

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA**

**UNIDAD DE POST GRADO**

**Biodegradación bacteriana por bioestimulación en  
suelos contaminados con petróleo crudo**

**TESIS**

para optar el grado académico de Magíster en Biotecnología

**AUTORA**

Elizabet Samanez Gibaja

**ASESOR**

Fernando Merino Rafael

**Lima – Perú**

**2008**















































### **3.2.2.12. Biodegradación del crudo de petróleo en terrarios**

Para poder analizar la biodegradación en los terrarios se procedió a realizar:

- Recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales (Anexos-Esquema N° 1).
- Microorganismos oleofilicos totales (Anexos-Esquema N° 2).
- Hidrocarburos totales (Anexos-Flujograma N° 2).
- Medición de la temperatura en los terrarios (Cuadro N° 11).
- Análisis físico-químico de cada uno de los suelos (Cuadros N° 8, 9 y 10).
- Análisis cromatográfico del crudo de petróleo al inicio y al final del experimento (Cuadro N° 2 , Cuadro N° 12)

### **3.2.2.13. Caracterización del Crudo de Petróleo**

Se determinó la composición química porcentual del destilado de crudo de petróleo, procedente de la Refinería “La Pampilla”, al inicio y al final del experimento, mediante la técnica de Cromatografía de Gases.

Los análisis fueron desarrollados en la Unidad de Servicios de análisis Químicos (USAQ) de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

#### **CUADRO N° 2. Características del destilado del crudo de petróleo al inicio del experimento.**

<b>N°</b>	<b>COMPONENTES</b>	<b>PM</b>	<b>FÓRMULA</b>	<b>%</b>
1	n-pentano	76	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub>	0.49
2	n-hexano	86	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	0.77
3	n-heptano	100	C <sub>7</sub> H <sub>16</sub>	0.57
4	2 metil pentano	72	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	0.64
5	3 metil hexano	100	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub>	1.82
6	1,1,2 trimetil	126	C <sub>9</sub> H <sub>28</sub>	2.18
7	ciclohexano	84	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub>	2.14
8	1-hexeno	86	C <sub>7</sub> H <sub>16</sub>	2.05
9	2 metil hexano	114	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub>	7.58
10	2 etil hexano	114	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub>	9.52
11	2 metil decano	156	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub>	0.38
12	4 metil decano	128	C <sub>9</sub> H <sub>20</sub>	13.17
13	n-nonano	170	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub>	5.95
14	2 metil undecano	142	C <sub>10</sub> H <sub>22</sub>	9.39
15	3,5 dimetil octano	170	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub>	2.55
16	2 metil undecano	170	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub>	8.56
17	dodecano	184	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	7.86
18	n-tridecano	198	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	5.09

19	n-tetradecano	198	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	3.48
20	tetradecano	198	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	3.90
21	2 metil tridecano	212	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	3.93
22	n-pentadecano	212	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	1.37
23	pentadecano	226	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	1.22
24	n-hexadecano	240	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	0.96
25	n-heptadecano	254	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	0.85
26	n-octadecano	254	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	0.77
27	octadecano	282	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	0.71
28	n-eicosano	296	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	0.55
29	n-henicosano	310	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub>	0.43
30	n-dodocosano	352	C <sub>25</sub> H <sub>52</sub>	0.37
31	n-pentacosano	394	C <sub>28</sub> H <sub>58</sub>	0.20
32	n-octacosano	408	C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>	0.20
33	n-nonacosano	422	C <sub>30</sub> H <sub>62</sub>	0.20
34	n-triacontano	450	C <sub>32</sub> H <sub>66</sub>	0.10

### 3.2.14. **Formulación de los fertilizantes inorgánicos (bioestimulantes) – (Anexos- Flujoograma N° 2)**

Se seleccionó la proporción mencionada por Claudio Belloso y otros autores, por ser ésta la más efectiva para el proceso de biodegradación, teniendo en cuenta lo siguiente:

**C/N:** 100:1

**NPK:** 20:20:1

Se utilizó:

$NO_3NH_4$ , como fuente de nitrógeno.

$(NH_4)_2HPO_4$ , como fuente de fósforo.

$K_2HPO_4$ , como fuente de potasio.

### 3.2.2.15. **Método de cuantificación total de hidrocarburos (método 3540 EPA).**

El fin de este método, es extraer los hidrocarburos de cada muestra mediante Soxhlet, para esto se procedió de la siguiente manera:

- Se mezcló 25 g de muestra con 25 g de sulfato de sodio anhidro y se procedió a la extracción con Soxhlet utilizando como solvente éter dietílico a una temperatura constante de 60 °C durante 12 horas.







TX-4	<i>Bacillus sp.</i>	3.8
TX-5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4.9
TX-6	<i>Pseudomonas cepacia</i>	2.4
TX-7	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	0.5
TX-8	<i>Enterobacter agglomerans</i>	0.5
TX-9	<i>Pseudomona cepacia</i>	2.6
TX-10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.9
TX-11	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.4
TX-12	<i>Hafnia alvei</i>	0.2
TX-13	<i>Bacillus sp.</i>	3.5
TX-14	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	2.6
TX-15	<i>Bacillus sp.</i>	3.1
TX-16	<i>Serratia rubidae</i>	2.2
TX-17	<i>Serratia rubidae</i>	2.5
TX-18	<i>Enterobacter agglomerans</i>	2.0
TX-19	<i>Serratia rubidae</i>	1.3
TX-20	<i>Pseudomonas cepacia</i>	1.8
TX-21	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	3.9
TX-22	<i>Enterobacter agglomerans</i>	2.4
TX-23	<i>Hafnia alvei</i>	0.5
TX-24	<i>Bacillus sp.</i>	0.5
TX-25	<i>Serratia rubidae</i>	0.6
TX-26	<i>Pseudomonas cepacia</i>	0.9
TX-27	<i>Serratia rubidae</i>	1.4
TX-28	<i>Pseudomonas cepacia</i>	0.2
TX-29	<i>Hafnia alvei</i>	1.0
TX-30	<i>Bacillus sp.</i>	1.1
TX-31	<i>Serratia rubidae</i>	0.7
TX-32	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2.3
TX-33	<i>Micrococcus sp.</i>	1.3
T2X-1	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	3.7
T2X-2	<i>Enterobacter agglomerans</i>	3.1
T2X-3	<i>Pseudomona cepacia</i>	2.3
T2X-4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2.1
T2X-5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2.7
T2X-6	<i>Hafnia alvei</i>	1.3
T2X-7	<i>Bacillus sp.</i>	1.8
T2X-8	<i>Serratia rubidae</i>	3.3
T2X-9	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2.4
T2X-10	<i>Hafnia alvei</i>	0.9
T2X-11	<i>Bacillus sp.</i>	0.5
T2X-12	<i>Bacillus sp.</i>	0.6
T2X-13	<i>Serratia rubidae</i>	0.9
T2X-14	<i>Serratia rubidae</i>	1.8
T2X-15	<i>Citrobacter freundii</i>	0.2
T2X-16	<i>Acinetobacter aureofasciens</i>	3.2
T2X-17	<i>Enterobacter agglomerans</i>	3.1
T2X-18	<i>Pseudomona cepacia</i>	2.2
T2X-19	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2.5
T2X-20	<i>Staphylococcus sp.</i>	2.6
T2X-21	<i>Hafnia alvei</i>	1.4
T2X-22	<i>Listonella damsela</i>	0.6
T2X-23	<i>Bacillus sp.</i>	3.5
T2X-24	<i>Enterobacter agglomerans</i>	3.1
T2X-25	<i>Bacillus sp.</i>	2.2

#### 4.4. ACTIVIDAD DEGRADATIVA DE LAS CEPAS BACTERIANAS

La actividad degradativa se determinó por el grado de turbidez según la escala de Mc Farland (Mills y col. 1978).

