The background of the cover is a deep blue color, overlaid with a complex pattern of glowing light blue and white geometric shapes. These shapes include various sizes of hexagons, some of which are interconnected by thin lines, and several interlocking gears of different sizes. The overall effect is a sense of technical precision and interconnectedness.

Entre  
CIENCIA  
e  
INGENIERIA  
3

**Armando Dias Duarte**  
(Organizador)

**Atena**  
Editora  
Ano 2022



Entre

# CIENCIA e INGENIERIA

## 3

**Armando Dias Duarte**  
(Organizador)

**Editora chefe**

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Editora executiva**

Natalia Oliveira

**Assistente editorial**

Flávia Roberta Barão

**Bibliotecária**

Janaina Ramos

**Projeto gráfico**

Bruno Oliveira

Camila Alves de Cremo

Daphynny Pamplona

Luiza Alves Batista

Natália Sandrini de Azevedo

**Imagens da capa**

iStock

**Edição de arte**

Luiza Alves Batista

2022 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2022 Os autores

Copyright da edição © 2022 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-Não-Derivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

**Conselho Editorial****Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto

Profª Drª Alana Maria Cerqueira de Oliveira – Instituto Federal do Acre

Profª Drª Ana Grasielle Dionísio Corrêa – Universidade Presbiteriana Mackenzie

Profª Drª Ana Paula Florêncio Aires – Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás

Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná



Prof. Dr. Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás  
Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Profª Drª Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Profª Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho  
Prof. Dr. Juliano Bitencourt Campos – Universidade do Extremo Sul Catarinense  
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá  
Prof. Dr. Marco Aurélio Kistemann Junior – Universidade Federal de Juiz de Fora  
Prof. Dr. Miguel Adriano Inácio – Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais  
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Sidney Gonçalo de Lima – Universidade Federal do Piauí  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista



**Diagramação:** Camila Alves de Cremo  
**Correção:** Yaidy Paola Martinez  
**Indexação:** Amanda Kelly da Costa Veiga  
**Revisão:** Os autores  
**Organizador:** Armando Dias Duarte

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

E61 Entre ciencia e ingenieria 3 / Organizador Armando Dias Duarte. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-258-0447-7

DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.477220308>

1. Ciencia. 2. Ingenieria. I. Duarte, Armando Dias (Organizador). II. Título.

CDD 501

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

**Atena Editora**

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

contato@atenaeditora.com.br



## DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.



## DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, *desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.



## APRESENTAÇÃO

A coleção de trabalhos intitulada “*Entre Ciencia e Ingenieria 3*” é uma obra que tem como foco principal a discussão científica por intermédio de diversos trabalhos que compõem seus capítulos. O volume abordará de forma categorizada e interdisciplinar, pesquisas cujos resultados possam auxiliar na tomada de decisão, tanto no campo acadêmico, quanto no profissional.

Nos capítulos apresentados, são encontrados estudos de grande valia nas áreas da simulação computacional, materias, gestão energética, aspectos industriais, estudos ambientais, na área da educação e otimização.

A composição dos temas buscou a proposta de fundamentar o conhecimento de acadêmicos (as), mestres (as) e todos (as) aqueles (as) que de alguma forma se interessam pela área da Engenharia, através de temáticas atuais com resoluções inovadoras, descritas nos capítulos da coleção. Sendo assim, a divulgação científica é apresentada com grande importância para o desenvolvimento de toda uma nação, portanto, fica evidenciada a responsabilidade de transmissão dos saberes através de plataformas consolidadas e confiáveis, como a Atena Editora, capaz de oferecer uma maior segurança para os novos pesquisadores e os que já atuam nas diferentes áreas de pesquisa, exporem e divulgarem seus resultados.

Armando Dias Duarte



## SUMÁRIO

### **CAPÍTULO 1..... 1**

#### **EFFECTOS DEL REFUERZO DE FIBRAS DE POLIPROPILENO EN LAS CARACTERÍSTICAS MECÁNICAS DEL HORMIGÓN**

Dany Tasán  
Josselyn García  
Lucía Patrón

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4772203081>

### **CAPÍTULO 2..... 8**

#### **DESIGN, MANUFACTURE AND VALIDATION OF CUSTOMIZED SURGICAL GUIDES FOR TOTAL KNEE REPLACEMENT**


L. San Martín  
H. Losada  
A. Tejo-Otero  
C.M. Atienza Vicente

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4772203082>

### **CAPÍTULO 3..... 17**

#### **DISEÑO DE UN SISTEMA FOTOVOLTAICO AISLADO, PARA UTILIZAR EN LA MACRO PLAZA DEL MALECÓN EN EL PUERTO DE VERACRUZ: UNA CONTRIBUCIÓN A MICROEMPRESA MÓVIL O FIJA DE ARTESANÍAS**


