque agitado y aireado, finalizando que respecto al porcentajes de eficiencia son significativamente superiores en consorcios, así mismo independientemente las *Pseudomonas* sp no muestran variación significativa cuando actúa en consorcio o aislada (Otiniano, 2010).

Pérez et al. (2015), estudiaron la biodegradación en suelos cubanos que se contaminó con el petróleo mediante un enriquecimiento secuencial usando el petróleo para proporcionar carbono y energía. Mediante aislamiento se descubrieron cuatro cepas de bacterias Gram positivas y cinco Gram negativas del Manual Bergey's (1994). Se seleccionó a *Pseudomonas aeruginosa*, debido a que presentó mejor crecimiento empleando al petróleo para proporcionar carbono y energía, degradando el 57%. Existe poco tratamiento biológico de los aceites lubricantes utilizados en los centros petroleros, ya que estos aceites se transportan a varios sitios donde son usados y muchas veces suelen derramarse de manera accidental, causando seria contaminación edáfica, hídrica y aérea.

Cahuas (2021) demostró el efecto de degradación de diferentes concentraciones de injertos de Ps sobre las muestras de aceites lubricantes SAE-20W50. La especie *Ps. aeruginosa* lo proporcionó el Laboratorio de Ingeniería Genética correspondiente a la Universidad Nacional de Trujillo, Perú; la eficiencia de eliminación (% v/v) del lubricante SAE-20W50 en aceite y grasa se midió mediante injerto de *Pseudomonas*. La incidencia de *Pseudomonas aeruginosa* al 5%, 10% y 15% fue del 18,81%, 28,63% y 30,98%, respectivamente.

## **2.2. Degradación microbiana**

Este término se refiere al proceso de descontaminar de forma natural más importante (Prince, 1993); pudiéndose a dicho proceso acelerarlo o mejorarlo utilizando técnicas de biorremediación (Alexander, 1999). Los hidrocarburos son contaminantes que

contienen una amplia gama de compuestos, convirtiéndolos en sustratos ideales para que se evalúe la capacidad catabólica de las especies microbianas así como de los consorcios involucrados en la biorremediación.

La biorremediación asegura que se descomponga biológicamente la materia orgánica, el carbono necesario para el crecimiento celular y la energía que se necesita durante su desarrollo de estos microorganismos. Biorremediar consiste en el proceso de descontaminar que cambia la estructura de los hidrocarburos a componentes menos tóxicos por medio de varias reacciones bioquímicas que realizan los microorganismos o grupos de ellos plantados en áreas contaminadas (Benavides et al., 2006).

En general, diversos compuestos entre los que se encuentran el petróleo crudo y demás derivados (toluenos, pirenos, acetonas, bencenos, fluorenos y otros) son fácilmente descompuesto por microorganismos específicos o plantas que pueden descomponer o acumular contaminantes, estos microorganismos pueden ser bacterias u hongos (Conesa et al., 2000).

De acuerdo con la norma IRAM 29555-1:2003, que abarca el proceso de remediar estos procesos metabólicos, es necesario un medio que proporcione condiciones mecánicas, artificiales y orgánicas apropiadas como:

- Siempre se tiene que mantener la supervivencia de las bacterias nativas que contengan una capacidad de que usen hidrocarburos para energía y carbono.
- También es necesario la existencia en el sistema algunos receptores de aniones para oxidar la fuente de carbono que son componentes para formar el petróleo.
- Mantener siempre las condiciones adecuadas de los parámetros biológicos, químicos y físicos que se encuentren siempre equitativamente.

Basco Pla y Castillo (2014) aclaran que, durante el proceso de degradación, los contaminantes naturales se transforman de forma aleatoria o global, cualquier desarrollo produce agregados menos tóxicos. Cuando hay una mutación suele producirse como resultado H<sub>2</sub>O y CO<sub>2</sub> ante la presencia de oxígeno de manera similar en procesos con ausencia de aire.

### **2.2.1. Microorganismos biodegradadores**

Las bacterias del género *Pseudomonas*, *Serratia*, *Proteus*, *Bacillus* y *Acinetobacter* se encuentran entre los de mayor estudio concerniente a la biorremediación (Baruah et al., 2017; Pacwa-Płociniczak et al., 2016; Nalini & Parthasarathi, 2013; Chebbi et al., 2017), porque pueden sintetizar biosurfactantes que suelen aumentar la biodisponibilidad del hidrocarburo en el agua o suelo para que se degrade (Pacwa-Płociniczak et al., 2016).

Alredor de 100 especies de bacterias que se distribuyen en 30 géneros, cumplen funciones biodegradativas, con capacidad de emplear hidrocarburos para obtener carbono, con el fin de cumplir su función metabólica, resaltando por su capacidad de biodegradar los géneros: *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Alcaligenes*, *Aspergillus*, *Brevibacterium*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Candida*, *Fusarium*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Stenotrophomonas*, *Mucor*, *Nocardia*, *Mycobacterium*, *Rhodococcus*, *Penicillium*, *Rhodotorula*, *Pseudomonas*, *Vibrio* y *Sporobolomyces* (Vizueté, 2011).

La Mayoría de estas bacterias se encuentran en ecosistemas con presencia de diferentes compuestos tóxicos, siendo muchas veces limitado sus densidades poblacionales en medios carentes de contaminación e incrementado en ecosistemas que fueron impactados por algunos contaminantes (Núñez, 2003; Madigan et al., 2004).

La **Tabla 1**, detalla a los diversos microorganismos que fueron aislados de los suelos contaminados por medio de los hidrocarburos ubicado en una cuenca del noroeste de la provincia de Río Negro (Altamirano y Pozzo, 2000).

**Tabla 1.** Registros de los microorganismos aislados en medios edáficos contaminados.

Géneros	Especies	Fuentes
<i>Micrococcus</i>	<i>Roseus</i>	Suelo alterado
	<i>Sedentarius</i>	Suelo alterado
	<i>Varians</i>	Suelo alterado
	<i>Spp</i>	Suelo alterado
<i>Sphingomonas</i>	<i>Paucimobilis</i>	Suelo alterado
<i>Pseudomonas</i>	<i>Vescicularis</i>	Rizósfera

Fuente: Altamirano y Pozzo (2000).

Así mismo sobresalen los hongos con capacidades hidrocarbúricas del género: *Acrostalagmus*, *Cephalothecium*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Ulocladium*, (Pozzo Ardizzi et al., 1999).

Haritash et al. (2009), investigaron la degradación del hidrocarburo aromático policíclico (PAH), siendo las especies de bacterias que degradan la *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Haemophilus* spp., *Mycobacterium* spp., *Paenibacillus* spp. y *Rhodococcus* spp. Tratando medios contaminados por PAH se puede mejorar mediante la biorremediación. En áreas donde se han utilizado técnicas de biorremediación, también se han aislado bacterias capaces de destruir hidrocarburos, mientras que muchos

microorganismos autóctonos del suelo y agua pueden degradar los contaminantes a base de hidrocarburo (Gibson, 1982; Das y Chandran, 2011), siendo separados diversas especies de bacteria degradadora de hidrocarburo en sitios donde se aplicaron métodos de biorremediar (Altamirano y Pozzo, 2000). Muchos reportes de la degradación de hidrocarburos en en suelo resultaron ser prometedores (Araujo et al., 2004; Viñas & Solanas, 2005; Ferrera-Cerrato et al., 2006; Schroeder et al., 1999; Ibarra y Redondo, 2011) Long Beach (California) fue ecenario de estudio donde la secuenciación del gen 16S-ARN reveló presencia de *Acinetobacter junii*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilis*, *Bacillus fusiformis*, *Pseudomonas* sp. y *Bacillus sphaericus* (Menezes Bento et al., 2003). Para la etapa de degradación de los Hidrocarburos totales (TPH); son los microorganismos más aislados y típicamente corresponden a la bacteria bacilar Gram positivo (Rivera et al., 2004). Llanco & Reátegui (2018) identificaron bacterias que degradan petróleo en ecosistemas acuáticos de una actividad petrolera, el estudio identificó géneros de bacterias potenciales en la degradación de hidrocarburos en un medio donde impactó el derrame de petróleo, se analizaron las muestras para la identificación bioquímica, notando cambios en características del petróleo crudo, en cualidades como agregados blancos y turbidez, fue identificado entre los géneros a: *Citrobacter*, *Serratia*, *Actinobacter*, *Enterobacter* y la especie *Pseudomonas aeruginosas*, siendo esta última de mayor predominancia en cerca de la totalidad de muestras. Ciertos consorcios de microbios facilitan que se biodegrade el HC, siendo evidenciado que el polietileno de baja densidad fueron biodegradados por alrededor de 63 géneros entre bacterias y hongos; fue observado que las eubacterias son más eficientes en biodegradar, citando a *Streptomyces* sp, seguido de *Pseudomonas* sp., y los hongos considerados son *Aspergillus* sp., en especial *A. niger* (Amobonye et al., 2021; Acuña, 2017).

Las bacterias cumplen una función primordial en biodegradar los contaminantes del medio ambiente; de los cuales se identificaron varias especies del género *Pseudomonas* que biodegradan al petróleo empleándolos para su crecimiento y mantenimiento. Debido a su diversidad metabólica, estas bacterias tienen la capacidad de degradar sustratos normalmente no degradables. Los metabolitos pueden asimilarse fácilmente o catalizarse enzimáticamente Las bacterias gramnegativas son aislados e identificados comúnmente como biodegradador de hidrocarburo. Estos tipos de microorganismos presentan algunas virtudes frente a la bacteria Gram positiva a la hora de realizar procesos de descomposición por la existencia de lipopolisacáridos (LPS) como parte de sus membranas externas. El LPS promueve la formación y estabilización de la emulsión, contribuyendo así a la producción de la emulsión. La exposición a contaminantes similares a

los lípidos, como los hidrocarburos, está aumentando (Castellanos et al., 2016; Pucci et al., 2015; Mayz y Manzi, 2017; Gallegos et al., 2018).

### **2.2.2. Pseudomonas**

Grupo de bacteria únicamente quimiorganótrofos por realizar metabolismos respiratorios, aerobias, bacilos Gram negativos con flagelo polar, se caracteriza por utilizar distintas fuentes de carbono con fines de obtener energía, por lo general son oxidasa y catalasa positivas (Madigan, 2015). Últimamente fue demostrado que las cepas de *Pseudomonas*, con capacidad biodegradativa de hidrocarburos de forma n-hexano, siendo *Pseudomonas aeruginosa* de mayor relevancia (He et al., 2019), de manera similar dicho género degradó el n-hexadecano, representado por la especie *Pseudomonas synxantha* (Meng et al., 2017). Estos microorganismos productoras de BS tipo ramnolípido, lipopolisacárido, viscosin surfactante particulado y biosur PM, logran que se biodegrade el benzo( $\alpha$ )antraceno, fenantreno, naftaleno, hexano, acenafteno, fluoreno, criseno y fluoranteno. La *Pseudomonas aeruginosa* tiene una variación metabólica y producen enzimas con la cual puede adaptarse en medios que se contaminaron con los hidrocarburos (Aguilar, 2013; Raiger y Lopez, 2009; Castro, 2009; Rache-Arce et al., 2022).

### **2.3. Aceite Lubricante de motor**

El impacto al ambiente por los derrames del aceite de motor usado en la tierra o en fuentes de agua incluido alcantarillas y/o desagües, es significativo. Esto puede contaminar el agua subterránea y el suelo. Estos lubricantes contienen compuestos químicos e inclusive los metales pesados como el cadmio, plomo, arsénico, cromo, entre otros, además del benceno, hidrocarburo aromático polinuclear y en ocasiones PCBs, ciertos solventes clorados, etc. Dichos compuestos poseen efectos directos en la salud de las personas y muchos de ellos se caracterizan por ser cancerígenos (Fong et al., 2017).

Los componentes de aditivos nocivos para el ambiente y las personas, como aromáticos policíclicos, hidrocarburos orgánicos (TPH), metales y bifenilos policlorados. Por las razones anteriores, estas sustancias tienen efectos tóxicos y cancerígenos. Razón por la cual, se considera un material no degradable y se clasifica como residuo peligroso según la normativa del Convenio de Basilea (Vásquez et al., 2010).

Los aceites utilizados se componen de hidrocarburo total del petróleo (htp), aromáticos policíclicos (hap), bifenilo policlorado (pcb), metal y demás contaminante caracterizado por deteriorar el ambiente y el estado de salud en las personas, ser tóxico y venenoso, resultando ser sustancias dificultosos de degradarse y peligrosos (Vásquez et al., 2010). Los aceites empleados en los motores vienen a ser agentes lubricantes y combustibles

auxiliares, refinados e incorporados en el asfalto. Varios de los componentes de dicho aceite resultan ser tóxicos que ocasionan cáncer y disrupción endocrino. Los componentes alifáticos se eliminan del medio ambiente por medio de mitigación natural, pero, muchas fracciones recalcitrantes suelen seguir persistiendo. El aceite usado de motor posee como componente peligroso a los hap (Ifeanyichukwu, 2011).

Químicamente el aceite de motor posee componentes variables que por lo general se debe a los tipos de aditivos usados al formularlos, representando por lo general del 20,0% en peso respecto al producto final (Tabla 2), pudieran contener cadenas hidrocarbonadas que contengan superior a 15 átomos de carbono, donde el punto de ebullición fluctúa desde 300,0 °C hasta 600,0 °C. Varios compuestos existentes entre los aditivos, se les conocen por su elevado nivel de ecotoxicidad; siendo los más usados el disulfuro de molibdeno, alquil ditiosulfato de zinc, compuestos organometálicos y los jabones con metales pesados (Barrios et al., 2015).

**Tabla 2.** Componentes principales contenidos en el aceite lubricante.

<b>Principales aditivos del aceite lubricante</b>	
Agente de extrema presión	Mejorador del índice de viscosidad
Agente lubricantes	Modificadores de emulsiones
Antiespumante	Modificadores de fricciones
Depresor	Modificadores de viscosidades
Espesante	Modificadores de químicos
Inhibidores de corrosión	Dispersantes y detergentes
Inhibidores de desgastes	Diversos colorantes
Inhibidores de oxidaciones	Modificadores físicos

Durante la operación del motor, los aceites son transformados por medio de mecanismos cracking de polímeros, nitración, oxidación, descomposición de sustancia organometálica, entre otras acciones, dichos cambios son atribuidos por las elevadas temperaturas y a los esfuerzos mecánicos que se someten los aceites en el funcionamiento (Barrios et al., 2015). El nivel de nitrógeno y azufre dentro del aceite usado suele oscilar desde 0,05% hasta 0,18% y desde 0,22% hasta 0,55%, respectivamente; pudiendo encontrarse fósforo desde 80 hasta 32 000 µg/g, mientras que en el caso del cloro se encuentra 3 500 µg/g.

Al compararse los aceites nuevos de motores (Tabla 3) respecto al aceite utilizado, se encuentran elevados valores del metal pesado Mg, Ca, Pb, Ba y Zn, muy por el

contrario se presentan bajos niveles de Mo Na, Cr, Cu, Al, Ni, K, Si, Mn, B y Sn, aspecto por la cual se las considera de muy alta peligrosidad para que vivan diversos organismos.

**Tabla 3.** Contenidos de metales pesados en aceites de motores.

Metales	Motores gasolina	Motores Diésel	Estacion local de gasolina			Media	Máximo
			a	b	c		
Pb	7 500	75	1 075	3 091,5	3 950	77 097	13 885
Zn	1 500	1 300	265	1 128,5	740	1 061	2 500
Cu	17	18,0	27,5	6,0	40	28	56
Cr	21	3,0	LD	1,0	ND	10,5	24
Ni	LD	LD	8,5	0,6	ND	1,2	5,0
Cd	ND	ND	0,1	0,5	ND	ND	ND

Un grupo adicional de los compuestos que se encuentran de manera frecuente en los aceites usados de motores, los representan los denominados hidrocarburo aromático policíclico (PAH), siendo reconocido a nivel mundial debido a que generan efectos mutagénicos y cancerígenos respecto a muchos organismos (Barrios et al., 2015). Los PAHs del aceite nuevo de motores son bajos (Tabla 4), se incrementa cuando transcurre el tiempo de función de los motores; logrando incrementarse hasta 670 veces más su concentración inicial.

**Tabla 4.** Contenido de hidrocarburos aromáticos policíclicos en aceites usados.

PAH	Concentración (ug/g)		
	A	B	C
Antraceno	0,002 - 0,03	1,6 - 10,8	0,5 - 4,4
Benzo [α] pireno	0,008 - 0,266	5,2 -35,1	0,7 - 11,9
Benzo [e] pireno	0.030 - 0,402	6,4 - 48,9	1,3 - 10,7
Benzo [ghi] pirileno	0,010 - 0,139	4,4, - 85,2	2,1 - 16
Benzofluoranteno	0.013 - 0,234	5,7 - 44,3	1,8 - 16,8
Trifenilo + criseno	0,182 - 11,9	8,7 -74,0	5,1 - 42,8
Coroneno	0,001 - 0,016	2,8 - 29,4	0,1 - 6,4
Fluoranteno	0,008 - 2,750	3,4 - 109	1,3 - 58,9
Indeno (1,2,3 - cd) pireno	0,001 - 0,02	2,10 - 12,50	0,8 - 9,0
Perileno	0,007 - 0,224	1,9 - 10	0,4 - 2,7
Pireno	0,039-6,530	5,7-326	1,4-78,0



Cuando se vierten los aceites a los suelos, suelen alterarse sus propiedades químicas, físicas y biológicas, pudiendo citar a el porcentaje de materia orgánica, la relación carbono:nitrógeno, la tasa de respiración, la densidad aparente, la permeabilidad y la porosidad, por efectos de su capacidad hidrofóbica del hidrocarburo (Barrios et al., 2015).

