



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Determinación de la concentración óptima de microorganismos eficientes (EM) Compost, para la biodegradación de petróleo crudo en suelos contaminados

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Ingeniero Ambiental

AUTORES:

Alejandria Peralta, Neils Patrik (orcid.org/0000-0001-6524-2914)

Santos Crisanto, Kenyo Aldair (orcid.org/0000-0002-0902-6501)

ASESOR:

Dr. Ponce Ayala, José Elías (orcid.org/0000-0002-0190-3143)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Calidad y Gestión de los Recursos Naturales

LÍNEA DE RESPONSABILIDAD SOCIAL UNIVERSITARIA:

Desarrollo sostenible y adaptación al Cambio Climático

CHICLAYO — PERÚ

2022

Dedicatoria

A Dios en primer lugar por cuidarnos y guiarnos en nuestro caminar.

A nuestros padres, por habernos formado valores a lo largo de nuestras vidas y apoyarnos a poder culminar con nuestros estudios y sobre todo a nuestras familias, que es la base de nuestra carrera, nos formó a ser personas de bien, por brindarnos su confianza dándonos fuerzas y ánimos para poder seguir con nuestra investigación.

Neils Patrik y Kenyo Aldair

Agradecimiento

A la Universidad César Vallejo, por habernos dado la oportunidad de estudiar en su prestigiosa casa de estudio, la carrera de Ingeniería Ambiental, por brindarnos enseñanza de primera que me ha impulsado a seguir estudiando y lograr ser profesionales de bien.

A nuestros padres por su apoyo incondicional en cada etapa de nuestra tesis, por su confianza y sus sabios consejos a poder seguir estudiando alcanzando cada uno de nuestros objetivos.

Al Dr. José Elias Ponce Ayala por su paciencia, y por compartirnos sus conocimientos los cuales nos han ayudado a culminar satisfactoriamente nuestro trabajo de investigación.

Neils Patrik y Kenyo Aldair

Índice de contenidos

Carátula.....	i
Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento	iii
Índice de contenidos	iv
Índice de tablas.....	v
Índice de figuras.....	vi
Resumen	vii
Abstract.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO	4
III. METODOLOGÍA.....	9
3.1 Tipo y diseño de investigación	9
3.2 Variables y operalización.....	9
3.3 Población, muestra y muestreo	10
3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	11
3.5 Procedimiento	11
3.6 Método de análisis de datos	12
3.7 Aspectos éticos	12
IV. RESULTADOS	13
V. DISCUSIÓN	18
VI. CONCLUSIONES.....	22
VII. RECOMENDACIONES.....	24
REFERENCIAS	25
ANEXOS.....	30

Índice de tablas

Tabla 1. <i>Características físicas del suelo</i>	13
Tabla 2. <i>Características climatológicas</i>	13
Tabla 3. <i>Especies de fauna silvestre en estadio de conservación</i>	14
Tabla 4. <i>Especies de flora silvestre en estado de conservación</i>	14
Tabla 5. <i>Concentraciones de las muestras</i>	15

Índice de figuras

<i>Figura 1.</i> Porcentaje de biodegradación de los tratamientos	16
<i>Figura 2.</i> Tratamientos con mayor biodegradación	17

Resumen

Los microorganismos eficientes (EM) compost, para la biodegradación de petróleo crudo en suelos contaminados, utilizando los (EM) compost, en diferentes concentraciones 25%, 50% y 75%; para esto se realizó un proceso de (Activación - Reactivación); como escenario de estudio se tomó al caserío de Sequion, ya que un reciente caso de derrame de petróleo se presentó en sus exteriores. La muestra extraída se tomó, a través de la técnica calicata recolectando 20 kg de suelo, para cada uno de los tratamientos y repeticiones, la cual se ejecutó en cubetas 2 kg por muestra, llegando a inyectar 10 ml de (EM) compost diarios, posteriormente se analizó la concentración inicial y final de aceites y grasas, mediante un proceso de laboratorio. Los tratamientos efectuados se analizaron mediante el método de soxhlet, en las cuales se pudo determinar el tratamiento con mayor biodegradación. Los resultados indican que el T1-25% obtuvo un máximo de 15.3 % de biodegradación, mientras que el T2-50% obtuvo un máximo de 23.4. % de biodegradación, finalmente el T3-75% obtuvo un máximo de 31.8 % de biodegradación, siendo necesario precisar que mediante el desarrollo de esta investigación se identificó como el mejor tratamiento de dosis para biodegradar petróleo crudo.

Palabras clave: Petróleo crudo, microorganismos eficientes, tratamientos.

Abstract

The efficient microorganisms (EM) compost, for the biodegradation of crude oil in contaminated soils, using the (EM) compost, in different concentrations 25%, 50% and 75%; for this, a process of (Activation - Reactivation) was carried out; The Sequion hamlet was taken as the study scenario, since a recent case of an oil spill occurred outside. The extracted sample was taken, through the test pit technique, collecting 20 kg of soil, for each of the treatments and repetitions, which was executed in 2 kg buckets per sample, injecting 10 ml of (EM) compost daily, later the initial and final concentration of oils and fats was analyzed, through a laboratory process. The treatments carried out were analyzed using the Soxhlet method, in which the treatment with the highest biodegradation could be determined. The results indicate that T1-25% obtained a maximum of 15.3% biodegradation, while T2-50% obtained a maximum of 23.4. % biodegradation, finally T3-75% obtained a maximum of 31.8% biodegradation, it being necessary to specify that through the development of this research it was identified as the best dose treatment to biodegrade crude oil.

Keywords: Crude oil, efficient microorganisms, treatments.

I. INTRODUCCIÓN

El presente trabajo de investigación se basa en el uso de microorganismos eficientes (EM) Compost, como una alternativa biológica para la biodegradación de petróleo crudo (PC) en suelos contaminados, ya que en la actualidad a pesar de los avances tecnológicos, se generan casos de derrames de PC en diferentes partes del mundo; esto afecta directamente a los ecosistemas silvestres del área de influencia, en su mayoría de casos los derrames se originan a pequeña escala, generando hasta el 72% del total de casos, sin embargo se han ocasionado derramamientos que exceden las 30 toneladas de PC vertido, llegando a ser el 0.1% del total de casos. No obstante, a pesar de que este tipo de casos se producen en bajo porcentaje, generan el 60% del total de PC vertido a nivel mundial (Li P et al., 2016, p.3).

Las acciones antropogénicas representan una de las principales causas de contaminación del suelo a nivel internacional; por lo que un claro ejemplo es el derramamiento de PC, el cual genera efectos en la salud humana tanto a largo plazo como a corto plazo, de acuerdo al tiempo y cantidad expuesto; en cuanto a las causas de los derramamientos de PC, se producen principalmente por: roturas en oleoductos, fugas accidentales, fugas de aguas residuales y tareas de mantenimiento en los yacimientos (Arias, Rivera y Trujillo 2017, p.5).

En la actualidad los derrames de PC, son grandes problemas que se producen en diversas partes del Perú, contaminando principalmente el recurso suelo y agua, pero también al mismo ser humano, por lo que un reciente caso ocurrido en Lima la capital del Perú, llamo la atención de medios locales e internacionales, por la irresponsabilidad de la empresa extractora Repsol, la cual genero el vertimiento PC en las playas del distrito de Ventanilla, afectando a 2,701 hectáreas de suelo cercano al mar (Ministerio del Ambiente 2022, p.4).

El Perú en los últimos años, ha sufrido daños por derrames de PC que han afectado directamente al crecimiento de las plantas, deteriorado la calidad de los suelos, esto provoco enfermedades en los animales y seres humanos expuestos, Un ejemplo claro son los 14 derrames que hubo durante la pandemia en la región de Loreto,

la cual afectó principalmente los suelos agrícolas; por lo que nuestro país no cuenta con un programa eficiente para el tratamiento rápido de este contaminante o derivados (Organismo de Evaluación y Fiscalización Ambiental 2020, p.5).

El Departamento de Loreto, es una de las regiones más afectadas por derramamientos de PC, debido a los accidentes que ocurren en los almacenes u oleoductos de la zona, por lo que en múltiples ocasiones las comunidades de la región, han sido declaradas en emergencia ambiental y sanitaria, generando una exposición permanente de los pobladores, a los residuos peligrosos acumulados en el entorno (Ministerio de Salud 2016, párr.5).

A finales del 2020 se generó un derrame de petróleo en el caserío de Sequión distrito de Olmos – Lambayeque, ocasionando la pérdida de aproximadamente 200 m² de suelo, con fines agrícolas y ganaderos, por lo que 174 pobladores fueron los más afectados, llegando a perder sus áreas de cultivo, ganado ovino, ovejas, gallinas, entre otros. A su vez estos reclaman al estado que asuma responsabilidad de sus actos, ya que la fuga se habría generado en el oleoducto norperuano de la empresa estatal Petroperú (Revista Seminario Expresión 2020, párr.2).

Posteriormente se enmarca la problemática de investigación, por lo que nos planteamos la siguiente interrogante: ¿cuál es la concentración óptima de microorganismos eficientes (EM) compost para la biodegradación de petróleo crudo en suelos contaminados?

La investigación abordada surge a partir de los episodios recientes de derrame de petróleo crudo, en la actualidad el Perú enfrenta graves problemas ambientales que han propiciado daños y perjuicios en diferentes lugares, es por ello que resulta de especial interés conocer las principales medidas de mitigación de los efectos de PC, a través del método de la biodegradación se plantea tratar suelos contaminados con petróleo crudo, ya que este método permite obtener mejores resultados con menores costos, además reducirá drásticamente los riesgo ambientales de otros tipos de tratamientos.

Mediante el desarrollo de la investigación se conocerá el potencial del uso de microorganismos eficientes (EM) compost, para la eliminación de sustancias tóxicas derivadas del PC, con esto se pretende brindar y fomentar la investigación de los microorganismos como una solución ambientalmente factible.