Miguel Ángel Quiroz García  
Leodegario Vázquez González  
Carlos Roberto González Escarpeta  
Mónica Rodríguez Landa  
Raymundo Escalante Wong  
Othoniel Salomón Acosta  
José de Jesús Romero Castro  
Samuel Sarmiento Gutiérrez

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4772203083>

### **CAPÍTULO 4..... 26**

#### **ESTUDO DO MOTOR SÍNCRONO**

Pérez Millán Brenda Carolina  
Vergara Hernández Erasto  
Cea Montufar César Eduardo  
Fernández Anaya Alfredo


 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4772203084>

### **CAPÍTULO 5..... 33**

#### **APLICACIÓN Y ANÁLISIS DE CORE TOOLS PARA LA INTEGRACIÓN Y VALIDACIÓN DE MODELO G05 DE LA FASE DE PROTOTIPO A PRODUCCIÓN**

Catalina Arriaga Vázquez  
Elsa Castillo Carrillo  
Ma. Guadalupe Jáuregui Ojeda


José Angel Sandoval Marín  
Angel Manuel Medina Mendoza

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4772203085>

**CAPÍTULO 6..... 46**

**EVALUACIÓN ESTRUCTURAL DE LOSA PRETENSADA PPCC COMO SOLUCIÓN DE ENTREPISO Y CUBIERTA EN VIVIENDA SOCIAL**


Bolívar Hernán. Maza  
Daniela Stefanía. Maza Vivanco

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4772203086>

**CAPÍTULO 7..... 65**

**METABOLISMO INDUSTRIAL DEL INSTITUTO SUPERIOR TECNOLÓGICO PAULO EMILIO MACÍAS, ECUADOR**

Ricardo Fabricio Muñoz Farfán  
Telly Yarita Macías Zambrano  
Eder Israel Chinga Muentes

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4772203087>

**CAPÍTULO 8..... 77**

**PROPUESTA DE SISTEMA DE AHORRO INTELIGENTE MEDIANTE LA REUTILIZACIÓN DE AGUA LLUVIA PARA LOS BAÑOS EN EL CORREGIMIENTO DE LA RAYA DE SANTA MARÍA**

Edwin A. Rivera S.  
Eulices G. Castillo A.  
Luis A. Quintero  
Cristian Pinzón

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4772203088>

**CAPÍTULO 9..... 89**

**BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON PETRÓLEO CRUDO CON BACTERIAS Y LEVADURAS**

Ismael Acosta Rodríguez  
Daniela Paz Azuara  
Adriana Rodríguez Pérez  
Juan Fernando Cárdenas González  
Víctor Manuel Martínez Juárez  
Dalila del Socoro Contreras Briones  
Juana Tovar Oviedo


 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4772203089>

**CAPÍTULO 10..... 97**

**MITIGACIÓN DE CO<sub>2</sub> POR EL APROVECHAMIENTO DE LA GEOTERMIA SOMERA EN LA CLIMATIZACIÓN DE EDIFICIOS EN COLOMBIA**

Brian Sneyder Aros Amaya  
Jhojan Stiven Zea Fernández  
Cristian Alan Maldonado Romero

David Morillón Gálvez

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.47722030810>

**CAPÍTULO 11..... 107**

LA INGENIERÍA INDUSTRIAL EN LOS PROCESOS DE EDUCACIÓN SUPERIOR DE LA ZONA 4, ECUADOR

Telly Yarita Macías Zambrano

Teresa Viviana Moreira Vera


María Rodríguez Gámez

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.47722030811>

**CAPÍTULO 12..... 122**

LA RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS COMO HERRAMIENTA PARA FACILITAR EL TRANSITO DEL LENGUAJE ARITMÉTICO AL LENGUAJE ALGEBRAICO

Lenin Alfonso Montes Cabarcas

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.47722030812>

**CAPÍTULO 13..... 137**

OBSERVATION IN THE HIGHER-LEVEL CLASSROOMS OF THE IPN

Patricia Acevedo Nava

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.47722030813>


**CAPÍTULO 14..... 150**

INFLUENCIA DE ACTIVIDADES EXTRACURRICULARES EN COMPETENCIAS DESARROLLADAS POR ESTUDIANTES DE INGENIERÍA MECÁNICA DEL ITCH

