



UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA

**“BIORREMEDIACIÓN DE SUELO CONTAMINADO CON  
HIDROCARBUROS EMPLEANDO BACTERIAS, HONGO Y  
ENZIMAS BACTERIANAS”**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previa a la obtención del Título de:

**BIÓLOGA**

**AUTOR:**

SILVA CARRASCO DOMÉNICA ESTEFANÍA

**TUTOR:**

AC. SONNYA MENDOZA LOMBANA, PhD.

LA LIBERTAD – ECUADOR

**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA**

**FACULTAD CIENCIAS DEL MAR**

**CARRERA DE BIOLOGÍA**

**“BIORREMEDIACIÓN DE SUELO CONTAMINADO CON  
HIDROCARBUROS EMPLEANDO BACTERIAS, HONGO Y  
ENZIMAS BACTERIANAS”**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

Para la obtención del Título de:

**BIÓLOGA**

**AUTORA:**

**SILVA CARRASCO DOMÉNICA ESTEFANÍA**

**TUTOR:**

**AC.SONNYAMENDOZALOMBANA, PhD.**

**LA LIBERTAD-ECUADOR**

**2026**

## DECLARACIÓN DEL DOCENTE TUTOR

En mi calidad de Docente Tutor del Trabajo de Integración Curricular, “**BIORREMEDIACIÓN DE SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS EMPLEANDO BACTERIAS, HONGO Y ENZIMAS BACTERIANAS**”, elaborado por **Doménica Estefanía Silva Carrasco**, estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Biólogo/a, me permito declarar que luego de haber dirigido su desarrollo y estructura final del trabajo, este cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, apruebo en todas sus partes, encontrándose apto para la evaluación del docente especialista.

Atentamente



Ac. Sonny Mendoza Lombana. PhD.

**DOCENTE TUTOR**

**C.I.0912802816**

## DEDICATORIA

*Con mucho cariño para mis bellos ángeles del cielo, mi tía Delia María Carrasco Viteri y mi abuelito Mesías Leonardo Carrasco Viteri, por ser mi apoyo, fortaleza y ayuda desde mis inicios académicos hasta cuando dieron su último respiro, a mi querido hermano Josué para que siempre recuerde que todo se puede lograr con perseverancia, esfuerzo y amor a lo que a uno le gusta en esta vida, a mi adorada mamá por siempre estar a mi lado y ser mi pilar fundamental en las buenas y en las malas , y con mucha fascinación y esperanza este trabajo fruto de mí, lo dedico a la Ciencia que siempre me inspira a buscar respuestas, a experimentar para no conformarme con lo evidente sino a realizar un cambio positivo hacia el mundo.*

## AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer en primer lugar a mi Dios y a la Virgen María, quienes, con su guía, bendiciones y sabiduría,

A mi “Universidad Estatal Península de Santa Elena”, por darme la oportunidad de obtener más conocimientos en el área de Ciencias, con mi esfuerzo y constancia a diario.

A la Ac. Sonnya Mendoza Lombana. PhD, por brindarme su apoyo y conocimientos, como docente y tutora en mi etapa universitaria.

Al Ing. José Villegas, superintendente de la Refinería de La Libertad- EP Petroecuador, por darme la apertura y a gestionar, el convenio entre la universidad y la empresa de Petroecuador.

A la Empresa Pública Petroecuador, por darme la oportunidad de desarrollar mi estudio investigativo en sus instalaciones en el Megaterio de la provincia de Santa Elena y en el Beaterio de la ciudad de Quito.

Al Ing. Carlos Alberto Escandón Espín y al Ing. Carlos Andres Chavez Gomez, por su apoyo con sus conocimientos y en el proceso de gestión para poder realizar mi tesis en EP- Petroecuador.

Al laboratorio certificado de Duloder-Novagestión por ayudarme con los respectivos análisis. A mi familia cercana la cual me ha apoyado a lo largo de mi etapa académica.

A mis amigos que desde el inicio de mi etapa universitaria han estado a mi lado, Astrid Oquendo, Alayza Chang y compañeros gracias por su amistad y por compartir esta linda fase académica junto a mí.

## TRIBUNAL DE GRADO

Trabajo de Integración Curricular presentado por **SILVA CARRASCO DOMÉNICA ESTEFANÍA**, como requisito parcial para la obtención del grado de Biólogo/a de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Trabajo de Integración Curricular **APROBADO** el: 09 de diciembre de 2025



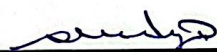
---

Ing. Jimmy Vihon Moreno, M.Sc.  
**DIRECTOR/A DE CARRERA**  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**



---

Ing. Jorge Magallanes Tomalá M.Sc.  
**PROFESOR DE ÁREA**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



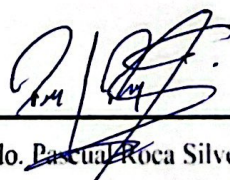
---

Ac. Sonnya Mendoza Lombana, Ph.D.  
**DOCENTE TUTOR**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



---

Blgo. Richard Duque Marín, M.Sc.  
**DOCENTE GUÍA DE LA UIC II**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



---

Lcdo. Pascual Roca Silvestre, Mgr.  
**SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL**

## DECLARACIÓN EXPRESA

Yo, **Doménica Estefanía Silva Carrasco**, me hago responsable por las ideas, datos, investigaciones y resultados que se presentan en esta tesis.

Por medio de la presente declaración cedo los derechos de autoría y propiedad intelectual de este trabajo de investigación curricular a la UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA (UPSE), según lo establecido por la ley de propiedad intelectual, reglamento y normativa institucional vigente.



---

**Doménica Estefanía Silva Carrasco**

C.I. 0953234382

## INDICE

CAPITULO I .....	18
1. INTRODUCCIÓN .....	18
2. PROBLEMÁTICA .....	22
3. JUSTIFICACIÓN .....	24
4. OBJETIVOS .....	28
4.1. OBJETIVO GENERAL .....	28
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	28
5. HIPÓTESIS .....	29
5.1. HIPÓTESIS ALTERNATIVA (HA).....	29
6. MARCO TEÓRICO .....	30
6.1. EL SUELO .....	30
6.2. CALIDAD DEL SUELO.....	31
6.3. PETRÓLEO .....	32
6.4. HIDROCARBUROS .....	33
6.4.1. HIDROCARBUROS SATURADOS .....	34
6.4.2. HIDROCARBUROS NO SATURADOS .....	34
6.4.3. HIDROCARBUROS ALIFÁTICOS.....	35
6.4.4. HIDROCARBUROS ASFÁLTICOS.....	36

	10
6.4.5. HIDROCARBUROS TOTALES DEL PETRÓLEO .....	36
6.5. DIÉSEL .....	38
6.6. HIDROCARBUROS EN EL AMBIENTE .....	39
6.7. EFECTOS DE LOS HIDROCARBUROS EN LA SALUD HUMANA .....	41
6.8. INTRODUCCIÓN A LA BIORREMEDIACIÓN .....	41
6.8.1. BIORREMEDIACIÓN IN SITU.....	44
6.8.2. BIORREMEDIACIÓN EX SITU .....	45
6.8.3. REQUERIMIENTOS PARA LA BIORREMEDIACIÓN.....	47
6.9. BIODEGRADACIÓN .....	48
6.10. MICROORGANISMOS Y SU FUNCIÓN EN BIORREMEDIACIÓN DE HIDROCARBUROS EN SUELOS .....	49
6.11. MECANISMOS DE DEGRADACIÓN MICROBIANA.....	50
6.12. MECANISMO DE DEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS POR HONGOS .....	54
6.13. MARCO LEGAL .....	56
6.13.1. CONSTITUCIÓN DE LA REPUBLICA DEL ECUADOR.....	56
6.13.2. CÓDIGO ORGÁNICO DEL AMBIENTE (COA) .....	57
6.13.3. LEY DE GESTIÓN AMBIENTAL .....	57
6.13.4. ACUERDOS MINISTERIALES Y NORMAS TÉCNICAS .....	58

6.13.5. POLÍTICAS Y COMPROMISOS INTERNACIONALES.....	11 60
6.13.6. RESPONSABILIDADES, SANCIONES Y RESTAURACIÓN AMBIENTAL .....	61
7. METODOLOGÍA.....	63
7.1. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	63
7.1.1. ÁREA DE ESTUDIO.....	63
7.1.2. TIPO DE ESTUDIO.....	64
7.2. FASES DEL ESTUDIO .....	64
7.2.1. FASE DE CAMPO .....	64
7.2.1.2. MUESTREO DE SUELO .....	65
7.2.1.3. MUESTREO DE SUELO PARA ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS ...	66
7.2.2. FASE DE LABORATORIO .....	74
7.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS .....	82
8. RESULTADOS .....	83
8.1. ANÁLISIS DE SUELO .....	83
8.2. GRANULOMETRÍA .....	84
8.3. CUANTIFICACIÓN DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS.	88
8.4. CARACTERIZACIÓN MICROSCÓPICA Y MACROSCÓPICA BACTERIANA.....	90
8.5. PRUEBA DE CATALASA .....	92

	12
8.6. CARACTERIZACIÓN MACROSCÓPICA Y MICROSCÓPICA DE HONGOS .....	94
8.7. DETERMINACIÓN DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS.	102
8.8. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS .....	108
8.8.1. TEMPERATURA .....	108
8.8.2. HUMEDAD .....	110
8.8.3. PH.....	111
8.8.4. CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA.....	113
8.8.5. MATERIA ORGÁNICA.....	114
8.8.6. CARBÓN ORGÁNICO .....	116
8.8.7. DETERMINACIÓN DE LOS VALORES DE REDUCCIÓN DE TPH.....	116
8.9. CORRELACIÓN ENTRE PARÁMETROS FÍSICO – QUÍMICOS Y LAS UFC.....	121
9. DISCUSIONES.....	124
10. CONCLUSIONES .....	133
11. RECOMENDACIONES .....	136
12. BIBLIOGRAFÍA .....	138

## Índice de figuras

Figura 1 Clasificación de los hidrocarburos .....	37
Figura 2 Estructura del diésel .....	38
Figura 3 Proceso bioquímico de la bacteria en la biorremediación .....	51
Figura 4 Degradación del oxígeno de las bacterias .....	52
Figura 5 La ruta de degradación del naftaleno .....	53
Figura 6 Ubicación del área de estudio .....	63
Figura 7 Ensayo de Bioestimulación .....	69
Figura 8 Proceso de preparación de placas de agar selectivo .....	76
Figura 9 Esquema de diluciones seriadas para análisis microbiológico de suelos .....	77
Figura 10 Pared celular bacteriana .....	79
Figura 11 Diferentes pasos para tinciones Gram .....	80
Figura 12 Curva de distribución granulométrica .....	88
Figura 13 Crecimiento de microorganismos en agar TSA .....	90
Figura 14 Imágenes de colonias obtenidas y teñidas por medio de la Tinción de Gram .....	91
Figura 15 Colonias bacterianas y fúngicas obtenidas de los análisis de suelo. ....	102
Figura 16 Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por cada unidad experimental realizada durante la experimentación y prueba de tratamientos .....	106
Figura 17 Curva de distribución de la carga bacteriana de cada tratamiento .....	106
Figura 18 Valores de temperatura registradas durante la experimentación y prueba de tratamientos. .....	109

Figura 19 Valores de humedad registradas durante la experimentación y prueba de tratamientos .....	111
Figura 20 Valores de pH registradas durante la experimentación y prueba de tratamientos.....	112
Figura 21 Valores de conductividad eléctrica (ds/m) registradas durante la experimentación y prueba de tratamientos.....	114
Figura 22 Valores de materia orgánica registradas durante la experimentación y prueba de tratamientos .....	115
Figura 23 Valores de carbón orgánico registradas durante la experimentación y prueba de tratamientos .....	116
Figura 24 Valores de TPH registradas durante la experimentación y prueba de tratamientos .....	118
Figura 25 Porcentajes finales obtenidos de cada tratamiento experimental.....	120
Figura 26 Correlación de los parámetros físico – químicos, TPH y UFC.....	122

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Relación entre los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) y la tesis biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos empleando bacterias, hongos y enzimas bacterianas .....	26
Tabla 2. Requerimientos para la biorremediación .....	47
Tabla 3. Géneros de hongos utilizados para la biorremediación de suelos.....	55
Tabla 4. Coordenadas del lugar de investigación y sus condiciones climáticas.....	65
Tabla 5. Parámetros físicos y químicos para analizar del suelo .....	66
Tabla 6. Pasos para análisis microbiológico del suelo contaminado .....	68
Tabla 7. Parámetros de TPH analizados y su metodología.....	82
Tabla 8. Contenido de humedad.....	85
Tabla 9. Serie fina del suelo .....	86
Tabla 10. Distribución del tamaño de las partículas.....	87
Tabla 11. Prueba de catalasa .....	91
Tabla 12. Caracterización macroscópica bacteriana.....	93
Tabla 13. Caracterización macroscópica fúngica .....	94
Tabla 14. Caracterización microscópica de hongos .....	97

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXOS: FASE DE CAMPO.....	157
ANEXOS: FASE LABORATORIO .....	161
ANEXOS: ESTADISTICOS.....	167

## RESUMEN

Ecuador al ser un país petrolero ha presentado varios derrames de petróleo en diferentes zonas del país. Se planteó utilizar un nuevo tratamiento *ex situ* de bacterias, hongos y enzimas de bacterias de uso comercial y de fácil aplicación para determinar sus capacidades de degradación de hidrocarburos y obtener diferencias notables en el desarrollo y la adaptabilidad, a la reducción del contenido de hidrocarburos en suelos contaminados por TPH (Hidrocarburos Totales de Petróleo). El suelo de estudio era tipo limo-arcilloso, contaminando por diésel. El ensayo tuvo una duración de 50 días, con el objetivo de evaluar el efecto individual de cada tratamiento de bioproductos comerciales de bacterias 4% UFC, hongo  $2 \times 10^8$  UFC/g, enzimas y una combinación de los tres, con condiciones controladas en microcosmos. Cada tratamiento se replicó tres veces, con un total de 15 unidades experimentales. Para la detección del porcentaje de degradación, se usó el espectrofotómetro y se estableció al tratamiento de Hongo con el mayor porcentaje de degradación (31,12%) de TPH, en cambio el tratamiento con menor porcentaje de degradación fue el de bacterias con un (22,38%). El tratamiento de Enzimas bacterianas presentó un 26,08% de degradación. El tratamiento Mix de los tres bioproductos presentó una reducción porcentual de TPHs del 27,94%. Se llevó un registro del crecimiento bacteriano y fúngico del suelo, donde se observó la presencia de las bacterias del género *Bacillus* y al hongo *Trichoderma sp.*, por medio de tinciones. Los parámetros de pH, temperatura, humedad y conductividad eléctrica fueron estables, en cambio la materia y carbón orgánico, disminuyó por la acción de los microorganismos. Debido al tipo de suelo, se facilitó el tratamiento *ex situ*, los microorganismos tuvieron una eficaz adaptación al medio xenobiótico, logrando su crecimiento y desarrollo, gracias al control de sus parámetros físicos-químicos, degradando el diésel del suelo de forma sostenible y amigable con el medio ambiente.

**Palabras clave:** Biorremediación, suelo, ex situ, TPH, bioproductos, bacterias, hongo, enzimas, *Bacillus*, *Trichoderma sp.* degradación.

## ABSTRACT

Ecuador, being an oil-producing country, has experienced several oil spills in different regions. A novel *ex situ* treatment using commercially available and easily applied bacteria, fungi, and bacterial enzymes was proposed to determine their hydrocarbon degradation capabilities and to observe significant differences in their development and adaptability in reducing hydrocarbon content in soils contaminated with TPH (Total Petroleum Hydrocarbons). The soil studied was a silty-clay type contaminated by diesel. The trial lasted 50 days, with the objective of evaluating the individual effect of each treatment of commercial bioproducts—bacteria 4% UFC, fungi  $2 \times 10^8$  UFC/g, enzymes, and a combination of the three—under controlled microcosm conditions. Each treatment was replicated three times, for a total of 15 experimental units. To determine the percentage of degradation, a spectrophotometer was used. The fungal treatment showed the highest percentage of TPH degradation (31,12%), while the bacterial treatment showed the lowest (22,38%). The bacterial enzyme treatment showed 26,08% degradation. The mixed treatment of the three bioproducts resulted in a 27,94% reduction in TPH. Bacterial and fungal growth in the soil was recorded, revealing the presence of *Bacillus* bacteria and *Trichoderma* sp. fungi through staining. pH, temperature, humidity, and electrical conductivity parameters remained stable, while organic matter and carbon content decreased due to the action of the microorganisms. The soil type facilitated the *ex situ* treatment, and the microorganisms adapted effectively to the xenobiotic environment, achieving growth and development thanks to the control of their physicochemical parameters. This resulted in the sustainable and environmentally friendly degradation of diesel in the soil.

**Keywords:** Bioremediation, soil, *ex situ*, TPH, bioproducts, bacteria, fungus, enzymes, *Bacillus*, *Trichoderma* sp., degradation.

# CAPITULO I

## 1. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial existe una gran problemática como son los derrames petroleros, los cuales producen extensas pérdidas de ecosistemas, causando afectaciones en la salud, y conflictos en el ámbito social y ambiental. El Ecuador al ser un país petrolero se ha visto envuelto en varios derrames de petróleo en diferentes zonas del país, lamentablemente las actividades que tienen relación con esta industria, como es la refinación, las fugas de tanques de almacenamiento subterráneo y vertidos industriales, los derrames de petróleo, que son la causa más común de contaminación.

La contaminación por TPH (Hidrocarburos Totales de Petróleo) está considerada como una emergencia sanitaria en el que nuestro país Ecuador, entre el 2012 y mayo de 2022 hubo 1584 derrames, principalmente debido a la falta de mantenimiento de los oleoductos. Siendo el 97% de derrames son responsabilidad de empresas públicas del Estado ecuatoriano (Quispe, 2020).

La dificultad principal se debe a la complejidad de su composición, integrada por alcanos, hidrocarburos aromáticos, resinas y asfaltenos. Estos componentes resultan altamente

tóxicos para los organismos vivos debido a sus características químicas, su comportamiento en el ambiente y su capacidad de persistir como contaminantes (Mirjani et al., 2021).

Como consecuencia de estos derrames en altas concentraciones de hidrocarburos hay escasez de nutrientes y minerales como el nitrógeno, fósforo y otros elementos químicos como los metales pesados que son alterados, causando lixiviación y erosión de suelo. El suelo pierde sus características y calidad, afectando su fertilidad en zonas agrícolas en donde se inhibe la actividad microbiana ya que el medio se vuelve deficiente de oxígeno, lo que perjudica a los microorganismos y a la fauna asociada. Al ocurrir estos derrames los hidrocarburos contaminan no solo al suelo, sino que, además, se evaporan e infiltran en el suelo, contaminando así las aguas subterráneas, llegando hasta ambientes acuícolas y marinos, afectando a la vida marina (Wang et al., 2017).

Los suelos contaminados con petróleo son clasificados peligrosos para microorganismos y plantas, por lo que estos suelos se vuelven contaminados y no son aptos para ningún tipo de actividad en él, requiriendo ayuda efectiva a costos no tan altos. Además de que tienen efectos mutagénicos, teratogénicos y carcinogénicos tanto en animales como en humanos (Khanna y Gharpure, 2017). Para atenuar la contaminación por el derrame de petróleo y sus consecuencias a nivel de ambientes edáficos, existen principalmente tres tipos de métodos de remediación: químico, físico y biológico, este último también conocido como biorremediación (Wang et al., 2017).

Las metodologías físicas y químicas se utilizan para remediar suelos contaminados de manera rápida y eficiente. Sin embargo, poseen desventajas como costo elevado, destrucción de la estructura del suelo y contaminación secundaria (Wang et al., 2017). Por estos motivos, varios autores concuerdan en que la biorremediación o biodegradación es la mejor metodología para remediar suelos contaminados con hidrocarburos (Chen et al., 2015; Wang et al., 2017) debido a que no va a producir contaminación secundaria y es costo-efectiva en su tratamiento (Azubuike et al., 2016; Kumari y Singh, 2016).

Es una técnica limpia, no muy costosa, accesible y en algunas ocasiones no requiere de sustancias adicionales, por su composición, ya que se usan microorganismos para degradar a los compuestos contaminantes presentes, debido a que las moléculas de los hidrocarburos resultan ser una excelente fuente de carbono y energía, lo que posibilita el desarrollo de los microorganismos al metabolizar estos compuestos tóxicos (Abad, 2008).

En esta biorremediación experimental, se usarán tres bioproductos que son altamente utilizados en la industria acuícola y en la agricultura. El primer bioproducto: Terminate, que es una mezcla que contiene cuatro tipos de bacterias liofilizadas del género *Bacillus*, este bioproducto es altamente utilizado en la industria acuícola en el cultivo de camarones o peces. El segundo bioproducto Trichofull, es a base de un microhongo del género *Trichoderma sp.*, el cual es utilizado en la industria agrícola y por último Biobac A, un bioproducto a base de enzimas bacterianas y metabolitos utilizado mayormente en la industria acuícola.

En las últimas décadas, múltiples investigadores han documentado y registrado el comportamiento microbiano en la degradación de los hidrocarburos, dando excelentes resultados, como en el estudio realizado por Arrieta et al., 2012, en la cual caracterizó un consorcio bacteriano integrado por los géneros *Flavobacterium sp.*, *Sanguibacter soli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus sp.*, *Enterobacter sp.*, y *Arthorbacter sp.*, los cuales degradaron el diésel del suelo. Las especies de hongos como *Favolus tenuiculus* y *Trichoderma sp.* producen enzimas ligninolíticas, incluyendo lipasas, lacasas y peroxidasas, las cuales descomponen compuestos complejos como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) (Palacios Carlos & Silvia Llerena., 2024).

Las enzimas, ya sean producidas por bacterias u hongos, son fundamentales en el proceso de biorremediación (Peixoto, R. S., Vermelho, A. B., & Rosado, A. S. 2011). En la presente investigación se realizó un bioensayo experimental a un suelo contaminado con diésel, por medio de la técnica de biorremediación *Ex situ*, para determinar que bioproducto presenta el mayor porcentaje de biodegradación del hidrocarburo, en este caso del diésel presente en el suelo. Finalmente, esta técnica biotecnológica como es la biorremediación constituye una alternativa completa, sostenible y amigable con el medio ambiente, ya que ayuda a recuperar la calidad del suelo, favoreciendo su regeneración y protección a los ecosistemas terrestres y marinos.

## 1. PROBLEMÁTICA

El uso intensivo de hidrocarburos derivados del petróleo genera una contaminación tanto en los cuerpos de agua como en los suelos (Uddin et al., 2021; Song et al., 2021). Como país petrolero, Ecuador, enfrenta graves consecuencias debido a los derrames de hidrocarburos en altas concentraciones. Los derrames de crudo ocurren con frecuencia durante los procesos de extracción, transporte y descarga en tierra en distintas regiones el mundo (Mirjani et al., 2021). Estos derrames alteran las propiedades físicos- químicos del suelo, provocando una escasez de nutrientes y minerales esenciales, como el nitrógeno y el fósforo, e inhibiendo la actividad microbiana natural. Esto dificulta la recuperación inmediata del ambiente y provoca la pérdida total de los microorganismos y especies que habitan en el medio (Hidalgo et al., 2020).

El daño al ecosistema afecta diversos ámbitos ambientales, incluyendo: el suelo, el agua y el aire, y tiene repercusiones económicas en sectores como la pesca, ganadería, agricultura y el turismo. Además, los derrames impactan negativamente en la calidad de vida de la población cercana a las industrias o pozos petroleros (Cavazos, Pérez y Gutiérrez, 2014). Estudios han demostrado que las personas que viven cerca de pozos petroleros o que participan en la limpieza de derrames de petróleo, han presentado problemas en la salud como irritación de la garganta, piel, infertilidad, abortos, hígado y daño renal (Arévalo et al., 2017).

Los suelos afectados por derrames de diésel se consideran como peligrosos para la vida microbiana y vegetal, lo que los hace inadecuados, por lo que, la biorremediación mediante bacterias, hongos y enzimas bacterianas se presenta como una opción sostenible y económicamente viable, capaz de descomponer hidrocarburos complejos sin producir contaminación adicional (Peña Murillo et al., 2025). En este estudio, el suelo presenta una concentración inicial de 2571 mg/kg y se plantea una reducción de las concentraciones de cada tratamiento en un periodo de tiempo de 50 días, realizando una biorremediación *ex situ*.

Sin embargo, la implementación efectiva de estas nuevas biotecnologías en nuestro país se ve limitada por la falta de protocolos estandarizados, capacitación técnica especializada y estudios que optimicen el uso de microorganismos y sus enzimas para la biorremediación. Es necesario fortalecer la investigación científica para aportar información que contribuya a lograr manejos más amigables con el medio ambiente

## 2. JUSTIFICACIÓN

La contaminación por derrames de hidrocarburos en Ecuador representa una crisis ambiental y social de gran magnitud que afecta directamente la salud de los ecosistemas y las comunidades humanas. Un ejemplo reciente es el derrame ocurrido en marzo de 2025 en la provincia de Esmeraldas, donde aproximadamente 29,000 barriles de petróleo contaminantes afectaron más de 80 kilómetros de ríos y ecosistemas costeros, dejando sin acceso a agua potable a alrededor de 300,000 personas y dañando gravemente la agricultura, ganadería, pesca y turismo local (IFRC, 2025; Mongabay, 2025).

Estos impactos evidenciaron la urgente necesidad de soluciones efectivas para mitigar los daños ambientales y sociales causados por estos eventos. Por lo que, la biorremediación se presenta como una alternativa de aplicación sostenible, económica y ambientalmente amigable, que ayuda a mejorar las propiedades físicas y químicas del suelo, lo que permite su uso futuro en actividades agrícolas o conservación. Reduciendo la generación de residuos y el impacto ambiental secundario asociado a métodos más invasivos que pueden perjudicar en vez de hacer un beneficio (Hidalgo et al., 2020).

En base a lo expuesto se planteó utilizar un nuevo tratamiento de bacterias, hongos y enzimas de bacterias de uso comercial y de fácil aplicación para determinar sus capacidades de degradación de hidrocarburos y obtener diferencias notables en el desarrollo y la adaptabilidad, lo que contribuirá a la reducción del contenido de hidrocarburos en suelos contaminados.

Por lo que al aplicar bacterias, hongo y enzimas ya establecidas en productos comerciales acuícolas y agrícolas, se busca restaurar la calidad ambiental de suelos contaminados con hidrocarburos (Patel et al., 2020). La presente investigación se alinea directamente con varios objetivos del Desarrollo Sostenible (ODS) de la Agenda 2030, ya que, al realizar esta experimentación se podrá obtener una alternativa ecológica, la cual ayudará a minimizar problemáticas actuales y futuras, brindando un aporte al país para una recuperación del suelo de manera efectiva, natural y con el menor impacto en el ecosistema. Además, proporciona información importante que respalda la formulación de políticas y estrategias orientadas a una gestión sostenible del suelo para abordar los desafíos ambientales y el cumplimiento de los objetivos de sostenibilidad.

**Tabla 1**

Relación entre los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) y la tesis biorremediación de *suelos contaminados con hidrocarburos empleando bacterias, hongos y enzimas bacterianas*.

<b>ODS</b>	<b>Descripción del ODS</b>	<b>Relación con la biorremediación</b>
<b>ODS 3: Salud y bienestar</b>	Garantiza una vida sana y promover el bienestar para todos en todas las edades	Reduce la exposición humana a compuestos tóxicos derivados del petróleo, previniendo las enfermedades asociadas a la contaminación.
<b>ODS 6: Agua limpia y saneamiento</b>	Garantiza la disponibilidad y la gestión sostenible del agua y el saneamiento para todos.	Evita la filtración de hidrocarburos desde el suelo contaminado, hacia aguas superficiales y subterráneas, protegiendo, así la calidad del recurso hídrico.
<b>ODS 12: Producción y consumo responsables</b>	Asegura modalidades de consumo y producción sostenibles.	El uso de microorganismos y enzimas es una alternativa limpia y sostenible frente a tecnologías químicas intensivas, proporcionando una producción ambientalmente responsable.
<b>ODS 13: Acción por el clima</b>	Adopta medidas urgentes para combatir el cambio climático y sus efectos.	Es una estrategia con baja huella de carbono y contribuye al mantenimiento de los ecosistemas frente a los impactos del cambio climático.
<b>ODS 15: Vida de ecosistemas terrestres</b>	Gestiona sosteniblemente los bosques, luchar contra la desertificación, detener e invertir la degradación de las tierras y frenar la pérdida de biodiversidad	La restauración de suelos contaminados promueve la recuperación de la biodiversidad edáfica y de la fertilidad, favoreciendo la conservación de los ecosistemas terrestres.

*Nota.* ODS que aplican en este estudio y su relación.

Investigaciones recientes en otros países, emplean biotecnologías nuevas como el uso de nanopartículas para la remediación de suelos contaminados, eliminando los residuos que dejan la contaminación por metales pesados, hidrocarburos, pesticidas y solventes, de aquí nace la importancia del desarrollo y aplicación de bioproductos que sean amigables con el medio ambiente. Por lo que en esta investigación se llevó a cabo una experimentación con el uso de bioproductos que son utilizados en la industria acuícola y agrícola, con funciones de degradación de la materia orgánica, aunque tienen un uso específico y funcional, por su capacidad de degradación, se aplicó para determinar su funcionamiento en la degradación de TPH. Además, otros estudios recientes señalan y afirman que hay bacterias y hongos que pueden adaptarse y ser utilizados como la única fuente para la degradación de hidrocarburos, lo que hace posible su descomposición (Ikiam, 2024).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. OBJETIVO GENERAL:**

Analizar la eficiencia de la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos mediante la aplicación individual de bacterias, hongos y enzimas bacterianas de productos comerciales, determinando cuál de estos tratamientos presenta el mayor porcentaje de biodegradación.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Cuantificar el incremento de la microbiota (UFC/g) bacteriana y fúngica en suelos contaminados con hidrocarburos, mediante cultivos en agar selectivo.
- Determinar los valores del porcentaje de reducción de hidrocarburos totales del petróleo (TPH- mg/kg) de cada tratamiento mediante análisis físicos- químicos.
- Comparar la eficiencia de los tratamientos de bacterias, hongos, enzimas bacterianas y la combinación de los tres tratamientos, en la reducción de hidrocarburos totales del petróleo (TPH).

## **4. HIPÓTESIS**

### **4.1. HIPÓTESIS ALTERNATIVA (Ha):**

La biorremediación mediante la aplicación de bacterias, hongos y enzimas bacterianas de productos comerciales degradan los hidrocarburos presentes en el suelo contaminado.

## **CAPITULO II**

### **5. MARCO TEÓRICO**

#### **5.1. EL SUELO**

El suelo es un recurso natural complejo y dinámico, compuesto por minerales, materia orgánica, agua, aire y una diversidad de organismos vivos que interactúan formando un ecosistema esencial para la vida en la Tierra (Brady & Weil, 2017). Funciona como soporte físico para la vegetación, ya que es un regulador del ciclo del agua y filtro de contaminantes, además de ser un reservorio de nutrientes esenciales (Hillel, 2008). La estructura, textura, pH, contenido de materia orgánica y actividad microbiana son parámetros fundamentales que determinan su fertilidad y capacidad de autorregeneración (Singer & Munns, 2006).

En el caso de suelos contaminados por hidrocarburos, estos parámetros se ven alterados, afectando la porosidad, capacidad de retención de agua y la diversidad de microorganismos (Vidali, 2001). La presencia de compuestos hidrocarburos genera toxicidad para los microorganismos nativos y puede inhibir procesos naturales de

degradación, haciendo necesaria la aplicación de estrategias como la biorremediación mediante bacterias, hongos y enzimas bacterianas, que restauran las propiedades físico-químicas y biológicas del suelo (Azubuiké, Chikere & Okpokwasili, 2016).

Por lo tanto, entender la composición y el comportamiento del suelo, es fundamental para desarrollar y aplicar técnicas y tecnologías de remediación ambiental eficaces, que garanticen la recuperación y restauración de su funcionalidad y la preservación de los ecosistemas terrestres (Margesin & Schinner, 2001).

## **5.2. CALIDAD DEL SUELO**

Según Bautista et al., (2016), la calidad y la salud del suelo son conceptos complementarios. La calidad se define como la capacidad del suelo para cumplir con un uso específico en un período determinado, mientras que la salud del suelo se refiere al estado de sus propiedades dinámicas, tales como el contenido de materia orgánica, la diversidad de organismos y los productos microbianos en un momento concreto. El estudio de la calidad del suelo permite comprender la dinámica de sus propiedades edáficas, lo que resulta esencial para evaluar la sostenibilidad de su manejo y uso.

La conservación de la calidad del suelo es esencial para garantizar la sostenibilidad ambiental. Por ello, es importante seleccionar indicadores de calidad que den respuestas rápidas a los cambios, para que permitan una gestión adecuada y se mejore la resiliencia ante condiciones de estrés y se establezcan lineamientos claros para la restauración ambiental. Se debe evaluar de forma efectiva el suelo, ya que se implica conocer las propiedades que inciden directamente en sus funciones esenciales.

Cabe destacar que los indicadores de calidad deben representar las limitaciones específicas de cada área, por lo que su uso puede variar según el contexto. En consecuencia, la elección de dichos indicadores debe contemplar aspectos de sostenibilidad como la productividad, estabilidad y capacidad de recuperación, además de factores prácticos como los recursos humanos, técnicos y económicos disponibles, la duración del estudio, el nivel de precisión requerido, la infraestructura existente y el perfil de quienes realizan el análisis.

### **5.3. PETRÓLEO**

El petróleo es una mezcla compleja de hidrocarburos y compuestos orgánicos que se encuentra naturalmente en reservorios subterráneos y que, al ser liberado en el ambiente, puede generar contaminación significativa del suelo y del agua (Speight, 2014).

Pozo (2018) indica que el petróleo es uno de los recursos naturales más explotados como fuente de energía no renovable. Su formación ocurre mediante la degradación anaerobia de materia orgánica a lo largo del tiempo, bajo diferentes condiciones ambientales. En cuanto a su composición elemental, el petróleo crudo está formado aproximadamente por 0-1% de oxígeno, 0.2-5% de azufre, 3% de nitrógeno, 10-15% de hidrógeno y 80-88% de carbono, aunque los porcentajes pueden diferir según el yacimiento petrolero (Gavilanez, 2014).

#### **5.4. HIDROCARBUROS**

Los hidrocarburos, son los que conforman al petróleo, son moléculas formadas únicamente por carbono e hidrógeno y se clasifican en alifáticos, aromáticos y asfálticos, cada uno con diferente toxicidad y persistencia en el ambiente (Vidali, 2001).

Cuando el suelo se ve afectado por hidrocarburos, sus propiedades físicas, químicas y biológicas se modifican y se produce una disminución de la porosidad, reducción de la capacidad de retención de agua, la disminución de la fertilidad y la toxicidad hacia la microbiota nativa, lo que inhibe los procesos naturales de degradación y la recuperación del suelo (Margesin & Schinner, 2001; Atlas & Hazen, 2011). Además, la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) representa una amenaza ambiental y para la salud, debido a la toxicidad y el potencial carcinogénico que posee de acuerdo con el tipo de hidrocarburo (Das & Chandran, 2011).

### **5.4.1. HIDROCARBUROS SATURADOS**

Los hidrocarburos saturados corresponden a aquellos compuestos, en los que todos los átomos de carbono se enlazan mediante cuatro enlaces simples, por ejemplo, lo más representativo es el metano ( $\text{CH}_4$ ) (Eadic, 2016).

Estos compuestos, conocidos también como parafinas, presentan baja reactividad química debido a que sus enlaces son de tipo sigma ( $\sigma$ ), lo que les confiere gran estabilidad. Suelen participar en reacciones de sustitución, generalmente de carácter radicalario, y la mayoría se originan a partir de recursos fósiles como el carbón, el petróleo y el gas natural (Teijion & García, 2018).

### **5.4.2. HIDROCARBUROS NO SATURADOS**

En contraste, los hidrocarburos no saturados se caracterizan por estar formados por compuestos orgánicos, únicamente por carbono e hidrogeno, se caracteriza por poseer enlaces dobles o triples entres sus átomos de carbono. Esta instauración les confiere mayor reactividad química, especialmente ante reacciones de adición, oxidación y polimerización, en comparación con los hidrocarburos saturados (Atkins & Jones, 2016).

Aquellos que contienen enlaces dobles son denominados alquenos u olefinas, mientras que los hidrocarburos que poseen más enlaces se los conocen como acetiluros o alquinos (Smith, 2006).

Se clasifican como no saturados porque no contienen el máximo número posible de átomos de hidrógeno (Linstromberg, 1997).

### **5.4.3. HIDROCARBUROS ALIFÁTICOS**

Se llaman también parafínicos, están formados por cadenas lineales o ramificadas de átomos de carbono. Suelen ser más biodegradables que otros tipos de hidrocarburos y representan un riesgo moderado para el suelo y los ecosistemas cuando se liberan al ambiente (Vidali, 2001).

#### **5.4.3.1. HIDROCARBUROS AROMÁTICOS**

Contienen uno o varios anillos bencénicos en su estructura. Son más persistentes y tóxicos que los alifáticos, pudiendo generar efectos negativos sobre la microbiota del suelo y representando riesgos potenciales para la salud humana, especialmente los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), conocidos por su potencial carcinogénico (Das & Chandran,, 2011).

#### **5.4.4. HIDROCARBUROS ASFÁLTICOS**

Constituyen la fracción pesada y viscosa del petróleo, con alta densidad y baja solubilidad en agua. Son altamente persistentes a la degradación natural, lo que dificulta la recuperación baja o alta del suelo contaminado y aumentando la necesidad de estrategias de biorremediación (Margesin & Schinner, 2001).

#### **5.4.5. HIDROCARBUROS TOTALES DEL PETRÓLEO**

El concepto de hidrocarburos totales del petróleo (TPH) hace referencia a una amplia variedad de compuestos químicos derivados del petróleo crudo (Campilla, 2006).

Este recurso natural es empleado en la producción de diversos derivados que, al liberarse, pueden generar contaminación ambiental. Por esta razón, resulta fundamental cuantificar la concentración total de TPH en áreas impactadas, ya que no es posible determinar de manera individual cada uno de los compuestos presentes, tanto en el crudo como en sus productos derivados (ATSDR, 2016).

Los hidrocarburos totales del petróleo (TPH) constituyen uno de los parámetros analíticos más empleados para identificar la presencia de hidrocarburos en un área determinada. Lo que indica que agrupar a varios compuestos químicos derivados del petróleo crudo, sin hacer una referencia a una sustancia específica en particular (ATSDR, 2015).

