



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**Tecnología de remediación mixta con calamagrostis acutiflora y
pseudomona aeruginosa en suelos contaminados por petróleo en
Piura, 2023**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
Ingeniero Ambiental

AUTORES:

Benites Solano, Kimberly Antuanett (orcid.org/0009-0005-5223-8808)

Cueva Mendía, Julia Marycruz (orcid.org/0000-0003-2136-3217)

ASESOR:

Dr. Sernaque Auccahuasi, Fernando Antonio (orcid.org/0000-0003-1485-5854)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Calidad y Gestión de los Recursos Naturales

LÍNEA DE RESPONSABILIDAD SOCIAL UNIVERSITARIA:

Desarrollo sostenible y adaptación al cambio climático

LIMA – PERÚ

2023

Dedicatoria

A mis padres Jullia Mencia Huaman y Wilfredo Cueva Cáceres por el apoyo emocional y económico, especialmente a mi hermanito Willy Angel, un buen amigo que es mi motivo por el cual me seguiré superando profesionalmente y personalmente a mis abuelos ángeles que cuidan de mi desde el cielo Modesta, Margarita y Blas y a los que todavía los tengo aquí a mi lado Ladislao, Agustín.

A Zenaida y David quienes han podido compartir conmigo momentos buenos y malos los cuales cuentan como experiencia en este gran camino de la vida.

Julia Marycruz Cueva Mencia.

A mis padres, Isidro Benites Saldarriaga y Elena Solano Palacios, por brindarme la educación y las herramientas necesarias para poder desarrollarme profesionalmente, estando a mi lado en cada paso en búsqueda de ser una mejor persona.

A mis hermanos por su apoyo moral, que espero que con mis logros vean un ejemplo a seguir y un impulso para cumplir metas.

A mi abuela, Faustina Palacios Abad, que desde el cielo era esa luz que me brindaba fortaleza para continuar día a día.

Kimberly Antuanett Benites Solano.

Agradecimiento

Expresamos nuestro agradecimiento a Dios, por permitirnos concluir de forma satisfactoria, el desarrollo de la presente investigación. Asimismo, a nuestro asesor de tesis el Dr. Fernando Sernaque Auccahuasi, por su apoyo constante y sus conocimientos compartidos para la realización de esta tesis, además de su tiempo y esfuerzo para la culminación del mismo.

“Benites Solano, Kimberly Antuanett y Cueva Mendía, Julia Marycruz”



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

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

Declaratoria de Autenticidad del Asesor

Yo, SERNAQUE AUCCAHUASI FERNANDO ANTONIO, docente de la FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA de la escuela profesional de INGENIERÍA AMBIENTAL de la UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO SAC - LIMA NORTE, asesor de Tesis titulada: "TECNOLOGÍA DE REMEDIACIÓN MIXTA CON CALAMAGROSTIS ACUTIFLORA Y PSEUDOMONA AERUGINOSA EN SUELOS CONTAMINADOS POR PETRÓLEO EN PIURA,2023", cuyos autores son BENITES SOLANO KIMBERLY ANTUANETT, CUEVA MENDIA JULIA MARYCRUZ, constato que la investigación tiene un índice de similitud de 20.00%, 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.

LIMA, 07 de Marzo del 2024

Apellidos y Nombres del Asesor:	Firma
FERNANDO ANTONIO SERNAQUE AUCCAHUASI DNI: 07234567 ORCID: 0000-0003-1485-5854	Firmado electrónicamente por: FSERNAQUEA el 12- 04-2024 15:03:16

Código documento Trilce: TRI - 0739889





UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Declaratoria de Originalidad de los Autores

Nosotros, BENITES SOLANO KIMBERLY ANTUANETT, CUEVA MENDIA JULIA MARYCRUZ estudiantes de la FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA de la escuela profesional de INGENIERÍA AMBIENTAL de la UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO SAC - LIMA NORTE, declaramos bajo juramento que todos los datos e información que acompañan la Tesis titulada: "TECNOLOGÍA DE REMEDIACIÓN MIXTA CON CALAMAGROSTIS ACUTIFLORA Y PSEUDOMONA AERUGINOSA EN SUELOS CONTAMINADOS POR PETRÓLEO EN PIURA,2023", es de nuestra autoría, por lo tanto, declaramos que la Tesis:

1. No ha sido plagiada ni total, ni parcialmente.
2. Hemos mencionado todas las fuentes empleadas, identificando correctamente toda cita textual o de paráfrasis proveniente de otras fuentes.
3. No ha sido publicada, ni presentada anteriormente para la obtención de otro grado académico o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados.

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

Nombres y Apellidos	Firma
JULIA MARYCRUZ CUEVA MENDIA DNI: 74034328 ORCID: 0000-0003-2136-3217	Firmado electrónicamente por: CUEJULIA13 el 07-03-2024 21:21:57
KIMBERLY ANTUANETT BENITES SOLANO DNI: 74120835 ORCID: 0009-0005-5223-8808	Firmado electrónicamente por: KBENITESSO el 07-03-2024 21:49:17

Código documento Trilce: TRI - 0739885



ÍNDICE DE CONTENIDOS

Carátula.....	i
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Declaratoria de Autenticidad del Asesor.....	iv
Declaratoria de Originalidad de los Autores	v
Índice de contenidos	vi
Índice de tablas	vii
Índice de figuras.....	viii
Resumen.....	x
Abstract	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
III. METODOLOGÍA	14
3.1. Tipo y diseño de investigación	14
3.2. Variables y operacionalización	14
3.3. Población, muestra y muestreo	16
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	16
3.5. Procedimiento	17
3.6. Métodos de análisis de datos	25
3.7. Aspectos éticos	25
IV. RESULTADOS.....	26
V. DISCUSIÓN.....	38
VI. CONCLUSIONES	42
VII. RECOMENDACIONES.....	43
REFERENCIAS.....	44
ANEXOS	53

Índice de tablas

Tabla 1. Matriz de operacionalización	15
Tabla 2. Características físicas y químicas del suelo	26
Tabla 3. Análisis de varianza en ANOVA de la presencia de la carga de fracción de hidrocarburo F1 (C6-C10) en suelos.	27
Tabla 4. Análisis de varianza en ANOVA de la presencia de la carga de fracción de hidrocarburo F2 (>C10-C28) en suelos	28
Tabla 5. Análisis de varianza en ANOVA de la presencia de la carga de fracción de hidrocarburo F3 (>C28-C40) en suelos	28
Tabla 6. Parámetros fisicoquímicos del suelo tratado con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i>	29
Tabla 7. Análisis de varianza en ANOVA de la retención de fracción de hidrocarburo F1 (C6-C10) en suelos mediante la <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i>	33
Tabla 8. Análisis de varianza en ANOVA de la retención de fracción de hidrocarburo F1 (C10-C28) en suelos mediante la <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i>	33
Tabla 9. Análisis de varianza en ANOVA de la retención de fracción de hidrocarburo F2 (C28-C40) en suelos mediante la <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i>	34
Tabla 10. Concentraciones de petróleo del suelo tratado con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i>	35

Índice de figuras

Figura 1. Contaminación del suelo con petróleo.....	8
Figura 2. Fitorremediación en suelos	11
Figura 3. Calamagrostis Acutiflora	12
Figura 4. Pseudomona Aeruginosa	13
Figura 5. Mapa de ubicación y recolección de muestras de suelo contaminado con crudo de petróleo	18
Figura 6. Proceso de muestreo del suelo contaminado con crudo de petróleo	19
Figura 7. Cajas Petri para el aislamiento de las colonias de bacterias <i>pseudomona aeruginosa</i>	20
Figura 8. Cultivo de la pseudomona aeruginosa para la formación de colonias (UFC)	20
Figura 9. Formación de las colonias de la bacteria <i>Pseudomona aeruginosa</i>	21
Figura 10. Acondicionamiento del sistema de tratamiento con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i>	22
Figura 11. Diagrama de tratamiento con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginos</i>	23
Figura 12. Diagrama de flujo de tratamiento con <i>Pseudomona aeruginosa</i>	24
Figura 13. Propiedades de los hidrocarburos en el suelo para tratamiento.....	27
Figura 14. Concentraciones de pH en suelo tratado con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i>	30
Figura 15. Concentraciones de materia orgánica (MO) en suelo tratado con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i>	30
Figura 16. Concentraciones de nitrógeno (N) en suelo tratado con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i>	31
Figura 17. Concentraciones de fósforo (P) en suelo tratado con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i>	32
Figura 18. Concentraciones de potasio (K) en suelo tratado con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i>	32

Figura 19. Concentraciones de fracción de hidrocarburos F1 (11) (C6-C10) (mg/kg) en suelo tratado con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36
Figura 20. Concentraciones de fracción de hidrocarburos F2 (12) (>C10-C28) (mg/kg) en suelo tratado con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37
Figura 21. Concentraciones de fracción de hidrocarburos F3 (13) (>C28-C40) (mg/kg) en suelo tratado con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37

Resumen

La investigación el objetivo es evaluar la eficiencia de la tecnología de remediación mixta con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa* en suelos contaminados por petróleo en Piura 2023. La metodología tuvo un tipo de investigación aplicada con enfoque cuantitativo. Además de un diseño experimental puro. Los resultados del objetivo específico uno de las concentraciones fisicoquímicas antes del tratamiento del suelo el pH 5.7, materia orgánica de 1.2%, color del suelo amarillo claro, temperatura de 27.5°C, nitrógeno de 0.1%, fósforo de 4.2mg/kg y potasio de 92.6mg/kg, asimismo 623.5mg/kg de F1 (C6 - C10), 6045.2 mg/kg de F2 (>C10 – C28) y 6100.5mg/kg de F3 (>C28 – C40). Posterior del objetivo dos con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa* en contaminantes fisicoquímicos el pH es de 7.3, materia orgánica de 2.9%, nitrógeno de 0.5 %, fósforo de 8.1 mg/kg y potasio de 105.8mg/kg. El objetivo específico tres el tratamiento (T3) con una remoción mayor de 428mg/kg de F1 (11) (C6-C10), asimismo una reducción de 4396mg/kg de F2 (12) (>C10-C28) y 5313.1mg/kg de F3 (13) (>C28-C40) respectivamente. Se concluyó que la incorporación mixta con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa* fueron eficientes en la disminución de las concentraciones del petróleo y parámetros fisicoquímicos del suelo de Piura.

Palabra clave: Remediación mixta, suelo, petróleo, *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Abstract

The objective of the research is to evaluate the efficiency of mixed remediation technology with *Calamagrostis acutiflora* and *Pseudomonas aeruginosa* in soils contaminated by oil in Piura 2023. The methodology had a type of applied research with a quantitative approach. In addition to a pure experimental design. The results of the specific objective one of the physicochemical concentrations before soil treatment were pH 5.7, organic matter of 1.2%, light yellow soil color, temperature of 27.5°C, nitrogen of 0.1%, phosphorus of 4.2mg/kg and potassium. of 92.6mg/kg, also 623.5mg/kg of F1 (C6 - C10), 6045.2 mg/kg of F2 (>C10 - C28) and 6100.5mg/kg of F3 (>C28 - C40). After objective two with *Calamagrostis acutiflora* and *Pseudomonas aeruginosa* in physicochemical contaminants, the pH is 7.3, organic matter 2.9%, nitrogen 0.5%, phosphorus 8.1 mg/kg and potassium 105.8 mg/kg. The specific objective is the treatment (T3) with a greater removal of 428 mg/kg of F1 (11) (C6-C10), also a reduction of 4396 mg/kg of F2 (12) (>C10-C28) and 5313.1 mg/kg kg of F3 (13) (>C28-C40) respectively. It was concluded that the mixed incorporation with *Calamagrostis acutiflora* and *Pseudomonas aeruginosa* were efficient in reducing oil concentrations and physicochemical parameters of the Piura soil.

Keywords: Mixed remediation, soil, oil, *Calamagrostis acutiflora* and *Pseudomonas aeruginosa*.

I. INTRODUCCIÓN

Los contaminantes del petróleo crudo y los hidrocarburos del petróleo se consideran los principales contaminantes del deterioro ambiental (Abtahi et al., 2020). El impacto de estos contaminantes en el ambiente, como la polución del suelo y las aguas subterráneas, genera problemas de salud para humanos y animales y también afecta los ecosistemas en su totalidad. En general, el petróleo tiene una mezcla de hidrocarburos de bajo y alto peso molecular, hidrocarburos poliaromáticos y asfaltenos (Rabodonirina et al., 2019)

Actualmente, el petróleo crudo y los lodos aceitosos se eliminan y vierten al medio ambiente sin un uso adecuado y sin las pautas de las industrias o reservorios petroleros (Banet et al., 2021). Esta disposición inadecuada de los desechos puede atribuirse al deterioro del medio ambiente cercano. Varios métodos están disponibles actualmente para la limpieza de estos hidrocarburos peligrosos en el medio ambiente, es decir, métodos físicos y químicos (Bodor et al., 2020). Sin embargo, los métodos biológicos se consideran más para la biodegradación de los contaminantes de hidrocarburos que los métodos físicos y químicos debido a la baja expansión, efectividad y rápido desarrollo de los microorganismos en los medios de crecimiento (Dwivedi et al., 2019).

En el Perú en los últimos casi 6.000 barriles de petróleo se han filtrado de la refinería La Pampilla, operada por Repsol, al norte de Lima, Perú, causando graves daños a los ecosistemas marinos costeros y trágicos resultados económicos y de salud para los residentes (OEFA, 2022). Además, la toxicidad del petróleo crudo hace que muchos organismos mueran por envenenamiento, un proceso llamado contaminación aguda. Muchas especies no pueden sobrevivir sin algas, por lo que habrá cambios en la cadena alimentaria a largo plazo (Elumalai et al., 2019).

Se formula el problema general: ¿Cuál es la eficiencia de la tecnología de remediación mixta con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa* en suelos contaminados por petróleo en Piura 2023?, Seguido de los problemas específicos: PE1: ¿Cuál será

la caracterización física y química del suelo contaminados por petróleo antes del tratamiento con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* en Piura?, PE2: ¿Cuál será las propiedades del crudo de petróleo en los suelos antes del tratamiento con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* en Piura?, PE3: ¿Cuál será la eficiencia entre *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* en la remoción de contaminantes fisicoquímicos del suelo tratado?, PE4: ¿Cuál será la eficiencia en entre *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* en la remoción de concentraciones de petróleo en suelos tratados?

Seguidamente en el trabajo de investigación se plantearon las justificaciones: justificación social porque los tratamientos de suelos contaminados por hidrocarburos con tecnología de remediación mixta con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* serán muy eficientes, demostrando a la sociedad una alternativa de contribución a la disminución del grado de contaminación del suelo, además siendo un tratamiento de fácil aplicación y económico en relación a otros. Del mismo modo, la justificación económica, el uso de tratamientos con especies vegetales y microorganismos que están en el ambiente facilitan y ayudan en la remediación de suelos contaminados por petróleo, ya que es una alternativa de bajo costo, además no requiere de mucho tiempo y es fácil de obtener. Asimismo, la justificación metodológica, el tratamiento de remediación mixta aplicado con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* de suelos contaminados por petróleo permanecerá como un método para futuras investigaciones y una contribución al mundo científico como guía para otras investigaciones. Por último, justificación ambiental, los tratamientos mixtos de remediación aplicados con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* permitirán tratar suelos contaminados por derrames de petróleo, ya que este contaminante afecta en gran medida las propiedades químicas del suelo, perdiendo su calidad para actividades agrícolas.

Posteriormente se plantearon los objetivos, objetivo general: Evaluar la eficiencia de la tecnología de remediación mixta con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* en suelos contaminados por petróleo en Piura 2023. Seguido de los

objetivos específicos: OE1: Determinar la caracterización física y química del suelo contaminados por petróleo antes del tratamiento con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* en Piura. OE2: Determinar las propiedades del crudo de petróleo en los suelos antes del tratamiento con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* en Piura. OE3: Determinar la eficiencia entre *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* en la remoción de contaminantes fisicoquímicos del suelo tratado. OE4: Determinar la eficiencia entre *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* en la remoción de concentraciones de petróleo en suelos tratados.

Finalmente se proyectaron las hipótesis de la investigación: Hipótesis general: La tecnología de remediación mixta con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* permite remediar suelos contaminados por petróleo en Piura 2023. Asimismo, se establecieron las hipótesis específicas: HE1: La caracterización física y química del suelo contaminados por petróleo antes del tratamiento con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa*, sirve para determinar la concentración inicial de contaminantes presentes en el suelo. HE2: Las propiedades del crudo de petróleo en los suelos antes del tratamiento con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa*, permite identificar la presencia de hidrocarburos y metales pesados tales como Cromo VI, Plomo, Vanadio, que representan un riesgo para el recurso suelo. HE3: El tratamiento mixto con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* permite una eficiencia del 40% para la remoción en porcentajes de los contaminantes fisicoquímicos del suelo tratado. HE4: El tratamiento mixto con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* permite la eficiencia remoción del 92.7% de las concentraciones de petróleo en suelos tratados.

II. MARCO TEÓRICO

Vizueté et al., (2020) la capacidad de biodegradar los hidrocarburos se determinó utilizando bacterias autóctonas aisladas de suelos con petróleo. Utilizaron un enfoque cuantitativo utilizando 81 especies de bacterias aisladas de suelo contaminado con petróleo en un modelo experimental exploratorio. Se midió el diámetro de desarrollo de las colonias y la formación de halos de degradación. Los resultados mostraron que 71 especies bacterianas de la población original mostraron crecimiento en medio que contenía KNO₃, que se utilizó para determinar la biodegradabilidad. Dependiendo de los requisitos de temperatura, la mayoría de las bacterias exhiben características mesófilas y crecen en el rango de pH de 5,5 a 7,5. Todos eran bacilos gramnegativos no encapsulados y crecieron mejor en medios preparados con extractos de suelo contaminados con diversos grados de hidrocarburos. Los autores concluyeron que este estudio da a conocer la viabilidad de emplear bioproductos basados en bacterias para implementar programas de biorremediación en el sitio o fuera del sitio en la remediación de suelos con hidrocarburos.

Prakkash et al., (2021) La relación entre la biorremediación (BIO) y la remediación electrocinética (ER) de hidrocarburos de petróleo crudo se evaluó utilizando tecnología bioelectrocinética (BIO-EK). Como método, se aislaron e identificaron bacterias marinas capaces de producir biosurfactantes, *Bacillus subtilis* AS2, *Bacillus licheniformis* AS3 y *Bacillus velezensis* AS4, mediante análisis de ADNr 16S. Los resultados mostraron que la eficiencia de biodegradación de las cepas AS2, AS3 y AS4 en petróleo crudo fue del 88%, 92% y 97%, respectivamente, para la temperatura óptima de 37°C y pH 7. Con base en los resultados adquiridos, el autor concluyó que, dentro de los 2 días de operación, utilizando en la limpieza electrodinámica de bacterias biosurfactantes, la tasa de biodegradación del suelo de petróleo crudo aumentó en un 92% en comparación con las energías renovables (60%).

Rodríguez et al., (2021) mencionó que se aislaron bacterias productoras de biosurfactantes naturales capaces de utilizar hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP: antraceno [ANT] o fenantreno [PHE]) como única fuente de carbono a partir de suelo contaminado con petróleo degradado (APD) recolectado cerca de Complejo

procesador de gas La Venta” ubicada en el estado de Tabasco, México. Para ello se incluyeron bacterias identificadas *Sphingobium* sp., *Bosea* sp., *Pseudomonas* sp., *Rhodococcus* sp. y *Phenylobacterium* sp. Identificados mediante secuenciación del ARNr 16S, las mejores resultas se adquirieron para un consorcio formado por *Pseudomonas* cloritidismutans y *Rhodococcus* qingshengii con una reducción del 86% en la contaminación por petróleo crudo fresco en los microcosmos del suelo 90 días después del tratamiento. Los autores concluyeron que estos resultados resaltan los efectos negativos de la meteorización y/o la salinidad en la remediación de suelos contaminados por petróleo.