Laura Isela Padilla Iracheta

Jaime Eduardo Trejo Aguirre

Esteban Rubio Ochoa


 <https://doi.org/10.22533/at.ed.47722030814>

**CAPÍTULO 15..... 165**

OPTIMIZACIÓN DEL CONSUMO DE ENERGÍA EN UN PROCESO DE SECADO DE MADERA UTILIZANDO DISEÑO DE EXPERIMENTOS

Ramón Ángel Pons Murguía

Eulalia María Villa González del Pino

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.47722030815>

**CAPÍTULO 16..... 178**

REDES NEURONALES ARTIFICIALES EN LA VIDA MODERNA: CONOCIENDO LA EVOLUCIÓN TECNOLÓGICA

Franyelit María Suárez-Carreño


Alexander Castillo Perdomo

Eva Elizabeth Tejada Manrique

Nilo Walker Andrade Acosta

Luis Rosales-Romero


Flor Omar

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.47722030816>

**CAPÍTULO 17..... 190**

USO DE LA SIMULACIÓN COMPUTACIONAL EN CIENCIA DE MATERIALES PARA LA PREDICCIÓN DEL COMPORTAMIENTO CINÉTICO Y MICROESTRUCTURAL DE ALEACIONES BINARIAS Y TERNARIAS


Susana Lezama Alvarez  
Víctor Manuel López Hirata

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.47722030817>

**CAPÍTULO 18..... 198**

LAS PATINETAS ELÉCTRICAS, ¿SIMPLE DIVERSIÓN O APOORTE A LA MOVILIDAD?

Carlos Augusto Kaffure Ruiz  
Juan Guillermo Zuluaga Villermo  
Claudia Uribe Kaffure  
Andrés Ernesto Francel Delgado

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.47722030818>

**SOBRE O ORGANIZADOR ..... 211**

**ÍNDICE REMISSIVO..... 212**

## BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON PETRÓLEO CRUDO CON BACTERIAS Y LEVADURAS

Data de aceite: 04/07/2022

**Juana Tovar Oviedo**

Laboratorio de Microbiología. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P. México

**Ismael Acosta Rodríguez**

Laboratorio de Micología Experimental.  
Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P. México  
ORCID: 0000-0001-8620-2727

**Daniela Paz Azuara**

Laboratorio de Micología Experimental.  
Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P. México

**Adriana Rodríguez Pérez**

Centro de Investigación y Extensión de la Zona Media. El Balandran. Universidad Autónoma de San Luis Potosí  
San Luis Potosí, México

**Juan Fernando Cárdenas González**

Centro de Investigación y Extensión de la Zona Media. El Balandran. Universidad Autónoma de San Luis Potosí  
San Luis Potosí, México  
ORCID: 0000-0002-3502-5959

**Víctor Manuel Martínez Juárez**

Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Instituto de Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo  
Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México  
ORCID: 0000-0002-7426-6835

**Dalila del Socoro Contreras Briones**

Laboratorio de Micología Experimental.  
Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P. México

**RESUMEN:** La selección de microorganismos a través de pruebas sucesivas de crecimiento poblacional en cultivos puros ricos en petróleo es una estrategia eficiente para evaluar la adaptación y sobrevivencia de cepas tolerantes a altas concentraciones de petróleo. Los resultados de las pruebas en laboratorio confirman la selección de las cepas más tolerantes y adaptadas. El éxito en las siguientes etapas, tanto en invernadero como en suelos y aguas contaminadas, depende de la calidad de la selección y de las condiciones ambientales. Es muy importante la evaluación sucesiva de los microorganismos que utilizan hidrocarburos derivados del petróleo como fuente de energía, para demostrar la eficiencia de las tecnologías de biorremediación en suelos y aguas expuestas a concentraciones tóxicas de petróleo. Recientemente, se ha estudiado el aislamiento de microorganismos tolerantes a petróleo y su capacidad de degradación, a partir de sitios contaminados con el mismo, como bacterias, levaduras y los hongos filamentosos, por lo que en este trabajo, y a partir de suelos contaminados con petróleo, se aislaron diferentes microorganismos que crecen en presencia de petróleo como única fuente de carbono, y en diferentes fracciones celulares, se determinó la actividad de alcohol oxidasa por un método colorimétrico. Las bacterias encontradas fueron *Serratia marcesens* y *Pseudomonas aeruginosa*

y la levadura *Candida albicans*. Además, presentan buena actividad de alcohol oxidasa en la fracción citosólica con diferentes sustratos, por lo que se pueden utilizar para la eliminación y/o degradación de petróleo de sitios contaminados.