Por ello, esta investigación tiene por objetivo general: determinar la concentración optima de microorganismos eficientes (EM) compost, para la biodegradación de petróleo crudo en suelos contaminados, para lo cual se formularon los siguientes objetivos específicos: describir las características del área de influencia, determinar la concentración inicial y final de petróleo crudo en los tratamientos , calcular el porcentaje de remoción de aceites y grasas en los tratamientos efectuados, determinar la concentración optima de microorganismos eficientes (EM) Compost para la biodegradación de petróleo crudo en suelos contaminados.

Como hipótesis se tiene: Si se determina la concentración óptima de microorganismos eficientes (EM) Compost, entonces se biodegradará el petróleo crudo en suelos contaminados de manera eficiente.

II. MARCO TEÓRICO

Vilasó, et al., (2017); Hakima y Ian (2017); y El-khawaga, et al., (2015) ejecutaron estudios similares con el objetivo de biorremediar suelos contaminados por hidrocarburo (petróleo) usando bacterias del género *Pseudomonas*, los tres artículos trabajaron con la técnica de bioestimulación, llegando a producir diferentes porcentajes de absorción. En el caso de Vilasó, et al. (2017) trabajó con muestras de suelo contaminado extraído de Santiago de Cuba, llegando a usar la especie bacteriana *Pseudomonas aeruginosa*. En cuanto a Hakima y Ian (2017) se laboró con muestras de suelo de la refinería de Petróleo Zawia - Libia, empleando las especies *Pseudomonas putida* y *Bacillus species*.

Finalmente, en cuanto a El-khawaga, et al. (2015) menciona que su investigación trabajó con muestras de suelo del distrito de Mustorod en Egipto, llegando a usar las especies bacterianas: *Pseudomonas aeruginosa* y *Pseudomonas fluorescens*. En conclusión, se obtuvieron distintos resultados de absorción, generando que los microorganismos son una herramienta biológica muy viable, se obtuvieron los siguientes resultados: Vilasó, et al. (2017) obtuvo una extracción máxima del 75% con la especie *Pseudomonas aeruginosa*; Hakima y Ian (2017) obtuvo un 49% máximo de extracción en *Pseudomonas putida* y El-khawaga, et al. (2015) obtuvo un 64.46% de extracción en *Pseudomonas aeruginosa* y un máximo de 55.33 % en *Pseudomonas fluorescens*.

Medina, García y Paricaguán (2014); Ustün, et al. (2016); y Contreras y Carreño (2018) realizaron investigaciones similares con el fin de degradar las concentraciones del petróleo, mediante la utilización de distintas especies y géneros de hongos, en cuanto a Medina, García y Paricaguán (2014) trabajó con el género de hongo *Aspergillus*, y con las especies: *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus terreus*, en un lapso de tiempo de 30 días. Ustun, et al. (2016) durante el desarrollo de su investigación trabajó con la especie de hongo *Aspergillus niger* durante tres tiempos, 30, 65 y 96 días. En cuanto a Contreras y Carreño (2018) identificó 14 especies de hongos filamentosos, con los que trabajó durante 90 días.

En conclusión, los hongos son microorganismos eficientes para la absorción de hidrocarburos por lo que se debe aumentar y fomentar su estudio. En las

investigaciones abordadas se encontraron los siguientes resultados: Medina, García y Paricaguán (2014) obtuvieron un máximo de 85% de remoción; en cuanto a Ustün, et al. (2016) detectó un máximo de 30% de absorción; y finalmente Contreras y Carreño (2018) determinaron un máximo de 73 % de eficiencia.

Ajeel y Mohammed (2017); Ebad et al. (2017) y Almamoori et al. (2018) elaboraron investigaciones similares con distintos consorcios bacterianos, trabajando principalmente con la especie *Pseudomonas aeruginosa*, ya que esta puede crecer fácilmente en suelos contaminados por hidrocarburos, los autores trabajaron en distintos tiempos, temperaturas y dosis de aplicación. Por lo que Ajeel y Mohammend (2017) recolectaron sus muestras en las zonas cercanas a las refinerías de Irak, logrando identificar y aislar la especie *Pseudomonas aeruginosa*, en cuanto al método de trabajo se desarrolló por biodegradación.

Ebad et al. (2017) trabajó su experimentación con muestras contaminadas extraídas de Irán, por lo que se reconoció y aisló la especie *Pseudomonas aeruginosa*, debido al mayor crecimiento que presentaba sobre las otras especies nativas, igualmente se aplicó el método de biodegradación. Almamoori et al. (2018) trabajó con muestras de suelo no contaminado de la región Al – Tajiyah en Irak, llegando a aplicarse de manera controlada dosis de crudo de petróleo, para medir el nivel de absorción de las *Pseudomonas aerya* y los hongos pincelexpandido aplicando el método de degradación.

En conclusión, la especie bacteriana *Pseudomonas aeruginos* y algunas especies de su género, presentan gran capacidad de absorción de hidrocarburos, de igual manera los hongos (pincelexpandido). Los autores obtuvieron los siguientes resultados: Ajeel y Mohammed (2017) obtuvieron un máximo de 82% de absorción con *Pseudomonas aeruginosa*; en cuanto a Ebad et al. (2017) obtuvo un máximo de 39% de absorción con *pseudomonas aeruginos*; y finalmente Almamoori et al. (2018) obtuvo un máximo de 90% de absorción utilizando *Pseudomonas aerya* y hongos *pincelexpandido*.

Mamah et al. (2013); y Jiménez et al. (2018) ejecutaron estudios en Nigeria y México con el fin de evaluar la eficiencia de distintos géneros y especies de consorcios bacterianos, en tanto a Mamah et al. (2013) llegó a reconocer 3 especies bacterianas

nativas (*Enterobacter aerogenes*, *proteus myxofaciens* y *Serratiamarcescens*) que habitaban la berma de la zona estudiada, por lo que posteriormente se procedió a su aislamiento y manipulación, este autor trabajó con un biorreactor.

Mientras que Jiménez et al. (2018) trabajo con distintas especies nativas de la zona estudiada, logrando reconocer un máximo de 10 especies bacterianas, aplicando un método de análisis gravimétrico. En conclusión, los consorcios bacterianos pueden ser cultivados y utilizados para el tratamiento de hidrocarburos, por lo que mientras más especies bacterianas haya mayor será su reproducción, así como también el nivel de biodegradación.

Se tuvo como resultado; en el estudio de Mamah et al. (2013) un máximo de 86% de biodegradación utilizando las especies *Enterobacter aerogenes*, *proteus myxofaciens* y *Serratiamarcescens*; finalmente Jiménez et al. (2018) obtuvo un máximo de 40% de absorción máxima, siendo el tratamiento B el más efectivo el cual cuenta con 9 especies bacterianas.

Cruz y Lincango (2021); y Pascal (2020) realizaron trabajos de titulación relacionadas a la temática, en cuanto a Cruz y Licango (2021) realizaron su investigación con suelos contaminados de quito, trabajando con un sistema de biopilas en conjunto con dos especies bacterianas (*Trichoderma sp.* y *Bacillus pumilus*). En cuanto a Pascal (2020) en su estudio empleó microorganismos de estiércol de *Cavia porcellus L.* (cuy) con el fin de evaluar su potencialidad en suelos contaminados por petróleo biodiesel.

Se llegó a la conclusión que los microorganismos son una herramienta biológica con mucho potencial de estudio, ya que permite remediar los suelos con menores costos y mejores resultados. Los resultados obtenidos en el trabajo de Cruz y Lincango (2021) se obtuvo un 65.15% de remoción por *Trichoderma sp* y un 50.68% de remoción por *Bacillus pumilus*. Por otro lado, Pascal (2020) al culminar su investigación identificó a las especies: *Proteus vulgaris*, *Pantoea agglomerans* y *Proteus mirabilis* como potenciales biodegradadores de petróleo biodiesel.

El recurso suelo está formado por minerales de la roca madre con materiales orgánicos que contienen nutrientes y que hacen más fértil al suelo. la cual estas tierras se pueden utilizar para diversos trabajos, entre ellas destaca la agricultura

para el crecimiento de las plantas. Es por ello que la composición del suelo va depender del ambiente donde se desarrolle (Numa 2012, p.2).

Según la Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (2022), el suelo se define como un medio natural para las plantas, la cual también es un componente esencial de los ecosistemas ya que, como resultado del suelo, el medio empieza a tener mayores propiedades químicas, físicas y biológicas (p.8).

La degradación del suelo, se viene contaminando principalmente por el mal manejo de las actividades de los seres humanos. La cual se estima que alrededor de 2. 000 millones de hectáreas en todo el mundo sufre el deterioro a consecuencia de los diferentes impactos ambientales, entre ellos están la utilización de fertilizantes que contienen metales pesados, como también los derramamientos de PC provocados por las empresas petroleras. (Sociedad Peruana de Derecho Ambiental, 2022)

Los Microorganismos Eficientes están compuestos por tres tipos de organismos como (bacterias ácido lácticas, bacterias fotosintéticas y levaduras), la cual estos se ejecutan con una sinergia metabólica beneficiándose de los demás nutrientes que otros desatan para ser aprovechados por el compost, es por ello que su contenido es de suma importancia (Ñaupari 2015, p.4).

Las Bacterias Ácido Lácticas, tienen una capacidad para ejecutar modificaciones alimenticias asociado con las fermentaciones, es por ello que son capaces de esquematizar un sin números de metabolismos fundamentales para el beneficio del ser humano (Sáenz 2008, p.1).

Las Fotosintéticas son bacterias que para crecer tienen energía a través de la fotosíntesis, la cual obtienen microorganismos productores primarios que pueden hacer aprovechados como tratamiento en diferentes problemas de contaminación de suelos de PC. (Villas, 2019, p.2).