En medios como el suelo y el agua, los TPH presentan comportamientos semejantes, entre las sustancias incluidas en esta categoría se encuentra el hexano, combustibles de aviación, aceites minerales, así como compuestos aromáticos tales como el benceno, tolueno, xileno naftaleno y fluoreno, además de otros compuestos derivados del petróleo y de la gasolina.

**Figura 1**

*Clasificación de los hidrocarburos*

	Nombre de la función	Grupo funcional y fórmula general	Ejemplo
1. HIDROCARBUROS	1.1. Alcanos (Parafinas)	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ $\text{C}_n\text{H}_{2n+2}$	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ Butano
	1.2. Alquenos (Olefinas)	$-\text{CH}=\text{CH}-$ $\text{C}_n\text{H}_{2n}$	$\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_3$ Propeno
	1.3. Alquinos (Acetilenos)	$-\text{C}\equiv\text{C}-$ $\text{C}_n\text{H}_{2n-2}$	$\text{CH}\equiv\text{C}-\text{CH}_3$ Propino
	1.4. Hidrocarburos cíclicos		$\text{C}_5\text{H}_{10}$ Ciclopentano
	1.5. Hidrocarburos aromáticos		$\text{C}_6\text{H}_6$ Benceno
	1.6. Derivados halogenados	$\text{R}-\text{X}$	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Cl}$ 1-cloropropano

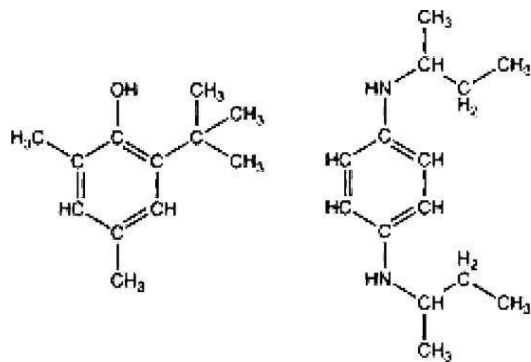
Nota. Figura tomada de Yavel Adams (n.d.)

## 5.5. DIÉSEL

De acuerdo con Zárate (2014), el diésel corresponde a un combustible hidrocarburado compuesto principalmente por fracciones parafínicas, naftalénicas y aromáticas, cuyo rango de átomos de carbono se sitúa entre C10 y C22, calificándose como un hidrocarburo de fracción media y uno de los derivados más utilizados a nivel mundial. Dentro de sus contaminantes más relevantes se encuentra el azufre, el cual, al ser sometido a combustión, se transforma en óxidos de azufre; estos al reaccionar con la humedad atmosférica, generan ácido sulfúrico. Asimismo, contienen compuestos nitrogenados que se liberan en forma de óxido nitroso, ambos responsables de fenómenos como la lluvia ácida.

**Figura 2**

*Estructura del diésel*



*Nota.* Estructura química del diésel conformada por anillos alifáticos. Figura tomada de: (Delgado, C, 2021).

## **5.6. HIDROCARBUROS EN EL AMBIENTE**

El manejo inadecuado de materiales y desechos peligrosos ha originado, a nivel global, un grave problema de contaminación en suelos, aire y cuerpos de agua.

Entre los casos más críticos se encuentra la contaminación asociada al petróleo y sus derivados, cuyo componente principal son los hidrocarburos, que son compuestos orgánicos constituidos por carbono e hidrógeno. Ecuador al ser un país petrolero, existen diversos derrames de hidrocarburos los que representa una de las principales fuentes de afectación ambiental, ya que impactan directamente a suelos, aguas superficiales y subterráneas, así como a la fauna y flora silvestres del área perjudicada. Según Mishra et al., los derrames de diésel generan impactos significativos en suelos y aguas tanto superficiales como subterráneas, debido a que los hidrocarburos presentan baja solubilidad en el agua y gran persistencia en el medio, lo que dificulta su degradación natural.

En cambio, en el suelo penetra varias capas llegando así hasta las aguas subterráneas y contaminando las fuentes de agua natural. Además, de que, los compuestos aromáticos y sulfurados que posee el diésel contribuye a la toxicidad y efectos cancerígenos (Mishra et al., 2021).

## **5.7. EFECTOS DE LOS HIDROCARBUROS EN EL SUELO**

La degradación natural del diésel en el ambiente es lenta, ya que muchos de sus

compuestos son recalcitrantes y tienden a acumularse en el suelo. Esto provoca efectos adversos sobre la microbiota nativa, la estructura del suelo y la calidad de los ecosistemas (Varjani, 2017). Debido a su naturaleza tóxica y a la contaminación frecuente asociada a las actividades de transporte y almacenamiento, la biorremediación se ha convertido en una alternativa sostenible y económica para eliminar el diésel de los suelos contaminados, aprovechando a las bacterias, hongos y enzimas que son capaces de metabolizar estos hidrocarburos como su fuente natural de obtención de oxígeno para su supervivencia en el medio (Das & Chandran., 2011).

La presencia de hidrocarburos en el ambiente también altera las propiedades del suelo y del agua al limitar e impedir el intercambio gaseoso con la atmósfera desencadenando procesos físicos- químicos y biológicos que varían según el tipo de contaminante, las características del suelo y de la comunidad microbiana presente. Por lo que estos procesos pueden llevar a la degradación parcial o lenta de los compuestos generando, en la mayoría de los casos, una elevada toxicidad. El deterioro del suelo por la acumulación de contaminantes está directamente relacionado con las actividades humanas, tales como prácticas agrícolas, forestales y mineras, el uso de los agroquímicos, la generación de desechos industriales como el almacenamiento o el vertido ilegal, la disposición de residuos sólidos urbanos, así como la aplicación de fertilizantes, pesticidas y subproductos de la ganadería entre otros (Benavides et al., 2006).

Por lo que un suelo contaminado, es aquel que presenta un elemento o producto que sobrepasa las concentraciones de los niveles permitidos, de las concentraciones mínimas de contaminantes que un suelo puede poseer.

## **5.8. EFECTOS DE LOS HIDROCARBUROS EN LA SALUD HUMANA**

Las distintas fracciones que componen los hidrocarburos totales del petróleo contienen compuestos con efectos perjudiciales para la salud humana. Entre ellos, el benceno, el tolueno y el xileno que son particularmente tóxicos, debido a que su exposición puede afectar de manera directa al sistema nerviosos.

La inhalación de concentraciones elevadas de hidrocarburos sin ningún tipo de protección, por ejemplo, a una concentración de 100 ppm de benceno durante varias horas, ocasiona síntomas como fatiga, cefalea, somnolencia y náuseas, sin embargo, una exposición prolongada puede generar daños irreversibles en el sistema nervioso central (ATSDR, 2015).

## **5.9. INTRODUCCIÓN A LA BIORREMEDIACIÓN**

Hacia mediados del siglo XX las primeras investigaciones orientadas a explorar la capacidad de los microorganismos para degradar contaminantes, dio origen al concepto de biorremediación. En el cual se dio un inicio de una técnica que guarda similitud con el landfarming y fueron principalmente impulsadas por industrias petroleras.

Durante la década de 1970 aparecieron las primeras patentes, enfocadas en la limpieza de derrames de gasolina. Posteriormente, en los años 80, se incorporó el uso de aire y de peróxidos como fuentes de oxígeno en áreas contaminadas, lo que dio un incremento de las eficiencias de los procesos de degradación.

En la década de 1990, los avances tecnológicos permitieron aplicar la biorremediación en zonas situadas por debajo del nivel freático. Frente a la implementación de los enfoques experimentales realizados en laboratorio hizo posible que el tratamiento de hidrocarburos clorados, estos primeros ensayos con metales pesados y el desarrollo en condiciones anaerobias.

En la actualidad, la biorremediación, enfrenta el desafío de consolidar su reconocimiento ante la industria y los organismos reguladores, a fin de demostrar su elevado potencial. Aunque en sus inicios fue considerada una técnica marginal en ciertos países, hoy se ha transformado en un sector con creciente relevancia y consolidación como unidad especializada (Suarez, 2013)

La biorremediación es una técnica biotecnológica que utiliza organismos vivos, principalmente a microorganismos como son: las bacterias, hongos, algas o también las enzimas derivadas de estos, tienen la capacidad de degradar o transformar los contaminantes, debido a que su base científica radica en que, en sus procesos metabólicos de estos microorganismos, utilizan los compuestos tóxicos como su fuente

de carbono o energía, transformando así estas sustancias en menos peligrosas para el ambiente y la salud, por eso es aplicable en ambientes que han sido alterados como: suelos, aguas y sedimentos (Vidali, 2011).

Es una tecnología ecológica, económica y sostenible que aprovecha la capacidad metabólica de estos organismos para restablecer las condiciones naturales de los ecosistemas que han sido afectados (Cota, 2019). Este método se plantea como una opción sostenible frente a las técnicas físicas y químicas convencionales de la remediación, que por lo general implica altos costos y pueden ocasionar efectos secundarios.

A diferencia de ellas, la biorremediación se basa en procesos naturales, lo que hace que sea más amigable con la naturaleza en sí y además se presenta como una alternativa económica y con mayor aceptación social (Gentry et al., 2004).

Para que se dé una eficiente biorremediación, se debe tener en cuenta diversos factores que se requiere como: la magnitud, el tiempo, la degradabilidad del contaminante, la toxicidad y la capacidad que se tiene para controlar y monitorear el proceso. Según el nivel de intervención humana, la biorremediación se divide en dos: *in situ* y *ex situ*.

### **6.9.2. BIORREMEDIACIÓN *IN SITU***

Se clasifica en cuatro enfoques principales como: la atenuación natural, biovento, bioestimulación y bioaumentación. La atenuación natural consiste en la reducción progresiva de contaminantes a través de procesos físicos, químicos y biológicos, haciendo que ocurra de manera espontánea en condiciones ambientales específicas, sin el requerimiento de intervención humana directa constante.

En contraste, al bioventeo que implica la introducción de aire e incluso de nutrientes, sobre el área afectada mediante sistemas de ductos o tuberías, con el fin de mantener las concentraciones moderadas de oxígeno, pasa así estimular el metabolismo aeróbico de los microorganismos y que se favorezca la oxidación de los compuestos que están contaminando (Cota et al., 2019).

La bioestimulación, en cambio, tiene un poco de similitud con el bioventeo, pero se diferencia, en que, se centra en potenciar la actividad de los microorganismos nativos del suelo contaminado a través de la adición de nutrientes, oxígeno, surfactantes o agua.

No obstante, esta técnica presenta limitaciones cuando los suelos carecen de poblaciones microbianas capaces de degradar de manera eficiente los contaminantes presentes (Cota et al., 2019).

La bioaumentación, se basa en la incorporación al medio contaminado cepas microbianas específicas, incluyendo en algunos casos, organismos genéticamente modificados, con el propósito de acelerar la biodegradación y la optimización del proceso de remediación.

### **6.9.3. BIORREMEDIACIÓN *EX SITU***

La biorremediación *ex situ* consiste en la extracción del suelo, sedimento o materiales contaminado en donde, su tratamiento, se dará en instalaciones externas o en áreas específicas fuera del área contaminada que son acondicionadas para este proceso. Este enfoque ofrece la ventaja de permitir un mayor control de las variables ambientales, como la aireación, la humedad, el pH, la temperatura y nutrientes, optimizando así la actividad microbiana y la eficiencia en la degradación de los contaminantes (García et al., 2017).

Dentro de las estrategias, se incluyen técnicas como es el landfarming, las biopilas, el compostaje y el uso de biorreactores. Los métodos de biopilas y landfarming son técnicas de biorremediación en fase sólida. Existe una principal diferencia entre ambos, la cual se presenta en el sistema de aireación, mientras que, en el landfarming, se limita al

tratamiento de las capas superficiales del suelo contaminado, promoviendo la aireación y el suministro de nutrientes para estimular la biodegradación del contaminante.

Las biopilas son la conformación de montículos de mayor volumen del suelo contaminado, en forma de una montaña de suelo, los cuales se airean de manera controlada mediante sistemas de ventilación forzada.

En cuanto al tratamiento mediante biorreactores, este consiste en excavar el suelo afectado y transferir a un biorreactor, donde se mantiene en suspensión dentro de un medio acuoso. De este modo, el proceso se desarrolla bajo condiciones de saturación de agua (Viñas, 2002). En donde se mantiene bajo condiciones controladas de temperatura, oxígeno y nutrientes, lo que acelera la degradación de compuestos tóxicos.

La elección de la técnica depende de diversos factores como el tipo de contaminante, la extensión de área afectada, los costos asociados y la disponibilidad de infraestructura tecnológica para este tipo de procesos (Kumar et al., 2011). Aunque el tratamiento ex situ suele implicar mayores costos de excavación y transporte, su principal fortaleza es la posibilidad de alcanzar niveles altos de eficiencia y control en los procesos de descontaminación del suelo (USEPA, 2020).

#### 6.9.4. REQUERIMIENTOS PARA LA BIORREMEDIACIÓN

Para poder efectuar un buen proceso biorremediador, en este caso la técnica utilizada es de biodegradación, en el cual, se deben llevar a cabo los siguientes requerimientos:

**Tabla 2**

Requerimientos para la biorremediación

<b>Requerimientos microbianos</b>	<b>Requerimientos fúngicos</b>	<b>Requerimientos físicos</b>	<b>Requerimientos químicos y nutricionales</b>	<b>Requerimientos ecológicos y de interacción</b>
<b>-Diversidad y abundancia microbiana</b>	-Hongos ligninolíticos Tolerancia a ambientes extremos	-Oxígeno y potencial redox -pH	-Relación C:N:P -Oligoelementos -Disponibilidad de co-sustratos	-Competencia microbiana -Sinergia bacteria-hongo-planta
<b>-Capacidad enzimática</b>		-Temperatura -Humedad		
<b>-Adaptación a xenobióticos</b>	-Cometabolismo	-Disponibilidad del contaminante		-Toxicidad de intermediarios
<b>-Sinergias microbianas</b>				

*Nota.* Factores para que se dé una buena biorremediación. Adaptado de: (Muñoz S, 2016).

## 5.10. BIODEGRADACIÓN

Aunque, con el fin de superar ciertas limitaciones, la biorremediación puede complementarse con tratamientos físicos-químicos, lo que incrementa la eficacia del proceso y reduce el tiempo necesario para la recuperación del sitio (Haapea & Tuhkanen, 2006; Kulik et al., 2006).

Las estrategias de biorremediación aplicadas a suelos contaminados con compuestos orgánicos, incluyendo los hidrocarburos policíclicos (HAP) se dividen en dos categorías principales: la bioestimulación y la bioaumentación. La bioestimulación se basa en la incorporación de nutrientes, oxígeno u otros sustratos al suelo, con el propósito de favorecer el crecimiento y la actividad de los microorganismos responsables de la degradación, de los contaminantes del suelo.

Dentro de los principales organismos implicados en la biodegradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) se encuentran las bacterias y hongos, cuyos mecanismos de acción y requerimientos para lograr una alta eficiencia en la remediación difieren considerablemente, a continuación, se describe como se da el mecanismo de acción de las bacterias y hongos en la biodegradación de HAPs.

## 5.11. MICROORGANISMOS Y SU FUNCIÓN EN BIORREMEDIACIÓN DE HIDROCARBUROS EN SUELOS

La degradación microbiana se basa en la capacidad de comunidades microbianas (bacterianas y fúngicas) para transformar hidrocarburos alifáticos y aromáticos en compuestos menos tóxicos o mineralizarlos hasta CO<sub>2</sub> y agua. En la última década, las investigaciones han enfatizado en cómo se da el proceso y en la gran utilidad de marcadores funcionales y enfoques ómicos como la metagenómica que se utiliza para comprender y mejorar la degradación (Kalia, 2022; Mekonnen, 2024).

La investigación y el aislamiento de distintos géneros bacterianos, tanto en ambientes contaminados como en ambientes naturales, han demostrado la gran diversidad microbiana que presenta la capacidad para crecer, desarrollarse y contribuir en la biodegradación de hidrocarburos. Se han identificado alrededor de 50 géneros y 86 especies bacterianas con potencial degradador para los diferentes tipos de hidrocarburos derivados del petróleo.

La mayoría de estos microorganismos destacan por su eficiencia en la degradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) y alcanos, los cuales representan los principales componentes del petróleo. En este contexto, bacterias del género *Acidovorax* se han asociado a la degradación de ambos compuestos, mientras que otros géneros

como *Microbacterium*, *Agrococcus*, *Nocardia*, *Novosphingobium*, *Hydrogenophaga*, *Dietzia*, *Marmoricola*, *Gordonia amicalis*, *Pseudomonas* y *Sphingomonas* también han sido reportados como degradadores efectivos de HAPs y alcanos (Izquierdo, 2014).

Por su parte, Luna et al. (2018) señalaron que el género *Bacillus* presenta la capacidad de degradar hidrocarburos altamente tóxicos como el benzo(a)pireno (BaP), compuesto reconocido por su carácter mutagénico y cancerígeno. Asimismo, se ha documentado que *Achromobacter xylosoxidans* y *Aeribacillus pallidus* muestran alta eficiencia en la degradación de compuestos aromáticos simples y policíclicos (Ma et al., 2015).

De igual forma, géneros como *Bacillus*, *Acinetobacter* y *Pseudomonas*, no solo intervienen activamente en la degradación de hidrocarburos, sino que además tienen la capacidad de producir biosurfactantes, ya que emplean dichos compuestos como fuente de carbono y energía (Guzmán et al., 2017). En investigaciones realizadas en Perú, Ayamamani (2018) confirmó el potencial de *Alcaligenes*, *Pseudomonas* y *Bacillus* como microorganismos efectivos y potenciales para la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados de petróleo.

## 5.12. MECANISMOS DE DEGRADACIÓN MICROBIANA

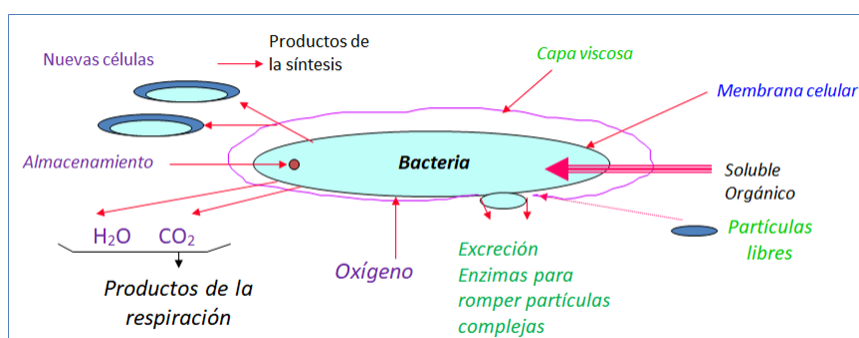
El principio bioquímico de la biorremediación se fundamenta en las reacciones de oxidoreducción, cuyo propósito es la generación de energía a través de la cadena respiratoria o

del transporte de electrones en las células.

Este proceso inicia con un sustrato orgánico externo, generalmente con los compuestos hidrocarburos que funcionan como donadores de electrones. A medida que avanza la actividad metabólica microbiana, la parte contaminante es degradada y consumida, los principales aceptores de electrones empleados por los microorganismos incluyen oxígeno, nitratos, hierro (III), sulfatos y dióxido de carbono.

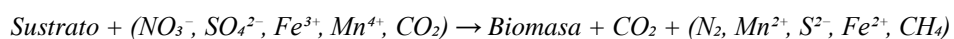
### Figura 3

#### *Proceso bioquímico de la bacteria en la biorremediación*



*Nota.* Tipos de degradación del oxígeno por bacterias (Suárez, R., 2013).

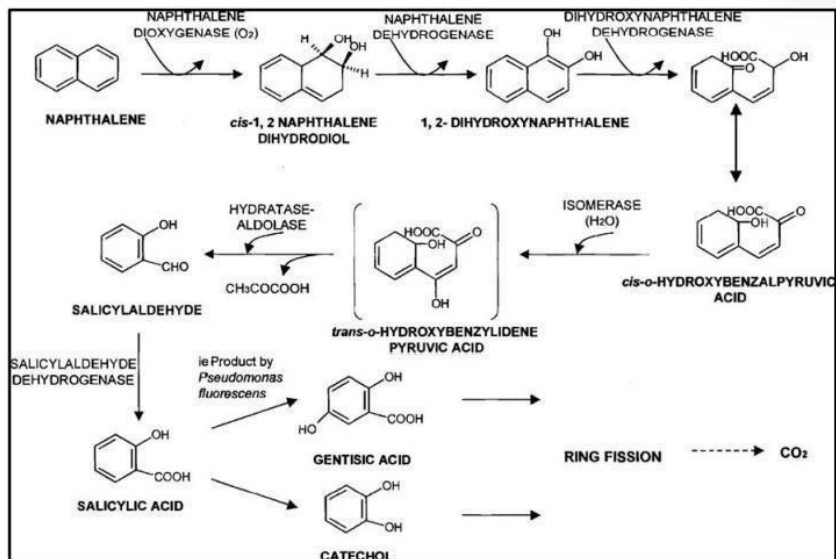
Cuando el oxígeno actúa como aceptor, la respiración se desarrolla en condiciones aerobias, lo que origina procesos de biodegradación de tipo aerobia, en contraste, si se empleara sulfatos o dióxido de carbono, el metabolismo ocurre en condiciones anaerobias, generando procesos de biodegradación de tipo anaerobio (Suárez, 2013).

**Figura 4***Degradación del oxígeno de las bacterias****Degradación aerobia:******Degradación anaerobia:***

*Nota.* Degradación del oxígeno de las bacterias aeróbicamente y anaeróbicamente. (Suárez R., 2013).

En cualquier tipo de ambiente con presencia de oxígeno, el mecanismo principal de degradación bacteriana consiste en la oxidación inicial del HAP por medio de las enzimas dioxigenasas, lo que da lugar a la formación de compuestos cis-hidrodioles.

Estos intermediarios son posteriormente deshidrogenados para originar derivados dihidroxilados, los cuales son canalizados hacia la ruta metabólica del catecol hasta su completa mineralización en dióxido de carbono y agua, la siguiente Figura 5 demuestra específicamente la ruta de degradación del naftaleno por las bacterias aerobias.

**Figura 5***La ruta de degradación del naftaleno*

*Nota.* La ruta de degradación del naftaleno de bacterias aerobias (Bamforth & Singleton, 2005).

Las investigaciones llevadas a cabo por Juhasz y Naidu (2000), Haritash & Kaushik (2009) y Fernández-Luqueño et al., (2011) recopilan una amplia variedad de bacterias que son capaces de degradar hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), además de numerosos estudios que demuestran la efectividad de las bacterias autóctonas y alóctonas en la transformación de estos compuestos. No obstante, la sola presencia de microorganismos con esta capacidad no garantiza tasas adecuadas de degradación, siendo necesario una densidad mínima cercana a  $10^5$  UFC  $g^{-1}$  (Liu et al., 2010). Para poder mantener una población bacteriana suficientemente alta durante los procesos de biorremediación, se suele recurrir a la adición de nutrientes o productos orgánicos.

En suelos con baja porosidad y permeabilidad, donde la disponibilidad de oxígeno es limitada, la degradación anaerobia de HAP se presenta como una alternativa viable. En este contexto, las bacterias utilizan nitrato, hierro, sulfato, manganeso como aceptores

finales de electrones, produciendo así CO<sub>2</sub> o metano como productos finales (Gan et al., 2009; Tomei & Dauglis, 2013).

Aunque el mecanismo bajo estas condiciones no está completamente esclarecido, se ha descrito un proceso en dos etapas. Inicialmente, los HAP son degradados de forma parcial bajo condiciones reductoras de sulfato y nitrato, generando ácidos orgánicos de bajo peso molecular que actúan como agentes complejantes de Fe (III), promoviendo su solubilización. Posteriormente, el Fe (III) liberado se convierte en un recurso disponible para las bacterias reductoras de hierro, lo que intensifica la degradación de los HAP (Haritash & Kaushik, 2009)

### **5.13. MECANISMO DE DEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS POR HONGOS**

Estos organismos actúan como descomponedores primarios dentro del ecosistema y se caracterizan por su capacidad para sintetizar enzimas con funciones especializadas que facilitan la descomposición y mineralización de compuestos orgánicos de alta complejidad. Además, secretan exoenzimas hidrolíticas que participan en la biodegradación de los sustratos contaminantes presentes en el entorno (Willey, Sherwood y Woolverton, 2009).

A través de estos procesos, transforman la materia orgánica en compuestos más simples o inorgánicos, los cuales emplean como fuente de energía para su metabolismo.

De tal manera que tienen la capacidad de mineralizar materiales complejos hasta el dióxido de carbono y agua, gracias a la estructura filamentosa de sus hifas, ya que estas pueden penetrar en los suelos contaminados facilitando su acceso a zonas de difícil alcance y favoreciendo la degradación de los contaminantes. (Yañez & Wong, 2013). Según esta tabla de Aycachi, 2008, se presenta géneros de hongos utilizados en la biorremediación de suelos contaminados.

**Tabla 3**

*Géneros de hongos utilizados para la biorremediación de suelos*

<i>Allescheria</i>	<i>Debaromyces</i>	<i>Mucor</i>	<i>Rhodotorula</i>	<i>Trichoderma</i>
<i>Aspergillus</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Oidiodendrum</i>	<i>Saccharomyces</i>	<i>Trichosporon</i>
<i>Candida</i>	<i>Gonytrichum</i>	<i>Phacelomyces</i>	<i>Saccharomycopsis</i>	
<i>Cephalosporium</i>	<i>Hansenula</i>	<i>Phialophora</i>	<i>Scopulariopsis</i>	
<i>Cladosporium</i>	<i>Helmintrosporium</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Sporobolomyces</i>	
<i>Cunninghamella</i>	<i>Mucor</i>	<i>Rhodosporidium</i>	<i>Torulopsis</i>	

*Nota.* Tomado de: (Stalin Muñoz 2016).

## 5.14. MARCO LEGAL

### 6.14.2. CONSTITUCIÓN DE LA REPUBLICA DEL ECUADOR

La constitución (Asamblea Constituyente, 2008) establece que toda persona tiene “Tiene el derecho a un ambiente digno donde la salud sea la prioridad y el equilibrio ecológico también representen la sostenibilidad y el buen vivir, Sumak Kawsay” (**art.14**). Asimismo, impone al Estado, la responsabilidad de preservación y protección al medio ambiente, a conservar los ecosistemas y la biodiversidad, a resguardar la integridad del patrimonio genético del país, a prevenir daños ambientales y recuperar los espacios naturales degradados.

Por su parte, el **artículo 73** de la Constitución de la República del Ecuador, en el contexto de un proyecto de biorremediación, estos artículos brindan un marco legal que respalda las acciones dirigidas a la restauración de los ambientes afectados por cualquier tipo de hidrocarburo, por lo que, se obliga al Estado a implementar “medidas de precaución y restricción para las actividades que puedan conducir a la extinción de especies, la destrucción de ecosistemas o la alteración permanente de ciclos naturales...”.

### **6.14.3. CÓDIGO ORGÁNICO DEL AMBIENTE (COA)**

El COA (Asamblea Nacional, 2017) regula la gestión ambiental en Ecuador y promueve la prevención, control y restauración de los impactos negativos generados por las actividades humanas., por lo que “De acuerdo con el Código Orgánico del Ambiente (COA) del Ecuador, toda persona natural o jurídica que genera residuos peligrosos tiene la obligación de manejar esos residuos integralmente, incluyendo su tratamiento, transporte y disposición final, bajo autorización administrativa y conforme a normas técnicas establecidas. Además, la Constitución garantiza el derecho a un ambiente sano y obliga al Estado a restaurar los daños ambientales.

Asimismo, el COA reconoce a la biotecnología ambiental como una herramienta efectiva para la recuperación y restauración de ecosistemas, si persistentemente se cumplen las normas de bioseguridad y control de microorganismos (**art. 132**) (Asamblea Nacional, 2017).

### **6.14.4. LEY DE GESTIÓN AMBIENTAL**

La ley de Gestión Ambiental (Congreso Nacional, 2004) dispone que todo proyecto con posibles impactos negativos debe prevenir controlar y mitigar la contaminación mediante tecnologías limpias. Respecto al caso del suelo contaminado por hidrocarburo

se deben ejecutar procesos de limpieza y restauración, bajo supervisión de la autoridad ambiental.

#### **6.14.5. ACUERDOS MINISTERIALES Y NORMAS TÉCNICAS**

Por otro lado, el **Acuerdo Ministerial No. 026** exige el registro de generadores de desechos peligrosos, lo que es relevante si el proceso de biorremediación produce residuos intermedios peligrosos.

El **Acuerdo Ministerial No. 097-A** (MAE, 2015): actualiza los *Límites Máximos Permisibles (LMP)* a aplicarse en emergencias, accidentes e incidentes, así como para fuentes de contaminación pre existentes en el sector hidrocarburífero dependerán del uso actual según el área afectada, determinada en el muestreo inicial, en función de la clasificación dada en la Tabla 1. Si las condiciones naturales de los suelos superan a los criterios de remediación establecidos en la Tabla 1, se aceptarán dichos valores como límites máximos permisibles, siempre y cuando se cuente con estudios ambientales y estadísticamente representativos que lo demuestren.

El suelo remediado será depositado en el mismo sitio de origen, en sitios regularizados por la Autoridad Ambiental Nacional para este fin o a su vez podrá ser utilizado en procesos de reconfiguración de áreas en facilidades operativas o de terceros previo a la autorización por escrito del propietario y con la debida comunicación para conocimiento de la Autoridad Ambiental Competente.

**Tabla 1: Tabla de criterio de remediación para suelos contaminados (Límites máximos permisibles)**

Parámetro	Unidad*	USO DEL SUELO			Agrícola / Ecosistemas Frágiles
		Residencial	Comercial	Industrial	
Hidrocarburos totales (TPH)	mg/kg	1200	3000	3000	1000
Cadmio	mg/kg	4	10	10	2
Níquel	mg/kg	100	100	50	50
Plomo	mg/kg	140	150	150	60
Vanadio	mg/kg	130	130	130	130
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs)	mg/kg	2	5	5	1

\*\*

\*Concentración en base seca de suelo.

\*\*Para los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) los mismos se presentarán como un resultado total, pero para su análisis se mantienen los 12 parámetros (Antraceno, Benzo(a)antraceno, Benzo(a)pireno, Benzo(b)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno, Dibenzo(a,h)antraceno, Indeno(1,2,3-cd)pireno, Fluoranteno, Naftaleno, Pireno, Criseno, Fenantreno) conforme el Acuerdo Ministerial No. 097-A Registro Oficial No. 387 de 4 de noviembre de 2015.

*Según el Código Orgánico del Ambiente los ecosistemas frágiles son: zonas con características o recursos singulares muy susceptibles a cualquier intervención de carácter antrópico, que producen en el mismo una profunda alteración en su estructura y composición. Son ecosistemas frágiles, entre otros, los páramos, humedales, bosques nublados, bosques tropicales secos y húmedos y manglares, ecosistemas marinos y marinos-costeros.”, en este contexto, las afectaciones que se ubiquen en zonas con estas características se aplicará el valor más estricto de los criterios propuestos como se evidencia en la tabla G.*

La **Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN**: respecto a la calidad ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminado tiene como objetivo principal preservar la salud de las personas y velar por la calidad ambiental del recurso suelo a fin de salvaguardar las funciones naturales en los ecosistemas, frente a actividades antrópicas con potencial para modificar su calidad, resultantes de los diversos usos del recurso.

#### **6.14.6. POLÍTICAS Y COMPROMISOS INTERNACIONALES**

Ecuador es parte de varios acuerdos internacionales que respaldan la investigación orientada a la descontaminación ambiental, entre ellos:

- El Convenio de Basilea (1989) trata sobre el control de los movimientos transfronterizos de desechos peligrosos.
- El Convenio de Estocolmo (2001) trata sobre los contaminantes orgánicos persistentes con sus siglas (COP).
- El Convenio de Diversidad Biológica (CDB, 1992), promueve el uso sostenible de la biodiversidad y la aplicación de la biotecnología con enfoque precautorio y aplicable.

#### **6.14.7. RESPONSABILIDADES, SANCIONES Y RESTAURACIÓN AMBIENTAL**

El COA (arts. 308-311) y la Ley de Gestión Ambiental (arts. 22-24) establecen sanciones administrativas y económicas a quienes contaminen o incumplan sus obligaciones de manejo. En caso de daño ambiental, los responsables del daño deben ejecutar acciones de remediación, restauración o de compensación según el principio de “quien contamina, paga” de forma obligatoria. Por lo tanto, la biorremediación se enmarca legalmente como una técnica de reparación ambiental la cual es respaldada por la normativa nacional vigente ecuatoriana.

## CAPÍTULO III

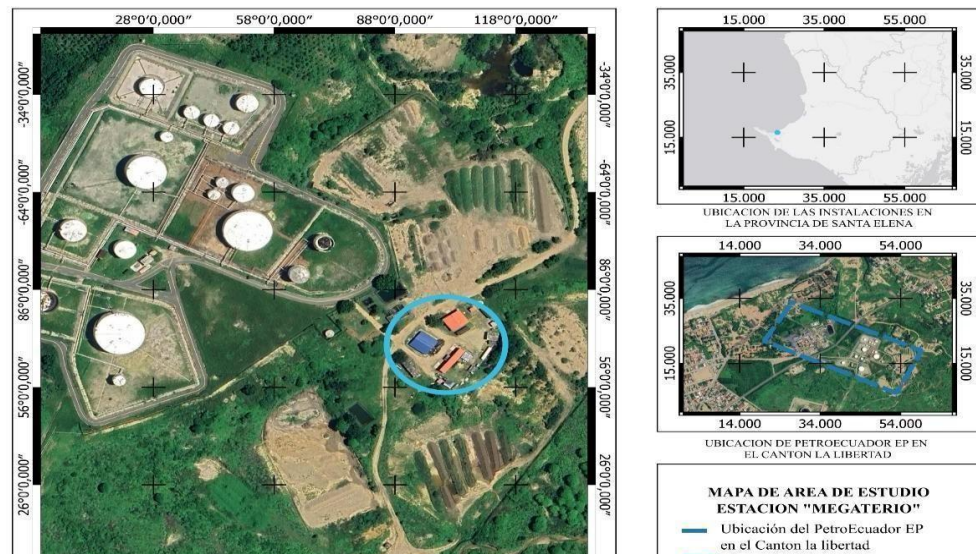
### 6. METODOLOGÍA

#### 7.4. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

##### 7.4.2. ÁREA DE ESTUDIO

Este trabajo se desarrolló en el Megaterio, La Libertad de EP PetroEcuador, ubicado en la Vía a Ballenita, con las coordenadas geográficas  $2^{\circ}13'06''\text{S}$   $80^{\circ}53'05''\text{W}$ , en La Libertad, Santa Elena, Ecuador.

**Figura 6**  
*Ubicación del área de estudio*



*Nota.* Lugar donde se implementó el bioensayo, en las instalaciones del Megaterio, del cantón La Libertad, de la provincia de Santa Elena, Ecuador.

### **7.4.3. TIPO DE ESTUDIO**

El enfoque de este proyecto fue experimental, cualitativo y cuantitativo, se identificó, que tratamiento presentó el mayor porcentaje de reducción de hidrocarburos del suelo de manera experimentalmente *ex situ*, de forma descriptiva y analítica. La técnica principal del análisis de suelo fue por equipos de laboratorio para realizar la detección de TPH y se realizó los análisis microbiológicos respectivos. Se controló variables críticas como fueron: las físicas, químicas y microbiológicas. Por lo que se cumplieron fases de campo y laboratorio cumpliendo los protocolos adecuados, los cuales se describen a continuación.

## **7.5. FASES DEL ESTUDIO**

### **7.5.2. FASE DE CAMPO**

En el sitio de extracción de la muestra principal del Megaterio de la Vía a Ballenita, Santa Elena, se tomó los siguientes datos iniciales:

**Tabla 4***Coordenadas del lugar de investigación y sus condiciones climáticas*

<b>Longitud</b>	-2.21763
<b>Latitud</b>	-80.88470
<b>Altitud</b>	30.00 Metros
<b>Temperatura</b>	29 °C
<b>Humedad</b>	60 %
<b>Velocidad del viento</b>	8 km/h

*Nota.* Valores tomados mediante del uso de un GPS portátil.

### **7.2.1.2. MUESTREO DE SUELO**

Se realizó la toma de muestra por muestreo simple de un punto fijo, de un suelo de custodia de una biopila, del Megaterio con código RLI-PTA-01-132 del TK 109 de Cautivo, el cual había sido llevado ahí para su tratamiento de degradación. Para la obtención del suelo, se utilizó una pala, con la cual se extrajo el suelo contaminado de diésel, en el que se excavó hasta los 30 cm de profundidad del sitio, extrayendo así en total 90 kg de suelo.

### 7.2.1.3. MUESTREO DE SUELO PARA ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

Antes de iniciar el ensayo de bioestimulación, se realizó un análisis básico del suelo de la muestra principal, la cual se caracterizó por sus propiedades fisicoquímicas y se determinó si el suelo es adecuado para sustentar la actividad microbiana durante el proceso de la biorremediación experimental (Fábrega J, et al., 2019).

**Tabla 5**

*Parámetros físicos y químicos para analizar del suelo*

<b>Parámetro</b>	<b>Método de análisis</b>	<b>Unidad</b>
<b>Ph</b>	Potenciómetro en suspensión (suelo:agua)	—
<b>Humedad</b>	Norma ASTM D2216	%
<b>Materia orgánica</b>	Método de Walkley-Black	%
<b>Textura</b>	Norma AASHTO T-87 -70 ; ASTM D421-58, AASHTO T- 88 -70 ; ASTM D422-63	<b>Clasificación (arena, limo, arcilla)</b>
<b>Contenido de hidrocarburos totales (TPH)</b>	Espectrofotómetro	<b>mg</b>

*Nota.* Parámetros analizados del suelo.

Los parámetros para conocer el tipo de suelo se analizaron en el laboratorio de Ciencias de la Ingeniería, en la Universidad Estatal Península de Santa Elena, la materia orgánica y los demás parámetros se analizaron en el laboratorio de Novagestión en Guayaquil y para el análisis de TPHs en el Beaterio de Petroecuador de la ciudad de Quito.

Los resultados de este análisis permitieron conocer las condiciones iniciales del suelo para establecer un ajuste en el pH, humedad u otros factores para favorecer la actividad microbiana durante los ensayos experimentales.