Muthukumar et al., (2022) tuvieron como objetivo llevar a cabo la bioaumentación de suelos contaminados con petróleo crudo. Tuvo diseño experimental usando mezclas de nuevas cepas de *Pseudomona aeruginosa* PP3 y *Pseudomona aeruginosa* PP4. La eliminación de TPH más alta se registró en BS 4 (9091 mg. Kg⁻¹) fue de aproximadamente 67% seguida por 52% en BS2 (8584 mg. Kg⁻¹) respectivamente. Donde los autores concluyeron que este estudio reveló que los consorcios bacterianos seleccionados degradaron efectivamente el hidrocarburo y actuaron como un biorremediador potencial en el suelo contaminado con hidrocarburo en un período corto.

Varjani et al., (2020) tuvieron como objetivo Investigar la biorremediación de suelos contaminados con lodos aceitosos utilizando una nueva cepa de *Pseudomonas aeruginosa* y evaluar la fitotoxicidad de la reproducción de *Vigna radiata*.semilla en macetas. Los autores tuvieron como resultado por aplicación simultánea de *P. aeruginosa* y nutrientes en el microcosmos que mostraron una disminución del 92.97% de lodo aceitoso, además la brotación en macetas de las semillas de frijol mungo (*Vigna radiata*) semillas se realizó mediante experimentos en macetas con un 80.95% de germinación en 5 días en suelo tratado. Los autores concluyeron que las *P. aeruginosa* son agentes de biorremediación eficiente y puede usarse de manera efectiva para la remediación de lodos aceitosos en suelo contaminado.

Zouari et al., (2019) analizaron las cepas de *Pseudomona aeruginosas* aisladas de suelos contaminado con petróleo para la elaboración de biosurfactantes. En su metodología fue con un diseño experimental usando *Pseudomona aeruginosas* que

fueron seleccionados por su alta actividad emulsionante (valor E24 en *n*-hexadecano ~ 78%). Estos aislamientos (E39, E311 y E313) fueron identificados como miembros de la *P. putida* grupo usando métodos fenotípicos y un enfoque molecular. Los resultados de los autores indicaron que la actividad de los biosurfactantes producidos fue estable en un rango de pH de 6 a 12, a alta salinidad (10%) y después de calentar a 80 °C. Las pruebas en microbiorreactores de arena contaminada mostraron que las tres cepas podían remover hasta el 98.7% del diésel. Donde los autores concluyeron que existe potencial de estas cepas productoras de siringafactina para su aplicación en la biorremediación de hidrocarburos.

He et al., (2020) evaluaron la degradación del *n*-hexano y la producción de biosurfactante por *Pseudomonas*. Las cepas NEE2 se aislaron de suelo contaminado con petróleo. Se utilizaron placas de agar sangre, placas de agar azul de metileno y cultivos con *n*-hexano como única fuente de carbono para identificar cepas capaces de biodegradar el *n*-hexano mientras producían biosurfactantes. Los autores tuvieron como resultados que la producción de biosurfactantes por esta cepa dependía de la concentración inicial de *n*-hexano (132–2640 mg/L). A la concentración de 2640 mg/L de *n*-hexano, los biosurfactantes promovieron la eliminación de *n*-hexano. A 132 mg/l de *n*-hexano, la eficiencia de eliminación de *n*-hexano en el día 2 superó el 60%. Donde los autores concluyeron que es posible que los microorganismos utilizando el efecto sinérgico de la degradación hidrofóbica de COV y la producción de biosurfactantes eliminan a los COV hidrofóbicos en biofiltros.

Gutiérrez et al., (2020) valoraron la influencia de la bioestimulación y bioaumentación con *Pseudomonas aeruginosa fluorescens* para contribuir a la eliminación de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) de un suelo. La metodología fue mediante un diseño experimental en laboratorio seleccionando el mejor tratamiento de bioaumentación y bioestimulación. Las fuentes de C, N y P fueron glucosa-extracto de levadura, NH₄Cl-NaNO₃ y K₂HPO₄-K₃PO₄, respectivamente. Los resultados fueron que después de 80 días de incubación, se observó que los tratamientos de extracto de levadura-NH₄Cl-K₂HPO₄(Y4) y glucosa-NaNO₃-K₃PO₄(Y5) presentaron un mayor nivel de remoción de TPH de 20.91% y 20,00% de degradación de TPH, respectivamente. Los autores

concluyeron que la tecnología de biorremediación es una de las estrategias más rentables y sostenibles para enmendar suelos contaminados con hidrocarburos.

Sun et al., (2019) los autores tuvieron como objetivo identificar a las *Pseudomonas aeruginosa* una cepa S5 productora de biosurfactantes aislada de aguas residuales de coque. El biosurfactante producido por la cepa S5 determinaron como glicolípido con una concentración micelar crítica (CMC) de 96.5 mg/L y redujo la tensión superficial de 72.2 a 29.6 mN/m. Adición autóctona de *P. aeruginosa* S5 para coquización de aguas residuales promovió efectivamente la biodegradación de HAP de alto peso molecular (HWM) (reducción de 9141.02 a 5117.16 µg/L en 15 días) en la fase de lodo. Los autores concluyeron que la inoculación de *P. aeruginosa* S5 en aguas residuales de coquización promovieron significativamente la eliminación de HAP, especialmente HWM en HAP.

Govarathan et al., (2019) en esta investigación las bacterias se aislaron de suelo contaminado con Cr y se identificaron como *Pseudomonas aeruginosa* ssp. basado en la secuenciación parcial de 16S rDNA. El aislado RPT mostró una alta tolerancia al Cr (VI) (1000 mg/l) y una tasa de eliminación (64.4 %) en experimentos por lotes. La enmienda de la torta de aceite de neem (7.5% p/v) mejoró la eliminación de Cr (VI) (82%) del suelo contaminado. Los autores concluyeron que los resultados adquiridos señalaron que la aplicación de torta de aceite de neem junto con bacterias autóctonas resistentes al Cr (VI) podría inspirar la biorremediación de incrustaciones de suelo contaminadas con Cr (VI).

Seguidamente se establecieron las bases teóricas de acuerdo a las variables y dimensiones establecidas en el estudio, para ello, los suelos contaminados, es causado por la aparición de químicos o sustancias que no están en el lugar correcto y/o en concentraciones más altas de lo normal y tienen efectos nocivos en organismos no deseados (Ambust et al., 2021). Gran parte de los contaminantes son producidos por el hombre, pero algunos están naturalmente en el suelo en forma de minerales y pueden ser dañinos en altas concentraciones. La contaminación del suelo es a menudo un peligro oculto porque no se puede evaluar ni percibir visualmente directamente (Baig et al., 2021).

Otra contaminación concurrente en el suelo es el derrame de petróleo, este representa un problema ambiental y mundial que es producido por petróleos pesados y extrapesados, es menos tóxico que los petróleos ligeros y semipesados, pero más difícil y costoso de remediar (Fakhar et al., 2020). Además, aunque los petróleos pesados y extrapesados generalmente tienen baja toxicidad, tienen los siguientes efectos físicos sobre las propiedades del suelo: reducción y mayor repelencia al agua, entre otras propiedades que afectan la fertilidad (Hassen et al., 2021). (Figura 1)



Figura 1. Contaminación del suelo con petróleo

Fuente: Annie et al. (2020)

Así mismo, el petróleo crudo se considera como una mezcla compleja desde una variedad de hidrocarburos de diferentes pesos y estructuras moleculares, desde sustancias simples altamente volátiles hasta compuestos asfálticos no destilables (Sun et al., 2020). Las definiciones de petróleo ligero y pesado son difíciles de encontrar y su tipificación solo se basa en conocimientos prácticos más que teóricas (Swati et al., 2020). Los crudos moderados también contienen concentraciones moderadas de hidrocarburos de bajo peso molecular, lo que los hace más fáciles de transportar. Este tipo de aceite se utiliza para extraer combustibles y materias primas para polímeros y parafinas (Trifonova et al., 2022). Dicho esto, existen indicadores para determinar la concentración de petróleo crudo en una determinada superficie, estos son:

Fracción de Hidrocarburos F1 (C6-C10) o Fracción de Hidrocarburos F1 o Fracción Ligera: es una mezcla de hidrocarburos que tienen de 6 a 10 átomos de carbono (C6 a C10) por molécula. Para determinar las fracciones de hidrocarburos ligeros se deben

analizar los siguientes productos: mezclas de productos desconocidos obtenidos del petróleo, crudo, solventes, gasolina, queroseno, etc. (Decreto Supremo N° 011-2017-MINAM – ECA Suelo).

Fracción de Hidrocarburos F2 (>C10-C28) o Fracción de Hidrocarburos F2 o Destilado Medio: Combinación de hidrocarburos que contiene de 10 a 28 átomos de carbono más (>C10 a C28) por molécula. Para el análisis de hidrocarburos del destilado medio se deben analizar los siguientes productos: mezclas de productos petrolíferos desconocidos, petróleo crudo, combustible diesel, combustible diesel, combustible para aviones, queroseno, mezclas de creosota, solventes gaseosos, gasolina, queroseno (Decreto Supremo 011- 2017) -MINAM-ECA Suelo).

Fracción de hidrocarburos F3 (>C28-C40) o fracción de hidrocarburos F3 o fracción pesada: combinación de hidrocarburos que contiene más de 28 a 40 átomos de carbono (>C28 a C40) por molécula. El análisis de fracciones de hidrocarburos pesados deberá realizarse en los siguientes productos: mezclas de productos desconocidos derivados del petróleo, crudo, parafinas, petrolatos, querosenos, etc. (Decreto Supremo N° 011-2017-MINAM - ECA Suelo).

Las propiedades físicas y químicas del suelo están relacionadas con la calidad y medio de agua y nutrientes de las plantas, incluyendo el pH, la materia orgánica, el color, la temperatura y los macronutrientes fósforo (P), nitrógeno (N) y potasio (K) (Abtahi et al., 2020).

El pH del suelo es una propiedad química muy relevante ya que señala qué tan ácida o básica es la solución del suelo donde las raíces y los microorganismos del suelo absorben nutrientes. Su relevancia reside en su capacidad para monitorear y evaluar los niveles de fertilidad (Shishkonakova et al., 2020).

La medición del pH del suelo está relacionada en gran medida con la absorción de nutrientes del suelo, el proceso de las raíces y el incremento de las plantas. Cuando el suelo se vuelve ácido, el nivel de pH en cada punto de goteo aumenta en un factor de 10 (Rodríguez et al., 2021). Esto significa que el efecto del suelo con pH bajo es muy pronunciado y hay una disminución rápida en el crecimiento de las raíces, una disminución en la disponibilidad de fósforo y molibdeno, y una disminución en la capacidad de utilizar nitrógeno, fósforo, potasio y nutrientes (Petrova et al., 2022).

Otra propiedad del suelo, el total de materia orgánica, depende de la vegetación, el clima, la estructura del suelo, el drenaje y la labranza. El suelo mineral con mayor contenido de materia orgánica suele ser el suelo de pradera intacto. (Liao et al., 2019). Los suelos forestales y los suelos de climas más cálidos tienen menos materia orgánica. Si el suelo carece de materia orgánica, su fertilidad y por lo tanto su productividad (medida por el rendimiento de las plantas) disminuirá (Konstatinov et al., 2020).

Asimismo, el color del suelo es una particularidad que puede indicar la fertilidad del suelo. Cabe mencionar que este tipo de indicador no tiene un resultado directo sobre el incremento y el desarrollo de las plantas. Puede perturbar de forma indirecta la temperatura y la humedad del suelo al actuar sobre la energía radiante de la tierra. Cuanto mayor sea la energía térmica disponible, mayor será el grado de evaporación inducida (Gutiérrez et al., 2020).

Este grupo también incluye temperaturas que están directamente relacionadas con la temperatura atmosférica, ya que la tierra es un aislador del flujo de calor entre la tierra sólida y la atmósfera. Además, la temperatura del suelo perjudica el clima, el incremento de las plantas, el momento de aparición de los botones florales o la caída de las hojas, la tasa de degradación de los desechos orgánicos y otros procesos químicos, físicos y biológicos que ocurren en la tierra (Dwivedi et al., 2019).

En cuanto a los macronutrientes, se mencionó el nitrógeno, el cual es considerado un nutriente esencial para los organismos vivos porque es un componente esencial de compuestos relevantes como aminoácidos, proteínas, enzimas, nucleoproteínas, ácidos nucleicos, paredes celulares y clorofila de las plantas (Bodor et al., 2020). También es el nutriente que generalmente tiene mayor impacto en el beneficio y la calidad de los productos adquiridos en las actividades agrícolas (Ramadass et al., 2018).

Seguido de fósforo que es relevante para el incremento y mejora de las plantas. El 90% del fósforo está presente en el suelo y menos del 10% se distribuye fuera del suelo. Sin embargo, solo una fracción de este 90% está disponible para las plantas (Rodríguez et al., 2019).

En este grupo de macronutrientes se encuentra el potasio, que es absorbido en gran cantidad por las plantas, superado únicamente por el N y en algunos casos incluso por el Ca. Este es el nutriente con menos problemas de disponibilidad debido al suministro generalmente aceptado de este elemento en los suelos (Shi et al., 2020). En contraste con el fósforo (o el azufre o el nitrógeno), el potasio existe solo como el catión K^+ con carga positiva en las soluciones del suelo. A diferencia del N, P, K no presenta problemas circunstanciales cuando abandona el sistema del suelo. No es nocivo y no ocasiona eutrofización de los cuerpos de agua (Soares et al., 2021).

Debido a las preocupaciones antes mencionadas sobre la contaminación del suelo inducida por el petróleo, han surgido tecnologías de fitorremediación que explotan la capacidad de algunas plantas para impregnar, almacenar, metabolizar, volatilizar o inmovilizar contaminantes como metales pesados, metales radiactivos, compuestos orgánicos y derivados. conexiones. Petróleo en el suelo, aire, agua o sedimento (Elumalai et al., 2019). Estas fitotecnologías tiene bastantes ventajas, como una extensa aplicabilidad y un costo bajo en comparación con los métodos fisicoquímicos usados al presente (Wolinska et al., 2020) (Figura 2).

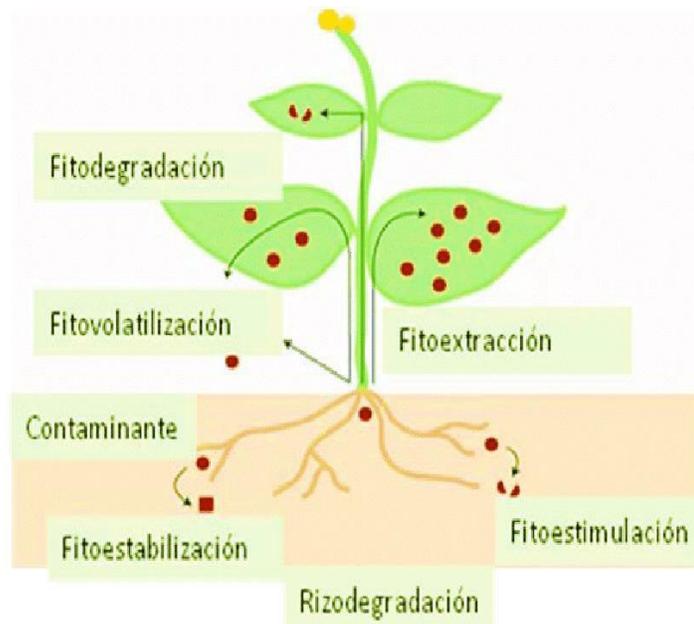


Figura 2. Fitorremediación en suelos

Fuente: Wolinska et al., (2020)

Para la fitorremediación de suelos contaminados se empleará una nueva especie vegetal que es el *calamagrostis acutiflora*, es una de las hierbas ornamentales más populares del mundo debido a sus abundantes espigas erguidas, que se mueven con gracia a la menor brisa. De crecimiento rápido resulta muy atractivo durante varias estaciones, incluido en invierno (Alekseenko et al., 2021). Es una planta versátil, de fácil cultivo, que proporciona excelentes líneas verticales. Se desarrolla bien en suelos húmedos, también en suelos arcillosos. Es muy adaptable de 120-180cm de alto y 40-50cm de ancho (Xiao et al., 2021). Para las técnicas de fitorremediación es poco empleada debido a que aún no se ha comprobado con exactitud su eficiencia en cuanto a la remediación de suelos contaminados con petróleo. (Figura 3)



Figura 3. Calamagrostis Acutiflora

Fuente: Yu et al. 2019

Ya que se empleará bacterias como la *Pseudomonas aeruginosa*, se hace mención de la técnica de biorremediación para la restauración ambiental. La tecnología funciona interfiriendo con la biodiversidad, con el propósito de mitigar (y posiblemente eliminar) los impactos negativos causados por los contaminantes ambientales en lugares específicos (Wu et al., 2021). Finalmente, la *Pseudomonas aeruginosa* es un microbio que se alimenta de hidrocarburos, puede crecer en combustibles como el queroseno y el diésel, provocando la corrosión de los microbios y produciendo algas de color oscuro que a veces se confunden con algas marinas que forman gelatina (Yu et al., 2021) (Figura 4).



Figura 4. Pseudomona Aeruginosa

Fuente: Zhao et al., 2020.

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

Tipo de Investigación: La investigación es de tipo aplicada, en base en lo planteado por Mejía (2020), la finalidad es generar conocimiento que sea aplicable a problemas de la sociedad u otros sectores, según el campo de estudio. Si se trata esencialmente de un hallazgo tecnológico asentado en una investigación fundamental, es un proceso que une la teoría y los productos. El propósito de este estudio es presentar la tecnología de remediación híbrida de la especie vegetal *Calamagrostis acutiflora* y la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* en suelos contaminados con petróleo en Piura.

Diseño de investigación: es experimental puro, se basa en (Rodríguez, 2022). Para observar los efectos de una o más variables dependientes en un entorno controlado, se deben manipular una o más variables independientes. Los participantes fueron designados aleatoriamente a grupos de tratamiento y control, y la variable independiente (suelo contaminado con petróleo) se manipuló de forma vigilada para analizar su efecto sobre la variable dependiente (bacterias mixtas y remediación de *Pseudomonas aeruginosa*).

3.2. Variables y operacionalización

Variable independiente: Suelos contaminados por petróleo

Variable dependiente: Remediación mixta

Tabla 1. Matriz de operacionalización

VARIABLE	DEFINICIÓN DEL CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA
Independiente: Suelos contaminados por petróleo	El petróleo en el suelo tiene situaciones propicias para el incremento de bacterias anaerobias, lo que se entienda en una disminución de oxígeno en los poros del suelo, además de la reducción de fertilidad del suelo (Bodor et al. 2020).	Se determinará el grado de contaminación del crudo de petróleo y la disminución de las características fisicoquímicas del suelo con acumulación de petróleo.	Características fisicoquímicas del suelo	<ul style="list-style-type: none"> • pH • Materia orgánica • Color • Temperatura • Nitrógeno • Fósforo • Potasio 	Nominal
			Crudo de petróleo	<ul style="list-style-type: none"> • Fracción de hidrocarburo F1 (C6-C10) • Fracción de hidrocarburos F2 (>C10-C28) • Fracción de hidrocarburos F3 (>C28-C40) 	
Dependiente: Remediación mixta	La remediación de suelos contaminados es una serie de acciones correctivas destinadas a restaurar el suelo a su estado original, o al menos a un estado que no represente un riesgo potencial para la salud y el medio ambiente del ecosistema representativo (Sun et al. 2019).	Se fijará un área de estudio donde se realizará la remediación con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i> de los suelos con petróleo, después del tratamiento se realizarán los análisis correspondientes.	Remediación de las características fisicoquímicas del suelo	<ul style="list-style-type: none"> • pH • Materia orgánica • Color • Temperatura • Nitrógeno • Fósforo • Potasio 	Ordinal
			Porcentajes de remediación del crudo de petróleo	<ul style="list-style-type: none"> • % Fracción de hidrocarburo F1 (C6-C10) • % Fracción de hidrocarburos F2 (>C10-C28) • % Fracción de hidrocarburos F3 (>C28-C40) 	

3.3. Población, muestra y muestreo

Población: Son todos los suelos contaminados por petróleo de Piura, así como lo menciona Arias et al. (2019), que una población es un grupo de casos determinado, restringido y asequible que sirve como referencia para la selección de muestras y satisface un conjunto de criterios predeterminados.