**CUADRO Nº 4. Actividad degradativa de las cepas bacterianas aisladas**

CEPAS	ESPECIE	ACTIVIDAD DEGRADATIVA
TX-1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	++
TX-2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	++
TX-3	<i>Pseudomonas cepacia</i>	++
TX-4	<i>Bacillus sp.</i>	+++
TX-5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+++
TX-6	<i>Pseudomonas cepacia</i>	+
TX-7	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	++
TX-8	<i>Enterobacter agglomerans</i>	+
TX-9	<i>Pseudomona cepacia</i>	++
TX-10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	++
TX-11	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	++
TX-12	<i>Hafnia alvei</i>	+++
TX-13	<i>Bacillus sp.</i>	++
TX-14	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	++
TX-15	<i>Bacillus sp.</i>	+
TX-16	<i>Serratia rubidae</i>	++
TX-17	<i>Serratia rubidae</i>	+
TX-18	<i>Enterobacter agglomerans</i>	++
TX-19	<i>Serratia rubidae</i>	+++
TX-20	<i>Pseudomonas cepacia</i>	++
TX-21	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	++
TX-22	<i>Enterobacter agglomerans</i>	+++
TX-23	<i>Hafnia alvei</i>	+++
TX-24	<i>Bacillus sp.</i>	++
TX-25	<i>Serratia rubidae</i>	++
TX-26	<i>Pseudomonas cepacia</i>	++
TX-27	<i>Serratia rubidae</i>	++
TX-28	<i>Pseudomonas cepacia</i>	++
TX-29	<i>Hafnia alvei</i>	+
TX-30	<i>Bacillus sp.</i>	+
TX-31	<i>Serratia rubidae</i>	++
TX-32	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+
TX-33	<i>Micrococcus sp.</i>	+
T2X-1	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	+++
T2X-2	<i>Enterobacter agglomerans</i>	++
T2X-3	<i>Pseudomona cepacia</i>	++
T2X-4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	++
T2X-5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	++
T2X-6	<i>Hafnia alvei</i>	++
T2X-7	<i>Bacillus sp.</i>	+
T2X-8	<i>Serratia rubidae</i>	++
T2X-9	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	++
T2X-10	<i>Hafnia alvei</i>	++
T2X-11	<i>Bacillus sp.</i>	+++
T2X-12	<i>Bacillus sp.</i>	++
T2X-13	<i>Serratia rubidae</i>	++



#### 4.6. BIODEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS

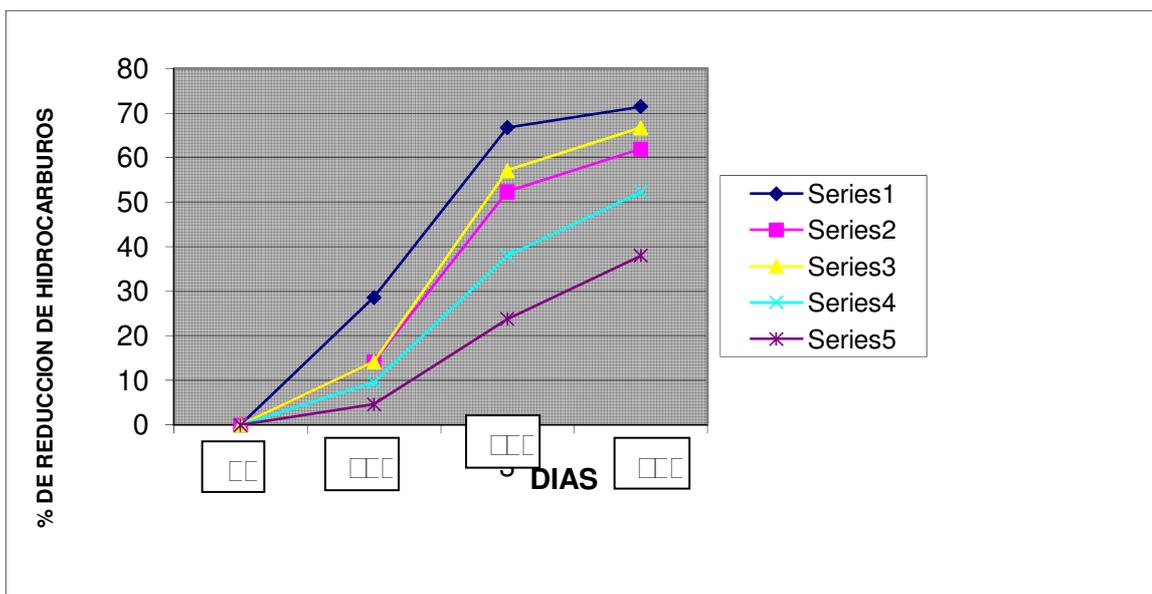
Durante el desarrollo del experimento de 90 días, se observó un mayor desarrollo poblacional a los 30 días, que conllevó a la degradación de hidrocarburos .