**PALABRAS CLAVE:** Biorremediación, petróleo, bacterias, hongos.

## BIOREMEDIATION OF SOILS CONTAMINATED WITH CRUDE OIL WITH BACTERIA AND YEASTS

**ABSTRACT:** The selection of microorganisms through successive population growth tests in pure cultures rich in oil is an efficient strategy to evaluate the adaptation and survival of strains tolerant to high concentrations of oil. The results of the laboratory tests confirm the selection of the most tolerant and adapted strains. Success in the following stages, both in the greenhouse and in contaminated soil and water, depends on the quality of the selection and the environmental conditions. The successive evaluation of microorganisms that use hydrocarbons derived from petroleum as an energy source is very important to demonstrate the efficiency of bioremediation technologies in soils and waters exposed to toxic concentrations of petroleum. Recently, the isolation of oil-tolerant microorganisms and their degradation capacity from oil-contaminated sites, such as bacteria, yeasts and filamentous fungi, have been studied, so in this work, and from oil-contaminated soils, different microorganisms that grow in the presence of oil as the only carbon source were isolated, and in different cell fractions, the activity of alcohol oxidase was determined by a colorimetric method. The bacteria found were *Serratia marcesens* and *Pseudomonas aeruginosa* and the yeast *Candida albicans*. In addition, they present good alcohol oxidase activity in the cytosolic fraction with different substrates, so they can be used for the removal and/or degradation of oil from contaminated sites.

**KEYWORDS:** Biorremediación oil, bacteria, fungi.

## INTRODUCCIÓN

Los derrames de petróleo son una importante fuente de contaminación del suelo y agua, ya que el uso, más el transporte transfronterizo tanto de petróleo crudo como de sus derivados, derrames de contenedores, rupturas en tuberías subterráneas y diferentes procesos industriales, hace que los derrames de hidrocarburos sean cada vez más frecuentes, lo que provoca riesgos asociados a la salud humana por la inhalación de vapores y la ingestión de aquellos hidrocarburos que están disueltos en el agua y el contacto dérmico, que se da principalmente en actividades recreativas, pues algunos de sus componentes son considerados carcinogénicos y teratogénicos [1]. También origina que se desarrolle tolerancia a la presencia de este compuesto, induciendo la selectividad y la disminución de la diversidad microbiana en los diferentes nichos ecológicos contaminados. Los microorganismos tolerantes a petróleo desarrollan y utilizan diferentes respuestas especializadas (enzimáticas y fisiológicas) para crecer en presencia de este contaminante [2]. Estas condiciones propician las variaciones poblacionales de los microorganismos autóctonos, y de manera natural realizan la degradación química del

petróleo presente en aguas y suelos. El petróleo crudo contiene cientos de compuestos individuales, pero presenta cuatro formas estructurales en función de la solubilidad en solventes orgánicos: compuestos saturados (alcanos y cicloparafinas), aromáticos (mono, di y polinúcleo aromáticos), resinas (agregados con una gran cantidad de estructuras como: piridinas, quinolinas, carbazoles, tiofenos, sulfóxidos y aminas) y asfaltenos (agregados de poliaromáticos, ácidos nafténicos, fenoles, ácidos grasos y metaloporfirinas) [3].

Se ha demostrado que el crecimiento de los microorganismos requiere de fuentes de carbono derivadas de los hidrocarburos del petróleo. Los compuestos saturados y los aromáticos con uno a cinco anillos bencénicos son utilizados como fuentes energéticas; sin embargo, los aromáticos con más de cinco anillos, resinas y asfaltenos son difíciles de degradar por su recalcitrancia [4]. La selección de microorganismos a través de pruebas sucesivas de crecimiento poblacional en cultivos puros ricos en petróleo es una estrategia eficiente para evaluar la adaptación y sobrevivencia de cepas tolerantes a altas concentraciones de petróleo. Los resultados de las pruebas en laboratorio confirman la selección de las cepas más tolerantes y adaptadas. El éxito en las siguientes etapas, tanto en invernadero como en suelos y aguas contaminadas, depende de la calidad de la selección y de las condiciones ambientales [5]. Es muy importante la evaluación sucesiva de los microorganismos que utilizan hidrocarburos derivados del petróleo como fuente de energía, para demostrar la eficiencia de las tecnologías de biorremediación en suelos y aguas expuestas a concentraciones tóxicas de petróleo [6]. Recientemente, se ha estudiado el aislamiento de microorganismos tolerantes y su capacidad de degradación, a partir de sitios contaminados con el mismo, como las bacterias *Rhodococcus aetherivorans* y *E. wratislaviensis* [7], *Streptomyces* spp [8] y *Pseudomonas aeruginosa* sp [9], las levaduras *Candida tropicalis* y *Candida albicans* [10, 11] y los hongos filamentosos *Penicillium* sp y *Aspergillus* sp [5] *Trichoderma asperellum* [12]. Por lo anterior el objetivo de este trabajo fue el aislamiento e identificación de bacterias y levaduras tolerantes a petróleo crudo a partir de suelos contaminados.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Muestras de agua