Muestra: Las muestras estuvo conformada por 12 kg de suelo contaminado que estuvieron distribuidas por 4 tratamientos en maceteros con 3 repeticiones en base a las dosis de *Pseudomona aeruginosa*, estarán distribuidas de la siguiente manera T0= Testigo, T1= *Calamagrostis acutiflora*, T2= *Pseudomona aeruginosa* y T3= *Calamagrostis acutiflora* + *Pseudomona aeruginosa*, todos estos tratamientos serán realizados a escala laboratorio.

Muestreo: Se utilizó el muestreo no probabilístico siendo el tipo de muestreo según juicio. Se empleó 3 masetas que tenían 1 kg de suelo contaminado con petróleo donde se realizará el tratamiento de remediación mixta usando *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa*.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Técnicas de recolección de datos

Las técnicas de recolección de datos que se emplearán en esta investigación serán las siguientes:

- **Observación:** La observación se empleó durante el procedimiento elemental del tratamiento con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* donde se registraron uno o varios hechos, según como menciona Campos y Lule (2020), que la observación es considerada como algo factual, verdadero o contundente; a diferencia, dentro de un sistema de tratamiento obteniendo un resultado y sus relaciones con el problema.
- **Análisis documental:** se usó a través de la compilación de información de variadas bases datos en base a artículos de revistas formando la síntesis

del proyecto, que según Peña y Pirela (2019), consiste en seleccionar ideas relacionadas con la información de un documento para expresar sin ambigüedades su contenido y obtener la información que contiene.

- **Guía para el manejo de materiales peligrosos:** Se usó para concebir los requisitos e ilustraciones clave vinculados con los materiales peligrosos, así como le menciona Garrido, (2023), que es una de las buenas acciones para la gestión e inspección de derrames y fugas de material peligroso.
- **Guía de seguridad y buenas prácticas en laboratorio:** Se usó como guía para que se pueda ejecutar experimentos prácticos necesarios para probar los conocimientos teóricos; según como menciona Bejarano, (2021), es un documento donde se encontró pautas para que pueda solucionar problemas prácticos y así realizar aplicaciones reales de los conocimientos adquiridos
- **Guía para el muestreo de suelos: establece especificaciones para:** i) determinar si el suelo está contaminado, ii) determinar el alcance de la contaminación (vertical y horizontal), iii) determinar el nivel de concentración de fondo, y/o iv) así se estableció si las labores de remediación alcanzar disminuir la concentración de los contaminantes en el suelo según el D.S. concentración. 002-2013-MINAM ECA para suelos.

Instrumentos de recolección de datos

Los instrumentos de recopilación de datos que fueron empleados en esta investigación se consideraron las siguientes:

- **Ficha de recolección de datos:** fueron donde se plasmaron información relevante que se descubre en el transcurso de cualquier indagación de información y que desea tener a mano en todo momento (Castro, 2020).

3.5. Procedimiento

La investigación estuvo distribuida en 3 etapas, estas se mostraron a continuación:

ETAPA 1: Gabinete Inicial

Para esta etapa después de la aprobación del título del proyecto, se realizó la recopilación de toda la información de acuerdo a artículos y revistas indexadas, así mismo se tuvo coordinaciones con profesionales expertos en el tema de remediación de suelos contaminados con petróleo usando especies vegetales y bacterias, posterior a ello se realizó una visita de campo para la toma de los puntos de coordenadas del área de estudio para posterior producción de mapa de ubicación (Figura 5).

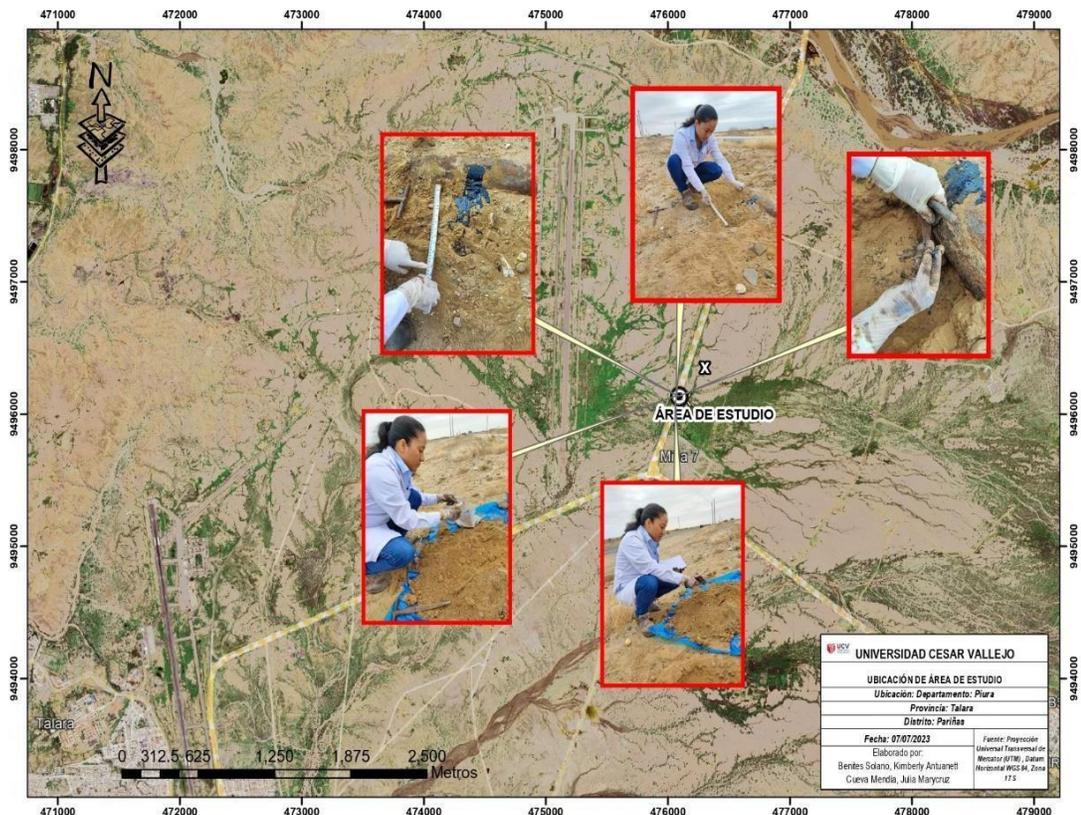


Figura 5. Mapa de ubicación y recolección de muestras de suelo contaminado con crudo de petróleo

También se efectuó los permisos y coordinaciones con el laboratorio donde se llevó a cabo los tratamientos, seguidamente se elaboraron las fichas de recopilación de datos donde se colocaron la información adquirida en campo y laboratorio. Además, se coordinó con un laboratorio acreditado para el análisis

de suelo antes y después del tratamiento con *Calamagrostis acutiflora* y *pseudomona aeruginosa*. Seguidamente se extrajeron las muestras de suelo contaminado para establecer la concentración inicial de contaminantes del área de estudio (Figura 6).



Figura 6. Proceso de muestreo del suelo contaminado con crudo de petróleo

Nota: (A) medidas de la calicata en la extracción de la muestra inicial de las características fisicoquímicas y crudo de petróleo iniciales del suelo. (B) acondicionamiento de las muestras de suelo para ser enviadas a laboratorio para los análisis correspondientes.

ETAPA 2: Campo y Laboratorio

- En la segunda etapa, se inició por la etapa de laboratorio por el tratamiento de con *P. aeruginosa* en las unidades experimentales (T2 y T3), con la identificación y aislamiento de *P. aeruginosa*, que se basó en la extracción de 1 kg de suelo contaminado para cada maceta para ser incorporada.
- Posterior a ello, se prepararon las cajas Petri para los cultivos de las bacterias, utilizando el agar cetrimida, como medio de cultivo selectivo para estas bacterias llamadas *Pseudomona aeruginosa* (Figura 7).

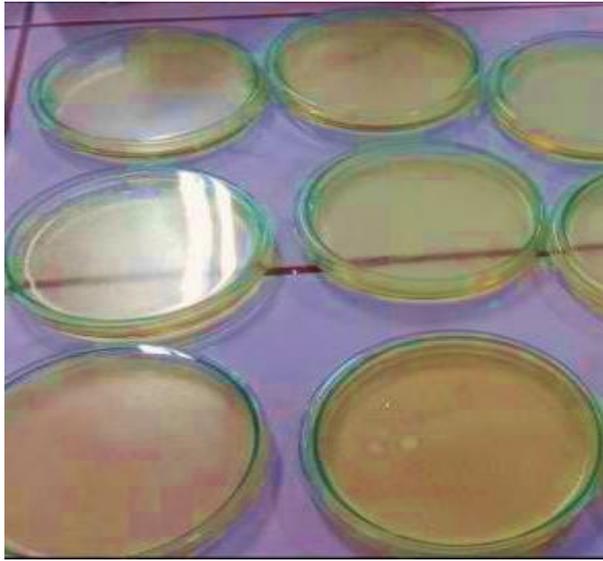


Figura 7. Cajas Petri para el aislamiento de las colonias de bacterias *pseudomona aeruginosa*

- La caracterización de la cepa bacteriana se efectuó a través de la aplicación del kit API-20e (bioMérieux® sa, 2002), que se utilizó para la tipificación de diversos géneros de bacterias y bacilos gram-negativo.
- Seguidamente después diluir la muestra, se siembra en zigzag en una placa de Petri que contiene agar cetrimida, se cultivaron las muestras en una estufa a 36°C por un periodo de 8 días (Figura 8).



Figura 8. Cultivo de la *pseudomona aeruginosa* para la formación de colonias (UFC)

- Una vez que se identificó y aisló las bacterias, para ellos se utilizó una grilla de 1x1 cm, a cada placa Petri se ubicó sobre esta grilla y se determinó la

cantidad de colonias por placa, Posterior a ser incorporadas en las macetas con suelo contaminado de petróleo (Figura 9).

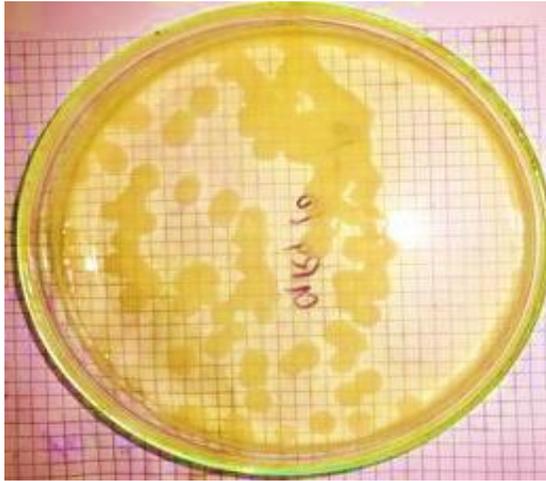


Figura 9. Formación de las colonias de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*

- Se realizará la bioaumentación y alimentación de la cepa aislada.
- Posterior a ello, se llevó a cabo la preparación de suelos, donde se dispusieron de 3 muestras de 3kg de suelo tratados.
- Cada una de las muestras contuvo suelo contaminado con petróleo con 6% en peso de petróleo.
-
- Se extrajeron las muestras de suelo contaminado por petróleo para posterior distribución en los maceteros como se muestra a continuación: (Figura 10)
- Maceta 1: T0= Testigo
- Maceta 2: T1= *Calamagrostis acutiflora*
- Maceta 3: T2= *Pseudomonas aeruginosa*
- Maceta 4: T3= *Calamagrostis acutiflora* + *Pseudomonas aeruginosa*. Cada uno tendrá 1kg de suelo contaminado con petróleo.



Figura 10. Acondicionamiento del sistema de tratamiento con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa*

Nota: (A) aislamiento de la *Pseudomonas aeruginosa* para la incorporación al suelo contaminado con petróleo. (B) extracción de suelo contaminado para las unidades experimentales. (C) acondicionamiento de las unidades experimentales de tratamiento. (D) Unidades experimentales mixtas en el tratamiento con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa*.

- El sistema de tratamiento contó con 3 repeticiones cada uno, donde se determinaron mediante análisis estadístico las diferencias en cuanto a sus valores evaluados.

- El periodo de experimentación tuvo una duración de 28 días consecutivos.
- Asimismo, se esquematizó el sistema de tratamiento que estuvo en base a maceteros que fueron distribuidos según la especie vegetal herbácea *Calamagrostis acutiflora* y la bacteria *Pseudomona aeruginosa* según como se muestra en la siguiente figura 11.

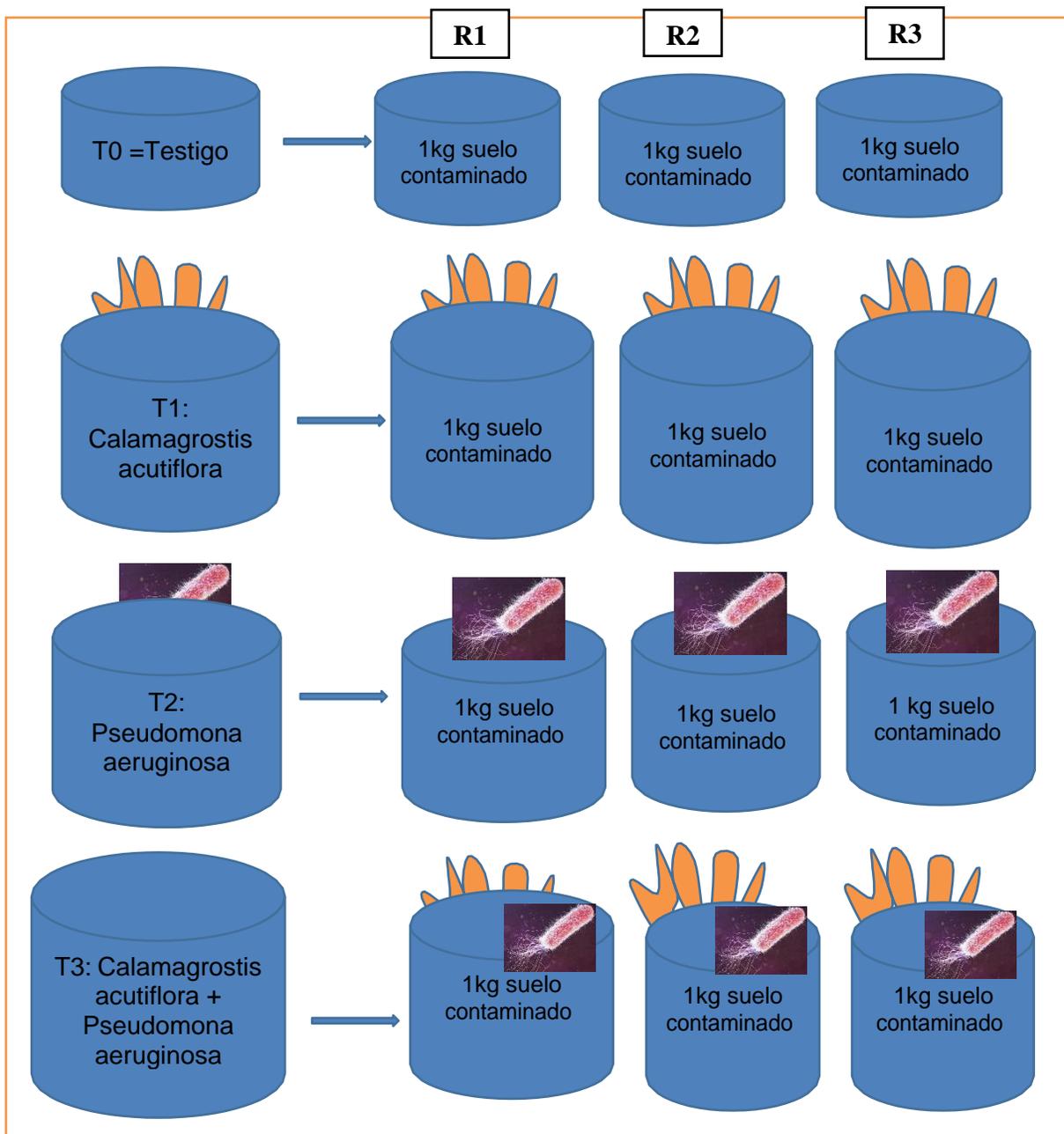


Figura 11. Diagrama de tratamiento con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa*

- Se midió la cantidad de hidrocarburo en la muestra, usando el efecto de reflectancia difusa (ERD) y el indicador de hidrocarburos (IHU) por una evaluación de 30 días; luego de ser inoculadas con *P. aeruginosa*.
- Para la determinación de la cantidad de hidrocarburos se hizo uso del índice de Hidrocarburos.

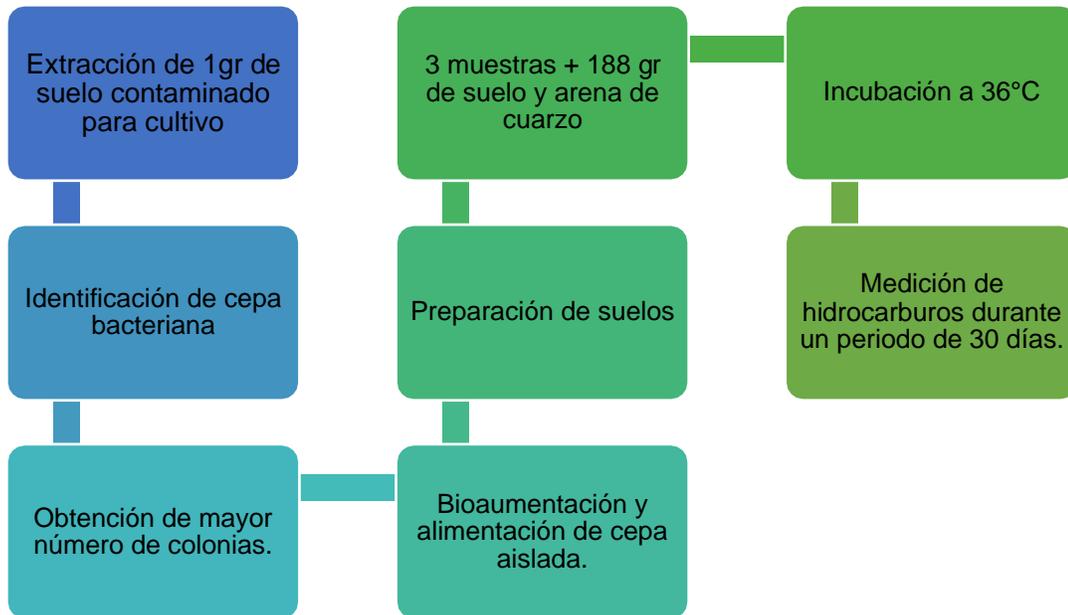


Figura 12. Diagrama de flujo de tratamiento con *Pseudomonas aeruginosa*

- Posterior al tratamiento por el periodo de 30 días se extrajo las muestras finales de cada maceta para ser enviados a laboratorio para determinar la concentración final de contaminantes.
- Por un tiempo de 15 días el laboratorio emitió los resultados correspondientes, donde fueron procesados los datos y comparados para terminar la efectividad de los tratamientos.

ETAPA 3: Gabinete Final

Para la tercera etapa se realizó la definición de resultados obtenidos durante la etapa de campo y laboratorio, seguidamente para una mejor comprensión de

los resultados en el programa Microsoft Excel se elaboró tablas y gráficos y anexados en los resultados del trabajo de investigación, posteriormente se elaborará el informe final. Luego se ejecutó la presentación del informe final para obtener las observaciones y seguidamente se levantaron las observaciones y enviadas para la sustentación final de la tesis.