El Decreto Supremo N° 037 de 2008 PCM contempla la gestión de las acciones de Hidrocarburos con la finalidad de proteger el Ambiente en nuestro país, lo que implica el aprovechamiento de aceites automotores usados como residuos peligrosos. El valor máximo del limite permisible para los TPHs en grasas y aceites viene a ser 20 mg/L (El Peruano, 2008). En ese sentido un aumento en su concentración ocasionaría daños severos en qlla salud humana y el medio ambiente, pudiendo resultar en cambios del lugar donde se derrama o desecha. La exposición de este lubricante donde le llegan de manera directa los rayos del Sol y a la intemperie provocaría la formación de sustancias peligrosas, dentro de los cuales se citaría al cromo, zinc y plomo (Daud et al., 2016). Al esparcirse en los suelos pueden difundirse de manera rápida, formando una película evitando que ingrese oxígeno ocasionando la infertilidad del suelos o de baja productividad. En el caso de vertir 1 L de aceite en el agua suele contaminarse un volumen aproximado de 1000 000 L de dicho recurso en condiciones naturales (Manzanares-Jiménez e Ibarra-Ceceña, 2012).

### **2.3.1. Factores asociados a la biodegradación del suelo**

Los sistemas de biorremediación eficaces deben tener en cuenta los factores abióticos y bióticos, para operar a una velocidad óptima de descomposición.

#### **La humedad, temperatura y pH**

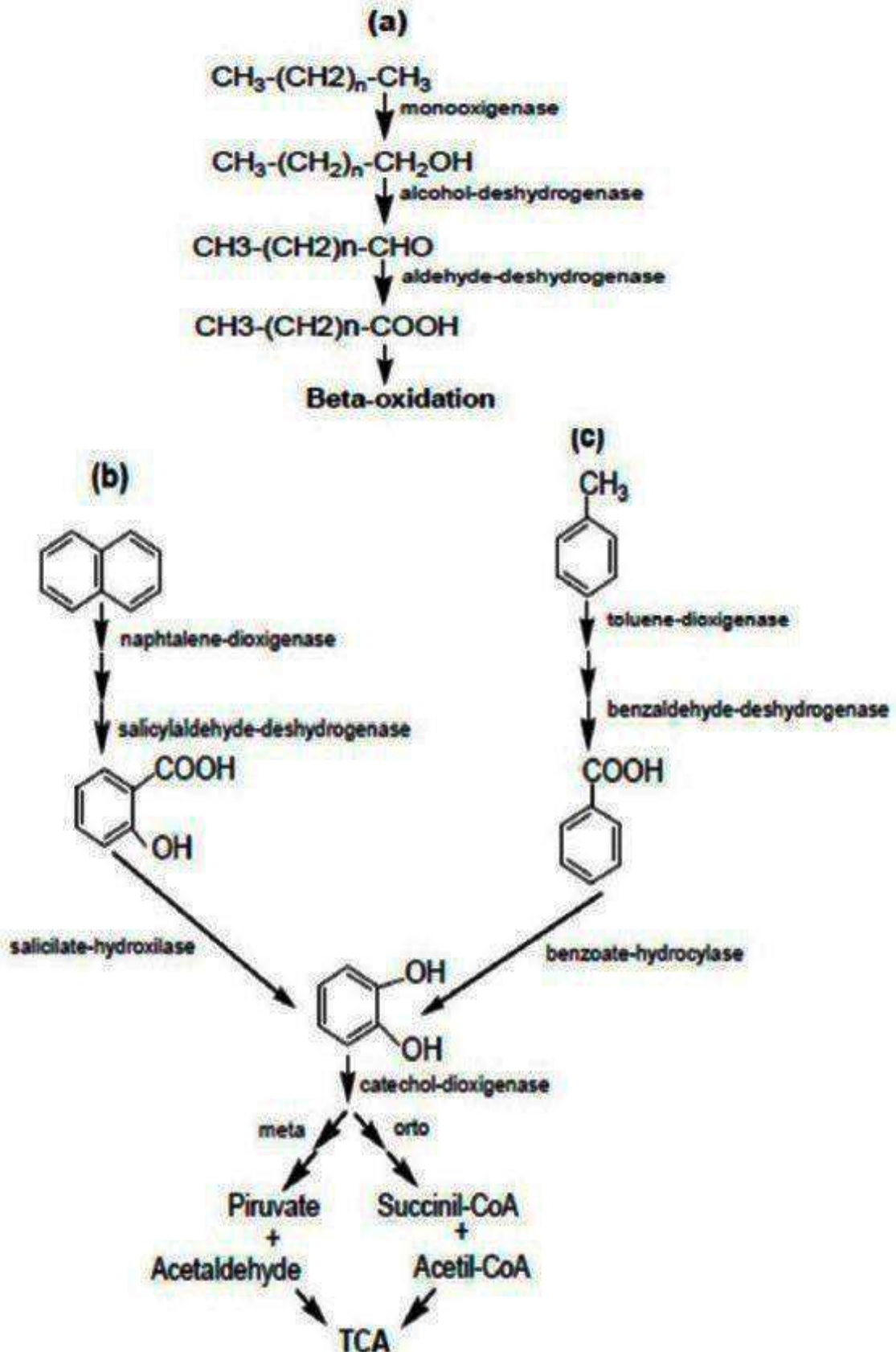
Los microorganismos son resistentes a aspectos ambientales que incluyen: pH, salinidad y temperatura, cuyo efecto es un aumento de la actividad microbiana. Actualmente no existen parámetros de degradación adecuados preestablecidos, como un rango de temperatura entre los 20 °C hasta los 30 °C y en el caso del pH con un rango de 6 hasta 8 (Alexander, 1999).

Los rangos de pH de los suelos que difieren a menudo obstaculizan el crecimiento microbiano, así como la atracción de contaminantes e iones. Se recomienda un valor de pH neutro de 7,4 y 7,8 para el desarrollo de la degradación. Lograr degradar contaminantes en los suelos es un aspecto importante causado por el factor de humedad del sistema edáfico (Verstraete et al., 1976).

### **2.3.2. Componentes químicos y densidades de los contaminantes**

De acuerdo con Ercoli et al. (2000), la descomposición de los compuestos orgánicos están determinadas por las habilidades de ciertos organismos en utilizar

a manera de origen de carbono. Si la capacidad degradativa del catalizador se ve limitada, el efecto degradativo no se llevará a cabo, lo que disminuirá el efecto de degradar.



**Figura 1.** Recorrido metabólico para degradar hidrocarburos (Nápoles et al., 2008).

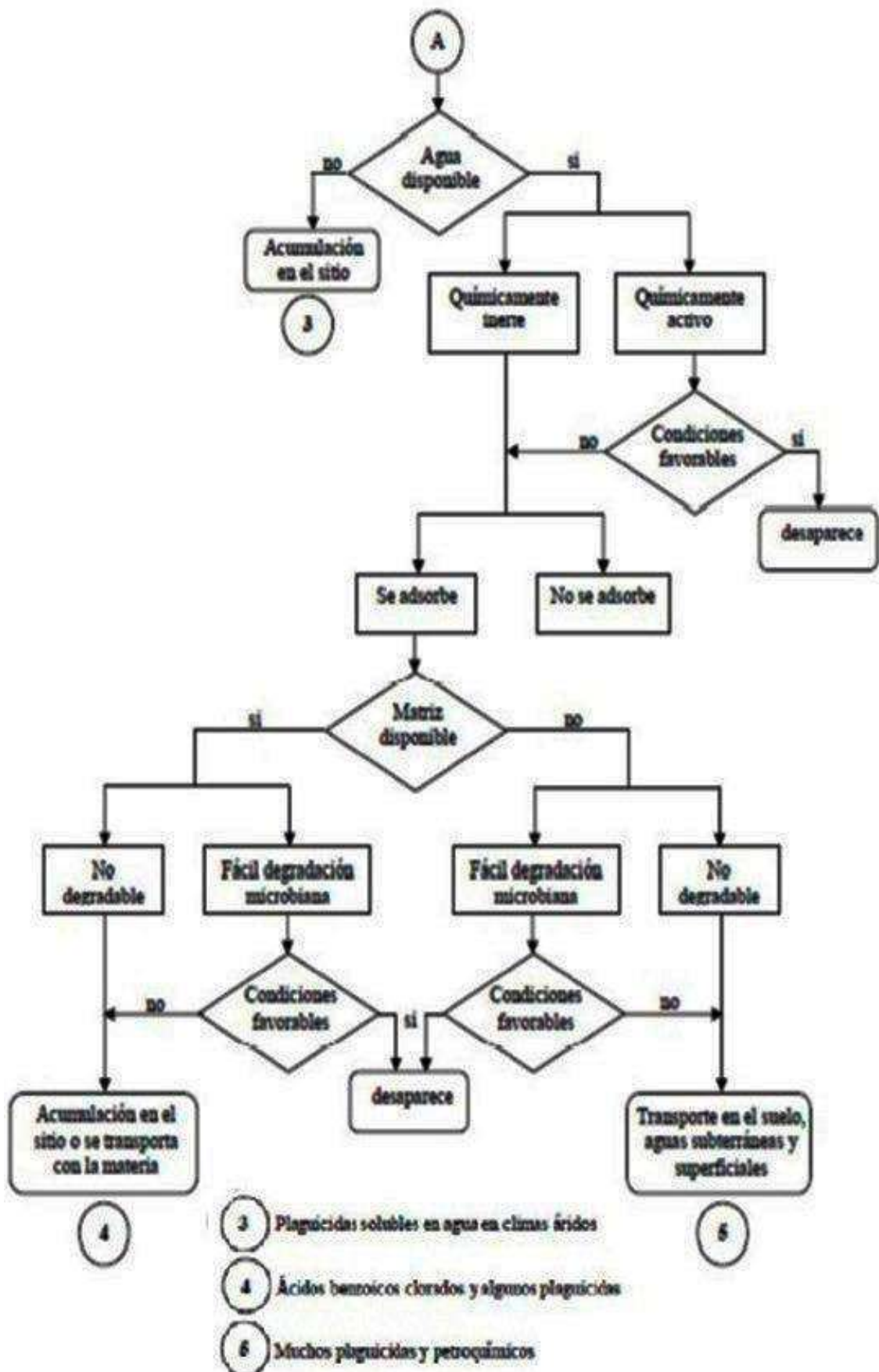


Figura 2. Recorrido del agregado xenobiótico en los ecosistemas (Nápoles et al., 2008).

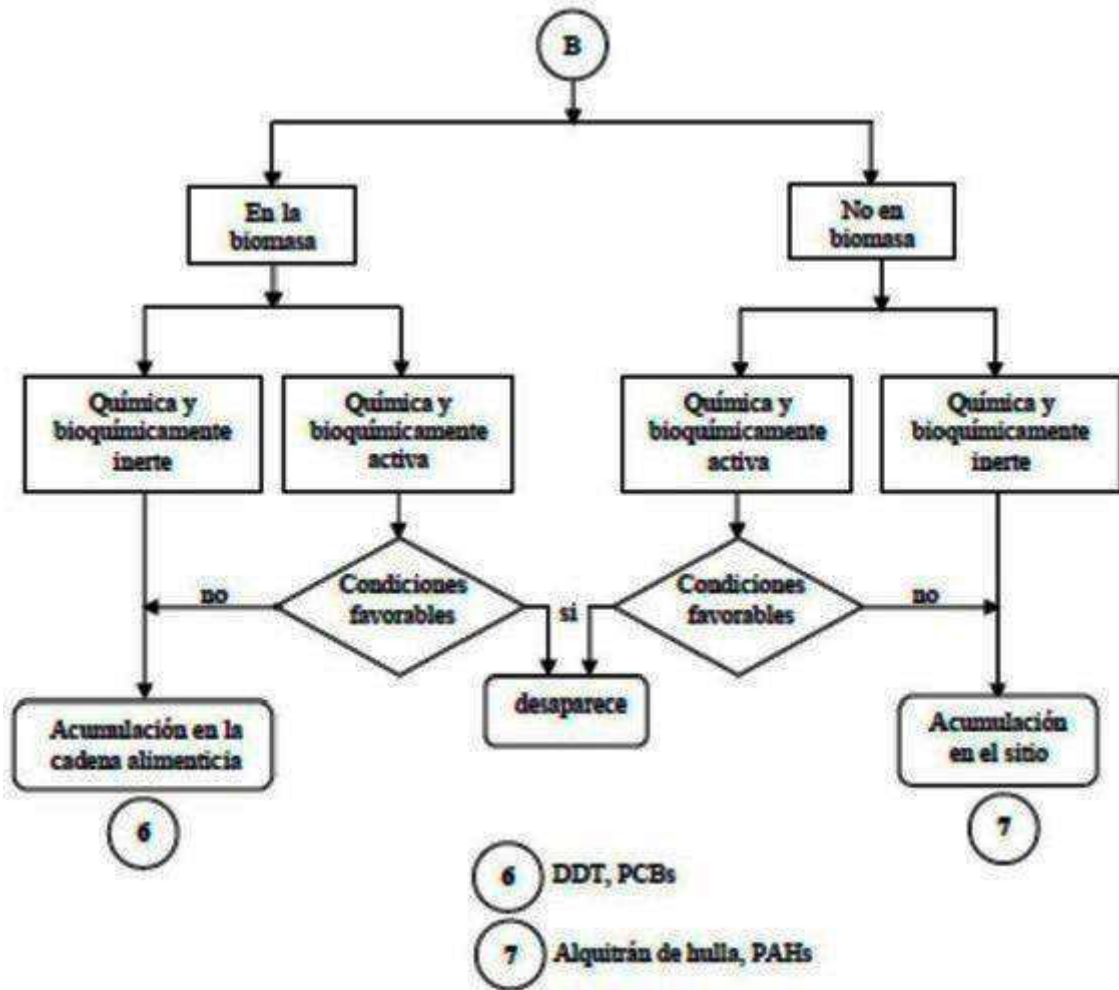


Figura 3. Secuencia del agregado xenobiótico en los medios (Nápoles et al., 2008).

### 2.3.3. Condiciones de operación

**PH.** Los sistemas microbianos del suelo más idóneos presentan un rango de pH de 6 a 8, siendo considerado el pH neutro como el óptimo.

**Humedad.** La biodegradación puede ser afectada significativamente por la humedad: un exceso de humedad desencadena un proceso anaeróbico, mientras que una deficiencia retrasa el proceso debido a la merma de la actividad y la muerte de las células microbiana. Es recomendable mantener un porcentaje de humedad cercano a 60% de la capacidad de carga de los sedimentos.

**Temperatura.** Esto tiene un efecto en la promoción de la biodegradación bacteriana. El rango óptimo es de 15°C a 45°C. Se han realizado algunos estudios de biodegradación con bacterias extremadamente termófilas y criófilas. (Feitkenhauer et al., 2003).

**Celeridad de degradación.** Debido al aumento de temperatura, sin

exceder a 40 °C, ya que dificultaría el crecimiento de bacterias por la disolución enzimática y dar lugar a la formación de especies resistentes a alta temperatura (Semple et al., 2001).

**Disponibilidad de oxígeno.** Al degradarse, las fuerzas de los óxidos y los agentes reductores generan energía. La unión la inician sustancias orgánicas extracelulares que actúan como emisores de aniones. Como receptor aniónicos empleados por bacterias está iones nitrato, hierro (III), oxígeno, dióxido de carbono e iones sulfato (Madigan et al., 2004).

**Concentración de nutrientes.** Metabolizar los micronutrientes necesita una fuente de macronutrientes como potasio, carbono, fósforo y nitrógeno. Las bacterias son adecuadas para su uso en compuestos poliméricos de alto peso molecular en su forma oxidada, incluso compuestos dañinos. Muchos compuestos orgánicos suman átomos de carbono en la estructura celular y se convierten en origen de combustible metabólico. Ciertos organismos producen fuente de energía, y otros buscan para sobrevivir (Madigan et al., 2004).

**Cantidad microbiana.** El número de microorganismos determina la aparición de descomposición biológica. Si el objetivo es una enzima que cataliza la reacción, es necesario la presencia de una población de microorganismos adaptados al medio ambiente. Esta condición se puede implementar a través de tres mecanismos:

- Inducción de enzimas especiales;
- Intercambio genético que sufre mutaciones en diferentes expresiones metabólicas o
- Un organismo específico adecuado para la transformación del compuesto de prueba.

#### **Análisis de la eficacia de los biotratamientos**

La eficiencia de los sistemas de biorremediación son dependientes de distintos parámetros divididos en tres categorías.