Se tomaron en recipientes de plástico previamente lavados con ácido sulfúrico al 10% y esterilizados por calor húmedo, muestras de suelo de diferentes suelos contaminados de la Ciudad de San Luis Potosí, y se guardaron en hielera, y se trasladaron al laboratorio y se conservaron en refrigeración hasta su uso.

### Aislamiento e identificación de las cepas obtenidas

El aislamiento se realizó inoculando 100  $\mu$ L de las muestras previamente diluidas (1 g de suelo en 9 mL de agua destilada estéril) en cajas de Petri conteniendo medio mínimo

de Lee [13], sin glucosa y adicionadas de 1.0 mL de petróleo como fuente de carbono, incubando a 28°C durante 5 días. Las colonias obtenidas se purificaron por resiembras sucesivas en el mismo medio de cultivo, y para su posterior identificación, se sembraron por duplicado en los siguientes medios selectivos: Agar hierro de Kligler, SIM (Sulfhídrico-Indol-Movilidad) y OF (oxidación-fermentación) para *Pseudomonas*, así como Agar Biggy y la prueba de tubo germinal para levaduras [14]. También se realizó toda la batería de pruebas bioquímicas para la identificación de Enterobacterias (API 20 E) [15].

### **Estudios de resistencia a petróleo**

La resistencia se analizó inoculando 1 x 10<sup>6</sup> bacterias y/o levaduras/mL en matraces Erlenmeyer de 250 mL conteniendo 100 ml de medio mínimo de Lee, conteniendo 1.0 mL de petróleo como fuente de carbono, incubando a 28°C a 100 rpm durante 3 días para las bacterias y 7 días para las levaduras. Después, se cosechó el sobrenadante en un tubo graduado, previamente pesado y se centrifugó a 3 000 rpm/10 min, desechando el sobrenadante. El paquete celular se secó a 80°C, durante 12 h, y se pesó el tubo, determinando por diferencia el peso seco de la muestra, comparando el crecimiento con un control crecido en las mismas condiciones sin la adición de petróleo crudo. Todos los experimentos se realizaron mínimo 3 veces por duplicado.

### **Obtención del extracto libre de células**

Se inocularon 1 x 10<sup>6</sup> bacterias y/o levaduras/mL en matraces Erlenmeyer de 250 mL conteniendo 100 ml de medio mínimo de Lee, con y sin 1.0 mL de petróleo crudo, incubando a 28°C a 100 rpm durante 3 días para las bacterias y 7 días para las levaduras, obteniendo el paquete celular de cada cultivo filtrando en papel Whatman No.1 y lavando por centrifugación (2 000 rpm) las células con agua destilada estéril fría (un promedio 3 veces o las necesarias hasta que el líquido sobrenadante sea claro). Posteriormente, el paquete celular se resuspendió en 1.0 mL de agua destilada estéril fría, y se añadieron 4.0 mL de solución amortiguadora de rompimiento (Tris-HCl 50 mM. pH 8.5; PMSF 1 mM, disuelto en dimetilsulfóxido), realizando el rompimiento de la masa celular mediante Omni-mixer y Potter, manteniendo el homogenado en hielo para mantener la temperatura lo más baja posible. Después, el paquete celular se centrifugó a 3 000 rpm, durante 15 min para remover las paredes celulares y las células no rotas. El sobrenadante (extracto crudo) se centrifugó a 25 000 rpm por 45 min, descartando la fracción mixta de membranas (FMM) y al sobrenadante se le determinó la actividad de alcohol oxidasa.

### **Determinación de la actividad de alcohol oxidasa por un método colorimétrico**

Se cuantifican los micromoles de peróxido de hidrógeno formados por minuto por miligramo de proteína (actividad específica), debido a la oxidación del alcohol catalizado por la enzima alcohol oxidasa. La actividad total se define como el producto de la actividad específica por la proteína total [16].