3.6. Métodos de análisis de datos

En el método de análisis de datos se utilizaron los programas SPSS-25 y Excel para procesar los datos obtenidos en la parte experimental proporcionada de las tres unidades experimentales, así como los resultados de laboratorio del tratamiento con *Calamagrostis Acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa*. El análisis estadístico utilizará ANOVA para determinar si existen diferencias significativas que resulten en una dosis efectiva para remediar el suelo contaminado con petróleo.

3.7. Aspectos éticos

Este estudio acepta el derecho de autor fuentes de investigación contenidas en todos los capítulos, los lineamientos normativos internacionalmente válidos de la norma ISO 690 y sigue los principios éticos cumpliendo con la normativa RVI de la Universidad César Vallejo N° 062-2023-VI

IV. RESULTADOS

Este capítulo menciona los resultados adquiridos en la investigación, el impacto del uso de *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* en la disminución de petróleo de suelos. Contienen tablas y gráficos de “concentración de contaminantes de hidrocarburos y caracterización físico y química” para ilustrar los hallazgos y proveer su paráfrasis. Los resultados se organizan en secciones de acuerdo a los objetivos específicos del proyecto y se discuten según las hipótesis planteadas. Al final del capítulo se mencionan las conclusiones generales derivadas de los resultados adquiridos.

4.1. Caracterización física y química del suelo contaminados por petróleo antes del tratamiento con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa*.

Se determinaron la caracterización física y químicas iniciales del suelo contaminado con petróleo tal como se menciona en la tabla 2.

Tabla 2. *Características físicas y químicas del suelo*

Elementos	Unidad	Resultado
pH	1-14	5.7
Materia orgánica	%	1.2
Color	***	Amarillo claro
Temperatura	°C	27.5
Nitrógeno	%	0.1
Fósforo	mg/kg	4.2
Potasio	mg/kg	92.6

4.2. Propiedades del crudo de petróleo en los suelos antes del tratamiento con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* en Piura.

Seguidamente se evidencia que los elementos iniciales que existen en suelo contaminado con petróleo superan los estándares de calidad ambiental (ECA) tal como se observa en la Figura 13.

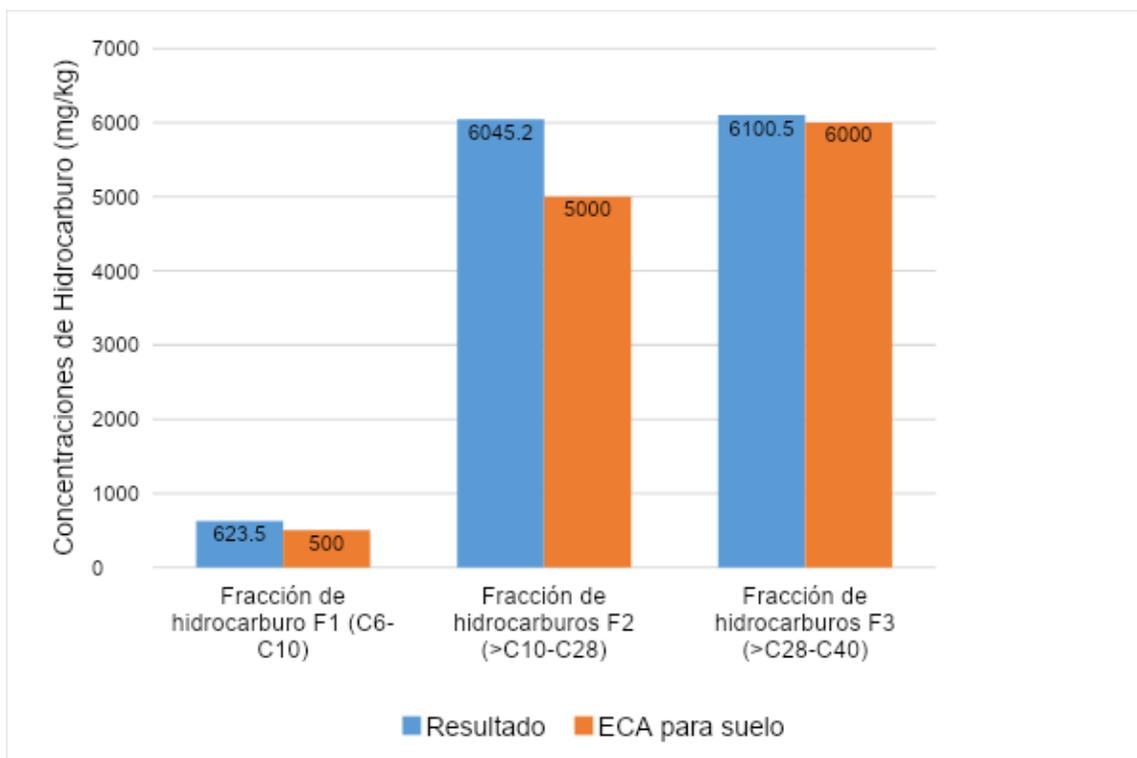


Figura 13. Propiedades de los hidrocarburos en el suelo para tratamiento

Mediante el análisis de varianza en ANOVA de la cantidad de petróleo en la fracción hidrocarburo F1 (C6-C10) del suelo, se evidencia una significancia de la presencia de la sustancia, ya que el valor de p es de 0.032, estando por debajo del valor de 0,05. (Tabla 3)

Tabla 3. Análisis de varianza en ANOVA de la presencia de la carga de fracción de hidrocarburo F1 (C6-C10) en suelos.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Fracción de hidrocarburo F1 (C6-C10)	Entre grupos	12,841	3	6,654	4,453	0,032
	Dentro de grupos	4,040	8	0,753		
	Total	16,849	11			

Mediante el análisis de varianza en ANOVA de la cantidad de petróleo en la fracción hidrocarburo F2 (C10-C28) del suelo, se evidencia una significancia de la presencia de la sustancia, ya que el valor de p es de 0.002, estando por debajo del valor de 0,05. (Tabla 4)

Tabla 4. *Análisis de varianza en ANOVA de la presencia de la carga de fracción de hidrocarburo F2 (>C10-C28) en suelos*

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Fracción de hidrocarburo F2 (>C10-C28)	Entre grupos	14,007	3	8,024	3,567	0,002
	Dentro de grupos	7,470	8	1,043		
	Total	19,901	11			

Mediante el análisis de varianza en ANOVA de la cantidad de petróleo en la fracción hidrocarburo F2 (C28-C40) del suelo, se evidencia una significancia de la presencia de la sustancia, ya que el valor de p es de 0.000, estando por debajo del valor de 0,05. (Tabla 5)

Tabla 5. *Análisis de varianza en ANOVA de la presencia de la carga de fracción de hidrocarburo F3 (>C28-C40) en suelos*

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Fracción de hidrocarburo F3 (>C28-C40)	Entre grupos	8,707	3	6,640	3,567	0,000
	Dentro de grupos	6,681	8	0,950		
	Total	17,350	11			

4.3. Eficiencia entre *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa* en la remoción de contaminantes fisicoquímicos del suelo tratado.

Se determinaron las características fisicoquímicas del suelo tratado, mostrando una mejora en los indicadores evaluados en el tratamiento 3 mezclado entre *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa* (Tabla 6).

Tabla 6. Parámetros fisicoquímicos del suelo tratado con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa*

Tratamientos	pH (%)	Materia orgánica (%)	Nitrógeno (%)	Fósforo (%)	Potasio (%)
T0	3.50%	8.33%	1%	9.52%	2.15%
T1	8.77%	33.33%	1.8%	50.00%	5.72%
T2	21.05%	83.33%	30%	80.95%	11.12%
T3	28.07%	86.74%	40%	92.85%	14.25%

Interpretación: En la tabla 6 se menciona la eficiencia en porcentajes de los parámetros fisicoquímicos con la incorporación de las plantas *Calamagrostis acutiflora* y la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* en el suelo tratado con hidrocarburos, demostrando que los mayores porcentajes fueron en los tratamientos oscilantes de (T2 y T3) que estuvieron entre el 11,12% al 92,85%

Luego se registraron las concentraciones de los parámetros fisicoquímicos obtenidos al final del proceso de tratamiento, evidenciadas las mejores concentraciones de pH en el tratamiento (T3), estimadas como un tratamiento mixto entre las especies *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa* (Figura 14).

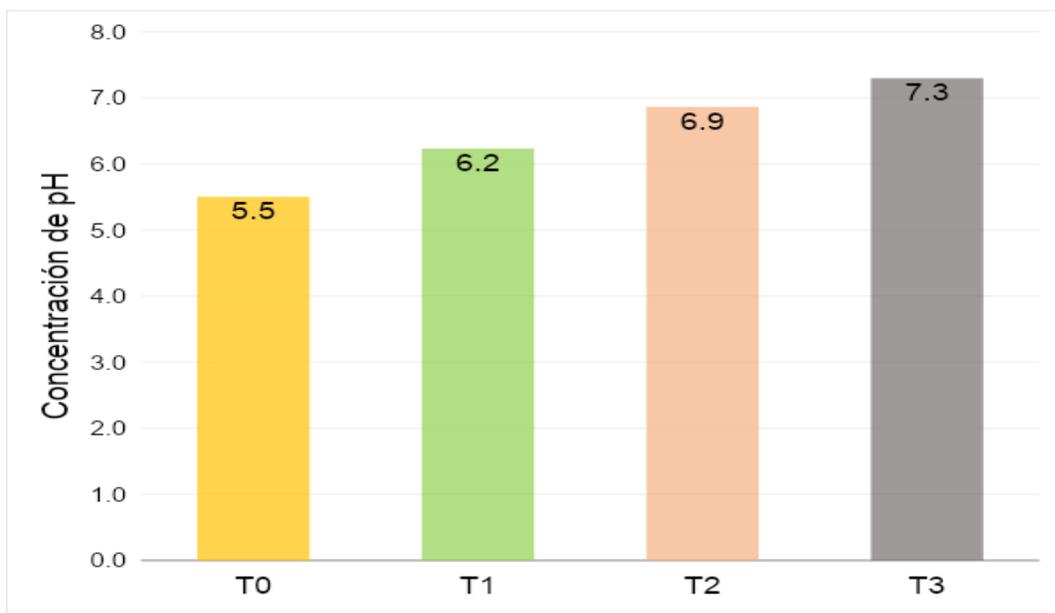


Figura 14. Concentraciones de pH en suelo tratado con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa*

Seguidamente se evidenciaron las mejores concentraciones de materia orgánica (MO) en el tratamiento (T3), estimado un tratamiento mixto entre las especies *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* (Figura 15).

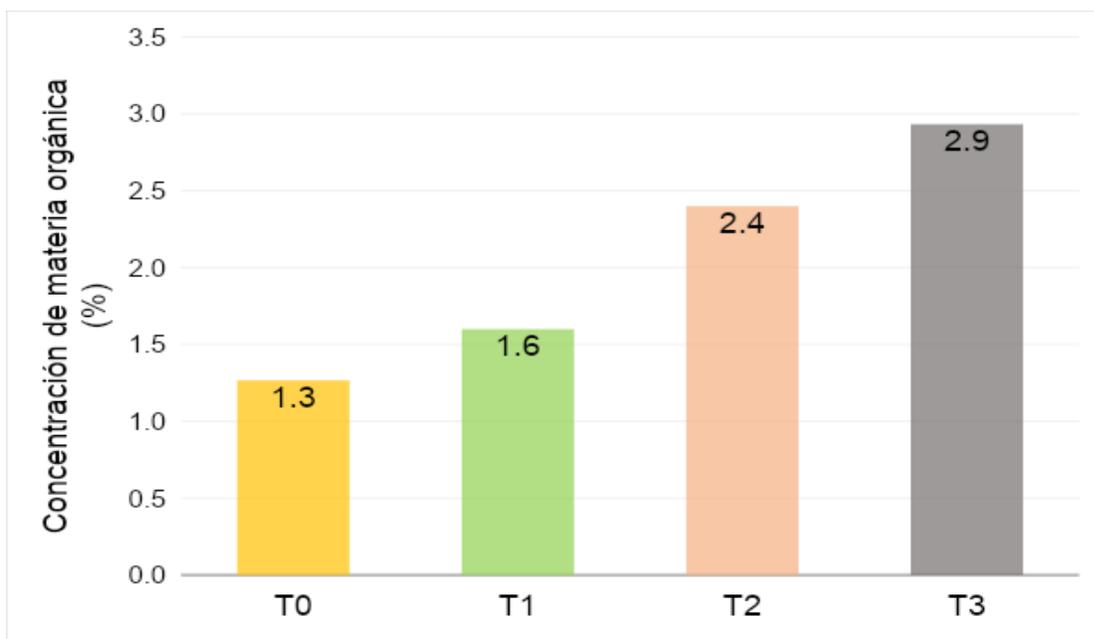


Figura 15. Concentraciones de materia orgánica (MO) en suelo tratado con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa*

Se evidenciaron las mejores concentraciones de nitrógeno (N) en el tratamiento (T3), estimado un tratamiento mixto entre las especies *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa* (Figura 16).

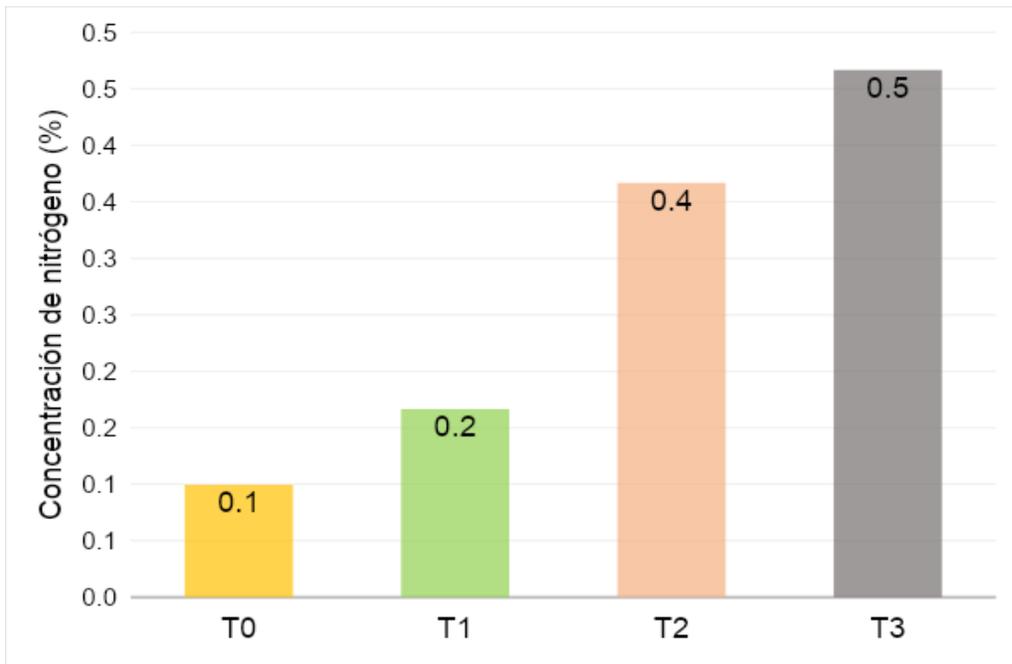


Figura 16. Concentraciones de nitrógeno (N) en suelo tratado con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa*

Posteriormente se evidenciaron que las concentraciones de fósforo (P) en el tratamiento (T3), estimado un mejor tratamiento mixto entre las especies *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa* (Figura 17).

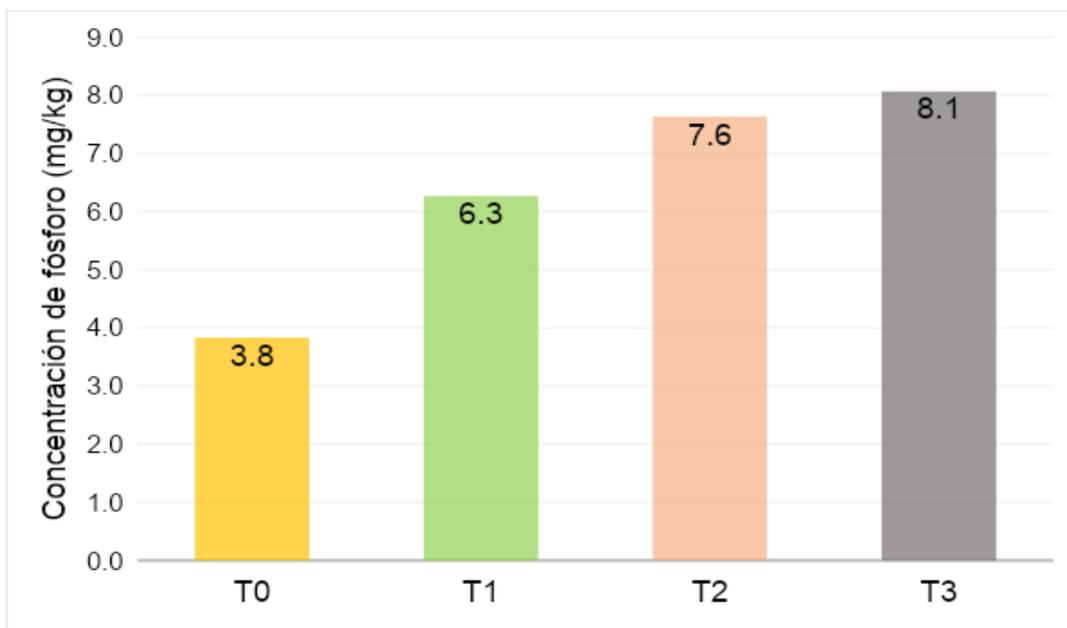


Figura 17. Concentraciones de fósforo (P) en suelo tratado con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa*

Seguidamente se obtuvieron las mejores concentraciones de potasio (K) en el tratamiento (T3), estimado un mejor tratamiento mixto entre las especies *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa* (Figura 18).

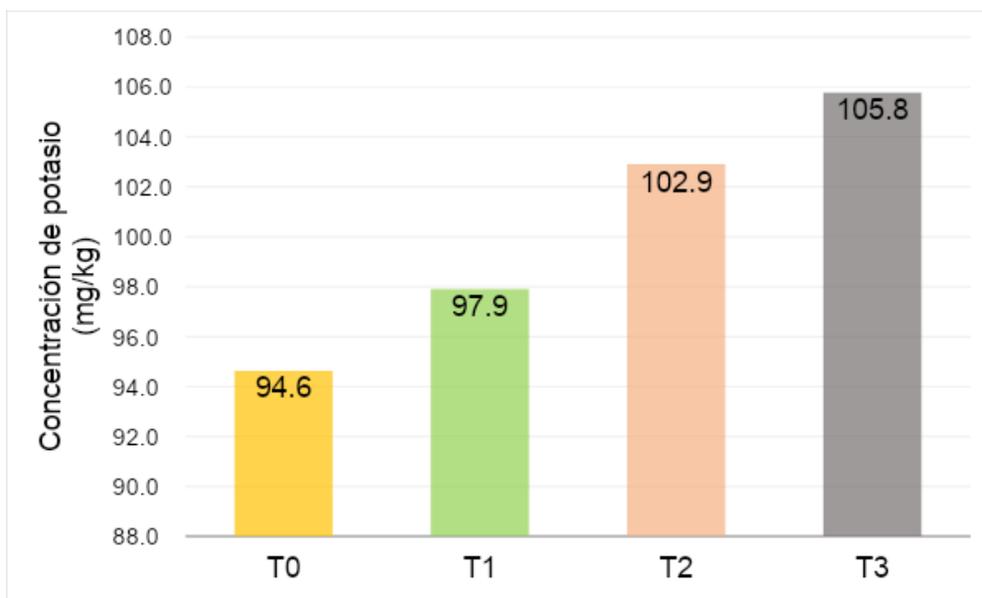


Figura 18. Concentraciones de potasio (K) en suelo tratado con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa*

4.4 Eficiencia entre *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* en la remoción de concentraciones de petróleo en suelos tratados.