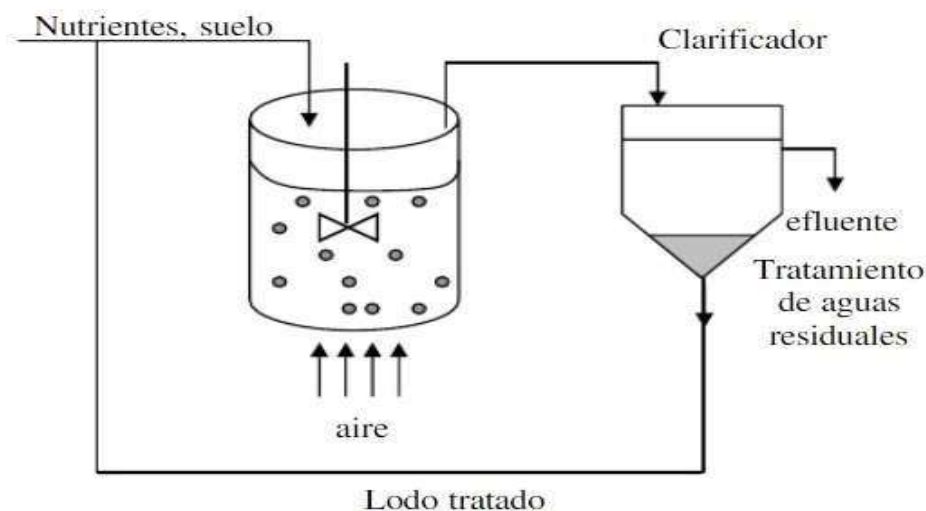
**Tabla 5.** Parámetros para una biorremediación eficaz.

Tipo de parámetro de los suelos	Tipo de parámetro sintético	Situación climatológica
Densidad poblacional bacteriana	Volatilidad	Temperatura ambiente
Nivel de pH del suelos		Precipitaciones
Saturación del suelo	Estructura química	Vientos
Clima del suelo		
Concentración de nutrientes	Concentración Toxicidad	Humedad relativa
Textura de los suelos		

Durante el funcionamiento, es necesario identificar los parámetros que se desvían del rango efectivo previsto y verificar que el diseño y la descripción del dispositivo garanticen su funcionalidad y compensen cualquier condición, inapropiada o no, en el lugar de trabajo.

## 2.4. Biorreactores

Castillo et al. (2005) utilizaron un biorreactor de suspensión para restaurar el espacio alterado. El suelo modificado se introduce en el biorreactor mencionado con una cantidad de agua suficiente para que realice una mezcla cíclica. El volumen de agua en las mezclas dependerá de la saturación de los contaminantes.



**Figura 4.** Diagrama del biorreactor en fase líquida (Solanas, 2002).

### 2.4.1. Biorreactores de Air Lift

Aplicar distintos métodos biológicos de tipo Air Lift, refiere a una columna en la parte interna la presencia de un líquido móvil contenida de un medio en suspensión y en la siguiente fase una renuencia del vapor acuoso (Aguayo, 2005).

El reactor Air Lift fue diseñado como una cámara en forma de cilindro conteniendo un medio nutritivo en vidrio con un tubo deflector que contiene medio NaCl con un filtro de aire en el centro, el cabezal de aire es impulsado a través de la bomba de aire de pecera proporcionando un caudal de O<sub>2</sub> de 1100 ml/min (López, 1998 y Miranda et al., 2006).

### 2.4.2. Componentes asociados a la operatividad en el biorreactor Air Lift

**La temperatura.** En base al estudio de Vergara et al. (2002), muchos microorganismos mesófilos, logran realizar su metabolismo en categorías de temperatura que fluctúan de 10 °C hasta 35 °C. Para Quiroz (2003), cuando la temperatura es elevada se generaría ciertas renuencias del metabolismo en los microorganismos ocasionando que pase

de manera rápida, pudiendo generar la disrupción de su metabolismo y reduciéndose en el periodo posterior, con la cual trae consigo incremento de la eficacia de destruir el contaminante dentro del biorreactor.

**pH.** el nivel de pH del medio debe ser 7, por ejemplo para el caso de *Pseudomonas* y *Acinetobacter* que son bacterias neutrófilas donde el pH adecuado para que se incrementan tiene que ser 7,0. Con este valor dichos microorganismos suelen reproducirse, se estabilizan en la sustancia; dicho proceso suele ocurrir al permutar los iones de las sustancias con las células para lograr que tenga la estabilidad osmótica esperada (Madigan et al., 1999).

Para Sin Ha y Kumar (2009), el parámetro de pH en la sustancia suele alcalinizarse al pasar el periodo de tiempo correspondiente a 96 h de incremento bacteriano, cuando se incremente el pH es probable que ocurra una vinculación a la mutación de un género no soluble de las bacterias o también su alrededor.

**Disponibilidad del oxígeno (OD).** Las moléculas de oxígeno proporcionan la recepción de electrones que deben introducirse en el espacio acuático para que las colonias se vuelvan metabólicamente activas y perduren (Ballerini et al., 1998).

Scraag (2002), manifiesta que el oxígeno molecular limita que se promueva la reproducción. Cuando las poblaciones crecen mediante siembra, la cinética de absorción de oxígeno ( $F_i O_2$ ) que ocurre cuando los organismos usan oxígeno diluido en agua para el crecimiento y/o división.

**Microorganismos.** Los microorganismos maduros en biopelículas son elementos del funcionamiento más complejo del biorreactor Air Lift, que también induce, destruye o altera negativamente los agentes de cambio. Los consorcios bacterianos requieren condiciones ambientales que tengan en consideración factores como el pH, la temperatura y los nutrientes (Rathor et al., 2003).

**Biopelícula microbiana.** Es la encapsulación de microorganismos en un entorno de material polimérico extracelular (EPS) en una microbiota de carácter complejo es útil para el transporte espacial de diversos organismos mediante asimilación sinérgica y crecimiento, proliferación y estabilización lentos en organismos confinados en condiciones sintéticas. Se trata de un crecimiento poblacional selectivo (Stewart, 2003 y Martinez et al., 2006).

**Control de biomasa.** Según Quiroz (2003), este término está vinculado a lo efectivo que resulta ser la prevención de factores dañinos, por lo que es eficaz en la operación del sistema. Lo descrito supone que hay una biopelícula en la superficie y un transporte uniforme dentro del reactor, lo que es de suma importancia en esta operación,

especialmente en el biorreactor Air Lift.

## 2.5. Procesos en remediación

### 2.5.1. Proceso de remediación biológica

Los organismos vivos se utilizan en diversos procesos para biodegradar compuestos orgánicos tóxicos en productos de baja toxicidad. El enfoque habitual es proporcionar aire, minerales, bacterias y hongos (incremento biológico), así como regulación del pH y las temperaturas (Van Deuren et al., 1997).

**Biotratibilidad.** Se caracteriza por el descarte de la toxicidad de los contaminantes o la condición natural de los suelos interfieran con las actividades biológicas. Los experimentos deben diseñarse de manera que los atributos medidos puedan servir al diseñar e implementar las estructuras y el sistema operativo de la célula de cultivo o biopila. Al no mostrar idoneidad el estudio, se necesita estudio piloto previo a los tratamientos a una escala mayor. Este análisis debe dar información acerca de: la biodegradabilidad del contaminante, la capacidad del microorganismo indígena para degradar el contaminante, las condiciones para crecer de manera óptima, la tasa de biodegradación y lo que se requiere de los nutrientes minerales y naturales.

Existen distintos indicadores químicos y físicos a realizarse a las muestras de los suelos del medio para realizar el estudio de biotratibilidad (Tabla 6).

**Tabla 6.** Parámetros físicos y químicos para una biorremediación.

Parámetro	Propiedad a medir
Toxicidad de lo suelos	Tipos y concentraciones del metal pesado o el contaminante presente y el nivel del pH.
Textura de los suelos	Granulometría, contenidos de arcillas, contenidos de humedad, porosidad, permeabilidad y densidad aparente.
Nutriente	Aniones, fosfatos, cationes y nitratos
Biodegradabilidad del contaminante	Concentraciones de carbono orgánico total, estructuras químicas y volatilidad.

Fuente: IRAM 29555-1:2003

El resultado del análisis se utilizaría en determinar la calidad y concentración de contaminantes en el suelo. Se estima su concentración inicial de un contaminante existente en las muestras iniciales para que se puedan estimar los cambios en la concentración. Asegúrese de que los macronutrientes (fósforo y nitrógeno) se encuentren en la



concentración necesaria con fines de que soporte mayores niveles de actividades microbianas siendo posteriormente evaluados los atributos promovidos o inhibidos de los crecimientos microbianos.

La degradación que se simula del mesocosmos (en condiciones del laboratorio) suele medir reducciones en las concentraciones de contaminantes, cambios en las poblaciones microbianas y demás atributos de control vinculados con el tiempo. Los estudios del tratamiento biológico suelen incluir las siguientes tipologías:

**Control de actividad microbiana:** Se caracteriza por medir la rapidez de descomposición por los organismos existentes bajo condiciones aeróbicas sin necesidad de nutrientes suplementarios se controla mediante el seguimiento de la actividad microbiana.

- **Ajuste de nutrientes:** Al ajustar la concentración de nutrientes, es posible calcular la relación C:N:P óptima para las pruebas que logrará las tasas de degradación más altas con diferentes niveles de nutrientes.
- **Necesidad de bioaumentación o inoculación:** en el experimento se inocula bacterias o consorcios biodegradadores, siendo analizado con fines de que se determine si verdaderamente se incrementa el valor de la degradación.
- **Ensayos de control (blancos):** permite medir las tasas de descomposición debidas únicamente a procesos fisicoquímicos en el suelo (abiótico). Permite comparaciones con otras pruebas basadas en procesos biológicos

Habiendo determinado a escala piloto que la biorremediación sería potencialmente efectiva, ahora estamos comenzando a desarrollar un sistema para su aplicación.

**Biotransformación.** Para McCullough et al. (1999), un metal pesado presente en un ecosistema no puede degradarse salvo al estar presente la bacteria que logra transformarlo y respetar el proceso de oxidación. Influye en el transporte del metal pesado en el suelo puede aumentar el proceso de disolución de algún producto afectado, promoviendo su supresión, o puede reducir el transporte del metal pesado en los suelos.

**Bioestimulación.** Para Alexander (1994) y Van Deuren et al. (1997), los procesos de bioestimulación implican la suplementación de nutrientes y/u oxigenación de los suelos modificados por la existencia de ciertas bacterias en las muestras de suelos extraídos. Esta bacteria se utiliza para modificar e inhibir suelos modificados con toxinas orgánicas y

para degradar contaminantes en sitios contaminados. Este método se utiliza para tratar suelos inoculados que contienen derivados de hidrocarburos y ciertos pesticidas. Además, debido a ciertas limitaciones, esta técnica no se recomienda para suelos arcillosos, suelos muy estratificados o heterogéneo por las limitaciones durante la actividad de transportar el oxígeno.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Lugar de ejecución

El estudio fue ejecutado dentro de los ambientes del laboratorio de Microbiología General que pertenece a la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), se recolectaron las muestras del suelo agrícola de la localidad de Pacae jurisdicción del Distrito de Santo Domingo de Anda.

##### 3.1.1. Ubicación política

- Región : Huánuco.
- Provincia : Leoncio Prado.
- Distrito : Rupa Rupa.
- Lugar de ejecución : Laboratorio de Microbiología General - UNAS.
- Institución de estudio : Universidad Nacional Agraria de la Selva.

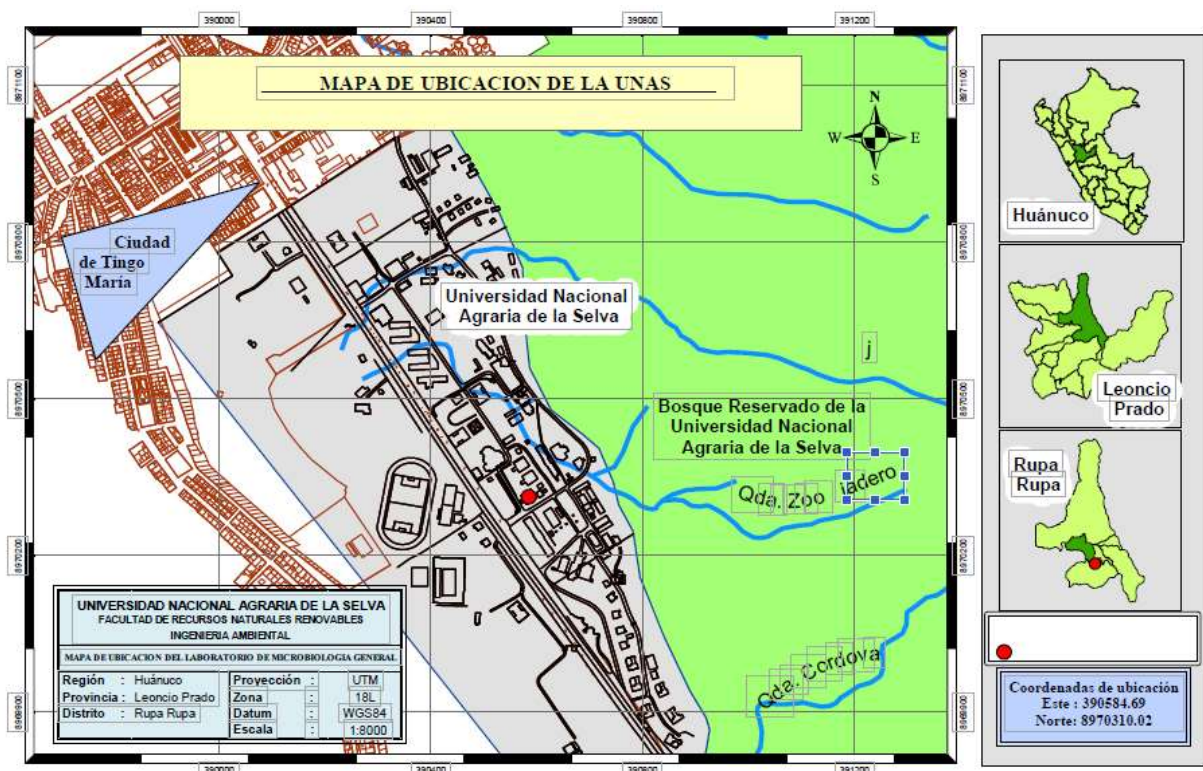


Figura 5. Ubicación política y geográfica de la UNAS.

##### 3.1.2. Características climáticas

El distrito de Rupa Rupa, se localiza en un medio húmedo fresco y caluroso, mostrando diferencias por la amplitud térmica moderada del clima. De acuerdo a la

estación meteorológica ubicada en la ciudad universitaria, la temperatura media anual oscila en 20 °C, en donde el valor mínimo es 18 °C y el valor máximo asciende hasta los 38 °C, siendo notorio el ciclo variable en temperatura.

### **3.1.3. Aspectos geológicos**

Según Sinia (2016), en el ámbito de la capital del distrito Rupa Rupa se observa que su geología pertenece a la Era Cenozoica, el Sistema Cuaternario, la secuencia Holoceno, las unidades estratigráficas de depósitos fluviales, que se compone litológicamente de depósito fluvial-grava y arena en matriz limo arenosa, incluyendo cono aluvial y de símbolo (Qh-fl).

### **3.1.4. Clasificación geomorfológica**

De acuerdo a la Ingemmet (2019), la capital del distrito Rupa Rupa se caracteriza por presentar su geomorfología clasificada como planicie aluvial (Pl-al) o Llanura, observándose a los terrenos que se ubican por encima de la llanura de inundación fluvial y del cauce, asimismo, se le consideran como áreas de terrenos planos, siendo sus anchos variables.

## **3.2. Unidades experimentales**

- Bacterias del género *Pseudomonas* aislados del suelo agrícola con capacidad remediadora.
- Aceite residual lubricante de motor.

## **3.3. Metodología**

### **3.3.1. Aislamiento de bacterias del género *Pseudomona* de suelo agrícola**

#### **A. Obtención de las muestras sometidas a evaluación**

Se obtuvo monolitos edáficos que se encontraba en las coordenadas UTM: 382552 Este y 9002906 Norte a un nivel altitudinal de 548 msnm, sus dimensiones fueron de 40 cm tanto en ancho como en largo y 30 cm de profundidad, luego se realizó la extracción basándose en el método del cuarteo, para lo cual se colocó la muestra recogida en el mismo terreno sobre una superficie sólida limpia, no absorbente y plana; fue mezclado y con ayuda de la espátula se formó una pequeña pila cónica miniatura, asimismo, fue aplanado dicha pila comprimiéndolo con la espátula. Una vez lograda que contenga una figura regular y espesor uniforme, se ha tenido que dividir realizándole cortes por diámetros normales entre sí hasta que se obtuvo dos pares de porciones similares, de modo que quedaron dos diagonales opuestas y luego se tuvo que repetir el mismo procedimiento hasta que se obtuvo el tamaño de muestra deseada, finalmente se extrajo 1,0 kg de suelo que representó el tamaño final de la muestra que fue colocada dentro de una bolsa estéril, se rotuló y luego se trasladó al

Laboratorio de Microbiología General - UNAS en donde se sometió previamente a secarse al aire libre para que se le realice el análisis de dichas muestras (AASHTO T248, 2014).

### **B. Aislamiento de bacterias *Pseudomonas* de suelo agrícola**

De la muestra recolectada se extrajo 10 g del suelo colocándola dentro del matraz contenido con 90 ml de caldo peptona, mezclándolo en forma circular el matraz y luego se reposó por 20 a 30 minutos. Al término del tiempo se realizó el filtrado de la mezcla mediante el uso del papel filtro N° 40, luego se extrajo 10 mL del filtrado en una pipeta graduada para agregarlo en el matraz contenido de 90 mL correspondiente a BHI donde se sometió a incubar por un periodo de 48 h teniendo en consideración el valor de la temperatura enmarcado en los 37 °C.