Las Levaduras se encuentran como factor principal en las preparaciones de los microorganismos eficientes (EM), ya que contiene diferentes bandejas de carbono como la (sacarosa, galactosa, glucosa, alcohol, suero hidrolizado, maltosa, en las cuales son encargadas de modificar a partir de aminoácidos y carbohidratos, raíces sustancias antimicrobianas y materia orgánica. (Ojokoh, 2014, p.3).

El petróleo crudo es una de los principales problemas ambientales que se genera en la actualidad por sus derrames provocados en diferentes partes del mundo, la cual este PC es de muy mal aspecto por su color que presenta de color negro que está compuesto a base de hidrocarburos, como también impurezas hechas a base de nitrógeno, sales, azufre y etc. (Manuel, 2015).

Ministerio de la salud (2020), nos señala que los derrames o fugas de PC, provocan daños a la salud humana, ya que puede generar alteraciones en el cuerpo como la (Irritación de piel, Cefalea, Náuseas, Irritación de ojos, Mareos o cualquier síntoma vinculado con hidrocarburos (p,5).

III. METODOLOGÍA

3.1 Tipo y diseño de investigación

Tipo de Investigación

La investigación fue de tipo aplicada, ya que según Weismayer (2021) permite solucionar problemáticas de la sociedad utilizando la ciencia como principal herramienta, además se caracteriza por usar el conocimiento de investigaciones similares, con el fin de obtener nueva información que ayude a encontrar nuevas soluciones (p.5). Mediante esta investigación se buscó obtener la concentración óptima de microorganismos eficientes (EM) Compost, para obtener una mayor biodegradación de petróleo crudo en los suelos contaminados.

Diseño de Investigación

El diseño de la investigación será cuasi experimental, ya que este posee todas las características de un experimento, sin embargo, la toma de muestra no se realiza de forma aleatoria, de modo que el investigador puede escoger un escenario de estudio, con el fin de calcular o encontrar el impacto de un programa o tratamiento efectuado en un área determinada (Bone 2012, p.3). De modo que esta investigación buscará efectuar múltiples tratamientos en diferentes concentraciones, trabajando con un área de suelo determinado, con el fin de identificar y proponer la concentración óptima de microorganismos en base a su biodegradación.

3.2 Variables y operalización

Variable Independiente:

- Dosis de Microorganismos Eficientes (EM) Compost

Los microorganismos eficientes (EM) Compost son principalmente utilizados para mejorar la calidad del suelo, ya que son productos líquidos, que contienen más de ochenta clases de microorganismos aeróbicos y anaeróbicos (Ñaupari 2015, p 6).

Variable Dependiente:

- Biodegradación de Petróleo Crudo

La biodegradación es un proceso físico, químico o biológico, capaz de disminuir cantidades significativas de contaminantes por hidrocarburos, como el petróleo crudo (Zárate 2015. p 6).

Operacionalización

Anexo 1: Operalización de variables.

3.3 Población, muestra y muestreo**Población**

Para esta investigación, se tomó como población el área del suelo afectado por el derramamiento de PC, ocurrido a exteriores del caserío de Sequión, distrito de Olmos – Lambayeque.

Muestra

Se tomó 20 kg de suelo contaminado en un área determinada a criterio de los autores, se tomaron 10 muestras, las cuales fueron extraídas en una calicata de 1.5 metros de largo, 1.0 metro de ancho y 1.0 metros de profundidad y se utilizó 2 kg de suelo por tratamiento.

Muestreo

Se aplicó un muestreo no probabilístico por conveniencia, ya que según Izquierdo (2015) esta técnica se utiliza cuando el autor elige una población determinada, permitiendo un análisis de datos eficientes y fácil de desarrollar, sin embargo, puede presentar sujetos de estudio desconocidos en el fenómeno estudiado (p.4).

Además, se utilizó un muestreo de identificación de acuerdo a la “Guía de muestreo de suelos contaminados” del Ministerio del Ambiente del Perú 2014, ya que este tipo de muestreo se encarga de investigar la presencia de contaminantes y parámetro como aceites y grasas con el fin de determinar los valores de contaminación.

3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se empleó la técnica de análisis documental, con el fin de recopilar y agrupar información relevante de investigaciones similares, estos datos se obtuvieron de diferentes fuentes y autores de confianza. Según Salazar y Torbon (2018), esta técnica recopila datos en distintas fuentes de información agrupándolas de acuerdo a su conveniencia o necesidad, con el fin de generar nuevos y actuales conocimientos (p. 5).

También se utilizó la técnica de la observación, ya que para Chagoya (2008), esta se orienta en un fin determinado, por lo que el investigador debe tener conocimiento del proceso a desarrollar, con el propósito de reconocer las características del fenómeno estudiado (p.5).

3.5 Procedimiento

Activación de los (EM) compost

Para la activación de la solución testigo se utilizó un balde de 20 L, melaza 3 L y soya 2 ½ kg, como también para la solución madre un balde de 20 L, melaza 3 L, soya 2 ½ kg y (EM) compost 1 L, la cual se rellenó con agua en el balde mencionado anteriormente, y finalmente se dejó fermentar por 7 días.

Reactivación de los (EM) compost

Seguidamente, después de la activación se preparó 3 tratamientos en diferentes concentraciones: 25%, 50% y 75%. Los cuales fueron agregados en un recipiente con 1 Kg de melaza y 10 L de agua, con el fin de aportar nutrientes necesarios para el correcto desarrollo y reproducción de los microorganismos, tanto aeróbicos como anaeróbicos.

Inoculación de los (EM) compost

- Esterilizar las placas petri (160°C x 15 min).
- Disolver 200ml de agar nutritivo mediante el método de baño maría utilizando un matraz de 250ml, posteriormente se llevó a la cocina de laboratorio por 5 min.
- Se Colocó el matraz con agar nutritivo en la autoclave a (121°C x 30 min).

- Se codificó la placa petri de acuerdo a cada concentración: T1 - 25% con tres repeticiones, T2 – 50% con tres repeticiones, y T3 – 75% con tres repeticiones.
- Se agregó 15 ml de agar nutritivo por placa petri.
- Se inyectó 1 ml de microorganismos eficientes (EM) Compost en las placas petri.
- Finalmente, se aislaron las unidades formadoras de colonias en una estufa a 37°C x 14 días).

Aplicación de microorganismos (EM) compost

Se colocó 2 kg de suelo contaminado por bandeja, llegando a formar 9 unidades experimentales, con 3 concentraciones diferentes, en 3 repeticiones. Por lo que, durante 30 días, se aplicaron 10 ml de microorganismos eficientes (EM) compost diariamente, utilizando la técnica de la hipodérmica como medio de inyección.

3.6 Método de análisis de datos

Para el procesamiento de datos se usó el software Microsoft Excel, el cual permite generar gráficos y tablas de acuerdo a los resultados obtenidos, esto favorece el mejor entendimiento de la temática desarrollada. Por lo que mediante los datos de laboratorio se determinó el tratamiento con mayor eficacia de biodegradación.

3.7 Aspectos éticos

En la presente investigación “Determinación de la concentración óptima de microorganismos eficientes (EM) Compost, para la biodegradación de petróleo crudo en suelos contaminados”, se trabajó con la norma ISO 690, 0 para la recopilación y recolección de información de cada cita bibliográfica, con respectivas fuentes de confiabilidad, la cual las informaciones recopiladas no se alteró la idea del autor respetando su ética y valores sobre sus estudios realizados.

IV. RESULTADOS

Descripción de las características del área de influencia.

Tabla 1. *Características físicas del suelo*

Peso de Muestra	20 kg
Textura	Franco arenoso
Color	Marrón pálido
pH	8.22
Conductividad Eléctrica (CE)	166.66 S/cm

Fuente: elaboración propia

Según se observa en la Tabla N° 01, las muestras de suelo extraídas del caserío de Sequión, presentaron distintas características como la textura, la cual fue franco arenoso con un color marrón pálido, mediante el uso de un equipo multiparámetro se obtuvo un pH de 8.22 y una conductividad eléctrica de 166.66 Siemens/centímetro, seguidamente se tomó 20 kg de muestra, llegando a utilizar 2kg de suelo por cada tratamiento, realizando 3 repeticiones con el fin de medir su biodegradación.

Tabla 2. *Características climatológicas*

Clima	Tropical seco
Temperatura	31°C – 34 °C
Humedad relativa	59%
Precipitación mínima	15 mm
Precipitación máxima	158 mm

Fuente: elaboración propia

Según la tabla N° 02, el caserío de sequión posee un clima tropical seco, lo que genera un hábitat natural para distintas especies de flora y fauna silvestres, además cuenta con una temperatura que oscila los 31°C - 34 °C, con una humedad relativa de 59%, además presenta una precipitación mínima de 15 milímetros y una precipitación máxima de 158 milímetros.

Tabla 3. *Especies de fauna silvestre en estadio de conservación*

	Nombre común	Nombre científico
Mamíferos	Pava aliblanca	Penelope albigennis
	Puma Andino	Puma concolor
	Zorro costero	Lycalopex sechurae
	Zorrillo	Mephitidae
	Hurón	Mustela putorius furo
	Ardilla blanca	Sciurus stramineus
Aves	Chilalo	Furnarius cinnamomeus
	Paloma cuculí	Zenaida meloda
	Picaflor	Trochilidae
	Loro	Psittacoidea
	Gorrión	Passer domesticus
	Tórtola	Zenaida auriculata
Reptiles	Iguana	Iguanidae
	Lagartija	Lacertilia
	Serpiente	Ophidia

Fuente: elaboración propia

De acuerdo con la tabla N° 03, existen distintas especies de fauna silvestre en la zona de influencia, resaltando la pava aliblanca como la especie de conservación regional, a su vez también cuenta con otros mamíferos de importancia, como el puma andino y el zorro costero. En cuanto a las aves el chilalo es la especie más representativa de la zona. Finalmente, en cuanto a los reptiles, se pueden encontrar especies comunes en zonas cálidas, como: iguanas, lagartijas y serpientes.