Seguidamente del análisis de varianza en ANOVA de la retención de petróleo en la fracción hidrocarburo F1 (C6-C10) del suelo con la incorporación de *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa*, se evidencia una significancia de retención de la sustancia en los tratamientos T2 y T3, ya que el valor de p es de 0.012, estando por debajo del valor de 0,05. (Tabla 7)

Tabla 7. Análisis de varianza en ANOVA de la retención de fracción de hidrocarburo F1 (C6-C10) en suelos mediante la *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa*

Tratamientos	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
T0	2,281	11	0,340	0,412	0,102
T1	7,731	11	4,004	2,330	0,072
T2	21,001	11	12,224	4,103	0,012
T3	42,010	11	18,224	8,413	0,000

Seguidamente del análisis de varianza en ANOVA de la retención de petróleo en la fracción hidrocarburo F1 (C10-C28) del suelo con la incorporación de *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa*, se evidencia una significancia de retención de la sustancia en los tratamientos T2 y T3, ya que el valor de p es de 0.051, estando por debajo del valor de 0,05. (Tabla 8)

Tabla 8. Análisis de varianza en ANOVA de la retención de fracción de hidrocarburo F1 (C10-C28) en suelos mediante la *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa*

Tratamientos	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
T0	1,001	11	0,821	0,032	0,092

T1	5,001	11	2,354	1,440	0,060
T2	14,501	11	8,224	2,043	0,051
T3	22,420	11	17,004	7,444	0,002

Seguidamente del análisis de varianza en ANOVA de la retención de petróleo en la fracción hidrocarburo F1 (C28-C40) del suelo con la incorporación de *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa*, se evidencia una significancia de retención de la sustancia en los tratamientos T2 y T3, ya que el valor de p es de 0.000, estando por debajo del valor de 0,05. (Tabla 9)

Tabla 9. *Análisis de varianza en ANOVA de la retención de fracción de hidrocarburo F2 (C28-C40) en suelos mediante la Calamagrostis acutiflora y Pseudomona aeruginosa*

Tratamientos	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
T0	4,441	11	2,110	1,002	0,112
T1	11,001	11	5,554	4,660	0,094
T2	24,044	11	18,001	3,450	0,000
T3	38,440	11	24,354	6,003	0,000

Asimismo, se determinaron las concentraciones de petróleo en el suelo tratado, mostrando una mejora en los indicadores evaluados en el tratamiento 3 mezclado entre las plantas *Calamagrostis acutiflora* y las bacterias *Pseudomona aeruginosa* (Tabla 10)

Tabla 10. Concentraciones de petróleo del suelo tratado con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa*

Tratamientos	Fracción de hidrocarburos F1 (11) (C6-C10) (mg/kg)	Fracción de hidrocarburos F2 (12) (>C10-C28) (mg/kg)	Fracción de hidrocarburos F3 (13) (>C28-C40) (mg/kg)
T0	0.25%	0.05%	0.007%
T1	20.72%	17.32%	2.58%
T2	22.98%	18.49%	4.77%
T3	31.36%	37.27%	12.91%

Interpretación: En la tabla 10 se presenta la eficiencia en porcentajes de las concentraciones de petróleo con la incorporación de las plantas *Calamagrostis acutiflora* y la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* en el suelo tratado con hidrocarburos, demostrando que los mayores porcentajes fueron en los tratamientos oscilantes de (T2 y T3) que estuvieron entre el 4.77% al 37.27%

A continuación, se fijaron las concentraciones finales por cada tratamiento de las concentraciones de petróleo, en tal caso la fracción hidrocarbonada F1 (11) (C6-C10), considerando que el mejor tratamiento se dio en (T3) con el tratamiento mixto entre las especies *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa* de 428,0 mg/kg que al compararse con las normas de calidad ambiental (ECA) para suelos comerciales o industriales de 500 mg/kg, cuando relacionado se encontró dentro de lo permitido (Figura 19).

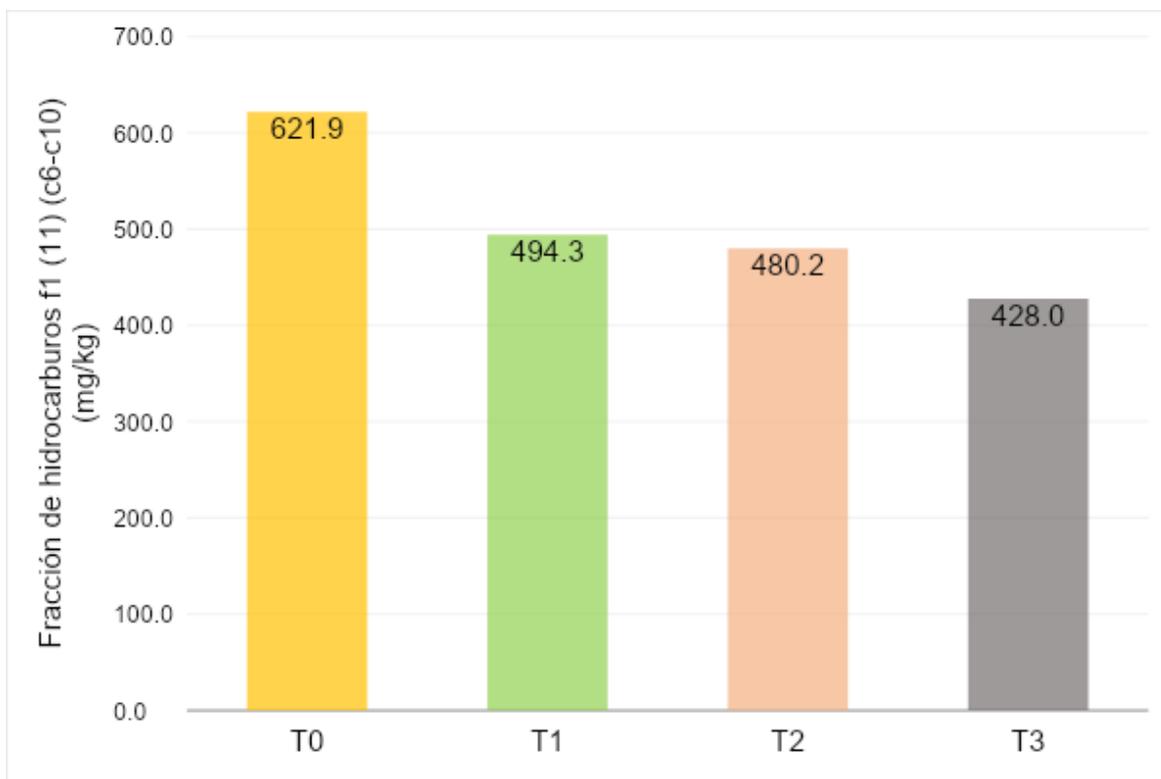


Figura 19. Concentraciones de fracción de hidrocarburos F1 (11) (C6-C10) (mg/kg) en suelo tratado con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa*

Asimismo, las concentraciones finales de la fracción de hidrocarburos F2 (12) (>C10-C28), considerando que el mejor tratamiento se dio en (T3) con el tratamiento mixto entre las especies *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa* de 4396,6 mg/kg que al compararse con las normas de calidad ambiental (ECA) para suelos comerciales o industriales de 5000 mg/kg, cuando fueron relacionados se encontró dentro de lo permitido (Figura 20).

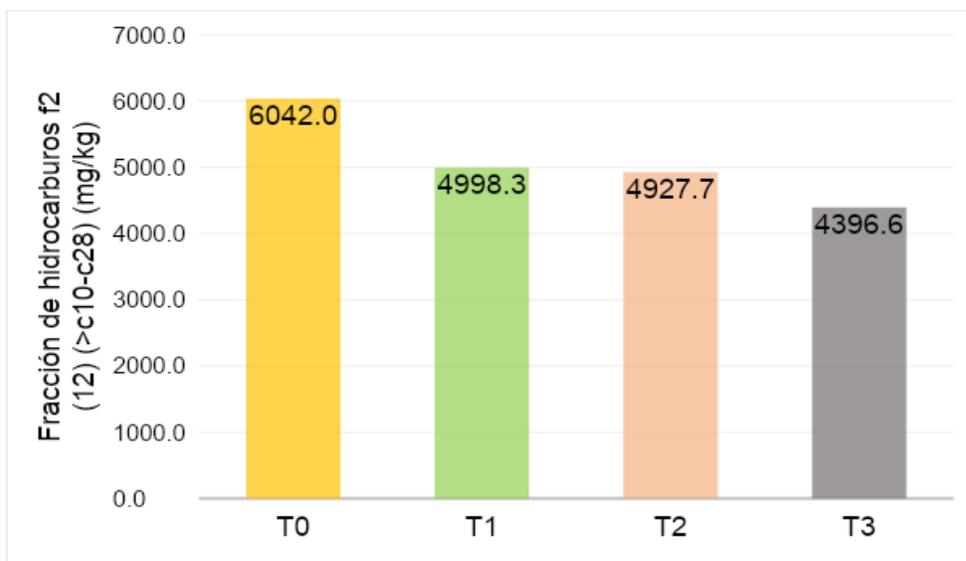


Figura 20. Concentraciones de fracción de hidrocarburos F2 (12) (>C10-C28) (mg/kg) en suelo tratado con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa*

Finalmente, las concentraciones finales de la fracción de hidrocarburos F3 (13) (>C28-C40), considerando que el mejor tratamiento se dio en (T3) con el tratamiento mixto entre las especies *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa* de 5313,1 mg/kg que al compararse con las normas de calidad ambiental (ECA) para suelos comerciales o industriales de 6000 mg/kg, cuando fueron relacionados se encontró dentro de lo permitido (Figura 21).

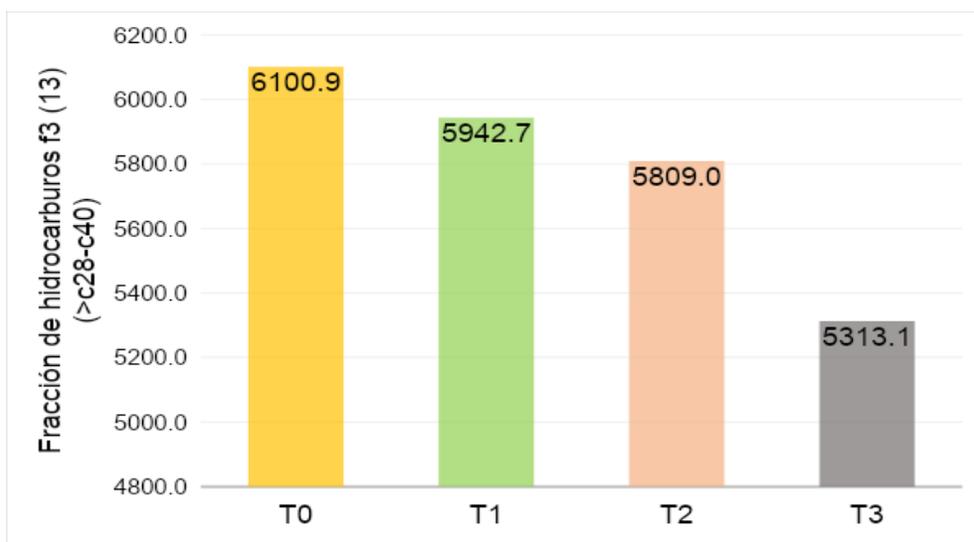


Figura 21. Concentraciones de fracción de hidrocarburos F3 (13) (>C28-C40) (mg/kg) en suelo tratado con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa*

V. DISCUSIÓN

El suelo contaminado con petróleo se caracterizó física y químicamente y se obtuvieron los siguientes valores: pH 5,7 y materia orgánica 1,2%. El color del suelo es amarillo claro, la temperatura oscilo entre los 27.5 °C, nitrógeno de 0.1 %, fósforo de 4.2 mg/kg y potasio de 92.6 mg/kg. Al ser igualados con la investigación de Govarthanam et al. (2018) mencionaron que con la restauración biológica de suelos contaminados con cromo utilizando *Pseudomonas* sp. (RPT) y torta de aceite de neem (*Azadirachta indica*), los valores fisicoquímicos iniciales del suelo en base a la materia orgánica de 10.2 %, Ca de 7.25 meq/100 g⁻¹, Na 15 meq/100 g⁻¹, NH₄ de 43.5 meq/100 g⁻¹, K de 21.7 meq/100 g⁻¹, pH de 8.5, CE 0.64 m²/m, Cromo total 1000 mg/kg. Asimismo, se adiciona la investigación de Rodríguez et al. (2021) que aislaron bacterias nativas productoras de biotensioactivos capaces de utilizar hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP: antraceno (ANT) o fenantreno PHE como única fuente de carbono del suelo contaminado con aceite de petróleo degradado, donde determinaron que los parámetros fisicoquímicos iniciales del suelo, registrando el 65.5 % de arena, 18 % de arcilla, materia orgánica de 7.2 %, pH de 5.45, CE de 4.94 dS/m, N de 26 ppm, Co d 2.8%, Ca²⁺ de 13.3 meq/100 g, Mg²⁺ de 4.8 meq/100g, Na⁺ de 13.9 meq/100 g. Otra investigación realizada por Morales et al., (2019), demuestra las concentraciones físico químicas del suelo despues de un derrame de hidrocarburos, tal como pH (6.4 a 7.4), humedad (14% a 10%), densidad aparente (1.1 g·cm⁻³ a 1.4 g·cm⁻³) y densidad real (2.0 g·cm⁻³ a 2.5 g·cm⁻³), Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) (26 Cmol·kg⁻¹ a 11 Cmol·kg⁻¹) y texturas (de arcillosa a franco-arenosa). En otra investigación realizada por Ayala (2019), determinó los parámetros fisicoquímicos de los suelos contaminados con residuos oleosos de taller tienen textura franco arenosa, pH de reacción ligeramente alcalino (7,4) y salinidad media (11,32 dSm⁻¹), sodio intercambiable (1,707 meq/100 g), materia orgánica (7,8%), nivel alto, fósforo (15,2 ppm) y potasio (437 ppm) y carbonato cálcico moderado (1,42%). Respecto a los microorganismos, se cuantificaron 100 g⁻¹ 1,4 x 10³ NMP de

residuos de hidrocarburos. Los datos que se compararon del trabajo de investigación y los artículos fueron diferentes porque los indicadores evaluados pertenecen a otros derivados de petróleo y al tiempo de tratamiento, además de la composición textual de los suelos en retención de hidrocarburos.

De las propiedades determinadas del crudo de petróleo en los suelos sin tratar, se obtuvieron el 623.5 mg/kg de F1 (C6 - C10), 6045.2 mg/kg de F2 (>C10 – C28) y 6100.5 mg/kg de F3 (>C28 – C40). Al relacionar con su investigación de Rojas y Rengifo (2021) determinaron que el grado American Petroleum Institute (API) del petróleo evaluado de las aguas que por derrame de las actividades petroleras contaminan al suelo en un 0.91 gr/cm³, esto equivale a un grado de 26.8%, dando como resultado un crudo mediano F2 (>C10 – C28). En otra investigación empleando otra bacteria, Annie et al. (2020) estudiaron el uso de especies bacterianas *Pseudomonas putida* inmovilizadas en médula de coco para degradar el hidrocarburo total de petróleo (TPH) presente en suelos contaminados con petróleo crudo, obteniendo el 193.0 mg/kg de CH₃(CH₂)₈CH₃, 199.0 mg/kg de C₂₂H₄₆, 49.7 mg/kg de C₁₂H₂₆, 190.0 mg/kg de C₃₂H₆₆, 213.0 mg/kg de C₂₀H₄₂, 153.0 mg/kg de C₂₆H₅₄. Ayala (2019), en su análisis químico de suelo contaminado detectaron hidrocarburos de aceites y grasas (147.340 mgkg⁻¹), fracción ligera F1 (<19 mgkg⁻¹), media F2 (14.443 mgkg⁻¹) y pesada F3 (15.240 mgkg⁻¹). En cuanto a compuestos aromáticos, fluoreno (0,11 mgkg⁻¹), fenantreno (1,2 mgkg⁻¹), fluoranteno (0,12 mgkg⁻¹), pireno (0,53 mgkg⁻¹), criseno (0,43 mgkg⁻¹), benzofluoranteno (0,052 mgkg⁻¹) y benzoperileno (0,055 mgkg⁻¹).

La eficiencia entre *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* en la remoción de contaminantes fisicoquímicos del suelo tratado, demuestra que el T3 demostró mejores resultados, por los siguientes valores, con un pH de 7.3; materia orgánica de 2.9%; nitrógeno de 0.5 %; fosforo de 8.1 mg/kg y potasio de 105.8 mg/kg. A diferencia del estudio de Bodor et al. (2020) que mencionaron el empleo de técnicas de bioaumentación utilizando dos cepas degradadoras

de hidrocarburos: *Rhodococcus quingshengii* KAG C y *Rhodococcus erythropolis* PR4, donde los parámetros fisicoquímicos finales del suelo tratado fueron de pH de 7.79; CE de 2.18 mS.cm⁻¹; humedad del campo 17.9 %; textura de suelo arcilloso; salinidad de 0.11 %; carbonatos de 1.9 % y relación C/N de 34.5. También en la investigación de Gutiérrez et al. (2020) muestra el uso de una cepa diferente donde evaluaron la influencia de la bioestimulación y bioaumentación con *Pseudomonas fluorescens* para contribuir a la eliminación de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) de un suelo, donde los parámetros fisicoquímicos finales fueron de humedad de 32.64 %, pH de 7.85, densidad de 1.09 kg.cm³, nitrógeno total de 0.25 %, materia orgánica de 11.14 % y textura arcilla arenosa.

La eficiencia entre *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa* en la remoción de concentración de petróleo fue realizado con el T3 con una remoción de 428 mg/kg de F1 (11) (C6-C10), asimismo una reducción de 4396 mg/kg de F2 (12) (>C10-C28) y 5313. 1 mg/kg de F3 (13) (>C28-C40). Existe una investigación similar, donde Muthukumar et al. (2023) señala que llevaron a cabo la bioaumentación de suelos afectados con petróleo crudo. En estos estudios de bioaumentación se utilizó la mezcla de nuevas cepas *Pseudomonas aeruginosa* PP3 y *Pseudomonas aeruginosa* PP4, donde la tasa de eliminación de TPH más alta se registró en BS 4 (9091 mg Kg⁻¹) fue aproximadamente del 67 % seguida por el 52 % en BS 2 (8584 mg Kg⁻¹) respectivamente. El porcentaje de eficiencia de biodegradación (BE) del suelo contaminado con crudo residual y aceite de motor se evaluó mediante análisis GCMS y los resultados mostraron que 65% (BS 2) y 83% (BS 4) respectivamente. Chang (2020) señala que empleó *Pseudomonas* spp. en biorreactores para biorremediar suelos contaminados, obteniendo como resultados un porcentaje de degradación de 4.22 %, 9.47 %, 9.97 % y 11.19 % respectivamente. Un estudio distinto fue realizado por Prakash et al., (2021) que demostraron que la eficiencia de biodegradación del petróleo crudo fue del 88%, 92% y 97% para las cepas AS2, AS3 y AS4 respectivamente, con una temperatura óptima de 37

°C y pH 7. Los resultados mostraron que el uso de biosurfactante bacteriano en la remediación electrocinética mejora la tasa de biodegradación del suelo contaminado con petróleo crudo en aproximadamente un 92% que la remediación electrocinética (60%) en 2 días de operación. Tarazona et al., (2020) señalaron que evaluaron *Trichoderma sp.* y *Pseudomonas spp.* para la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, el extracto hidroalcohólico de cáscara de naranja (cítricos) como bioestimulante para suelos de sabana contaminados con petróleo y suelos contaminados con hidrocarburos se somete a un tratamiento ectópico mediante métodos de evaporación natural, los cuales tuvieron una biodegradación de petróleo de 97.4%, asimismo, las consecuencias de la *Trichodermpa sp.* y *Pseudomonas spp.* para biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos con una tasa de eliminación del 90.13% y extracto hidroalcohólico de cáscara de naranja (cítricos) como bioestimulante para suelos de sabana contaminados con petróleo, la tasa de eliminación alcanza el 90.9%. el sitio de tratamiento utiliza la evaporación natural para limpiar el suelo contaminado con hidrocarburos y la tasa de eliminación alcanza el 99.36%.

