



FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES CARRERA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

"Comportamiento de bacterias y hongos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados"

Trabajo de Investigación para optar el Grado de Bachiller en:
INGENIERÍA AMBIENTAL

Presentado por:

Ximena Fiorella Ramón Alejandro (0000-0001 7895-2448)

Asesor:

Luis Gomero Osorio (0000-0002-4739-2094)

Lima – Perú

2019







RESOLUCIÓN DIRECTORAL ACADÉMICA DE CARRERA Nº 235-2020-DACIA-DAFCA-CIENTIFICA

FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES / CARRERA DE INGENIERIA AMBIENTAL

Lima 16 de noviembre de 2020

VISTO:

La revisión realizada y la aprobación de Trabajo de Investigación titulado: Comportamiento de bacterias y hongos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados, presentado por:

Ximena Fiorella Ramón Alejandro

CONSIDERANDO:

Que, de acuerdo al Reglamento General de la Universidad Científica del Sur y los reglamentos de pregrado para obtener el grado de Bachiller de **Ingeniería Ambiental** en la **Facultad de Ciencias Ambientales**, se debe desarrollar un trabajo de investigación.

Que, de acuerdo a la normativa vigente de la Universidad Científica del Sur, en uso de las atribuciones conferidas al Director Académico de Carrera.

SE RESUELVE:

Aprobar e inscribir el trabajo de investigación titulado: Comportamiento de bacterias y hongos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con N° de registro de la carrera: 076-FCA-IAM.

Nombrar al docente/colaborador Luis Abraham Gomero Osorio como asesor de dicho trabajo de investigación.

Regístrese, comuníquese y archívese,

Mg. Gonzalo Francisco Flores Roca

Director Académico de Carrera

Ingeniería Ambiental

T//(511) 610 6738 informes@cientifica.edu.pe cientifica.edu.pe





"Comportamiento de bacterias y hongos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados"

Ximena Fiorella Ramón Alejandro

Universidad Científica del Sur

Ximena180796r@gmail.com

RESUMEN

En la actualidad, uno de los mayores problemas que existe a nivel nacional e internacional es la contaminación de diferentes ecosistemas por hidrocarburos, principalmente por derrames de petróleo y sus derivados, los cuales ocurren en los distintos procesos de explotación o en el traslado de estos. Es por ello que existen tratamientos físicos-químicos; térmicos y biológicos, los cuales presentan distintas alternativas de remediación para estos suelos, entre ellos se tiene a la contención; extracción bajo vacío o venting; desorción térmica; incineración; vitrificación, inyección de vapor; inyección de agua caliente; inyección de aire v calentamiento con resistencia eléctrica: biorremediación: caliente fitorremediación; entre otras. Estas alternativas se pueden realizar de forma in situ o ex situ. Una de las alternativas mas eficaces es la biorremediación, la cual es de bajo costo, fácil aplicación y mayormente no requieren un tratamiento posterior, en esta alternativa se utilizan distintos microorganismos con la finalidad de degradar este contaminante. Diferentes trabajos evalúan el comportamiento de las bacterias y los hongos para la degradación de





hidrocarburos, donde el género de bacterias más utilizada son las *Pseudomonas* y de los hongos son las *Penicillium*. Además, los diferentes estudios comprueban que los hongos presentan un mayor tiempo y un mayor porcentaje de degradación con respecto a las bacterias.

Palabras clave:

Hidrocarburos, contaminación, alternativas, biorremediación, degradación, tiempo, bacterias y hongos.





ABSTRACT

At present, one of the biggest problems that exist at national and international level is the contamination of different ecosystems by hydrocarbons, mainly due to oil spills and their derivatives, the cases that occur in the different exploitation processes or in the transfer of these . That is why there are chemical-chemical treatments; thermal and biological, which have other remediation alternatives for these soils, including containment; vacuum extraction or ventilation; thermal desorption; vitrification incineration, steam injection; hot water injection; hot air injection and heating with electrical resistance; bioremediation; phytoremediation; among other. These alternatives can be done in situ or ex situ. One of the most frequent alternatives is bioremediation, low cost quality, easy application and mostly does not have a subsequent treatment, in this alternative different microorganisms are used with the application of degrading this contaminant. Different works evaluate the behavior of bacteria and fungi for the degradation of hydrocarbons, where the genus of bacteria most affected are Pseudomonas and fungi are Penicillium. In addition, different studies show that fungi have a longer time and a higher percentage of degradation with respect to bacteria

Keywords:

Hydrocarbons, pollution, alternatives, bioremediation, degradation, weather, bacteria and fungi.