Tabla 4. *Especies de flora silvestre en estado de conservación*

Familia	Especie	Nombre común
Fabaceae	<i>Ceratonía siliqua; L</i>	Algarrobo
Fabaceae	<i>Parkinsonia aculeata</i>	Azote de cristo
Fabaceae	<i>Vachellia macracantha</i>	Faique
Anacardiaceae	<i>Loxopterygium huasango</i>	Hualtaco
Burseraceae	<i>Bursera graveolens</i>	Palo santo
Caricaceae	<i>Vasconcellea parviflora</i>	Papaya silvestre
Bignoniaceae	<i>Cordia lutea</i>	Overo

Fuente: elaboración propia

De acuerdo con la tabla N° 4, se identificaron distintas especies de fauna silvestre, resaltando al algarrobo “*Ceratonía siliqua*; L”, como la especie más abundante de la zona, a su vez también se encontraron especies comunes de la región como: azote de cristo, faique, hualtaco, palo santo, papaya silvestre, overo, entre otros.

Determinación de la concentración inicial y final de petróleo crudo.

Tabla 5. Concentraciones de las muestras

RESULTADOS DE LABORATORIO		
TRATAMIENTO	REPETICIONES	ACEITES Y GRASAS
T1 – 25 %	R1	4585.57 ppm
	R2	4658.60 ppm
	R3	4760.56 ppm
T2 – 50 %	R1	4145.35 ppm
	R2	4334.23 ppm
	R3	4258.56 ppm
T3 – 75 %	R1	3876.45 ppm
	R2	3689.78 ppm
	R3	3923.45 ppm
T4	Testigo	5415.39 ppm

Fuente: elaboración propia

Según se observa en la tabla N° 5, la concentración inicial de aceites y Grasas es representado por T4 con un valor de 5415.39 ppm, en base a este dato se efectuaron 9 tratamientos durante 30 días, inyectando 10 ml de (EM) compost en diferentes concentraciones. En cuanto a las concentraciones finales de las muestras, se observa que el T1-25% tuvo mayor biodegradación es el de R1 con una concentración de 4585.57 ppm, en el T2-50% obtuvo mayor biodegradación es el R1 con una concentración de 4145.35 ppm y finalmente en el T3-75% el cual obtuvo más biodegradación es el R3 con una concentración de 3689.78 ppm.

Calcular el porcentaje de biodegradación de aceites y grasas en cada muestra analizada

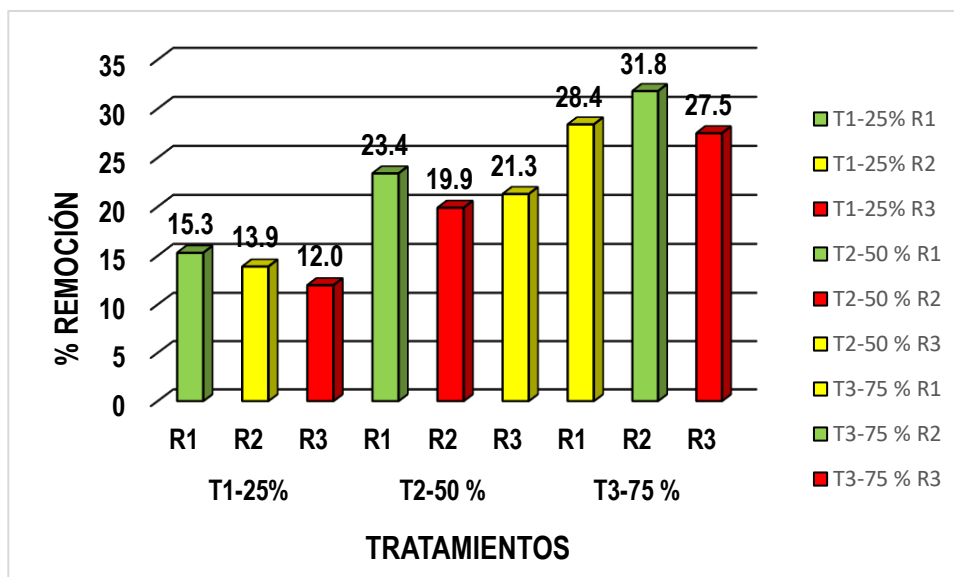


Figura 1. Porcentaje de biodegradación de los tratamientos

En la figura N°01, se observa el porcentaje de biodegradación de los tratamientos efectuados (T1-25% - T2-50% - T3-75%), efectuando 3 repeticiones por concentración, esto con el propósito de obtener datos con mayor confiabilidad, es por ello que se calculó el porcentaje biodegradación de cada repetición efectuada, para así determinar cuál fue la concentración óptima de (EM) compost, por lo que se encontró un mayor grado de biodegradación al 75% de activación.

Determinación de la concentración óptima de microorganismos eficientes (EM) Compost, para la biodegradación de petróleo crudo en suelos contaminados

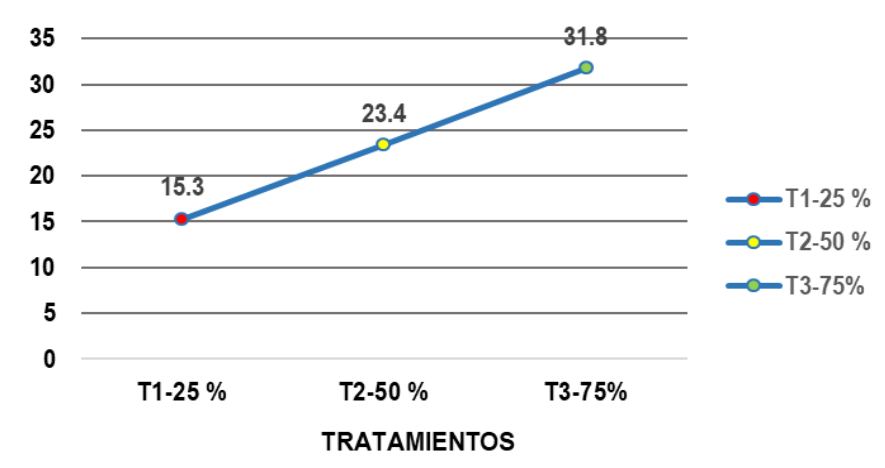


Figura 2. Tratamientos con mayor biodegradación

En la figura N°02, de acuerdo a los valores obtenidos se tomaron los tratamientos con mayor porcentaje de biodegradación, determinando que el T1-25% obtuvo un máximo de 15.3 % de remoción de aceites y grasas, mientras que el T2-50% obtuvo un máximo de 23.4. % de remoción, finalmente el T3-75% obtuvo un máximo de 31.8 % de remoción, siendo necesario precisar que mediante el desarrollo de esta investigación se identificó al T3 - 75%, como el mejor tratamiento para biodegradar petróleo crudo en suelos contaminados.

V. DISCUSIÓN

En base a los resultados del primer objetivo, describir las características del área de influencia, se realizó una búsqueda en diversas bases de datos como: Scopus, Web of science, scielo, google académico y repositorios universitarios; con el fin de comparar los resultados encontrados con otras investigaciones similares, este objetivo se desarrolló mediante el uso de tablas, las cuales describen las características físicas del suelo, características climatológicas, especies de fauna silvestre en estado de conservación y especies de flora silvestre en estado de conservación.

Se extrajo 20 kg de muestra, la cual fue repartida en 9 masetas con 2 kg por tratamiento, mediante el uso de un equipo multiparámetros se determinó el pH con un valor de 8.22 con una conductividad eléctrica de 166.66 S/cm. Se identificó una textura de suelo franco arenosa, de color marrón pálido. Mientras que en investigaciones similares según Vilasó, et al., (2017); Hakima y Ian (2017); y El-khawaga, et al., (2015) realizaron investigaciones referentes a la biodegradación de hidrocarburos, principalmente en petróleo crudo, usando bacterias del género *Pseudomonas* como biodegradadoras, todos los autores utilizaron la técnica de la bioestimulación, cada investigación fue realizada con suelo extraído de diversas partes del mundo.

Vilasó, et al., (2017) utilizó suelo de Santiago de Cuba, mientras que Hakima y Ian (2017); utilizo suelo de las refinerías de libia y finalmente El-khawaga, et al., (2015) trabajo con suelo del distrito de Mustorod en Egipto. En cuanto a la investigación de Vilasó, et al., (2017) trabajo con distintos pH, (4, 7, 9 y 12), además este midió otros parámetros como: la temperatura de exposición que fue de 15 °C, 32.50 °C y 50 °C y el tiempo de contacto de los microorganismos, la cual fue de: 30 min, 45 min y 60 min; este estudio mide el efecto de la exposición de *Pseudomonas aeruginosa* a distintos pH, temperatura y tiempo de contacto. Con el fin de determinar el mejor medio de cultivo, para una mayor biodegradación de petróleo crudo.

En cuanto a Hakima y Ian (2017) realizó un análisis físico químico a sus muestras de estudio, por lo que determinó que el suelo presenta una textura arenosa, con un pH de 7.64; este realizo un estudio con mayor énfasis en su suelo, determinando que

presenta un 76,8 % de arena, 7.9 % de arcilla y 15.3 % limo. Trabajando con 3 especies bacterianas previamente aisladas, que son *Pseudomonas putidas*, *Betaproteobacterium* y *Actinomyces*.

Finalmente, para El-khawaga, et al., (2015) trabajó con suelo contaminando del distrito de eL-kaliobia gobernación – Egipto, trabajando con distintos pH (5, 6, 7 y 8), ya que estos varían el crecimiento de los consorcios bacterianos aislados. También se midieron otros parámetros como la temperatura, la cual fue de 25 °C -30 °C; a su vez se estudió la concentración de aceites de petróleo (HTP) y la velocidad de agitación.