**CUADRO Nº 6. Población bacteriana heterótrofa y oleofílica durante el proceso de experimentación (0-90 días)**

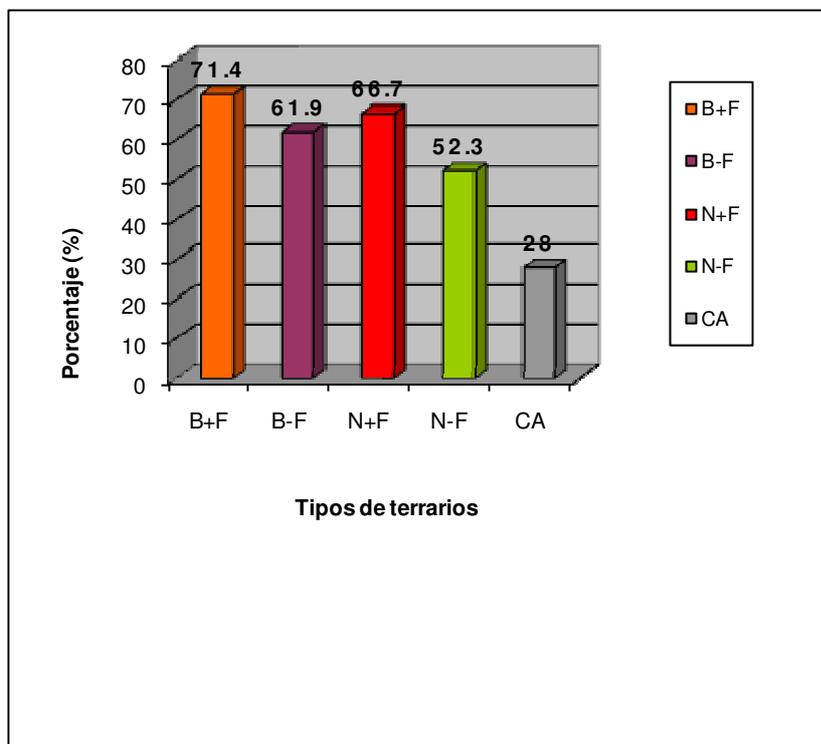
TIEMPO (Días)	B+F		B-F		N+F		N-F		CA	
	Bact. Oleofil.	Bact. Heterot	Bact. Oleofil.	Bact. Heterot	Bact. Oleofil.	Bact. Heterot	Bact. Oleofil.	Bact. Heterot	Bact. Oleofil.	Bact. Heterot
0	6.7x10 <sup>10</sup>	2.2x10 <sup>4</sup>	2.9x10 <sup>10</sup>	2.0x10 <sup>4</sup>	4.9x10 <sup>3</sup>	3.7x10 <sup>5</sup>	3.1x10 <sup>2</sup>	2.4x10 <sup>5</sup>	2.5x10 <sup>3</sup>	3.0x10 <sup>4</sup>
30	4.5x10 <sup>11</sup>	6.4x10 <sup>5</sup>	9.8x10 <sup>10</sup>	1.7x10 <sup>6</sup>	5.9x10 <sup>7</sup>	3.8x10 <sup>6</sup>	2.1x10 <sup>6</sup>	6.7x10 <sup>6</sup>	0	0
60	2.1x10 <sup>9</sup>	2.1x10 <sup>5</sup>	3.4x10 <sup>8</sup>	2.1x10 <sup>5</sup>	2.1x10 <sup>6</sup>	2.1x10 <sup>4</sup>	2.1x10 <sup>4</sup>	2.1x10 <sup>4</sup>	0	0
90	2.1x10 <sup>8</sup>	2.1x10 <sup>4</sup>	2.1x10 <sup>5</sup>	2.1x10 <sup>4</sup>	2.1x10 <sup>4</sup>	1.1x10 <sup>4</sup>	2.1x10 <sup>3</sup>	2.1x10 <sup>3</sup>	0	0

**CUADRO Nº 7. Reducción total de hidrocarburos en los terrarios de experimentación**

TIEMPO (Días)	B+F		B-F		N+F		N-F		CA	
	Hidroc. g/25g	% reduc. de hidroc.	Hidroc. g/25g	% reduc de hidroc						
0	2.1	0	2.1	0	2.1	0	2.1	0	2.1	0
30	1.5	38.6	1.8	29.2	1.8	34.2	1.9	19.5	2.0	14.7
60	0.7	66.7	1.0	52.3	0.9	57.1	1.3	38.0	1.6	23.8
90	0.6	<b>71.4</b>	0.8	<b>61.9</b>	0.7	<b>66.7</b>	1.0	<b>52.3</b>	1.3	<b>28.0</b>



**GRÁFICO N° 3. Porcentaje de reducción de hidrocarburos durante los 90 días de experimentación**



**GRÁFICO N° 4. Porcentaje de reducción de hidrocarburos**

en los terrarios al final de experimento

#### 4.7. ANÁLISIS DE TERRARIOS UTILIZADOS DURANTE LA EXPERIMENTACIÓN

**CUADRO N° 8 . Caracterización de los suelos de los cinco terrarios a los 30 días**

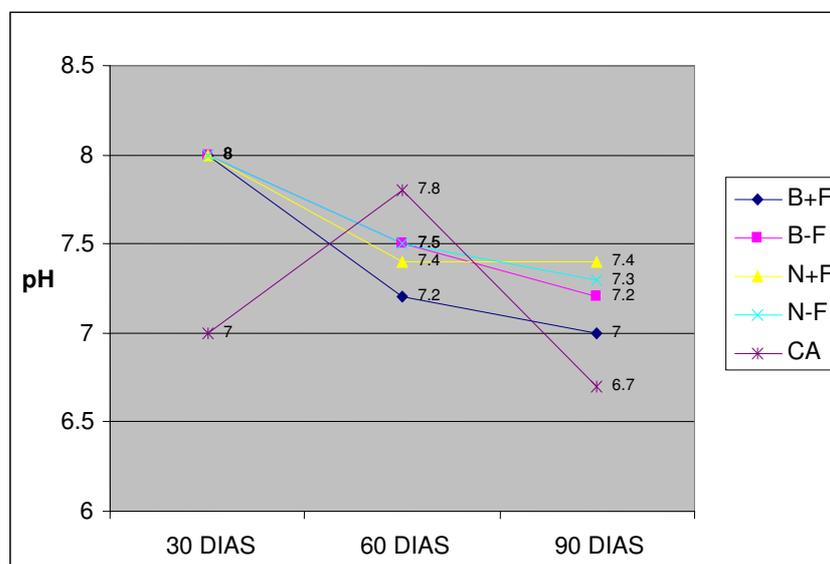
<b>MUESTRA</b>	<b>pH</b>	<b>H.d. %</b>	<b>M.O. %</b>	<b>N total %</b>	<b>P disp. ppm</b>	<b>K disp. ppm</b>
I-B+F	8.0	45.82	5,3	0,15	36,55	1234
I-B-F	8.0	43.19	6,0	0,16	51,11	849
I-N+F	8.0	48.19	8,5	0,15	43,02	982
I-N-F	8.0	51.09	6,0	0,12	17,00	634
I-CA	7.0	38.65	6,6	0,11	18,83	1047

**CUADRO N° 9. Caracterización de los suelos de los cinco terrarios a los 60 días**

<b>MUESTRA</b>	<b>pH</b>	<b>H.d. %</b>	<b>M.O. %</b>	<b>N total %</b>	<b>P disp. ppm</b>	<b>K disp. ppm</b>
II-B+F	7,2	44.44	6,0	0,14	35,7	472
II-B-F	7,5	42.33	5,4	0,11	41,8	189
II-N+F	7,4	42.68	5,4	0,14	28,3	721
II-N-F	7,5	45.51	4,2	0,12	20,1	605
II-CA	6,8	39.90	5,3	0,10	16,40	987