#### 7.2.1.4. MUESTREO PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Se tomó una muestra de 10 g de suelo de la muestra principal obtenida, mediante el uso de las medidas de bioseguridad, se colocó mascarilla, guantes de nitrilo y casco, según los pasos y detalles de la Tabla 6:

**Tabla 6**

*Pasos para análisis microbiológico del suelo contaminado*

<b>Elemento</b>	<b>Detalle</b>
<b>Profundidad</b>	0 a 30 cm
<b>Tipo de muestra</b>	Suelo superficial
<b>Herramientas</b>	Pala de acero inoxidable, bolsas estériles ziploc, GPS, etiquetas, marcador permanente
<b>Registro</b>	El punto se marcó con coordenadas GPS y se registró en ficha de Campo
<b>Frecuencia</b>	Una sola jornada de campo, con duración estimada de 8 minutos
<b>Transporte</b>	La muestra se mantuvo en un cooler a 4 °C y se trasladó al laboratorio el mismo día para su análisis
<b>Análisis</b>	Microbiota nativa

*Nota.* Proceso para analizar la microbiota del suelo

### 7.2.1.5. MONTAJE DE LOS MICROCOSMOS DEL

#### ENSAYO EXPERIMENTAL

El presente trabajo se desarrolló bajo un diseño experimental completamente al azar, con el objetivo de evaluar el efecto individual de cada tratamiento bioestimulante (bacterias, hongos enzimas y una combinación de los tres) sobre el suelo contaminado con diésel, en condiciones controladas en bandejas de aluminio, considerando al trabajo de Nápoles, J et al., (2005).

De la muestra principal tomada de la biopila se distribuyó uniformemente 6 kg de suelo a cada bandeja de aluminio, dando un total de 15 bandejas experimentales en las que se estableció: Cuatro tratamientos principales, aplicados individualmente sobre los suelos contaminados con hidrocarburos.

#### Figura 7

##### *Ensayo de Bioestimulación*



*Nota.* Modelo del diseño experimental de cada tratamiento.

El primer tratamiento (C), el control no tuvo ningún tipo de aplicación de bioproductos, ni de tratamiento, únicamente al suelo se lo removió de forma semanal.

El segundo tratamiento (B), consistió, en que, al suelo contaminado, se le aplicó el bioproducto de bacterias del género *Bacillus*, el tercer tratamiento (H), consistió, en que, al suelo contaminado se le aplicó el bioproducto a base del hongo *Trichoderma sp*, el cuarto tratamiento (E), se aplicó el bioproducto a base de enzimas bacterianas y por último en el tratamiento (M), se aplicó los tres bioproductos en este tratamiento experimental. Cada tratamiento fue replicado tres veces, para un total de 15 unidades experimentales en total, lo que permitió un análisis estadístico confiable de los resultados obtenidos. En el bioensayo se realizó cinco tratamientos cada uno con tres réplicas. Cada bandeja experimental se distribuyó de forma aleatoria.

El ensayo tuvo una duración de 50 días, en donde cada 8 días se evaluó la microbiota de cada tratamiento aplicado en donde se analizó por medio de recuento de unidades de colonias (UFC) en agar TSA para bacterias y agar PDA para hongos. Adicionalmente se observó de manera visual las características que están presentes en cada placa como el color, textura y olor que también aportaran con información para conocer cómo va el proceso de la degradación del hidrocarburo presente en cada tratamiento.

### **7.2.1.6. PARÁMETROS BIOLÓGICOS Y MONITOREO DE BIODEGRADACIÓN**

Se realizó una evaluación microbiológica del suelo cada 8 días de los tratamientos de Bacterias, Hongos y el Mix, en donde se evaluó el estado de la microbiota de cada tratamiento. Se observó el crecimiento microbiano y el crecimiento de esporas en el caso del hongo, por la técnica de recuento de microorganismos viables por dilución en placa, de acuerdo con sus respectivos agares, por medio de observación directa y utilizando el microscopio en donde se registró las bacterias y hongos y sobre todo su actividad microbiana y fúngica (Marín, Tomás. 2024).

Mediante el uso del Equipo de Protección Personal, se recolectaron varias submuestras en zigzag en 7 puntos de cada bandeja de tratamiento de la capa superficial (0-10 cm), con la ayuda de una pala pequeña, se extrajo el suelo y se pesó hasta obtener una muestra compuesta de 10g para evitar sesgos en los resultados. Luego se rotuló cada muestra y se las colocó en un cooler a una temperatura de congelación de 4 °C, para su posterior llegada al laboratorio donde se realizaron los análisis microbiológicos en Ballenita, Santa Elena.

### 7.2.1.7. BIOPRODUCTOS COMERCIALES

#### USADOS PARA EL ENSAYO EXPERIMENTAL

##### **BACTERIAS: TERMINATE BACTERIA PREMIX**

**COMPOSICIÓN:** *Bacillus subtilis*, *amyloliquefaciens*, *pumilus* y *licheniformis*.



##### **HONGOS: TRICHOFULL**

**COMPOSICIÓN:** *Trichoderma sp.*



**ENZIMAS: BIOBAC A****COMPOSICIÓN:** Fracción orgánica e inorgánica**7.2.1.8. PRUEBA DE VIABILIDAD DE LOS BIOPRODUCTOS**

Se sembró los dos productos comerciales: TERMINATE BACTERIA PREMIX y TRICHOFULL en cajas Petri, en donde se observó las bacterias y hongos activas en sus respectivos agares y cajas Petri, para verificando la viabilidad de cada producto comercial, debido a que factores como el almacenamiento, el tiempo o condiciones de transporte pueden haber eliminado a los microorganismos o debilitar su función bioquímica. (Vizúete- García et al., 2020) (Feng et al., 2021).

La identificación se basó en las características microscópicas observadas mediante la Tinción Gram para las bacterias y para los Hongos se tiñó con azul de lactofenol, comparando así las imágenes obtenidas por la visualización del microscopio, contrastándolas con información fotográfica y bibliográfica disponible. Se validará su identidad y pureza para garantizar que el insumo sea aplicable y activo para la experimentación de biorremediación (Fábrega et al., 2019).

Después de la observación y de la verificación correcta se aplicó las dosificaciones adecuadas, de 5 ml de cada producto comercial a cada tratamiento experimental, de acuerdo con el protocolo experimental elaborado.

#### **7.2.1.9. APLICACIÓN DE LOS PRODUCTOS COMERCIALES A CADA TRATAMIENTO EXPERIMENTAL**

De acuerdo con la concentración de los productos, se determinó la aplicación para cada tratamiento respectivo, en la que la dosis aplicada fue de 5 ml de manera semanal.

#### **7.5.3. FASE DE LABORATORIO**

##### **7.5.3.1. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS DEL SUELO**

##### **7.5.3.2. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO**

Se realizó en un laboratorio privado en la parroquia de Ballenita del cantón Santa Elena, mediante los procedimientos adecuados implementados por Zubieta et al. (2022), para la preparación de los dos medios de cultivo, se utilizó agar TSA (Trypticase Soy Agar) para el crecimiento bacteriano conformado por peptona de soja y caseína y agar PDA (Potato Dextrose Agar), compuesto por extracto de papa y dextrosa, para el crecimiento fúngico.

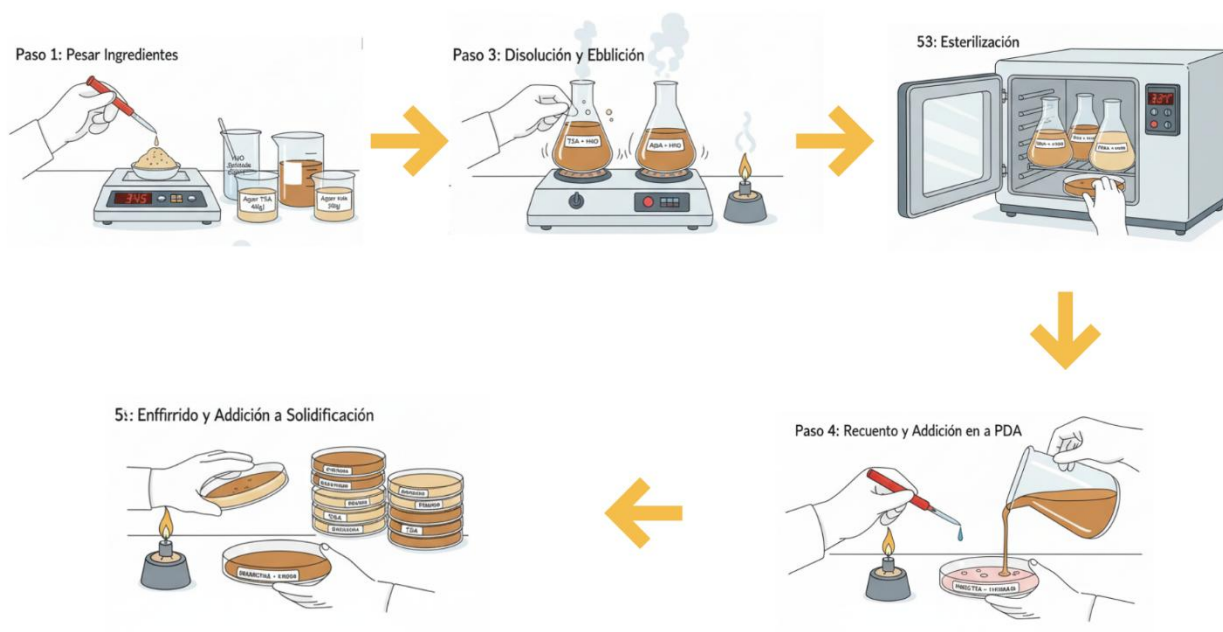
Inicialmente se realizaron controles de los dos agares, sin ningún tipo de aplicación microbiología, únicamente para observar la calidad y estado del agar. Para la preparación de las cajas Petri con su respectivo agar para cada análisis microbiológico, se empezó por pesar el agar de acuerdo con la cantidad de cajas Petri que se requirió por cada análisis, para el agar TSA se disolvió 40 g de medio en 1L de agua destilada previamente esterilizada en autoclave, para el PDA, se pesó 39g de medio de cultivo en 1L de agua destilada previamente esterilizada, para la disolución de los medios de agar se los llevó a ebullición tres veces por medio de una cocineta hasta que llegó a ebullición sin regar el medio, luego las dos fiolas con el medio ya disuelto se los autoclavó a 121°C (Lifeder, 2022).

Una vez que transcurrió los 15 minutos de esterilización de los medios de cultivo, se procedió a esperar que el agar se enfrié a una temperatura de 45°C aproximadamente y se realizó el vertido de cada medio de cultivo aproximadamente 15 ml en las cajas Petri, previamente rotuladas manteniendo las condiciones de esterilidad y usando mecheros de alcohol para evitar contaminación hasta su solidificación (Terán, 2025). Para el agar PDA la única diferencia que antes de distribuir el medio en las cajas Petri, se añadió 1ml

de antibiótico (Amoxicilina de 500 mg/L) para así evitar el crecimiento o contaminación bacteriana en el agar PDA (Terán, 2025).

## Figura 8

*Proceso de preparación de placas de agar selectivo*



*Nota.* Proceso de obtención de medios de cultivo de agar TSA y PDA.

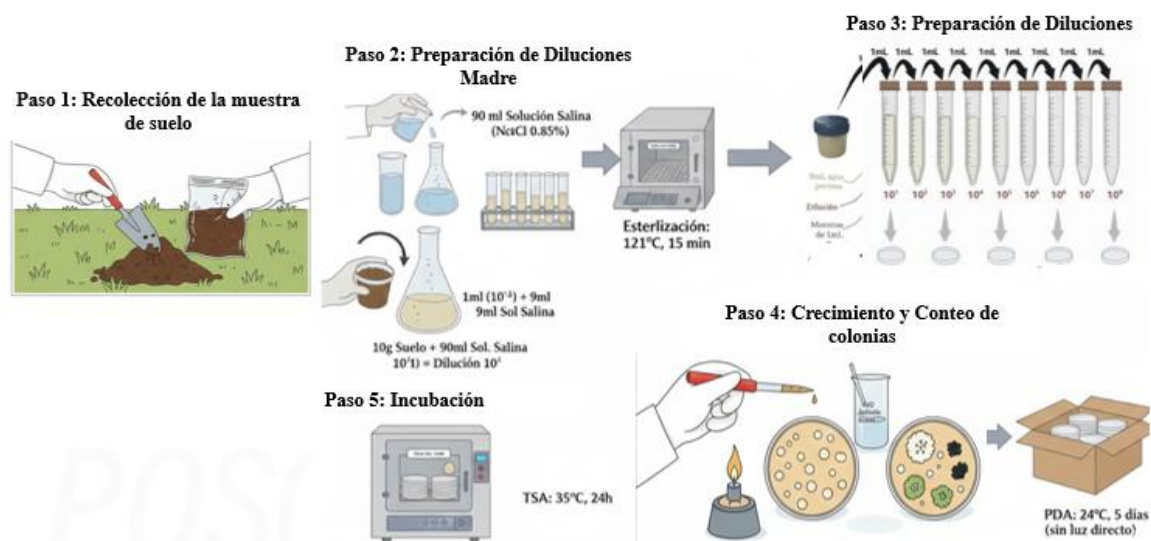
### 7.5.3.3. PROTOCOLO DE SIEMBRA MICROBIOLÓGICA DE SUELO

Para la siembra de suelo, se utilizó solución salina o cloruro de sodio (NaCl) al 0.85 %, se distribuyó cuidadosamente 90 ml de solución salina en fioles de 250 ml y 9 ml en tubos de ensayo esterilizados, posteriormente se esterilizó en autoclave a 121°C, 15 libras de presión, durante 15 minutos el material (Cappuccino & Sherman, 2022).

Luego de la esterilización, en las fiolas de 90 ml con la solución salina al 0.85%, se agregó 10 gramos de suelo, obteniendo una dilución  $10^{-1}$  y se homogenizó la muestra por agitación manual por 1 minuto, se agregó 1 mL de la dilución  $10^{-1}$ , a un tubo que contiene 9 ml de solución salina, para obtener una dilución  $10^{-2}$ , de la dilución anterior, se sacó 1 ml y se inoculó en otro tubo con 9 ml de solución salina, así, se obtuvo la dilución  $10^{-3}$ ; y se repitió el proceso hasta obtener una dilución de  $10^{-6}$ , en caso de ser necesario. Para finalizar el proceso, se inoculó 10  $\mu$ L de cada dilución de  $10^{-1}$  hasta la  $10^{-6}$  o las diluciones que había, y se agregó a los medios de cultivo TSA y PDA correspondientes mediante la técnica por profundidad (Goretti, 2023).

## Figura 9

*Esquema de diluciones seriadas para análisis microbiológico de suelos*



*Nota.* Diferentes diluciones para la realización de análisis y cuantificación de ufc/g. Tomado de Andrade & Cravajal (2023).

Por último, se incubó las cajas Petri de agar TSA a temperatura de 35 °C por 24 horas, y las cajas Petri de agar PDA se incubó a una temperatura de 24°C fuera de la luz directa del sol y se guardaron en una caja cerrada por 5 días.

#### **7.5.3.4. CUANTIFICACIÓN DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS**

Para la cuantificación de las unidades formadoras de colonias (UFC), se eligió las cajas Petri con la dilución en la que se las colonias sean contables, además, se tomó en cuenta los controles de contaminación en donde se colocó placas con medio de cultivo solidificado sin muestra cultivada.

Una vez finalizada la incubación, se procedió a contar cuidadosamente, las colonias de bacterias y hongos que se presentaron en cada caja Petri (Corral-Lugo, 2012).

Se aplicó la siguiente fórmula, en donde se calculó la concentración bacteriana y fúngica:

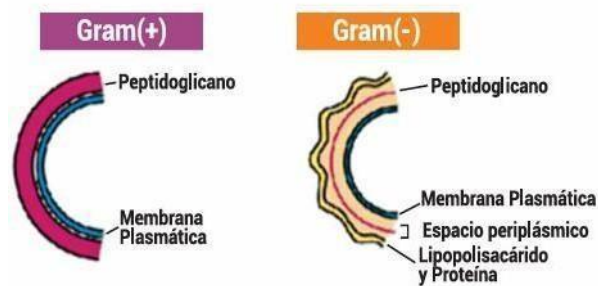
$$UFC/ml = \frac{\text{Número de colonias} \times \text{Factor de dilución}}{\text{Volúmen sembrado (ml)}}$$

### 7.5.3.5. IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS POR TINCIÓN DE GRAM

La tinción de Gram está basada en las características de la pared celular de las bacterias (Figura 10), la cual le otorga las propiedades determinadas a cada microorganismo.

**Figura 10**

*Pared celular bacteriana*



*Nota.* Tomada de Goretti, M. (2023)

Se realizó el protocolo del autor Harvey RA & Champe PC, para la tinción Gram, en la que primeramente, se tomó una colonia de bacterias de la caja Petri, y se fijó la colonia por medio del mechero y una vez fijada la muestra se colocó primeramente una gota de la solución de cristal violeta en la muestra por 1 min, se eliminó el tinte con gotas de agua destilada, después se aplicó una gota de la solución de yodo en la muestra por 1 min y se procedió a lavar, luego se aplicó una gota de alcohol acetona por 20s y se quitó el excedente con agua destilada y por último se aplicó una gota de safranina en la muestra por 1 min y después de este tiempo se eliminó el tinte con gotas de agua destilada y se esperó que la muestra se seque para observar cada muestra (Goretti, 2023).

Según la Figura 11, indica que, para identificar las bacterias, se debe emplear los siguientes tiempos:

### Figura 11

#### *Diferentes pasos para tinciones Gram*

Tinción de Gram			
Referencia	Forbes BA, Sahm D, Weissfeld A <sup>(48)</sup>	Koneman EW, Allen SD, et al <sup>(50)</sup>	Harvey RA, Champe PC <sup>(51)</sup>
Solución de cristal violeta	10 a 30 s	1 min	1 min
Solución de yodo	El doble de tiempo que estuvo el cristal violeta.	1 min	1 min
Alcohol acetona	10 s, los frotis gruesos requieren más tiempo.	Hasta que no se arrastre más cristal violeta, usualmente 10 s o menos.	5 s o dependiendo de la densidad de la muestra.
Safranina	30 s	1 min	30 s

*Nota.* Comparación de tiempos empleados para cada reactivo por diferentes autores para la tinción de Gram. Cuadro tomado de González R, et al., 2020.

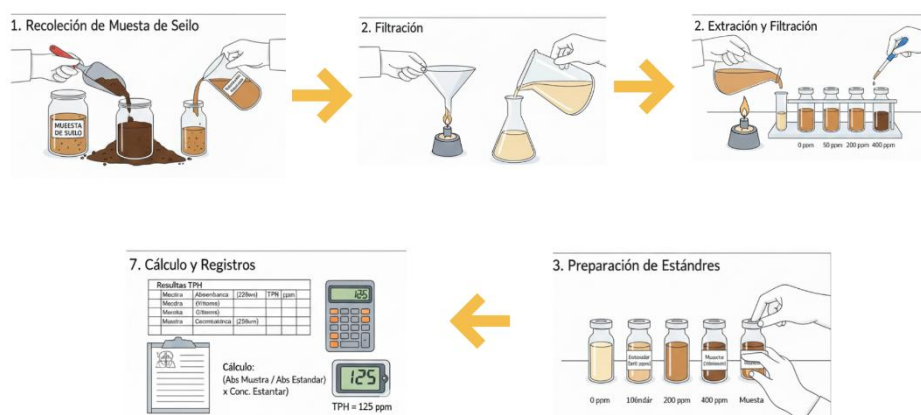
### **7.5.3.6. PRUEBA BIOQUÍMICA DE CATALASA**

La catalasa es una enzima, la cual descompone el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) en agua y oxígeno. El oxígeno que es liberado de la reacción produce burbujas que se observan inmediatamente (Ayaz et al., 2024). Se realizó una prueba bioquímica, complementaria adicional para diferenciar que bacterias producen estas enzimas, en donde, primeramente, mediante un asa se tomó una pequeña muestra de cada cultivo bacteriano en un portaobjetos, luego se colocó una muestra de peróxido de hidrógeno y se observó si había formación de burbujas o no, y se determinó que colonia de bacterias presentan catalasa positiva o catalasa negativa.

### **7.5.3.7. RECOLECCIÓN DE DATOS Y TOMA DE PARÁMETROS FÍSICOS-QUÍMICOS**

Durante el desarrollo del ensayo de bioestimulación, se llevó a cabo un monitoreo semanal de los parámetros fisicoquímicos, los cuales fueron la temperatura, pH, humedad, conductividad eléctrica, en donde se evaluó la evolución del proceso de degradación de hidrocarburos en función de cada tratamiento y su respectiva réplica.

### 7.5.3.8. ANÁLISIS DE HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO (TPH)



Se realizó cuatro análisis de TPH, el primero a la muestra principal, después de 10 días iniciado el tratamiento, a la mitad y al final del ensayo, en el Laboratorio de Restauración Ambiental - El Beaterio- EP Petroecuador, Pichincha – Ecuador.

**Tabla 7.**

*Parámetros de TPH analizados y su metodología*

<b>PARÁMETRO</b>	<b>PROCEDIMIENTO</b>	<b>EXPRESADO COMO</b>	<b>RANGO VALIDADO</b>
Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH) – Suelos	Fotómetro infrarrojo INFRACAL 2 TRAN-SP (WILKS)	mg/kg	2500 – 12500

*Nota.* Parámetro analizado por medio de un equipo electroquímico en el laboratorio de Beaterio de EP-Petroecuador.

## 7.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Se determinó si los tratamientos aplicados de bacterias, hongo y enzimas tiene un efecto significativo en la biodegradación de hidrocarburos y otros parámetros del suelo en comparación con el control.

Se realizó el tratamiento de datos a través de un análisis de normalidad de Shapiro-Wilk, seguido del cálculo de homogeneidad de datos usando un test de Levene (igualdad de varianzas). Finalmente, se realizó un análisis de varianza usando ANOVA de 1 vía con un test posterior de Tukey ( $p < 0,05$ ). Todos los análisis se desarrollaron usando el programa MINITAB versión 19.0. Además, se empleó gráficos de barras para la representación visual de los resultados.

## **CAPITULO IV**

### **7. RESULTADOS**

#### **8.4. ANÁLISIS DE SUELO**

##### **8.4.2. CONTENIDO DE HUMEDAD**

Se realizó el respectivo análisis, en el Laboratorio de Mecánica de Suelos de la Universidad Estatal Península de Santa Elena, donde se obtuvo el valor de contenido de humedad bajo la Norma ASTM D2216- que es un método estándar para la determinación del contenido de humedad de suelos mediante secado en horno, lo que permitió conocer con precisión la cantidad de agua presente en la muestra en estado real del momento de la recolección, debido a que la presencia de humedad en el suelo, afecta su comportamiento mecánico y estructural siendo esenciales para tomar decisiones informadas en campos como la construcción, geotécnica, agricultura y control de calidad, ya que permiten garantizar la seguridad, eficiencia y durabilidad de los materiales o sistemas que los utilizan. De acuerdo con el procedimiento se obtuvieron los siguientes datos:

**Tabla 8***Contenido de humedad*

<b>N° de recipiente</b>	<b>M</b>
Peso del recipiente (Wr)	124,36
Peso del rec. + Peso de Suelo hum (W1)	500,3
Peso del rec. + Peso de Suelo Seco (W2)	479,90
Peso del agua ( $W_w=W1-W2$ )	20,40
Peso del Suelo Seco ( $W_s=W2-W_r$ )	355,54
<b>Contenido de humedad (<math>w=(W_w/W_s) \times 100</math>)</b>	<b>5,74</b>

*Nota.* Valores obtenidos del proceso de medición del contenido de humedad.

## 8.5. GRANULOMETRÍA

Se determinó el tipo de suelo de estudio mediante la prueba de granulometría, para conocer la permeabilidad, compactación y estabilidad del suelo bajo las Normas: AASHTO T-87 -70 ; ASTM D421-58, AASHTO T-88 -70 ; ASTM D422-63, en donde se clasificó el suelo según los sistemas normativos SUCS y AASHTO, obteniendo los siguientes resultados de acuerdo con la Tabla 9.

**Tabla 9***Serie fina del suelo*

<b>SERIE FINA</b>					
<b>Tamiz</b>		<b>Masa Retenida</b>		<b>%Pasante Acumulado</b>	<b>%Pasante Corregido</b>
		<b>Parcial</b>	<b>Acumulada</b>		
<b>ASTM</b>					
<b>Abertura/</b>					
<b>N°</b>					
2,36mm	No.8				
2 mm	No.10	19,80	19,80	94,43	88,79
1,18mm	No.16				
0,85mm	No.20				
0,60mm	No.30				
0,425mm	No.40	51,8	71,60	79,86	75,09
0,3mm	No.50				
0,15mm	No.100				
0,075mm	No.200	117,4	189,00	46,84	44,04
Masa inicial del material para lavado (gr)					375,94
Masa final corregida por humedad de los finos (gr)					355,54
Masa Seca Total del Material utilizados para el Ensayo (gr)					201,00

*Nota.* Valores obtenidos del proceso de medición de granulometría.

En la siguiente tabla, se obtuvieron los valores que de acuerdo con la clasificación de AASHTO, se clasificó el suelo de estudio en el Grupo A4 y A7, se determinó que el suelo es de composición limoso-arcilloso.

**Tabla 10**

*Distribución del tamaño de las partículas*

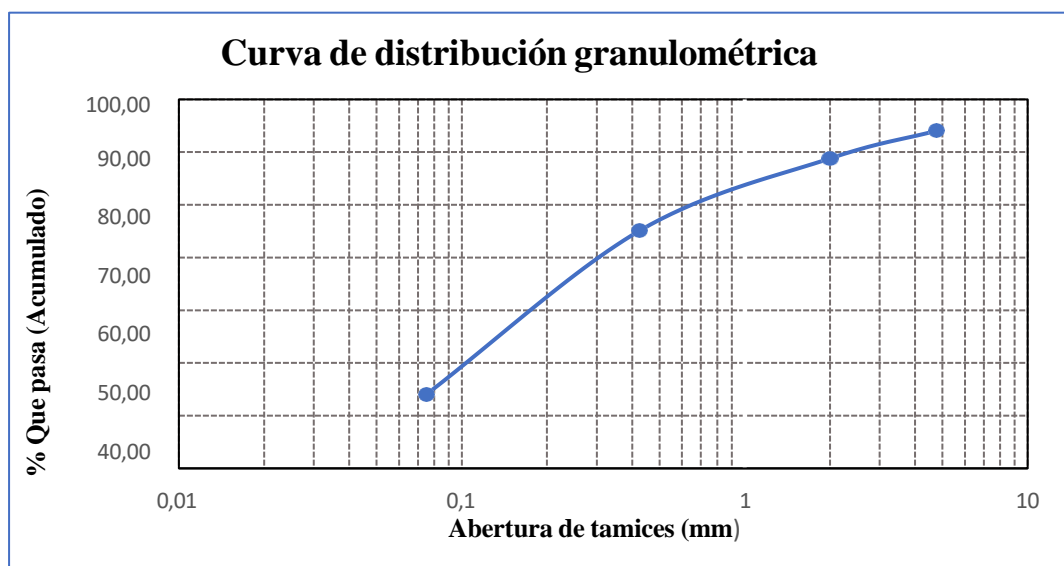
Distribución del Tamaño de las Partículas(%)			
Pedron Rodado (>12")			0
Canto Rodado (12"-3")			0
Grava (3"-N°4)	Gruesa (3"-3/4")	0	5,97
	Fina (3/4"-N°4)	5,97	
Arena (N°4-N°200)	Gruesa (N°4-N°10)	5,24	49,98
	Media (N°10-N°40)	13,70	
	Fina (N°40-N°200)	31,05	
Finos(>N°200)			44,04

*Nota.* Valores obtenidos del proceso de la distribución del tamaño de las partículas de acuerdo con los tamices empleados.

Con los datos de la tabla 10, se realizó la curva de distribución granulométrica, la cual muestra el porcentaje acumulado de material que pasa a través de diferentes tamices de acuerdo con la función de su abertura que se encuentra expresada en mm. La curva presenta una pendiente ascendente, continua, lo que indica que mientras más aumenta la abertura del tamiz, hay una mayor proporción del material que logra pasar, como se espera en una distribución granulométrica normal. Se puede observar que entre los valores de la abertura de 0,1 mm y 0,3 mm ocurre un incremento alrededor del 45-75%, lo que indica una predominancia de las partículas finas a medianas. A partir del 1 mm, la curva tiende a estabilizarse cerca del 90- 95%, lo que representa que solo una pequeña fracción del material estaba compuesta por partículas más gruesas.

### Figura 12

*Curva de distribución granulométrica*



*Nota.* La curva indica que el suelo analizado es relativamente bien graduado ya que presenta una distribución continua de tamaños, pero con un predominio de partículas finas.

## **8.6. CUANTIFICACIÓN DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS**

Para la cuantificación de las unidades formadoras de colonias se realizó las siembras de suelo de acuerdo con la metodología establecida en el capítulo anterior. En el caso del tratamiento de bacterias B se sembraron las tres réplicas con sus respectivas diluciones seriadas en agar TSA, para el tratamiento de hongos H se sembró cada replica con sus respectivas diluciones seriadas en agar PDA y para el mix se sembró el suelo de acuerdo con la metodología establecida de Nápoles, J. et al., (2005), de cada replica, para ver la presencia de colonias bacterianas en agar TSA y colonias fúngicas en agar PDA.

Al inicio del tratamiento se realizó una siembra de suelo de la muestra principal, para observar la microbiota nativa presente, por lo que, se sembró el suelo en agar nutritivo, como medio rico de crecimiento general de macroorganismos, únicamente para la observación, en donde se realizó una dilución de  $10^{-2}$  y se observó el crecimiento de bacterias y hongos en la caja Petri.

**Figura 13**

*Crecimiento de microorganismos en agar TSA*



*Nota.* Cuantificación de muestras de suelo en agar universal TSA, presencia de colonias de microorganismos.

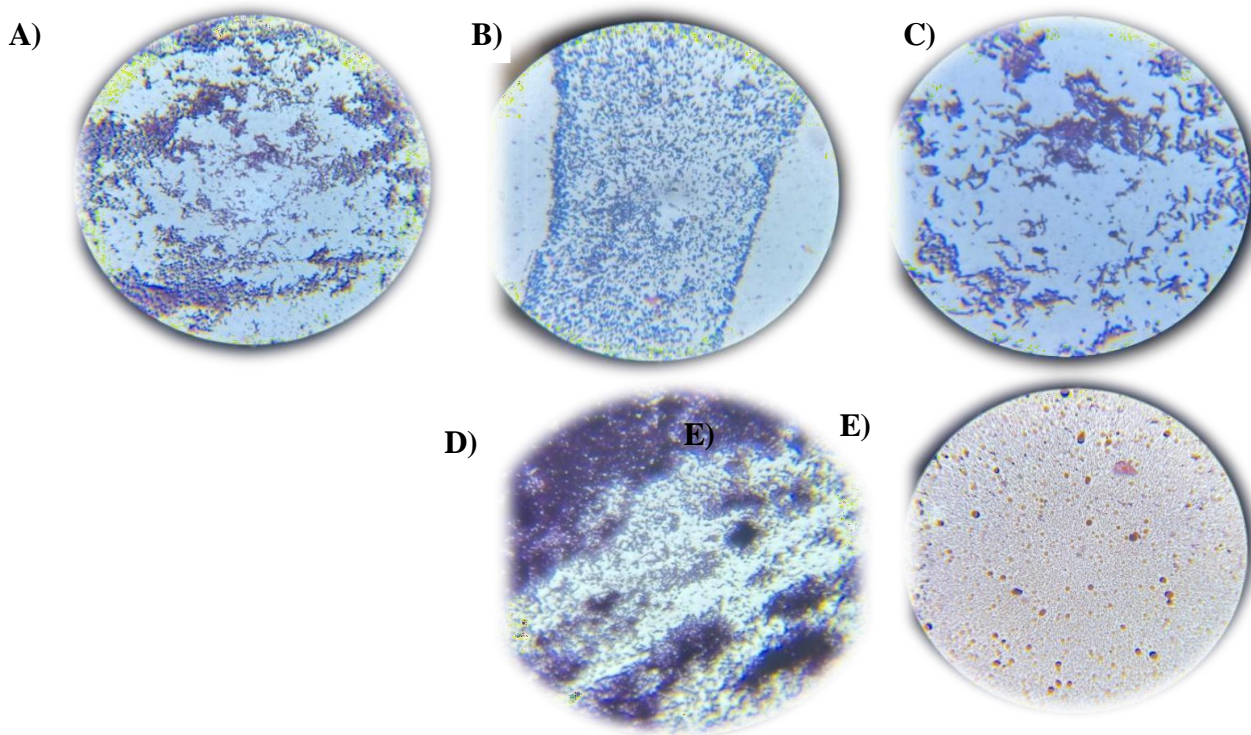
Posterior a la primera cuantificación se realizó tres análisis microbiológicos posteriores, de acuerdo con la carga bacteriana visualizada y de acuerdo con la metodología se iban aumentando las diluciones seriadas para facilitar el conteo de colonias bacterianas y fúngicas.

## 8.7. CARACTERIZACIÓN MICROSCÓPICA Y MACROSCÓPICA BACTERIANA

Para la identificación microbiana se realizó la respectiva tinción Gram de acuerdo con el protocolo del autor Harvey RA & Champe PC, de acuerdo con la metodología planteada.

**Figura 14**

*Imágenes de colonias obtenidas y teñidas por medio de la Tinción de Gram.*



*Nota.* A, B, C y D) Tinción Gram positiva de bacterias del género *Bacillus*. Obsérvese la forma alargada y cilíndrica agrupándose tanto en forma aislada como en pares debido a la abundancia de carga microbiana, presentando un diámetro aproximado de 0.5 a 1.2 micras. E) Tinción Gram negativa con una abundante proliferación de bacterias del género *Cocci*, representadas en algunos casos de forma aislada o a manera de *Diplococci* unidas en pares.

## 8.8. PRUEBA DE CATALASA

Se realizó la prueba de catalasa, como una prueba bioquímica complementaria, para identificar a las bacterias y se determinó si presentaban la enzima catalasa o no.

**Tabla 11**

*Prueba bioquímica de catalasa*

### PRUEBA DE CATALASA

#### CATALASA POSITIVA



**Descripción:** la colonia con tinción Gram negativa, presentó una efervescencia inmediata al contacto con  $H_2O_2$ , indicando actividad de catalasa positiva.

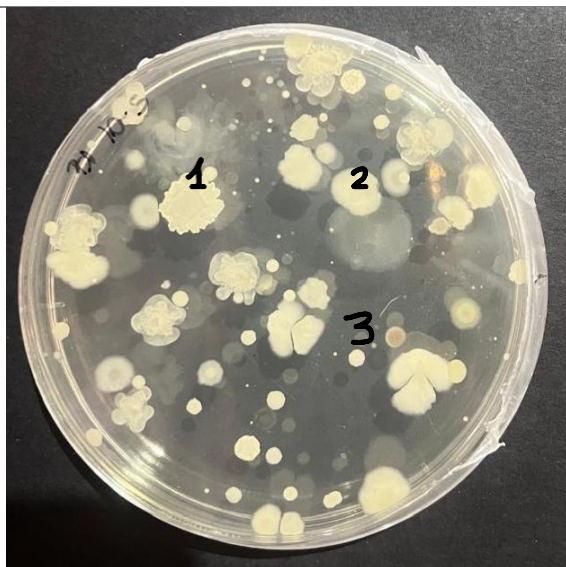
#### CATALASA NEGATIVA



**Descripción:** no se observó efervescencia al añadir  $H_2O_2$ , indicando actividad catalasa negativa, en bacterias con tinción de gram positiva.

**Tabla 12***Caracterización macroscópica bacteriana*

<b>Colonia</b>	<b>Identificación</b>
	<p>En la imagen se aprecian colonias de bacterias de color crema de forma irregular, con elevación elevada y margen ondulado.</p>
	<p>De acuerdo con la numeración 1 de la colonia, presenta una coloración blanquecina, con forma irregular, elevación de forma elevada y margen ondulado. La segunda colonia presenta coloración blanquecina, forma rizoide, elevación de forma elevada y margen lobulado. La tercera colonia presenta coloración amarilla, forma circular, elevación de forma convexa y margen entero. La cuarta colonia es de forma circular, de coloración blanca, elevación de forma convexa y margen entero.</p>



De acuerdo con la numeración 1 de la colonia, presenta una coloración blanquecina, con forma irregular, elevación de forma elevada y margen ondulado. La segunda colonia presenta coloración blanquecina, forma irregular, elevación de forma elevada y margen ondulado. La tercera colonia presenta coloración beige, forma circular, elevación de forma convexa y margen entero.

## 8.9. CARACTERIZACIÓN MACROSCÓPICA Y MICROSCÓPICA DE HONGOS

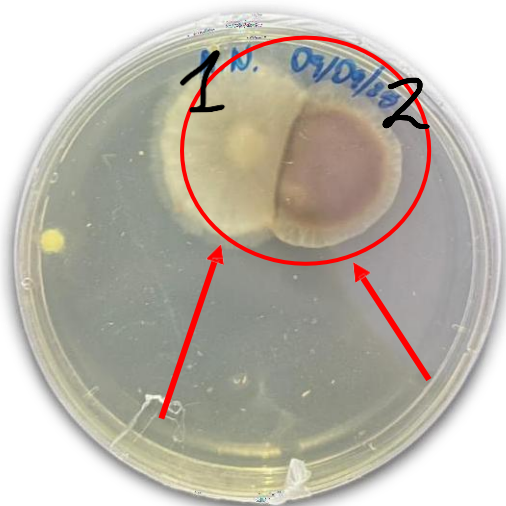
### Tabla 13

*Caracterización macroscópica fúngica*

---

**Imagen****Identificación**

---

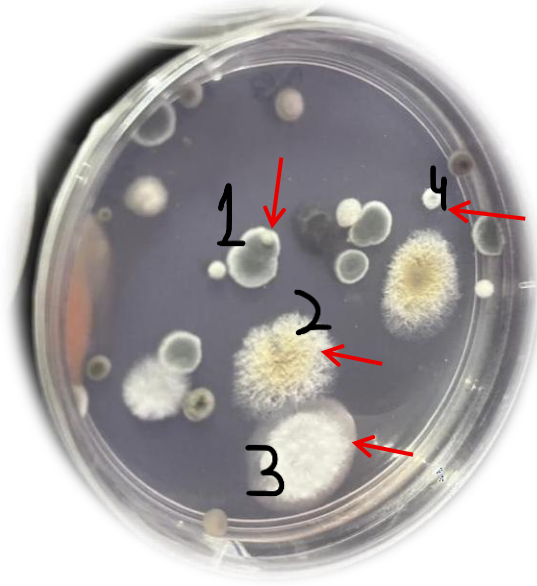


Observamos la colonia 1 de coloración amarilla, contextura lanosa y micelio aéreo, con un reverso crema, la especie de hongo del género *Trichoderma sp*, su crecimiento sucedió rápidamente a los 4 días, creciendo entre 2-5 cm. La colonia 2 de coloración café pardo, con textura lanosa seca y la superficie plana, con reverso café.