Al término de la incubación se ha tenido que procesar la muestra empleando como técnica la dilución decimal en un medio de caldo peptona, hasta la dilución  $10^{-5}$ , sembrándose 1 mL por el método de estrías con un asa de siembra sobre la placa Petri con 10 mL de medio agar citramide, se sometió a incubación entre 24 a 48 h donde la temperatura fue 37 °C favoreciendo que se desarrollen las bacterias de *Pseudomonas*; posteriormente distinguir repicarlas en tubos con los medios en que se desarrollaron en plano inclinado, llevar los tubos repicados a incubación a 37 °C por 24 o 48 horas. Estas fueron las cepas que se utilizaron en la etapa de elección o adaptabilidad y se mantuvieron en refrigeración hasta su uso (Bradshow, 2000).

### **C. Conservación de microorganismos**

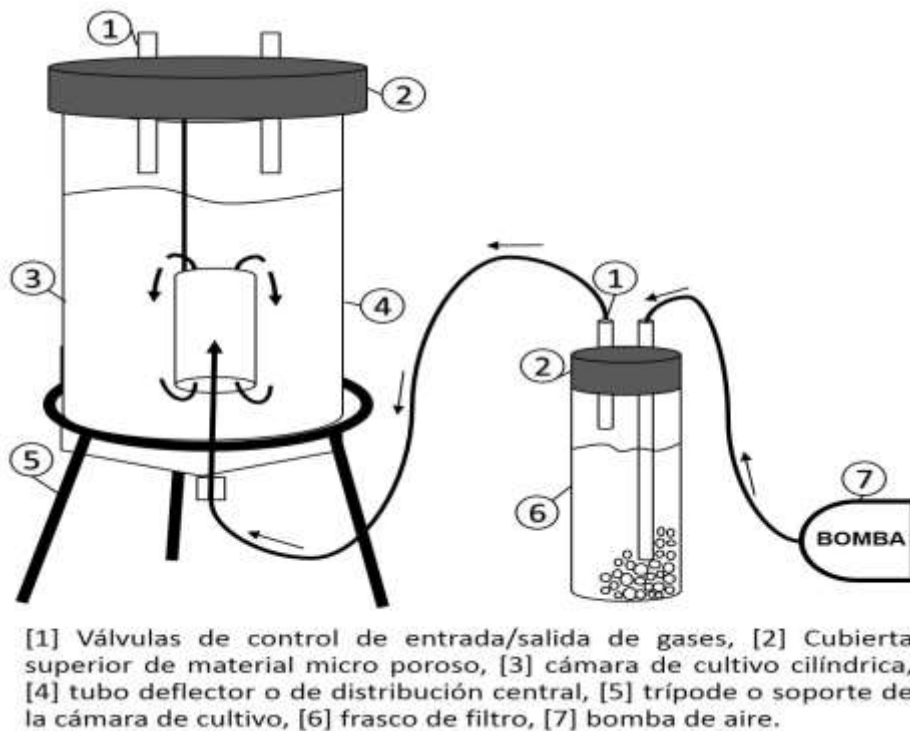
El total de colonias seleccionadas que se desarrollaron en los medios, fueron repicadas en 350 mL de caldo Mínimo de Deivis y pasaron a incubación con 37°C por 24 o 48 horas y posteriormente conservado en refrigeración hasta la etapa de aclimatación - adaptación (Lopez et al., 2006).

### **D. Etapa de adaptación de los microorganismos**

De las colonias conservadas en refrigeración y empleando un asa de siembra se procedió a repicarlas prosiguiendo la metodología de las estrías a las colonias del medio mínimo de Davis sobre las placas que contenían agar citramide añadiendo concentración de 1, 2, 3 y 4 mg/L de aceite residual lubricante de motor. Se seleccionaron los microorganismos que crecieron en la mayor concentración que se probó en esta etapa, fueron repicados en BHI, luego incubados por un periodo de 48 horas manteniéndose a una temperatura de 37 °C y luego se sometió a refrigerar hasta que se opere en el biorreactor (SCRAGG, 2002).

### 3.3.1.1. Diseño y preparación de los biorreactores de tipo air lift

Los biorreactores utilizados en esta investigación se prepararon en el laboratorio, entre su composición contaban con una cámara de cultivo de forma cilíndrica de vidrio cuya dimensión fue 200 mm de altura, 100 mm de diámetro y capacidad volumétrica de 1000 mL, tubo de distribución central o deflector de 80 por 20 mm y frascos que contenían una solución saturada de NaCl cuya función era de filtrar el aire y contenía una bomba de aire como fuente de aeración.



**Figura 6.** Esquema de Bioreactor air lift.

A cada biorreactor se le tuvo que esterilizar mediante el uso del vapor de agua (frascos anexos y cámara de cultivo) en el autoclave donde la temperatura fue 121 °C (15 psi) que se mantuvo por un periodo de 15 minutos, mientras que en el caso de los accesorios como conectores, válvulas, tapas del biorreactor y mangueras se tuvieron que esterilizar sumergiéndolos por 24 horas en una solución de etanol y ácido clorhídrico al 1% o alcohol-ácida (Lopez, 1998).

### 3.3.1.2. Operación en biorreactor air lift

Los inóculos seleccionados de los microorganismos durante la etapa adaptativa, en un 5 % (35 mL) respecto a la totalidad volumétrica del medio de operación en cada biorreactor (700 mL de MMS), con glucosa al 1% cumpliendo la función de sustrato carbonado, fueron adicionados a cada biorreactor.

Las concentraciones de aceite residual lubricante de motor que se agregaron a cada biorreactor fue 10 veces mayor a los empleados durante la etapa adaptativa de microorganismos por los que se consideraron valores de 10, 20, 30 hasta 40 ml/L de aceite residual lubricante de motor (Scragg, 2002).

### **3.3.2. Determinación del comportamiento de los parámetros fisicoquímicos durante los tratamientos en los biorreactores tipo air lift**

#### **3.3.2.1. Determinación del nivel de oxígeno disuelto**

Fue determinado por medio del método de membrana adaptada donde se utilizó un Oxímetro calibrado de marca HANNA y modelo HI 9146. Las pruebas de control se realizan al inicio de la operación del biorreactor, después de ocho días y al final de la operación. Los datos se reportaron en mg/L.

#### **3.3.2.2. Determinación del pH**

Con pHmetro marca EXTECH, los datos se registraron en la etapa inicial de la operación, después cuando cumplió los ocho días y también una medición en la fase final de la operación de los biorreactores, dichos datos obtenidos se expresaron en unidades de mg/L.

#### **3.3.2.3. Determinación de la temperatura**

La temperatura interna de la operación se midió en la fase inicial, pasado los ocho días y cuando culminó la operación, con termómetros digitales calibrados modelo ROAST JR-5. Los datos se expresaron en la unidad de grados centígrados (°C).

### **3.3.3. Determinación de la biomasa bacteriana en los biorreactores air lift con respecto a la concentración de aceite residual lubricante de motor**

Para la determinación de la biomasa que se generaron en los biorreactores a los 1, 8 y 15 días de haber iniciado la operación, se realizaron las siembra en placas Petri, previamente fueron diluidas con siembras en medio agar citramide que se incubaron a 37°C por 3-5 días; los resultados se expresaron en m.o./mL (Bradshow, 2000).

### **3.3.4. Determinación de la eficiencia de las bacterias del género Pseudomonas aisladas de un suelo agrícola**

Este se calculó como la correlación porcentual entre las concentraciones iniciales y finales de aceite de motor residual por cada biorreactor de acuerdo al tratamiento según la siguiente expresión (Take et al., 2012):

$$ER = \left( \frac{Ci - Cf}{Ci} \right) * 100$$

Donde ER: Eficiencia bacteriana de aceite residual lubricante de motor (%), Ci: Concentración inicial bacteriana y Cf: concentración final bacteriana.

### 3.4. Diseño experimental

Se adoptó por utilizar el diseño de experimento tipo estimulación creciente, donde se utilizó cuatro concentraciones de aceite residual: 5, 10, 20, 30 y 40 mg/L, a esto se sumó un consorcio bacteriano y tres repeticiones por tratamiento, de modo fue determinado el incremento de la biomasa y visulizando la remosion.

**Tabla 7.** Diseño experimental

Repeticiones	1			2			3		
	I (Día1)	II (Día8)	III (Día15)	IV (Día1)	V (Día8)	VI (Día15)	VII (Día1)	VIII (Día8)	IX (Día15)
Tratamientos	T0	T0	T0	T0	T0	T0	T0	T0	T0
	T1	T1	T1	T1	T1	T1	T1	T1	T1
	T2	T2	T2	T2	T2	T2	T2	T2	T2
	T3	T3	T3	T3	T3	T3	T3	T3	T3
	T4	T4	T4	T4	T4	T4	T4	T4	T4

#### 3.4.1. Variables

##### Variables dependientes

Como variables dependientes se consideraron a la:

- Biomasa bacteriana.

##### Variable independiente

Como variable independiente se consideró a las:

- Concentraciones de aceite residual lubricante de motor

### 3.5. Análisis estadísticos

#### 3.5.1. Análisis de la variancia (ANVA)

Los datos que se obtuvieron por tratamientos se sometieron a la contrastación de la hipótesis para lo cual se tuvo que utilizar el ANVA para un diseño en bloque completo al azar (DBCA), utilizando los programas R-studio, a un nivel de significancia de 5%.



### **3.5.2. Comparación de medias HSD Tukey**

Una vez demostrado la presencia de significancias estadísticas en el ANVA, se procedió a realizar la agrupación de los tratamientos en base a los promedios que presentaban, esto se logró mediante el uso de la prueba HSD Tukey, herramienta estadística utilizada al nivel de significancia de 0,05 (5 %), ejecutado en el software R-studio.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Aislamiento de Bacterias del género *Pseudomonas* de un suelo agrícola

En la Tabla 8 se señalan las bacterias *Pseudomonas* encontradas que fueron utilizados durante la operación; identificándose hasta el nivel de género. La bacteria identificada concuerda con las de otras investigaciones, utilizadas para la degradación de hidrocarburos.

**Tabla 8.** Bacteria identificada para la operación de biorreactores tipo air lift.

Medios de cultivos	Bacterias
Citramide	<i>Pseudomonas</i>

Esta investigación se orientó a la evaluación de la capacidad degradativa del aceite residual lubricante de motor (hidrocarburo) con bacterias del género *Pseudomonas*, con la finalidad de investigar su comportamiento para la aplicación de un tratamiento biológico en la remediación de suelos contaminados.

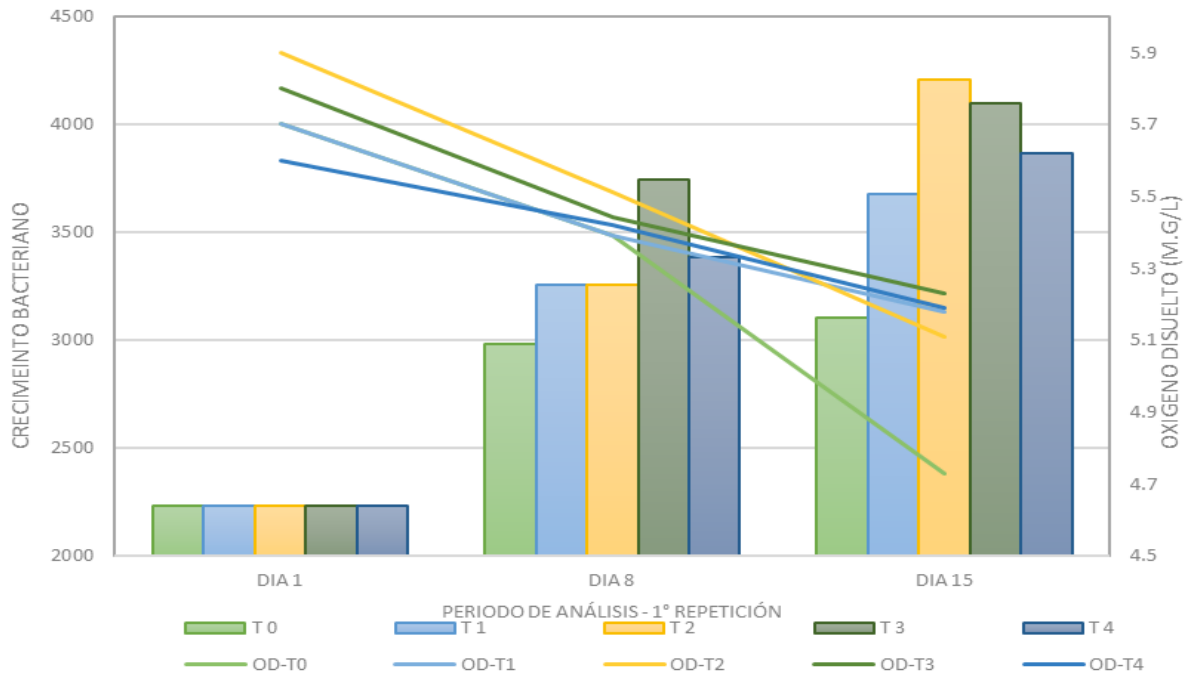
Según Cahuas (2021), al degradar el aceite lubricante SAE-20W50 empleando variadas concentraciones del inóculo de *Ps. aeruginosa* (% v/v), llevado a cabo en el biorreactor tanque aireado, siendo agitado de 0,7 L, con 1 VVM de aireación, 240 RPM, en Medio Mínimo de Davies (MMD) con 1% de aceite (v/v), por un periodo de 14 días con temperatura ambiente con media de  $20\pm 4^{\circ}\text{C}$ , registró bajo el enfoque cualitativo la capacidad de degradarse el aceite lubricante SAE-20W50 mediante la *Ps. aeruginosa*, siendo observado luego de las 24 h; además el crecimiento de *Ps. aeruginosa* empleando como medio de cultivo al aceite lubricante SAE-20W50 en distintas concentraciones de inóculo (% v/v), hace notar que dicha bacteria es capaz de que degrade el compuesto señalado, evidenciando su crecimiento bajo la forma logarítmica desde las 72 h hacia adelante, reportando tasas de crecimientos de 0,23/h (5%), 0,28/h (10%) y 0,31/h (15%).

### 4.2. Determinación del comportamiento de los parámetros fisicoquímicos durante los tratamientos en los biorreactores tipo air lift

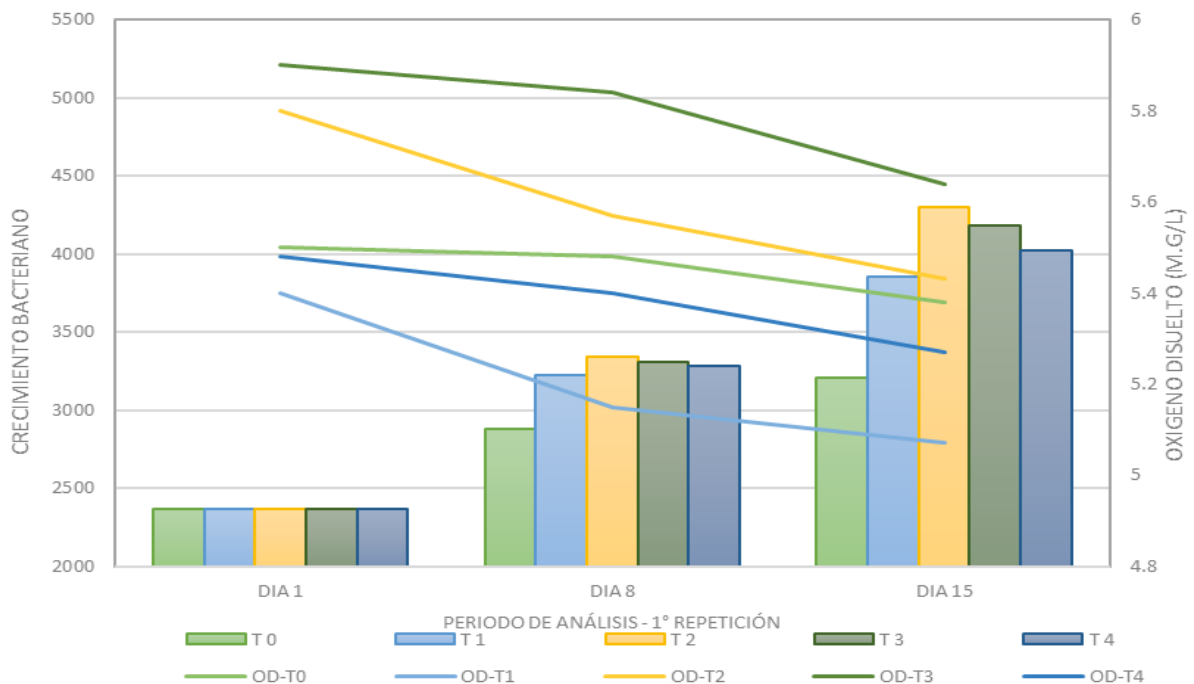
#### 4.2.1. Oxígeno disuelto

En la Tabla 21 del Anexo A se presenta los datos de temperatura, OD, pH y Temperatura en los días de evaluación medidos en el día uno, ocho y quince de la operación con tres repeticiones en la degradación de aceite lubricante de motor en biorreactores air lift.