VI. CONCLUSIONES

Se determinó la caracterización física y química del suelo contaminado de petróleo con pH de 5.7, materia orgánica de 1.2 %, color amarillo claro, contó con una temperatura de 27.5 °C, nitrógeno de 0.1 %, fósforo de 4.2 mg/kg y potasio de 92.6 mg/kg. Datos obtenidos de las muestras de suelo tomados de las áreas contaminadas con petróleo.

Se determinó las propiedades del crudo de petróleo en suelos, estos fueron 623.5 mg/kg de F1 (C6 - C10), 6045.2 mg/kg de F2 (>C10 – C28) y 6100.5 mg/kg de F3 (>C28 – C40). Datos que se obtuvieron durante la extracción de suelo directo de las parcelas referenciadas.

Se determinó la eficiencia de remoción de contaminantes fisicoquímicos empleando *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa*, donde el pH fue de 7.3, materia orgánica de 2.9%, nitrógeno de 0.5 %, fosforo de 8.1 mg/kg y potasio de 105.8 mg/kg.

Se determinó la eficiencia de remoción de concentración de petróleo con 428 mg/kg de F1 (11) (C6-C10), asimismo una reducción de 4396 mg/kg de F2 (12) (>C10-C28) y 5313. 1 mg/kg de F3 (13) (>C28-C40) con los tratamientos en las macetas con la combinación mixta de plantas *Calamagrostis acutiflora* y las bacterias *Pseudomonas aeruginosa*.

VII. RECOMENDACIONES

Para futuras investigaciones, realizarse el método aplicado de tratamiento mixto diseñado en la investigación, ya que agregará un muestreo de los parámetros biológicos, determinado el grado de afectación por los residuos de petróleo.

Para determinar el grado de contaminación por petróleo considerar otros derivados de petróleo como Benceno, Tolueno, Etilbenceno y xilenos entre otros derivados que perjudican la calidad del suelo.

Si se desea replicar esta investigación se recomienda usar otras especies de plantas fitorremediadoras tales como (*Cyperus laxus*, *Helianthus annuus L.*) y otras bacterias biodegradadoras de petróleo (*Serratia sp.*, *Enterobacter sp.*, *Citrobacter sp.* Y *Acinetobacter sp*) para ser aplicados en suelos contaminados.

Para determinar la eficiencia del tratamiento realizado se recomienda usar otras especies de gramíneas tales como (*Panicum spp*, *Echinochloa polystachya* y *Paspalum fasciculatum*) que actúen de forma directa en la degradación de hidrocarburos presentes en los suelos por actividades industriales.

REFERENCIAS

- Abtahi, H., Parhamfar, M., Saeedi, R., Villaseñor, J., Sartaj, M., Kumar, V., Koolivand, A. (2020). Effect of competition between petroleum-degrading bacteria and indigenous compost microorganisms on the efficiency of petroleum sludge bioremediation: Field application of mineral-based culture in the composting process. *Journal of Environmental Management*, 258, 110013. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.110013>
- Alekseenko, VA; Shvydkaya, NV; Alekseenko, AV; Machevariani, MM; Bech, J.; Pashkevich, MA; Puzanov, AV; Nastavkin, AV; Roca, N. Patrones de Acumulación de Elementos de Especies de Plantas Nativas Bajo el Estrés Geoquímico Natural. *Plantas* 2021, 10, 33. <https://doi.org/10.3390/plants10010033>
- Ambust, S., Das, AJ, & Kumar, R. (2021). Bioremediation of oil-contaminated soils through biosurfactants and *Pseudomonas* sp. SA3 modified design treatments. *Current Research in Microbial Sciences*, 2, 100031. doi: <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100031>
- Annie, G., Sheela, AM, & Ilamathi, R. (2020). Fate of crude oil in soils treated with *Pseudomonas putida* immobilized in coconut fiber with a low-cost biocarrier. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 1–18. <https://doi.org/10.1080/15320383.2020.1771277>
- Arias-Gómez, Jesús; Villasís-Keever, Miguel Ángel; Miranda Novales, María Guadalupe El protocolo de investigación III: la población de estudio *Revista Alergia México*, vol. 63, núm. 2, abril-junio, 2016, pp. 201-206. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=486755023011>
- Ayala, Cesar (2019) Efecto del estiércol y fertilizante químico en la biorremediación del suelo contaminado con residuos aceitosos en talleres de reparación de vehículos terrestres. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- Baelo, M. et al., (2013) Guía de seguridad y buenas prácticas en laboratorio. Universidad de León. <https://servicios.unileon.es/gestion-de-residuos/wp-content/blogs.dir/34/files/2014/03/guia-de-seguridad-y-buenas-practicas-en-el-laboratorio.pdf>

- Baig, ZT, Abbasi, SA, Memon, AG, Naz, A., and Soomro, AF (2021). Evaluation of the degradation potential of *Pseudomonas* species in the bioremediation of soils contaminated with petroleum hydrocarbons. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. doi: <https://doi.org/10.1002/jctb.6820>
- Bakaeva, M., Kuzina, E., Vysotskaya, L., Kudoyarova, G., Arkhipova, T., Rafikova, G., ... Loginov, O. (2020). Capacity of *Pseudomonas* Strains to Degrade Hydrocarbons, Produce Auxins and Maintain Plant Growth under Normal Conditions and in the Presence of Petroleum Contaminants. *Plants*, 9(3), 379. <https://doi.org/10.3390/plants9030379>
- Banet, G., Turaani, A. K., Farber, R., Armoza- Zvuloni, R., Rotem, N., Stavi, I., & Cahan, R. (2021). The effects of biostimulation and bioaugmentation on crude oil biodegradation in two adjacent terrestrial oil spills of different age, in a hyper-arid region. *Journal of Environmental Management*, 286, 112248. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112248>
- Bodor A, Petrovszki P, Erdeiné Kis Á, Vincze GE, Laczi K, Boundedjoum N, Szilágyi Á, Szalontai B, Feigl G, Kovács KL, Rákhely G, Perei K. Intensification of Ex Situ Bioremediation of Soils Polluted with Used Lubricant Oils: A Comparison of Biostimulation and Bioaugmentation with a Special Focus on the Type and Size of the Inoculum. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020; 17(11):4106. <https://doi.org/10.3390/ijerph17114106>
- Calderón, Claudia et al., (2018) Propriedades químicas, físicas e biológicas do solo, indicadores do estado de diferentes ecossistemas em um alto terraço do departamento meta. *ORINOQUIA - Universidad de los Llanos - Villavicencio, Meta. Colombia Vol. 22 - No 2 - Año 2018*. <http://www.scielo.org.co/pdf/rori/v22n2/0121-3709-rori-22-02-00141.pdf>
- Castro, Amy (2015) Recolección de datos: Fichas. Facultad de Ciencias Médicas – Universidad de San Carlos de Guatemala Guatemala febrero 2015 Documento realizado con fines docentes. <https://melpe025.files.wordpress.com/2015/03/lasfichas-amycastro14215.pdf>

- Chang, Imer (2020) Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos mediada por *Pseudomonas* spp. en Biorreactores. Universidad Nacional Agraria de La Selva. <https://hdl.handle.net/20.500.14292/1818>
- Dwivedi, A., Chitranshi, S., Gupta, A. et al. Assessment of the Petroleum Oil Degradation Capacity of Indigenous Bacterial Species Isolated from Petroleum Oil-Contaminated Soil. *Int J Environ Res* 13, 735–746 (2019). <https://doi.org/10.1007/s41742-019-00210-y>
- Elumalai, P., Parthipan, P., Narenkumar, J. et al. Role of thermophilic bacteria (*Bacillus* and *Geobacillus*) on crude oil degradation and biocorrosion in oil reservoir environment. *3 Biotech* 9, 79 (2019). <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1604-0>
- Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para suelo. Decreto Supremo N° 011-2017-MINAM
- Fakhar, A., Gul, B., Gurmani, A. R., Khan, S. M., Ali, S., Sultan, T., ... Rizwan, M. (2020). Heavy metal remediation and resistance mechanism of *Aeromonas*, *Bacillus*, and *Pseudomonas*: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 1–48. <https://doi.org/10.1080/10643389.2020.1863112>
- Garrido, Nilson (2023) Guía para el Manejo Seguro de Materiales Peligrosos. CODEA UNI. <https://www.codeauni.com/comunidad/blog/37/>
- Govarthanan, M., Selvankumar, T., Mythili, R., Srinivasan, P., Ameen, F., AlYahya, S. A., & Kamala-Kannan, S. (2018). Biogreen remediation of chromium-contaminated soil using *Pseudomonas* sp. (RPT) and neem (*Azadirachta indica*) oil cake. *International Journal of Environmental Science and Technology*. <https://doi.org/10.1007/s13762-018-2136-6>
- Guillermo Campos y Covarrubias , Nallely Emma Lule Martínez La observación, un método para el estudio de la realidad. *Revista Xihmai VII* (13), 45-60, Enero-junio de 2012. La Observación, Un Método para el Estudio de la Realidad. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3979972.pdf>
- Gutiérrez, Eduardo Jahir, María del Rosario Abraham, Juan Carlos Baltazar, Guadalupe Vázquez, Eladio Delgadillo, and David Tirado. 2020. "*Pseudomonas aeruginosa* fluorescens: A Bioaugmentation Strategy for Oil-Contaminated and Nutrient-Poor

- Soil" *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17, no. 19: 6959. <https://doi.org/10.3390/ijerph17196959>
- Hassen, W., Cherif, H., Werhani, R. et al. Pentachlorophenol depletion in soil microcosms with three *Pseudomonas* species as detoxifying agents. *Arch Microbiol* 203, 4641–4651 (2021). <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02451-y>
- He, S., Ni, Y., Lu, L., Chai, Q., Yu, T., Shen, Z., & Yang, C. (2020). Simultaneous degradation of n-hexane and production of biosurfactants by *Pseudomonas aeruginosa* sp. strain NEE2 isolated from oil-contaminated soils. *Chemosphere*, 242, 125237. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125237>
- Konstantinov A, Novoselov A, Konstantinova E, Loiko S, Kurasova A, Minkina T. Composition and properties of soils developed within ash disposal areas originated by peat combustion (Tyumen, Russia). *Soil Science Annual*. 2020;71(1):3-14. doi: <https://doi.org/10.37501/soilsa/121487>
- Leonid Panchenko, Anna Muratova, Lilia Biktasheva, Polina Galitskaya, Sergey Golubev, Ekaterina Dubrovskaya, Svetlana Selivanovskaya & Olga Turkovskaya (2022) Study of *Boraginaceae* plants for phytoremediation of oil-contaminated soil, *International Journal of Phytoremediation*, 24:2, 215-223, DOI: <https://doi.org/10.1080/15226514.2021.1932729>
- Li, Q., Huang, Y., Wen, D., Fu, R., & Feng, L. (2020). Application of alkyl polyglycosides for the improved bioremediation of soils contaminated with petroleum hydrocarbons using *Sphingomonas changbaiensis* and *Pseudomonas stutzeri*. *Total Environmental Science*, 137456. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137456>
- Liao, X., Wu, Z., Li, Y., Cao, H., & Su, C. (2019). Effect of various chemical oxidation reagents on indigenous soil microbial diversity in the remediation of PAH-contaminated soils. *Chemosphere*. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.126>
- Logeshwaran, P., Megharaj, M., Chadalavada, S., Bowman, M., & Naidu, R. (2018). Petroleum hydrocarbons (PH) in groundwater aquifers: An overview of environmental fate, toxicity, microbial degradation and risk-based remediation

approaches. *Environmental Technology & Innovation*, 10, 175–193.
doi:10.1016/j.eti.2018.02.001

Morales-Bautista, C. M., Lobato-García, C. E., Flores-Jiménez, J., & Méndez-Olán, C. (2019). Cambios en las propiedades físicas y químicas de un suelo debido a un proceso de restauración aplicado a un derrame de hidrocarburos. *Acta universitaria*, 29, 1–14. <https://doi.org/10.15174/au.2019.2154>

Muthukumar, Balakrishnan, Saravanan Surya, Krithiga Sivakumar, Mohamad S. et al. Influence of bioaugmentation in crude oil contaminated soil by *Pseudomonas aeruginosa* species on the removal of total petroleum hydrocarbon, *Chemosphere* Volume 310, January 2023, 136826.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136826>

Ojewumi, M. E., Okeniyi, J. O., Ikotun, J. O., Okeniyi, E. T., Ejemen, V. A., & Popoola, A. P. I. (2018). Bioremediation: Data on *Pseudomonas aeruginosa* effects on the bioremediation of crude oil polluted soil. *Data in Brief*, 19, 101–113.
<https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.04.102>

Patra, DK, Acharya, S., Pradhan, C. & Patra, HK (2021). Poaceae plants as potential heavy metal phytoremediators and eco-restoration in contaminated mining sites. *Technology and Environmental Innovation*.
<https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101293>

Peña Vera, Tania; Pirela Morillo, Johann La complejidad del análisis documental Información, cultura y sociedad: revista del Instituto de Investigaciones Bibliotecológicas, núm. 16, enero-junio, 2007, pp. 55-81.
<http://www.redalyc.org/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=263019682004>

Petrova, S.; Nikolov, B.; Velcheva, I.; Ángelov, N.; Valcheva, E.; Katova, A.; Golubinova, I.; Marinov-Serafimov, P. Buffer Green Patches around Urban Road Network como herramienta para la gestión sostenible del suelo. *Tierra* 2022 , 11 , 343.
<https://doi.org/10.3390/land11030343>

Pourfadakari, S., Ahmadi, M., Jaafarzadeh, N., Takdastan, A., Neisi, A. A., Ghafari, S., & Jorfi, S. (2019). Remediation of PAHs contaminated soil using a sequence of soil washing with biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* strain PF2

and electrokinetic oxidation of desorbed solution, effect of electrode modification with Fe₃O₄ nanoparticles. *Journal of Hazardous Materials*, 379, 120839. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120839>

- Prakash, A. A., Prabhu, N. S., Rajasekar, A., Parthipan, P., AlSalhi, M. S., Devanesan, S., & Govarthanam, M. (2021). Bio-electrokinetic remediation of crude oil contaminated soil enhanced by bacterial biosurfactant. *Journal of Hazardous Materials*, 405(124061), 124061. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124061>
- Rabodonirina, S., Rasolomampianina, R., Krier, F., Drider, D., Merhaby, D., Net, S., & Ouddane, B. (2019). Degradation of fluorene and phenanthrene in PAHs-contaminated soil using *Pseudomonas* and *Bacillus* strains isolated from oil spill sites. *Journal of Environmental Management*, 232, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.11.005>
- Ramadass, K., Megharaj, M., Venkateswarlu, K., & Naidu, R. (2018). Bioavailability of weathered hydrocarbons in engine oil-contaminated soil: Impact of bioaugmentation mediated by *Pseudomonas* spp. on bioremediation. *Science of The Total Environment*, 636, 968–974. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.379>
- Rodríguez-Eugenio, N., McLaughlin, M. y Pennock, D. 2019. La contaminación del suelo: una realidad oculta. Roma, FAO. <https://www.fao.org/3/i9183es/i9183es.pdf>
- Rodríguez-Uribe, M. L., Peña-Cabriales, J. J., Rivera-Cruz, M. del C., & Délano-Frier, J. P. (2021). Native bacteria isolated from weathered petroleum oil-contaminated soils in Tabasco, Mexico, accelerate the degradation petroleum hydrocarbons in saline soil microcosms. *Environmental Technology & Innovation*, 23(101781), 101781. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101781>
- Rojas, M. y Rengifo N. (2021) Biodegradación de petróleo por *Pseudomonas aeruginosa* en aguas de derrame de la actividad petrolera, Ucayali-2020. Universidad Nacional de Ucayali.

- Shi, G., Yan, Y., Yu, Z., Zhang, L., Cheng, Y., & Shi, W. (2020). Modification-bioremediation of copper, lead, and cadmium-contaminated soil by combined ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) and *Pseudomonas aeruginosa* treatment. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09846-2>
- Shishkonakova, E.A., Trofimov, S.Y., Avetov, N.A. *et al.* Restoration of Raised Bogs in the Khanty-Mansiysk Ob Region after Reclamation of Oil- and Salt-Polluted Peat Soils in 2003–2005. *Moscow Univ. Soil Sci. Bull.* 75, 123–130 (2020). <https://doi.org/10.3103/S0147687420030059>
- Soares da Silva, R. de CF, Luna, JM, Rufino, RD, & Sarubbo, LA (2021). Ecotoxicity of the biosurfactant formulated from *Pseudomonas cepacia* CCT 6659 and application in the bioremediation of terrestrial and aquatic environments impacted by oil spills. *Process Safety and Environmental Protection*, 154, 338–347. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2021.08.038>
- Sun, S., Wang, Y., Zang, T., Wei, J., Wu, H., Wei, C., Li, F. (2019). A biosurfactant-producing *Pseudomonas aeruginosa* S5 isolated from coking wastewater and its application for bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Bioresource Technology*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.02.087>
- Sun, W., Zhu, B., Yang, F., Dai, M., Sehar, S., Peng, C., Naz, I. (2020). Optimization of biosurfactant production from *Pseudomonas* sp. CQ2 and its application for remediation of heavy metal contaminated soil. *Chemosphere*, 129090. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129090>
- Swati, Kumari, M., Ghosh, P. & Thakur, IS (2020). Evaluation of a biosurfactant-producing bacterial strain *Pseudomonas* sp. ISTPY2 for efficient pyrene degradation and bioremediation of landfill soils through soil microcosm and proteomic studies. *Biological Resources Technology Reports*, 12, 100607. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2020.100607>
- Tarazona, Jhoselin et al., (2020) Tratamientos biológicos y físicos en la recuperación de suelos contaminados por petróleo crudo. *Revista de Investigación: Ciencia*,

- Tecnología y Desarrollo. Vol. 6 No. 1, pp. 12-22. Disponible en: https://revistas.upeu.edu.pe/index.php/ri_ctd/index
- Trifonova, T.; Mishchenko, N.; Shoba, S.; Bykova, E.; Shutov, P.; Saveliev, O.; Repkin, R. Vegetation and ground cover and biodiversity transformation of post-agrogenic soils of the Volga-Oka interstream area. *Agronomy* 2022, 12, 2444. <https://doi.org/10.3390/agronomy12102444>
- Varjani, S., Upasani, V. N., & Pandey, A. (2020). Bioremediation of oily sludge polluted soil employing a novel strain of *Pseudomonas aeruginosa* and phytotoxicity of petroleum hydrocarbons for seed germination. *Science of The Total Environment*, 139766. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139766>
- Vizuite García et al., (2020) Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos a base de bacterias utilizadas como bioproductos. *Revista Lasallista De Investigación*—Vol. 17 No 1. DOI: 10.22507/rli.v17n1a19
- Wolinska, A.; Wlodarczyk, K.; Kuzniar, A.; Marzec-Grzadziel, A.; Grzadziel, J.; Gałazka, A.; Uzarowicz, L. Soil microbial community profile and bacterial metabolic activity of technosols as an effect of soil properties after land reclamation: a case study from the abandoned Rudki uranium iron sulfide mine (central -southern Poland). *Agronomy* 2020, 10, 1795. <https://doi.org/10.3390/agronomy10111795>
- Wu, C., Li, F., Yi, S., & Ge, F. (2021). Genetically engineered microbial remediation of soils co-contaminated by heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons: Advances and ecological risk assessment. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113185>
- Xiao, C., Guo, S., Wang, Q., & Chi, R. (2021). Improved reduction of lead bioavailability in phosphate mining waste soils using a phosphate-solubilizing strain of *Pseudomonas* sp., LA, together with ryegrass (*Lolium perenne* L.) and sonchus (*Sonchus oleraceus* L.). *Environmental Pollution*, 274, 116572. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116572>
- Xu, S., Xing, Y., Liu, S., Hao, X., Chen, W., & Huang, Q. (2019). Characterization of Cd²⁺ biosorption by *Pseudomonas* sp. strain 375, a novel biosorbent isolated from soil polluted with heavy metals in Southern China. *Chemosphere*, 124893. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124893>