De acuerdo con los resultados del segundo objetivo, determinación de la concentración inicial y final de petróleo crudo, se seleccionaron distintos autores que trabajan con distintos microorganismos, con el fin de comparar las semejanzas y diferencias de las investigaciones, en esta investigación se trabajó con las concentraciones de aceites y grasas totales como parámetro de medición, por lo que se obtuvo una concentración inicial de 5415.39 ppm.

Posteriormente se aplicó 10ml/día de (em) compost en diferentes concentraciones (25%, 50%, 75%) durante 30 días. Pasado este tiempo se volvió a medir las concentraciones de aceites y grasas; resaltado a la R3-25% con una concentración final de 4760.56 ppm, seguida de la R2-50% con una concentración final de 4334.23 ppm y la R3-75% con una concentración final de 3923.45 ppm, siendo este el mejor tratamiento.

En cuanto a Ustün, et al. (2016) trabajó con hongos de la especie *Aspergillus nigerpara*, para biodegradar hidrocarburos totales de suelos contaminados, por lo que midió su porcentaje de biodegradación mediante el parámetro de hidrocarburos totales (HTP), encontrando como concentración inicial 48300 ppm de hidrocarburos totales, y como concentraciones finales se encontró: 44630 ppm, 46220 ppm, 45640 ppm, 44460 ppm, 47930 ppm y 33600 ppm.

Mientras que en la investigación realizada por Ebad et al. (2017), menciona un cambio en su metodología de trabajo, ya que estos realizaron inyecciones controladas de petróleo crudo y además adhirieron cloruro de sodio; llegando a colocar de 10 a 30 g/kg de petróleo crudo en las muestras de suelo, en cuanto a la

dosis de cloruro de sodio se añadió de 0.150 a 300 mm, en esta investigación se midió la biodegradación de hidrocarburos mediante el uso de un consorcio bacteriano de cepas de la especie *Pseudomonas aeruginosa*.

Seguidamente Medina, García y Paricaguán (2014) mencionan que aplicaron una metodología de cálculo de hidrocarburos totales (HTP) sin embargo, este midió las concentraciones iniciales y finales mediante sus porcentajes, llegando a encontrar 1.61% y 1.57% de (HTP) como concentraciones iniciales, para esto el autor utilizó la técnica de gravimetría, seguidamente se agregó un consorcio autónomo de hongos pertenecientes al género *Aspergillus*, los cuales estaban conformados por especies como: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* y *Aspergillus terreus*.

Llegando a efectuar 4 mediciones luego de obtener la concentración inicial, encontrando los valores de 0.56 % HTP y 0.54% HTP a los 7 días; seguidamente se realizó una segunda medición a los 14 días, obteniendo un 0.35 % HTP y 0.34% HTP; en la tercera medición se encontró valores de 0.27% HTP y 0.26% HTP a los 21 días; finalmente a los 30 días se encontró la mayor degradación obteniendo valores de 0.24 % HTP y 0.23 HTP, el autor menciona que la biodegradación sigue su curso sin embargo no se efectuaron más pruebas pasados los 30 días.

Para el desarrollo de nuestro tercer objetivo, se estudió el porcentaje de remoción de los microorganismos eficientes (EM) compost, en sus diferentes concentraciones de activación 25%, 50% y 75%, durante 30 días y aplicando una sola medición, llegando a obtener un máximo de 27.50 % de biodegradación al 75 % de activación, mientras que al 50% obtuvo un máximo de 19.90% de biodegradación y finalmente al 25% obtuvo un máximo de 12 % de biodegradación. Por lo que esta investigación obtuvo una concentración óptima de microorganismos eficientes (em) compost al 75% de activación, obteniendo un máximo de 27.50 % de remoción de aceites y grasas en suelos contaminados.

Mientras que otras investigaciones según almamoori et al. (2018) realizó un tratamiento de suelos contaminados por hidrocarburos aromáticos, mediante el uso de consorcios bacterianos, este autor trabajó con bacterias aisladas de la especie *Pseudomonas aeruginosa* y hongos del género *Penicillium expansum*, obteniendo distintos porcentajes de biodegradación. Como máximo de obtuvo un 90% de

remoción de hidrocarburos aromáticos, el autor resalta que el uso de consorcios bacterianos con distintas especies de microorganismos, presentan mejores resultados que el uso de una sola especie o genero de bacteria u hongo.

Por lo que aplicó 3 mediciones, las cuales fueron a los 15 días, 30 días y 45 días. Por lo que el mejor porcentaje de remoción se dio a los 45 días, sin embargo, a los 30 días presento un 65 % de remoción de hidrocarburos aromáticos y a los 15 días obtuvo un máximo de 48% de remoción; otros autores encontraron distintos resultados como Medina, García y Paricaguán (2014) quien aplico 4 mediciones, obteniendo un máximo de remoción de 85% mediante el uso de microorganismo autónomos, además este obtuvo otros porcentajes de remoción a los 7 días obtuvo un 65,22%, mientras que a los 14 días obtuvo un 78.26 de remoción, seguidamente a los 21 días se obtuvo un 83.23 % de remoción. La investigación obtiene su máximo porcentaje de remoción a los 30 días con 85% de remoción de petróleo.

En el trabajo de titulación de Cruz y Lincango (2021), menciona que aplico microorganismos del género *Tichoderma* sp y *Bacillus pumilus* durante su investigación, llegando a inyectar dos concentraciones 10000 ppm y 40000 ppm. Durante su investigación se efectuaron 4 tratamientos; en cuanto a la concentración de 1000 ppm, reflejo un 65.15% de remoción de hidrocarburos totales en el género *Tichoderma* sp; mientras que para la especie *Bacillus pumilus* obtuvo una remoción de 50.68%. En la segunda concentración (4000 ppm) obtuvo resultados más bajos con un valor de 18.63 % en el género *Tichoderma* sp y un 18.67 % en el género *Bacillus pumilu*.

VI. CONCLUSIONES

1. Las características del área de influencia se trabajaron mediante tablas, las cuales revelan que la zona presenta una textura franco arenosa de color marrón pálido, con un pH de 8.22 y conductividad eléctrica de 166.66 S/cm. En las características climatológicas, el caserío de Sequión cuenta con un clima tropical seco, con una temperatura Max de 34 °C y Min de 31 °C y una precipitación Max de 158 mm y Min de 15 mm. Finalmente en especies de flora en estado de conservación, se identificó la pava aliblanca como la especie de conservación regional, a su vez también cuenta con otros mamíferos de importancia, como el puma andino y el zorro costero. En cuanto a la fauna en estado de conservación resalta el algarrobo "Ceratonia siliqua; L", como la especie más abundante de la zona, a su vez también se encontraron otras especies comunes de la región.
2. En la muestra testigo se obtuvo un valor de aceites y grasas 5415.39 ppm, siendo la concentración inicial de aceites y grasas; en el T1-25 % se realizó 03 repeticiones, donde en la R1 se obtuvo un valor de aceites y grasas de 4585.57 ppm, mientras que la R2 obtuvo un 4658.60 pm y finalmente la R3 un 4760.56 ppm; en el T2-50 % se realizó 03 repeticiones, obteniendo los siguientes valores: R1 obtuvo un 4145.35 ppm, R2 obtuvo 4334.23 ppm y R3 un 4258.56 ppm; en el T3-75 % se realizó 03 repeticiones, donde en la R1 obtuvo un 3876.45 ppm, R2 se obtuvo 3689.78 ppm y en la R3 se obtuvo 3923.45 ppm. En el T1-25% se obtuvo un máximo de 4585.57 ppm en la R1, en el T2-50% se encontró una concentración máxima de 4145.35 ppm, finalmente en el T3-75% es de la R2 se obtuvo un máximo de biodegradación de 3689.78 ppm.
3. En el porcentaje de remoción de aceites y grasas, en el T1-25% de la R1 se obtuvo un 15.3 %, R2 se obtuvo un 13.9 %, R3 se obtuvo un 12.0 %; en el T2-50% de la R1 se obtuvo un 23.4 %, R2 se obtuvo un 19.9 %, R3 se obtuvo un 21.3 %; en el T3-75 % de la R1 se obtuvo un 28.4 %, R2 se obtuvo un 31.8 %, R3 se obtuvo un 27.5 %. Los mejores tratamientos donde se obtuvo mayor remoción de aceites y grasas es el T1-25 % de la R1 con un 15.3 %, T2-50 % de la R1 con un 23.4 %, T3-75 % de la R2 con un 31.8 %.

4. Concluimos que, durante esta investigación se encontró una concentración óptima de (EM) compost, a un 75% de activación llegando a biodegradar un máximo de 31.8%, mientras que al 50% de activación alcanzo un máximo de 23.4% y finalmente al 25% de activación obtuvo un valor máximo de 15.3%.

VII. RECOMENDACIONES

1. Durante el desarrollo de esta investigación se aplicaron 10 ml diarios de microorganismos eficientes (EM) compost por tratamiento, durante 30 días. Recomendamos utilizar otras dosis de aplicación (15 ml, 20 ml, 30 ml) y además aumentar el tiempo de aplicación (45 días, 60 días, 75 días); con el fin de obtener mejores resultados y un mayor porcentaje de biodegradación.
2. Recomendamos utilizar los microorganismos eficientes (EM) compost, como herramienta biológica amigable con el medio ambiente para la degradación de aceites y grasas presentes en los compuestos de PC y sus derivados. Además, cabe resaltar que durante esta investigación se encontró la dosis óptima de activación al 75%, siendo este el tratamiento con mayor porcentaje de remoción.
3. Por otro lado, este trabajo de investigación utilizó el proceso aerobio, tanto como el anaerobio de los microorganismos eficientes (EM) compost, para biodegradar suelos contaminados con PC, se recomienda a futuras investigaciones profundizar este enfoque, y además agregar indicadores que ayuden a mejorar la comprensión de este importante proceso.
4. Se recomienda estudiar el comportamiento de los microorganismos eficientes (EM) compost, para biodegradar del suelo otros hidrocarburos similares al PC, como: gasolina, aceites comerciales, fertilizantes, plaguicidas, plásticos, detergentes, entre otros compuestos.