REVISIÓN TEÓRICA

Los hidrocarburos son combustibles fósiles que tienen uso a nivel mundial como generadores de diversas formas de energía (Velásquez,2017) ya sea para uso industrial, doméstico y el desarrollo de nuestra vida cotidiana, por esta razón, en los últimos años el sector de hidrocarburos ha tenido una gran expansión, convirtiéndose en una pieza clave para el crecimiento económico a nivel mundial(Castro et al., 2014). Sin embargo, la extracción de estos pueden afectar al medio ambiente, contaminando suelo y agua, debido a fugas de depósitos; vertidos accidentales; enterramiento de residuos que contienen hidrocarburos y riego de caminos de tierra con aceites residuales para evitar el polvo (Riesco, 2012).

La contaminación por hidrocarburos es un problema a nivel mundial, estudios recientes en Europa estima un total de 2.5 millones de sitios contaminados por hidrocarburos(Agnello *et al.*, 2016). En México, la industria petrolera es uno de los sectores que más genera contaminación en el ambiente, por sus actividades, ya sea por extracción o perforación, estas han generado derrames, perforaciones y lodos desde hace más de 30 años(Maldonado *et al.*,2010). En china, la mayor parte de sus tierras agrícolas están contaminados por hidrocarburos, los cuales han excedido los estándares de calidad ambiental para el suelo(Mahar *et al.*,2016).

En el Perú, la mayor parte de las actividades petrolíferas se encuentran en las zonas del zócalo oceánico, costa y amazonia, las cuales poseen reservas con un total de más de 741 millones de barriles de petróleo (MINEM, 2013). Desde 1978 hasta la actualidad se registran 5000 derrames y fugas de petróleo. En el 2014 se registró un derrame de petróleo en la Quebrada Cuninico, el cual afectó

5





un aproximado de 2 hectáreas, esto se dio por una fuga en el oleoducto Norperuano, la cual generó un derrame de aproximadamente de 2500 barriles de petróleo, donde se vio afectado los ecosistemas y la salud de los pobladores de las comunidades nativas (Gerónimo et al.,2017). Otro de los casos que se dio por derrame de petróleo fue en el 2013, en el cual se vio afectado la Reserva Nacional Pacaya Samiria, que se encuentra en la zona central de la región Loreto, esta reserva posee una gran diversidad biológica en el mundo, por esta razón, la región fue declarada en emergencia ambiental.(OEFA,2013). La necesidad de recuperar los sitios contaminados por hidrocarburos ha permitido que se desarrollen distintas alternativas para la recuperación de estos, los tratamientos pueden ser físicos-químicos; térmicos biológicos(Riesco,2012).En el caso de los tratamientos físicos-químicos, se utilizan parámetros físicos como la temperatura o compuestos químicos, los cuales destruyen o transforman al contaminante, las alternativas que se pueden utilizar son lavado de suelos; inmovilización química y oxidación química, las ventaja de estos tratamientos son que se puede realizar en un corto tiempo(Hermoza, 2018). En el caso de los tratamientos térmicos se utiliza el calor para aumentar la volatilización o inmovilizar a los contaminantes del suelo, para este tipo de tratamiento existen varias alternativas como la contención: extracción bajo vacío o venting; desorción térmica; incineración; vitrificación, inyección de vapor; inyección de agua caliente; inyección de aire caliente y calentamiento con resistencia eléctrica, estos tratamientos no son muy recomendados ya que presentan varias desventajas como presupuestos altos

(Volke et al.,2012).





Por su parte, los tratamientos biológicos, presentan ventajas, entre ellas se tiene que son de bajos costos; son benéficas para el ambiente y en la mayoría de los casos no se requiere de un tratamiento posterior (Volke *et al.*,2012), en estos tratamientos se utilizan microorganismos o especies vegetales. Las alternativas que se puede utilizar son por fitorremediación o biorremediación. La fitorremediación consiste en utilizar especies vegetativas que tengan la capacidad de degradar los hidrocarburos en los ecosistemas afectados(Ferrera-Cerrato *et al.*, 2006).Otra de las alternativas es la biorremediación, que consiste en utilizar microorganismos como hongos, bacterias o algas para la degradación de hidrocarburos, estos microorganismos pueden estar en condiciones aerobias o anaerobias(Volke *et al.*,2012).La biorremediación se puede dar de dos formas, ya sea, por bioestimulación, que consiste en alimentar a los microorganismos del suelo para que realicen la degradación del contaminante, o por bioaumentación, que consiste en inocular microorganismos al suelo contaminado por hidrocarburos (Riesco,2012).