**CUADRO N° 10. Caracterización de los suelos de los cinco terrarios a los 90 días**

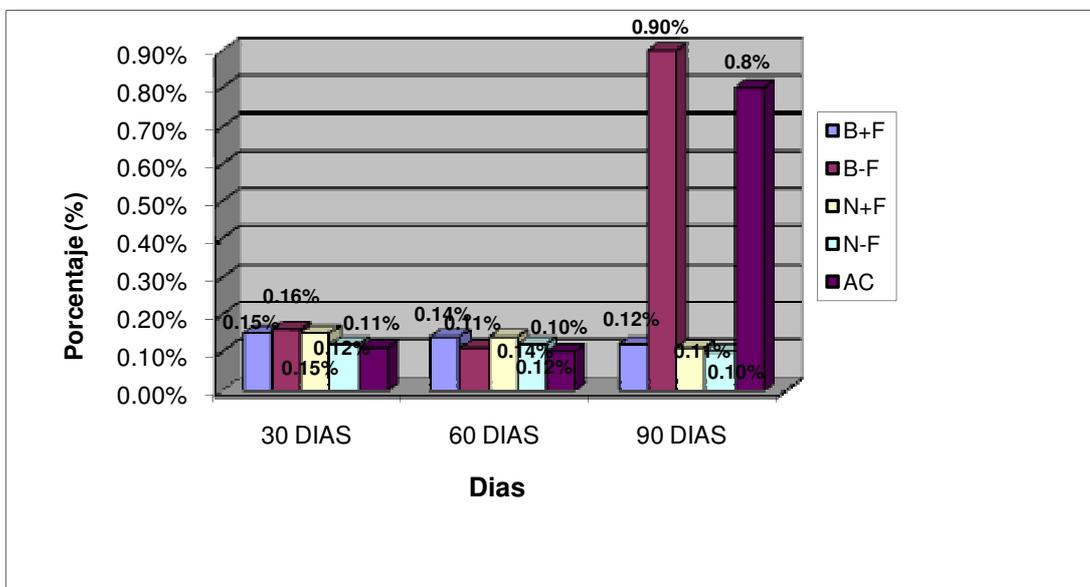
MUESTRA	pH	H.d. %	M.O. %	N total %	P disp. ppm	K disp. ppm
III-B+F	7.0	42.33	5.9	0.12	30.2	399
II-B-F	7.2	41.40	5.3	0.90	40.7	180
III-N+F	7.4	42.00	5.4	0.11	25.5	657
III-N-F	7.3	45.00	4.4	0.10	12.3	621
III-CA	6.7	39.60	5.0	0.80	13.9	869



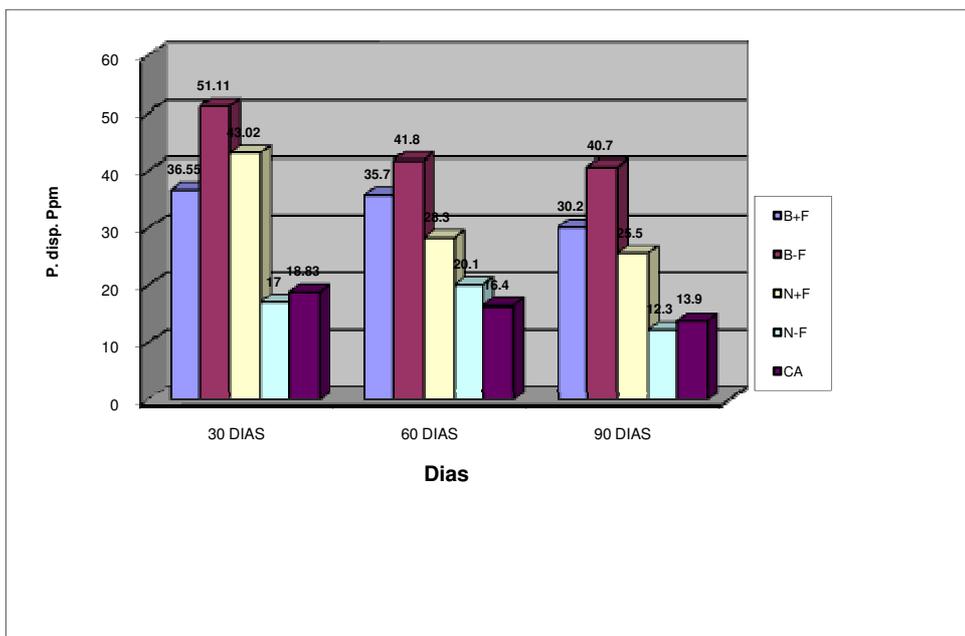
**GRÁFICO N° 5. Variación del pH en los terrarios con relación al tiempo de experimentación**



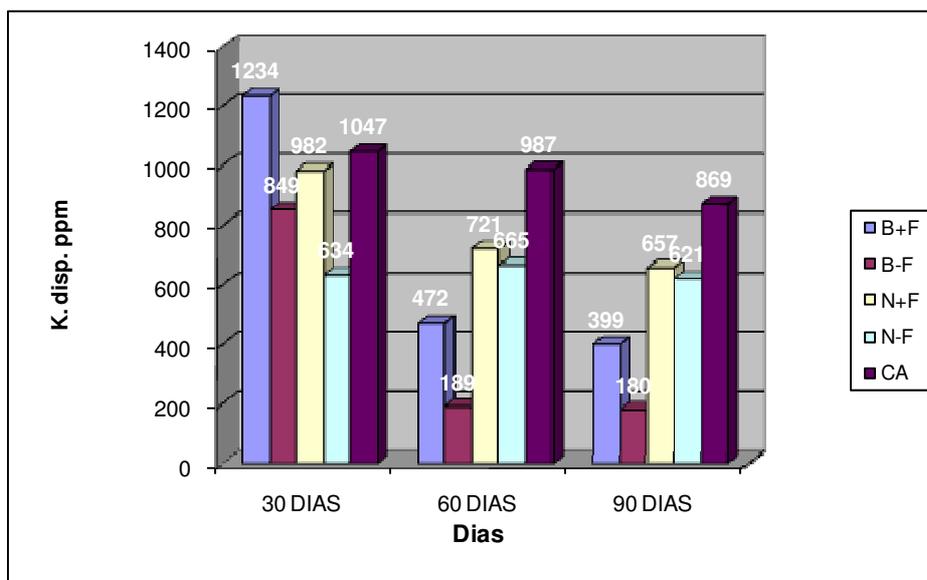
**GRAFICO N° 7. Variación de la Materia orgánica (%) en los terrarios con relación al tiempo de experimentación.**