Apreciamos un crecimiento rápido de la especie del género *Trichoderma sp* en colonias, vista superior de la placa, presenta estructuras esporuladas con un característico color verde oliva y bordes blancos distribuidos sobre toda la superficie del agar. Aquellos bordes blancos representan la estructura micelar joven o madura del hongo. Además, se observan colonias de forma radial con centro amarillo y bordes blancos, indicando las áreas donde el micelio está menos desarrollado.

---



El crecimiento de *Trichoderma sp*, colonia 2 se ha suscitado con más letargo debido a la poca formación de colonias maduras representadas en verde oliva, mientras que el micelio aún inmaduro también prolifera en el extremo inferior de la placa. Se observa la colonia 1 de coloración verde, textura polvosa con superficie elevada, y de reverso coloración verde oscura. La colonia 2, es de coloración amarilla con textura lanosa con micelio aéreo y reverso de coloración amarilla. La colonia 3 de coloración blanca, de textura algodonosa y superficie elevada, con reverso de coloración beige. La colonia 4 es de coloración blanca, con textura algodonosa, superficie elevada, y coloración de reverso crema.



El crecimiento de *Trichoderma sp*, se ha suscitado con más letargo debido a la poca formación de colonias. La colonia 1, es de coloración café, con textura lanosa superficie plana y reverso de coloración café. La colonia 2 es de coloración blanca, de textura algodonosa y superficie elevada, con reverso de coloración beige

La colonia 3 es de coloración verde, textura polvosa con superficie elevada, y de reverso coloración

verde oscura. La colonia 4 de coloración blanca, con un centro de color verde claro, de textura algodonosa y micelio aéreo, con reverso de coloración beige con verde en el centro.



Colonias crema con borde verde, con textura algodonosa, superficie elevada, con un reverso de coloración blanca con bordes y centro verdes.

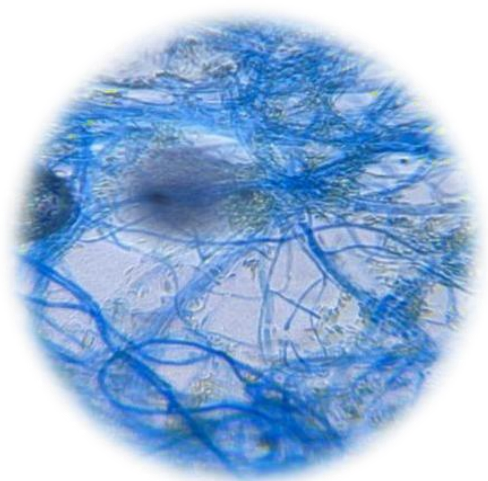
**Tabla 14**

*Caracterización microscópica de hongos*

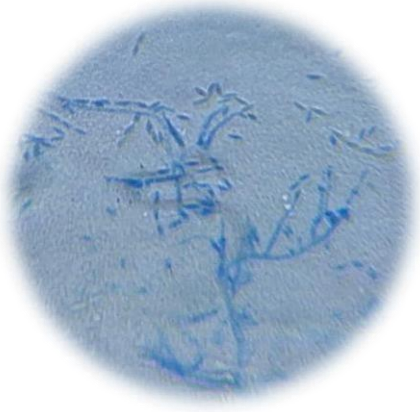
Imagen	Descripción
A circular microscopic field of view showing numerous small, green, oval-shaped spores. Some spores are isolated, while others are in small clusters. The background is a light blue color from the stain.	<p>Se observó mediante el uso del microscopio óptico con aumento de 40x, por medio de tinción con azul de lactofenol, se evidenció estructuras fúngicas, que eran esporas de color verde claro, de forma delgadas, ovaladas y agrupadas.</p>



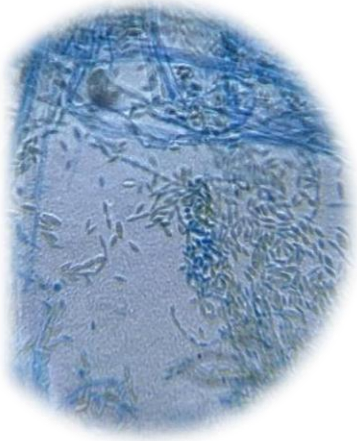
Se observó mediante el uso del microscopio óptico con aumento de 40x, por medio de tinción con azul de lactofenol, se identificó estructuras filamentosas largas y delgadas, estas hifas estaban entrelazadas, formando una red micelial densa que evidencia que estaba en un estado de desarrollo avanzando, por lo que el micelio se estaba expandiendo, lo que indicó que está adaptado al medio contaminado.



Se observó mediante el uso del microscopio óptico con aumento de 40x, por medio de tinción con azul de lactofenol, se identificó estructuras filamentosas largas, algunas gruesas y otras delgadas, estas hifas estaban entrelazadas, formando una red micelial densa que evidencia que estaba en un estado de desarrollo más avanzando, por lo que el micelio se estaba expandiendo, y había presencia de esporas, lo que indicó que está adaptado al medio contaminado y continuando con su crecimiento.

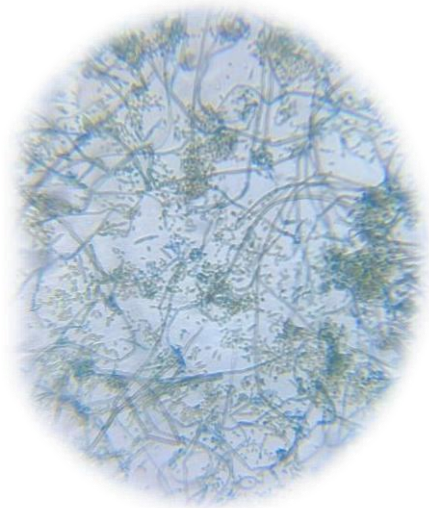


Se observó mediante el uso del microscopio óptico con aumento de 40x, por medio de tinción con azul de lactofenol, se identificó hifas septadas con micronidias y macronidias en forma de media luna.

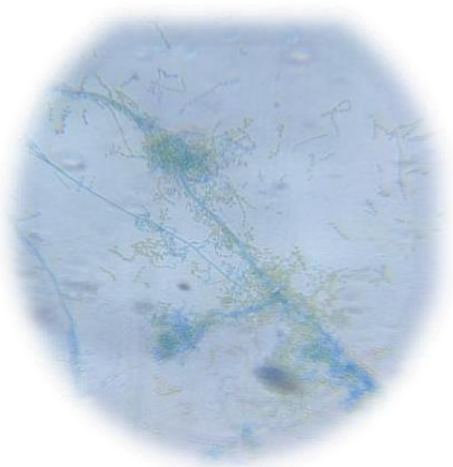


Se observó mediante el uso del microscopio óptico con aumento de 40x, por medio de tinción con azul de lactofenol, se identificó estructuras filamentosas largas, algunas gruesas y otras delgadas, estas hifas estaban entrelazadas, formando una red micelial densa que evidencia que estaba en un estado de desarrollo con micronidias y macronidias en forma de media luna y coloración verdosa.

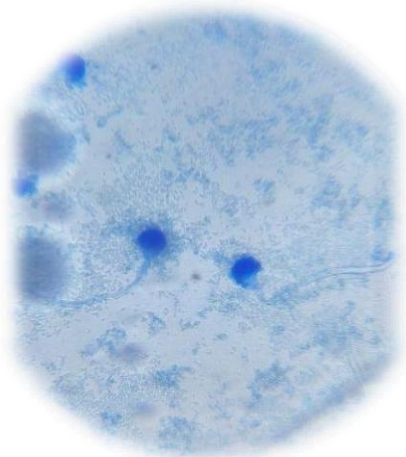
---



Se observó mediante el uso del microscopio óptico con aumento de 40x, por medio de tinción con azul de lactofenol, se identificó estructuras filamentosas largas, algunas gruesas y otras delgadas, estas hifas septadas estaban entrelazadas, formando una red micelial densa que evidencia que estaba en un estado de desarrollo con micronidias y macronidias en forma de media luna y coloración verdosa

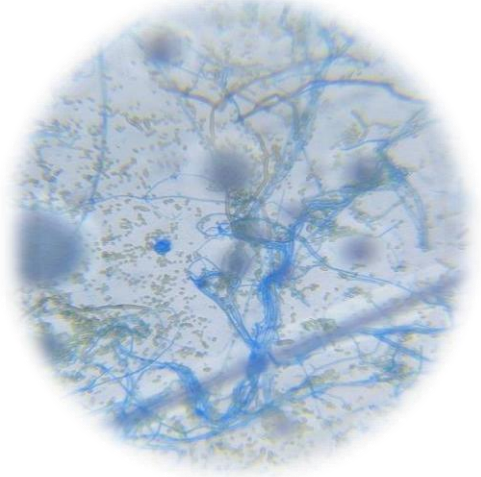


Se observó mediante el uso del microscopio óptico con aumento de 40x, por medio de tinción con azul de lactofenol, se identificó hifas septadas que estaban de forma lineal y otras entrelazadas, unas largas y otras cortas, con micronidias y macronidias en forma de media luna y coloración verdosa, lo que indica que se estaba desarrollando.

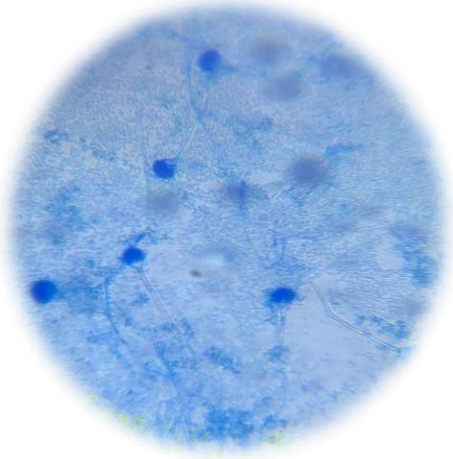


Se observó mediante el uso del microscopio óptico con aumento de 40x, por medio de tinción con azul de lactofenol, se identificó cabezas conidiales uniseriadas y de forma columnar, hialinos, con vesícula de forma globosa que se curvaban y con conidios a su alrededor y presencia de artroconidios.

---



Se observó mediante el uso del microscopio óptico con aumento de 40x, por medio de tinción con azul de lactofenol, se identificó hifas septadas, se encontraban entrelazadas formando una red micelial, con forma largas y delgada, con presencia de arthroconidios.



Se observó mediante el uso del microscopio óptico con aumento de 40x, por medio de tinción con azul de lactofenol, se identificó varias cabezas conidiales uniseriadas y de forma columnar, hialinos, con vesícula de forma globosa que se curvaban y con conidios a su alrededor y presencia de arthroconidios.

---

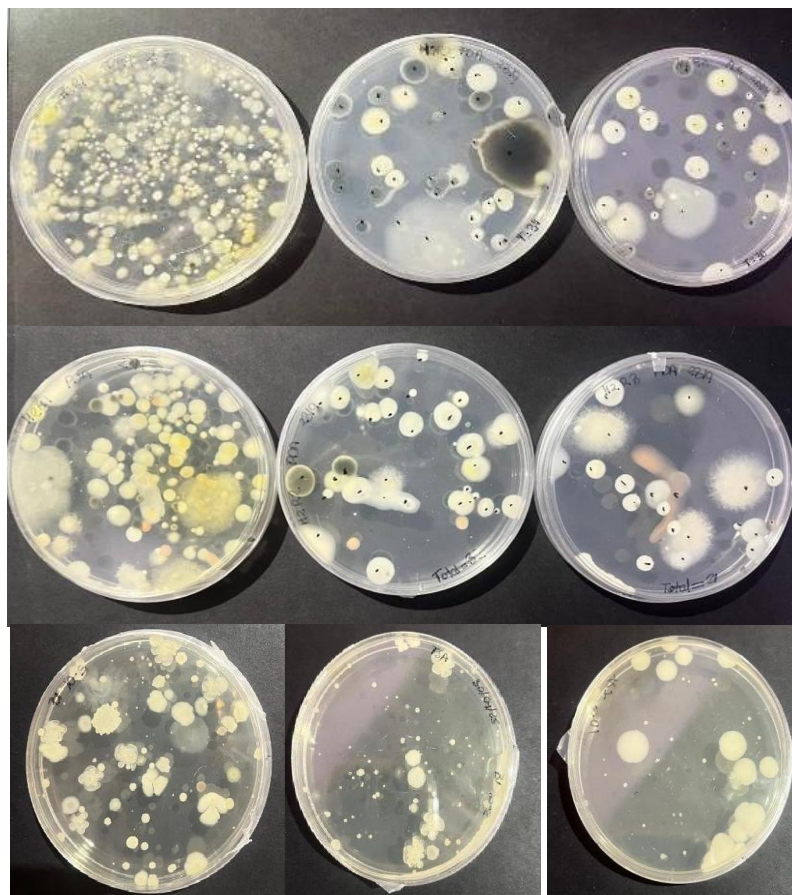
## 8.10. DETERMINACIÓN DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS

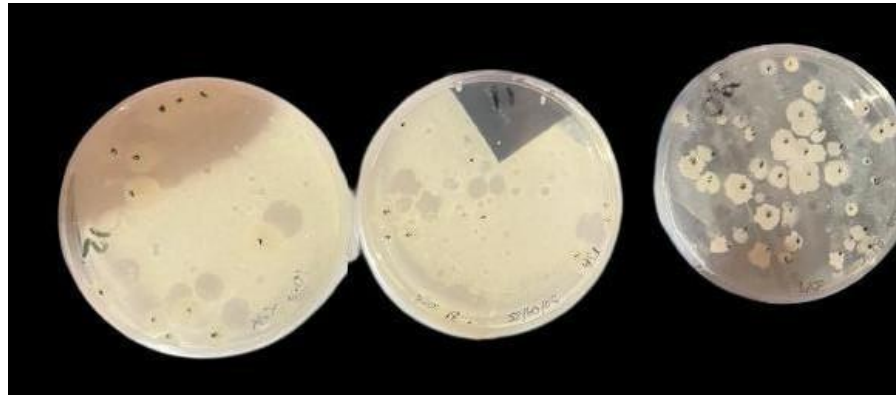
Posterior a la siembra microbiológica se realizó el respectivo conteo de las colonias bacterianas y fúngicas de los tratamientos de Bacterias (B) y del Hongo (H) de cada caja Petri.

### Figura 15

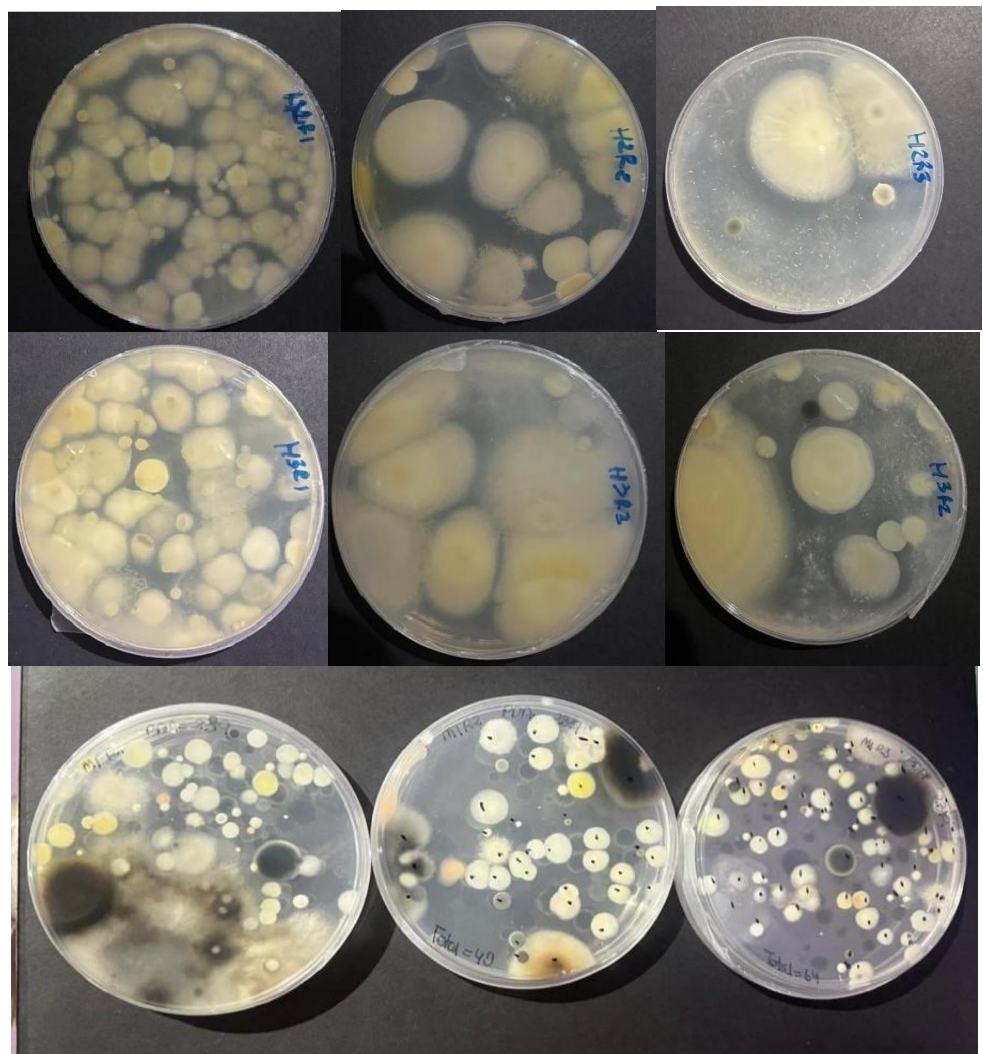
*Colonias bacterianas y fúngicas obtenidas de los análisis de suelo*

A)





B)





*Nota.* Siembras microbiológicas en agares TSA y PDA para cuantificación.

A) Conteo de colonias bacterianas sembradas en agar TSA. B) Conteo de colonias fúngicas sembradas en agar PDA.

En el tratamiento bacteriano (B1–B3) se registró los valores más altos de unidades formadoras de colonia (UFC), alcanzando en el cuarto análisis un promedio de  $4,6 \times 10^4$  UFC, superior a los valores iniciales observados. Este incremento sostenido evidenció una alta actividad metabólica bacteriana, indicando una adaptación eficiente al medio y una participación directa en la biodegradación de hidrocarburos presentes en el suelo.

El tratamiento con hongos (H1–H3) también mostró un incremento progresivo de la densidad microbiana durante el período experimental. En el tercer análisis, los valores promediaron entre  $3,0 \times 10^4$  y  $4,4 \times 10^4$  UFC, mientras que en el cuarto análisis los valores finales oscilaron alrededor de  $3,8 \times 10^4$  UFC.

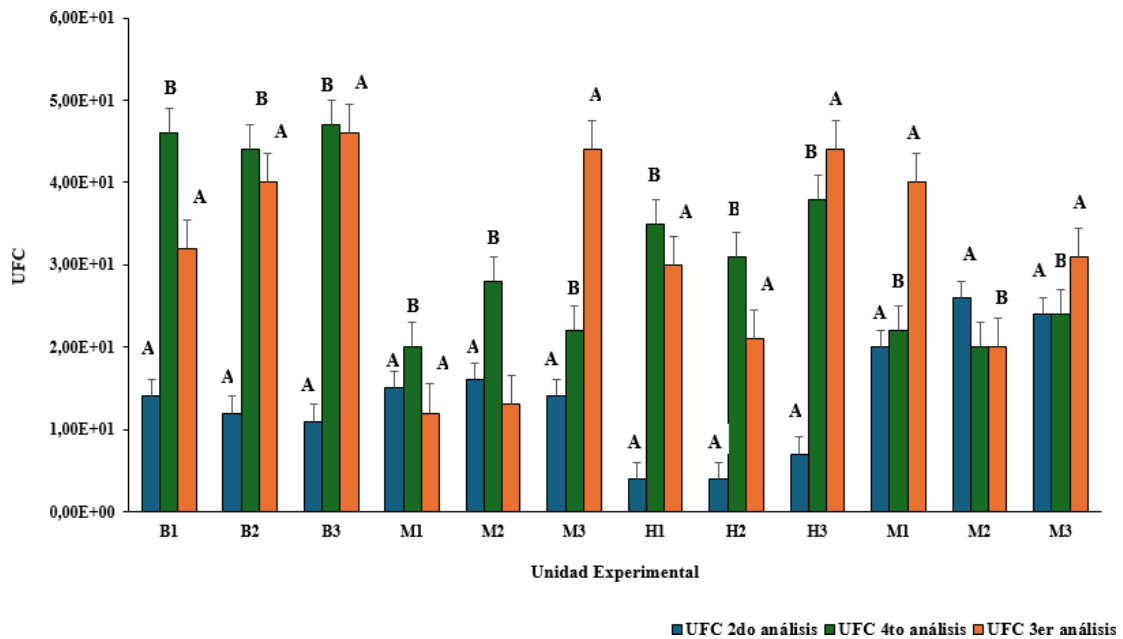
Aunque, inferiores a los obtenidos en el tratamiento bacteriano, estos resultados demuestran que los hongos contribuyeron de forma complementaria al proceso de degradación, manteniendo un crecimiento estable a lo largo del tiempo.

Por su parte, el tratamiento enzimático (M1–M3) presentó valores intermedios de crecimiento microbiano. El promedio de UFC se incrementó gradualmente hasta alcanzar valores cercanos a  $2,8 \times 10^4$  UFC en el cuarto análisis, lo que sugiere una acción sinérgica moderada de las enzimas en la estimulación de la actividad biológica del suelo.

Las diferencias estadísticas señaladas con las letras A y B evidencian variaciones significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos y entre los periodos de evaluación (Figura 16).

**Figura 16**

*Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por cada unidad experimental realizada durante la experimentación y prueba de tratamientos*



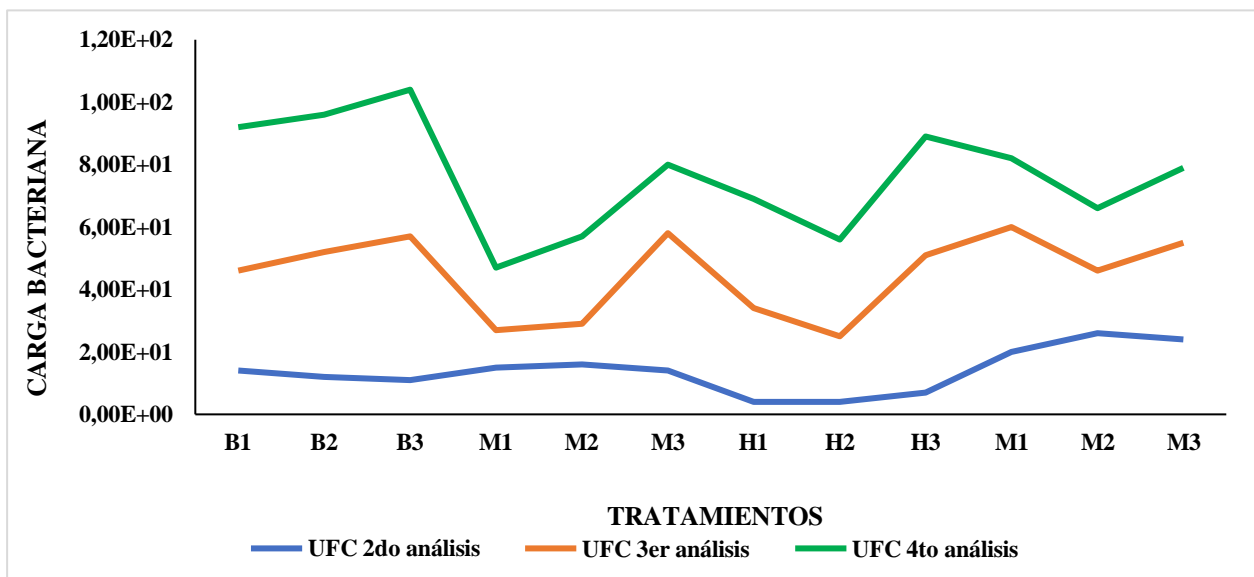
*Nota.* Letras iguales indican que no existe diferencias estadísticas significativas según ANOVA de una vía y test posterior de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Según la (Figura 17) se observó la variación lineal de los tres grupos de datos, en donde la línea de color azul representa a la carga bacteriana total del segundo análisis microbiológico, la línea naranja representa al tercer análisis microbiológico y por último la línea gris representa al último análisis microbiológico, respecto a las cargas bacterianas y fúngicas obtenidas en cada análisis, se determinó un comportamiento relativo entre los tratamientos que estaban implicadas las bacterias y los hongos de estudio, bajo las mismas

condiciones experimentales, en las que se representan las fluctuaciones entre las respuestas de crecimiento de cada microorganismo de acuerdo al tiempo por lo que indica que en el periodo de adaptación del segundo análisis las UFC eran bajas, pero con el pasar de los 10 días las UFC incrementaron tanto las bacterias como los hongos de cada tratamiento experimental.

**Figura 17**

*Curva de distribución de la carga bacteriana de cada tratamiento*



*Nota.* La línea azul indica una carga bacteriana baja en relación con la línea verde con un alto valor de la carga bacteriana.

## **8.11. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS**

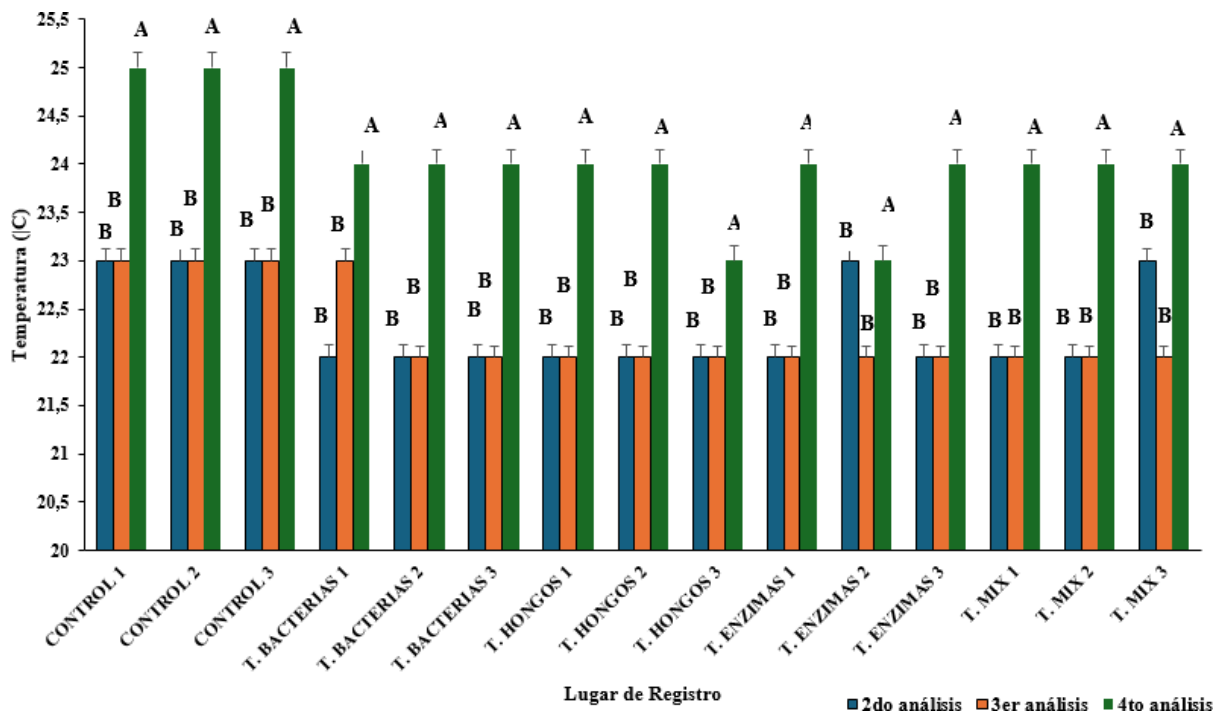
### **8.11.2. TEMPERATURA**

Los valores de temperatura registrados durante el proceso de biorremediación se mantuvieron estables entre los diferentes tratamientos y a lo largo del tiempo, con ligeras variaciones asociadas al metabolismo microbiano. Las temperaturas iniciales oscilaron entre 22 y 25 °C, rango considerado adecuado para la actividad microbiana aeróbica. Los incrementos moderados observados en el tercer análisis (24–25 °C) reflejan la intensificación del metabolismo microbiano, mientras que las pequeñas disminuciones hacia el cuarto análisis podrían deberse a la estabilización del sistema tras la adaptación biológica de los microorganismos, mientras que en los análisis posteriores se registraron incrementos moderados hasta alcanzar valores cercanos a 24–25 °C en el tercer análisis.

No se encontraron diferencias significativas entre el 2do y 3er análisis a diferencia del 4to en el cual se obtuvo un incremento en la temperatura de cada tratamiento ( $p < 0,05$ ) respecto a los demás.

**Figura 18**

*Valores de temperatura registradas durante la experimentación y prueba de tratamientos*



*Nota.* Los valores de temperatura muestran diferencias entre los tratamientos. Las letras igual, indican que no existe diferencias significativas estadísticamente.

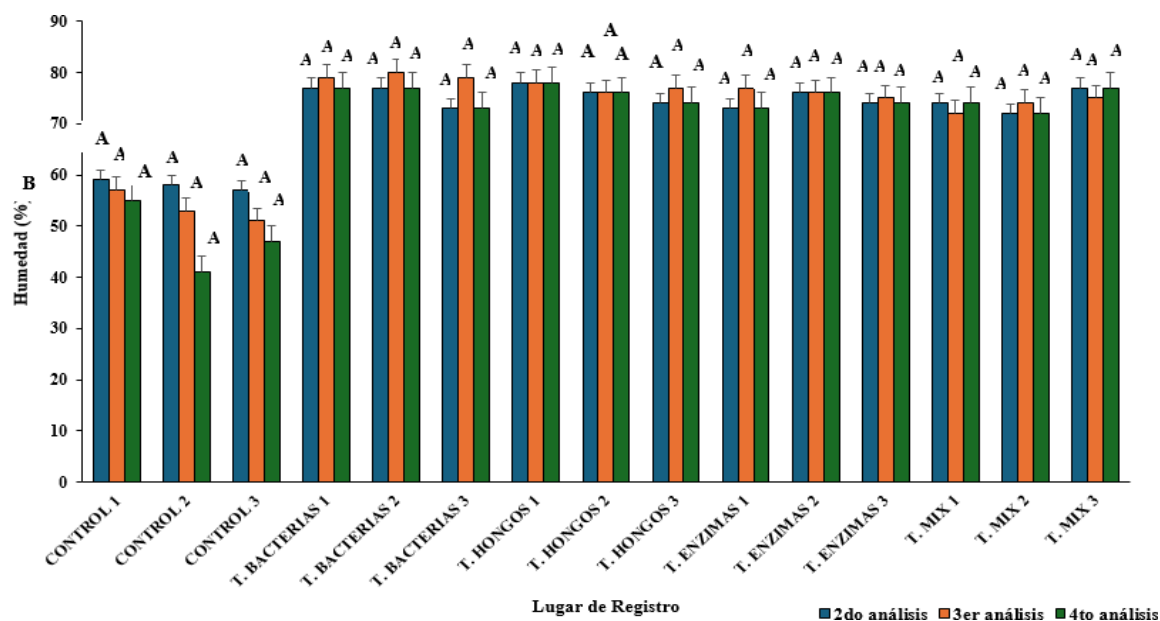
### 8.11.3. HUMEDAD

Los valores de humedad mostraron un comportamiento constante y adecuado para la biorremediación, con porcentajes comprendidos entre 55 % y 80 %. En los tratamientos inoculados con bacterias, hongos, enzimas y mezcla microbiana, la humedad se mantuvo dentro del rango óptimo para la actividad metabólica aerobia. El control, por su parte, presentó valores inferiores, cercanos al 55 %, lo que sugiere una menor capacidad de retención hídrica por la falta de actividad biológica (Figura 19).

La comparación estadística entre los análisis indicó que no existieron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los distintos tratamientos ni entre los tiempos de análisis, lo que confirma que la humedad no fue un factor limitante para el desarrollo microbiano, por lo que se la mantuvo controlada y estable en cada unidad experimental.

**Figura 19**

Valores de humedad registradas durante la experimentación y prueba de tratamientos



Nota. Letras iguales indican que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de una vía y test posterior de Tukey ( $p < 0,05$ )

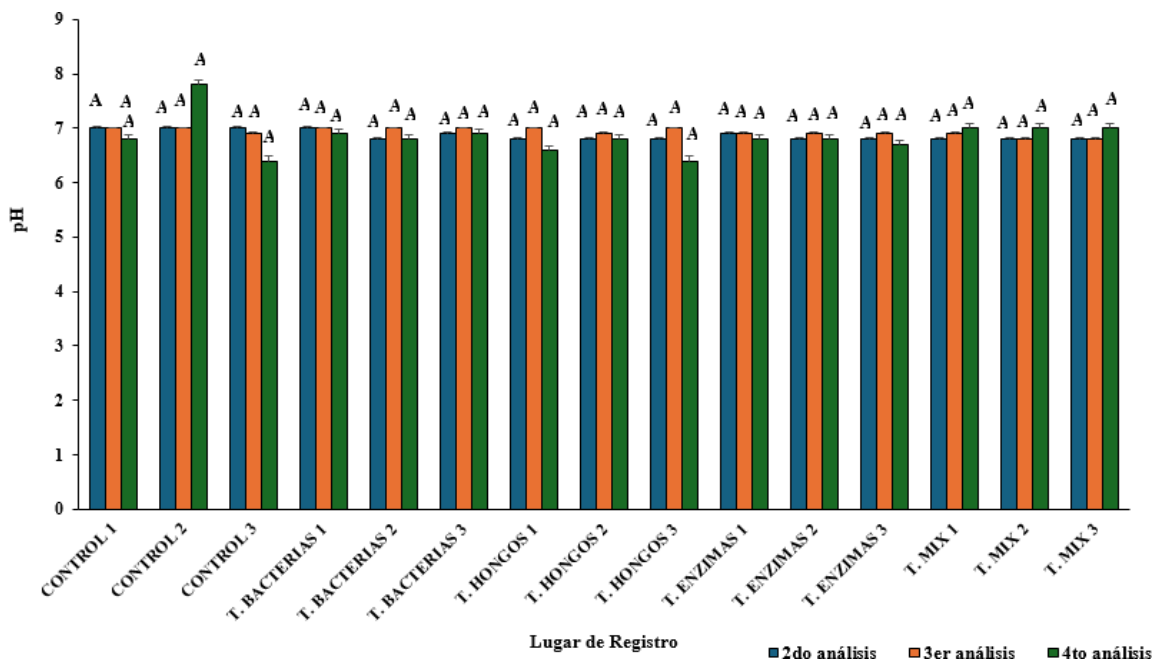
### 8.11.4. PH

Los valores de pH registrados durante la experimentación se mantuvieron dentro de un rango ligeramente alcalino, entre 6.8 y 8.0, durante todo el proceso de tratamiento, con pequeñas variaciones entre los diferentes tratamientos y periodos de análisis. En todos los casos, las letras iguales indican ausencia de cambios significativos ( $p > 0,05$ ) a lo largo del tiempo, es decir no existe diferencias estadísticamente significativas (Figura 20).

El tratamiento de control presentó valores estables entre 7.0 y 7.8, mientras que los tratamientos experimentales en el que fueron inoculados con bacterias, hongos, enzimas bacterianas y la mezcla microbiana mantuvieron valores similares, cercanos a la neutralidad. Este comportamiento demostró que la actividad microbiana no se alteró de forma considerable, permitiendo mantener condiciones favorables para el desarrollo de los microorganismos aerobios, bajo las condiciones de la experimentación *ex situ*.

**Figura 20**

*Valores de pH registradas durante la experimentación y prueba de tratamientos*



*Nota.* Letras iguales indican que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de una vía y test posterior de Tukey ( $p < 0,05$ )

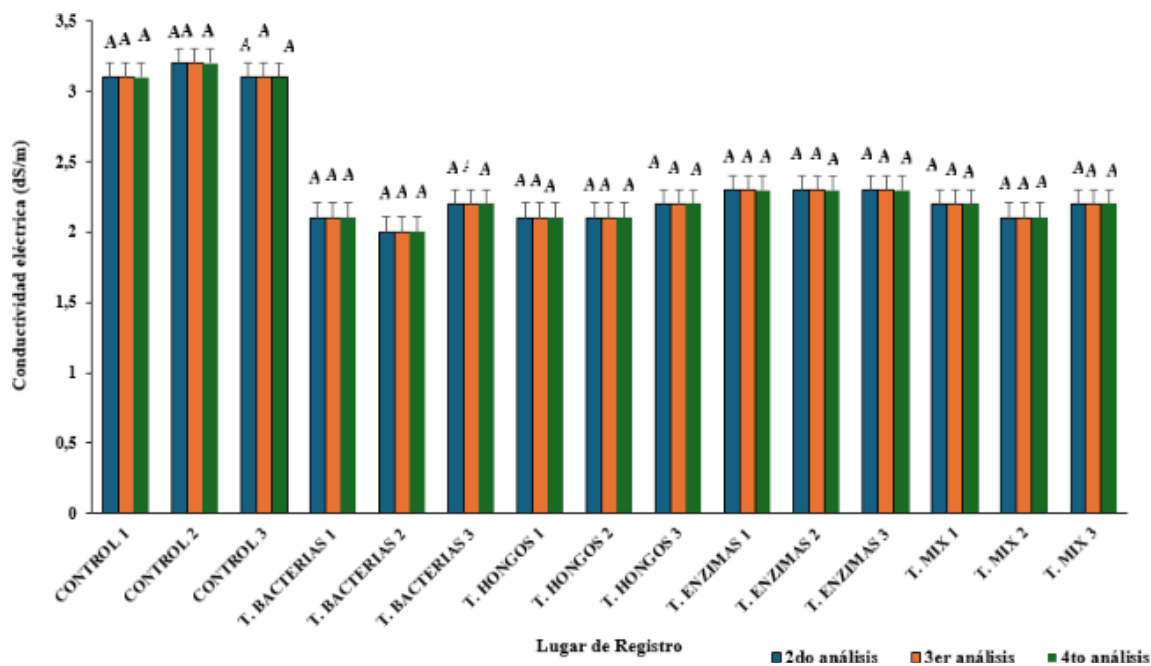
### 8.11.5. CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA

Los valores de conductividad eléctrica (CE), que se registró de cada tratamiento, mostraron una tendencia estable a lo largo del proceso experimental, con pequeñas variaciones entre los muestreos. Los valores oscilaron entre (2.0 y 3.2 dS/m), ubicándose dentro de un rango considerado moderado, lo que sugirió una acumulación de sales solubles por la ausencia de actividad microbiana que favoreció su transformación.