De todas las alternativas mencionadas, la biorremediación es la más aplicada y la que presentan mayor efectividad en la degradación de contaminantes como hidrocarburos; agroquímicos; explosivos; clorofenoles y solventes (Volke et al.,2012), la velocidad de degradación por los microorganismos dependerá de la concentración del contaminante y de las características del suelo, es por ellos que se recomienda realizar un estudio previo de las características edáficas del suelo y el nivel de contaminación, para así definir qué tipo de tratamiento es el adecuado (Riesco,2012). La biorremediación es una alternativa en la cual se utiliza distintos microorganismos que metabolizan los compuestos orgánicos,





con la finalidad de recuperar distintos ecosistemas contaminados(suelo y agua), los microorganismos que más se utilizan son las bacterias ya que presentan un mayor porcentaje de degradación de hidrocarburos; seguido por los hongos, los cuales no presentan mucho porcentaje de degradación; también se utilizan algas y levaduras (Ríos,2005). Esto se comprueba en el estudio que realizó Song *et al.* (1986), en el cual se comparó a las bacterias y hongos en la degradación de n-hexadecano, obteniendo como resultado que las bacterias degradan un 82% de n-hexadecano y los hongos solo un 13 % de este.

En la siguiente tabla se presentan los géneros de bacterias y hongos degradadores de hidrocarburos:

Tabla 1: Géneros de bacterias y hongos degradadores de hidrocarburos

<u>Bacterias</u>	<u>Hongos</u>		
Acinetobacter	Aspergillus		
Arthobacter	Candida		
Aeromonas	Corollospora		
Alcaligenes	Dendryphiella		
Agrobacterium	Fusarium		
Bacillus	Hansenula		
Cicrobacter	Lulworthia		





Enterobacter	Mortierella		
Erwinia	Phialophora		
Flavobacterium	Penicillium		
Listonella	Rhodotorula		
Pseudomonas	Sporobolomyces		
Rhodococcus	Trichoderma		
Vibrio	Variscosporina		

Fuente: Ríos,2005.

Con respecto a las bacterias, el género de las pseudomonas son las que predominan en esta relación ya que diversos estudios verifican que tienen una mayor capacidad degradativa (Mayz et al.,2017), entre las especies de este género se tiene a la *Pseudomona sp.* las cuales son identificadas como excelentes degradadoras de hidrocarburos (Walton et al., 1994). Esto lo verifica Seabra,1999 que menciona que las bacterias del género *Pseudomona* son eficientes en los procesos de degradación y en desarrollar conversiones cometabólicas (Cookson,1995), el cual es el proceso de transformar un compuesto orgánico por medio de un microorganismo (Alexander, 1999). Esto se confirma en el estudio de Salgado et al.,2008 en el cual utilizó a la *Pseudomona aeruginosa* para la degradación de alcanos, los cuales son hidrocarburos simples compuestos por C e H, se obtuvo como resultado que la *Pseudomona aeruginosa* degrado al cosano(C20) y tetradecano(C14) en un 60 % y 30 % respectivamente. Esto coincide con la investigación de Pucci et al.,2015 en el





cual utilizaron pseudomonas y rhodococcus para la degradación de n-alcanos, en donde se obtuvo como resultados en que las pseudomonas y rhodococcus degradaron al 58 % y 24 % al cosano (C20) respectivamente.

Por su parte, Pinto et al.,2018 utilizaron a la *Pseudomona putida* y *Acinetobacter baumannii* para degradar diésel y gasolina del suelo. Con respecto al diésel se obtuvo que la *Acinetobacter baumannii* obtuvo una mayor degradación (58%) y *Pseudomona putida* (52%), en el caso del porcentaje de degradación de gasolina se obtuvo como resultado un 69% para la *Acinetobacter baumannii* y la *Pseudomona putida* al 63%.En el trabajo de Herrera,2002 evaluó la eficiencia de la *Pseudomona putida* en la degradación de gasolina en distintos tiempos, en el cual se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 2: Porcentajes de degradación de gasolina en distintos periodos de tiempo

Tiempo	% de degradación		
30 días	30		
60 días	48		
90 días	76		

En el estudio de Figueroa,2017 utilizó a la bacteria Methylobacterium sp, la cual degradó en un 60 % a los hidrocarburos. Estos resultados coinciden con los trabajos de Van Aken *et al.*,2004 y Sirvastva *et al.*,2017 en donde se obtuvo como resultado un porcentaje de degradación de 58% y 60 % respectivamente.