**GRÁFICO N° 8. Variación de Nitrógeno (%) en los terrarios con relación al tiempo de experimentación**



**GRÁFICO N° 9. Variación del Fósforo (ppm) en los terrarios con relación al tiempo de experimentación**



**GRÁFICO N° 10. Variación del Potasio (ppm) en los terrarios con relación al tiempo de experimentación**

**CUADRO N°11. Temperatura de los terrarios durante el tiempo de experimentación**

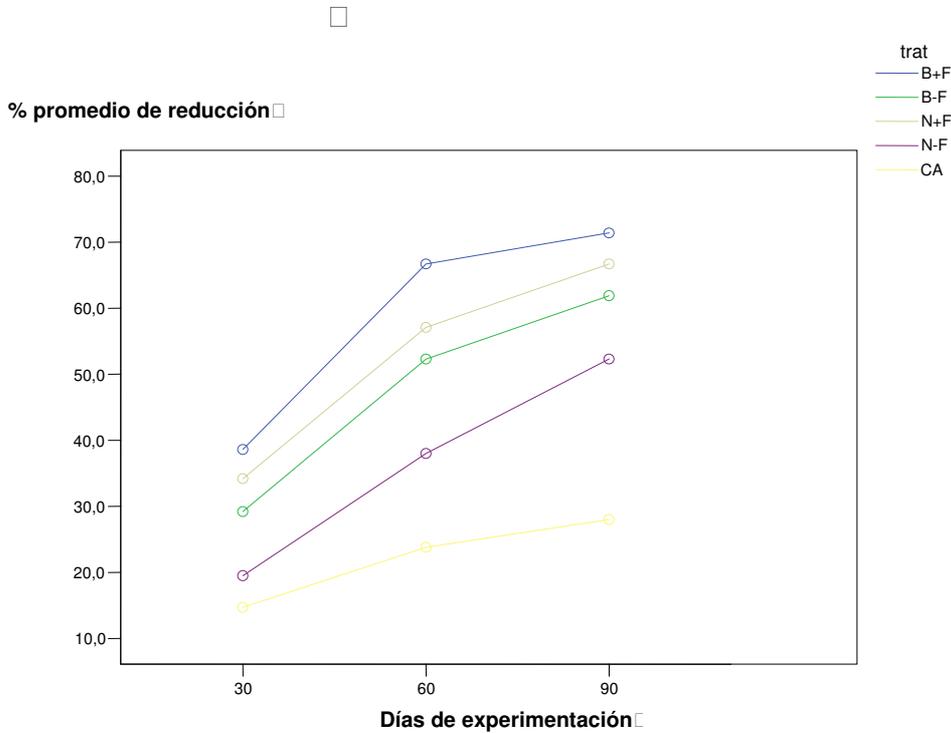
La temperatura (°C) de los terrarios fue medida cada 15 días en un total de 90 días como se observa en el cuadro.

DÍAS	TEMPERATURA (°C)				
	Terrario B+F	Terrario B-F	Terrario N+F	Terrario N-F	Terrario CA





Esto justifica el ajuste de recta en cada uno de los tratamientos para determinar las diferencias entre pares de tratamientos. En el siguiente gráfico se puede observar que la reducción de hidrocarburos en el tratamiento *CA es constante* en el tiempo (no existe cambios significativos en la reducción), a diferencia de los otros tratamientos, donde el tratamiento, **B+F** registra los *mayores porcentajes de reducción de hidrocarburos*. No existe diferencias significativas entre los tratamientos B-F y N+F y el tratamiento N-F donde se observa los menores porcentajes de reducción, sin considerar el tratamiento CA.



**GRÁFICO N° 11. Biodegradación de hidrocarburos (%) en 90 días de experimentación**



□

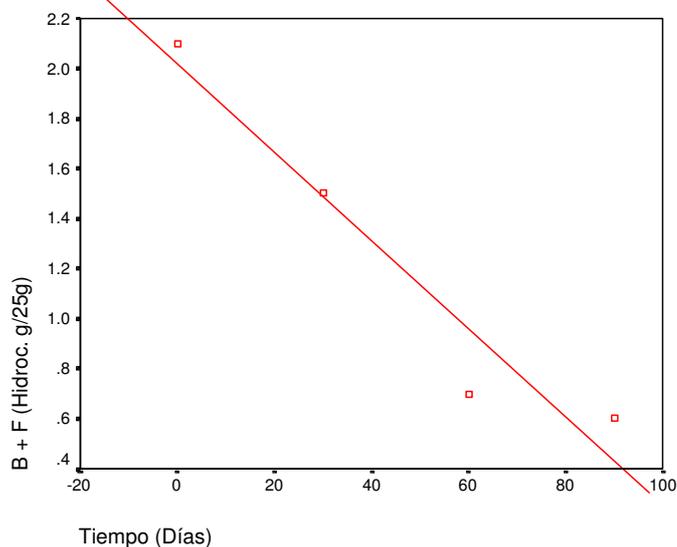
⦿

**Coefficientes<sup>a</sup>**

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
		B	Error típ.	Beta		
1	(Constante)	2.020	.190		10.639	.009
	Tiempo (Días)	-1.77E-02	.003	-.965	-5.222	.035

a. Variable dependiente: B + F (Hidroc. g/25g)

Este cuadro muestra los valores de los coeficientes del modelo de regresión lineal, donde la constante es de 2.02 y el coeficiente para la variable tiempo en días es de -0.0177; es decir, el modelo esta dado por  $Y=2.02-0.0177X$ . Se utiliza la prueba t de student, donde se rechaza la hipótesis nula en que el coeficiente para la constante es nula y por tanto, es altamente significativa para el modelo de regresión lineal, ya que el valor de Sig. es menor a 0.05; así también el valor del coeficiente para el tiempo en días.



**GRÁFICO N° 12. Relación de la Biodegradación del terrario B+F (Hidroc. g/ 25 g) con respecto al tiempo según modelo de regresión lineal**

La recta que se muestra en el gráfico, es la gráfica del modelo de regresión dado por  $Y=2.02-0.0177X$ .

- 
- 
- 











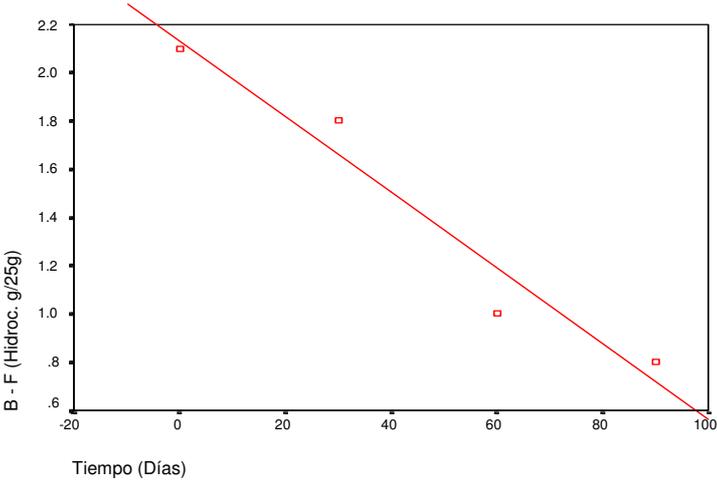
Entonces *se concluye* que la Biodegradación de B-F (g/25g) es influida significativamente por el tiempo medido en días, es decir que a mayor tiempo, existe menor porcentaje de hidrocarburos en el terrario estudiado.

**Coefficientes<sup>a</sup>**

Modelo	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
	B	Error típ.	Beta		
1 (Constante)	2.130	.148		14.344	.005
1 Tiempo (Días)	-1.57E-02	.003	-.973	-5.921	.027

a. Variable dependiente: B - F (Hidroc. g/25g)

Este cuadro muestra los valores de los coeficientes del modelo de regresión lineal, donde la constante es de 2.13 y el coeficiente para la variable tiempo en días, es de -0.0157; es decir, el modelo está dado por  $Y=2.13-0.0157X$ . Además, este cuadro muestra la asociación de los coeficientes del modelo con la prueba t de student, donde se rechaza la hipótesis nula en que el coeficiente para la constante es nula y por tanto, es altamente significativa para el modelo de regresión lineal, ya que el valor de Sig. es menor a 0.05; así también el valor del coeficiente para el tiempo en días.