REFERENCIAS

- AJELL, N. y MOHAMMED, A., 2017. ISOLATE AND IDENTIFICATION OF PSEUDOMONAS AERUGINOSA FROM CONTAMINATED SOIL WITH HYDROCARBONS DISCHARGED FROM GAS FILLING REFINERIES. , pp. 303-308.
- ALMAMOORI, A.M., SALEH, M.M. y SALMAN, J.M., [sin fecha]. (PDF) Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos aromáticos policíclicos mediante aumento mediante inoculación con bacterias (*Pseudomonas aeruginosa*) y hongos (*Penicillium expansum*). [en línea]. [Consulta: 20 noviembre 2022]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/325673158_Bioremediation_of_polycyclic_aromatic_hydrocarbons_polluted_soils_using_augmentation_by_inoculating_with_bacteria_Pseudomonas_aeruginosa_and_fungi_Penicillium_expansum.
- Arias, A., Rivera, M., & Trujillo, A. (2017). Fitotoxicidad de un suelo contaminado con petróleo fresco sobre *Phaseolus vulgaris* L. (leguminosae). *Revista Internacional Contaminación Ambiental*, 411-419
- BONE, cabrera, 2012. Diseños cuasi-experimentales y longitudinales. En: Accepted: 2012-09-14T10:35:18Z [en línea], [Consulta: 20 noviembre 2022]. Disponible en: <http://diposit.ub.edu/dspace/handle/2445/30783>.
- CRUZ, P.M.G. y LICANGO, J.R., 2021. EVALUACIÓN DEL PROCESO DE BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO UTILIZANDO *Trichoderma* sp. Y *Bacillus pumilus*, MEDIANTE EL SISTEMA DE BIOPILAS A ESCALA DE LABORATORIO. [en línea], pp. 90. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/19882/1/UPS%20-%20TTS283.pdf>.
- CONTRERAS, H. y CARREÑO, C., 2018. Eficiencia de la biodegradación de hidrocarburos de petróleo por hongos filamentosos aislados de suelo

contaminado. Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería [en línea], vol. 1, no. 1, pp. 27-33. [Consulta: 20 noviembre 2022]. ISSN 2414-8822. DOI 10.25127/ucni.v1i1.269. Disponible en: <http://revistas.untrm.edu.pe/index.php/CNI/article/view/269>.

EBADI, A., KHOSHKHOLGH SIMA, N.A., OLAMAEE, M., HASHEMI, M. y GHORBANI NASRABADI, R., 2017. Effective bioremediation of a petroleum-polluted saline soil by a surfactant-producing *Pseudomonas aeruginosa* consortium. Journal of Advanced Research [en línea], vol. 8, no. 6, pp. 627-633. [Consulta: 20 noviembre 2022]. ISSN 2090-1232. DOI 10.1016/j.jare.2017.06.008. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090123217300668>.

EL-KHAWAGA, M.A., SALAH EL-DIN, R.A.G., LOBNA A, M. y ELSHAYMAA, E.M., 2015. BIOREMEDIATION OF PETROLEUM OIL BY PSEUDOMONAS AERUGINOSA AND PSEUDOMONAS FLUORESCENS (BIOTYPE A) ISOLATED FROM PETROLEUM OIL CONTAMINATED SOIL. Egyptian journal of Biotechnology, vol. 50, pp. 65-81.

HAKIMA, A. y IAN, S., 2017. Isolation of Indigenous Hydrocarbon Transforming Bacteria from Oil Contaminated Soils in Libya: Selection for Use as Potential Inocula for Soil Bioremediation. [en línea], vol. 5, no. 1, 8-17, pp. 10. DOI 10.12691/ijebb-5-1-2. Disponible en: <https://www.napier.ac.uk/~media/worktribe/output-813314/isolation-of-indigenous-hydrocarbon-transforming-bacteria-from-oil-contaminated-soils-in.pdf>.

IZQUIERDO, G.M., 2015. Informantes y muestreo en investigación cualitativa. Investigaciones Andina [en línea], vol. 17, no. 30, pp. 1148-1150. [Consulta: 20 noviembre 2022]. ISSN 0124-8146, 2538-9580. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=239035878001>.

- JIMÉNEZ, H.G., VENEGAS, S. y ISLAS D, 2018. Conformación de un consorcio bacteriano para la degradación de Hidrocarburos. Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería [en línea], vol. 56, pp. 6. ISSN 2395-8510. Disponible en: http://200.79.179.163/conamti/descargas/2018/24_Jimenez_et_al_2018.pdf
- LI, P., CAI, Q., LIN, W., CHEN, B. y ZHANG, B., 2016. Offshore oil spill response practices and emerging challenges. Marine Pollution Bulletin [en línea], vol. 110, no. 1, pp. 6-27. [Consulta: 01 noviembre 2022]. ISSN 0025-326X. DOI 10.1016/j.marpolbul.2016.06.020. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X16304246>.
- MAMAH, S., EDOGA, M. y KOVO, A., 2013. Biodegradation of Hydrocarbon by Micro-organisms Isolated from Crude Oil Contaminated Soil in Niger Delta Area of Nigeria. International Journal of Chemical Engineering, vol. 64, pp. 19407-19413.
- MANUEL, la refinación de petróleo [en línea]. [2015] [consultado el 12 de octubre de 2022]. Disponible en: <https://fcai.uncuyo.edu.ar/upload/LIBRO%20TOMO%201.pdf>
- MEDINA, Jhonny; GARCÍA, Franklin; PARICAGUÁN, Belén. Biodegradación de petróleo por microorganismos autóctonos en suelos contaminados provenientes de la bahía de Amuay del Estado Falcón. Revista ingeniería UC, 2014, vol. 21, no 1, p. 62-69. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/707/70732642007.pdf>
- Ministerio del Ambiente. Perú, 2014. R.M. N° 085-2014-MINAM. Guía para Muestreo de Suelos. Marzo 2014. pág. 3. Disponible en: https://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2014/04/GUIA-MUESTREO-SUELO_MINAM1.pdf
- MINISTERIO DE LA SALUD 1023 resolución ministerial 2020, Disponible en: <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/1482084/Resoluci%C3%B3n%20Ministerial%20N%C2%B01023-2020-MINSA.PDF>.

MINISTERIO DE SALUD. declara en emergencia sanitaria Amazonas y Loreto por derrames de petróleo | DIGESA. Inicio | Dirección General de Salud Ambiental [en línea]. [2016] [consultado el 21 de noviembre de 2022]. Disponible en: <http://www.digesa.minsa.gob.pe/noticias/Febrero2016/nota2.asp>.

MOUSSA, L., 2015. BIOREMEDIATION OF PETROLEUM OIL BY PSEUDOMONAS AERUGINOSA AND PSEUDOMONAS FLUORESCENS (BIOTYPE A) ISOLATED FROM PETROLEUM OIL CONTAMINATED SOIL. Egyptian journal of Biotechnology, vol. 50, pp. 65-81.

ÑAUPARI. Microorganismos eficientes en la producción de compost con pollinaza en Río Negro. Tesis para Título, Universidad nacional del centro del Perú, 2015 Disponible en: [https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/5298/De%20la%20Pe%C3%B1a.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=f\)%20Microorganismos%20eficientes%20\(ME\),eficientes%20\(Cortez%2C%202008\)](https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/5298/De%20la%20Pe%C3%B1a.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=f)%20Microorganismos%20eficientes%20(ME),eficientes%20(Cortez%2C%202008)).

ORGANISMO DE EVALUACIÓN Y FISCALIZACIÓN AMBIENTAL ,14 derrames de petróleo han ocurrido durante la pandemia en el Perú. Convoca.pe - Agenda Propia [en línea]. [2020] [consultado el 21 de noviembre de 2022]. Disponible en: <https://convoca.pe/agenda-propia/14-derrames-de-petroleo-han-ocurrido-durante-la-pandemia-en-el-peru>

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA. | Portal de Suelos de la FAO | Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Home | Food and Agriculture Organization of the United Nations [en línea]. [2022] [consultado el 21 de noviembre de 2022]. Disponible en: <https://www.fao.org/soils-portal/about/definiciones/es/>.

PASCAL CASTILLO, M.I., 2020. Uso de microorganismos del estiércol de Cavia porcellus L. (cuy) con potencial de biodegradación del petróleo biodiesel a nivel de laboratorio de la UNAS-Tingo María. En: Accepted: 2021-04-05T15:30:54Z, Universidad Nacional Agraria de la Selva [en línea],

[Consulta: 20 noviembre 2022]. Disponible en:
<http://repositorio.unas.edu.pe/handle/UNAS/1894>.

SALAZAR GÓMEZ, TOBÓN, Elizabeth, Sergio. Espacios. Análisis documental del proceso de formación docente acorde con la sociedad del conocimiento. 2018, 39(53), 17. ISSN 0798 1015.

SOCIEDAD PERUANA DE DERECHO AMBIENTAL. Semarnat - Degradación del suelo [en línea]. [2022] [consultado el 21 de noviembre de 2022]. Disponible en: https://paot.org.mx/centro/ine-semarnat/informe02/estadisticas_2000/informe_2000/03_Suelos/3.2_Degradacion/index.htm

ÜSTÜN KURNAZ, S. y BÜYÜKGÜNGÖR, H., 2016. Bioremediation of Total Petroleum Hydrocarbons in Crude Oil Contaminated Soils obtained from Southeast Anatolia. *Acta Biologica Turcica*, vol. 29, pp. 55-58.