En el estudio de Arrieta et al.,2012 utilizaron distintos géneros de bacterias, las cuales son *Enterobacter sp, Bacillus sp, Staphylococcus aureus, Sanguibacter soli, Arthrobacter sp y Flavobacterium sp* para la degradación de diésel, donde





se obtuvo como resultados que la *Enterobacter sp y Bacillus sp* degradaron en un mayor porcentaje(39%) y en un tiempo de 40 días al diésel. A diferencia de los otros géneros que presentaron los siguientes porcentajes de degradación en un periodo de 40 días: *Staphylococcus aureus*(25%), *Sanguibacter soli*(22%), *Arthrobacter sp*(13%) y *Flavobacterium sp*(15%).

Con respecto a los hongos, estos son buenos en la degradación de hidrocarburos ya que poseen una enzima eficiente (Munnecke et al, 1998). En diferentes estudios indican que los hongos son buenos degradadores de hidrocarburos en diferentes sitios contaminados, en la investigación de Lemos et al.,2002 indicaron distintos géneros de hongos que son aisladas en distintos ecosistemas, el *Thichoderma y Mortierella* mayormente son aisladas desde suelos contaminados con hidrocarburos, a diferencia de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* que mayormente se aíslan en ambientes marinos y terrestres con hidrocarburos. Sin embargo, los hongos degradan a los hidrocarburos en mucho más tiempo, esto se demuestra en el estudio de Contreras (2017), en el cual utilizó a los hongos del género *Aspergillus sp.* para la degradación de hidrocarburos, dando como resultado una degradación de 73 % a los 90 días. Esto se comprueba en el estudio de Chaineau et al.,1999 en el cual utilizó al Penicillium brevicompactum para la degradación de hidrocarburos, donde se obtuvo como resultado un 23% en un periodo de 30 días.





En el estudio de Cerna,2018 se evaluó la degradación de hidrocarburo por el hongo *Penicillium janthinellum* en distintas concentraciones y tiempo, en el cual se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 3: Concentración de hidrocarburos respecto al tiempo

	Tiempo				
	Inicio	12 días	24 días	Final(36 días)	
Tratamiento	Concentración de hidrocarburo(mg/Kg)				
T1(40% de hongo)	1000	9071,11	8361,11	7487,77	
T2(20% de hongo)	1000	9394,44	8566,6	7644,44	
T3(10%de hongo)	1000	9500	8944,44	8100	

Fuente: Cerna,2018.

Como se observa en el cuadro el hongo *Penicillium janthinellum* degrado al hidrocarburo en un mayor tiempo y en una mayor concentración.

En la investigación de Ferreira *et al.*,2013 realizaron la biorremediación para un suelo contaminado por hidrocarburo (diésel), en donde evaluaron la eficiencia de la *Thichoderma* en la degradación de estos, en una misma concentración de hidrocarburo, pero en diferentes tiempos, los resultados que presentaron fueron al 30% y 70% de degradación en 30 y 60 días respectivamente. Esto se comprueba en la investigación de Diaz,2011 en donde evaluó la eficiencia de la *Thichoderma* en la degradación de hidrocarburo(diésel), donde se obtuvieron como resultados un porcentaje de 35% y 75% de degradación en 30 y 90 días respectivamente.





CONCLUSIONES

Se concluye que la alternativa que mayormente se usa para la remediación de suelos es la biorremediación, en la cual se utilizan distintos microorganismos, siendo las bacterias la más utilizadas para la recuperación del suelo contaminado por hidrocarburos, en la cual, el género de las Pseudomonas las que más resaltan para esta alternativa de remediación. Con respecto a los hongos el género que más resalta es el de Penicillium ya que son capaces de degradar a los hidrocarburos en un mayor porcentaje, entre estos microorganismos los más eficientes son los hongos ya que presentan un alto porcentaje de degradación (73%) a diferencia de las bacterias. Sin embargo, en diferentes estudios se evalua a estos microorganismos con respecto al tiempo de degradación, en donde los hongos degradan un mayor porcentaje de hidrocarburos en un tiempo de 90 días, a diferencia de las bacterias que degradan a los hidrocarburos en menos tiempo.





REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agnello, A. C., Bagard, M., van Hullebusch, E. D., Esposito, G., & Huguenot, D. (2016). Comparative bioremediation of heavy metals and petroleum hydrocarbons co-contaminated soil by natural attenuation, phytoremediation, bioaugmentation and bioaugmentation-assisted phytoremediation. *Science of The Total Environment*, *563–564*, 693–703. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.061
- Castro, F., Forero, D., Ramírez, J., & Reina, M. (2014). Evaluación de la contribución económica del sector de hidrocarburos colombiano frente a diversos escenarios de producción. Recuperado de https://www.repository.fedesarrollo.org.co/bitstream/handle/11445/1688/Re por_Diciembre_2014_Villar_et_al.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Contreras, J. (2017). Eficiencia de la biodegradación de hidrocarburos de petróleo por hongos filamentosos aislados de suelo contaminado (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

 Recuperado de http://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/UNPRG/1350/BC-TES-TMP-183.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Chaîneau, C. ., Morel, J., Dupont, J., Bury, E., & Oudot, J. (1999). Comparison of the fuel oil biodegradation potential of hydrocarbon-assimilating microorganisms isolated from a temperate agricultural soil. *Science of The*

🌞 TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



Total Environment, 227(2–3), 237–247. https://doi.org/10.1016/S0048-9697(99)00033-9

- Ferrera-Cerrato, R., Rojas-Avelizapa, N., Poggi-Varaldo, H., & Cañizares-Villanueva, R. (2006). Procesos de biorremediación de suelo y agua contaminados por hidrocarburos del petróleo y otros compuestos orgánicos.
 Recuperado de https://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2006/mi062s.pdf
- Ferreira, C., Santos, F., & Pessoa, F. (2013). Biorremediación de un suelo tropical contaminado con residuos aceitosos intemperizados. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v29n1/v29n1a2.pdf
- Hermoza, M. (2018). Determinación de la capacidad de biodegradación de diésel efectuada por microorganismos acidófilos aislados de suelos contaminados con hidrocarburos (títulos de pregrado). Universidad Católica de Santa María.

 Recuperado de http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/UCSM/8229/42.0193.IB

 .pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Mahar, A., Wang, P., Ali, A., Awasthi, M. K., Lahori, A. H., Wang, Q., Li, R., & Zhang, Z. (2016). Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 126, 111–121.
 https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.12.023
- Maldonado, E., Rivera, M., Izquierdo, F., & Palma, D. (2010). Efectos de rizosfera, microorganismos y fertilización en la biorremediación y fitorremediación de suelos con petróleos crudo nuevo e intemperizado. Recuperado de

🌞 TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-29792010000200001

- Mayz, J. C., & Manzi, L. V. (2017). Bacterias hidrocarburoclásticas del género
 Pseudomonas en la rizosfera de Samanea saman (Jacq.) Merr. Revista
 Colombiana de Biotecnología, 19(1), 29–37.
 https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v19n1.57408
- MINEM (2013). Libro anual de recursos de hidrocarburos. Recuperado de http://www.minem.gob.pe/minem/archivos/LARH_2017(1).pdf
- Moreno, C., González, A., & Blanco, M. (2004). Tratamientos biológicos de suelos contaminados: contaminación por hidrocarburos. Aplicaciones de hongos en tratamientos de biorrecuperación. Recuperado de https://www.academia.edu/33666322/Tratamientos_biol%C3%B3gicos_de_suelos_contaminados_contaminaci%C3%B3n_por_hidrocarburos._Aplicaciones_de_hongos_en_tratamientos_de_biorrecuperaci%C3%B3n
- OEFA (2013). OEFA: Derrame de petróleo en Pacaya Samiria no es reciente y está siendo fiscalizado. Recuperado de https://gestion.pe/peru/politica/oefa-derrame-petroleo-pacaya-samiria-reciente-siendo-fiscalizado-55482-noticia/
- Pinto, D., & Sánchez, V. (2018). Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante la utilización de diferentes cepas bacterianas a escala de laboratorio. Recuperado de https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/15451/Proyecto%20d e%20investigaci%C3%B3n%20Biorremediaci%C3%B3n%20de%20suelos%2 0contaminados%20por%20hidrocarburos%20mediante%20la%20ut.pdf?sequ ence=1&isAllowed=y

ΤV

****** TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



- Pucci, G., Acuña, A., & Pucci, O. (2015). Biodegradación de hidrocarburos en fondos de tanques de la industria petrolera. Recuperado de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332015000100006
- Riesco, R. (2012). Proyecto de recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos. Recuperado de https://ddd.uab.cat/pub/trerecpro/2012/hdl_2072_206396/PFC_RaquelAlonsoRi esco.pdf
- Rios, R. (2005). Estudio de la estimulación biológica para el tratamiento de residuos de perforación petrolera empleando lisímetros. Recuperado de http://148.206.53.84/tesiuami/UAMI12129.pdf
- Velasquez, J. (2017). Contaminación de suelos y aguas por hidrocarburos en Colombia. Análisis de la fitorremediación como estrategia biotecnológica de recuperación.

 Recuperado de http://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/1846/2065
- Volke, T., y Velasco, J. (2002). Tecnologías de remediación para suelos contaminados. *INE-SEMARNAT*, 65, 30–50.