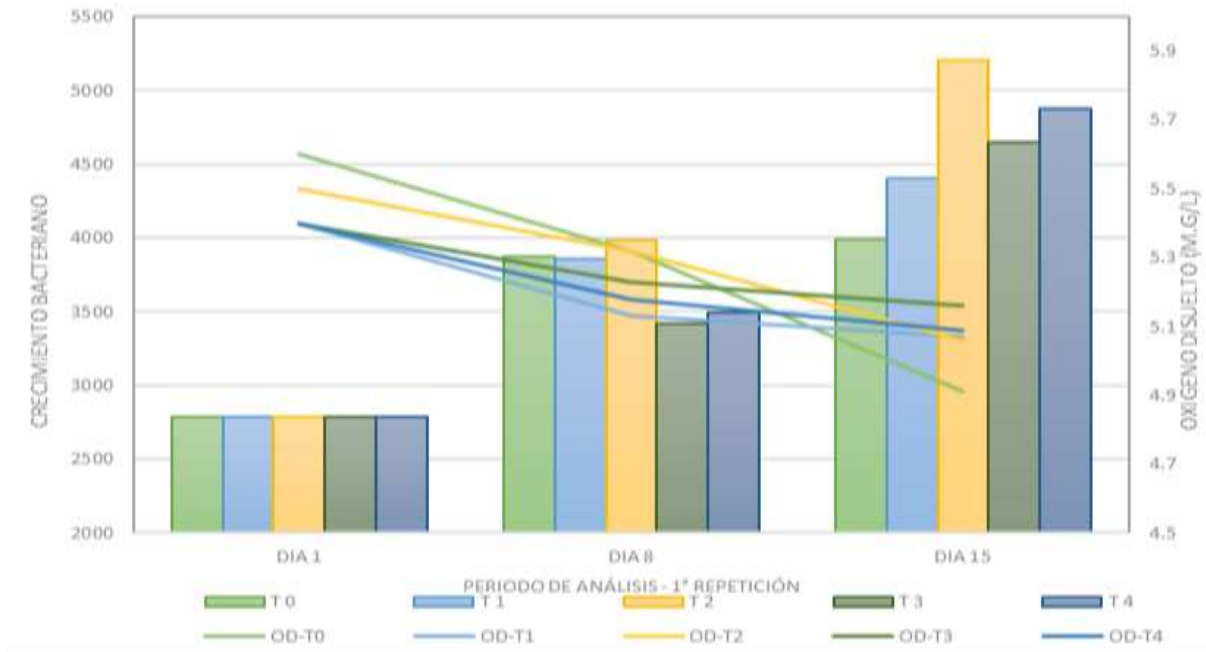
En las Figuras 7, 8 y 9 se observa que la variabilidad de las medidas del oxígeno disuelto (OD) en el tiempo de evaluación, donde presenta un comportamiento inversamente proporcional al crecimiento bacteriano; es decir, a medida que aumenta el crecimiento bacteriano el oxígeno disuelto disminuye.



**Figura 7.** Relación del OD y el crecimiento bacteriano en la primera repetición del estudio.



**Figura 8.** Relación del OD y el crecimiento bacteriano en la segunda repetición del estudio.



**Figura 9.** Relación del OD y el crecimiento bacteriano en la tercera repetición del estudio.

En la Tabla 9, se muestra el ANVA donde el valor-P obtenido para cada fuente de variación determinan que existe alta significancia estadística del oxígeno disuelto respecto a cada tratamiento, mostrando un valor-P inferior al nivel de significancia (5%) y con un 95% de nivel de confianza.

Asimismo, podemos afirmar de acuerdo al test de Shapiro los datos obtenidos tienen distribución normal y según el test de Bartlett existe evidencias para afirmar que las varianzas son homogéneas, con un coeficiente de variación de 2,50%.

**Tabla 9.** Análisis de varianza del oxígeno disuelto para los tratamientos con aceite residual lubricante de motor.

FV	GL	SC	CM	Razon F	Valor-P
Bloque	8	2,0785	0,25981	14,282	1,34E-08 ***
Tratamiento	4	0,363	0,09076	4,989	0,00306 **
Residual	32	0,5821	0,01819		
Test de Shapiro					0,86
Test de Bartlett					0,42
Cv (%)					2,50

FV: Fuentes de Variación; SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrados medios

En la prueba de comparación de medias HSD de Tukey correspondiente

al efecto de las concentraciones de aceite residual lubricante de motor sobre las lecturas del OD fue homogénea para 30 y 20 mg/L de aceite residual lubricante de motor (Tabla 10) y para 40 y 00 mg/L también parecidos, en comparación a la concentración de 10 mg/L siendo diferente entre todos los tratamientos.

**Tabla 10.** Pruebas de Tukey para el Oxígeno Disuelto según la concentración de aceite residual lubricante de motor (mg/L).

Tratamientos	Prom. Oxígeno disuelto	Grupos
T <sub>3</sub>	5,52	a
T <sub>2</sub>	5,47	a
T <sub>4</sub>	5,34	ab
T <sub>0</sub>	5,33	ab
T <sub>1</sub>	5,28	b

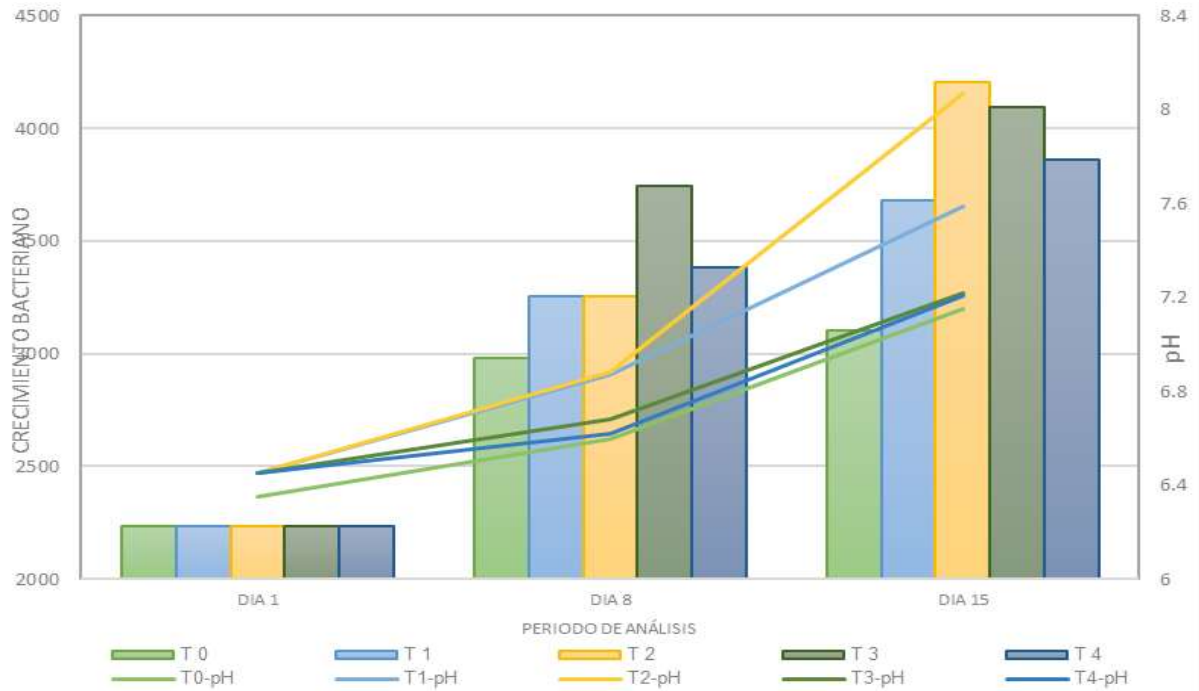
Letras diferentes demuestran significancia estadística.

En los resultados de los parámetros físicos y químicos determinados al operar cada biorreactor air lift, para los resultados del oxígeno disuelto (OD), dentro de las medidas evaluadas se encontró diferencias altamente significativas respecto al a las concentraciones en cada tratamiento, entre sus medias, siendo superior para el tratamiento con concentración de 30 mg/L (T<sub>3</sub>) de aceite residual lubricante de motor con un valor de 5,51 mg/L, seguida por el tratamiento con concentración de 20 mg/L (T<sub>2</sub>) de aceite residual lubricante de motor con un valor de 5,46 mg/L en cuanto a las concentraciones de 10 mg/L de aceite residual lubricante de motor presentaron una menor valor de las media del OD en el tiempo evaluado teniendo mayor disminución del oxígeno disuelto, una de las causas de este reporte es debido a que en esta concentración, hubo más número de microorganismos activos, según López (1998), el oxígeno disuelto disminuye cuando hay actividad microbiana, ya que estos emplean al oxígeno como parte de su metabolismo al ser aerobios.

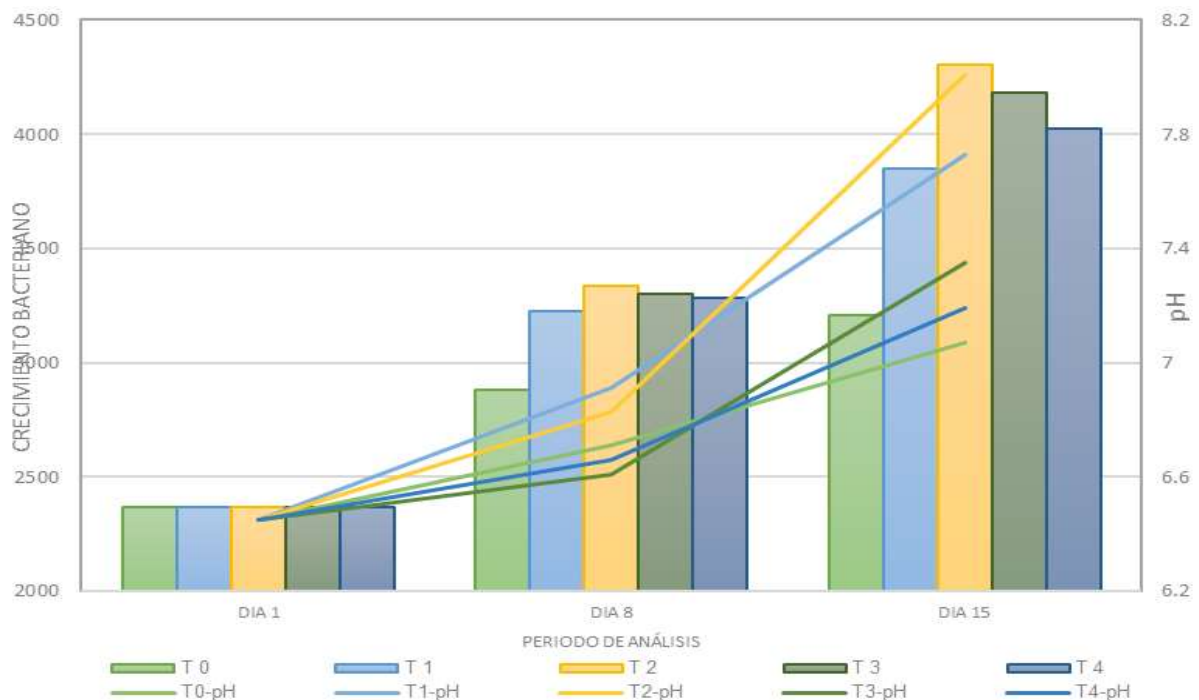
La biodegradación de los hidrocarburos poseen una dependencia directa con el metabolismo y el crecimiento microbiano, razón por la cual, cualquier factor que suele afectar el crecimiento microbiano perjudicaría la acción de la degradación de los hidrocarburos. La descomposición aeróbica de estos compuestos suelen llevarse con mayor rapidez que los procesos anaeróbicos, por lo que la descomposición rápida requiere de un buen suministro de oxígeno con la finalidad de mantener las condiciones aeróbicas (Periche, 2015).

#### 4.2.2. Nivel de pH

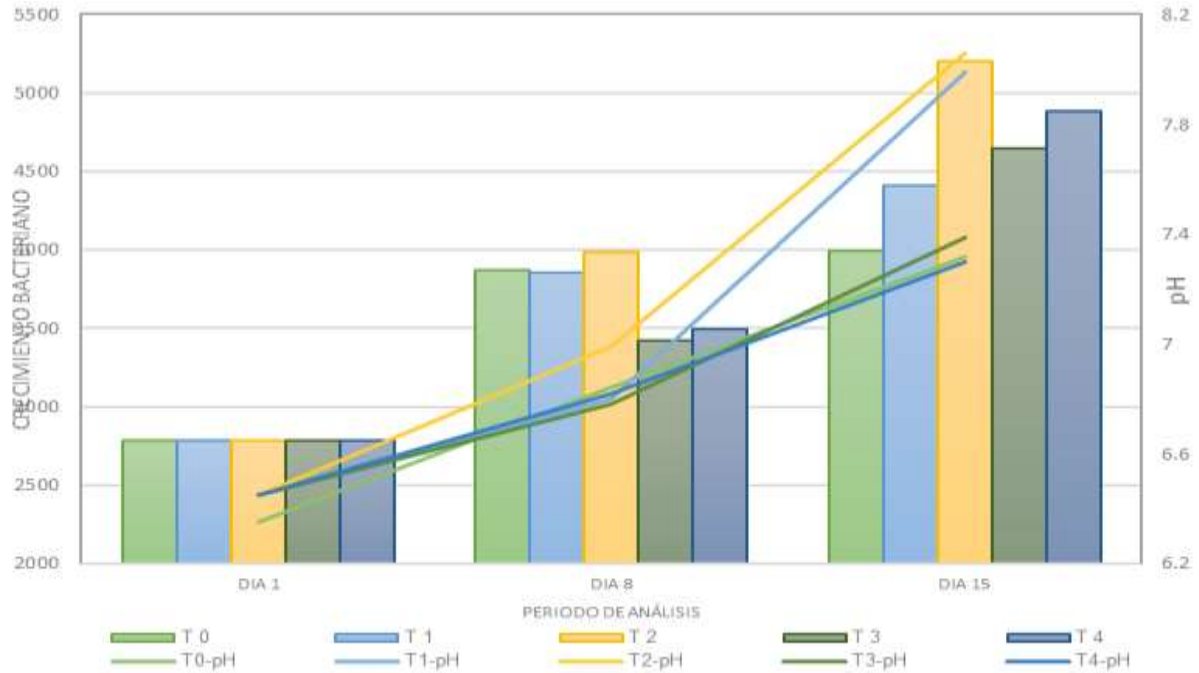
En las Figuras 10, 11 y 12 se observan las medidas del pH en los tiempos de evaluación con sus repeticiones; el pH aumento en los tratamientos que mayor crecimiento bacteriano se obtuvo.



**Figura 10.** Relación del pH el crecimiento bacteriano en la primera repetición del estudio.



**Figura 11.** Relación del pH el crecimiento bacteriano en la segunda repetición del estudio.



**Figura 12.** Relación del pH el crecimiento bacteriano en la tercera repetición del estudio.

El análisis de varianza para las medidas de pH durante el tiempo de degradación de aceite residual lubricante de motor en biorreactores tipo air lift (Tabla 11), se observa la existencia de una alta significancia estadística de las concentraciones de aceite lubricante de motor y el tiempo sobre las medidas de pH, donde el valor-P es inferior a 0,05 y con el 95% del nivel de confianza.

Asimismo, podemos afirmar en referencia al test de Shapiro que, los datos obtenidos tienen distribución normal para el pH y según el test de Bartlett existe evidencias en afirmar la existencia de varianzas homogéneas; con un coeficiente de variación de 2,57%.

**Tabla 11.** ANOVA para promedio de pH en relación a la concentración de aceite residual lubricante de motor (mg/L) y tiempo (días).

FV	GL	SC	CM	Razon F	Valor P
Bloque	8	9,161	1,1451	36,332	6,33E-14 ***
Tratamiento	4	0,962	0,2405	7,631	0,000195 ***
Residual	32	1,009	0,0315		
Test de Shapiro					0,1753
Test de Bartlett					0,1572
Cv (%)					2,57

FV: Fuentes de Variación; SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrados medios

Al realizar la comparación de medias HSD de Tukey respecto al efecto de las concentraciones del aceite residual lubricante de motor (mg/L) sobre las medidas de pH fue heterogénea o diferente para las concentraciones de 10 y 20 mg/L, resultando homogénea para el resto de las concentraciones de aceite residual lubricante de motor (Tabla 12).

**Tabla 12.** Las Pruebas de múltiples rangos HSD de Tukey, son medidas de pH según la concentración de aceite residual lubricante de motor (mg/L).

Tratamientos	Promedio del pH	Grupos
T <sub>2</sub>	7,132	a
T <sub>1</sub>	7,03	ab
T <sub>3</sub>	6,82	bc
T <sub>4</sub>	6,79	bc
T <sub>0</sub>	6,76	c

Letras diferentes demuestran significancia estadística.