**GRÁFICO No 14. Relación de la Biodegradación del terrario B-F (Hidroc. g/ 25 g) con respecto al tiempo según modelo de regresión lineal**

La recta que se muestra en el gráfico, es la gráfica del modelo de regresión, dado por  $Y=2.13-0.0157X$ .

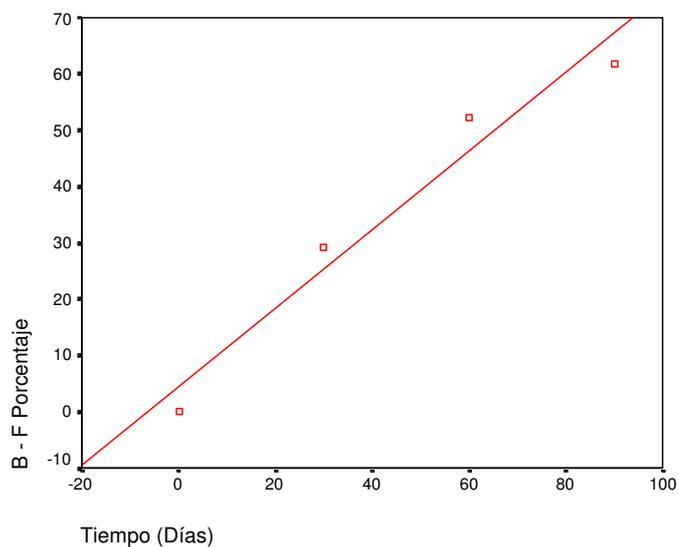


**Coefficientes<sup>a</sup>**

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
		B	Error típ.	Beta		
1	(Constante)	4.530	5.880		.770	.522
	Tiempo (Días)	.696	.105	.978	6.644	.022

a. Variable dependiente: B - F Porcentaje

Este cuadro muestra los valores de los coeficientes del modelo de regresión lineal, donde la constante es de 4.53 y el coeficiente para la variable tiempo en días es de 0.696; es decir, el modelo esta dado por  $Y=4.53+0.696X$ . Además, este cuadro muestra la asociación de los coeficientes del modelo con la prueba t de student, donde se rechaza la hipótesis nula en que el coeficiente para la constante es nula y por tanto es altamente significativa para el modelo de regresión lineal, ya que el valor de Sig. es menor a 0.05; así también el valor del coeficiente para el tiempo en días.



**GRAFICO N° 15. Relación de la Biodegradación del terrario B-F (porcentaje) con respecto al tiempo según modelo de regresión lineal**

La recta que se muestra en el gráfico, es la gráfica del modelo de regresión dado por  $Y=4.53+0.696X$ .

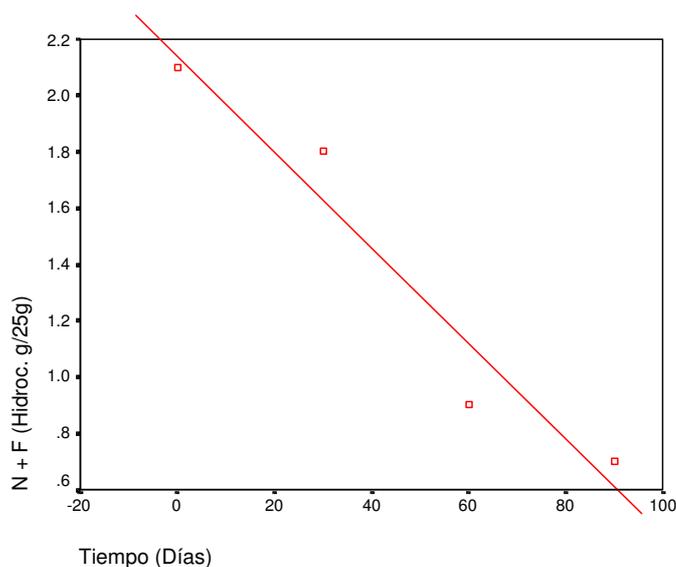


**Coefficientes<sup>a</sup>**

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
		B	Error típ.	Beta		
1	(Constante)	2.140	.174		12.264	.007
	Tiempo (Días)	-1.70E-02	.003	-.968	-5.468	.032

a. Variable dependiente: N + F (Hidroc. g/25g)

Este cuadro muestra los valores de los coeficientes del modelo de regresión lineal, donde la constante es de 2.14 y el coeficiente para la variable tiempo en días es de -0.017; es decir, el modelo está dado por  $Y=2.14-0.017X$ . Además, este cuadro muestra la asociación de los coeficientes del modelo con la prueba t de student, donde se rechaza la hipótesis nula, en que el coeficiente para la constante es nula y por tanto es altamente significativa para el modelo de regresión lineal, ya que el valor de Sig. es menor a 0.05; así también el valor del coeficiente para el tiempo en días.



**GRÁFICO N° 16. Relación de la Biodegradación del terrario N+F (Hidroc. g/ 25 g) con respecto al tiempo según modelo de regresión lineal**

La recta que se muestra en el gráfico, es la gráfica del modelo de regresión dado por  $Y=2.14-0.017X$  .





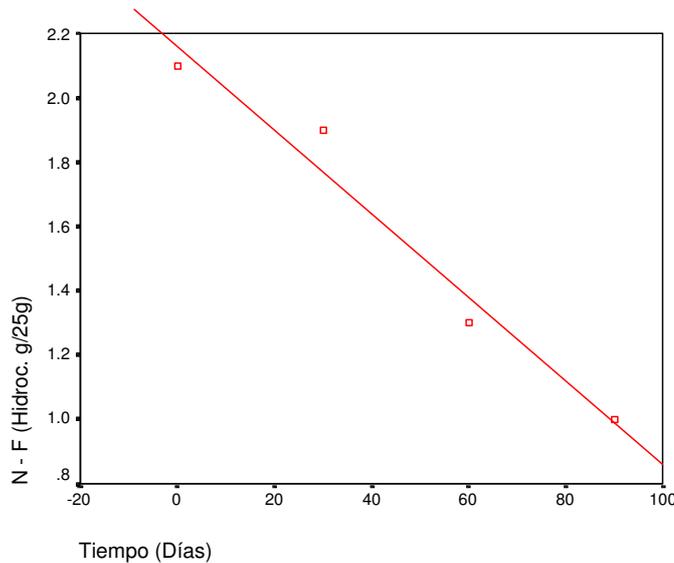


**Coefficientes<sup>a</sup>**

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
		B	Error típ.	Beta		
1	(Constante)	2.160	.097		22.220	.002
	Tiempo (Días)	-1.30E-02	.002	-.983	-7.506	.017

a. Variable dependiente: N - F (Hidroc. g/25g)

Este cuadro muestra los valores de los coeficientes del modelo de regresión lineal, donde la constante es de 2.16 y el coeficiente para la variable tiempo en días es de -0.013; es decir, el modelo esta dado por  $Y=2.16-0.013X$ . Además, este cuadro muestra la asociación de los coeficientes del modelo con la prueba t de student, donde se rechaza la hipótesis nula en que el coeficiente para la constante es nula y por tanto es altamente significativa para el modelo de regresión lineal, ya que el valor de Sig. es menor a 0.05; así también el valor del coeficiente para el tiempo en días.