## Determinación de proteína

Se empleó el método descrito por Lowry et al., [17], usando como patrón albúmina de suero bovino (ASB).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las bacterias y la levadura fueron capaces de crecer en presencia de petróleo, con diferentes grados de desarrollo, lo cual indica que los microorganismos pueden desarrollar tolerancia y/o resistencia y tal vez el mecanismo de degradación del petróleo en un medio ambiente contaminado con el mismo, lo cual coincide con una gran variedad de estudios, pues a partir de diferentes fuentes, se han aislado diferentes microorganismos con la capacidad de resistencia y degradación del petróleo [5, 7, 8, 9,10, 12].

Posteriormente, se incubaron a 120 rpm, (en agitación) en presencia de diferentes volúmenes de petróleo crudo las tres cepas (3 días para las bacterias y 7 días la levadura), y se les determinó el crecimiento por peso seco, encontrando que los 3 microorganismos, crecen mejor en presencia del hidrocarburo, con 2.5, 2.87 y 4.0 veces más de crecimiento con respecto al control para: *S. marcescens*, *P. aeruginosa* y *C. albicans* (Tabla No. 1).

Crecimiento en mg de peso seco

Petróleo ( $\mu$ L)	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
0	1	1	1
100	1.44	1.28	2.0
200	1.61	1.57	2.0
300	1.61	1.9	2.02
400	2.17	2.42	3.0
500	2.4	2.4	3.04
600	2.4	2.41	3.03
700	2.41	2.6	3.4
800	2.45	2.6	3.412
900	2.47	2.87	4.0
1000	2.5	1.57	3.0

Tabla1. Crecimiento en peso seco de los microorganismos aislados.

Se ha encontrado que el 96% de bacterias aisladas de medios líquidos (lagos, ríos, y lagunas) presentan capacidad de crecer y emulsificar hidrocarburos derivados del petróleo [3], y los resultados obtenidos en este trabajo, demuestran que las colonias de *S. marcescens*, *P. aeruginosa* y de la levadura *C. albicans* obtenidas, crecen eficientemente en el medio líquido adicionado con 1.0 mL de petróleo crudo, además de emulsificar el medio

de cultivo. Estos resultados son similares a los obtenidos con las bacterias *R. aetherivorans* y *E. wratislaviensis* [7], con *P. aeruginosa* y sp. [9] y con la levadura *C. albicans* [11]. La sobrevivencia de las bacterias y la levadura en estas condiciones sugiere que podrían tener la capacidad de utilizar hidrocarburos alifáticos y aromáticos como fuentes de carbono y/o donadores de electrones [18].

También, se analizó la actividad de alcohol oxidasa en las diferentes fracciones subcelulares (extracto crudo, FMM y sobrenadante de 25 000 rpm) utilizando como sustrato petróleo crudo, metanol y etanol, de las 3 cepas aisladas. crecidas en presencia y ausencia de petróleo crudo (ver Metodología). La actividad enzimática con los 3 sustratos utilizados se detectó principalmente en la fracción citosólica, y poca en la FMM (datos no mostrados). La Tabla 2 muestra los niveles de actividad específica de las 3 cepas utilizadas, siendo mayor cuando se crecen en presencia de petróleo y metanol como sustrato (205.3 y 330.4 para *S. marcesens*, 220.1 y 360.4 para *P. aeruginosa* y de 184.8 y 284.2 279 para *C. albicans*).

Actividad específica ( $\mu\text{gH}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$  proteína)

Sustrato	<i>Serratia Marseens</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
Metanol <sup>1</sup>	10.2	6.1	92.1
Metanol <sup>2</sup>	330.4	360.4	284.2
Petróleo <sup>1</sup>	16.1	14.2	87
Petróleo <sup>2</sup>	205.3	220.1	184.8
Etanol <sup>1</sup>	14.3	16.8	83.1
Etanol <sup>2</sup>	121.4	108.6	167

<sup>1</sup>Cultivados en ausencia de petróleo crudo

<sup>2</sup>Cultivados en presencia de 1 mL de petróleo crudo

Tabla 2. Actividad de alcohol oxidasa en los microorganismos aislados.

Los resultados encontrados en este trabajo son similares a los reportados para el hongo YR-1 aislado de suelos contaminados con petróleo, utilizando 11 sustratos diferentes, siendo el metanol el principal inductor enzimático [19], para la alcohol deshidrogenasa dependiente de NAD<sup>+</sup> con metanol, etanol y hexadecanol como sustratos [20], y para *P. aeruginosa* y *C. albicans* aisladas de diferentes ríos de la Huasteca potosina [11], y son diferentes a lo reportado para una alcohol oxidasa grasa de *Mucor circinelloides* YR-1 con metanol, decanol y hexadecanol como sustratos [21].