Asimismo, para los resultados del pH, se encontró diferencias altamente significativas dentro de las variables en estudio ( $P < 0,05$ ) respecto a las concentraciones iniciales a 20 mg/L (5,78) y 10 mg/L (5,67) en relación al tiempo donde también se obtuvo el mayor crecimiento bacteriano; seguida por las concentraciones de 30 mg/L de aceite lubricante de motor (5,47) y 40 mg/L de aceite lubricante de motor (5,44) de acuerdo a la media, estos resultados coinciden con la crecimiento bacteriano del aceite lubricante de motor ya que en estas concentraciones hubo mayor interacciones físico químicas, entre la biomasa bacteriana aumentando el pH dentro de los biorreactores air lift, tal como lo justifica Izquierdo (2006) el incremento del nivel de pH desde valores ácidos hacia el valor neutro afecta de manera positiva al rendimiento de la bioadsorción de hidrocarburos. Se observa en otras investigaciones realizadas que las medidas del pH aumentan cuando hay remoción del hidrocarburo (Morales, 2008; Monge et al., 2008 y Guevara, 2010).

El nivel del pH óptimo en el caso de las bacterias heterótrofas fluctúa entre 6 a 8 (neutro), siendo de mayor acidez en el caso de los hongos donde los valores fluctúan de 4 a 5. Además, se estableció que el nivel del pH que se considera óptimo durante el proceso de biodegradación debe ser neutro con un rango de valores entre 7,4 hasta 7,8 (Verstraete et al., 1976; Dibble y Bartha, 1979).

#### 4.2.3. Temperatura

En las Figuras 13, 14 y 15 se observan las gráficas de las medidas de las



temperaturas medidas en los tiempos de evaluación con sus respectivas repeticiones, se observa que en las medidas de las temperaturas que tuvieron un incremento significativo son las que mayor crecimiento bacteriano presentaron.

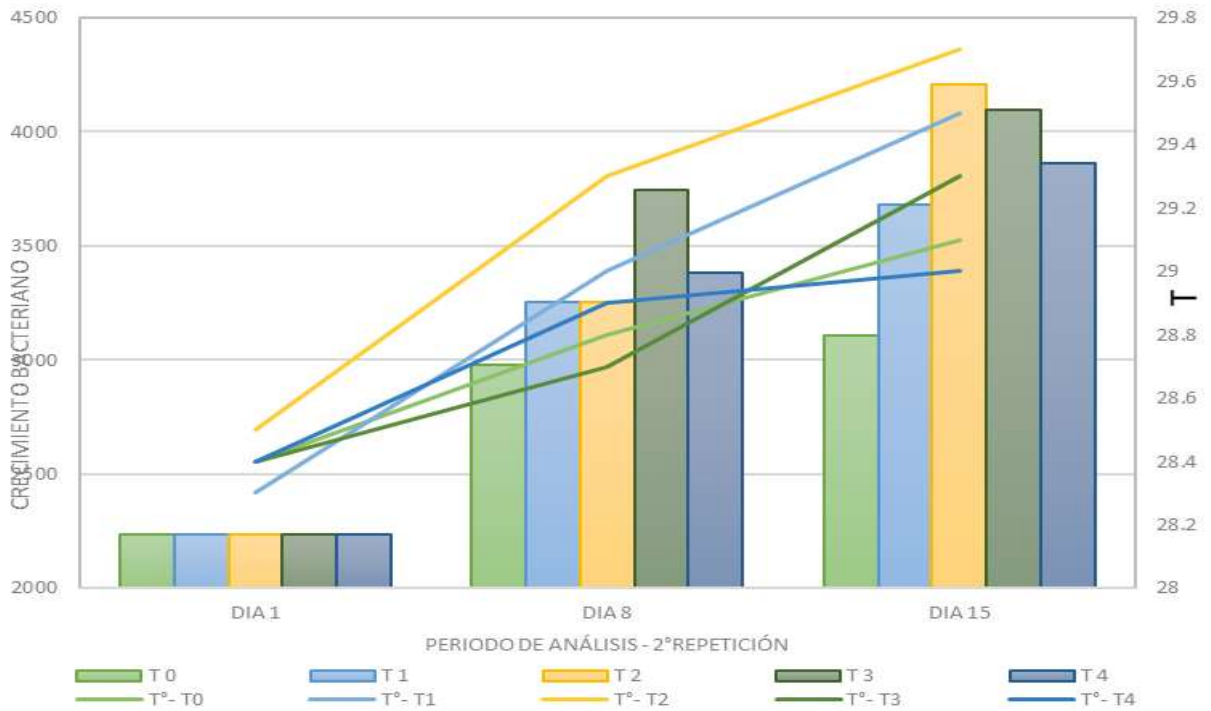


Figura 13. Relación de la temperatura y el crecimiento bacteriano en la primera corrida.

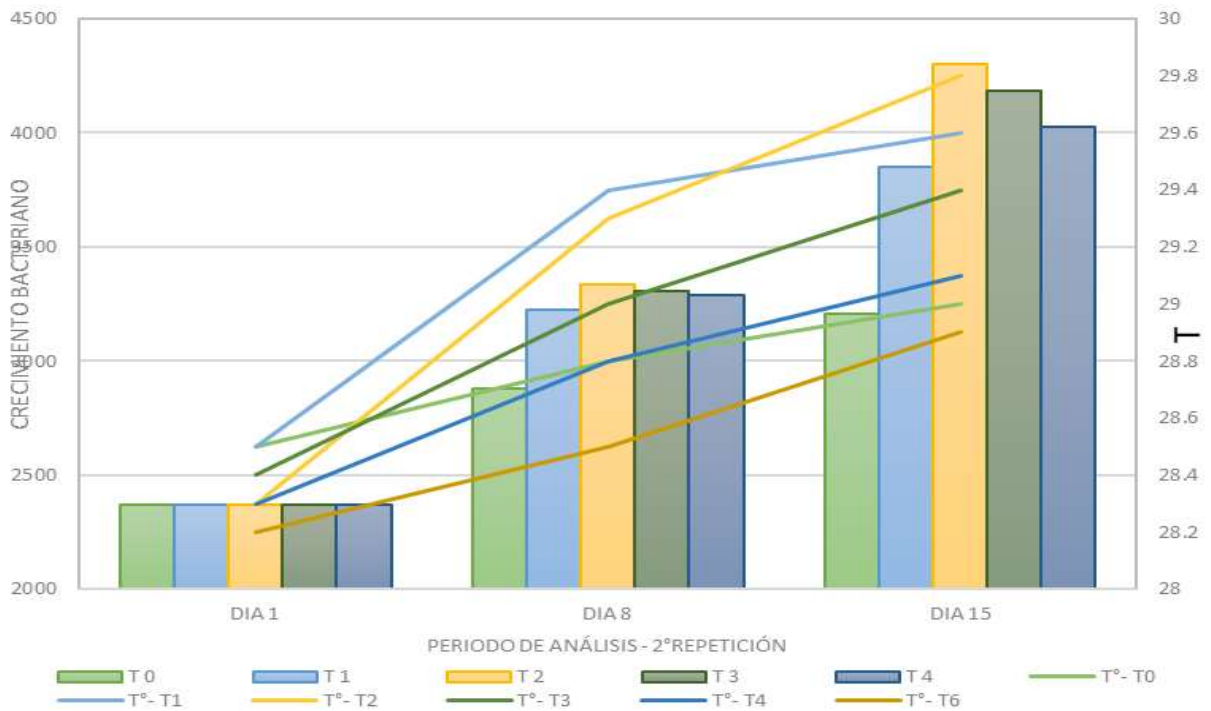
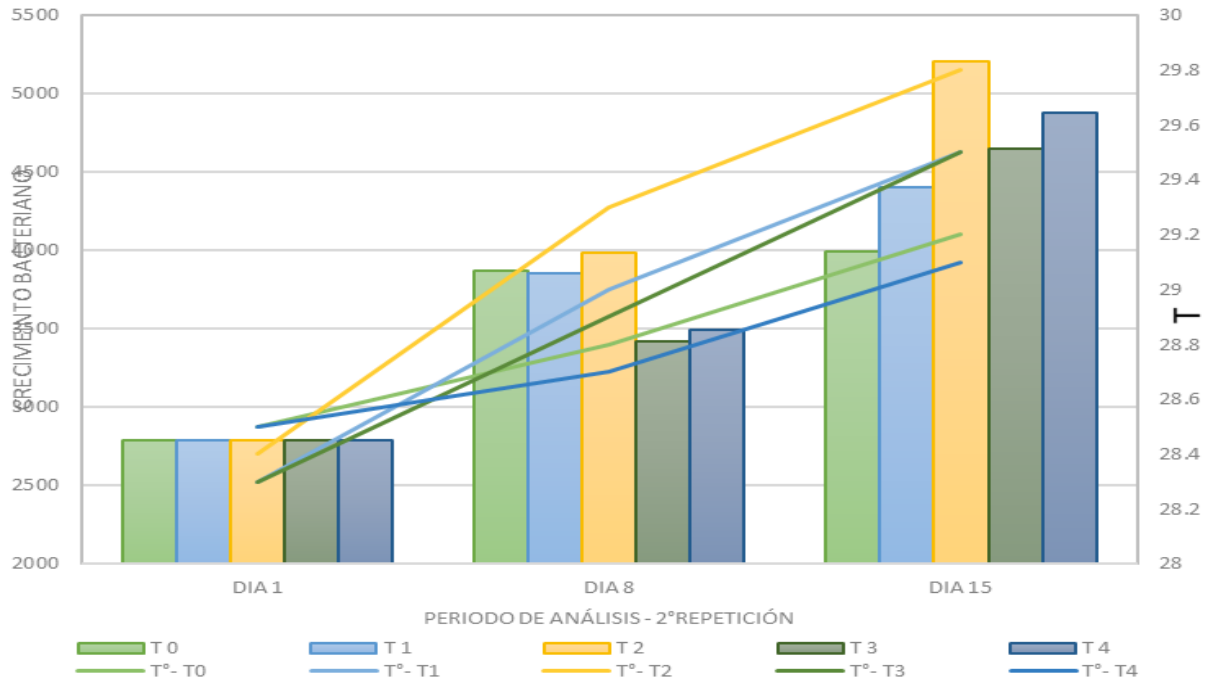


Figura 14. Relación de la temperatura y el crecimiento bacteriano en la segunda corrida.



**Figura 15.** Relación de la temperatura y el crecimiento bacteriano en la tercera corrida.

El ANVA para las medias de la temperatura al término de la operación de crecimiento bacteriano (Tabla 13), muestra que existe alta significancia estadística entre las concentraciones de aceite residual lubricante de motor sobre las medidas de temperaturas, con valor-P inferior a 0,05 y a un 95% de nivel de confianza.

Así mismo podemos afirmar de acuerdo al test de Shapiro los datos obtenidos tienen distribución normal y según el test de Bartlett existe evidencias en afirmar existen varianzas homogéneas, con un coeficiente de variación de 0,59%.

**Tabla 13.** ANVA para promedio de temperatura en relación a la concentración de aceite residual lubricante de motor (mg/L).

Fv	GL	SC	CM	Razon F	Valor-P
Bloque	8	7,266	0,9082	31,184	5,38E-13 ***
Tratamiento	4	0,988	0,247	8,481	8,77E-05 ***
Residual	32	0,932	0,0291		
Test de Shapiro					0,6705
Test de Bartlett					0,1604
Cv (%)					0,59

FV: Fuentes de Variación; SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrados medios

En la comparación de medias mediante HSD de Tukey, sobre el efecto

de las concentraciones del aceite residual lubricante de motor (mg/L) sobre las medidas de temperatura fueron heterogéneas para las concentraciones de 10, 20 y 40 mg/L, el resto fue homogéneo (Tabla 14).

**Tabla 14.** Pruebas de múltiples rangos HSD de Tukey para medidas de temperatura según la concentración de aceite residual lubricante de motor (mg/L).

Tratamientos	Prom. Temperatura	Grupos
T <sub>2</sub>	29,16	a
T <sub>1</sub>	29,01	ab
T <sub>3</sub>	28,88	bc
T <sub>0</sub>	28,79	bc
T <sub>4</sub>	28,76	c

Letras diferentes demuestran significancia estadística.

Para los resultados de temperatura (°C) se encontró diferencias altamente significativas dentro de sus medidas evaluadas con respecto a la concentración inicial, siendo superior las medias para 20 mg/L de 29,15 °C, seguida por 10 mg/L de 29,01 °C, 30 mg/L de 28,87 °C y de 40 mg/L de 28,75 dentro del tiempo de evaluación; por lo que hubo diferencias altamente significativas, siendo las medias heterogéneas o diferentes, esto indica que la temperatura a medida que aumente mejores resultados para la degradación de aceite lubricante de motor se obtendrá. Concordando con Park y Jong (2010) que afirman si bien la degradación de contaminantes es endotérmica, esta afecta en menor medida la degradación, si está dentro de un rango de 20 a 35 °C.

Las cepas microbianas se caracterizan por tener un rango determinado de tolerancia a distintos factores del ambiente como son: salinidad, temperatura y pH, los mismos que afectarían a las poblaciones microbianas respecto a sus actividades y su crecimiento. Razón por lo expuesto, al existir más diversidad de microorganismos se tendrá potencialmente mejores rangos de tolerancias. Aun no se definen las condiciones adecuadas en todos los casos, sin embargo por lo general a pH y temperatura extrema y en suelo salino se observa que la biodegradación se ralentiza, existiendo el rango óptimo de biodegradación con 6 a 8 de pH y desde 20 a 30 °C de temperatura (Alexander, 1999).

Un factor ambiental importante que afecta la actividad metabólica de los microorganismos así como la tasa de biodegradación viene a ser la temperatura. En casi todas las investigaciones llevadas a cabo sobre este tema, dan indicios que las condiciones mesofílicas con un rango de 20 °C hasta 30 °C resultan ser las adecuadas en la

biorremediación de un suelo contaminado (Menn et al., 2000).

#### 4.3. Determinación de la biomasa bacteriana en los biorreactores air lift con respecto a la concentración de aceite residual lubricante de motor

El ANVA para el promedio del crecimiento bacteriano (Tabla 15), muestra que existe significancia estadística entre las concentraciones de aceite residual lubricante de motor sobre las medidas de crecimiento bacteriano, con valor-P inferior a 0,05 y un 95% de nivel de confianza. Asimismo, podemos afirmar de acuerdo al test de Shapiro los datos obtenidos tienen distribución normal y según el test de Bartlett existe evidencias para afirmar existen varianzas homogéneas, con un coeficiente de variación de 7,31%.

**Tabla 15.** ANOVA para promedio de crecimiento en relación a la concentración de aceite residual lubricante de motor (mg/L).

FV	GL	SC	CM	Razon F	Valor-P
Bloque	8	24176356	3022045	51,009	4,79E-16
Tratamiento	4	1142420	285605	4,821	0,00332
Residual	32	1895863	59246		
Test de Shapiro					0,4101
Test de Bartlett					0,7271
Cv (%)					7,31

FV: Fuentes de Variación; SC: Suma de cuadrados; CM: Cuadrados medios

En la comparación de medias por HSD de Tukey sobre el efecto de las concentraciones del aceite residual lubricante de motor (mg/L) sobre las medidas de crecimiento bacteriano fueron para las concentraciones de 20 y 30 mg/L fueron homogéneas entre sí y ligeramente diferentes con las concentraciones de 10 y 40 mg/L (Tabla 16).

**Tabla 16.** Pruebas de múltiples rangos HSD de Tukey para medidas de temperatura según la concentración de aceite residual lubricante de motor (mg/L).

Tratamientos	Prom. Crec. Bacteriano	Grupos
T <sub>2</sub>	4021,33	a
T <sub>3</sub>	3838,22	a
T <sub>4</sub>	3626,67	ab
T <sub>1</sub>	3589,33	ab
T <sub>0</sub>	3512,00	B

Letras diferentes demuestran significancia estadística.

En los resultados de la biomasa no se encontró diferencias significativas con respecto a las concentraciones de aceite residual lubricante de motor en el estudio; las concentraciones 20 y 30 mg /L de aceite residual tienen las mayores medias, por lo cual podemos afirmar que esta depende de la adaptación o el metabolismo que realizan los microorganismos dentro del biorreactor. Concordando con Cáceres (2011) que afirma que la biomasa de los microorganismos, tienden a incrementarse hasta el octavo día, luego se mantienen ligeramente constante hasta que culmine la operación, tal como lo menciona Koutny et al. (2006) que el crecimiento con mayor rapidez de los microorganismos al inicio de la incubación se puede deber al consumo de los aditivos, fragmentos oxidables y/o al co-metabolito sin que esto signifique una degradación real del hidrocarburo. Como mencionan Panigatti et al. (2011) la concentración del hidrocarburo al que se exponen los microorganismos suele afectar negativamente al crecimiento bacteriano, se muestra una disminución de las poblaciones a medida que se incrementan las concentraciones de éstas. Moreira et al. (2008) afirman que la cantidad de biomasa no afecta el proceso de degradación de forma significativa, pero se difiere cuando indica que a un mayor incremento de la biomasa mejor eficiencia de degradación se obtendrá.

El crecimiento bacteriano es un indicador indirecto de la capacidad degradativa que presentó el lubricante SAE-20W50; respecto a la grasa total y la concentración de hidrocarburos totales, los resultados observados indican de manera directa la respectiva merma de dichas sustancias que se encontraban dentro del biorreactor, ratificando la existencia de la acción degradativa del aceite que fueron sometidas a la población de *Ps aeruginosa* (Cahuas, 2021).