**GRÁFICO Nº 18. Relación de la Biodegradación del terrario N-F (Hidroc. g/25g) con respecto al tiempo según modelo de regresión lineal**

La recta que se muestra en el gráfico, es la gráfica del modelo de regresión dado por  $Y=2.16-0.013X$ .





---

□

©

## Determinación de la relación entre la biodegradación del terrario CA (Hidroc. g/ 25 g) con respecto al tiempo.

Para establecer o estudiar la relación entre la reducción de hidrocarburos en gramos con respecto al tiempo se utiliza el modelo de regresión:  $Y = a + bx + c$

X: Variable Independiente (Tiempo en días)

Y: Variable Dependiente (CA Hidroc. g/25g)

### Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	.978 <sup>a</sup>	.956	.934	9.487E-02

a. Variables predictoras: (Constante), Tiempo (Días)

Este cuadro da a conocer el resumen del modelo, donde el coeficiente de correlación de 0.978, e indica la existencia de un 97.8 % de relación entre la variables Tiempo (Días) y CA (Hidroc. g/25g).

### ANOVA<sup>b</sup>

Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	.392	1	.392	43.556	.022 <sup>a</sup>
	Residual	1.800E-02	2	9.000E-03		
	Total	.410	3			

a. Variables predictoras: (Constante), Tiempo (Días)

b. Variable dependiente: CA (Hidroc. g/25g)

Este Cuadro, da a conocer la validez del modelo a través del análisis de Varianza de los coeficientes del modelo; según este cuadro, se rechaza la hipótesis nula que los coeficientes del modelo de regresión lineal son nulos y por tanto, los coeficientes del modelo son altamente significativos en un 95% en el modelo de la regresión lineal de las variables tiempo en días y CA Porcentaje, ya que el valor de Sig. es menor a 0.05, asociado a la prueba F.

Entonces *se concluye* que la Biodegradación de CA (Hidroc. g/25g) es influida significativamente por el tiempo medido en días, es decir que a mayor tiempo, existe menor porcentaje de hidrocarburos en el terrario estudiado.

□

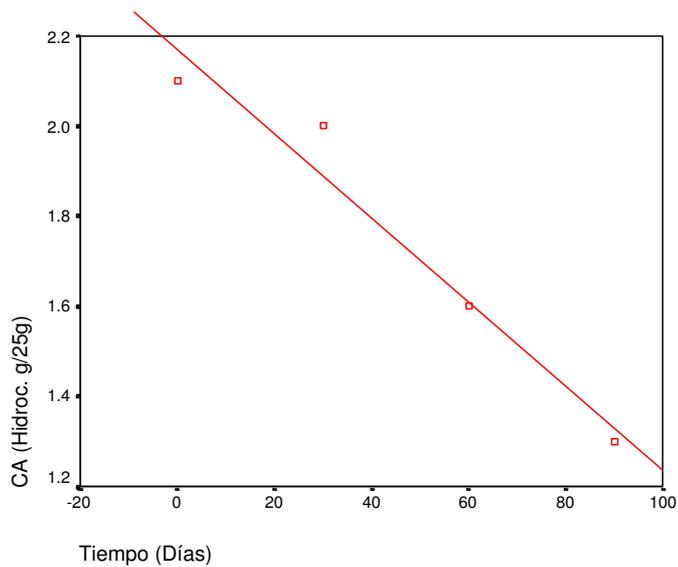
⊙

### Coeficientes<sup>a</sup>

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados	t	Sig.
		B	Error típ.	Beta		
1	(Constante)	2.170	.079		27.339	.001
	Tiempo (Días)	-9.33E-03	.001	-.978	-6.600	.022

a. Variable dependiente: CA (Hidroc. g/25g)

Este cuadro muestra los valores de los coeficientes del modelo de regresión lineal, donde la constante es de 2.17 y el coeficiente para la variable tiempo en días es de -0.09333; es decir, el modelo está dado por  $Y=2.17-0.0933X$ . Además, este cuadro muestra la asociación de los coeficientes del modelo con la prueba t de student, donde se rechaza la hipótesis nula en que el coeficiente para la constante es nula y por tanto es altamente significativa para el modelo de regresión lineal, ya que el valor de Sig. es menor a 0.05; así también el valor del coeficiente para el tiempo en días.



***GRÁFICO N° 20. Relación de la Biodegradación del terrario N-F (Hidroc. g/25 g) con respecto al tiempo según modelo de regresión lineal***

La recta que se muestra en el gráfico, es la gráfica del modelo de regresión dado por  $Y=2.17-0.0933X$ .