## CONCLUSIONES

Se aislaron 2 bacterias y una levadura resistentes a petróleo, con el potencial para degradarlo. Además, en presencia de petróleo crudo como fuente de carbono presentan una gran actividad de alcohol oxidasa, la cual puede utilizar metanol, etanol y petróleo crudo como sustratos, por lo cual pueden utilizarse para eliminar el hidrocarburo presente en aguas y suelos contaminados.

## REFERENCIAS

1. S. Chen y C. Liao. Health risk assessment on human exposed to environmental polycyclic aromatic hydrocarbons pollution sources. *Sci. Total Environ.* 366: 112-123 (2006).
2. M.R. Atlas, A. Horowitz, M. Krichevly y K.A. Bej. Response of microbial population to environmental disturbance. *Microbiol. Ecol.* 22, 249-256 (1991).
3. J.G. Leahy y R.R. Colwell. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiol. Rev.* 54: 305-315 (1990).
4. K.M. Sugiera, M. Ishihara, T. Shimauchi, y S. Harayama. Physicochemical properties and biodegradability of crude oil. *Environ. Science Technol.* 31: 45-51 (1997).
5. M.C. Rivera Cruz, R. Ferrera Cerrato, V. Volke Haller, R. Rodríguez Vázquez y L. Fernández Linares. Adaptación y selección de microorganismos autóctonos en medios de cultivo enriquecidos con petróleo crudo. *Terra.* 423-434 (2002).
6. G. Wang, G. Ming Zhu y Ch. Guang. Screening and characterization of petroleum-degrading bacterium. *African J. Biotechnol.* 11(45), 10388-10394, (2012).
7. M. Auffret, D. Labbe, C. Thoudand, Ch. W. y F. Fayolle-Guichard. Degradation of a mixture of hydrocarbons, gasoline, and diesel oil additives by *Rhodococcus aetherivorans* and *Rhodococcus wratislaviensis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 5(24): 7774-7782 (2009).
8. I. Saadouni, M. Awawdeh, Z. Jaradat y Q. Ababneh. Growth of *Streptomyces* spp. from hydrocarbon-polluted soil and their analysis for the presence of alkane hydroxylase gene (alkB9 by PCR. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24: 2191-2198 (2008).
9. J. K. Nduka, L. N. Umeh, I. O. Okerulu, L. N. Umedum y H. N. Okoye. Utilization of Different Microbes in Bioremediation of Hydrocarbon Contaminated Soils Stimulated With Inorganic and Organic Fertilizers. 2(3), *J Pet Environ Biotechnol* 2012, 3:2. <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7463.1000116>.
10. S. Farag y N.A. Soliman. Biodegradation of Crude Petroleum Oil and Environmental Pollutants by *Candida tropicalis* Strain. *Brazilian Arch. Biol. Technol.* 54(4): 821-830, (2011).
11. I. Acosta-Rodríguez, M.G. Moctezuma-Zárate, J.F. Cárdenas-González y J. Tovar-Oviedo. Aislamiento e identificación de bacterias y levaduras tolerantes a petróleo. *Inv. Tecnol.* 22(6): 103-110 (2011).
12. A. Husaini, A., H. Hussain, S. Muld, K.C. Liew y H.A. Roslan. Biodegradation of aliphatic hydrocarbon by indigenous fungi isolated from used motor oil contaminated sites. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24: 2789-2797 (2008).