#### **4.4. Determinación de la eficiencia de las bacterias del género *Pseudomonas* aisladas de un suelo agrícola**

En las Tablas 17, 18 y 19, se registraron las colonias de microorganismos y el cálculo de la eficiencia bacteriana en el proceso de la degradación en el cual en la Tabla 17, se observó la presencia de un mayor valor porcentual referente a la eficiencia microbiana correspondiente al tratamiento dos (T<sub>2</sub>) que presenta una concentración de aceite lubricante en proporción de 20 mg/L de la primera repetición, medio en donde se observó el crecimiento de la población microbiana y también se registró menor valor porcentual de eficiencia microbiana correspondiente al tratamiento (T<sub>1</sub>) de la tercera repetición que se encontraba a una concentración de 10 mL de aceite residual lubricante de motor en donde creció la cantidad de la población microbiana pero en menor porcentaje durante la operación de los biorreactores.

**Tabla 17.** Crecimiento temporal de las bacterias dentro del biorreactor y la eficiencia bacteriana al biorremediar el petróleo refinado para la repetición uno.

Primera Repetición				
Tratamientos	# Colonias			% Efic. Bacteriana
	Día 1	Día 8	Día 15	
T <sub>0</sub>	2 232	2 980	3 104	39,068
T <sub>1</sub>	2 232	3 256	3 678	64,785
T <sub>2</sub>	2 232	3 256	4 208	88,530
T <sub>3</sub>	2 232	3 744	4 094	83,423
T <sub>4</sub>	2 232	3 384	3 864	73,118

Efic.: Eficiencia

**Tabla 18.** Crecimiento temporal de las bacterias en el biorreactor y su eficiencia bacteriana al biorremediar el petróleo refinado para la repetición dos.

Segunda Repetición				
Tratamientos	# Colonias			% Efic. Bacteriana
	Día 1	Día 8	Día 15	
T <sub>0</sub>	2 368	2 880	3 208	35,473
T <sub>1</sub>	2 368	3 224	3 852	62,669
T <sub>2</sub>	2 368	3 338	4 302	81,672
T <sub>3</sub>	2 368	3 304	4 184	76,689
T <sub>4</sub>	2 368	3 286	4 024	69,932

Efic.: Eficiencia

**Tabla 19.** Crecimiento temporal de las bacterias en el biorreactor y su eficiencia bacteriana al biorremediar el petróleo refinado para la repetición tres.

Tercera Repetición				
Tratamientos	# Colonias			% Efic. Bacteriana
	Día 1	Día 8	Día 15	
T <sub>0</sub>	2 784	3 872	3 994	43,463
T <sub>1</sub>	2 784	3 856	4 406	58,261
T <sub>2</sub>	2 784	3 984	5 204	86,925
T <sub>3</sub>	2 784	3 422	4 650	67,026
T <sub>4</sub>	2 784	3 496	4 880	75,287

Efic.: Eficiencia

Según Guevara (2010). el uso de tratamientos biológicos utilizando microorganismos se obtiene resultados alentadores y que se pueden continuar para la degradación de hidrocarburos, siendo una alternativa viable; tal como podemos observar en la investigación la degradación del aceite residual lubricante de motor con un hasta 88.530 % de crecimiento bacteriano siendo el incremento de este un indicador de degradación de contaminante.

## V. CONCLUSIONES

1. Se aislaron bacterias del género *Pseudomona* en agar cetrimida de un suelo agrícola.
2. Se determinó los parámetros fisicoquímicos como oxígeno disuelto, pH y temperatura todos ellos indicando diferencias significativas entre los tratamientos establecidos; obteniendo una menor disminución de oxígeno disuelto en el T<sub>3</sub>; un mayor promedio de pH y temperatura en el T<sub>2</sub>, medidas favorecieron al degradación de aceite residual lubricante de motor.
3. El mayor incremento de la biomasa bacteriana se presentó a 15 días de la operación en la concentración de 20 mg/L de aceite residual lubricante de motor (5204 UFC) en la tercera repetición, indicando la degradación de aceite residual lubricante de motor.
4. El mayor porcentaje de eficiencia bacteriana se mostró en tratamiento dos (T<sub>2</sub>) de la segunda repetición a una concentración de 20 mL aceite lubricante de motor en donde se obtuvo un porcentaje 88,5 % de eficiencia bacteriana.



## **VI. PROPUESTAS A FUTURO**

1. El uso de biorreactores es una propuesta tecnológica sostenible en el tiempo porque *Pseudomonas* tienen un alto potencial de degradación. De manera recurrente se tienen posibilidades de que los aceites lubricantes usados o sin usar sean derramados sobre el suelo, el agua u otra parte del ambiente; estos contaminantes suelen ser derramados, razón por la cual se va necesitar a menudo tecnologías como las biológicas que remedien los problemas de contaminación que debe estar vinculado a una gestión ambiental adecuada en caso de derrames de aceites lubricantes.
2. Resulta de necesidad prioritaria que, las empresas griferas y/o talleres mecánicos contengan un programa para recoger o tratar los desechos líquidos oleosos con fines de evitar que se contamine las ciudades, los campos o el medio ambiente; contar con medidas de contingencia en caso de derrames y/o fugas de aceite usado.
3. Generar conciencia ambiental a través de la educación, mediante charlas y/o capacitaciones que contemplen temas sobre generación, características, clasificación, peligrosidad, manejo adecuado del aceite lubricante usado, impactos del manejo inadecuado en la salud y el ambiente-
4. Establecer mecanismos para que los generadores de aceite usado operen según los requerimientos de la Norma Técnica Peruana. NTP 900.051.
5. Gestión Ambiental, manejo de aceites usados, generación, recolección y almacenamiento; el transporte del aceite usado debe ser realizado por empresas autorizadas por la DIGESA.
6. Establecer un sistema contra incendios donde se incluyan la presencia de extintores portátiles y todo el equipamiento necesario.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aashto, T. (2014). Standard Method of Test for Reducing Samples of Aggregate to Testing Size. 7pp
- Acuña, N. (2017). *Revisión bibliográfica sobre los microorganismos biodegradadores de polietileno de baja densidad LDPE y sus efectos en el material* [Tesis de pregrado, Universidad Distrital Francisco José de Caldas]. Repositorio institucional Udistrital. <https://repository.udistrital.edu.co/handle/11349/5608>.
- Aguilar, L. D. (2013). Aislamiento de microorganismos productores de biosurfactantes. *Scientia Agropecuaria*, 7(1), 23-31. <https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.01.03>
- Alexander, M. (1961). *Introduction to soil microbiology*. John Wiley.
- Alexander, M. (1994). *Biodegradation and Bioremediation*. Academic Press.
- Alexander, M. (1999). *Biodegradation and Bioremediation* (2 ed.). Academic Press.
- Altamirano, M., y Pozzo, M. (2000). *Aislamiento e identificación de bacterias hidrocarburoclíticas provenientes de un suelo sometido a biorremediación*.
- Amobonye, A., Bhagwat, P., Singh, S., & Pillai, S. (2021). Plastic biodegradation: Frontline microbes and their enzymes. *Science of The Total Environment*, 759, 143536 <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143536>
- Araujo, B., Lucas, S. C., Maciel, S. T., Wisniewski, A. Jr., & Alexandre, M. R. (2012). Environmental strategies to remove volatile aromatic fractions (BTEX) from petroleum industry wastewater using biomass. *Bioresource Technology*, 105, 31-39.
- Barrios, J., Robayo, S., Prieto, S., y Cardona, J. (2015). Biorremediación de suelos contaminados con aceites usados de motor. *Revista CINTEX*, 20(1), 69-96.
- Beltrán, M., Brutti, L., García De Salamone, I. (2018). *Biorremediación de los recursos naturales*. Ediciones INTA.
- Bradshaw, L. (2000). *Microbiología del laboratorio*. Edit. El manual moderno S.A.
- Cabrera, J. G. (2018). *Elaboración de un diagnóstico de la gestión de aceites automotrices usados generados en lubricadoras y estaciones de servicio para el planteamiento de una propuesta de manejo adecuado ciudad de Quevedo, provincia de los Rios – 2016* [Tesis de posgrado, Universidad Nacional de Tumbes].
- Cáceres, A., Gutiérrez-Riaño S. M., y Miranda-García, J. (2006). Bioremediación de suelos contaminados. *Nova*, 20(1), 82-90.

- Cahuas, P. (2021). *Efecto de diferentes concentraciones de inóculo de Pseudomonas aeruginosa en la degradación de aceite lubricante en laboratorio* [Tesis de posgrado, Universidad Nacional De Trujillo].
- Cañizares, R. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Rev. Latinoam Microbiol.*, 42, 131-143.
- Castillo, F., Blasco, R., Caballero, F., Conrado, M., Huertas, M., Luque, M., y Roldán, M. (2005). *Biotechnología ambiental*. Editorial Tébar.
- Castro, V. M. (2009). *Determinación de la capacidad biodegradativa de hidrocarburos de distintas poblaciones bacterianas presentes en un acuífero contaminado con combustibles en Moín, Limón*. <http://hdl.handle.net/10669/73294>
- Cevallos, P. T., y García, D. J. (2018). *Evaluación de la biodegradación de suelos contaminados con hidrocarburos utilizando Aspergillus niger, Pleorotus ostreatus y Pseudomonas aeruginosa* [Tesis de pregrado, Universidad Politécnica Salesiana].
- Chebbi, A., Hentati, D., Cheffi, M., Bouabdallah, R., Choura, C., Sayadi, S., & Chamkha, M. (2018). Promising abilities of mercapto-degrading Staphylococcus capitis strain SH6 in both crude oil and waste motor oil as sole carbon and energy sources: its biosurfactant production and preliminary characterization. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 93(5), 1401–1412. doi:10.1002/jctb.5508
- Chebbi, A., Hentati, D., Zaghdien, H., Baccar, N., Rezgui, F., Chalbi, M., Sayadi, S., & Chamkha, M. (2017). Polycyclic aromatic hydrocarbon degradation and biosurfactant production by a newly isolated Pseudomonas sp. strain from used motor oil-contaminated soil. *Internationalm Biodeterioration and Biodegradation*, 122, 128-140. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.05.006>
- Chirre, J. F., Patiño, A. G., y Erazo, E. R. (2019). Estudio de la biodegradación de residuos de aceite lubricante retenidos en bentonita usando el consorcio bacteriano oil eating microbes (Rodhococus, Pseudomonas y Bacillus). *Rev Soc Quím Perú*. 85(2), 163-174.
- Chisti, M. (1989). *Airlift Bioreactors*. Elsevier Applied Science.
- Chisti, Y., & Moo-Young, M. (2002). Bioreactors. *Encyclopedia of physical Science and Technology*, 2, 247-266.
- Conesa, A., Punt, P., Van, D., & Hondel, C. (2002) Fungal peroxidases: Molecular aspects and applications. *J. Biotechnol.*, 193(1), 143-158.
- Conesa, A., Punt, P., Van, D., & Hondel, C. (2002). Fungal peroxidases: Molecular aspects and applications. *J. Biotechnol.*, 193, 143-158.

- Das, N., & Chandran, P. (2011). Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. *Biotechnology Research International*, 1, 1-13.
- Daud, S., Najib, M., & Zahed, N. (2016). *Classification of lubricant oil odor-profile using casebased reasoning*. Process and Control (ICSPC, 207-2012).
- Dibble, J. R., y Bartha, R.. (1979). Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge. *Appl.Env. Microbiol.*, 37(1), 729-739.
- El Peruano. (2008). Ley 28611 DS N°037-2008-PCM y DS N° 015-2006-EM. Perú. EPA (United States Environmental Protection Agency). SW-846 Method 3540C Soxhlet Extraction. Manual. Government Printing Office. 8 pp. <https://19january2017snapshot.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3540c.pdf>
- Feitkenhauer, H., Müller, R., & Märkl, H. (2003). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and long chain alkanes at 60-70 degrees C by Thermus and *Bacillus* spp. *Biodegradation*, 14(6), 367-72.
- Fong, W., Quiñonez, E., y Tejada, C. (2017). Caracterización fisico-química de aceites usados de motores para su reciclaje. *Prospectiva*, XIV(2), 135-144.
- Gallegos-Rangel, M. E., Madera-Sandoval, R. L., Castro-Escarpulli G., Nájera-Martínez, M., Domínguez-López M.L., & García-Latorre E.A. (2018). Toxicokinetic and toxicodynamic symbiotic interactions among intestinal *Pseudomonas* degrading of hydrocarbons with its wild host fish *Chirostoma jordani*. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 34(4), 1-15. DOI: 10.20937/rica.2018.34.04.15
- Gibson, D. T., & Parales, R. E. (2000). Aromatic hydrocarbon dioxygenases in environmental biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 11(3), 236-243. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(00\)00090-2](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(00)00090-2)
- Guevara, D. (2010). *Biorremoción de cromo (cromo total y cromo vi) en agua sintética por dos inóculos bacterianos nativos compuestos, a escala de laboratorio* [Tesis de Pregrado, Escuela Politécnica del Ejército].
- Hanson, K., Desai, J., & Desai, A. A. (1993). Rapid and simple screening technique for potential crude oil degrading microorganisms. *Biotechnology Techniques*, 7(10), 745-748.
- Haritash, A. K., & Kaushik, C. P. (2009) Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review. *Journal of Hazardous Materials*, 169(1), 1-15 <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.03.137>.
- Ibarra, E. D. W., y Redondo, M. J. M. (2011). Modelo para biorremediación de sueloscontaminados. Una aproximación con dinámica de sistemas. Modelo de

biorremediación de suelos contaminados. Un enfoque de dinámica de sistemas. En: “*La simulación al servicio de la academia-reflexiones y aplicaciones de la dinámica de sistemas en Colombia 2011*”, Memorias del 9 encuentro colombiano de dinámica de sistemas ISSN 2027-7709/2011. <http://repository.urosario.edu.co/handle/10336/2862>

- Ifeanyichukwu, A. H. (2011). The Potential of *Chromolaena odorata* (L) to decontaminate used engine oil impacted soil under greenhouse conditions. *International Journal of Phytoremediation*, 13, 627-641.
- Izquierdo, M. (2010). *Eliminación de los metales pesados en aguas mediante bioadsorción. Evaluación de materiales y modelación del proceso* [Tesis Doctoral, Universidad de Valencia].
- Koutny, M., Sancelme, M., Dabin, C., Pichon, N., Delort, A., & Lemaire, A. (2006). Acquired biodegradability of polyethylenes containing prooxidant additives. *Polym. Deg. Stabil.*, 91, 1495-1503.
- Llanco, R., y Reátegui, B. (2018). *Identificación de bacterias degradadoras de petróleo en ecosistema Acuático de una actividad petrolera de 46 Coronel Portillo-Ucayali 2018* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Ucayali].
- López, C. (1998). *Transformación de tetracloroetano (TcCA) por biopelículas metilotróficas* [Tesis de Posgrado, Universidad Nacional de Trujillo].
- Lopez, C., Vivar, L., Mazabel, C., Garcia, R., y Sias, R. (2006). *Biorremediación de contaminación por fermentación sumergida utilizando biopelículas de microorganismos nativos de suelos tropicales de la zona de Tingo María*. Universidad Nacional Agraria de la Selva.
- Lopez, E. (2004). *Diseño, construcción y caracterización hidrodinámica de un biorreactor multifuncional* [Tesis de Pregrado, Universidad Tecnológica de Mixteca].
- López, I. (2009). *Estudio del efecto del fuego en los cambios microestructurales de las aleaciones de cobre* [Tesis de Posgrado, Universidad Politécnica de Valencia].
- Madigan, M., Martinko, J., y Parker, J. (2004). *Brock: Biología de los microorganismos* (10ª ed.). Prentice Hall.
- Manzanares, E., Vega, H., Salas, M., Hernández, V., Letechipia, C., y Bañuelos, R. (2006). Niveles de plomo en la población de alto riesgo y su entorno en San Ignacio, Fresnillo, Zacatecas, México. *Salud pública de México*, 48, 212-219.
- Manzanares-Jiménez., L. A., e Ibarra-Ceceña, M G. (2012). Diagnóstico del uso y manejo de los residuos de aceite automotriz en el Municipio del Fuerte. Univ. Autónoma

- Indígena de México. Sinaloa. *Ra Ximhai*. 8(2), 129-137.  
<http://www.redalyc.org/articulo.Oa?id=46123333013>.
- Mccullough, J., Hazen, T., Benson, S., Metting, F., & Palmisano, A. (1999). *Bioremediation of metals and radionuclides*. <http://www.escholarship.org/uc/item/8s57v0cs?display=all>
- Mendoza-Ávalos, A., y Guerrero-Padilla, A. (2015). Biodegradación de petróleo diesel-2 en agua de mar por *Pseudomonas aeruginosa* en un biorreactor aireado y agitado. *Revista Sciendo*, 18(1), 23-37.
- Miranda, H., Robles, H., Villanueva, L., y Rodriguez, C. (2006). *Biorreactores, diseño y aplicaciones*. Sociedad Peruana de Biotecnología.
- Monge, O., Valenzuela, J., Acedo, E., Certucha, M., y Almendáriz, F. (2008). Biosorción de cobre en sistema por lote y continuo con bacterias aerobias inmovilizadas en zeolita natural (Clinoptilolita). *Rev. Int. Contam. Ambient.*, 24(3), 107-115.
- Nalini, S., & Parthasarathi, R. (2013). Biosurfactant production by *Serratia rubidaea* SNAU02 isolated from hydrocarbon contaminated soil and its physico-chemical haracterization. *Bioresource Technology*, 147, 619-622. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.08.041>
- Núñez, R. (2003). *Técnicas in vitro para la biorremediación de cromo y plomo* [Tesis de Pregrado, Instituto Tecnológico de Costa Rica]. Repositorio institucional TEC. <https://repositoriotec.tec.ac.cr/bitstream/handle/2238/411/Rafael%20Angel%20Nunez%20Chaves.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2011). *Guías para la calidad del agua potable* (4 ed.). OMS.
- Otiniano, N. M. (2010). *Eficiencia de Pseudomonas sp, Rhodopseudomonas sp, Micrococcus sp y Bacillus sp empleados como cultivos individuales y en consorcio, en la degradación de petróleo diesel II* [Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Trujillo].
- Pacwa-Płociniczak, M., Płociniczak, T., Iwan, J., Zarska, M., Chorazewski, M., Dzida, M., & Piotrowska- Seget, Z. (2016). Isolation of hydrocarbondegrading and biosurfactant-producing bacteria and assessment their plant growth-promoting traits. *Journal of Environmental Management*, 168, 175-184. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.11.058>
- Panigatti, M., Griffa, C., Boglione, R., Gentinetta, F., y Cassina, D. (2011). Uso de *Escherichia coli* para biorremediación de efluentes contaminados por cromo (VI). *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 3(2), 11-24.
- Park, D., & Jong, M. (2010). The Past, Present, and Future Trends of Biosorption. *Rev.*

*Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 15, 86-102.