El control presentó los valores más altos de conductividad (3.2 dS/m), lo que reflejó una mayor acumulación de sales solubles debido a la ausencia de actividad microbiana que favorezca su consumo o transformación. En cambio, los tratamientos inoculados con bacterias, hongos, enzimas y combinaciones microbianas mantuvieron valores ligeramente menores, alrededor de 2.0–2.3 dS/m, sin diferencias estadísticas significativas ( $p > 0,05$ ), como se indica con la letra “A” en la gráfica (Figura 21).

**Figura 21**

Valores de conductividad eléctrica (ds/m) registradas durante la Experimentación y prueba de tratamiento



Nota. Letras iguales indican que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de una vía y test posterior de Tukey ( $p < 0,05$ )

### 8.11.6. MATERIA ORGÁNICA

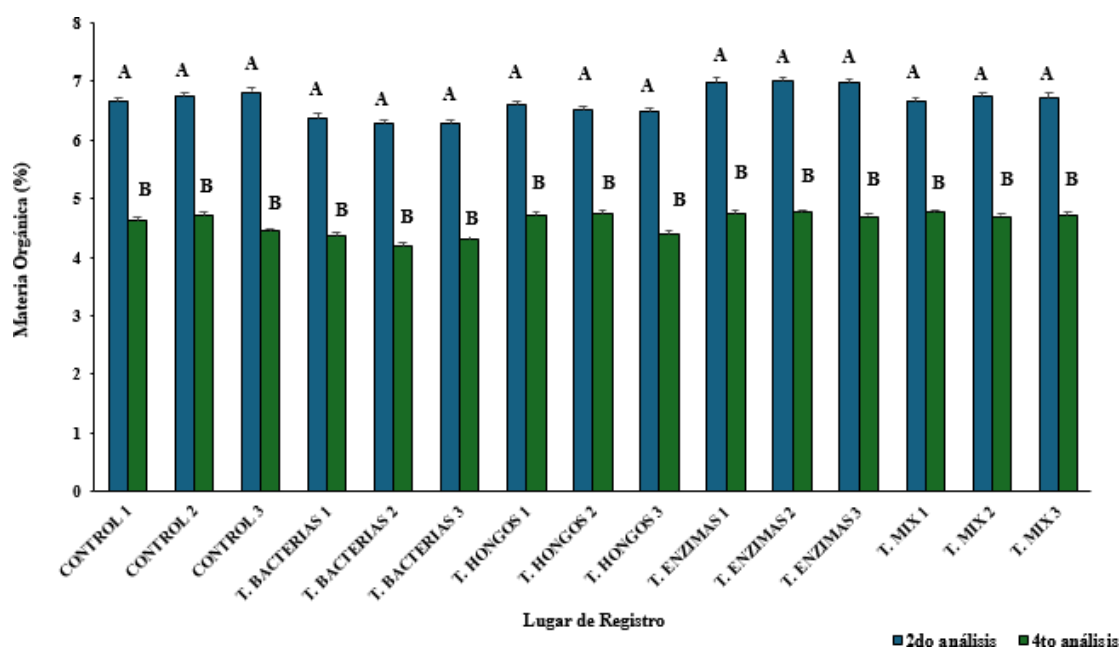
Los resultados obtenidos mostraron una disminución significativa en el contenido de materia orgánica del suelo entre el segundo y cuarto análisis en todos los tratamientos. Los valores iniciales oscilaron entre 6.5 y 7.2 %, mientras que al finalizar el proceso descendieron a valores entre 4.2 y 4.8 %, diferencia que fue estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ), como se indica con las letras “A” y “B” en la gráfica.

El control también presentó una reducción en el contenido de materia orgánica, aunque menos pronunciada, lo que sugiere que parte de esta pérdida se debe a procesos naturales de descomposición aeróbica.

Sin embargo, la mayor disminución se observó en los tratamientos inoculados con microorganismos y enzimas, lo que evidencia su participación activa en la mineralización de compuestos orgánicos complejos derivados de los hidrocarburos presentes en el suelo (Figura 22).

### Figura 22

*Valores de materia orgánica registradas durante la experimentación y prueba de tratamientos*



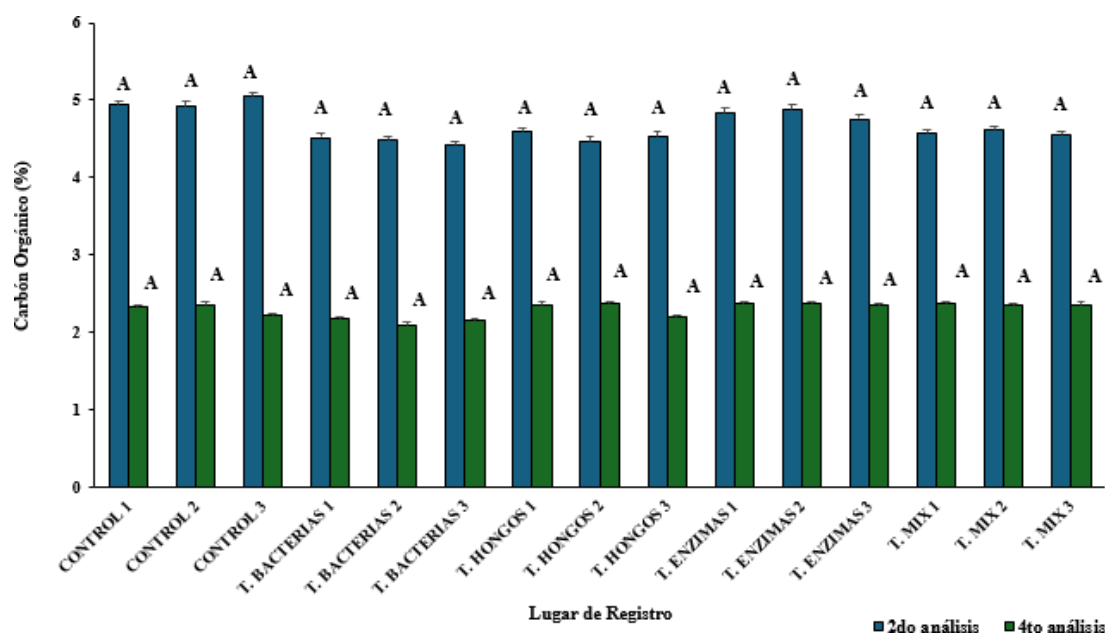
*Nota.* Letras iguales indican que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de una vía y test posterior de Tukey ( $p < 0,05$ )

### 8.11.7. CARBÓN ORGÁNICO

El contenido de carbono orgánico mostró valores estables entre los tratamientos, oscilando entre 4.5 % y 5.0 %, sin diferencias significativas ( $p>0,05$ ). Aun así, los tratamientos inoculados reflejaron una mayor reducción de carbono orgánico respecto al control, lo que se asocia a la oxidación de compuestos hidrocarbonados durante la actividad microbiana (Figura 23). Este comportamiento sugiere que el carbono orgánico fue utilizado como fuente energética por las bacterias y hongos inoculados, contribuyendo al proceso de biotransformación del contaminante.

**Figura 23**

*Valores de carbón orgánico registradas durante la experimentación y prueba de tratamientos*



Nota Letras iguales indican que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de una vía y test posterior de Tukey ( $p<0,05$ )

### **8.11.8. DETERMINACIÓN DE LOS VALORES DE REDUCCIÓN DE TPH**

Los valores de hidrocarburos totales del petróleo (TPH) evidenciaron una tendencia general de disminución progresiva a lo largo del proceso de biorremediación en todos los tratamientos, con diferencias notables entre el control y los sistemas inoculados con microorganismos. Inicialmente, los valores de TPH oscilaron entre 22 000 y 26 000 mg/kg, reflejando un alto nivel de contaminación en el suelo experimental.

En el segundo análisis, los valores iniciales de TPH oscilaron entre 21 866 y 26 187 mg/kg, con concentraciones elevadas en el control, lo que indica un alto nivel de contaminación en el suelo experimental. En los tratamientos bacterianos (B1–B3) se registraron valores promedio entre 18 670 y 19 283 mg/kg, mientras que los tratamientos con hongos (H1–H3) alcanzaron valores entre 18 112 y 18 217 mg/kg. Los tratamientos enzimáticos (M1–M3)

mostraron concentraciones ligeramente superiores, entre 21 575 y 23 110 mg/kg, mientras que la mezcla microbiana (T. MIX 1–3) presentó valores intermedios de 21 430 a 22 847 mg/kg.

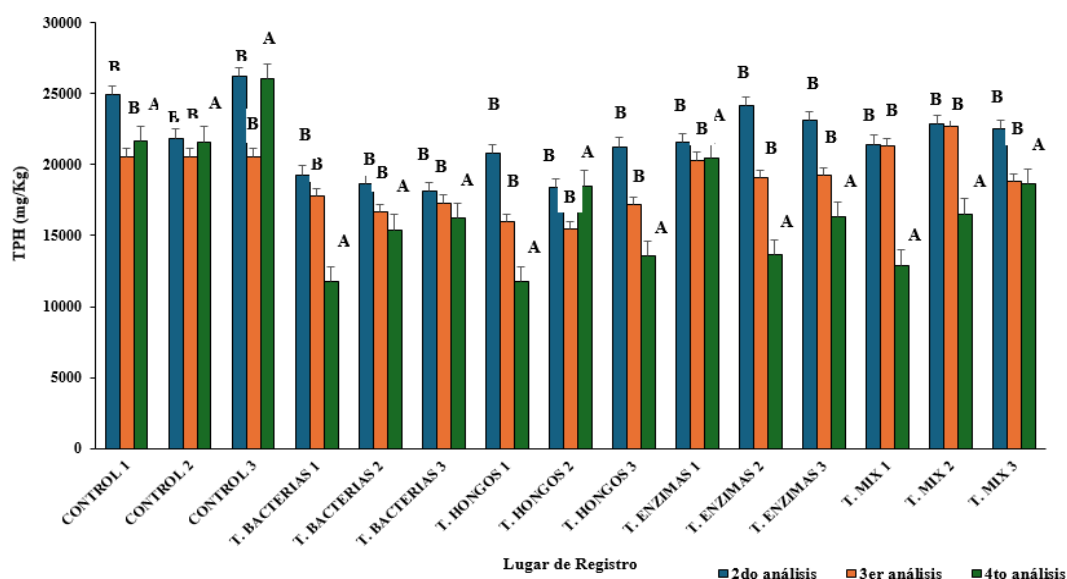
Durante el tercer análisis, las concentraciones disminuyeron de forma más evidente, con valores que variaron entre 17 792 y 19 071 mg/kg para los tratamientos bacterianos y enzimáticos, y entre 15 492 y 18 207 mg/kg en los tratamientos fúngicos y de mezcla microbiana. El control, sin embargo, mantuvo valores elevados, con promedios de 20 775 a 26 055 mg/kg, sin mostrar cambios significativos ( $p > 0,05$ ) respecto al análisis anterior.

Finalmente, en el cuarto análisis, se observó una reducción significativa ( $p < 0,05$ ) en los tratamientos activos, especialmente en los sistemas inoculados con bacterias y hongos, que alcanzaron valores entre 13 350 y 19 540 mg/kg. Los tratamientos enzimáticos y de mezcla microbiana también evidenciaron una disminución considerable, con valores finales entre 13823 y 18 610 mg/kg. En contraste, el control presentó una menor reducción, con valores de 21 060 a 24 063 mg/kg, lo que confirma la menor eficiencia natural del suelo sin inoculación microbiana.

Las diferencias estadísticas mostradas con las letras A y B en la Figura 24 indican variaciones significativas entre los tiempos de muestreo ( $p < 0,05$ ), confirmando la efectividad del proceso biológico de biorremediación, en especial en los tratamientos con bacterias y hongos que lograron la mayor remoción de TPH en el suelo.

**Figura 24**

*Valores de TPH registradas durante la experimentación y prueba de tratamientos*



*Nota.* Letras iguales indican que no existe diferencias estadísticamente significativas según ANOVA de una vía y test posterior de Tukey ( $p < 0,05$ )

Se realizó el promedio de los valores obtenidos de los análisis de TPH de cada tratamiento para obtener la reducción absoluta por medio de la siguiente fórmula:

**1. Reducción absoluta de TPH (g/kg de suelo):**

$$\text{Reducción absoluta} = \text{TPH inicial} - \text{TPH final}$$

**2. Reducción porcentual (%):**

$$\text{Reducción \%} = \frac{(\text{TPH inicial} - \text{TPH final})}{\text{TPH inicial}} \times 100$$

Se obtuvo los siguientes datos según la *Tabla 16*, la cual indica que el tratamiento más eficaz en esta experimentación fue el tratamiento de hongos con un porcentaje del 31.12% demostrando así una reducción del hidrocarburo del suelo en un periodo de tiempo de 40 días, le sigue la combinación de los tres tratamientos la cual presento una reducción del 27.94% con un 4% de diferencia de reducción, la cual se pudo dar por la falta de nutrientes en el suelo, como fue en el caso de las bacterias en las que si hubo reducción pero fue la más baja con 22.38%, pero demostrando que las bacterias del género *Bacillus* actúan de forma eficaz pero un poco más lenta en comparación con el hongo *Trichoderma sp*, respecto a la biodegradación de TPHs.

Las enzimas también actuaron de forma positiva, gracias a los compuestos activos que presenta el bioproducto BIO BAC- A, presentando una reducción del 26.08% de TPH del suelo contaminado.

**Figura 25***Porcentajes finales obtenidos de cada tratamiento experimental*

TRATAMIENTO	1 ANÁLISIS TPH mg/kg	2 ANÁLISIS TPH mg/kg	3 ANÁLISIS TPH mg/kg	REDUCCIÓN PORCENTUAL DE TPH	PROMEDIO %
CONTROL 1	24933	20565	21643	13,20%	
CONTROL 2	21866	20575	21610	1,17%	5,02%
CONTROL 3	26187	20565	26003	0,70%	
T. BACTERIAS 1	19283	17792	11740	39,18%	
T. BACTERIAS 2	18670	16639	15403	17,50%	22,38%
T. BACTERIAS 3	18112	17293	16220	10,45%	
T. HONGOS 1	20771	15948	11743	43,46%	
T. HONGOS 2	21406	15452	18507	13,54%	31,12%
T. HONGOS 3	21260	17196	13530	36,36%	
T. ENZIMAS 1	21570	20301	20440	5,24%	
T. ENZIMAS 2	24133	19077	13633	43,51%	26,08%
T. ENZIMAS 3	23110	19219	16293	29,50%	
T. MIX 1	21430	21287	12913	39,74%	
T. MIX 2	22840	22673	16513	27,70%	27,94%
T. MIX 3	22477	18793	18610	16,39%	

*Nota.* Valores obtenidos de cada tratamiento experimental, en porcentajes promediados totales.

## **8.12. CORRELACIÓN ENTRE PARÁMETROS FÍSICO – QUÍMICOS Y LAS UFC**

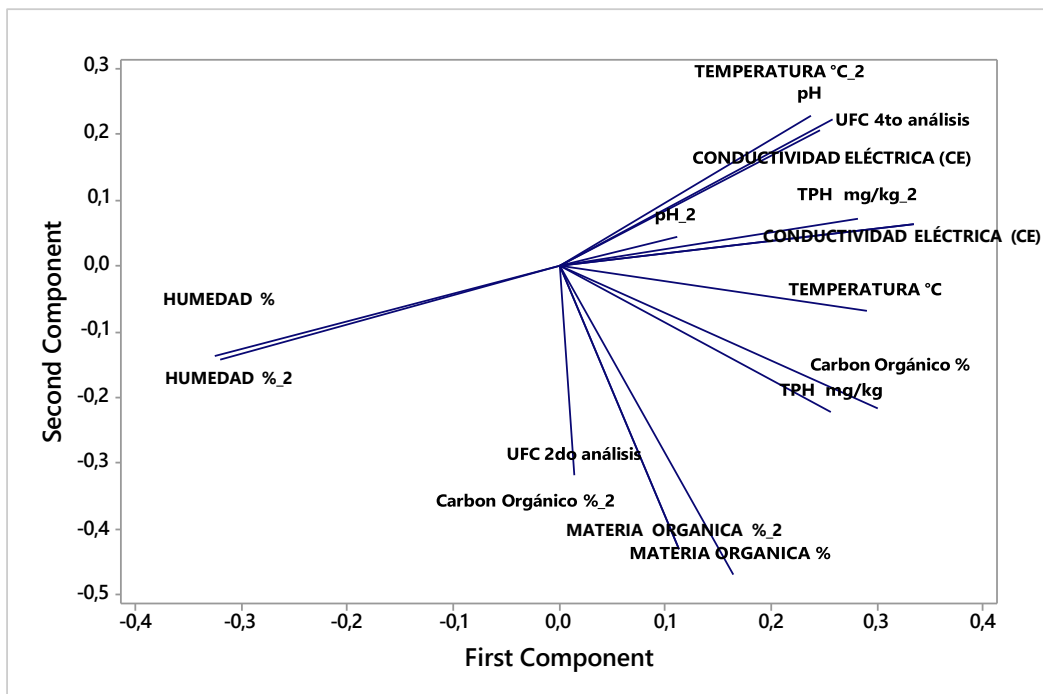
En la Figura 25 se observa el análisis de componentes principales (PCA) que permitió identificar las relaciones más importantes entre las variables fisicoquímicas y microbiológicas del suelo.

La conductividad eléctrica ( $p=0,335$ ) y el pH ( $p=0,237$ ) mostraron una correlación positiva alta, indicando que la estabilidad química del suelo se asoció con la actividad microbiana y la reducción del contaminante. También, el valor de TPHs presentó una carga positiva cercana a ( $p=0,257$ ), mostrando asociación media con conductividad eléctrica y pH.

La temperatura también se relacionó con el TPH, dado que ambas presentan direcciones próximas, lo que sugirió que el incremento de temperatura favoreció, a la variación del contenido de hidrocarburos presentes en el suelo. En el caso de la materia orgánica y el carbono orgánico mantuvieron cargas semejantes a ( $p=0,164$  y  $p=0,300$ ), reflejando así una correlación baja, con su origen estructural común.

Además, en la cuantificación de las unidades formadoras de colonias del 2do análisis presentaron una correlación media positiva con las variables orgánicas, mientras que, en la cuantificación de las unidades formadoras de colonias del 4to análisis, mostrando un





*Nota.* Relaciones de los parámetros físicos-químicos con la degradación de TPH.

## CAPITULO V

### 8. DISCUSIONES

En la presente investigación experimental, se obtuvieron los resultados del suelo contaminado con diésel, el cual presentó las adecuadas propiedades fisicoquímicas, mediante su análisis se determinó que el tipo de suelo es de textura limo-arcilloso, con presencia de microorganismos, una elevada concentración de materia y carbono orgánico, por la cantidad de los hidrocarburos presentes, en cambio, el pH, temperatura y la conductividad eléctrica no presentaron variaciones, sino que se mantenían estables.

Debido al tipo de suelo, se facilitó el tratamiento *ex situ*, por medio de la adición de microorganismos los cuales tuvieron una eficaz adaptación, crecimiento y desarrollo, gracias al control de sus parámetros, para que las condiciones de cada medio fueran óptimas.

En el tratamiento de Bacterias presentó una reducción porcentual de TPHs del 22.38%. En el tratamiento de Hongo presentó una reducción porcentual de TPHs del 31.12%.

En el tratamiento de Enzimas bacterianas presentó una reducción porcentual de TPHs del 26.08%.

El tratamiento de mix de los tres bioproductos presento una reducción porcentual de TPHs del 27.94%

Respecto al análisis de varianza se puede indicar que no existen diferencias estadísticamente significativas en los parámetros como pH, CE y temperatura, en cambio sí existen diferencias significativas respecto al porcentaje de degradación de TPH de cada tratamiento.

Se demostró que la mayoría de las bacterias, según su morfología y caracterización microscópica, pertenecen al mismo grupo de microorganismos, mientras que aquellos organismos diferentes fueron minoría. Según con Chaillan et al. (2004), reportaron una amplia diversidad de microorganismos aerobios degradadores de hidrocarburos, aislados de suelos contaminados con petróleo, entre los que identificaron fueron seis géneros bacterianos: *Brevibacterium*, *Gordonia*, *Dietzia*, *Aeromicrobium*, *Mycobacterium* y *Burkholderia* ocho géneros de hongos filamentosos: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Neosartorya*, *Amorphoteca*, *Talaromyces* *Paecilomyces*, y *Graphium* y tres géneros de levaduras: *Candida*, *Yarrowia* y *Pichia*. Esta diversidad refleja una alta capacidad adaptativa microbiana para sobrevivir y metabolizar hidrocarburos bajo condiciones de estrés ambiental del suelo, lo cual favorece los procesos naturales de biorremediación de suelos contaminados.

Los resultados obtenidos guardan relación con lo reportado por Tourova et al., (2016), se identificaron nuevas cepas de bacilos hemofílicos provenientes de yacimientos petrolíferos y fuentes termales, con la capacidad de degradar n-alcános presentes en el petróleo crudo. Entre las especies destacadas, se encuentran *Geobacillus toebii* b-1024,

*Geobacillus sp.* 1017 y *Aeribacillus pallidus* 8m3. De forma consistente, los mismos autores (Tourova et al., 2018) llevaron a cabo posteriormente un análisis genómico comparativo que profundizó en la caracterización de estos microorganismos.

De forma similar, Sangeetha Devi et al., (2019) lograron aislar un total de 248 cepas bacterianas con la capacidad de biodegradar polietileno de alta densidad (HDPE). Entre ellas, las especies pertenecientes a los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* se destacaron como los biodegradadores marinos más eficientes de este tipo de plástico, evidenciando su potencial en procesos de degradación ambiental.

Así mismo, *Bacillus subtilis*, aislado de un vertedero de residuos poliméricos, ha sido señalado como una bacteria prometedora para realizar tratamientos de derrames de petróleo, por su alta capacidad de biodegradación, fuerte adherencia a superficies, reducción de la tensión superficial y elevada producción de biosurfactes, características que se mantienen incluso bajo condiciones ambientales adversas (Sakthipriya et al., 2015).

Según Vizquete-García, (2020), la gran mayoría de las bacterias obtenidas de su estudio, eran Gram negativas, lo que podría indicar que están adaptadas de mejor manera a sitios en donde han ocurrido derrames y están contaminados con residuos de petróleo. Las unidades experimentales de Bacterias empleadas en este trabajo son altamente eficientes para utilizar

como fuente de carbono los hidrocarburos, el diésel, la gasolina y el petróleo, y que además crecen bien en suelos con altos niveles de contaminación. El éxito en la degradación durante este periodo breve de tiempo, se da gracias a la capacidad de los microorganismos para descomponer de manera eficaz los componentes químicos que presentó el diésel.

Según Laime-Cornejo, (2025), los microorganismos *Bacillus* y *Aspergillus Niger*, fueron eficaces en el proceso de degradación, por medio de la producción de sus propias enzimas complementarias y la optimización del entorno microbiano. En este estudio, las muestras de bacterias a las 72 horas mostraron una degradación de un 99.77% del hidrocarburo, mientras que los hongos a las 72 horas mostraron una degradación de un 100% a diferencia de los microorganismos, que en conjunto de las 48 horas mostraron una degradación del 100% del hidrocarburo. Lo que indica que existe la necesidad de experimentar con más especies de estos géneros de bacterias y de hongos.

En conjunto, estos estudios destacan el potencial biotecnológico del género *Bacillus* como agente degradador en ambientes contaminados por hidrocarburos y polímeros, lo que coincide con los hallazgos del presente trabajo y respalda su aplicabilidad en procesos de biorremediación ambiental sostenible.

Por los resultados obtenidos, es fundamental que las condiciones, como la temperatura, el

pH, la humedad y CE, manejadas controladamente de forma *ex situ* contribuyeron para que la experimentación sea estable y tenga resultados favorables con un porcentaje medio alto en biodegradación respecto al periodo de tiempo corto.

Se puede mencionar que la investigación realizada por Muñoz, (2016) indica que en los análisis físicos-químicos realizados los microorganismos, utilizaron los elementos del suelo contaminado para realizar sus funciones metabólicas, dando porcentajes altos de reducción de TPH.

Sin embargo, Ule (2021) indica asertivamente sobre que hay mayor efectividad de degradación si los hongos actúan de forma individual, ya que podría estar relacionados con la especificidad del tipo de hongo al momento de reducir un contaminante o compuesto químico. Por lo que ambos enfoques pueden ser compatibles, por lo que depende del contexto y aplicación respecto al tipo de contaminante, objetivo, se elige la mejor técnica de biorremediación.

Según Cañar, (2025) afirma que la aplicación de *Trichoderma sp*, parece presentar una mayor efectividad cuando se lo aplica antes, para lograr una colonización previa, ya que es un hongo que compite por espacio y lucha contra hongos patógenos.

El tratamiento que mayor porcentaje redujo del hidrocarburo diésel fue el tratamiento de

hongo *Trichoderma sp*, indicando una respuesta afirmativa al estudio de Castro & Rivillas, (2012), en el que se establece que *Trichoderma sp*, gracias a su habilidad de adaptarse y se coloniza en diversos ambientes, tiene una elevada reproducción, por lo que utiliza compuestos orgánicos para su crecimiento, por lo que el petróleo es una fuente ideal para que el hongo se reproduzca y degrade las moléculas de los TPHs.

En el trabajo experimental de esta investigación de Daccò et al. (2020), demostraron que las cepas de *Trichoderma* analizadas toleran ambientes con incidencia de aceite de carros usados, el cual utilizan para su crecimiento y desarrollo fúngico. Aunque, la eficiencia en la degradación de hidrocarburos puede variar significativamente entre las cepas y especies, como se evidenció mediante los análisis cromatográficos (GC/MS), en esta investigación. Estas diferencias se atribuyen principalmente a las condiciones ambientales de crecimiento, al tipo de sustrato disponible y de manera destacada, a la capacidad de adaptación de los microorganismos a la presencia de compuestos tóxicos, tales como plaguicidas, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y sustancias cloradas.

Sin embargo, aún es necesario profundizar en los procesos bioquímicos y moleculares que intervienen en la biorremediación realizada por *Trichoderma*. Por lo que se incita a la integración de enfoques genéticos, moleculares, bioquímicos y ecológicos, los cuales resultarían esenciales para comprender de más completa el comportamiento metabólico y

la plasticidad adaptativa de este género fúngico. Asimismo, la ingeniería genética representa una herramienta prometedora para optimizar las rutas degradativas y mejorar la especificidad de sustrato en *Trichoderma*, lo que podría conducir al desarrollo de cepas modificadas con capacidad dirigida hacia familias específicas de contaminantes orgánicos.

En el caso de los hongos, su capacidad para biodegradar HAP resulta particularmente ventajosa, que pueden crecer en una amplia variedad de sustratos y secretar enzimas extracelulares capaces de penetrar el suelo y degradar contaminantes persistentes (Messias et al., 2009). La eficiencia enzimática de estos organismos depende de factores ambientales como la disponibilidad de oxígeno y nutrientes, así como de parámetros fisicoquímicos como el pH, la temperatura, la estructura molecular del contaminante y las propiedades del transporte celular (Singh, 2008).

Debido a su evolución frente a estructuras complejas como la lignina, los hongos han desarrollado una gran capacidad oxidativa, mediada principalmente por peroxidasas extracelulares, responsables de las etapas iniciales de oxidación de los HAP (Zhang et al., 2015).

Novotný et al. (2004) evaluaron la actividad enzimática de LiP, MnP y lacasa, así como la biodegradación de pireno y antraceno por hongos ligninolíticos cultivados en suelo y

medio líquido. Aunque el proceso fúngico tiende a ser más lento que el bacteriano, presenta la ventaja de ser menos específico, permitiendo la hidroxilación de diversos compuestos xenobióticos (Balaji et al., 2014). Además, múltiples investigaciones han destacado el sistema enzimático extracelular de especies del género *Aspergellius*, que son capaces de degradar petróleo crudo y facilitar su recuperación ambiental (Zhang et al., 2016). De igual forma, Jové et al. (2016) compararon la eficiencia de degradación del antraceno entre tres hongos ligninolíticos y no ligninolíticos, determinando que *Phanerochaete chrysosporium* presentó la mayor actividad de oxidación frente a *Pleurotus ostreatus* e *Irpex lacteus*. Asimismo, Balaji et al., (2014) demostraron que diversas especies fúngicas producen un amplio conjunto de enzimas extracelulares como: lipasas, lacasas, proteasas y peroxidasas, las cuales participan activamente en la biodegradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos, reafirmando el potencial de los hongos como agentes biotecnológicos en procesos de biorremediación ambiental.

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos HAP pueden ser transformados o metabolizados por microorganismos individuales o mediante consorcios microbianos compuestos por cepas pertenecientes a un mismo género o a géneros distintos. Diversas investigaciones han demostrado la eficacia del empleo de los consorcios microbianos en la degradación de compuestos aromáticos e hidrocarburos presentes en ambientes contaminado con petróleo.

En este contexto, Dai et al. (2020) evaluaron un sistema enzimático combinado de lacasa-

bacteria aplicado en zona intermareales contaminadas con petróleo pesado, logrando una biodegradación del 66,5% después de 100 días de tratamiento. Este resultado evidencia el efecto sinérgico entre las enzimas oxidativas y los microorganismos en la biorremediación de hidrocarburos complejos. Con dichos antecedentes se afirma que los resultados obtenidos son fundamentados, en la forma y las rutas metabólicas, en la que estos organismos de compuestos tóxicos se benefician para su crecimiento y desarrollo.

Se determinó la reducción mediante un análisis de varianza (ANOVA), en los que se comparó los distintos tratamientos con sus respectivos parámetros físicos-químicos, por lo que la reducción obtenida fue significativa, respecto a los parámetros físico-químicos que no presentaron diferencias significativas.

Por medio de la correlación se estableció las relaciones entre el crecimiento de las colonias de las bacterias y hongos con los parámetros físicos-químicos, lo que indica una significativa relación, ya que el crecimiento de estas UFC depende del medio para su supervivencia, crecimiento y desarrollo.

## 9. CONCLUSIONES

Se analizó la eficiencia de la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, logrando reducir el porcentaje de contaminación inicial del suelo, alrededor de un 30%, en un período de tiempo de 50 días, en la que en cada unidad experimental se le aplicó de forma individual bioproductos que son utilizados en la industria acuícola y agrícola, los cuales actúan en la degradación de materia y carbono orgánico, mejorando la calidad y vida del suelo, por lo que se decidió trabajar con estos bioproductos, los cuales fueron: las bacterias probióticas, el hongo *Trichoderrma sp.* y por último las enzimas bacterianas con metabolitos activos de la empresa Bio Bac, los cuales representan una alternativa efectiva para reducir la concentración de hidrocarburos en suelos contaminados. Los resultados obtenidos evidencian que cada organismo presente en los bioproductos evaluados logran acelerar los procesos naturales de degradación, reflejando disminuciones significativas de TPH.

Los resultados obtenidos evidencian un incremento de la microbiota bacteriana y fúngica, evidenciando que los microorganismos presentes en los tratamientos fueron capaces de adaptarse, proliferar y responder activamente a la presencia de hidrocarburos. Este aumento en las poblaciones microbianas se relacionó directamente con la capacidad degradativa del sistema en suelos contaminados con hidrocarburos, siguiendo el protocolo establecido en la metodología, realizando las siembras de suelo de forma específica y controlada, lo que permitió cuantificar su incremento en cada medio selectivo.

El aumento de la densidad microbiana indicó que se dio una activación metabólica asociada con la disponibilidad del medio que poseía hidrocarburos, lo cual les proporcionó una fuente de carbono fija para su proliferación, lo que confirma la respuesta adaptativa de estos microorganismos de investigación al suelo contaminado por diésel.

Se determinó los valores de reducción de hidrocarburos totales del petróleo (TPH) de cada tratamiento mediante espectrometría con el equipo Spectro Scientific. Del cual se obtuvieron datos que mostraron reducciones claras y diferenciadas entre los tratamientos.

Las variaciones observadas en los valores finales de TPH indican que la eficiencia degradativa depende tanto de la dinámica microbiana como de las condiciones fisicoquímicas fueron estables y adecuadas en cada sistema de tratamiento experimental.

Los valores obtenidos demostraron que un control adecuado de estos parámetros, logran una eficiente biorremediación en periodos cortos de tiempo. Por medio de la estadística aplicada se obtuvo que el mayor porcentaje de reducción del diésel que fue el hidrocarburo presente en el suelo fue del tratamiento del Hongo con un valor 31,12%, el de tratamiento de Mix 27.94%, las Enzimas bacterianas 26.08% y el de bacterias de 22.38%.

Por último, se comparó la eficiencia de los tratamientos de bacterias, hongos, enzimas bacterianas y la combinación de los tres tratamientos, en la reducción de hidrocarburos totales del petróleo (TPH), realizando un análisis comparativo entre los tratamientos, lo que demostró, que la disminución del porcentaje depende de la composición microbiana del producto como de las condiciones físico-químicas del suelo, lo cual afirma que la biorremediación es un proceso dinámico que requiere condiciones ambientales mínimas

Para maximizar la actividad microbiana. Por medio de la correlación y los análisis de varianza, no dieron diferencias significativas respecto a la acción de los parámetros físicos-químicos en la reducción del TPH. Se obtuvo resultados positivos de cada tratamiento respecto a su función en esta experimentación, los tres tratamientos demostraron que fueron eficientes en la biorremediación *ex situ*, respecto al tipo de suelo, a los parámetros ambientales, al tipo de hidrocarburo y al tiempo de duración del estudio. En combinación de los tres tratamientos se obtuvo un acoplamiento de los microorganismos logrando la reducción del 26.88% del porcentaje de TPH del suelo contaminado por diésel.

Finalmente, la investigación confirma que la biorremediación apoyada en bioproductos comerciales pueden integrarse de manera complementaria dentro de los planes de manejo ambiental, logrando de manera sostenible la recuperación de ecosistemas degradados de forma más eco-amigable con el medio ambiente.

## 10. RECOMENDACIONES

- Identificar inicialmente los microorganismos autóctonos presentes en el suelo contaminado, para conocer qué tipo de especies pueden tener un potencial biodegradador según investigaciones ya realizadas.
- Aplicar mayores dosificaciones de los bioproductos para verificar si existe un mayor incremento de población bacteriana y fúngica, y obtener valores mayores de biodegradación de TPHs.
- Se podría realizar una investigación experimental en medios acuosos, con bioproductos ya establecidos que degraden materia y carbono orgánico en este tipo de medio.
- Seguir paso a paso cada protocolo de siembra y análisis de suelo y de microorganismos, respetando cada medida y volumen proporcionados según los estándares de análisis para obtener resultados favorables y asertivos.

- Se sugiere realizar aplicaciones de manera periódica, utilizando dosis reguladas y considerando las condiciones climáticas, así como las particularidades de cada tipo de suelo.
- Se recomienda establecer un proceso de estandarización para los bioproductos utilizados en la biorremediación, considerando parámetros como la concentración inicial, la viabilidad microbiológica y las condiciones de almacenamiento. Esto permitirá garantizar la reproducibilidad de los resultados y una aplicación más eficiente en futuros ensayos.
- Asimismo, es importante impulsar la formación, el conocimiento y el aprovechamiento local de los Microorganismos Eficaces (EMA). Dado que las cepas nativas han demostrado resultados positivos en la mejora de la calidad de suelo, se recomienda fortalecer la participación de agricultores, técnicos y especialistas en el manejo responsable de esta tecnología biológica, ya que su empleo es amigable con el medio ambiente y su implementación a nivel nacional puede contribuir a la recuperación de los suelos contaminados en zonas que lo requieran

## 11. BIBLIOGRAFÍA

Abad Vásquez, Guido Humberto. (2008). Tratamiento de fondos de tanques de petróleo usando el método de biorremediación. (Trabajo de Titulación de Ingeniero en Gestión Ambiental) . UTPL, Loja.

Arévalo, A., et al. (2017). Contaminación por extracción de petróleo crudo: refinamiento y sus efectos en la salud humana. *Journal of Environmental Pollution*(231), 415-425

Arrieta Ramírez, O., Rivera Rivera, A., Arias Marin, L., Rojano, B., Ruiz, O. & Cardona Gallo, S. (2012). Biorremediación de un suelo con diésel Mediante el uso de microorganismos autóctonos. *Gestión y Ambiente*, 15 (1), 27-39.

Asamblea Constituyente. (2008). Constitución de la República del Ecuador. Registro Oficial No. 449.

Asamblea Nacional. (2017). Código Orgánico del Ambiente. Registro Oficial Suplemento No. 983.

Atkins, P., & Jones, L. (2016). *Química: Moléculas, materia y cambio* (7ª ed.). Editorial Panamericana.

ATLAS, R.M.; HAZEN, T.C. Oil biodegradation and bioremediation: a tale of the two worst spills in U.S. history. *Environmental Science & Technology*, v.16, n.45, p.6709-6715. 2011.

ATSDR. (2015). Resúmenes de Salud Pública - Hidrocarburos totales de petróleo [Total Petroleum Hydrocarbons (TPH)]. Obtenido de [https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs123.html](https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs123.html)

ATSDR. (2016). ToxFAQs™ - Hidrocarburos totales de petróleo (Total Petroleum Hydrocarbons). Obtenido de [https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts123.html#:~:text=Los%20%C3%A9rminos%20hidrocarburos%20totales%20de,qu%C3%ADmicos%20originados%20de%20petr%C3%93leo%20crudo.&text=Los%20TPH%20son%20una%20mezcla,hidr%C3%B3geno%20y%20carbono%2C%20llamados%20hd](https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts123.html#:~:text=Los%20%C3%A9rminos%20hidrocarburos%20totales%20de,qu%C3%ADmicos%20originados%20de%20petr%C3%93leo%20crudo.&text=Los%20TPH%20son%20una%20mezcla,hidr%C3%B3geno%20y%20carbono%2C%20llamados%20hd)

Ayamamani, J. (2018). Determinación de bacterias heterótrofas en suelos contaminados con hidrocarburos y su capacidad de tolerar concentraciones crecientes de petróleo in vitro (Tesis de pregrado). Universidad Nacional del Antiplano, Perú.

Ayamamani, J. (2018). Determinación de bacterias heterótrofas en suelos contaminados con hidrocarburos y su capacidad de tolerar concentraciones crecientes de petróleo in vitro (Tesis de pregrado). Universidad Nacional del Antiplano, Perú.