VILASÓ, Javier; RODRIGUEZ, Odalys; ÁBALOS, Arelis. "Extracción de petróleo en suelos contaminados empleando Ramnolípidos producidos por *Pseudomonas aeruginosa* ORA9". [en línea]. Cuba, 2017. [fecha de consulta: 10 de octubre de 2022] disponible en: <https://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/view/RICA.2017.33.03.11/46704>

WEISMAYER, C., 2022. Applied Research in Quality of Life: A Computational Literature Review. *Applied Research in Quality of Life* [en línea], vol. 17, no. 3, pp. 1433-1458. [Consulta: 20 noviembre 2022]. ISSN 1871-2584, 1871-2576. DOI 10.1007/s11482-021-09969-9. Disponible en: <https://link.springer.com/10.1007/s11482-021-09969-9>.

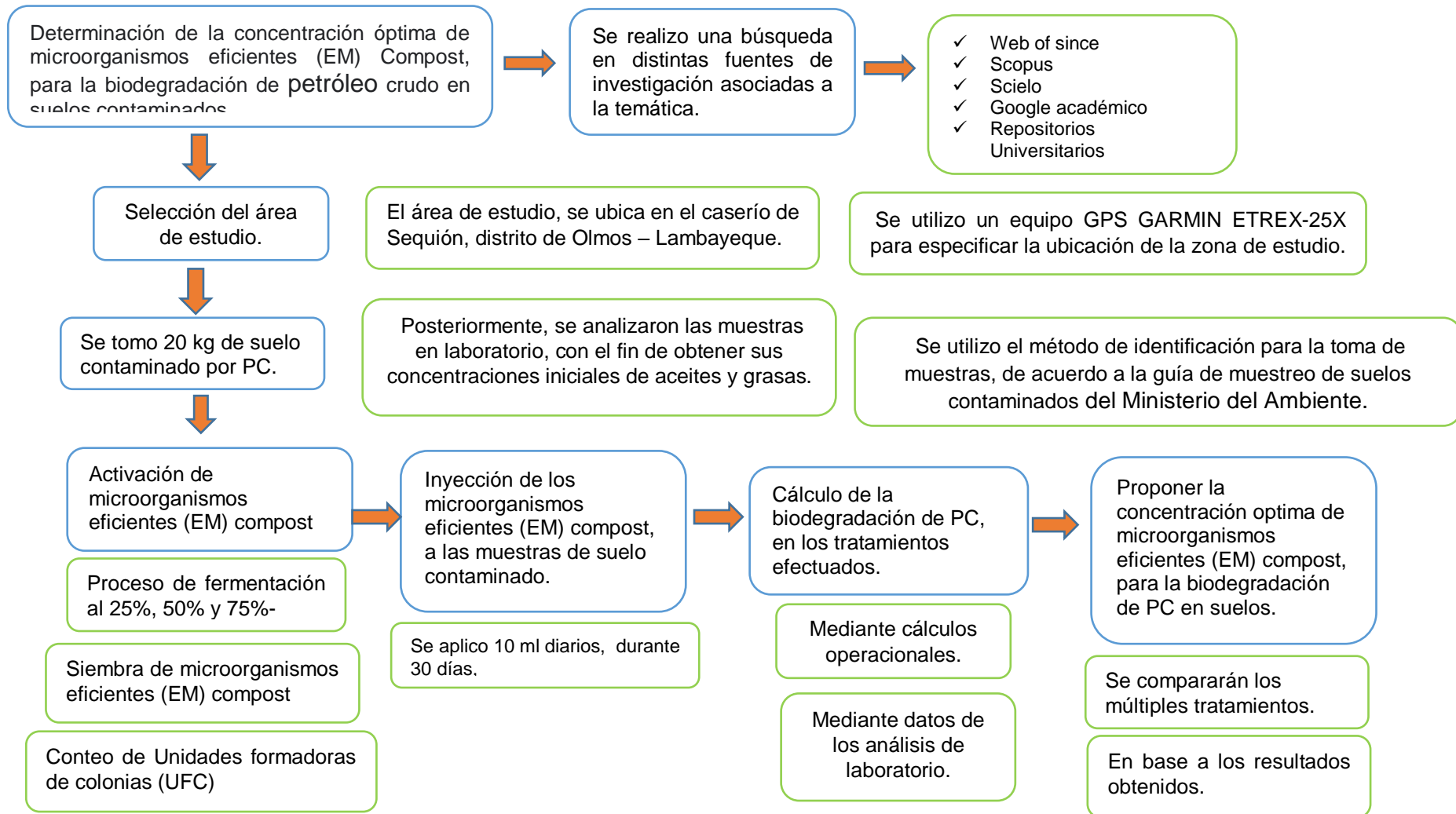
ANEXOS

Anexo 1. Operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala de medición
Variable Dependiente: Biodegradación de Petróleo Crudo	La biodegradación es un proceso físico, químico o biológico, capaz de disminuir cantidades significativas de contaminantes por hidrocarburos, como el petróleo crudo (Zárate 2015. p 6).	Se realizó un análisis de laboratorio, en donde se estudiaron los parámetros aceites y grasas, con el fin de evaluar la biodegradación de PC en suelos contaminados.	Concentraciones de aceites y grasas en suelos contaminados	Porcentaje de aceites y grasas <hr/> Tiempo de biodegradación	intervalo
Variable Independiente: Dosis de Microorganismos Eficientes (EM) Compost	Los microorganismos eficientes (EM) Compost son principalmente utilizados para mejorar la calidad del suelo, ya que son productos líquidos, que contienen más de ochenta clases de microorganismos aeróbicas y anaeróbicos (Ñaupari 2015, p 6).	Se aplicó 3 tratamientos de microorganismos eficientes (EM) compost, activando estos a un 25%, 50 % y 75 %, en donde se realizaron 3 repeticiones, con el fin de analizar su biodegradación.	Composición de microorganismos eficientes (EM) compost (bacterias, hongos y levaduras)	Unidades formadoras de colonias (UFC) <hr/> Cantidad de dosis de microorganismos eficientes (EM) compost aplicado	Razón

Fuente: elaboración propia

Anexo 2. Flujograma



Fuente: elaboración propia

Anexo 6. Reporte de resultados de la concentración inicial de aceites y grasas.



**UNIVERSIDAD NACIONAL
PEDRO RUIZ GALLO**

LABORATORIO DE QUIMICA

NOMBRE: Neils Patrik Alejandría Peralta

MUESTRA: Suelo contaminado con Petróleo crudo

CANTIDAD: 01 Muestra

LUGAR: Caserío de Sequión - Olmos

ASUNTO: Análisis de aceites y grasas

METODO: Soxhlet

RESULTADOS: En el análisis de suelo se encontró presencia de aceites y grasas, tal como se detalla en el siguiente cuadro:

SUELO + PETROLEO	AUSENCIA	PRESENCIA	CANTIDAD
Aceites y Grasas		X	5415.39 ppm

EXPLICACIÓN: Los resultados obtenidos confirma la presencia de aceites y grasas en suelo contaminado con petróleo crudo, ubicado en el Caserío de Sequión.

FIRMA Y SELLO
REPRESENTANTE DEL LABORATORIO

Anexo 10. Reporte de resultados de laboratorio.



LABORATORIO DE QUIMICA

NOMBRE: Neils Patrick Alejandria Peralta

MUESTRA: Suelo contaminado con Petróleo crudo + EM compost

CANTIDAD: 09 Muestras

UBICACIÓN: Caserío de Sequión - Olmos

ASUNTO: Determinación de aceites y grasas

ENSAYO: Método de Soxhlet

RESULTADOS: En el análisis de suelo se encontró presencia de aceites y grasas, tal como se detalla en el siguiente cuadro:

SUELO + PETROLEO+EM	TRATAMIENTOS	REPETICIÓN	PRESENCIA	CANTIDAD
Aceites y Grasas	T1 -25 %	R1	X	4585.57 ppm
Aceites y Grasas	T1 -25 %	R2	X	4658.60 ppm
Aceites y Grasas	T1-25 %	R3	X	4760.56 ppm
Aceites y Grasas	T2-50%	R1	X	4145.35 ppm
Aceites y Grasas	T2-50%	R2	X	4334.23 ppm
Aceites y Grasas	T2-50%	R3	X	4258.56 ppm
Aceites y Grasas	T3-75%	R1	X	3876.45 ppm
Aceites y Grasas	T3-75%	R2	X	3689.78 ppm
Aceites y Grasas	T3-75%	R3	X	3923.45 ppm

NOTA: El los resultados obtenidos se puede determinar que si existe contaminante de aceites y grasas en el suelo ubicado en el Caserío de Sequión. Se recomienda que para acelerar más la biodegradación se le debe aplicar más concentración de EM compost y el tiempo de biodegradación.


FIRMA
REPRESENTANTE DEL LABORATORIO

Anexo 5. Calculo de remoción de aceites y grasas según Villasos, et al, (2017).