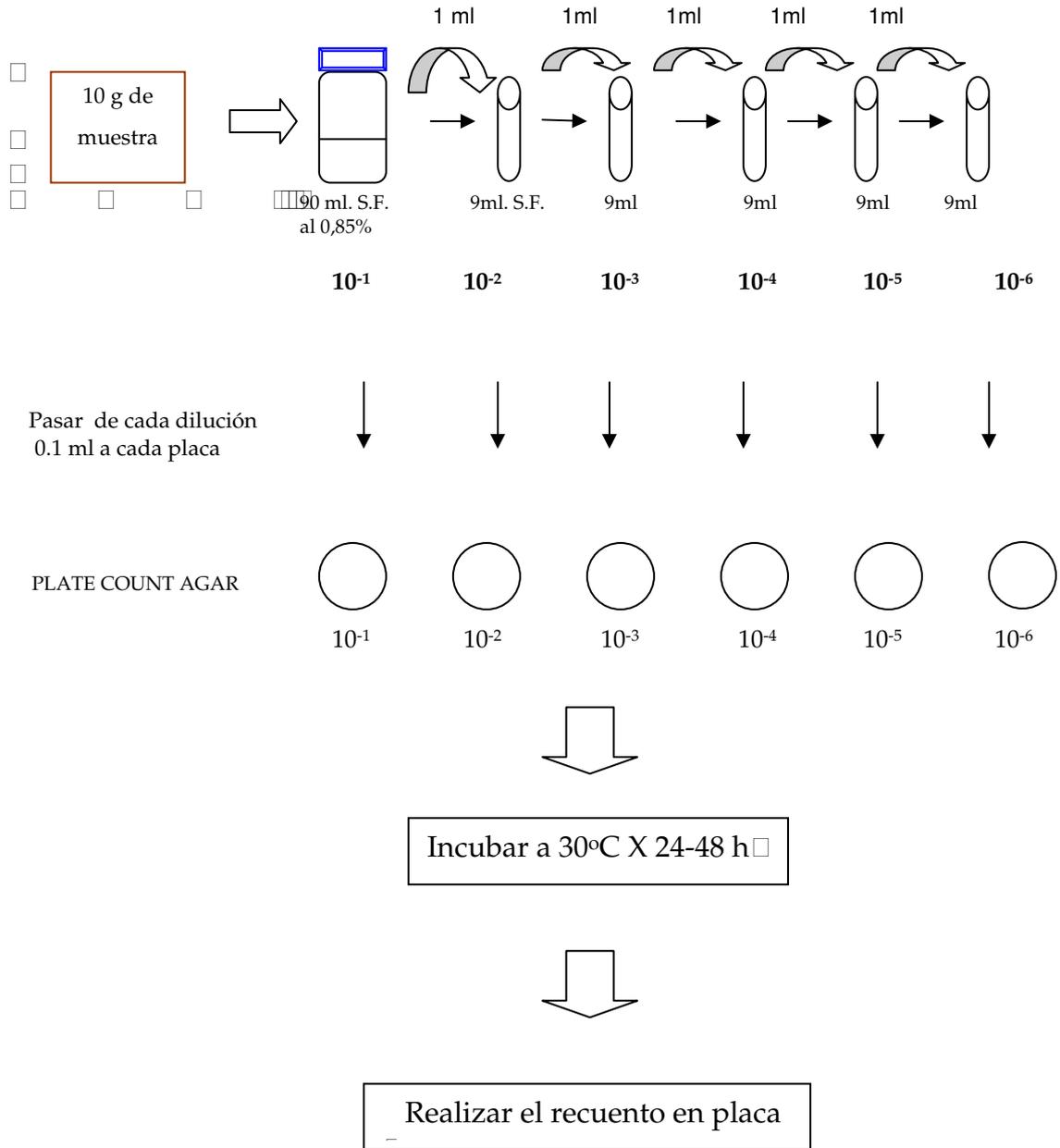






ESQUEMA N° 1

RECuento DE BACTERIAS AEROBIAS MESÓFILAS



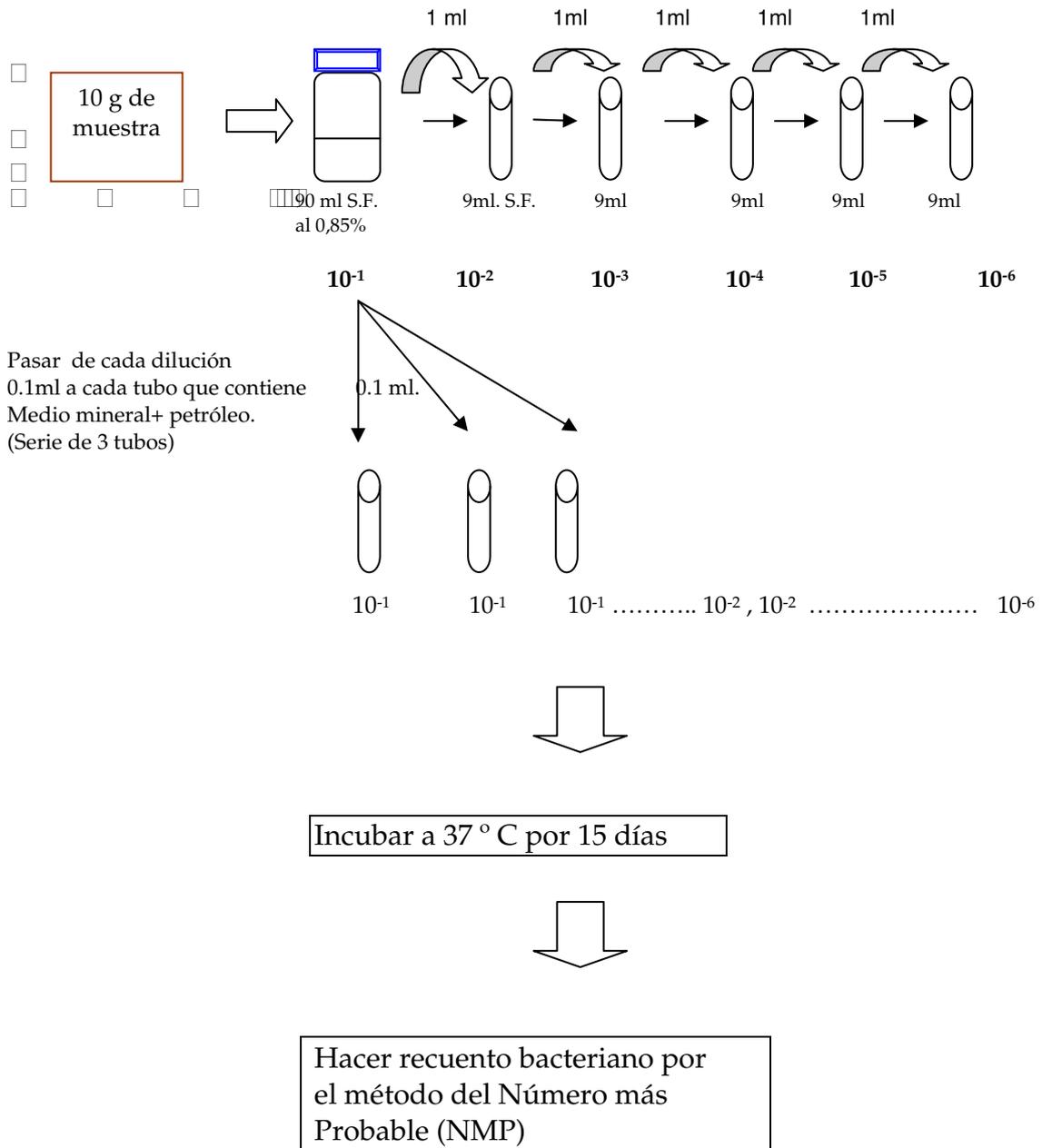
S.F.: Solución fisiológica

- 
- 
- 
- 

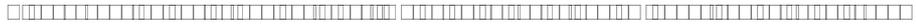


## ESQUEMA N° 2

### RECuento DE BACTERIAS oleofílicas



S.F.: Solución fisiológica



## ESQUEMA N° 3



### **ACTIVIDAD BIOEMULSIFICANTE DE BACTERIAS DEGRADADORAS DE PETRÓLEO**

(Goldman y col. 1982- Modificaco por Merino y col. 1991)



Cepa

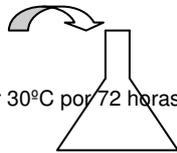


Reactivación en Caldo nutricio (2 ml)

Incubar 37°C x 24 h



18 ml de Medio mínimo de Goldman + 2 ml de cultivo



Incubar 30°C por 72 horas (150 r.p.m)



Centrifugar a 5000 r.p.m. x 30 min.



Colectar 10 ml del sobrenadante y  
Agregar 0,2 ml de petróleo  
Agitar por 5 minutos



Pasar 5 ml a tubos spectronic y leer a 540 nm.