Ayaz, et al. (2024). An efficient protocol for quantifying catalase activity in biological systems using the CUPRAC-CAT method. *Biological New Records and Communications*.

Ayaz, et al. (2024). An efficient protocol for quantifying catalase activity in biological systems using the CUPRAC-CAT method. *Biological New Records and Communications*.

Azubuike, C. C., Chikere, C. B., & Okpokwasili, G. C. (2016). Bioremediation techniques– classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(11), 180. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2137-x>

Balaji, V., Arulazhagan, P., & Ebenezer, P. (2014). Enzymatic bioremediation of polyaromatic hydrocarbons by fungal consortia enriched from petroleum contaminated soil and oil seeds. *Journal of environmental biology*, 35(3), 521.

Bamforth, Selina & Singleton, Ian. (2005). Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: Current knowledge and future directions. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 80. 723 - 736. 10.1002/jctb.1276.

Bautista, S. (2016). Caracterización metagenómica de sedimentos marinos para la identificación de bacterias con capacidad para degradar hidrocarburos 100 totales del petróleo (HTP) (Tesis de maestría). Centro de Investigación científica de Yucatán, A.C, Yucatán.

Bioremediation In Open Field Crude Oil Contaminated Soil Using *Mucor Racemosus* And *Aspergillus Niger*. *Current Journal Of Applied Science And Technology*, No. March, DOI 10.9734/Cjast/2021/V40i131241.

Brady, N. C., & Weil, R. R. (2017). *The nature and properties of soils* (15th ed.). Pearson.

Campilla, C. (2006). Determinación de hidrocarburos totales de petróleo en choritos *Mytilus chilensis* de la bahía de corral y sitios aledaños (Tesis de pregrado). Universidad Austral de Chile, Chile.

Cañar, S. (2025). EVALUACIÓN *ex situ* DE LA EFICACIA DE *Trichoderma spp.* PARA BIORREMEDIACION DE SUELOS CONTAMINADOS CON HONGOS FITOPATÓGENOS. LA LIBERTAD–ECUADOR. Obtenido de:  
<https://repositorio.upse.edu.ec/server/api/core/bitstreams/941f3d37-ef9c-440b-9d31-edb200679bec/content>

Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2022). *Microbiology: A Laboratory Manual* (13th

ed.). Pearson Education.

Castro, Á., & Rivillas, C. (Mayo de 2012). *Trichoderma spp.* Modos de acción, eficacia y usos en el cultivo de café, 5-7. Chinchina-Caldas, Colombia: Cenicafé.

Cavazos-Arroyo, Judith, Pérez-Armendáriz, Beatriz, & Mauricio-Gutiérrez, Amparo. (2014). Afectaciones y consecuencias de los derrames de hidrocarburos en suelos agrícolas de Acatzingo, Puebla, México. *Agricultura, sociedad y desarrollo*, 11(4), 539-550. Recuperado en 01 de diciembre de 2025, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-54722014000400006&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-54722014000400006&lng=es&tlng=es).

Chaerun, S.K., Tazaki, K., Asada, R. and Kogure, K. (2004) 'Bioremediation of coastal areas 5 years after the Nakhodka oil spill in the Sea of Japan: Isolation and characterization of hydrocarbon-degrading bacteria', *Environment International*, 30(7), 911-922 [http:// dx.doi.org/10.1016/j.envint.2004.02.007](http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2004.02.007).

Chaillan, F., Le Flèche, A., Bury, E., Phantavong, Y.H., Grimont, P., Saliot, A. and Oudot, J. (2004) 'Identification and biodegradation potential of tropical aerobic hydrocarbon-degrading microorganisms', *Research in Microbiology*, 155(7), 587-595 <http://dx.doi.org/10.1016/j.resmic.2004.04.006>.

Chen, Shuai & Mckinney, Garrett & Nichols, Krista & Colbourne, John & Sepulveda, Maria. (2015). Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavy metals by composting: Applications, microbes and future research needs. *Biotechnology Advances*. Volume 33, Issue 6, Part 1, 1 November 2015, Pages 745-755. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.05.003>

Chen, W., Li, J., Sun, X., Min, J. and Hu, X. (2017) 'High efficiency degradation of alkanes and crude oil by a salt-tolerant bacterium *Dietzia* species CN-3', *International Biodeterioration and Biodegradation*, 118,

110- <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.01.029>.

Congreso Nacional. (2004). Ley de Gestión Ambiental. Registro Oficial No. 245.

Corral-Lugo, A. M.-G.-V.-C. (2012). Cuantificación de bacterias cultivables mediante el método de "Goteo en Placa por Sellado (o estampado) Masivo". *Revista Colombiana de Biotecnología*, 2.

Cota, R., Juarez, K. (2019). BIORREMEDIACIÓN: ACTUALIDAD DE CONCEPTOS Y APLICACIONES: *Revista de Ciencias Biológicas y de la Sa*, 2019.

Daccò, C., Nicola, L., Temporiti, MEE, Mannucci, B., Corana, F., Carpani, G. y Tosi, S. (2020). *Trichoderma* : Evaluación de su capacidad de degradación para la biorremediación de mezclas complejas de hidrocarburos. *Applied Sciences* , 10 (9), 3152. <https://doi.org/10.3390/app10093152>

Dai, X., Lv, J., Yan, G., Chen, C., Guo, S. and Fu, P. (2020) 'Bioremediation of intertidal zones polluted by heavy oil spilling using immobilized laccase-bacteria consortium', *Bioresource Technology*, 309, 123305 <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123305>.

Das, N., & Chandran, P. (2011). Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: An overview. *Biotechnology Research International*, 2011, 941810. <https://doi.org/10.4061/2011/941810>

Delgado, C. (2021). Biorremediación de suelos contaminados por diésel mediante el aprovechamiento de los biosólidos compostados por la empresa Ecothani S. A. C., Cusco – 2021. FACULTAD DE INGENIERÍA. UNIVERSIDAD CONTINENTAL. Obtenido

de:[https://repositorio.continental.edu.pe/bitstream/20.500.12394/12238/4/IV\\_FIN\\_107\\_T](https://repositorio.continental.edu.pe/bitstream/20.500.12394/12238/4/IV_FIN_107_T)

[E Delgado\\_Paredes\\_2022.pdf](#)

DO. Novotný , K. Svobodová , P. Erbanová , T. Cajthaml , A. Kasinath , E. Lang , V. Šašek. (2004). Hongos ligninolíticos en biorremediación: producción de enzimas extracelulares y tasa de degradación. *Biol. Bioquímica del suelo* , 36 ( 10 ) ( 2004 ) , págs. 1545 – 1551

Eadic. (2016). Hidrocarburos saturados. Obtenido de <https://www.eadic.com/hidrocarburos-saturados/>

Escobar, Jhon & Vera, Ricardo & Medina, Wilmer. (2020). Evaluación de la actividad de biodegradación de microorganismos en la recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos. *Respuestas*. 25. 79-83. 10.22463/0122820X.1939. Obtenido de: [https://gradacion\\_de\\_microorganismos\\_en\\_la\\_recuperacion\\_de\\_suelos\\_contaminados\\_por\\_hidrocarburos/citation/download](https://gradacion_de_microorganismos_en_la_recuperacion_de_suelos_contaminados_por_hidrocarburos/citation/download)

Fábrega, J. (2019). IDENTIFICACIÓN Y CAPACIDAD DEGRADORA DE BACTERIAS

AISLADAS DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS DE DESECHOS, PANAMÁ. <https://revistas.up.ac.pa/index.php/revcolciencia/article/view/1019/1897> Universidad de Panamá. Centro Regional Universitario de Veraguas, Universidad de Panamá. Revista Colegiada de Ciencia Obtenido de; Obtenido de:

Feng, L. Ruby Leung, Nana Liu, Jingyu Wang, Robert A. Houze Jr, Jianfeng Li, Joseph C. Hardin, Dandan Chen, Jianping Guo. (2021). A Global High-Resolution Mesoscale Convective System Database Using Satellite-Derived Cloud Tops, Surface Precipitation, and Tracking. <https://doi.org/10.1029/2020JD034202>

Fernández-Luqueño, F., Valenzuela-Encinas, C., Marsch, R., Martínez-Suárez, C.,

- Vázquez- Núñez, E., & Dendooven, L. J. E. S. (2011). Microbial communities to mitigate contamination of PAHs in soil—possibilities and challenges: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 18(1), 12-30.
- Gan, S., Lau, E. V, Ng, H.K., 2009. Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *J. Hazard. Mater.* 172, 532–549.
- García, C., Roldán, A., & Hernández, T. (2017). Microbial communities and bioremediation of contaminated soils. Springer.
- Gavilanez, T. (2014). Determinación de la biodiversidad bacteriana presente en suelos contaminados con hidrocarburos para uso potencial en biorremediación (Tesis de pregrado). Ambato.
- Gentry TJ, Rensing C, Pepper LI. (2004). New Approaches for Bioaugmentation as a Remediation Technology. *Crit Rev Env Sci Technol.* 2004;34:447–494.
- González, R., et al. (2020). Las tinciones básicas en el Laboratorio de Microbiología: Un enfoque gráfico. Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. México.
- Goretti, M. (2023) Manual de procedimientos técnicos para el análisis microbiológico de suelos. Campoalegre, Huila: Servicio de Aprendizaje (SENA). Centro de Formación Agroindustrial La Angostura.
- Guzmán, V., Ceruti, R., Marino, F., & Simonetta, A. (2017). Ensayos de biodegradación de mezclas comerciales de diésel y biodiésel empleando bacterias degradadoras aisladas de suelos contaminados con hidrocarburos de la región Santa Fe (Tesis de pregrado). Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC), Argentina.
- Haapea, P., Tuhkanen, T., 2006. Integrated treatment of PAH contaminated soil by soil

washing, ozonation and biological treatment. *J. Hazard. Mater.* 136, 244–250.

Haritash, A.K., Kaushik, C.P., 2009. Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. *J. Hazard. Mater.* 169, 1–15

Hidalgo, M., et al. (2020). Biodiversidad bacteriana presente en suelos contaminados con hidrocarburos para realizar biorremediación en Ecuador. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(5), 7059-7090. [https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v7i5.8291](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i5.8291)

Hillel, D. (2008). *Soil in the environment: Crucible of terrestrial life*. Academic Press.

IFRC. (2025). Cómo el vertido de petróleo en Ecuador está afectando la salud, el agua y los medios de subsistencia. Obtenido de: <https://www.ifrc.org/document/ifrc-global-plan-2025>

Ikiam. (2024). Proyectos de AECID Biodiversidad microbiana y biorremediación <https://www.ikiam.edu.ec/index.php/coordinacioninvestigacioninnovacion/proyectos-de-investigacion/proyectos-de-aecid/>

Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN). (2013). NTE INEN 2 284: 2013. Calidad de suelo.

Izquierdo, A. (2014). Biodegradación de HAPs durante la biorremediación aeróbica de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo. Análisis de poblaciones bacterianas y genes funcionales (Tesis de doctorado). Universitat de Barcelona, España.

*J. Environ. Sci. Health., Part A* , 51 ( 1 ) ( 2016 ) , pp. 70 - 77

JH Zhang , QH Xue , H. Gao , X. Ma , P. Wang. (2016). Degradación de petróleo crudo mediante preparaciones enzimáticas fúngicas de *Aspergillus* spp. para su posible uso en la recuperación mejorada de petróleo. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* , 91 ( 4 ) ( 2016 ) , pp. 865- 875

JM Messias , BZ da Costa , VM de Lima , RF Dekker , MI Rezende , N. Krieger , AM Barbosa, (2009). Detección de lipasas en especies de *Botryosphaeria*: Producción de lipasa por *Botryosphaeria ribis* EC-01 cultivada en aceite de soja y otras fuentes de carbono. *Tecnología Microbiana Enzimática* , 45 ( 6 ) ( 2009 ) , pp. 426 – 43

Juhasz, A., & Naidu, R. (2000). Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo(a)pyrene. *International Biodeterioration y Biodegradación*, 45(1-2), 57- 58.

Kalia, A. (2022). Recent advancements in hydrocarbon bioremediation and technologies used in petroleum degradation: a review. *Frontiers in Microbiology*, 2022.

Khanna, S., & Gharpure, A. S. (2017). Petroleum Carcinogenicity and Aerodigestive Tract: In Context of Developing Nations. *Cureus*, 9(4), e1202. <https://doi.org/10.7759/cureus.1202>

Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, Procop GW, et al. *Diagnóstico microbiológico: Texto y atlas color*. 5ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2003.

Kulik, N., Goi, A., Trapido, M., Tuhkanen, T., 2006. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by combined chemical pre-oxidation and bioremediation in creosote contaminated soil. *J. Environ. Manage.* 78,382–391.

Kumar, A., Bisht, B. S., Joshi, V. D., & Dhewa, T. (2011). Review on bioremediation of polluted environment: A management tool. *International Journal of Environmental Sciences*, 1(6), 1079– 1093.

L Jaime-Cornejo, L. K.; Neyra-Encinas, D. H. y Sernaque-Auccahuasi, F. A Eficiencia de *Bacillus* sp. y *Aspergillus* sp. en la Degradación de Hidrocarburos *Revista EIA*, 22(43), Reia4334 pp. 1-23 <https://doi.org/10.24050/reia.v22i43.1759>

Lifeder. (17 de marzo de 2022). *Preparación de medios de cultivo*. Recuperado de: <https://www.lifeder.com/preparacion-medios-cultivo/>.

Linstromberg, W. (1977). *Curso breve de química orgánica*. España: Reverté

Liu, W., Luo, Y., Teng, Y., Li, Z., Ma, L.Q., 2010. Bioremediation of oily sludge-contaminated soil by stimulating indigenous microbes. *Environ. Geochem. Health* 32, 23–29.

López, E., Martínez, A., & Rodríguez, J. (2019). Caracterización de combustibles fósiles y su impacto ambiental. *Revista Ciencia e Ingeniería*, 40(2), 55–62.

Luna, J., Fitz, P., Leal, E., Quiroz, M., Guevara, S., Godinez, M., . . . Ramírez, Y. (2018). Biotransformación de benzo(a)pireno por la bacteria termófila *Bacillus licheniformis* M2-7. *Mundo J Microbiol Biotechnol*, 34(7), 34-88.

Ma, Y.-L., Lu, W., Wan, L.-L., & Luo, N. (2015). Elucidación de las características de degradación del fluoranteno en un *Achromobacter xylosoxidans* DNoo2 recién aislado. *Appl Biochem Biotechnol*(3), 1294-1305.

Margesin, R., & Schinner, F. (2001). Biodegradation and bioremediation of hydrocarbons in extreme environments. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56(5–6), 650–663. <https://doi.org/10.1007/s002530100701>

Marín, T. (2024). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos en Latinoamérica: revisión entre 2010-2023. Universidad de Oriente Venezuela, Unidad de postgrado Núcleo de Monagas. Campus Juanico, Maturín, Monagas, Venezuela. Obtenido de: <https://ojs2.fch.unicen.edu.ar/ojs-3.1.0/index.php/estudios-ambientales/article/view/2278>

Mekonnen, B. A. (2024). Bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil — principles, degradation mechanisms and recent advancements. *Frontiers in Environmental Science*, 2024

Ministerio Coordinador de Conocimiento y Talento Humano. (2012). Reglamento de Bioseguridad para la Investigación y Manejo de OVMs (Acuerdo Interministerial No.

034).

Ministerio del Ambiente (MAE). (2008). Acuerdo Ministerial No. 026.

Ministerio del Ambiente (MAE). (2015). Acuerdo Ministerial No. 097-A: Límites Máximos Permisibles.

Mirjani, M, et al. (2021). Toxicity assessment of total petroleum hydrocarbons in aquatic environments using the bioluminescent bacterium *Aliivibrio fischeri*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Volume 207, 111554, ISSN 0147-6513, <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111554>.

Mishra, S., Singh, S. N., & Jain, R. K. (2021). Biodegradation of diesel oil by an *Enterobacter* sp. *Process Biochemistry*, 56, 64–71. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.03.002>

Mongabay. (2025). Ecuador sufre uno de los peores derrames de petróleo de su historia. Artículo de revista. Obtenido de: <https://es.mongabay.com/2025/03/ecuador-derrame-petroleo-esmeraldas-contaminacion/>

Muñoz, S. (2016). EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE *Trichoderma* sp Y *Pseudomona* sp PARA BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS. INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE-QUITO-ECUADOR. Obtenido de: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/13228/1/UPSEQT10474.pdf>

Naciones Unidas. (1989–2001). Convenios de Basilea, Estocolmo y Diversidad Biológica. Presidencia de la República del Ecuador. (2019). Reglamento al Código Orgánico del Ambiente (Decreto Ejecutivo No. 752).

Nápoles J, Marañón A, Cumbá F, Anllo Y, Abalos A. (2005). Tratabilidad de suelos contaminados con petróleo aplicando microcosmos. *Rev. Cubana de Química*. 2005;XVII(1):179-88.

Novotny L., Halouzka R., Matlova L., Vavra O., Dvorska L., Bartos M., Pavlik I. (2004): Morphology and distribution of granulomatous inflammation in freshwater ornamental fish infected with mycobacteria. *J. Fish Dis.*, in press.

Novotny, Ladislav & Dvorska, L. & Lorencova, Alena & Beran, Vladimír & Pavlik, Ivo. (2004). Fish: A potential source of bacterial pathogens for human beings. *Veterinari Medicina*. 49. 343-358. 10.17221/5715-VETMED.

P.Jové , M.À. Olivella , S. Camarero , J. Caixach , C. Planas , L. Cano , FX De Las Heras. (2016). Biodegradación fúngica del corcho contaminado con antraceno: un estudio comparativo.

Palacios, C., & Llerena, S. (2024, julio 24). *Evaluación in vitro de la micorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos*. Universidad Regional Amazónica Ikiam, Grupo de Investigación Ecosistemas Tropicales y Cambio, Tena 150102, Ecuador.

Patel, A. B.; Shaikh, S.; Jain, K. R.; Desai, C.; & Madamwar, D. (2020). Polycyclic

Aromatic Hydrocarbons: Sources, Toxicity, and Remediation Approaches. *Front*

*Microbiol*, 11, 1-23. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.562813>

Peixoto, R. S., Vermelho, A. B., & Rosado, A. S. (2011). Petroleum-degrading enzymes:

bioremediation and new prospects. *Enzyme research*, 2011, 475193.

<https://doi.org/10.4061/2011/475193>

Pozo, M. (2018). Evaluación de la biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos utilizando *Pseudomonas fluorescens* (Tesis de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito, Quito.

QUISPE HUANCAJ. (2020). Determinación de los tiempos de la biodegradación del hidrocarburo (Diesel B5) a diferentes concentraciones en bioreactores de polietileno con un inóculo de bacterias nativas de suelo contaminado con hidrocarburos. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Universidad Nacional De San Agustín De Arequipa, Facultad de ingeniería de procesos, Escuela Profesional De Ingeniería Ambiental.(Arequipa-Perú). pp 1

S. Zhang , Y. Ning , X. Zhang , Y. Zhao , X. Yang , K. Wu , S. Yang , G. La , X. Sun , X. Li. (2015). Características contrastantes de la degradación de antraceno y pireno por el hongo de pudrición de madera *Pycnoporus sanguineus* H1. *Biodeterioro y biodegradación internacionales* , 105 ( 2015 ), págs . 228-232.

Sakthipriya & Doble, Mukesh & Sangwai, Jitendra. (2015). Bioremediation of Coastal and Marine Pollution due to Crude Oil using a Microorganism *Bacillus Subtilis*. *Procedia Engineering*. 116. 213-220. 10.1016/j.proeng.2015.08.284.

Sangeetha Devi & Rajendiran, Ramya & Kannan, Kanthaiyah & Arokiaswamy, Robert Antony & Rajesh Kannan, Velu. (2019). Investigation of biodegradation potentials of high density polyethylene degrading marine bacteria isolated from the coastal regions of Tamil Nadu, India. *Marine Pollution Bulletin*. 138. 549-560.

[10.1016/j.marpolbul.2018.12.001](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.12.001).

Singer, M. J., & Munns, D. N. (2006). *Soils: An introduction* (6th ed.). Pearson.

Singh, D. K. (2008). *Biodegradation and bioremediation of pesticide in soil: concept,*

method and recent developments. *Indian journal of microbiology*, 48(1), 35-40.

Singh, Reetika & Kumari, Nishi & Nath, Gopal. (2016). Free radicals scavenging activity and antimicrobial potential of leaf and fruit extracts of *Sapindus mukorossi* Gaertn. against clinical pathogen. *International Journal of Phytomedicine*, 8: 22-28 ISSN: 0975- 0185.

*International Journal of Phytomedicine*. 8. 22-28.

Smith, L. (2006). *Química Orgánica*. Costa Rica: Universidad Estatal a Distancia (EUNED). Song, X, et al. (2021). Sorción y desorción de hidrocarburos de petróleo en microplásticos biodegradables y no degradables. *Chemosphere*. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128553>

Speight, J.G. (2014) *The Chemistry and Technology of Petroleum*. 5th Edition, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL.

Suarez, R. (2013). *Guía de métodos de biorremediación para la recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos* (Tesis especialización). Universidad Libre de Bogotá, Colombia. [https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/10607/TRABAJO\\_FINAL cd.pdf?sequence=1](https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/10607/TRABAJO_FINAL_cd.pdf?sequence=1)

Tejón, J., & García, A. (2018). *Química: teoría y problemas*. Madrid: Tébar Flores, S.L.

Terán, M. (2025). IDENTIFICACIÓN DE GENES DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA PRESENTES EN ESPECIES BACTERIANAS OBTENIDAS A PARTIR DE COMIDA CALLEJERA PROCEDENTE DE LOS PARQUES INGLÉS Y LA CAROLINA DEL NORTE DE QUITO, ECUADOR, MEDIANTE

ANÁLISIS

MICROBIOLÓGICOS Y MOLECULARES. UISEK. Quito, Ecuador. Disponible en: <https://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/5518/1/Ben%C3%ADtez%20Ter%C3%A1n%20Macarena.pdf?>

Tomei, M.C., Daugulis, A.J., 2013. Ex Situ Bioremediation of Contaminated Soils: An Overview of Conventional and Innovative Technologies. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 43, 2107–2139

Tomei, Maria & Daugulis, Andrew. (2013). Ex Situ Bioremediation of Contaminated Soils: An Overview of Conventional and Innovative Technologies. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology.* 43. 10.1080/10643389.2012.672056.

Tourova, T.P., Sokolova, D.S., Semenova, E.M., Poltaraus, A.B. and Nazina, T.N. (2018) ‘Diversity of the *alkB* genes of n-alkane biodegradation in thermophilic hydrocarbon-oxidizing bacteria of the genera *Geobacillus*, *Parageobacillus*, and *Aeribacillus*’, *Microbiology (Russian Federation)*, 87(3), 301-307  
<http://dx.doi.org/10.1134/S002626171803013X>.

Tourova, T.P., Sokolova, D.S., Semenova, E.M., Shumkova, E.S., Korshunova, A.V., Babich, T.L., Poltaraus, A.B. and Nazina, T.N. (2016) ‘Detection of n-alkane biodegradation genes *alkB* and *ladA* in thermophilic hydrocarbon-oxidizing bacteria of the genera *Aeribacillus* and *Geobacillus*’, *Microbiology (Russian Federati*

Uddin, et al. (2021). Contaminación por hidrocarburos de petróleo en sedimentos del Golfo Pérsico y aguas omaníes: estado actual y revisión. *Boletín de Contaminación Marina*. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112913>

ULE, O., OGBONNA, D.N., OKPARANMA, R.N. Y NRRIOR, R.R., 2021. Myco-Enhanced

USEPA. (2020). Introduction to in situ and ex situ bioremediation of contaminated soils.

United States Environmental Protection Agency.

V. Balaji , P. Arulazhagan , P. Ebenezer. (2014). Biorremediación enzimática de hidrocarburos aromáticos policíclicos mediante consorcios fúngicos enriquecidos a partir de suelos y semillas oleaginosas contaminados con petróleo. *Medio Ambiente. Biol.* , 35 ( 3 ) (2014 ) , p. 521

Varjani, S. J. (2017). Microbial degradation of petroleum hydrocarbons. *Bioresource Technology*, 223, 277–286. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.037>

Vásquez, María Cristina, Guerrero Figueroa, Jennifer Thibisay, & Quintero, Andrea del Pilar. (2010). Biorremediación de lodos contaminados con aceites lubricantes usados. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 12(1), 141-157. Retrieved December 01, 2025, from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-34752010000100014&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752010000100014&lng=en&tlng=es).

Vidali, M. (2001). Bioremediation. An overview. *Pure and Applied Chemistry*, 73(7), 1163– 1172. <https://doi.org/10.1351/pac200173071163>

Vinas, M.; Grifoll, M.; Sabate, J. y Solanas, A.M. (2002). Biodegradation of a crude oil by three microbial consortia of different origins and metabolic capabilities. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 28: 252-260.

Vizquete-García, Ricardo Abel, Pascual-Barrera, Alina Eugenia, Taco-Taco, Carlos Wilfrido, & Morales-Padilla, María Monserrath. (2020). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos a base de bacterias utilizadas como bioproductos.

*Revista Lasallista de Investigación*, 17(1), 177-187. Epub January 31, 2021. <https://doi.org/10.22507/rli.v17n1a19>

Wang, S., et al. (2017). The harm of petroleum polluted soil and its remediation research.

AIP Conference Proceedings, 1864(1). doi: 10.1063/1.4993039

Willey, J.M., Sherwood, I.M. and Woolverton, C.J. (2009) Prescott's Principles of Microbiology: Food Borne Diseases. International Edition, McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 816.

Yañez-Ocampo, G.; Wong-Villarreal, A. 2013. Biosurfactantes Microbianos, Producción Potencial con Residuos Agroindustriales de Chiapas. Bio Tecnología 17(3): 12-28.

Zarate, A. (2014). Evaluación del impacto de la contaminación con diésel en las propiedades mecánicas de un suelo arcilloso. México: s.n., 2014.

Zubieta, F. M. A., Sánchez, B. M., & Pinedo, M. N. 2022. Crecimiento in vitro de hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*) en diferentes medios de cultivo: Félix Miguel Angulo Zubieta, Beatriz, Mamani Sánchez, Máximo Nova Pinedo. Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales, 9(1), 14-22.

<https://riiarn.umsa.bo/index.php/RIIARn/article/view/216>

## 12. ANEXOS: FASE DE CAMPO



Anexo 2. Muestra de suelo de la empresa Petro Ecuador



Anexo 1. Trabajo de campo :extracción de muestras de suelo.



Anexo 4. Toma de muestras de suelo.



Anexo 3. Colocación de la muestra de suelo en recipientes.



Anexo 5. Recolecta de muestras de suelo.



Anexo 6. Registro de parámetros Ambientales.



Anexo 7. Preparación de la muestra para transportarla.



Anexo 8. Transporte de la muestra.



Anexo 10. Registro continuo de variables ambientales.



Anexo 9. Rótulo de las muestras.



Anexo 12. Registro de planillas de datos.



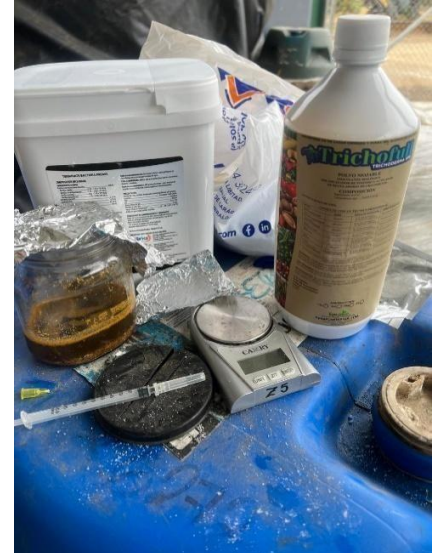
Anexo 11. Control de parámetros.



Anexo 13. Toma de muestras.



Anexo 15. Refrigeración de las muestras.



Anexo 14. Instrumentos y materiales empleados



Anexo 18. Registro de datos.



Anexo 17. Registro de planilla biológica.



Anexo 16. Uso de materiales e insumos.

### 13. ANEXOS: FASE LABORATORIO



Anexo 19. Laboratorio de Suelos de UPSE.



Anexo 20. Muestras de suelo en la estufa.



Anexo 22. Pesado de las muestras.



Anexo 21. Muestras de suelo por gramaje en estufa.



Anexo 24. Preparación de las muestras de suelo en laboratorio.



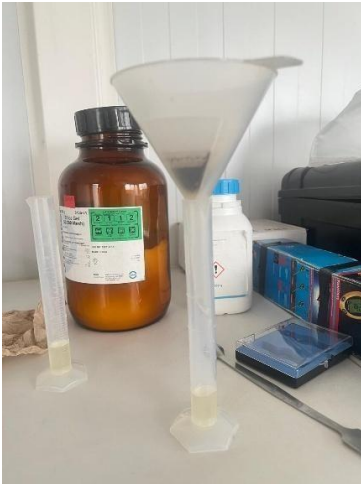
Anexo 23. Procesamiento de las muestras de suelo.



Anexo 26. Preparación de soluciones.



Anexo 25. Gramaje de Agar.



Anexo 28. Preparación de soluciones.



Anexo 27. Materiales y utensilios de trabajo.



Anexo 30. Muestras de caja Petri para preparación de medio de cultivo.



Anexo 29. Medio de cultivo.



Anexo 32. Extracción de submuestras de suelo y rotulado.



Anexo 31. Ambiente de laboratorio.



Anexo 34. Conteo de colonias.



Anexo 33. Centrifugado de las muestras.



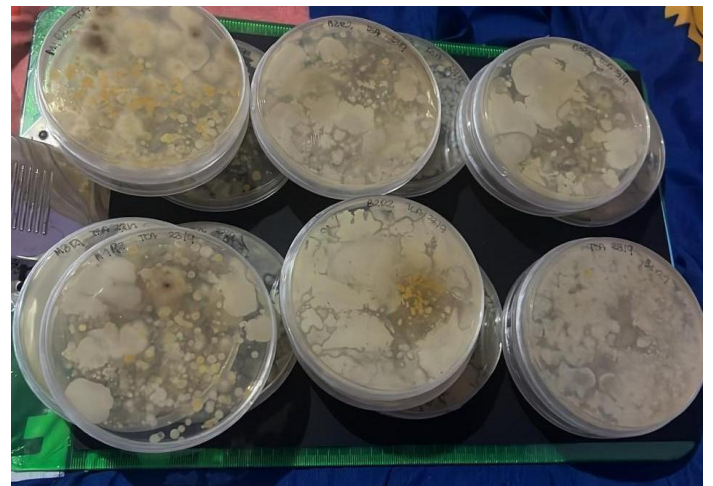
Anexo 35. Centrifugado de las muestras.



Anexo 36. Preparación del medio de cultivo.



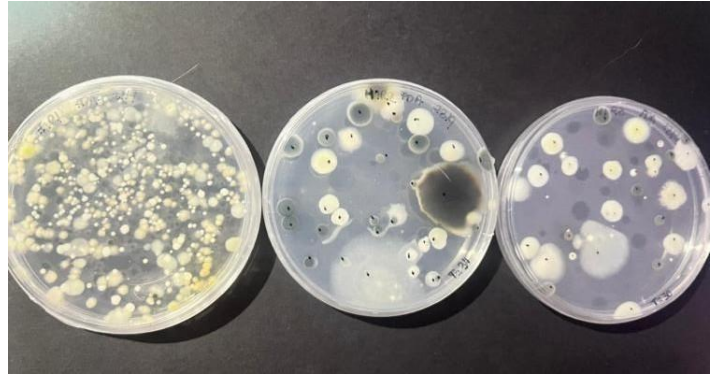
Anexo 38. Observación al microscopio.



Anexo 37. Crecimiento de Trichoderma en medio de cultivo.



Anexo 40. Formación de colonias.



Anexo 39. Crecimiento idóneo de hongo del género Trichoderma.



Anexo 41. Preservación de las muestras.

## 14. ANEXOS: ESTADISTICOS

Anexo 1. Tabla de valores obtenidos de la serie gruesa del tamizado.

<b>SERIE GRUESA</b>				
<b>Tamiz ASTM Abertura /N°</b>		<b>Masa Retenida</b>		<b>%Pasante Acumulado</b>
		<b>Parcial</b>	<b>Acumulada</b>	
600,mm	24 "			
300,mm	12 "			
150,mm	3 ½ "			
75,mm	3 "			
63,mm	2 ½ "			
60,mm	2 "			
38,1mm	1 ½ "			
25,mm	1 "			
19,mm	3/4 "			
12,5mm	1/2 "			
9,5mm	3/8 "			
4,75mm	No. 4	12	12	94,03
Pasa No.4		189,00	201,00	

Anexo 2. Valores obtenidos de cada tamizaje.

<b>N° de recipiente</b>	<b>M</b>
<b>Peso húmedo + recipiente</b>	500,3
<b>Peso seco + recipiente</b>	479,9
<b>Humedad</b>	5,74
<b>Recipiente</b>	124,36
<b>Retenido Tamiz N°4</b>	12
<b>Retenido Tamiz N°10</b>	19,80
<b>Retenido Tamiz N°40</b>	51,8
<b>Retenido Tamiz N°200</b>	117,4
<b>Fondo</b>	0

## Peso seco después lavado

201

Anexo 3. Tabla de valores obtenidos de la abertura del tamiz.

ABERTURA DE TAMIZ	PASANTE
4,75	94,03
2	88,79
0,425	75,09
0,075	44,04

Anexo 4. Tabla de la clasificación de AASHTO.

DIVISIÓN GENERAL	Materiales Granulares (pasa menos del 35% por el tamiz ASTM #200)							Materiales Limo-arcillosos (más del 35% por el tamiz ASTM #200)					T.48
	A-1		A-3	A-2				A-4	A-5	A-6	A-7		
GRUPO	A-1-a	A-1-b		A-2-4	A-2-5	A-2-6	A-2-7				A-7-5	A-7-6	
Subgrupo	A-1-a	A-1-b	A-2-4	A-2-5	A-2-6	A-2-7	A-7-5	A-7-6					
<b>ANÁLISIS GRANULOMÉTRICO</b> (% que pasa por cada tamiz)													Clasificación de suelos AASHTO
Serie ASTM	#10	≤ 50											
	#40	≤ 30	≤ 50	≥ 51									
	#200	≤ 15	≤ 25	≤ 10	≤ 35	≤ 35	≤ 35	≤ 35	≥ 36	≥ 36	≥ 36	≥ 36	
<b>ESTADO DE CONSISTENCIA</b> (de la fracción de suelo que pasa por el tamiz ASTM #40)													
Limite líquido			NP	≤ 40	≥ 41	≤ 40	≥ 41	≤ 40	≥ 41	≤ 40	>41 (IP<LL-30)	>41 (IP>LL-30)	
Índice de plasticidad	≤ 6			≤ 10	≤ 10	≥ 11	≥ 11	≤ 10	≤ 10	≥ 11	≥ 11	≥ 11	
<b>ÍNDICE DE GRUPO</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>≤ 4</b>		<b>≤ 8</b>	<b>≤ 12</b>	<b>≤ 20</b>	<b>≤ 20</b>				
<b>TIPOLOGÍA</b>	Fragmentos de piedra, grava y arena	Arena fina	Gravas y arenas limosas o arcillosas				Suelos limosos		Suelos arcillosos				
<b>CALIDAD</b>	EXCELENTE A BUENA					ACEPTABLE A MALA							

Anexo 5. Tabla de la parámetros iniciales del suelo.

**Parámetros iniciales del suelo**

<b>FECHA:</b>	<b>1/9/2025</b>		
<b>Parametros</b>	<b>Suelo</b>	<b>Unidades</b>	<b>de</b>
	<b>contaminado</b>	<b>medición</b>	
<b>Temperatura</b>	29	°C	
<b>pH</b>	8		
<b>Humedad</b>	50	%	
<b>Conductividad</b>	3		
<b>electrica</b>			
<b>TPH</b>	21752	mg/kg	
<b>Materia orgánica</b>	7,85	%	
<b>Carbon Orgánico %</b>	8,68	%	

Anexo 6. Tabla de los valores del segundo análisis de parámetros del suelo.

## Segundo análisis de parámetros del suelo

FECHA: 16/G/2025

LUGAR DE REGISTRO	TEMPERATURA °C	HUMEDAD %	pH	CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA (CE)	TPH	MATERIA mg/kg	Carbon ORGANICA %	Orgánico %
CONTROL 1	23	59	7	3,1		24933	6,65	4,94
CONTROL 2	23	58	7	3,2		21866	6,74	4,93
CONTROL 3	23	57	7	3,1		26187	6,82	5,05
T.	22	77	7	2,1		19283	6,38	4,52
<b>BACTERIAS 1</b>								
T.	22	77	6,8	2		18670	6,29	4,48
<b>BACTERIAS 2</b>								
T.	22	73	6,9	2,2		18112	6,27	4,42
<b>BACTERIAS 3</b>								
T. HONGOS 1	22	78	6,8	2,1		20771	6,59	4,59
T. HONGOS 2	22	76	6,8	2,1		18406	6,51	4,47
T. HONGOS 3	22	74	6,8	2,2		21260	6,48	4,54
T. ENZIMAS 1	22	73	6,9	2,3		21570	6,99	4,84
T. ENZIMAS 2	23	76	6,8	2,3		24133	7,01	4,89
T. ENZIMAS 3	22	74	6,8	2,3		23110	6,98	4,76
T. MIX 1	22	74	6,8	2,2		21430	6,67	4,57
T. MIX 2	22	72	6,8	2,1		22840	6,75	4,61
T. MIX 3	23	77	6,8	2,2		22477	6,73	4,55

Anexo 7. Tabla de los valores del tercer análisis de parámetros del suelo.