T1-25 %

$$\%R (A y G) = \frac{Ci-Ef}{Ci} 100$$

$$\%R (A y G) = \frac{5415.39-4585.57}{5415.39} 100$$

$$\%R (A y G) = \frac{829.82}{5415.39} 100$$

$$\%R (A y G) = 0.120 \times 100$$

$$\%R (A y G) = 15.3\%$$

T1-50 %

$$\%R (A y G) = \frac{Ci-Ef}{Ci} 100$$

$$\%R (A y G) = \frac{5415.39-4145.35}{5415.39} 100$$

$$\%R (A y G) = \frac{1270.04}{5415.39} 100$$

$$\%R (A y G) = 0.234 \times 100$$

$$\%R (A y G) = 23.4\%$$

T1-75 %

$$\%R (A y G) = \frac{Ci-Ef}{Ci} 100$$

$$\%R (A y G) = \frac{5415.39-3689.78}{5415.39} 100$$

$$\%R (A y G) = \frac{1725.65}{5415.39} 100$$

$$\%R (A y G) = 0.318 \times 100$$

$$\%R (A y G) = 31.8 \%$$

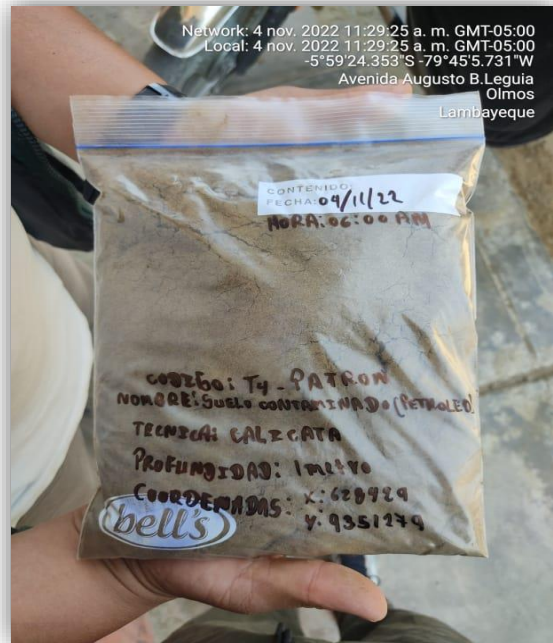
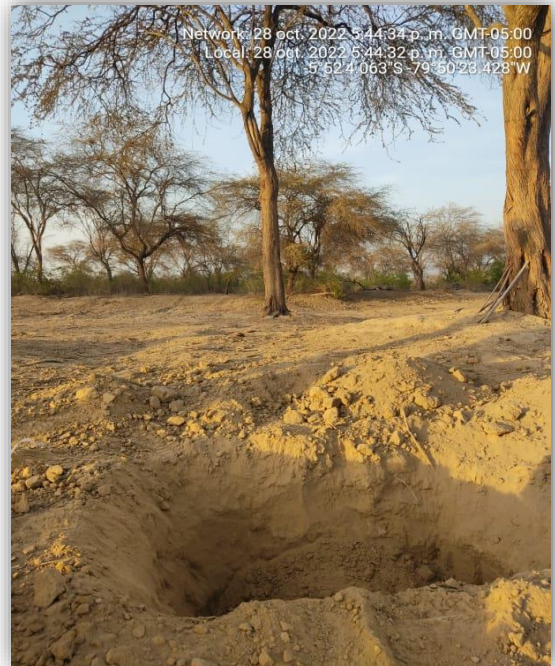
Anexo 6. Preparación de la activación y reactivación de los (EM) compost.



Anexo 7. Trabajo en laboratorio de Unidades Formadoras de Colonia (UFC).



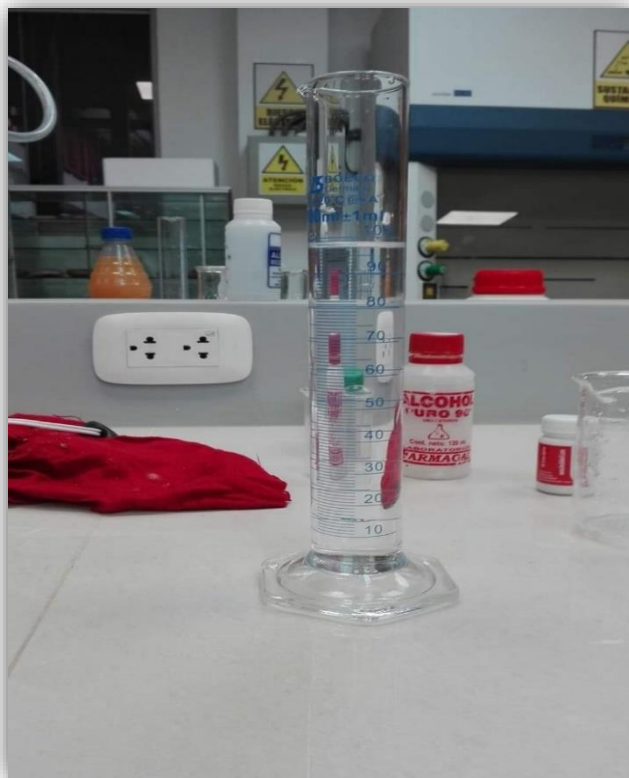
Anexo 8. Suelo extraído a través de la técnica calicata.



Anexo 9. Aplicación de los (EM) en el suelo contaminado.

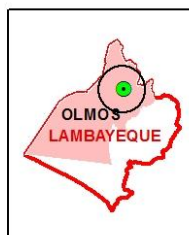
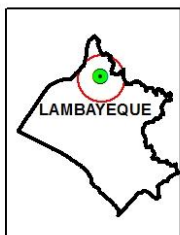
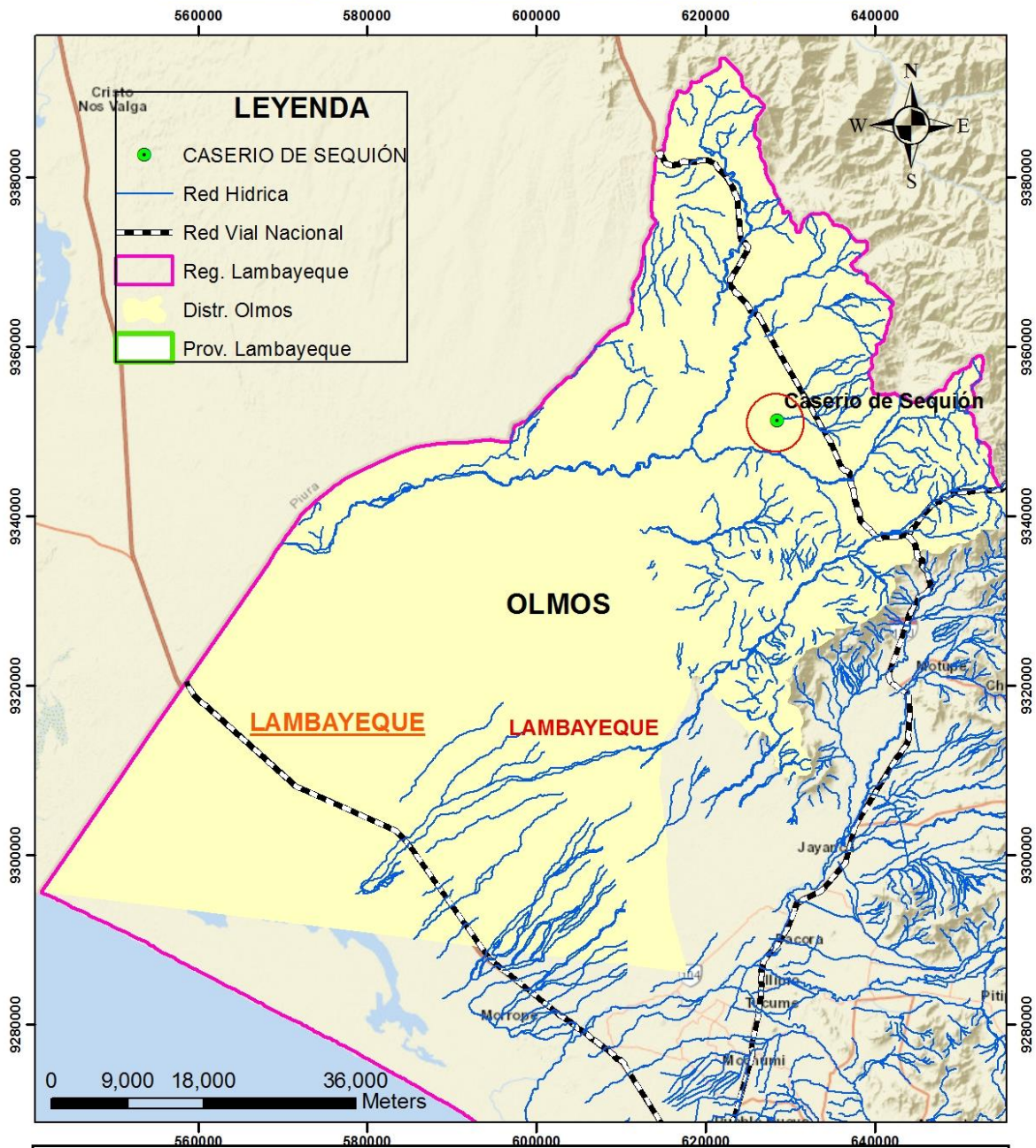


Anexo 10. Trabajo en laboratorio para determinar los resultados de remoción.



Anexo 11. Mapa de coordenadas.

UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



UBICACIÓN REGIONAL

UBICACIÓN DISTRITAL

	UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJOS	
	CHICLAYO - PERÚ	
NOMBRE	BACH. KENYO ALDAIR SANTOS CRISANTO BACH. NEILS PATRICK ALEJANDRIA PERALTA	
UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN		
ESCALA	1: 6, 000,000	01
PROYECCIÓN COORDENADAS	UTM WGS84	



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

Declaratoria de Autenticidad del Asesor

Yo, PONCE AYALA JOSE ELIAS, docente de la FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA de la escuela profesional de INGENIERÍA AMBIENTAL de la UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO SAC - CHICLAYO, asesor de Tesis titulada: "Determinación de la concentración óptima de microorganismos eficientes (EM) Compost, para la biodegradación de petróleo crudo en suelos contaminados", cuyos autores son ALEJANDRIA PERALTA NEILS PATRIK, SANTOS CRISANTO KENYO ALDAIR, constato que la investigación tiene un índice de similitud de 7.00%, verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin, el cual ha sido realizado sin filtros, ni exclusiones.

He revisado dicho reporte y concluyo que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la Tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

En tal sentido, asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada, por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

CHICLAYO, 14 de Noviembre del 2022

Apellidos y Nombres del Asesor:	Firma
PONCE AYALA JOSE ELIAS DNI: 16491942 ORCID: 0000-0002-0190-3143	Firmado electrónicamente por: PAYALAJE el 12-12- 2022 09:42:41

Código documento Trilce: TRI - 0439892