- Pérez, R. M., Camacho Pozo M. I., Gómez Montes de Oca J. M., Ábalos Rodríguez A., Vinas M. y Cantero Moreno, D. (2007). Aislamiento y selección de una cepa bacteriana degradadora de hidrocarburos a partir de suelos contaminados con petróleo. *Revista cenic Ciencias Biológicas*, 39(1), 44-51.
- Pérez, R. S., Silva, M. I., Peñuela, G. A., y Cardona, G. S. (2015). Evaluación de biocombustibles e hidrocarburos del petróleo (gasolina y diesel) en un suelo: proceso de transporte y biorremediación. *Revista EIA*, 12, 21-46.
- Pérez, R. S., Silva, M. I., Peñuela, G. A., y Cardona, G. S. (2015). Evaluación de biocombustibles e hidrocarburos del petróleo (gasolina y diesel) en un suelo: proceso de transporte y biorremediación. *Revista EIA*, 12, 21-46.
- Periche, F. D. (2015). *Efecto de las concentraciones del surfactante Polioxietileno (20) Monoelato de Sorbitán "Tween 80" en la biodegradación del petróleo Diesel II en suelo por Pseudomonas aeruginosa.*
- Pucci, G., Acuña, A., y Pucci, O. (2015). Biodegradación de hidrocarburos en fondos de tanques de la industria petrolera. *Revista Peruana de Biología*, 97-101. doi:<http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v22i1.11126>
- Quiliche-Duran, J. P., y Huayna, D. L. (2015). Aislamiento e identificación de *Pseudomonas aeruginosa* provenientes de suelos en talleres de automóviles con potencial en biorremediación. *Infinitum*, 5(2), 105-109. <https://doi.org/10.51431/infinitum.v5i2.320>
- Rache-Arce, D. C., Machacado-Salas, M., y Rosero-García, D. (2022). Hydrocarbondegrading bacteria in Colombia: systematic review. *Biodegradation*, 33(2), 99-116. DOI: 10.1007/s10532-022-09976-z
- Raiger, L. J., y López, N. I. (2009). Los biosurfactantes y la industria petrolera. *Química Viva*, 8(3), 146-161. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/84389>
- Rivera, J., Bautista, I., Ferro, M., y Moreno, C. (2004). Bioadsorption of Pb(II), Cd(II) and Cr(VI) on activated carbon from aqueous solutions. *Carbon*, 41, 323-330.
- Scragg, A. (2002). *Biotecnología para ingenieros: sistemas biológicos en procesos tecnológicos*, México. Ed. Limusa.
- Semarnat. (2005). Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación. Secretaria de medio ambiente y recursos naturales. *Diario Oficial de la Federación*.
- Semple, K. T., Reid, B. J., & Femor, T. R. (2001). Impact of composting strategies on the treatment of soil contaminated with organic pollutants. *Environmental Pollution*, 112,

- 269-283. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(00\)00099-3](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00099-3)
- SINIA. (2019). *Zonificación Ecológica Económica Base para el ordenamiento territorial de la Región Huánuco*. SINIA. <https://sinia.minam.gob.pe/documentos/zonificacion-ecologicaeconomica-base-ordenamiento-territorial-region>
- Sirlopú, C., y Rojas, P. (1997). *Efecto de la concentración de inóculo y sustrato en la degradación de petróleo en agua de mar artificial con un cultivo mixto bacteriano* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Trujillo].
- Solanas, A. (2009). *Biodegradación de hidrocarburos y su aplicación en la biorremediación de suelos*. Universidad de Barcelona.
- Take, M., Shaikh, T., Mane, N., & Majunder, D. (2002). Biorremediation of xenobiotics: Use of dead fungal biomass as biosorbent. *India*, 3(1), 1-5.
- Vásquez, M., Guerrero, J., y Quintero, A. (2010). Biorremediación de lodos contaminados con aceites lubricantes usados. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 12(1), 141-157.
- Vergara, A., Alarcón, N. A., Aroca, G. E., y Lara, L. (2005). Effects of gas flow rate, Inlet concentration and temperatura. *J. Biosci Bioeng.*, 93(2), 165-9-169. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16233182>
- Villanueva, C. C. (2006). *Biosorción de cobre (II) por biomasa de pretratada de cáscara de Citrus Sinensis (naranja), Citrus Limonium (limón) y Opuntia Ficus (palmeta de nopal)* [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. Repositorio institucional UNMSM. [https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/2112/Villanueva\\_hc.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/2112/Villanueva_hc.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Viñas, M., y Cantero, D. (2005). Aislamiento y selección de una cepa bacteriana degradadora de hidrocarburos a partir de suelos contaminados con petróleo. *Revista CENIC: Ciencias Biológicas*, 39, 44-51. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181214889004>
- Vizuite, R. (2011). *Determinación de la capacidad biodegradadora de hidrocarburos de bacterias aisladas de suelos contaminados con petróleo* [Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Ambato].
- Volke, T., y Velasco, J. (2002). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados*. Instituto Nacional de Ecología.



## **ANEXO**

**ANEXO A.** Datos obtenidos durante la operación en los biorreactores tipo air lift

**Tabla 20.** Crecimiento del consorcio bacteriano durante la operación.

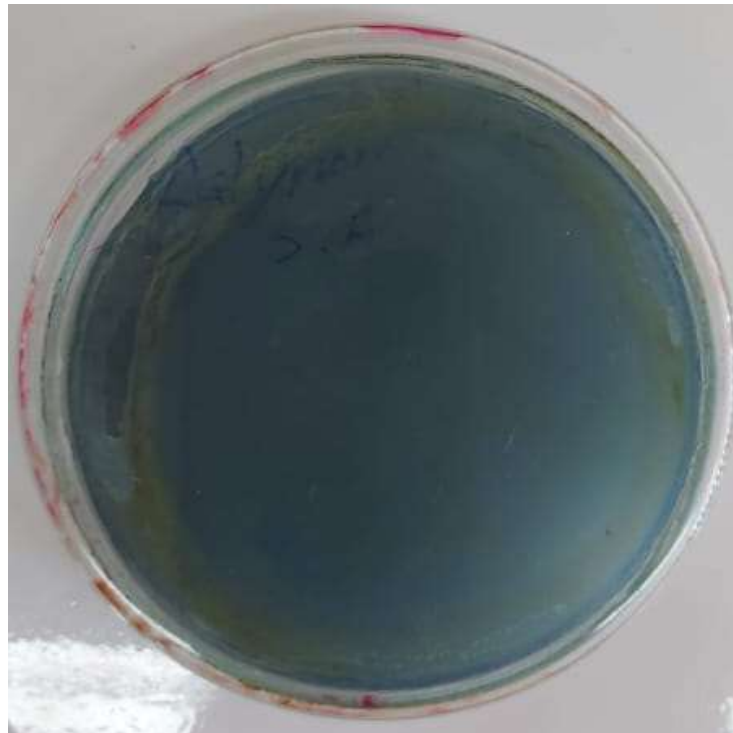
Tratamiento		Biomasa (mo/mL)		
		Día 1	Día 8	Día 15
1° Repetición	T <sub>0</sub>	2 232	2 980	3 104
	T <sub>1</sub>	2 232	3 256	3 678
	T <sub>2</sub>	2 232	3 256	4 208
	T <sub>3</sub>	2 232	3 744	4 094
	T <sub>4</sub>	2 232	3 384	3 864
2° Repetición	T <sub>0</sub>	2 368	2 880	3 208
	T <sub>1</sub>	2 368	3 224	3 852
	T <sub>2</sub>	2 368	3 338	4 302
	T <sub>3</sub>	2 368	3 304	4 184
	T <sub>4</sub>	2 368	3 286	4 024
3° Repetición	T <sub>0</sub>	2 784	3 872	3 994
	T <sub>1</sub>	2 784	3 856	4 406
	T <sub>2</sub>	2 784	3 984	5 204
	T <sub>3</sub>	2 784	3 422	4 650
	T <sub>4</sub>	2 784	3 496	4 880

**Tabla 21.** Datos de la degradación de aceite lubricante en los días de tratamiento (Día 1, Día 8 y el Día 15) a diferentes concentraciones (0, 10, 20, 30, 40 mg/L).

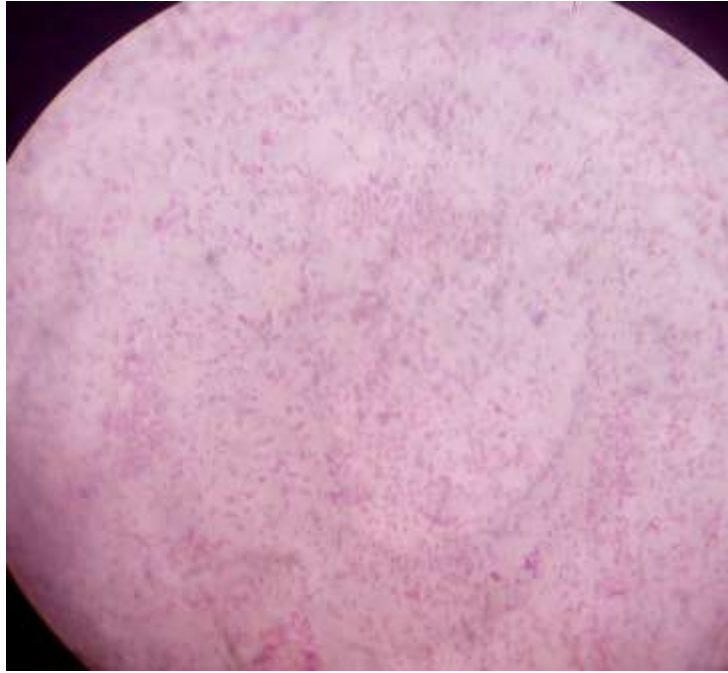
Tratamiento	Temperatura (T°)			OD (mg/L)			pH			
	Día 1	Día 8	Día 15	Día 1	Día 8	Día 15	Día 1	Día 8	Día 15	
1° Rep.	T <sub>0</sub>	28,4	28,8	29,1	5,7	5,39	4,73	6,35	6,6	7,15
	T <sub>1</sub>	28,3	29	29,5	5,7	5,39	5,18	6,45	6,87	7,59
	T <sub>2</sub>	28,5	29,3	29,7	5,9	5,51	5,11	6,45	6,88	8,07
	T <sub>3</sub>	28,4	28,7	29,3	5,8	5,44	5,23	6,45	6,68	7,22
	T <sub>4</sub>	28,4	28,9	29	5,6	5,42	5,19	6,45	6,62	7,21
2° Rep.	T <sub>0</sub>	28,5	28,8	29	5,5	5,48	5,38	6,45	6,71	7,07
	T <sub>1</sub>	28,5	29,4	29,6	5,4	5,15	5,07	6,45	6,91	7,73
	T <sub>2</sub>	28,3	29,3	29,8	5,8	5,57	5,43	6,45	6,83	8,01
	T <sub>3</sub>	28,4	29	29,4	5,9	5,84	5,64	6,45	6,61	7,35
	T <sub>4</sub>	28,3	28,8	29,1	5,48	5,4	5,27	6,45	6,66	7,19
3° Rep.	T <sub>0</sub>	28,5	28,8	29,2	5,6	5,32	4,91	6,35	6,84	7,32
	T <sub>1</sub>	28,3	29	29,5	5,4	5,13	5,07	6,45	6,8	7,99
	T <sub>2</sub>	28,4	29,3	29,8	5,5	5,32	5,06	6,45	6,99	8,06
	T <sub>3</sub>	28,3	28,9	29,5	5,4	5,23	5,16	6,45	6,78	7,39
	T <sub>4</sub>	28,5	28,7	29,1	5,4	5,18	5,09	6,45	6,82	7,3

**Anexo B.** Panel fotográfico

**Figura 16.** Procesamiento para el aislamiento de *Pseudomonas* sp.



**Figura 17.** Siembra en agar citramide para el crecimiento de bacterias *Pseudomonas*



**Figura 18.** Crecimiento de *Pseudomonas* sp.



**Figura 19.** Placas petri de la etapa de adaptación de bacterias, para su posterior uso en los bioreactores air lift.



**Figura 20.** Lectura del nivel de pH.



**Figura 21.** Lectura del oxígeno disuelto.



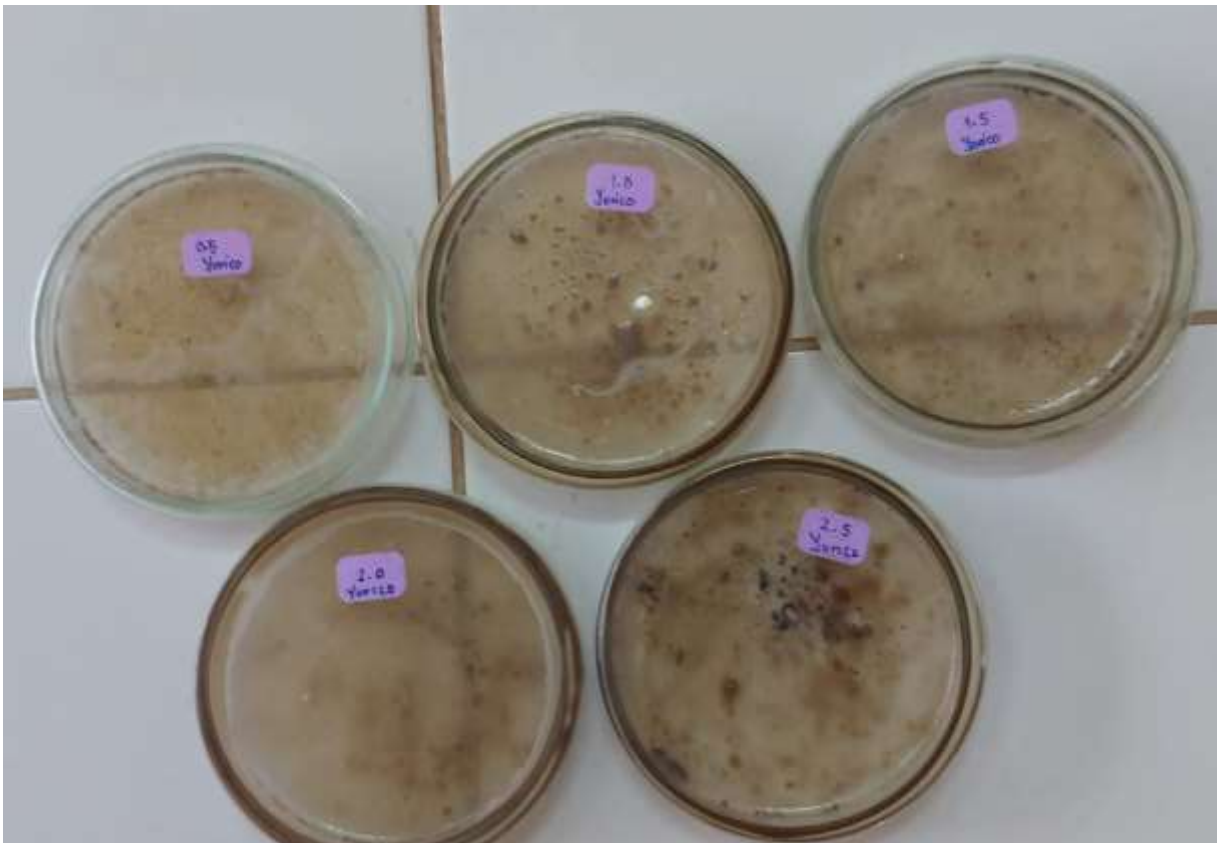
**Figura 22.** Bioreactores Air Lift en operación.



**Figura 23.** Suelo para extracción de inóculo *Pseudomona* sp.



**Figura 24.** Medio de cultivo para crecimiento de *Pseudomonas*.



**Figura 25.** Concentraciones de contaminantes para crecimiento de bacteria.