13. K.L. Lee, H.R. Buckely y C.C. Campbell. An amino acid liquid synthetic medium for the development of mycelial and yeast forms of *Candida albicans*. J. Med. Vet. Micol. 13, 145-153 (1975).
14. R. López Martínez, L.J. Méndez Tovar, F. Hernández y L.R. Castañon. R. *Hongos contaminantes comunes en el Laboratorio. En Micología Médica. Procedimientos para el diagnóstico de Laboratorio*, 2ª. Ed. Trillas. pp 137-148. México (2004).
15. E.W. Koneman, S.D. Allen, V.R. Dowell, W.M. Janda, H.M. Sommers y W.C. Winn. *Diagnóstico Microbiológico. Texto y Atlas color*, 5a. Ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. 203-250. (2002).
16. F.W. Janssen, R.M. Kerwin y H.W. Ruelius. in: *Methods in Enzymology*, vol. XLI, Academic, London, UK, 364–369. (1975).
17. O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr y R.J. Randall. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193, 265-275. (1951).
18. R. Argumedo-De Lira, A. Alarcón, R. Ferrera-Cerrato y J.J. Peña Cabriales. El género fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánicos e inorgánicos. Rev. Int. Cont. Amb. 25 (4), 257-269 (2009).
19. Y. Alvarado-Caudillo, J.C. Barvo Torres, V. Zazueta Novoa, H. Silva Jiménez, J.C. Torres Guzmán, J.F. Gutiérrez Corona y R. Zazueta Sandoval. Presence and physiologic regulation of alcohol oxidase activity in an indigenous fungus isolated from petroleum-contaminated sites. Appl. Biochem. Biotechnol. 98-100, 243-255 (2002).
20. A. Durón-Castellanos, V. Zazueta Novoa, H. Silva Jiménez, Y. Alvarado caudillo, E. Peña Cabrera y R. Zazueta Sandoval. Detection of NAD<sup>+</sup>-dependent alcohol dehydrogenase activities in YR-1 strain of *Mucor circinelloides*, a potential bioremediator of petroleum contaminated soils. Appl. Biochem. Biotechnol. 121, 121-124 (2005).
21. H. Silva-Jiménez, V. Zazueta Novoa, A. Durón Castellanos, C. Rodríguez Robelo, C.A. Leal Morales y R. Zazueta Sandoval. Intracellular distribution of fatty alcohol oxidase activity in *Mucor circinelloides* YR-1 isolated from petroleum contaminated soils. Antonie van Leeuwenhoek. 96, 527-535 (2009).

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Actividades extracurriculares 150, 151, 156, 158, 159, 160, 161, 162

Agentes inteligentes 77

Aprovechamiento 65, 77, 78, 79, 97, 99, 100, 103, 198

### B

Biorremediación 89, 90, 91

### C

Calentamiento global 17

Cambio climático 97, 98, 99, 105

Classroom 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 147, 148, 149

Competencias profesionales 107, 111, 112, 117, 118, 121, 150, 151, 152, 163, 164

Concrete 1, 6, 47, 64

Consumo de recursos 65

Corriente Directa CD 17

### D

Diseño de experimentos 165, 168, 177

### E

Educación superior 65, 66, 67, 74, 76, 107, 110, 111, 112, 114, 116, 118, 119, 120, 121, 162

Electroválvulas 77, 81, 83, 84, 85, 87

Emisiones de Co2 102, 103

Estado del arte 198, 199

### F

Fiber 1, 6

Flujo de materiales 65

Formación tecnológica 66, 67, 72, 107, 115

### G

GEI 97, 99, 101, 105

Geotermia somera 97, 98, 100, 101, 103, 104, 105

### H

Hongos 89, 90, 91, 96

Humedad relativa 3, 165, 166, 168, 170, 171, 173, 176

## I

Índice de consumo 165, 167, 169, 170, 171, 174, 175, 176, 177

Ingeniería industrial 8, 33, 44, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 157, 178

## L

Lógica difusa 80, 84

## M

Motor jaula de ardilla 26

Motor síncrono 26, 27, 28, 29, 30, 31

Motor trifásico 26

Movilidad 92, 191, 194, 198, 199, 200, 204, 206

Movilidad eléctrica 198, 199

## O

Observation 137, 138, 139, 140, 148

## P

Patinetas eléctricas 198, 199, 200, 202, 210

Pensamiento numérico 122, 135

Pensamiento variacional 122, 123, 135, 136

Petróleo 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95

Plan por competencias 150, 151, 156, 159

Polypropylene 1, 6

Prelosa- preesforzada 46

Proceso de secado 165, 166, 167, 170

## Q

Qualitative research 137, 149

## R

Radiación 17, 20, 23, 24

Reciclaje 65, 73

Reinforced 1, 6, 7, 47

Resolución de problemas 122, 123, 124, 132, 133, 134, 135

Reutilización 65, 73, 74, 77, 79, 83, 84, 85, 86, 204

## S


Sensores de nivel 77, 81, 82, 85


Solar 17, 18, 19, 20, 22, 23, 25, 75

Students 122, 123, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 150



Entre  
CIENCIA  
e  
INGENIERIA  
3


[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br) 

[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br) 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

[www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br) 





Entre

# CIENCIA

e

# INGENIERIA

# 3

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br) 

[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br) 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

[www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br) 