- Yu, Z., Song, S., Xu, X., Ma, Q., & Lu, Y. (2021). Sources, migration, accumulation and influence of microplastics in terrestrial plant communities. *Environmental and Experimental Botany*, 192, 104635. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104635>
- Zhao, Q., Bai, J., Gao, Y., Zhao, H., Zhang, G., & Cui, B. (2020). Changes in the soil bacterial community along a salinity gradient in the Yellow River Delta. *Land degradation and development*. <https://doi.org/10.1002/ldr.3594>
- Zouari, O., Lecouturier, D., Rochex, A. *et al.* Bio-emulsifying and biodegradation activities of syringafactin producing *Pseudomonas aeruginosa* spp. strains isolated from oil contaminated soils. *Biodegradation* 30, 259–272 (2019). <https://doi.org/10.1007/s10532-018-9861-x>

ANEXOS

Anexo 1: Matriz de consistencia

Título: Tecnología de remediación mixta con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i> en suelos contaminados por petróleo en Piura, 2023								
PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	VARIABLE INDEPENDIENTE	MARCO CONCEPTUAL	MARCO OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA
Problema general: ¿Cuál es la eficiencia de la tecnología de remediación mixta con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i> en suelos contaminados por petróleo en Piura 2023?	Evaluar la eficiencia de la tecnología de remediación mixta con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i> en suelos contaminados por petróleo en Piura 2023	La tecnología de remediación mixta con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i> permite remediar suelos contaminados por petróleo en Piura 2023	Suelos contaminados por petróleo	La presencia de petróleo en el suelo crea las condiciones favorables para la proliferación de bacterias anaeróbicas, o sea que da las condiciones de reducción, lo que se traduce en una falta de oxígeno en los poros del suelo, además de la pérdida de fertilidad del suelo (Bodor et al. 2020).	Se determinará el grado de contaminación del crudo de petróleo y la disminución de las características fisicoquímicas del suelo con acumulación de petróleo.	Características fisicoquímicas del suelo	<ul style="list-style-type: none"> ● pH ● Materia orgánica ● Color ● Temperatura ● Nitrógeno ● Fósforo ● Potasio 	Nomina
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECIFICAS				Crudo de petróleo	<ul style="list-style-type: none"> ● Fracción de hidrocarburo F1 (C6-C10) ● Fracción de hidrocarburos F2 (>C10-C28) ● Fracción de hidrocarburos F3 (>C28-C40) 	
¿Cuál será la caracterización física y química del suelo contaminados por petróleo antes del tratamiento con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i> en Piura?	Determinar la caracterización física y química del suelo contaminados por petróleo antes del tratamiento con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i> en Piura	La caracterización física y química del suelo contaminados por petróleo antes del tratamiento con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i> , sirve para determinar la concentración inicial de contaminantes presentes en el suelo	Variable dependiente	La remediación de un suelo contaminado es la puesta en práctica de todo un conjunto de medidas correctoras cuyo fin es devolver los suelos a su estado inicial, o al menos a aquel que no suponga un riesgo potencial para la salud humana o de los ecosistemas (Sun et al. 2019).	Se fijará un área de estudio donde se realizará la remediación con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i> de los suelos con petróleo, después del tratamiento se realizarán los análisis correspondientes.	Remediación de las características fisicoquímicas del suelo	<ul style="list-style-type: none"> ● pH ● Materia orgánica ● Color ● Temperatura ● Nitrógeno ● Fósforo ● Potasio 	Ordinal
¿Cuál será las propiedades del crudo de petróleo en los suelos antes del tratamiento con	Determinar las propiedades del crudo de petróleo en los suelos antes del tratamiento con	Las propiedades del crudo de petróleo en los suelos antes del tratamiento con <i>Calamagrostis</i>				Remediación mixta	Porcentajes de remediación del crudo de petróleo	

<p><i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i> en Piura?</p>	<p><i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i> en Piura</p>	<p><i>acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i>, permite identificar la presencia de hidrocarburos y metales pesados tales como Cromo VI, Plomo, Vanadio, que representan un riesgo para el recurso suelo.</p>					<ul style="list-style-type: none"> • % Fracción de hidrocarburos F2 (>C10-C28) • % Fracción de hidrocarburos F3 (>C28-C40) 	
<p>¿Cuál será la eficiencia entre <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i> en la remoción de contaminantes fisicoquímicos del suelo tratado?</p>	<p>Determinar la eficiencia entre <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i> en la remoción de contaminantes fisicoquímicos del suelo tratado</p>	<p>El tratamiento mixto con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i> permite una eficiencia del 40% para la remoción en porcentajes de los contaminantes fisicoquímicos del suelo tratado</p>						
<p>¿Cuál será la eficiencia entre <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i> en la remoción de concentraciones de petróleo en suelos tratados?</p>	<p>Determinar la eficiencia entre <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i> en la remoción de concentraciones de petróleo en suelos tratados</p>	<p>El tratamiento mixto con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i> permite una eficiencia de remoción del 92.7% de las concentraciones de petróleo en suelos tratados</p>						

Anexo 2: Instrumentos de validación

Instrumentos	definición	Variable de medición
Termómetro ambiental	Un termómetro de temperatura ambiente es un instrumento capaz de medir la temperatura del aire en un entorno	Mide la temperatura (°C)
pHmetro ambiental	Un pHmetro o medidor de pH es un instrumento científico que mide la actividad del ion hidrógeno en soluciones acuosas, indicando su grado de acidez o alcalinidad expresada como pH.	Mide el pH del suelo

Anexo 2: Validación de instrumentos



Anexo 1: Carta de presentación a expertos

CARTA A EXPERTOS PARA EVALUACIÓN DE INSTRUMENTO

Lima, 07 de junio de 2023

Dr. Milton TULLUME CHAVESTA _____

Apellidos y nombres del experto

Asunto: **Evaluación de instrumento**

Sirva la presente para expresarles nuestro cordial saludo e informarle que estamos desarrollando y elaborando nuestra tesis titulada: **“Tecnología de remediación mixta con Calamagrostis acutiflora y Pseudomonas aeruginosa en suelos contaminados por petróleo en Piura, 2023”**, a fin de optar el grado o título de: Ingeniero Ambiental.

Por ello, estamos desarrollando un estudio en el cual se incluye instrumentos de recolección de datos, denominado: **“FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS”** por ser una investigación cuantitativa; por lo que, le solicito tenga a bien realizar la validación de este instrumento de investigación, que adjunto, para cubrir con el requisito de “Juicio de expertos”.

- Matriz de consistencia de variables
- Ficha de evaluación
- Instrumentos de recolección de datos

Esperando tener la acogida a esta petición, hago propicia la oportunidad para renovar mi aprecio y especial consideración.

Atentamente,

Benites Solano, Kimberly Antuanett

DNI: 74120835

Cueva Mendiá, Julia Marycruz

DNI: 74034328

Anexo 2: Carta de presentación a expertos

CARTA A EXPERTOS PARA EVALUACIÓN DE INSTRUMENTO

Lima, 07 de junio de 2023

Dr. Eduardo Ronald ESPINOZA FARFÁN _____

Apellidos y nombres del experto

Asunto: **Evaluación de instrumento**

Sirva la presente para expresarles nuestro cordial saludo e informarle que estamos desarrollando y elaborando nuestra tesis titulada: "**Tecnología de remediación mixta con Calamagrostis acutiflora y Pseudomonas aeruginosa en suelos contaminados por petróleo en Piura, 2023**", a fin de optar el grado o título de: Ingeniero Ambiental.

Por ello, estamos desarrollando un estudio en el cual se incluye instrumentos de recolección de datos, denominado: "**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**" por ser una investigación cuantitativa; por lo que, le solicito tenga a bien realizar la validación de este instrumento de investigación, que adjunto, para cubrir con el requisito de "Juicio de expertos".

- Matriz de consistencia de variables
- Ficha de evaluación
- Instrumentos de recolección de datos

Esperando tener la acogida a esta petición, hago propicia la oportunidad para renovar mi aprecio y especial consideración.

Atentamente,

_____ J, (p) _____

Benites Solano, Kimberly Antuanett
DNI: 74120835

_____ Lu. Cr. _____

Cueva Mendía, Julia Marycruz
DNI: 74034328

Anexo 3: Carta de presentación a expertos

CARTA A EXPERTOS PARA EVALUACIÓN DE INSTRUMENTO

Lima, 07 de junio de 2023

Mg. Freddy PILLPA ALIAGA _____

Apellidos y nombres del experto

Asunto: **Evaluación de instrumento**

Sirva la presente para expresarles nuestro cordial saludo e informarle que estamos desarrollando y elaborando nuestra tesis titulada: "**Tecnología de remediación mixta con Calamagrostis acutiflora y Pseudomona aeruginosa en suelos contaminados por petróleo en Piura, 2023**", a fin de optar el grado o título de: Ingeniero Ambiental.

Por ello, estamos desarrollando un estudio en el cual se incluye instrumentos de recolección de datos, denominado: "**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**" por ser una investigación cuantitativa; por lo que, le solicito tenga a bien realizar la validación de este instrumento de investigación, que adjunto, para cubrir con el requisito de "Juicio de expertos".

- Matriz de consistencia de variables
- Ficha de evaluación
- Instrumentos de recolección de datos

Esperando tener la acogida a esta petición, hago propicia la oportunidad para renovar mi aprecio y especial consideración.

Atentamente,



Benites Solano, Kimberly Antuanett
DNI: 74120835



Cueva Mendía, Julia Marycruz
DNI: 74034328

Anexo 4: Matriz de operacionalización

VARIABLE	DEFINICIÓN DEL CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA
Independiente: Suelos contaminados por petróleo	El petróleo en el suelo tiene situaciones propicias para el incremento de bacterias anaerobias, lo que se entiende en una disminución de oxígeno en los poros del suelo, además de la reducción de fertilidad del suelo (Bodor et al. 2020).	Se determinará el grado de contaminación del crudo de petróleo y la disminución de las características fisicoquímicas del suelo con acumulación de petróleo.	Características fisicoquímicas del suelo	<ul style="list-style-type: none"> pH Materia orgánica Color Temperatura Nitrógeno Fósforo Potasio 	Nominal
			Crudo de petróleo	<ul style="list-style-type: none"> Fracción de hidrocarburo F1 (C6-C10) Fracción de hidrocarburos F2 (>C10-C28) Fracción de hidrocarburos F3 (>C28-C40) 	
Dependiente: Remediación mixta	La remediación de suelos contaminados es la implementación de una serie de acciones correctivas encaminadas a devolver el suelo a su estado original, o al menos a un estado que no represente un riesgo potencial para la salud y ambiente representativo de los ecosistemas (Sun et al. 2019).	Se fijará un área de estudio donde se realizará la remediación con <i>Catamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> de los suelos con petróleo, después del tratamiento se realizarán los análisis correspondientes.	Remediación de las características fisicoquímicas del suelo	<ul style="list-style-type: none"> pH Materia orgánica Color Temperatura Nitrógeno Fósforo Potasio 	Ordinal
			Porcentajes de remediación del crudo de petróleo	<ul style="list-style-type: none"> % Fracción de hidrocarburo F1 (C6-C10) % Fracción de hidrocarburos F2 (>C10-C28) % Fracción de hidrocarburos F3 (>C28-C40) 	

.....
 Dr. Milton - CH.AVESTA
 INGENIERO FORESTAL
 Reg. CIP. N° 6471 6

.....
 Dr. Eduardo Ronald ESPINOZA FARFÁN
 INGENIERO AMBIENTAL
 Reg. CIP. N° 92135

.....
 Mg. Freddy PILLPA ALIAGA
 INGENIERO AGRÓNOMO
 Reg. CIP. N° 196897



Firmado digitalmente por Mg. Sc. FREDDY PILLPA ALIAGA
 Nombre de reconocimiento (DN): cn=Mg. Sc. FREDDY PILLPA ALIAGA, ou=UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO - Lima Este, ou=Coordinador de la E.P. de Ingeniería Ambiental, email=fpillpa@gmail.com, c=ES
 Fecha: 2023.06.23 15:15:05'00'

Anexo 5: Matriz de ponderación por los expertos

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

I. DATOS GENERALES

- 1.1. **Apellidos y Nombres:** Dr. Milton TULLUMECHAVESTA
- 1.2. **Cargo e institución donde labora:** Docente UCV
- 1.3. **Especialidad o línea de investigación:**
- 1.4. **Nombre del instrumento motivo de evaluación:** Fichas de observación
- 1.5. **Autor (A) de Instrumento:** Kimberly Anhlilnett Benites Solano y Julia Matycrnz Cueva Mendi

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

(1) INACEPTABLE (2) MÍNIMAMENTE ACEPTABLE (3) ACEPTABLE

CRITERIOS	INDICADORES	CIAC EPTABLE						MÍNIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE			
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.											X		
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios Científicos											X		
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.											X		
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica											X		
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales											X		
6. ADECUACIÓN	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.											X		
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.											X		
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas, objetivos, hipótesis, variables e indicadores.											X		
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las											X		
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.											X		

III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación

SI

El Instrumento no cumple con los requisitos para su aplicación

NO

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN: **90**

Lima, 07 de julio de 2023.

Dr. Milton TULLUMECHAVESTA
INGENIERO FORESTAL
Re2.CIP. N°64716



Anexo 6: Matriz de ponderación por los expertos

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

I. DATOS GENERALES

- 1.1. **Apellidos y Nombres:** Dr. Eduardo Ronald ESPINOZA FARFÁN
 1.2. **Cargo e institución donde labora:** Docente UCV
 1.3. **Especialidad o línea de investigación:**
 1.4. **Nombre del instrumento motivo de evaluación:** fichas de recolección
 1.5. **Autor (A) de Instrumento:** Kimberly Antuauett Benites Solano y Julia Ma I ycmz Cueva Meudia

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	(1) INACEPTABLE						(2) MÍNIMAMENTE ACEPTABLE			(3) ACEPTABLE			
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible												X	
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos												X	
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.												X	
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.												X	
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales												X	
6. PERTINENCIA	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.												X	
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.												X	
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.												X	
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las												X	
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.												X	

III. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación SI

El Instrumento no cumple con los requisitos para su aplicación NO

IV. MEDIO DE VALORACIÓN: 1 95 1

Lima, 07 de junio de 2023.

Dr. Eduardo Ronald ESPINOZA FARFÁN
 INGENIERO AMBIENTAL
 Reg.CIP. N° 92135

Anexo 7: Matriz de ponderación por los expertos

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

I. DATOS GENERALES

- 1.1. **Apellidos y Nombres:** Mg. Freddy PILLPA ALIAGA
 1.2. **Cargo e institución donde labora:** Docente UCV
 1.3. **Especialidad o línea de investigación:**
 1.4. **Nombre del instrumento motivo de evaluación:** Fichas de observación
 1.5. **Autor (A) de Instrumento:** Kimberly Antuanett Benites Solano y Julia Malyci Huzcu y va Méndez

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

(1) INACEPTABLE (2) MÍNIMAMENTE ACEPTABLE (3) ACEPTABLE

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE						MÍNIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE			
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible											X		
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos											X		
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación											X		
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.											X		
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales											X		
6. PERTINENCIA	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.											X		
7. CONSISTENCIA	Ser respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.											X		
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.											X		
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las											X		
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.											X		

ID. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación
 El Instrumento no cumple con los requisitos para su aplicación

SI

NO

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:

90

Lima, 07 de junio de 2023.

Mg. Freddy PILLPA ALIAGA
 INGENIERO AGRÓNOMO
 Reg. CIP. N° 196897



Firmado digitalmente por Mg. Sc. FREDDY PILLPA ALIAGA
 Nombre de reconocimiento (DN): cn=Mg. Sc. FREDDY PILLPA ALIAGA, ou=UNIVERSIDAD CESAR VALLEJO, Lima Este, ou=Coordinador de la E.F. de Ingeniería Ambiental, email=fpillpa@gmail.com, c=ES
 Fecha: 2023.06.23 15:51:15 -05'00'

Anexo 8: Instrumentos de recolección de datos de las características físico químicas del suelo.

LUGAR DE ESTUDIO: _____ REALIZADO POR: _____

B

HR: _____

<i>IIITG mediación mixta con Calamagrostis acutiflora y Pseudomona aeruginosa en suelos contaminados por petróleo en Piura, 2023</i>											
Tratamiento	Coordenadas		Altura	Características físicoquímicas del suelo						Observaciones	
	Norte	Este	MSNM	pH	Materia orgánica	Color	Temperatura	Nitrógeno	Fósforo		Potasio
T1											
T2											
T3											
T4											

Dr. <u>Milena</u> <u>W. J. S. T. A</u> INGENIERO FORESTAL Reg. CIP. N° 64716	Dr. <u>Eduardo Ronaldo ESPINOZA FARFÁN</u> INGENIERO AMBIENTAL Reg. CIP. N° 92135	M ^{sc} . <u>Freddy PILPA AUYA</u> INGENIERO AGRÓNOMO O.P. 179 697
--	---	--

Anexo9: Matriz de ponderación por los expertos

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO
LDATOS GENERALES

- 1.1. Apellidos y Nombres:** Dr. Milton TULLUME CHAVESTA
1.2. Cargo e institución donde labora: Docente UCV
1.3. Especialidad o línea de investigación:
1.4. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Fichas de observación
1.5. Autor (A) de Instrumento: Kimberly Antuanett Benites Solano y Julia Matycmz Cueva Mendia

11. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

(1) INACEPTABLE (2) MÍNIMAMENTE ACEPTABLE (3) ACEPTABLE

CRITERIOS	INDICADORES	ACEPTABU:						MÍNIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE			
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.											X		
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.											X		
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación											X		
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.											X		
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales											X		
6. INFORMACIÓN	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.											X		
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.											X		
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.											X		
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados. para lograr probar las											X		
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.											X		

IV. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación

SI

El Instrumento no cumple con

NO

Los requisitos para su aplicación

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN: 1 - 90

Lima, 07 de junio de 2023.