<b>Tercer análisis de parámetros del suelo</b>								
<b>FECHA:</b>		31/9/2025						
<b>LUGAR DE REGISTRO</b>	<b>TEMPERATURA °C</b>	<b>HUMEDAD %</b>	<b>pH</b>	<b>CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA (CE)</b>	<b>TPH mg/kg</b>	<b>MATERIA ORGANICA %</b>	<b>Carbon Orgánico %</b>	
<b>CONTROL 1</b>	23	57	7	3,1	20565	5,78	3,89	
<b>CONTROL 2</b>	23	53	7	3,2	20575	5,69	3,74	
<b>CONTROL 3</b>	23	51	6,9	3,1	20565	5,84	3,85	
<b>T.</b>	23	79	7	2,1	17792	5,21	3,56	
<b>BACTERIAS 1</b>								
<b>T.</b>	22	80	7	2	16639	5,28	3,49	
<b>BACTERIAS 2</b>								
<b>T.</b>	22	79	7	2,2	17293	5,23	3,51	
<b>BACTERIAS 3</b>								
<b>T. HONGOS 1</b>	22	78	7	2,1	15948	5,46	3,42	
<b>T. HONGOS 2</b>	22	76	6,9	2,1	15452	5,49	3,53	
<b>T. HONGOS 3</b>	22	77	7	2,2	17196	5,51	3,44	
<b>T. ENZIMAS 1</b>	22	77	6,9	2,3	20301	5,77	3,76	
<b>T. ENZIMAS 2</b>	22	76	6,9	2,3	19077	5,83	3,83	
<b>T. ENZIMAS 3</b>	22	75	6,9	2,3	19219	5,88	3,79	
<b>T. MIX 1</b>	22	72	6,9	2,2	21287	5,26	3,35	
<b>T. MIX 2</b>	22	74	6,8	2,1	22673	5,32	3,39	
<b>T. MIX 3</b>	22	75	6,8	2,2	18793	5,29	3,31	

Anexo 8. Tabla de los valores del cuarto análisis de parámetros del suelo.

<b>Cuarto análisis de parámetros del suelo</b>								
<b>FECHA:</b>		16/10/2025						
<b>LUGAR DE REGISTRO</b>	<b>TEMPERATURA °C</b>	<b>HUMEDAD %</b>	<b>pH</b>	<b>CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA (CE)</b>	<b>TPH mg/kg</b>	<b>MATERIA ORGÁNICA %</b>	<b>Carbon Orgánico %</b>	
<b>CONTROL 1</b>	25	55	6,8	3,1	21643	4.64	2.32	
<b>CONTROL 2</b>	25	41	7,8	3,2	21610	4.72	2.36	
<b>CONTROL 3</b>	25	47	6,4	3,1	26003	4.44	2.22	
<b>T. BACTERIAS 1</b>	24	77	6,9	2,1	11740	4.36	2.18	
<b>T. BACTERIAS 2</b>	24	77	6,8	2	15403	4.20	2.10	
<b>T. BACTERIAS 3</b>	24	73	6,9	2,2	16220	4.32	2.16	
<b>T. HONGOS 1</b>	24	78	6,6	2,1	11743	4.72	2.36	
<b>T. HONGOS 2</b>	24	76	6,8	2,1	18507	4.74	2.37	
<b>T. HONGOS 3</b>	23	74	6,4	2,2	13530	4.40	2.20	
<b>T. ENZIMAS 1</b>	24	73	6,8	2,3	20440	4.74	2.37	
<b>T. ENZIMAS 2</b>	23	76	6,8	2,3	13633	4.76	2.38	
<b>T. ENZIMAS 3</b>	24	74	6,7	2,3	16293	4.70	2.35	
<b>T. MIX 1</b>	24	74	7	2,2	12913	4.76	2.38	
<b>T. MIX 2</b>	24	72	7	2,1	16513	4.70	2.35	
<b>T. MIX 3</b>	24	77	7	2,2	18610	4.72	2.36	

Anexo 9. Tabla de los valores del conteo de UFC de bacterias y hongos.

**BACTERIAS Y HIZ**  
Primer análisis

Unidad experimental	Dilución	Unidad analizada	BFC
Metrolapristal	1E-1	28	3,8 x 1E-1

Segundo análisis

Unidad experimental	Dilución	Unidad analizada	BFC
D1	1E-1	14	1,6 x 1E-1
D2	1E-1	42	1,2 x 1E-1
D3	1E-1	11	1,1 x 1E-1
M1	1E-1	45	1,5 x 1E-1
M2	1E-1	46	1,6 x 1E-1
M3	1E-1	14	1,4 x 1E-1

Tercer análisis

Unidad experimental	Dilución	Unidad analizada	BFC
D1	1E-1	32	3,2 x 1E-1
D2	1E-1	48	4,8 x 1E-1
D3	1E-1	46	4,6 x 1E-1
M1	1E-1	42	4,2 x 1E-1
M2	1E-1	43	4,3 x 1E-1
M3	1E-1	44	4,4 x 1E-1

Cuarto análisis

Unidad experimental	Dilución	Unidad analizada	BFC
D1	1E-1	46	4,6 x 1E-1
D2	1E-1	44	4,4 x 1E-1
D3	1E-1	47	4,7 x 1E-1
M1	1E-1	28	2,8 x 1E-1
M2	1E-1	28	2,8 x 1E-1
M3	1E-1	22	2,2 x 1E-1

**HONGOS COLONIAS DE ESPORAS Y HIZ**

Unidad experimental	Dilución	Unidad analizada	BFC
Metrolapristal	1E-1	22	2,2 x 1E-1

Segundo análisis

Unidad experimental	Dilución	Unidad analizada	BFC
M4	1E-1	4	4,8 x 1E-1
M2	1E-1	4	4,8 x 1E-1
M3	1E-1	7	7,8 x 1E-1
M1	1E-1	28	2,8 x 1E-1
M2	1E-1	25	2,5 x 1E-1
M3	1E-1	24	2,4 x 1E-1

Tercer análisis

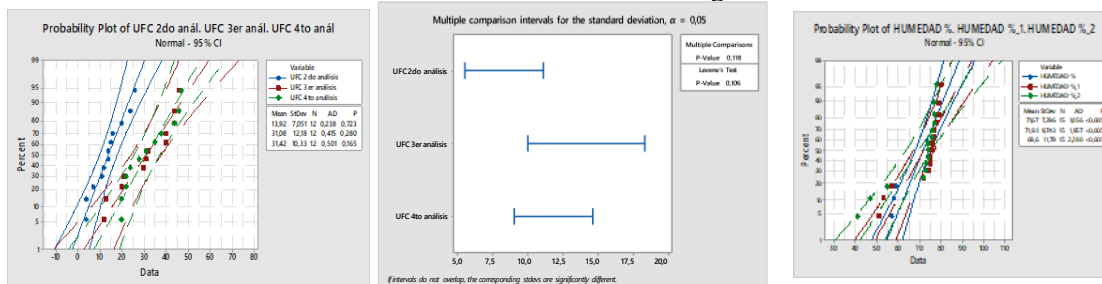
Unidad experimental	Dilución	Unidad analizada	BFC
M4	1E-1	38	3,8 x 1E-1
M2	1E-1	24	2,4 x 1E-1
M3	1E-1	44	4,4 x 1E-1
M1	1E-1	48	4,8 x 1E-1
M2	1E-1	28	2,8 x 1E-1
M3	1E-1	31	3,1 x 1E-1

Cuarto análisis

Unidad experimental	Dilución	Unidad analizada	BFC
M4	1E-1	35	3,5 x 1E-1
M2	1E-1	31	3,1 x 1E-1
M3	1E-1	38	3,8 x 1E-1
M1	1E-1	22	2,2 x 1E-1
M2	1E-1	28	2,8 x 1E-1
M3	1E-1	24	2,4 x 1E-1

Unidad experimental	UFC 2do análisis	UFC 3er análisis	UFC 4to análisis
B1	1,40E+01	3,20E+01	4,60E+01
B2	1,20E+01	4,00E+01	4,40E+01
B3	1,10E+01	4,60E+01	4,70E+01
M1	1,50E+01	1,20E+01	2,00E+01
M2	1,60E+01	1,30E+01	2,80E+01
M3	1,40E+01	4,40E+01	2,20E+01
H1	4,00E+00	3,00E+01	3,50E+01
H2	4,00E+00	2,10E+01	3,10E+01
H3	7,00E+00	4,40E+01	3,80E+01
M1	2,00E+01	4,00E+01	2,20E+01
M2	2,60E+01	2,00E+01	2,00E+01
M3	2,40E+01	3,10E+01	2,40E+01

Anexo 10. Gráficas obtenidas de los datos ingresados en Minitab 19.0.

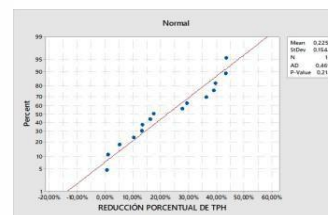


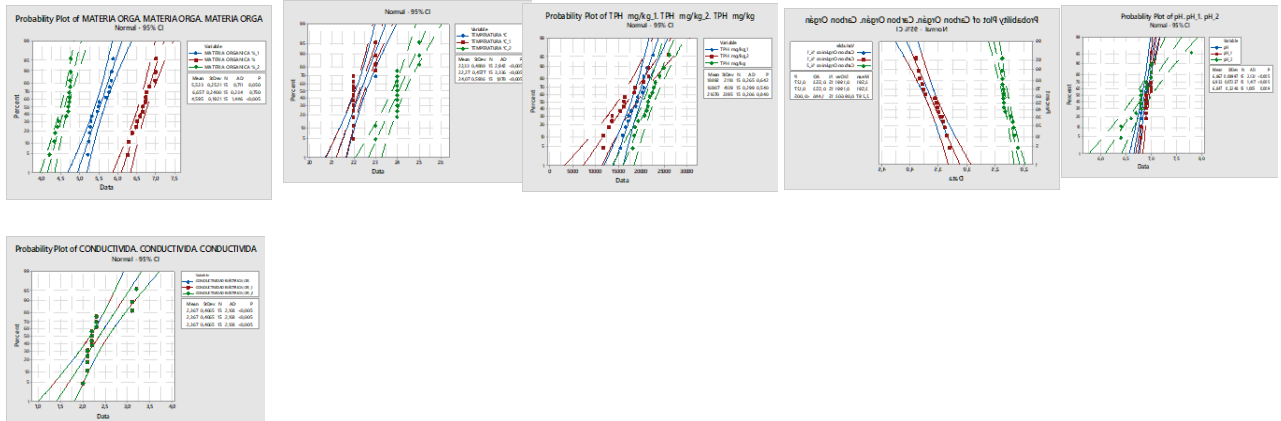
**Tukey Pairwise Comparisons**

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
UFC 4to análisis	12	31,42	A
UFC 3er análisis	12	31,08	A
UFC 2do análisis	12	13,92	B

Means that do not share a letter are significantly different.





### Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

PROMEDIO %	N	Mean	Grouping
31,12%	3	0,3112	A
27,94%	3	0,2794	A
26,08%	3	0,261	A
22,38%	3	0,2238	A
5,02%	3	0,0502	A

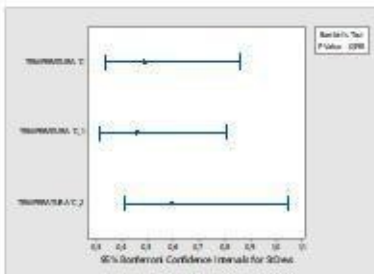
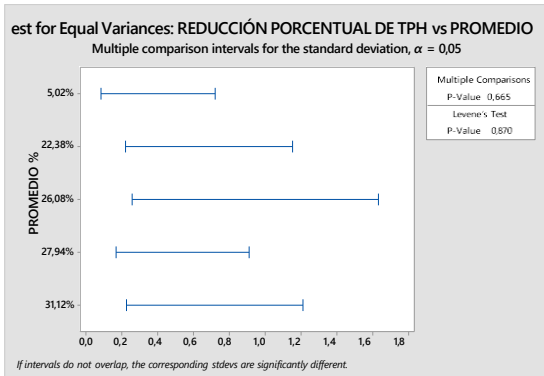
Means that do not share a letter are significantly different.

### Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
REDUCCIÓN PORCENTUAL DE TPH	15	0,2251	A
PROMEDIO %	15	0,2251	A

Means that do not share a letter are significantly different.



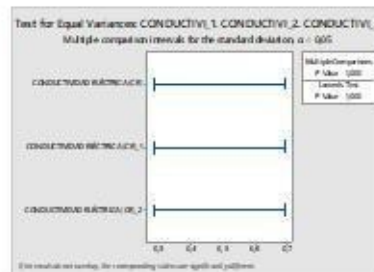
**Tukey Pairwise Comparisons**  
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor: TEMPERATURA °C\_1, TEMPERATURA °C\_2, TEMPERATURA °C\_3

Mean: 0.8500, 0.8500, 0.8500

Grouping: A, A, A

Note that do not share a letter are significantly different.



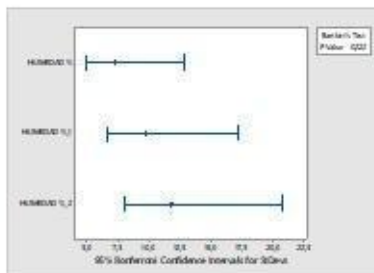
**Tukey Pairwise Comparisons**  
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor: CONDUCTIVIDAD ELECTROICA\_1, CONDUCTIVIDAD ELECTROICA\_2, CONDUCTIVIDAD ELECTROICA\_3

Mean: 0.1500, 0.1500, 0.1500

Grouping: A, A, A

Note that do not share a letter are significantly different.



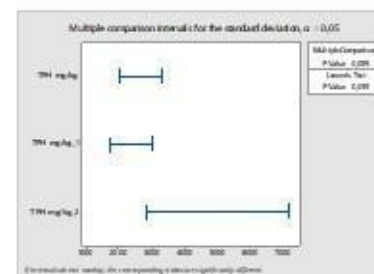
**Tukey Pairwise Comparisons**  
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor: HUMEDAD %\_1, HUMEDAD %\_2, HUMEDAD %\_3

Mean: 11.50, 11.50, 11.50

Grouping: A, A, A

Note that do not share a letter are significantly different.



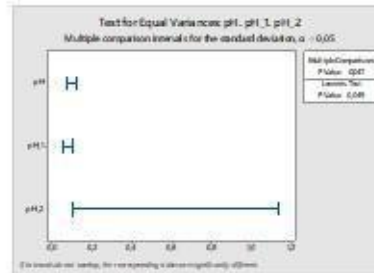
**Tukey Pairwise Comparisons**  
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor: TPH mg/kg\_1, TPH mg/kg\_2

Mean: 25.00, 25.00

Grouping: A, A

Note that do not share a letter are significantly different.



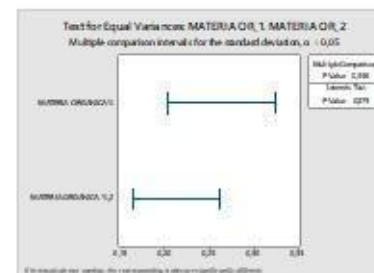
**Tukey Pairwise Comparisons**  
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor: pH\_1, pH\_2

Mean: 4.0000, 4.0000

Grouping: A, A

Note that do not share a letter are significantly different.



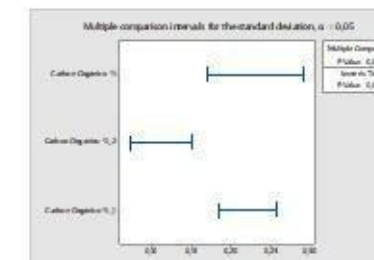
**Tukey Pairwise Comparisons**  
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor: MATERIA ORGÁNICA %\_1, MATERIA ORGÁNICA %\_2

Mean: 0.4000, 0.4000

Grouping: A, A

Note that do not share a letter are significantly different.



**Wald-Wolfowitz Test on Carbon Orgánico %**

Carbono Orgánico	n	Mean	Stdev	Min	Max
Carbono Orgánico_1	10	0.4000	0.0500	0.3000	0.5000
Carbono Orgánico_2	10	0.4000	0.0500	0.3000	0.5000
Carbono Orgánico_3	10	0.4000	0.0500	0.3000	0.5000
Overall	30	0.4000	0.0500	0.3000	0.5000

$F = 10.00$ ,  $DF = 2$ ,  $P = 0.000$

\* 0.05 = One in 20 more likely to happen

## CONVENIO N° 2025853

La Empresa Pública de Hidrocarburos del Ecuador, que en adelante se denominará EP PETROECUADOR, representada en este acto por León Hernández Marco Bolívar, en calidad de Jefe Corporativo de Desarrollo y Capacitación, por una parte, conforme delegación otorgada por la Gerencia General en Resolución Nro. PETRO-PGG-2025-0010-RSL Art. 2, de 25 de febrero del 2025 y, por otra, la señorita Silva Carrasco Doménica Estefanía, estudiante de la Universidad Estatal Península de Santa Elena, portadora de la cédula de ciudadanía N° 0953234382 según copia de documento adjunto, quien en adelante se denominará "Tesisista", libre y voluntariamente convienen en celebrar el siguiente Convenio de Desarrollo de Tesis, contenido en las siguientes cláusulas:

### CLÁUSULA PRIMERA: ANTECEDENTES

**1.1.** El Artículo 46 de las Normas Internas de Administración de Talento Humano de la EP PETROECUADOR establece que *"La EP PETROECUADOR puede celebrar de acuerdo a sus requerimientos e intereses y dando prioridad al giro del negocio, convenios para auspiciar la elaboración de tesis con estudiantes de institutos, universidades y escuelas politécnicas, reconocidas por el organismo competente en el país, los cuales se sustentarán en convenios previamente celebrados con las respectivas instituciones del sistema de educación superior."*

*La base legal y procedimental para la aplicación de lo dispuesto en este artículo se sujetará a esta normativa y a los procedimientos que para el efecto expida la Empresa.*

*Los convenios de ejecución de las tesis contendrán las condiciones específicas acordadas entre la Tesisista y la Empresa, que por ser una relación de origen académico no produce ningún tipo de vínculo laboral o administrativo entre los tesisistas y la EP PETROECUADOR; se caracterizan por tener una duración limitada".*

**1.2.** El Subproceso de *"Gestionar requerimientos y ejecución de pasantías y/o prácticas"* en la actividad número 13 del flujo del proceso, señala: *"Suscribir el convenio individual" asignado al rol de Gestor, el cual corresponde al Subgerente de Talento Humano, conforme a la equivalencia entre roles de proceso y cargos funcionales, descrito en el numeral 4 del proceso "Administración de Pasantías, Prácticas y Visitas Técnicas"*.

**1.3.** En el Proceso *"Administración de Pasantías, Prácticas, Ejecución de Tesis y Visitas Técnicas"* de la EP PETROECUADOR, en las reglas generales señala:

*"2.1 La EP PETROECUADOR, podrá firmar convenios marco de cooperación técnica – científica y/o específicos de cooperación interinstitucional para la realización de pasantías y/o prácticas pre profesionales, tesis, visitas técnicas, proyectos de investigación y desarrollo tecnológico"*.

*"2.4. Los convenios firmados entre la EP PETROECUADOR y las instituciones educativas y los estudiantes, por su naturaleza académica no originan relación laboral con la EP PETROECUADOR, como tampoco generan derechos u obligaciones laborales o administrativas; (...)"*.

*“2.20. La tesista podrá permanecer en las instalaciones de la empresa hasta un máximo de 10 horas semanales, previa coordinación con el tutor designado”.*

*“2.21. La tesista no podrá ingresar a campo, caso excepcional, que el ingreso sea debidamente justificado por el tutor asignado, en este caso podrá permanecer máximo un turno cuya duración será aquella determinada para cada campo cumpliendo con todas las normas de seguridad establecidas por la Subgerencia de Seguridad, Salud y Ambiente”.*

**1.4.** La Universidad Estatal Península de Santa Elena, suscribió con la EP PETROECUADOR el Convenio PGG N° 2023157 de Cooperación Técnica - Científica de 20 de abril de 2023, el cual tiene como objeto que estudiantes del mencionado Centro de Educación Superior, el desarrollo de actividades de prácticas pre profesionales, pasantías, tesis, proyectos de investigación y visitas técnicas conforme a las disponibilidades técnicas, operativas y presupuestarias de la Empresa.

**1.5.** El Ing. Jimmy Yillón Moreno, Directora de Carrera de Biología de la Universidad Estatal Península de Santa Elena, mediante trámite Nro. 143-CB-UPSE-2025 de fecha 06 de agosto de 2025, solicitó a la EP PETROECUADOR autorice la entrega de información para el proyecto denominado **“Bioremediación de suelo contaminado con hidrocarburos empleando bacterias, hongos y enzimas bacterianas”** a favor de la señorita Silva Carrasco Doménica Estefanía, estudiante de la carrera de Biología.

**1.6.** Mediante correo electrónico del 13 de agosto de 2025, el Jefe De Restauración Ambiental, de la Jefatura De Restauración Ambiental, autoriza la solicitud de tesis titulado **“Bioremediación de suelo contaminado con hidrocarburos empleando bacterias, hongos y enzimas bacterianas”** por lo que se ha designado como Tutor a Carlos Escandón, Supervisor De Restauración Ambiental.

## **CLÁUSULA SEGUNDA: OBJETO**

El presente Convenio tiene por objeto que la señorita Silva Carrasco Doménica Estefanía, estudiante de la Universidad Estatal Península de Santa Elena, desarrolle el trabajo de titulación denominado de **“Bioremediación de suelo contaminado con hidrocarburos empleando bacterias, hongos y enzimas bacterianas”**

## **CLÁUSULA TERCERA: CONDICIONES**

La Tesista acepta expresa e irrevocablemente que, para la suscripción, vigencia y ejecución del presente Convenio, deberá cumplir con las siguientes condiciones:

**3.1.** La EP PETROECUADOR establecerá las instalaciones o lugares en donde se facilitará la información para la elaboración del tema de tesis propuesto, de acuerdo a sus disponibilidades técnicas, operativas y presupuestarias. El Tesista se adhiere obligatoriamente a tales resoluciones.

**3.2.** La EP PETROECUADOR permitirá el desarrollo del tema de Tesis en sus instalaciones, previa la suscripción del presente Convenio.

**3.3.** La EP PETROECUADOR podrá unilateralmente, de manera motivada, dar por

**3.4.** Por su naturaleza civil y académica, la suscripción del presente Convenio, no origina relaciones, derechos, ni obligaciones laborales, o administrativas con el Tesista; no crea ningún tipo de estabilidad laboral con éste; y, por tanto, no es sujeto de indemnización alguna.

#### **CLÁUSULA CUARTA: PLAZO Y HORARIOS**

El plazo para el desarrollo de la Tesis es de seis (6) meses, cuya fecha de inicio es desde el 11 de septiembre de 2025 y su fecha de finalización es el 10 de marzo de 2025, este plazo que no puede ser prorrogado.

Este Convenio terminará obligatoriamente en la fecha que se encuentra establecida en el párrafo anterior, por lo tanto, no se requiere notificación previa por parte de la EP PETROECUADOR para su culminación, ya que la Tesista conoce y acepta el plazo fijado.

#### **CLÁUSULA QUINTA: OBLIGACIONES DE LAS PARTES**

##### **5.1. EP PETROECUADOR**

- 5.1.1.** Suministrar al Tesista las facilidades necesarias para el desempeño de las actividades establecidas como parte del desarrollo del tema de titulación.
- 5.1.2.** Asignar al Tesista en la unidad o dependencia en que se encuentre realizando sus actividades, el respectivo tutor, quien se encargará de orientar, asistir, dar seguimiento y reportar el cumplimiento de las labores encomendadas para el desarrollo del tema de tesis.

##### **5.2. DE LA TESISTA**

- 5.2.1.** Cumplir eficientemente las tareas encomendadas en el desarrollo de la Tesis.
- 5.2.2.** Cumplir con el plazo del presente Convenio de desarrollo de Tesis, el mismo que es improrrogable.
- 5.2.3.** Cumplir con la Normativa Interna, Reglamentos de Higiene y Seguridad Industrial, Código de Ética y demás disposiciones que emita la EP PETROECUADOR.
- 5.2.4.** Cuidar los bienes de la Empresa.
- 5.2.5.** Se compromete a que toda información, que por las actividades que realice o llegue a su conocimiento, será manejada con absoluta confidencialidad, no pudiendo ser divulgada a terceros, salvo autorización expresa de la EP PETROECUADOR.
- 5.2.6.** Cumplir con el plazo establecido en el presente Convenio. Una vez concluido el plazo, abandonará las instalaciones de la Empresa, sin necesidad de ninguna



- 5.2.7.** Entregar en la Jefatura de Servicios de Formación y Capacitación, un informe mensual de las actividades realizadas, avaladas por el/la tutor/a.
- 5.2.8.** Entregar en el Departamento de Formación y Capacitación, un ejemplar de la tesis de grado en formato digital PDF vinculado, con la respectiva Acta de Grado, en un plazo de 12 meses, contados a partir de la suscripción del presente Convenio.

#### **CLÁUSULA SEXTA: RÉGIMEN DE ASISTENCIA Y NORMAS DISCIPLINARIAS**

- 6.1.** La Tesista deberá cumplir las funciones y directrices señaladas por el Coordinador o Tutor asignado, las mismas que deberá desempeñarlas con eficiencia, eficacia y responsabilidad.
- 6.2.** La Tesista guardará absoluto secreto y sigilo profesional sobre procedimientos y técnicas administrativas, especialmente las que la EP PETROECUADOR considere reservadas y confidenciales.
- 6.3.** La Tesista se sujetará a las Normas Internas de la Institución, en todo cuanto no se oponga al presente Instrumento Legal.

#### **CLÁUSULA SÉPTIMA: TERMINACIÓN DEL CONVENIO**

Este Convenio, legalmente podrá terminar por las siguientes causas.

- 7.1.** Por cumplimiento del plazo establecido en la realización de la Tesis.
- 7.2.** Por mutuo acuerdo entre las partes contratantes, antes de la ejecución total del Convenio.
- 7.3.** Por declaración unilateral de la EP PETROECUADOR.
- 7.4.** Por incumplimiento por parte de la Tesista de cualquiera de las cláusulas estipuladas en el presente Convenio.
- 7.5.** Utilización indebida por parte de la Tesista de bienes públicos, realizar actividades fuera del Convenio, mal comportamiento, entre otros.

#### **CLÁUSULA OCTAVA: OBLIGACIONES AL TÉRMINO DEL DESARROLLO DE LA TESIS**

- 8.1.** EP PETROECUADOR se compromete a emitir un certificado de cumplimiento en el desarrollo de tesis, realizadas por la Tesista.
- 8.2.** La Tesista se compromete a devolver a la EP PETROECUADOR, los equipos de protección personal, identificación, insumos y materiales entregados para el desarrollo de sus actividades.

### **CLÁUSULA NOVENA: CONFIDENCIALIDAD**

La tesista Silva Carrasco Doménica Estefanía, por la naturaleza de la información que maneja la EP PETROECUADOR, y la cual por el desempeño de sus actividades se le haya proporcionado y tenga acceso, se obliga a mantenerla en forma estrictamente reservada y confidencial, obligándose a abstenerse de usar, disponer, divulgar o aprovecharse de la misma.

### **CLÁUSULA DÉCIMA: DERECHOS INTELECTUALES. -**

Sin perjuicio de lo dispuesto por el artículo 114 de Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación (COESC), la EP PETROECUADOR se reserva el derecho de incluir una cláusula en los convenios individuales que celebre con cada estudiante, que autorice el uso comercial no exclusivo de los derechos patrimoniales de autor o cualquier modalidad de propiedad industrial, resultantes del trabajo de titulación realizado en la Empresa y/o que fuere auspiciado por la misma.

### **CLÁUSULA DÉCIMA PRIMERA: DECLARACIÓN**

La tesista Silva Carrasco Doménica Estefanía, acepta y declara que, por la naturaleza civil y académica del presente Convenio, no se origina ningún tipo de relación o vínculo laboral, ni administrativo con la EP PETROECUADOR, no se genera ningún tipo de derechos, ni obligaciones laborales o administrativas, no se crea estabilidad laboral con la Tesista y tampoco está sujeto a indemnización alguna.

### **CLÁUSULA DÉCIMA SEGUNDA: SOLUCIÓN DE CONTROVERSIAS**

Toda controversia o diferencia que surgiere en la ejecución del presente Convenio, las partes se someterán a solucionarlos de mutuo acuerdo, dentro de quince días de suscitada la misma, ante el Centro de Mediación de la Procuraduría General del Estado, de conformidad con la Ley de Arbitraje y Mediación, de no llegar a un acuerdo en la vía administrativa, se someterá la controversia a la resolución de un Tribunal de Arbitraje reglado en derecho, que se sujetará a lo dispuesto en la Ley de Arbitraje y Mediación, el Reglamento del Centro de Arbitraje y Mediación de la Procuraduría General del Estado; y las siguientes normas:

Los árbitros serán nombrados uno por cada parte. El tercer árbitro será seleccionado por los árbitros designados por las partes. En caso de que no se llegare a un acuerdo en la designación del tercer árbitro, este será designado por el Director del Centro de Arbitraje de la Procuraduría General del Estado. El tercer árbitro presidirá el Tribunal;

**12.1.** Las partes renuncian a la jurisdicción ordinaria, se obligan a acatar el laudo que expida el Tribunal Arbitral y a acatar todo lo dispuesto en la Ley de Arbitraje y Mediación;

**12.2.** Para la ejecución de las medidas cautelares, el Tribunal Arbitral estará facultado para solicitar el auxilio de los funcionarios públicos, judiciales, policiales y administrativos, sin que sea necesario recurrir a juez ordinario alguno;



**12.4.** El procedimiento arbitral será confidencial;

**12.5.** Los costos que implique este procedimiento, será a cargo de la parte que presente la demanda arbitral; y

**12.6.** En ningún caso el trámite implicará la suspensión o paralización del objeto del Convenio.

**CLÁUSULA DÉCIMA TERCERA: DOMICILIO, COMPETENCIA Y PROCEDIMIENTO**

Para todos los efectos que se deriven del presente Convenio, las partes fijan como domicilio la ciudad de Quito.

**CLÁUSULA DÉCIMA CUARTA: ACEPTACIÓN**

Para constancia y fiel cumplimiento de lo estipulado, libre y voluntariamente las partes declaran expresamente aceptar y someterse a todas y cada una de las cláusulas incorporadas en el presente instrumento, por lo que proceden a suscribir en un (1) ejemplar de igual tenor y valor, en la ciudad de Quito D. M., de 04 de septiembre de 2025.

**POR EP PETROECUADOR**

**LA TESISTA**



León Hernández Marco Bolívar

**Jefe Corporativo de Desarrollo y Capacitación**



Silva Carrasco Doménica Estefanía

**Cédula de Ciudadanía N° 0953234382**

Elaborado y Revisado por:



Lourdes Carrasco,  
Analista De Servicios Virtuales de Capacitación

Aprobado por:



Erica Moya  
Jefe De Servicios De Formación Y Capacitación .

	<b>ACUERDO DE CONFIDENCIALIDAD COLABORADORES EXTERNOS</b>	Código: PCA.04.03.FO.07
		Fecha del versionamiento: Octubre-2022
		Versión: 02

### ACUERDO DE CONFIDENCIALIDAD

El presente Acuerdo de estricta confidencialidad es aceptado y suscrito por Dominica Stefanía Silva Carrasco, identificado(a) con la cédula de ciudadanía 0953234382, quien actúa bajo UN CONVENIO DE 2025853 con la empresa/universidad Escuela Península de Santa Elena, y que de ahora en adelante se denominará **COLABORADOR EXTERNO**; bajo las siguientes consideraciones:

#### CLÁUSULA PRIMERA. - ANTECEDENTES.

- 1.1. La EP PETROECUADOR, con el fin de que el COLABORADOR EXTERNO realice las actividades asignadas, para el cumplimiento de Terista, suministrará información o permitirá el acceso a información en general que puede incluir, entre otros: planes de negocios y de desarrollo; información técnica y financiera; planes de productos y servicios; información de precios; informes de mercadeo; análisis y proyecciones; especificaciones; diseños; dibujos; software; datos; prototipos; secretos industriales; know how; y, otra información técnica.
- 1.2. Es decisión de la EP PETROECUADOR que dicha información se suministre únicamente al COLABORADOR EXTERNO, para los fines exclusivos del servicio acordado en el contrato/ requerimiento/ pasantía señalado/a, por tanto, dicha información no podrá ser divulgada a terceros.
- 1.3. Que, ambas partes quieren establecer una protección adecuada a la información proporcionada, para lo cual convienen en acatar las directrices contenidas en el presente acuerdo para garantizar que dicha información no sea revelada indebidamente ni utilizada de ninguna forma sin previa autorización por escrito por parte de la EP PETROECUADOR.

#### CLÁUSULA SEGUNDA. - OBJETO.

El presente Acuerdo de Confidencialidad tiene por objeto garantizar la reserva y confidencialidad en el manejo y uso de la información suministrada por la EP PETROECUADOR al COLABORADOR EXTERNO o, a la que este tenga acceso.

#### CLÁUSULA TERCERA. - DEFINICIONES.


Se entiende por COLABORADOR EXTERNO, a la persona que, bajo una relación contractual o convenio de pasantía, tenga acceso a la información de la EP PETROECUADOR, relacionada a la actividad objeto del contrato o convenio, siendo esta de carácter temporal. de la relación que se hubiera establecido a través de cualquier otro contrato o convenio suscrito previamente,

Se entiende por información confidencial, a todo dato o documentación que en forma escrita o impresa por cualquier medio: escrito, mecánico, electrónico, magnético o de cualquier otra naturaleza o, protegida conforme al Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación - Ingenios - COESC - COESCCI - COESCI, la EP PETROECUADOR proporcione al COLABORADOR EXTERNO, para el cumplimiento de las actividades contratadas.

#### CLÁUSULA CUARTA. - OBLIGACIONES DEL COLABORADOR EXTERNO.

Es obligación del COLABORADOR EXTERNO:

- 4.1. Guardar la reserva y confidencialidad, sin perjuicio de lo previsto en la Cláusula SEXTA de este acuerdo, respecto de cualquier tipo de información que se le suministre o a la cual llegare a tener acceso o conocimiento;
- 4.2. Utilizar la información suministrada por la EP PETROECUADOR únicamente de la manera y para los fines establecidos en este Acuerdo y/o en el Contrato/Convenio de Pasantías suscrito.
- 4.3. No realizar copias, duplicados o guardar respaldos de la información mencionada en este acuerdo, sin la autorización previa y por escrito por parte del administrador del Contrato/Convenio de Pasantías, en representación de la EP PETROECUADOR; tampoco podrá divulgar dicha información a terceros sin que medie igualmente autorización previa y por escrito otorgada de similar forma.
- 4.4. Usar la información suministrada con el mismo cuidado y discreción que utilizaría para proteger su propia información, sin que la misma pueda publicarse y/o difundirse. En caso de incumplimiento, el COLABORADOR EXTERNO será

	<b>ACUERDO DE CONFIDENCIALIDAD COLABORADORES EXTERNOS</b>	<b>Código:</b> PCA.04.03.FO.07
		<b>Fecha del versionamiento:</b> Octubre-2022
		<b>Versión:</b> 02

responsable por los daños y perjuicios que dicho incumplimiento llegare a ocasionar, además de las sanciones penales a las que hubiere lugar. La EP PETROECUADOR se reserva el derecho de iniciar las acciones legales que correspondieren en caso de comprobar el incumplimiento de las cláusulas de este acuerdo.

4.5. No se podrá ceder o transferir a cualquier título, las obligaciones o responsabilidades que se derivaren del presente acuerdo.

#### **CLÁUSULA QUINTA. - IMPLICACIONES DE LA RECEPCIÓN DE LA INFORMACIÓN Y RESPONSABILIDAD.**

El incumplimiento del deber de confidencialidad establecidos en este Acuerdo, constituye violación de secreto y justa causa para la terminación unilateral de la relación que se hubiera establecido a través de cualquier otro contrato o convenio suscrito previamente, sin perjuicio de las indemnizaciones y acciones legales, tanto administrativas, como civiles y penales, a las que hubiere lugar.

#### **CLÁUSULA SEXTA. - EXCLUSIONES.**

Sin perjuicio de lo estipulado en el presente Acuerdo, ambas partes aceptan que la obligación de confidencialidad no se aplicará en los siguientes casos:

- 6.1. Cuando la información se encontrará en dominio público; es decir, información que por Ley sea considerada pública o, que se haya publicado previamente por parte de la EP PETROECUADOR.
- 6.2. Cuando la Información ya estuviere en conocimiento del **COLABORADOR EXTERNO** con anterioridad a la firma del presente Acuerdo y sin obligación de guardar confidencialidad. En tal caso, el **COLABORADOR EXTERNO** debe comunicar inmediatamente a la EP PETROECUADOR, informando la forma o mecanismo por los cuales obtuvo dicha información con anterioridad a la celebración de éste acuerdo.

#### **CLÁUSULA SÉPTIMA. – TITULARIDAD.**

El **COLABORADOR EXTERNO**, reconoce la titularidad sobre la información suministrada por EP PETROECUADOR; y, por lo tanto, únicamente la utilizará para los fines y de la manera establecida en este Acuerdo, en los documentos que hagan parte del mismo o en dicha información.

El acceso a la información por parte del **COLABORADOR EXTERNO** no implica transferencia de derecho alguno sobre tal información, tales como derechos derivados de la transferencia de tecnología, know-how, o derechos de propiedad intelectual, por lo que no podrá ser utilizada por él en su propio beneficio ni de terceros. Ni implica autorización para el uso o desarrollo de la misma fuera de lo establecido en este Acuerdo o en cualquier otro Contrato/Convenio de Pasantía, instrumento o documento suscrito ente el **COLABORADOR EXTERNO** y la **EP PETROECUADOR**, previamente o durante la vigencia del presente Acuerdo de Confidencialidad.

Ni este Acuerdo ni la entrega o recepción de la información (confidencial o restringida) constituirá o implicará promesa o intención de contratación, civil o laboral, ni de cualquier otra índole por cualquiera de las partes.

Es responsabilidad del **COLABORADOR EXTERNO**, que toda la información sea devuelta a la organización una vez concluido su contrato/requerimiento incluyendo los recursos técnicos y tecnológicos que la EP PETROECUADOR le haya proporcionado. Si emplea sus propios recursos tecnológicos, deberá asegurarse de borrar definitivamente la información relacionada a la EP PETROECUADOR y en caso de requerirse brindará facilidades para revisión de los mismos.

Cualquier desarrollo técnico, tecnológico o de cualquier otra índole que tenga por base la información o documentos proporcionados por la EP PETROECUADOR al **COLABORADOR EXTERNO** deberá documentarse y, la propiedad intelectual exclusiva de los mismos será de la EP PETROECUADOR.

Cuando el **COLABORADOR EXTERNO**, tenga conocimiento sobre asuntos importantes para las operaciones en curso, deberán documentarse dichos conocimientos y ser transferidos a la EP PETROECUADOR.

#### **CLÁUSULA OCTAVA. – TÉRMINOS E INTERPRETACIÓN**

Los términos del convenio se interpretarán en su sentido literal y obvio, en el contexto del mismo y cuyo objeto revela claramente la intención de las partes.

En todo caso su interpretación sigue los siguientes lineamientos:

- a) Cuando los términos estén definidos en la normativa interna de la EP PETROECUADOR o en el procedimiento interno GESTION DE LA SEGURIDAD DE LA INFORMACIÓN, se atenderá a lo señalado en esas disposiciones.

	<b>ACUERDO DE CONFIDENCIALIDAD COLABORADORES EXTERNOS</b>	Código: PCA.04.03.FO.07
		Fecha del versionamiento: Octubre-2022
		Versión: 02

- b) En su falta o insuficiencia de disposición expresa, se aplicarán los términos contenidos en el Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación - Ingenios - COESC - COESCCI – COESCI o, en el Código Civil.

#### CLÁUSULA NOVENA. – LEGISLACIÓN APLICABLE Y CONTROVERSIAS.

Las Partes manifiestan que la celebración del presente Convenio es producto de su buena fe, por lo que realizarán todas las acciones necesarias para su cumplimiento.

En caso de suscitarse divergencias o controversias respecto del cumplimiento de las cláusulas contenidas en el presente acuerdo, las partes tratarán de solucionarlas en el plazo de 15 días de suscitadas las mismas.

Si respecto de la divergencia o controversia suscitada, no existiera acuerdo, las partes se someterán al procedimiento aplicable establecido en el Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación - Ingenios - COESC - COESCCI – COESCI y/o en el Código Orgánico General de Procesos.

Para todos los efectos que se deriven de este Convenio, las Partes fijan como su domicilio la ciudad de Quito, Distrito Metropolitano, con exclusión de cualquier otro.

De caer el asunto en materia penal, la EP PETROECUADOR presentará directamente la denuncia en contra del autor o autores, cómplices y más involucrados, conforme lo determina el Código Orgánico Integral Penal.

En el evento de suscitarse cualquier otra controversia en relación con la ejecución del presente Acuerdo, la legislación aplicable será la ecuatoriana.

#### CLÁUSULA NOVENA. - NOTIFICACIONES.

El COLABORADOR EXTERNO señala su domicilio para recibir notificaciones en la siguiente dirección:

COLABORADOR EXTERNO: *Domenica Estefanía Silva Carrasco.*  
 UNIDAD RESPONSABLE DE LA EP PETROECUADOR: *Subgerencia de Seguridad, Salud y Ambiente.*  
 EMPRESA/UNIVERSIDAD A LA QUE PERTENECE: *Universidad Estatal Península de Santa Elena.*  
 DIRECCIÓN: *Av. Francisco Pizarro - Ballenita - Santa Elena*  
 CORREO ELECTRÓNICO: *domenica.silvacarrasco@upe.edu.ec*  
 TELÉFONOS: *0994941214*


EP PETROECUADOR  
 CONTACTO: Oficial de Seguridad de la Información  
 DIRECCIÓN: Diego de Almagro E8-30 Alpallana  
 CORREO ELECTRÓNICO: SeguridadInformacion@epetroecuador.ec  
 TELÉFONOS: 023942000

#### CLÁUSULA DÉCIMA. - DURACIÓN.

El presente Acuerdo entrará en vigor en el momento de la suscripción del mismo, y será de plazo indeterminado, prohibiéndose en cualquier momento o situación divulgar los documentos o información que se entregue al COLABORADOR EXTERNO, sin previa autorización por escrito por parte de la EP PETROECUADOR.

#### CLÁUSULA DÉCIMA PRIMERA. - MODIFICACIÓN.

Este acuerdo solo podrá ser modificado con el consentimiento expreso por escrito de ambas partes.

	<b>ACUERDO DE CONFIDENCIALIDAD COLABORADORES EXTERNOS</b>	<b>Código:</b> PCA.04.03.FO.07
		<b>Fecha del versionamiento:</b> Octubre-2022
		<b>Versión:</b> 02

**CLÁUSULA DÉCIMA SEGUNDA. - RATIFICACIÓN.**

El **COLABORADOR EXTERNO** ratifica el total contenido del Acuerdo y suscribe 2 ejemplares del mismo contenido y valor en caso de suscribirlo de forma física, y un solo ejemplar en caso de ser firmado electrónicamente:

  
 \_\_\_\_\_  
 FIRMA DEL COLABORADOR EXTERNO

Nombre:	Domenica Estefanía Silva Carrasco
C.C.:	0953234382
Unidad de la EP PETROECUADOR:	Subgerencia de Seguridad, Salud y Ambiente
Fecha de Suscripción:	7 de Octubre de 2025

(Adjuntar a la presente los documentos que le habiliten como colaborador externo)

## TERMINATE

Terminate es una mezcla que contiene cuatro tipos de bacterias liofilizadas de diferentes usos, las cuales sirven para mejorar la salud del animal, y promover un medio sano para el cultivo de camarones o peces. Contiene aminoácidos y minerales.

### CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES DEL PRODUCTO

- Disminuye niveles de metabolitos tóxicos tales como amonio, nitrito y otros gases nocivos.
- Disuelve materia en descomposición, alimento no consumido y demás material orgánico precipitable.
- Reduce altas concentraciones de algas azules verdosas en los estanques evitando olores y sabores desagradables.
- Puede ser aplicado durante la preparación de la piscina o con poblaciones de organismos acuáticos.
- Sirve como bioremediador de aguas estancadas y actúa tanto en agua dulce como en agua salada.
- Coloniza el sistema digestivo del camarón, mejorando la absorción de nutrientes.
- Protege al animal de bacterias patógenas, promoviendo el crecimiento y supervivencia del cultivo.

### INGREDIENTES ACTIVOS

CONCENTRACIÓN: 4% UFC

Bacillus subtilis.....	6,3 - 7,7 x 10 <sup>8</sup>	ufc/g
Bacillus amyloliquefaciens.....	7,1 - 7,9 x 10 <sup>8</sup>	ufc/g
Bacillus pumilus .....	4,6 - 5,4 x 10 <sup>8</sup>	ufc/g
Bacillus licheniformis.....	2,1 - 2,9 x 10 <sup>8</sup>	ufc/g
Carrier .....	94%	Cereal
Rango de pH efectivo .....	5,8 a 10,5	
Rango de temperatura efectiva .....	10°C a 38°C	

### PRESENTACIÓN Y ALMACENAMIENTO

- Fundas de 1kg.
- Mantener en un lugar fresco (15°C/57°F) y seco alejado, de la exposición solar.
- Se recomienda su consumo tan pronto como sea posible una vez que la bolsa se abra.

## APLICACIÓN

### Para laboratorio:

- En tanques de producción de larvas.

	GRAMOS/ TONELADAS	FRECUENCIA
<b>N</b>	2	c/12h
<b>Z</b>	2,5	c/8h
<b>M</b>	3	c/6h
<b>PL</b>	5	c/6h

- Puntas / retrolavado (100gr en una tonelada de agua).
- Cultivo de artemia (1gr en una tonelada de agua.)

### Camaronera:

**En agua:** 200 - 500gr / ha/ semana.

**En alimento:**

**Mantenimiento:** 4 - 6 g/kg de alimento.

**Tratamiento:** 10g/kg de alimento.





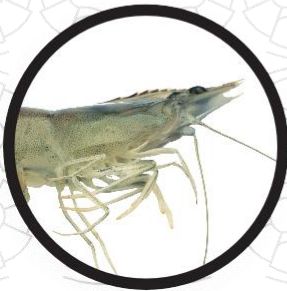
BIORREMEDIACIÓN

BIOBAC®

# BIOBAC A™



BIOACTIVADOR PARA SUELOS PODRIDOS



## COMPOSICIÓN

<b>FRACCIÓN ORGÁNICA*</b> Moléculas derivadas del proceso de fermentación que contiene promotores de crecimiento biológicos, ácidos orgánicos, proteínas hidrolizadas, aminoácidos, péptidos, vitaminas y enzimas	<b>19%</b>
<b>FRACCIÓN INORGÁNICA</b> Incluye macro y micronutrientes	<b>6,7%</b>
Nitrógeno (N)	<b>4,0%</b>
Potasio (K <sub>2</sub> O)	<b>1,0%</b>
Boro (B)	<b>0,14%</b>
Cobalto (Co)	<b>0,40%</b>
Niquel (Ni)	<b>1,16%</b>
<b>Excipientes</b>	<b>74,3%</b>
<b>TOTAL</b>	<b>100%</b>

\* Fracción orgánica analizada mediante el método AOAC 967.05

Degrada materia orgánica en condiciones anaerobias, disminuyendo los niveles de amonio/amoniaco, nitritos, sulfuros.



Convierte suelos negros a aeróbicos



Reduce el amonio y nitritos



Incrementa la población de microorganismos

## MODO DE ACCIÓN

- ▶ Degrada la materia orgánica por la vía ANAMMOX (eliminación del amonio de forma anaerobia en N<sub>2</sub>).
- ▶ Transforma el nitrógeno orgánico del suelo y lo libera a la atmósfera (No aporta amonio ni nitrito al agua).
- ▶ Equilibra el pH.
- ▶ Reduce el SH<sub>2</sub>

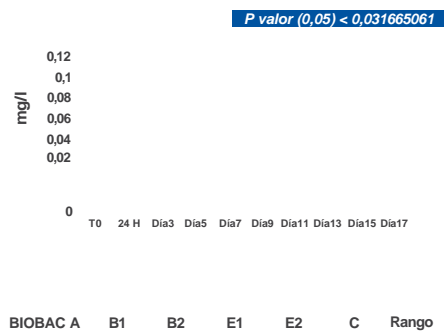
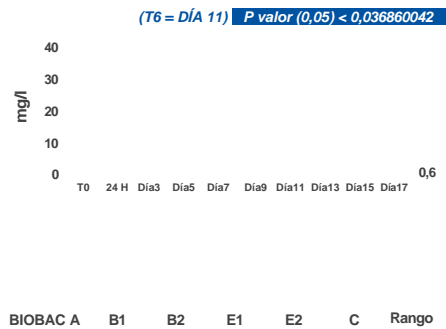
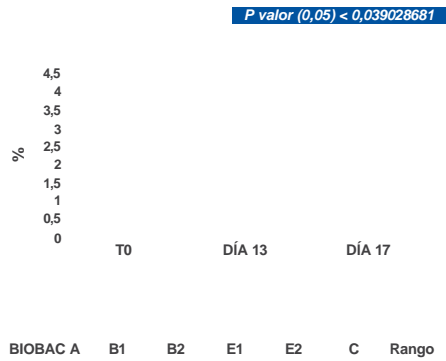
## BENEFICIOS

- ▶ Mejora la calidad del hábitat del camarón, contribuyendo a mejorar la salud, crecimiento y sobrevivencia.
- ▶ Mejora la estructura del suelo.
- ▶ Mantiene los niveles de oxígeno aceptables en el agua.
- ▶ Incrementa el rendimiento.



www.biobac.com.ec

## PRESENTACIÓN 5 litros



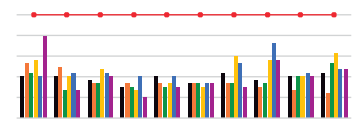
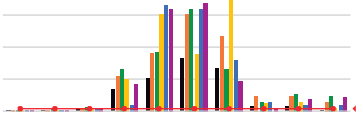
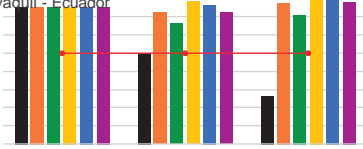
## DOSIS Y APLICACIÓN

- Por cada hectárea de suelo dañado aplicar 1 litro de BIOBAC A diluido en 250 litros de agua.
- Aplicar en esquinas dañadas, préstamos o lugares donde se encuentren muestras visibles de descomposición orgánica que desprenda olor a sulfuro y de coloración negra.
- Se puede aplicar al fondo durante la corrida según la densidad de siembra en dosis de 250-500 ml/Ha. diluido en agua + melaza + silicam plus.
- Para mayor información consulte al técnico.



Distribuidor Exclusivo

Cdla. La FAE Mz. 9 Solar 4  
(+593) 04 228 5900  
Guayaquil - Ecuador



Fabricado por:

2700 South 600 West  
South Salt Lake City, 84115, USA



**BIOBAC®**

**cytozyme™**

## INFORME DE ANALISIS SSA -14191 - 2025

### 1. Información general

SOLICITUD DE ANALISIS	SSA-14191-2025
FECHA DEL INFORME	7 de octubre de 2025

### Datos del Cliente

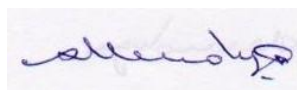
NOMBRE DEL CLIENTE	Ing. Domenica Silva
NOMBRE DE LA EMPRESA	DOMENICA ESTEFANIA SILVA CARRASCO
DIRECCIÓN	SANTA ELENA
TELEFONO	-

### Datos de la muestra/ensayo

TIPO DE MUESTRA	Suelo		
DATOS DEL MUESTREO	Realizado por el cliente		
LUGAR DE MUESTREO	Realizado por el cliente		
FECHA DE MUESTREO	02/10/2025		
FECHA/HORA DE RECEPCION DE LA MUESTRA	02/10/2025	Hora:	9:00
FECHA DE ENSAYO	Inicio	02/10/2025	Fin: 07/10/2025
CONDICIONES AMBIENTALES	Temperatura (°C)	24,8	Humedad (%) 43

### 2. Resultados

CODIGO DEL CLIENTE	CODIGO NG	Carbon Orgánico %	Materia Orgánica %	pH
B1	SSA-14191-2025	2.18	4.36	6.93
B2	SSA-14191-2025	2.10	4.20	6.82
B3	SSA-14191-2025	2.16	4.32	6.91
C1	SSA-14191-2025	2.32	4.64	6.88
C2	SSA-14191-2025	2.36	4.72	7.82
C3	SSA-14191-2025	2.22	4.44	6.45
E1	SSA-14191-2025	2.37	4.74	6.82
E3	SSA-14191-2025	2.35	4.70	6.71
	<b>METODOS</b>	<b>Titulación</b>	<b>Cálculo</b>	<b>4500 - H</b>
	<b>RANGOS</b>	<b>1.5 - 2.5</b>	<b>1,5 - 2,5</b>	<b>6,5 - 8,0</b>



**Sonny Mendoza Lombana, Ph.D.**  
Gerente General

Notas:

1. Los resultados solo se refieren a la muestra presentada al ensayo.

2. El presente informe no debe ser reproducido, excepto en forma total, sin la aprobación escrita del laboratorio.

**Cdla La Garzota II Mz 65 villa 6 (diagonal a Hotel Plaza Monte Carlos)**

**Telf. 5103890, Cel. 094816099**

**e.mail: sonny.mendoza@gmail.com**

**Guayaquil - ECUADOR**

**INFORME DE ANALISIS SSA -14191 - 2025**

**1. Información general**

<b>SOLICITUD DE ANALISIS</b>	SSA-14191-2025
<b>FECHA DEL INFORME</b>	7 de octubre de 2025

**Datos del Cliente**


<b>NOMBRE DEL CLIENTE</b>	Ing. Domenica Silva
<b>NOMBRE DE LA EMPRESA</b>	DOMENICA ESTEFANIA SILVA CARRASCO
<b>DIRECCIÓN</b>	SANTA ELENA
<b>TELEFONO</b>	-

**Datos de la muestra/ensayo**

<b>TIPO DE MUESTRA</b>	Suelo			
<b>DATOS DEL MUESTREO</b>	Realizado por el cliente			
<b>LUGAR DE MUESTREO</b>	Realizado por el cliente			
<b>FECHA DE MUESTREO</b>	02/10/2025			
<b>FECHA/HORA DE RECEPCION DE LA MUESTRA</b>	02/10/2025	<b>Hora:</b>	9:00	
<b>FECHA DE ENSAYO</b>	Inicio	02/10/2025	<b>Fin:</b>	07/10/2025
<b>CONDICIONES AMBIENTALES</b>	Temperatura (°C)	24,8	Humedad (%)	43

**2. Resultados**

<b>CODIGO DEL CLIENTE</b>	<b>CODIGO NG</b>	<b>Carbon Orgánico %</b>	<b>Materia Orgánica %</b>	<b>pH</b>
G2	SSA-14191-2025	2.20	4.40	6.41
H1	SSA-14191-2025	2.36	4.72	6.68
H2	SSA-14191-2025	2.37	4.74	6.85
M1	SSA-14191-2025	2.38	4.76	7.02
M2	SSA-14191-2025	2.35	4.70	7.01
M3	SSA-14191-2025	2.36	4.72	7.04
SN	SSA-14191-2025	2.38	4.76	6.71
	<b>METODOS</b>	<b>Titulación</b>	<b>Cálculo</b>	<b>4500 - H</b>
	<b>RANGOS</b>	<b>1.5 - 2.5</b>	<b>1,5 - 2,5</b>	<b>6,5 - 8,0</b>



**Sonnya Mendoza Lombana, Ph.D.**  
**Gerente General**

Notas:

1. Los resultados solo se refieren a la muestra presentada al ensayo.

2. El presente informe no debe ser reproducido, excepto en forma total, sin la aprobación escrita del laboratorio.

**Cdla La Garzota II Mz 65 villa 6 (diagonal a Hotel Plaza Monte Carlos)**

**Telf. 5103890, Cel. 094816099**

**e.mail: sonnya.mendoza@gmail.com**

**Guayaquil - ECUADOR**



## REPORTE INTERNO DE RESULTADOS N° 25 - 002

### Laboratorio de Restauración Ambiental - El Beaterio

**Dirección:** Quito, Islas Malvinas, Terminal de Productos Limpios El Beaterio EP Petroecuador, Pichincha - Ecuador

#### 1. DESCRIPCIONES GENERALES

<b>Fecha de toma de muestras:</b>	2025-09-01
<b>Fecha de recepción de muestras:</b>	2025-09-04
<b>Periodo de Análisis:</b>	2025-09-04 hasta 2025-09-05
<b>Fecha de emisión:</b>	2025-09-19
<b>Localidad del laboratorio:</b>	Terminal El Beaterio

<b>Peticionario:</b>	Ing. Carlos Chávez
<b>Cargo:</b>	Analista de Estudios y Sistemas Remediales
<b>Dirección del usuario:</b>	Edif. Villafuerte, 6to piso, Jefatura de RAM, Subgerencia de SSA, Quito
<b>Documento habilitante:</b>	Correo electrónico
<b>Email:</b>	<a href="mailto:Carlos.Chavez@epetroecuador.ec">Carlos.Chavez@epetroecuador.ec</a>
<b>Teléfono:</b>	23954000 ext. 16855

#### 2. DATOS DE LA TOMA DE MUESTRAS

<b>Matriz/Envase de muestras:</b>	Suelos (recolectados en fundas de cierre hermético)
<b>Recolectadas por:</b>	Tesista: Doménica Estefanía Silva Carrasco
<b>Método de toma de muestra:</b>	Aleatorio
<b>Personas presentes:</b>	N/A
<b>Lugar de toma de muestras:</b>	Campo: Megaterio
<b>Objetivo de toma de muestras:</b>	Tesis: "BIORREMEDIACIÓN DE SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS EMPLEANDO BACTERIAS, HONGO Y ENZIMAS BACTERIANAS"
<b>Condiciones ambientales:</b>	Nublado
<b>Hoja de custodia N°:</b>	N/A
<b>Receptadas por:</b>	Sebastián Salgado

#### 3. OTRA INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE

N/A

#### 4. PARÁMETROS, METODOLOGÍA DE REFERENCIA Y LÍMITES PERMISIBLES

Parámetro	Expresado como	Unidad	Procedimiento interno	Método de Referencia
Hidrocarburos Totales de Petróleo	TPH	mg/kg en base seca	SSA.08.06.PR.07.DR.04	EPA 418.1, EPA 8440, ASTM D3921

#### 5. CÓDIGOS Y DESCRIPCIÓN DE LAS MUESTRAS

Código de Toma de Muestra	Código Laboratorio	Matriz	Descripción	Análisis Solicitado	COORDENADAS	
					Norte	Este
MI 01-09-2025	S2509-001	SUELO	MUESTRA INICIAL M1	HIDROCARBUROS TOTALES (TPH)	No Aplica	No Aplica

#### 6. IDENTIFICACIÓN Y RESULTADOS DE LAS MUESTRAS

##### ANÁLISIS EN LABORATORIO

Parámetros	Unidad	S2509-001
Hidrocarburos Totales	mg/kg	21752

#### 7. DECLARACIÓN DE INCERTIDUMBRES DE MÉTODOS ANALÍTICOS. ANEXO 1.

Parámetro	Expresado como	Rango Validado	Límite de detección	Límite de cuantificación	Nivel	Incertidumbre +/- U (K=2)
Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH) - Suelos	mg/kg	2500 - 12500	94	105	2500-12500	21%

#### 8. ADICIONES, DESVIACIONES, O EXCLUSIONES DE LOS MÉTODOS

**Análisis realizado en:** Fotómetro infrarrojo INFRACAL 2 TRAN-SP (WILKS) - Laboratorio de Restauración Ambiental - El Beaterio

**Análisis realizado por:** Sebastián Salgado

#### 9. FIRMAS Y RESPONSABLES



Firmado electrónicamente por:  
**CARLOS ANDRÉS  
CHAVEZ GÓMEZ**

Validar únicamente con Firm@BC

**CARLOS A. CHAVEZ G.**  
Analista de Estudios y Sistemas  
Remediales

0602037293 LUIS  
ALBERTO  
VILLACRECES  
CARVAJAL

Firmado digitalmente por  
0602037293 LUIS ALBERTO  
VILLACRECES CARVAJAL  
Fecha: 2025.11.05 14:48:09  
-05'00"

**LUIS A. VILLACRECES C.**

Especialista de Restauración Ambiental



REPORTE INTERNO DE RESULTADOS N° 25 - 004

Laboratorio de Restauración Ambiental - El Beaterio

Dirección: Quito, Islas Malvinas, Terminal de Productos Limpios El Beaterio EP Petroecuador, Pichincha - Ecuador

1. DESCRIPCIONES GENERALES

Fecha de toma de muestras:	2025-09-11	Peticionario:	Ing. Carlos Chávez
Fecha de recepción de muestras:	2025-09-17	Cargo:	Analista de Estudios y Sistemas Remediales
Periodo de Análisis:	2025-09-17 hasta 2025-09-18	Dirección del usuario:	Edif. Villafuerte, 6to piso, Jefatura de RAM, Subgerencia de SSA, Quito
Fecha de emisión:	2025-09-19	Documento habilitante:	Correo electrónico
Localidad del laboratorio:	Terminal El Beaterio	Email:	Carlos.Chavez@epetroecuador.ec
		Teléfono:	23954000 ext. 16855

2. DATOS DE LA TOMA DE MUESTRAS

Matriz/Envase de muestras:	Suelos (recolectados en fundas de cierre hermético)
Recolectadas por:	Tesista: Doménica Estefanía Silva Carrasco
Método de toma de muestra:	Aleatorio
Personas presentes:	N/A
Lugar de toma de muestras:	Campo: Megaterio
Objetivo de toma de muestras:	Tesis: "BIORREMEDIACIÓN DE SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS EMPLEANDO BACTERIAS, HONGO Y ENZIMAS BACTERIANAS"
Condiciones ambientales:	Nublado
Hoja de custodia N°:	N/A
Receptadas por:	Laboratorio RAM: Sebastián Salgado

3. OTRA INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE

N/A

4. PARÁMETROS, METODOLOGÍA DE REFERENCIA Y LÍMITES PERMISIBLES

Parámetro	Expresado como	Unidad	Procedimiento interno	Método de Referencia
Hidrocarburos Totales de Petróleo	TPH	mg/kg en base seca	SSA.08.06.PR.07.DR.04	EPA 418.1, EPA 8440, ASTM D3921

5. CÓDIGOS Y DESCRIPCIÓN DE LAS MUESTRAS

Código de Toma de Muestra	Código Laboratorio	Matriz	Descripción	Análisis Solicitado	COORDENADAS	
					Norte	Este
11-09-2025 B1	S2509-038	SUELO		HIDROCARBUROS TOTALES (TPH)	No Aplica	No Aplica
11-09-2025 B2	S2509-039	SUELO			No Aplica	No Aplica
11-09-2025 B3	S2509-040	SUELO			No Aplica	No Aplica
11-09-2025 C1	S2509-041	SUELO			No Aplica	No Aplica
11-09-2025 C2	S2509-042	SUELO			No Aplica	No Aplica
11-09-2025 C3	S2509-043	SUELO			No Aplica	No Aplica
11-09-2025 E1	S2509-044	SUELO			No Aplica	No Aplica
11-09-2025 E2	S2509-045	SUELO			No Aplica	No Aplica
11-09-2025 E3	S2509-046	SUELO			No Aplica	No Aplica
11-09-2025 H1	S2509-047	SUELO			No Aplica	No Aplica
11-09-2025 H2	S2509-048	SUELO			No Aplica	No Aplica
11-09-2025 H3	S2509-049	SUELO			No Aplica	No Aplica
11-09-2025 M1	S2509-050	SUELO			No Aplica	No Aplica
11-09-2025 M2	S2509-051	SUELO			No Aplica	No Aplica
11-09-2025 M3	S2509-052	SUELO			No Aplica	No Aplica

6. IDENTIFICACIÓN Y RESULTADOS DE LAS MUESTRAS

ANÁLISIS EN LABORATORIO

Parámetros	Unidad	S2509-038	S2509-039	S2509-040	S2509-041	S2509-042	S2509-043	S2509-044	S2509-045	S2509-046
Hidrocarburos Totales	mg/kg	20565	20575	17792	20565	16639	18112	20771	15452	21260

Parámetros	Unidad	S2509-047	S2509-048	S2509-049	S2509-050	S2509-051	S2509-052
Hidrocarburos Totales	mg/kg	20301	24133	19219	21287	22673	18793

7. DECLARACIÓN DE INCERTIDUMBRES DE MÉTODOS ANALÍTICOS. ANEXO 1.

Parámetro	Expresado como	Rango Validado	Límite de detección	Límite de cuantificación	Nivel	Incertidumbre +/- U (K=2)
Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH) - Suelos	mg/kg	2500 - 12500	94	105	2500-12500	21%

8. ADICIONES, DESVIACIONES, O EXCLUSIONES DE LOS MÉTODOS

Análisis realizado en: Fotómetro infrarrojo INFRACAL 2 TRAN-SP (WILKS) - Laboratorio de Restauración Ambiental - El Beaterio

Análisis realizado por: Sebastián Salgado

9. FIRMAS Y RESPONSABLES

Firmado electrónicamente por:  
  
**CARLOS ANDRES CHAVEZ GOMEZ**  
 Validar únicamente con FirmaEC  
 CARLOS A. CHAVEZ G.  
 Analista de Estudios y Sistemas Remediales

0602037293 LUIS ALBERTO VILLACRECES CARVAJAL  
  
 Firmado digitalmente por 0602037293 LUIS ALBERTO VILLACRECES CARVAJAL  
 Fecha: 2025.11.05 14:48:38 -0500  
 LUIS A. VILLACRECES C.  
 Especialista de Restauración Ambiental



## REPORTE INTERNO DE RESULTADOS N° 25 - 005

### Laboratorio de Restauración Ambiental - El Beaterio

Dirección: Quito, Islas Malvinas, Terminal de Productos Limpios El Beaterio EP Petroecuador, Pichincha - Ecuador

#### 1. DESCRIPCIONES GENERALES

Fecha de toma de muestras:	2025-09-30
Fecha de recepción de muestras:	2025-10-02
Periodo de Análisis:	2025-10-02 hasta 2025-10-14
Fecha de emisión:	2025-10-14
Localidad del laboratorio:	Terminal El Beaterio

Peticionario:	Ing. Carlos Chávez		
Cargo:	Analista de Estudios y Sistemas Remediales		
Dirección del usuario:	Edif. Villafuerte, 6to piso, Jefatura de RAM, Subgerencia de SSA, Quito		
Documento habilitante:	Correo electrónico		
Email:	<a href="mailto:Carlos.Chavez@epetroecuador.ec">Carlos.Chavez@epetroecuador.ec</a>	Teléfono:	23954000 ext. 16855

#### 2. DATOS DE LA TOMA DE MUESTRAS

Matriz/Envase de muestras:	Suelos (recolectados en fundas de cierre hermético)
Recolectadas por:	Tesista: Doménica Estefanía Silva Carrasco
Método de toma de muestra:	Aleatorio
Personas presentes:	N/A
Lugar de toma de muestras:	Campo: Megaterio
Objetivo de toma de muestras:	Tesis: "BIORREMEDIACIÓN DE SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS EMPLEANDO BACTERIAS, HONGO Y ENZIMAS BACTERIANAS"
Condiciones ambientales:	Nublado
Hoja de custodia N°:	N/A
Receptadas por:	Laboratorio RAM: Sebastián Salgado

#### 3. OTRA INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE

N/A

#### 4. PARÁMETROS, METODOLOGÍA DE REFERENCIA Y LÍMITES PERMISIBLES

Parámetro	Expresado como	Unidad	Procedimiento interno	Método de Referencia
Hidrocarburos Totales de Petróleo	TPH	mg/kg en base seca	SSA.08.06.PR.07.DR.04	EPA 418.1, EPA 8440, ASTM D3921

#### 5. CÓDIGOS Y DESCRIPCIÓN DE LAS MUESTRAS

Código de Toma de Muestra	Código Laboratorio	Matriz	Descripción	Análisis Solicitado	COORDENADAS	
					Norte	Este
30-09-2025 B1	S2510-001	SUELO		HIDROCARBUROS TOTALES (TPH)	No Aplica	No Aplica
30-09-2025 B2	S2510-002	SUELO			No Aplica	No Aplica
30-09-2025 B3	S2510-003	SUELO			No Aplica	No Aplica
30-09-2025 C1	S2510-004	SUELO			No Aplica	No Aplica
30-09-2025 C2	S2510-005	SUELO			No Aplica	No Aplica
30-09-2025 C3	S2510-006	SUELO			No Aplica	No Aplica
30-09-2025 E1	S2510-007	SUELO			No Aplica	No Aplica
30-09-2025 E2	S2510-008	SUELO			No Aplica	No Aplica
30-09-2025 E3	S2510-009	SUELO			No Aplica	No Aplica
30-09-2025 H1	S2510-010	SUELO			No Aplica	No Aplica
30-09-2025 H2	S2510-011	SUELO			No Aplica	No Aplica
30-09-2025 H3	S2510-012	SUELO			No Aplica	No Aplica
30-09-2025 M1	S2510-013	SUELO			No Aplica	No Aplica
30-09-2025 M2	S2510-014	SUELO			No Aplica	No Aplica
30-09-2025 M3	S2510-015	SUELO			No Aplica	No Aplica

#### 6. IDENTIFICACIÓN Y RESULTADOS DE LAS MUESTRAS

##### ANÁLISIS EN LABORATORIO

Parámetros	Unidad	S2510-001	S2510-002	S2510-003	S2510-004	S2510-005	S2510-006	S2510-007	S2510-008	S2510-009
Hidrocarburos Totales	mg/kg	19283	18670	17293	24933	21866	26187	21570	19077	23110

Parámetros	Unidad	S2510-010	S2510-011	S2510-012	S2510-013	S2510-014	S2510-015
Hidrocarburos Totales	mg/kg	15948	18406	17196	21430	22840	22477

#### 7. DECLARACIÓN DE INCERTIDUMBRES DE MÉTODOS ANALÍTICOS. ANEXO 1.

Parámetro	Expresado como	Rango Validado	Límite de detección	Límite de cuantificación	Nivel	Incertidumbre +/- U (K=2)
Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH) - Suelos	mg/kg	2500 - 12500	94	105	2500-12500	21%

#### 8. ADICIONES, DESVIACIONES, O EXCLUSIONES DE LOS MÉTODOS

Análisis realizado en: Fotómetro infrarrojo INFRACAL 2 TRAN-SP (WILKS) - Laboratorio de Restauración Ambiental - El Beaterio

Análisis realizado por: Sebastián Salgado

#### 9. FIRMAS Y RESPONSABLES



Firmado electrónicamente por:  
**CARLOS ANDRES CHAVEZ GOMEZ**  
Validar únicamente con FirmaSE

CARLOS A. CHAVEZ G.  
Analista de Estudios y Sistemas Remediales

Firmado digitalmente por  
0602037293 LUIS ALBERTO VILLACRECES CARVAJAL  
Fecha: 2025.11.05 14:49:06  
-0500

LUIS A. VILLACRECES C.  
Especialista de Restauración Ambiental



## REPORTE INTERNO DE RESULTADOS N° 25 - 006

### Laboratorio de Restauración Ambiental - El Beaterio

Dirección: Quito, Islas Malvinas, Terminal de Productos Limpios El Beaterio EP Petroecuador, Pichincha - Ecuador

#### 1. DESCRIPCIONES GENERALES

Fecha de toma de muestras:	2025-10-12
Fecha de recepción de muestras:	2025-10-13
Periodo de Análisis:	2025-10-13 hasta 2025-10-16
Fecha de emisión:	2025-10-16
Localidad del laboratorio:	Terminal El Beaterio

Peticionario:	Ing. Carlos Chávez
Cargo:	Analista de Estudios y Sistemas Remediales
Dirección del usuario:	Edif. Villafuerte, 6to piso, Jefatura de RAM, Subgerencia de SSA, Quito
Documento habilitante:	Correo electrónico
Email:	Carlos.Chavez@epetroecuador.ec
Teléfono:	23954000 ext. 16855

#### 2. DATOS DE LA TOMA DE MUESTRAS

Matriz/Envase de muestras:	Suelos (recolectados en fundas de cierre hermético)
Recolectadas por:	Tesista: Doménica Estefanía Silva Carrasco
Método de toma de muestra:	Aleatorio
Personas presentes:	N/A
Lugar de toma de muestras:	Campo: Megaterio
Objetivo de toma de muestras:	Tesis: "BIORREMEDIACIÓN DE SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS EMPLEANDO BACTERIAS, HONGO Y ENZIMAS BACTERIANAS"
Condiciones ambientales:	Nublado
Hoja de custodia N°:	N/A
Receptadas por:	Laboratorio RAM: Sebastián Salgado

#### 3. OTRA INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE

N/A

#### 4. PARÁMETROS, METODOLOGÍA DE REFERENCIA Y LÍMITES PERMISIBLES

Parámetro	Expresado como	Unidad	Procedimiento interno	Método de Referencia
Hidrocarburos Totales de Petróleo	TPH	mg/kg en base seca	SSA.08.06.PR.07.DR.04	EPA 418.1, EPA 8440, ASTM D3921

#### 5. CÓDIGOS Y DESCRIPCIÓN DE LAS MUESTRAS

Código de Toma de Muestra	Código Laboratorio	Matriz	Descripción	Análisis Solicitado	COORDENADAS	
					Norte	Este
12-10-2025 B1	S2510-016	SUELO		HIDROCARBUROS TOTALES (TPH)	No Aplica	No Aplica
12-10-2025 B2	S2510-017	SUELO			No Aplica	No Aplica
12-10-2025 B3	S2510-018	SUELO			No Aplica	No Aplica
12-10-2025 C1	S2510-019	SUELO			No Aplica	No Aplica
12-10-2025 C2	S2510-020	SUELO			No Aplica	No Aplica
12-10-2025 C3	S2510-021	SUELO			No Aplica	No Aplica
12-10-2025 E1	S2510-022	SUELO			No Aplica	No Aplica
12-10-2025 E2	S2510-023	SUELO			No Aplica	No Aplica
12-10-2025 E3	S2510-024	SUELO			No Aplica	No Aplica
12-10-2025 H1	S2510-025	SUELO			No Aplica	No Aplica
12-10-2025 H2	S2510-026	SUELO			No Aplica	No Aplica
12-10-2025 H3	S2510-027	SUELO			No Aplica	No Aplica
12-10-2025 M1	S2510-028	SUELO			No Aplica	No Aplica
12-10-2025 M2	S2510-029	SUELO			No Aplica	No Aplica
12-10-2025 M3	S2510-030	SUELO			No Aplica	No Aplica

#### 6. IDENTIFICACIÓN Y RESULTADOS DE LAS MUESTRAS

##### ANÁLISIS EN LABORATORIO

Parámetros	Unidad	S2510-016	S2510-017	S2510-018	S2510-019	S2510-020	S2510-021	S2510-022	S2510-023	S2510-024
Hidrocarburos Totales	mg/kg	11740	15403	16220	21643	21610	26003	20440	13633	16293

Parámetros	Unidad	S2510-025	S2510-026	S2510-027	S2510-028	S2510-029	S2510-030
Hidrocarburos Totales	mg/kg	11743	18507	13530	12913	16513	18610

#### 7. DECLARACIÓN DE INCERTIDUMBRES DE MÉTODOS ANALÍTICOS. ANEXO 1.

Parámetro	Expresado como	Rango Validado	Límite de detección	Límite de cuantificación	Nivel	Incertidumbre +/- U (K=2)
Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH) - Suelos	mg/kg	2500 - 12500	94	105	2500-12500	21%

#### 8. ADICIONES, DESVIACIONES, O EXCLUSIONES DE LOS MÉTODOS

Análisis realizado en: Fotómetro infrarrojo INFRACAL 2 TRAN-SP (WILKS) - Laboratorio de Restauración Ambiental - El Beaterio

Análisis realizado por: Sebastián Salgado

#### 9. FIRMAS Y RESPONSABLES



Firmado electrónicamente por:  
**CARLOS ANDRES CHAVEZ GOMEZ**  
Validar Únicamente con FirmaEC

CARLOS A. CHAVEZ G.  
Analista de Estudios y Sistemas Remediales

0602037293 LUIS ALBERTO VILLACRECES CARVAJAL

Firmado digitalmente por  
0602037293 LUIS ALBERTO VILLACRECES CARVAJAL  
Fecha: 2025.11.05 14:49:32 -0500

LUIS A. VILLACRECES C.

Especialista de Restauración Ambiental



Facultad de Ciencias del Mar  
Biología

La libertad, 30 de octubre de 2025

Ingeniero

Jimmy Villón Moreno, MSc.

**Director Carrera Biología**

**COMISIÓN DE TITULACIÓN**

En su despacho. –

De mi consideración

Por medio del presente informo a usted que el estudiante **DOMÉNICA ESTEFANÍA SILVA CARRASCO**, con cedula de identidad N° **0953234382**, ha realizado las correcciones y concluido con la propuesta del Trabajo de Titulación cuyo tema es “**BIORREMEDIACIÓN DE SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS EMPLEANDO BACTERIAS, HONGO Y ENZIMAS BACTERIANAS**”, por tal motivo extiendo al aval y puede continuar con el respectivo proceso para optar al título de Biólogo.

Particular que comunico para los fines pertinentes.



Firmado electrónicamente por:  
**SONNYA PATRICIA  
MENDOZA LOMBANA**  
Validar únicamente con FirmADIC

Acui. Sonny Mendoza Ph.D.

*Somos lo que el mundo necesita*