 Dr. MILTON TULLUME CHAVESTA
 INGENIERO FORESTAL
 Rea.CIP. N° 64716

Anexo1O: Mat riz de ponderación por los expertos

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

LDATOS GENERALES

- 1.1. **Apellidos y Nombres:** Dr. Eduardo Ronald ESPINOZA FARFÁN
- 1.2. **Cargo e institución donde labora:** Docente UCV
- 1.3. **Especialidad línea de investigación:**
- 1.4. **Nombre del instrumentomotivo de evaluación:** fichas de recolección
- 1.5. **Autor (A) de Instrumento:** Kimberly Antuanett Benites Solano y Julia MaLycmz Cueva Mencia

11. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

(1) INACEPTABLE (2) MÍNIMAMENTE ACEPTABLE (3) ACEPTABLE

CRin:RIOS	INDICADORES	1: PACEPTABLE						MINIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE			
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1_ CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.												X	
2_ OBJETIVIDAD	Esta adecuada a las leyes y principios científicos												X	
3 ACTUALIDAD	Esta adecuada a los objetivos y las necesidades reales de la investigación												X	
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica												X	
5_ SUFFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales												X	
6_ VALORACIÓN	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis												P	
7_ CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.												X	
8 COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores												P	
9_ METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las												X	
10 PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico												X	

m. OPI TION DE APLICABILIDAD

El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación SI

El Instrumento no cumple con los Requisitos para su aplicación NO

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:

95

Lima , 07 de junio de 20_23

Dr . Eduardo Ronald ESPINOZA FARFÁN
INGENIERO AMBIENTAL Reg
CIP_ N° 9213 5

Anexo 11: Matriz de ponderación por los expertos

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

1. DATOS GENERALES

- 1.1. **Apellidos y Nombres:** Mg. Freddy PILLPA ALIAGA
- 1.2. **Cargo e institución donde labora:** Docente UCV
- 1.3. **Especialidad o línea de investigación:**
- 1.4. **Nombre del instrumento motivo de evaluación:** Fichas de observación
- 1.5. **Autor (A) de Instrumento:** Kimberly Antuanett Benites Solano y Julia Marycmz Cueva Mencia

11. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

(1) INACEPTABLE (2) MÍNIMAMENTE ACEPTABLE (3) ACEPTABLE

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE						MÍNIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE			
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible											X		
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos											X		
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación											X		
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.											X		
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales											X		
6. INFORMACIÓN	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.											X		
7. CONSISTENCIA	Sespalda en fundamentos técnicos y/o científicos.											X		
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas, objetivos, hipótesis, variables e indicadores											X		
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las											X		
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.											X		

12. OPINIÓN DE APLICABILIDAD

El Instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación
 El Instrumento no cumple con

SI

NO

13. PROCEDIMIENTO DE EVALUACIÓN

Lim a, 07 de junio de 2023.

Mg. Freddy PILLPA ALIAGA
 INGENIERO AGRÓNOMO
 Reg.CIP. N° 196897



Firmado digitalmente por Mg. Sc. FREDDY PILLPA ALIAGA
 Nombre de reconocimiento (DN): cn=Mg. Sc. FREDDY PILLPA ALIAGA, o=UNIVERSIDAD CESAR VALLEJO - Lima Este, ou=Coordinador de la E.F. de Ingeniería Ambiental, email=fpillpa@gmail.com, c=ES
 Fecha: 2023.06.23 15:51:15 -05'00'

Anexo 4: Informe de resultados de análisis de suelo sin tratar



LABORATORIO DE ENSAYO
ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE
ACREDITACION INACAL-DA
CON REGISTRO N° LE - 097



Registro N° LE - 097

INFORME DE ENSAYO N°: IE-22-20125

N° Id.: 0000056478

I. DATOS DEL SERVICIO

1.-RAZON SOCIAL	: Benites Solano, Kimberly Antuanett
2.-DIRECCIÓN	: Jr. Ayacucho N°649, Magdalena del Mar, Lima
3.-PROYECTO	: Tecnología de remediación mixta con <i>Calamagrostis acutiflora</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en suelos contaminados por petróleo en Piura, 2023
4.-PROCEDENCIA	: Distrito de Pariñas, Piura
5.-SOLICITANTE	: BENITES SOLANO, KIMBERLY ANTUANETT
6.-ORDEN DE SERVICIO N°	: 0000006533-2023-0000
7.-PROCEDIMIENTO DE MUESTREO	: -
8.-MUESTREADO POR	: ANALYTICAL LABORATORY E.I.R.L.
9.-FECHA DE EMISIÓN DE INFORME	: 2023-07-24

II. DATOS DE ÍTEMS DE ENSAYO

1.-PRODUCTO	: Suelo – No agrícola
2.-Sub.Tipo producto	: Suelo comercial, comercial, industrial y extractivo.
3.-NÚMERO DE MUESTRAS	: 1
3.-FECHA DE RECEP. DE MUESTRA	: 07-07-2023
4.-PERÍODO DE ENSAYO	: 10-07-2023 al 24-07-2023

Eder Sergio Recuay Granados
Supervisor de laboratorio Agronomía
Ing. Químico
CIP N° 221809

Los resultados contenidos en el presente documento sólo están relacionados con los ítems ensayados. No se debe reproducir el informe de ensayo, excepto en su totalidad, sin la aprobación escrita de Analytical Laboratory E.I.R. L. Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Su adulteración o su uso indebido constituye delito contra la fe pública y se regula por las disposiciones civiles y penales en la materia.

SEDE PRINCIPAL
Av. Guardia Chalaca 1877,
Bellavista, Callao P (+511)
7175810 / Anexo 112 Cel.:
940 598 572
www.alab.com.pe

SEDE ZARUMILLA
Prolongación Zarumilla N°2
D2, Lt3, Bellavista, Callao
P (+511) 7130636
Cel.: 932646460
www.alab.com.pe

SEDE AREQUIPA:
Mz. E Lt.9 COOP SIDSUR
P (+073) 616843
Cel.: 932646642
www.alab.com.pe

SEDE PIURA:
Calle Los Ebanos M2 G LT 17 Urb.
Miraflores II Etapa - Ref. Costado
del colegio San Ignacio de Loyola. P
(+073) 542335 Cel.: 919 475 133
www.alab.com.pe

Pág.1 de 4

Anexo 5: Informe de resultados de análisis de suelo sin tratar



LABORATORIO DE ENSAYO
ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE
ACREDITACION INACAL-DA
CON REGISTRO N° LE - 097



Registro N° LE - 097

INFORME DE ENSAYO N°: IE-22-20125

N° Id.: 0000056478

III. MÉTODOS Y REFERENCIAS

TIPO DE ENSAYO	NORMA DE REFERENCIA
Fracción de hidrocarburos F1 ⁽¹¹⁾ (C6-C10)	Method 8015C, Revisión 3, February 2007. Nonhalogenated Organics By Gas Chromatography
Fracción de hidrocarburos F2 ⁽¹²⁾ (>C10-C28)	Method 8015C, Revisión 3, February 2007. Nonhalogenated Organics By Gas Chromatography
Fracción de hidrocarburos F3 ⁽¹³⁾ (>C28-C40)	Method 8015C, Revisión 3, February 2007. Nonhalogenated Organics By Gas Chromatography
pH	EPA 841-B-97-003 Nov. 1997
Materia orgánica	Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000; ítem 7.1.7 AS-07. Determinación de Materia Orgánica (AS-07 Walkley y Black). (Validado) 2017
Nitrógeno	Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000; ítem 7.1.7 AS-07. Determinación de Materia Orgánica (AS-07 Walkley y Black). (Validado) 2017
Fósforo	Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000; ítem 7.1.7 AS-07. Determinación de Materia Orgánica (AS-07 Walkley y Black). (Validado) 2017
Potasio	Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000; ítem 7.1.7 AS-07. Determinación de Materia Orgánica (AS-07 Walkley y Black). (Validado) 2017

Leyenda: L.C.M. = Límite de cuantificación del método, L.D.M.= Límite de detención del método, "<=" Menor que el L.C.M., indicado, "..."= Analizado.

SEDE PRINCIPAL
Av. Guardia Chalaca 1877,
Bellavista, Callao P (+511)
7175810 / Anexo 112 Cel.:
940 598 572
www.alab.com.pe

SEDE ZARUMILLA
Prolongación Zarumilla Mz
D2, Lt3 , Bellavista, Callao
P (+511) 7130636
Cel.: 932646460
www.alab.com.pe

SEDE AREQUIPA:
Mz. E Lt.9 COOP SIDSUR
P (+073) 616843
Cel.: 932646642
www.alab.com.pe

SEDE PIURA:
Calle Los Ebanos Mz G LT 17 Urb.
Miraflores II Etapa - Ref. Costado
del colegio San Ignacio de Loyola. P
(+073) 542335 Cel.: 919 475 133
www.alab.com.pe

Pág.2 de 4

Anexo 6: Resultados de análisis de suelo sin tratar de la caracterización y hidrocarburos



LABORATORIO DE ENSAYO
ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE
ACREDITACION INACAL-DA
CON REGISTRO N° LE - 097



Registro N° LE - 097

INFORME DE ENSAYO N°: IE-22-20125

IV. RESULTADOS

N° Id.: 000056478

ITEM	1	
CÓDIGO DE LABORATORIO:	M-66-75350	
CÓDIGO DEL CLIENTE:	MUESTRA-01	
COORDENADAS:	NO APLICA	
UTM WGS 84:	NO APLICA	
PRODUCTO:	Suelo comercial, comercial, industrial y extractivo	
SUB PRODUCTO:		
INSTRUCTIVO DE MUESTREO:		
INICIO DE MUESTREO (FECHA y HORA):	10-07-2023	
FIN DE MUESTREO (FECHA y HORA):	24-07-2023	
ENSAYO	UNIDAD	RESULTADOS
Fracción de hidrocarburos F1 ⁽¹¹⁾ (C6-C10)	mg/kg	623.5
Fracción de hidrocarburos F2 ⁽¹²⁾ (>C10-C28)	mg/kg	6045.2
Fracción de hidrocarburos F3 ⁽¹³⁾ (>C28-C40)	mg/kg	6100.5
pH	***	5.7
Materia orgánica	%	1.2
Nitrógeno	%	0.1
Fósforo	mg/kg	4.2
Potasio	mg/kg	92.6

SEDE PRINCIPAL
Av. Guardia Chalaca 1877,
Bellavista, Callao P (+511)
7175810 / Anexo 112 Cel.:
940 598 572
www.alab.com.pe

SEDE ZARUMILLA
Prolongación Zarumilla Mz
D2, Lt3, Bellavista, Callao
P (+511) 7130636
Cel.: 932646460
www.alab.com.pe

SEDE AREQUIPA:
Mz. E Lt.9 COOP SIDSUR
P (+073) 616843
Cel.: 932646642
www.alab.com.pe

SEDE PIURA:
Calle Los Ebanos Mz G LT 17 Urb.
Miraflores II Etapa - Ref. Costado
del colegio San Ignacio de Loyola. P
(+073) 542335 Cel.: 919 475 133
www.alab.com.pe

Pág.3 de 4

Anexo 7: Análisis del suelo tratado *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa*



LABORATORIO DE ENSAYO
ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE
ACREDITACION INACAL-DA
CON REGISTRO N° LE - 097



Registro N° LE - 097

INFORME DE ENSAYO N°: IE-22-20434

RESULTADOS

RESULTADOS DEL TRATAMIENTO TESTIGO (T0)

N° Id.: 0000056942

ITEM		1	2	3
CÓDIGO DE LABORATORIO:		M-01-82345	M-02-82346	M-03-82347
CÓDIGO DEL CLIENTE:		MUESTRA-01	MUESTRA-02	MUESTRA-03
COORDENADAS:		NO APLICA	NO APLICA	NO APLICA
UTM WGS 84:		NO APLICA	NO APLICA	NO APLICA
PRODUCTO:		Suelo comercial, comercial, industrial y extractivo	Suelo comercial, comercial, industrial y extractivo	Suelo comercial, comercial, industrial y extractivo
SUB PRODUCTO:				
INSTRUCTIVO DE MUESTREO:				
INICIO DE MUESTREO (FECHA y HORA):		11-09-2023	11-09-2023	11-09-2023
FIN DE MUESTREO (FECHA y HORA):		25-09-2023	25-09-2023	25-09-2023
ENSAYO	UNIDAD	RESULTADOS	RESULTADOS	RESULTADOS
Fracción de hidrocarburos F1 ⁽¹¹⁾ (C6-C10)	mg/kg	621.7	622.9	621.1
Fracción de hidrocarburos F2 ⁽¹²⁾ (>C10-C28)	mg/kg	6040.8	6041.6	6043.7
Fracción de hidrocarburos F3 ⁽¹³⁾ (>C28-C40)	mg/kg	6099.1	6102.3	6101.2
pH	***	5.2	5.4	5.9
Materia orgánica	%	1.2	1.4	1.2
Nitrógeno	%	0.1	0.099	0.1
Fósforo	mg/kg	3.9	3.5	4.1
Potasio	mg/kg	94.2	95.1	94.6

RESULTADOS DEL TRATAMIENTO CON CALAMAGROSTIS ACUTIFLORA (T1)

ITEM		1	2	3
CÓDIGO DE LABORATORIO:		M-01-82348	M-02-82349	M-03-82350
CÓDIGO DEL CLIENTE:		MUESTRA-04	MUESTRA-05	MUESTRA-06
COORDENADAS:		NO APLICA	NO APLICA	NO APLICA
UTM WGS 84:		NO APLICA	NO APLICA	NO APLICA
PRODUCTO:		Suelo comercial, comercial, industrial y extractivo	Suelo comercial, comercial, industrial y extractivo	Suelo comercial, comercial, industrial y extractivo
SUB PRODUCTO:				
INSTRUCTIVO DE MUESTREO:				
INICIO DE MUESTREO (FECHA y HORA):		11-09-2023	11-09-2023	11-09-2023
FIN DE MUESTREO (FECHA y HORA):		25-09-2023	25-09-2023	25-09-2023
ENSAYO	UNIDAD	RESULTADOS	RESULTADOS	RESULTADOS
Fracción de hidrocarburos F1 ⁽¹¹⁾ (C6-C10)	mg/kg	504.1	496.1	482.6
Fracción de hidrocarburos F2 ⁽¹²⁾ (>C10-C28)	mg/kg	5024.2	4962.1	5008.6
Fracción de hidrocarburos F3 ⁽¹³⁾ (>C28-C40)	mg/kg	5902.3	6000.8	5925.0
pH	***	6.1	6.4	6.2
Materia orgánica	%	1.4	1.8	1.6
Nitrógeno	%	0.1	0.2	0.2
Fósforo	mg/kg	6.2	6.2	6.4
Potasio	mg/kg	99.6	98.0	96.1

SEDE PRINCIPAL
Av. Guardia Chalaca 1877,
Bellavista, Callao P (+511)
7175810 / Anexo 112 Cel.:
940 598 572
www.alab.com.pe

SEDE ZARUMILLA
Prolongación Zarumilla Mz
D2, Lt3, Bellavista, Callao
P (+511) 7130636
Cel.: 932646460
www.alab.com.pe

SEDE AREQUIPA:
Mz. E Lt.9 COOP SIDSUR
P (+073) 616843
Cel.: 932646642
www.alab.com.pe

SEDE PIURA:
Calle Los Ebanos Mz G Lt 17 Urb.
Miraflores II Etapa - Ref. Costado
del colegio San Ignacio de Loyola. P
(+073) 542335 Cel.: 919 475 133
www.alab.com.pe

Pág.3 de 4

Anexo 8: Análisis del suelo tratado *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa*



LABORATORIO DE ENSAYO
ACREDITADO POR EL
ORGANISMO DE
ACREDITACION INACAL-DA
CON REGISTRO N° LE - 097



Registro N° LE - 097

RESULTADOS DEL TRATAMIENTO CON *PSEUDOMONA AERUGINOSA* (T2)

ITEM	1	2	3	
CÓDIGO DE LABORATORIO:	M-01-82351	M-02-82352	M-03-82353	
CÓDIGO DEL CLIENTE:	MUESTRA-07	MUESTRA-08	MUESTRA-09	
COORDENADAS:	NO APLICA	NO APLICA	NO APLICA	
UTM WGS 84:	NO APLICA	NO APLICA	NO APLICA	
PRODUCTO:	Suelo comercial, comercial, industrial y extractivo	Suelo comercial, comercial, industrial y extractivo	Suelo comercial, comercial, industrial y extractivo	
SUB PRODUCTO:				
INSTRUCTIVO DE MUESTREO:				
INICIO DE MUESTREO (FECHA y HORA):	11-09-2023	11-09-2023	11-09-2023	
FIN DE MUESTREO (FECHA y HORA):	25-09-2023	25-09-2023	25-09-2023	
ENSAYO	UNIDAD	RESULTADOS	RESULTADOS	RESULTADOS
Fracción de hidrocarburos F1 ⁽¹¹⁾ (C6-C10)	mg/kg	482.2	486.2	472.3
Fracción de hidrocarburos F2 ⁽¹²⁾ (>C10-C28)	mg/kg	4942.0	4932.8	4908.2
Fracción de hidrocarburos F3 ⁽¹³⁾ (>C28-C40)	mg/kg	5703.1	5900.8	5823.0
pH	***	6.8	6.9	6.9
Materia orgánica	%	2.1	2.7	2.4
Nitrógeno	%	0.3	0.4	0.4
Fósforo	mg/kg	7.3	7.4	8.2
Potasio	mg/kg	101.3	103.2	104.2

RESULTADOS DEL TRATAMIENTO CON *CALAMAGROSTIS ACUTIFLORA* Y *PSEUDOMONA AERUGINOSA* (T3)

ITEM	1	2	3	
CÓDIGO DE LABORATORIO:	M-01-82354	M-02-82355	M-03-82356	
CÓDIGO DEL CLIENTE:	MUESTRA-10	MUESTRA-11	MUESTRA-12	
COORDENADAS:	NO APLICA	NO APLICA	NO APLICA	
UTM WGS 84:	NO APLICA	NO APLICA	NO APLICA	
PRODUCTO:	Suelo comercial, comercial, industrial y extractivo	Suelo comercial, comercial, industrial y extractivo	Suelo comercial, comercial, industrial y extractivo	
SUB PRODUCTO:				
INSTRUCTIVO DE MUESTREO:				
INICIO DE MUESTREO (FECHA y HORA):	11-09-2023	11-09-2023	11-09-2023	
FIN DE MUESTREO (FECHA y HORA):	25-09-2023	25-09-2023	25-09-2023	
ENSAYO	UNIDAD	RESULTADOS	RESULTADOS	RESULTADOS
Fracción de hidrocarburos F1 ⁽¹¹⁾ (C6-C10)	mg/kg	422.0	436.1	425.8
Fracción de hidrocarburos F2 ⁽¹²⁾ (>C10-C28)	mg/kg	4344.0	4435.3	4410.6
Fracción de hidrocarburos F3 ⁽¹³⁾ (>C28-C40)	mg/kg	5108.4	5502.4	5328.4
pH	***	7.1	7.4	7.4
Materia orgánica	%	2.9	2.9	3.0
Nitrógeno	%	0.4	0.5	0.5
Fósforo	mg/kg	7.9	7.9	8.4
Potasio	mg/kg	104.1	106.4	106.8

SEDE PRINCIPAL
Av. Guardia Chalaca 1877,
Bellavista, Callao P (+511)
7175810 / Anexo 112 Cel.:
940 598 572
www.alab.com.pe

SEDE ZARUMILLA
Prolongación Zarumilla Mz
D2, Lt3, Bellavista, Callao
P (+511) 7130636
Cel.: 932646460
www.alab.com.pe

SEDE AREQUIPA:
Mz. E Lt.9 COOP SIDSUR
P (+073) 616843
Cel.: 932646642
www.alab.com.pe

SEDE PIURA:
Calle Los Ebanos Mz G Lt 17 Urb.
Miraflores II Etapa - Ref. Costado
del colegio San Ignacio de Loyola. P
(+073) 542335 Cel.: 919 475 133
www.alab.com.pe

Pág.4 de 4

Anexo 9: Identificación de los suelos contaminados con petróleo



Anexo 10: Toma de coordenadas para la elaboración de mapa del área de tratamiento.



Anexo 11: Diseño de la calicata en la toma de muestras del suelo para el laboratorio y a tratar



Anexo 12: Registro de las coordenadas de las calicatas.



Anexo 13: Extracción de las muestras de suelo para el laboratorio y para los respectivos tratamientos.



Anexo 14: Acondicionamiento del suelo en las macetas para el tratamiento con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa*



Anexo 15: Macetas para el acondicionamiento de las especies con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa*



Anexo 16: Proceso de tratamiento con las especies *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomona aeruginosa*



Anexo 17: Extracción de las muestras del suelo en tratamiento con *Calamagrostis acutiflora* y *Pseudomonas aeruginosa*



Anexo 18: Muestras de suelo tratado para laboratorio



Anexo 19: Muestras de suelo tratado para laboratorio



Anexo 20: Total de muestras para el laboratorio

