



**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

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

Biodegradación de petróleo en suelo contaminado utilizando  
*Pseudomonas fluorescens* en Mazamari 2021

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**Ingeniero Ambiental**

**AUTORES:**

Ricse Condor, Rudy Shave (ORCID: 0000-0003-4221-2549)

Solis Ricaldi, Carlos Daniel (ORCID: 0000-0003-2802-7523)

**ASESOR:**

Dr. Benites Alfaro, Elmer Gonzales (ORCID: 0000-0003-1504-2089)

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN**

Calidad y Gestión de los Recursos Naturales

**Lima – Perú**

**2021**

**DEDICATORIA**  
**RICSE CONDOR RUDY S.**

Primeramente, a Dios, ya que él es el que provee los recursos y oportunidades para que podamos seguir con nuestros planes. Así mismo a todos mis familiares.

Dedico a mis padres Eberth y Emma. Sobre todo, con todo mi corazón, mi tesis a mi madre, pues sin ella no lo hubiera logrado, cada esfuerzo que tuvo en mi vida, y sobre todo mi carrera le debo a ella. Tu bendición a diario a lo largo de mi vida me protege y me lleva por el buen camino. Por ello te doy mi trabajo en ofrenda por tu paciencia y amor madre mía. Te amo.

Finalmente, a mis maestros que fueron un apoyo incondicional en la elaboración de la tesis. Gracias por sus enseñanzas

**DEDICATORIA**  
**SOLIS RICALDI, CARLOS D.**

Con todo el amor y cariño a mis padres por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad, muchos de mis logros se los debo a ellos entre los que se incluye este, por su comprensión, su dedicación absoluta, su sacrificio, por creer en mi capacidad y motivarme siempre para alcanzar mis metas planteadas.

Su ayuda a sido fundamental por ello les dedico este proyecto en ofrenda por su confianza y apoyo para llegar hasta donde me encuentro el día de hoy, se los agradezco muchísimo, los amo.

## **AGRADECIMIENTO**

### **RICSE CONDOR RUDY S.**

Primeramente, agradecer a Dios por permitirme concluir una etapa de mi vida muy importante en la cual se me abrirá una y más puertas, por darme fuerzas, mandar en mi camino personas para darme sabiduría y darme valor para seguir adelante.

Agradecer a cada uno de mis familiares, JGS, por sus consejos y su apoyo absoluto durante mi carrera universitaria, y confiar en mí que lograría este proceso universitario.

Agradecer a mi asesor Elmer Benites A. por su comprensión y apoyo en el proceso de elaboración de tesis. A mi asesor externo Luis Mendoza A. por brindarme conocimientos importantes que valdrán para mi vida como profesional.  
Gracias

Agradecer a la Universidad Cesar Vallejo por brindar sus aulas y áreas para crecer como profesionales, y así impartirnos conocimientos que nos ayudaran a ser buenos profesionales.

## **AGRADECIMIENTO**

### **SOLIS, RICALDI, CARLOS D.**

Agradezco a la universidad por la calidad de maestros, conocimientos, principios y valores que me han otorgado.

A nuestro asesor Elmer Benítez por incentivarnos en muchos sentidos a seguir adelante y sin su apoyo esto no hubiera sido posible.

Agradezco al ingeniero Luis Apolaya por todo su apoyo, y siempre estar ahí para absolvernos cualquier duda, siempre le estaremos agradecidos.

A la ingeniera Alicia Pezo por su comprensión y apoyo en todo momento.

A todas aquellas personas que siempre estuvieron a mi lado en las buenas y las malas apoyándome las cuales estimo y aprecio mucho.

# ÍNDICE

Carátula	
Dedicatoria .....	ii
Agradecimiento.....	iv
Índice de Contenidos .....	vi
Índice de tablas.....	vii
Índice de gráficos y figuras .....	ix
Resumen .....	xi
Abstrac .....	xii
I.- INTRODUCCIÓN .....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	06
III. METODOLOGÍA.....	37
3.1. Tipo y diseño de investigación .....	38
3.2. Variables y operacionalización .....	38
3.3. Población, muestra, muestreo, unidad de análisis .....	38
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	39
3.5. Procedimientos.....	40
3.6. Método de análisis de datos.....	60
3.7. Aspectos éticos .....	60
IV. RESULTADOS .....	61
V. DISCUSIÓN .....	100
VI. CONCLUSIONES .....	104
VII. RECOMENDACIONES.....	107
REFERENCIAS.....	109
ANEXOS .....	122

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°1: Resultados de los parámetros fisicoquímico del suelo Con HTP .....	62
Tabla N°2: Resultados de la Humedad Gravimétrica del suelo con HTP .....	62
Tabla N°3: Resultados de la determinación del carbono y materia orgánica .....	63
Tabla N°4: Resultados de la capacidad de intercambio catiónico) .....	63
Tabla N°5: Resultados de la determinación de fosforo .....	64
Tabla N°6: Resultados de los parámetros fisicoquímico del suelo con HTP .....	64
Tabla N°7: Resultados de la humedad gravimétrica del suelo con HTP .....	65
Tabla N°8: Resultados de determinación del carbono y materia orgánica .....	65
Tabla N°9: Resultados de la capacidad de intercambio catiónico .....	66
Tabla N°10: Determinación de fosforo (método espectrofotometría .....	66
Tabla N°11: Resultados de los parámetros fisicoquímico del suelo con HTP ....	67
Tabla N°12: Resultados de la humedad gravimétrica del suelo con HTP .....	67
Tabla N°13: Resultados de determinación del carbono y materia orgánica .....	68
Tabla N°14: Resultados de la capacidad de intercambio catiónico .....	68
Tabla N°15: Resultados de la determinación de fosforo .....	69
Tabla N°16: Parámetros fisicoquímico del suelo limpio y contaminado .....	70
Tabla N°17: Parámetros fisicoquímico del suelo limpio y contaminado .....	70
Tabla N°18: Capacidad de intercambio catiónico en suelo limpio y contaminado .....	71
Tabla N°19: Humedad del suelo Limpio y contaminado .....	71
Tabla N°20: Textura del suelo limpio .....	71
Tabla N°21: Densidad aparente del suelo limpio y contaminado .....	72
Tabla N°22: Carbono orgánico y materia orgánica en suelo limpio y contaminado ....	72
Tabla N°23: Caracterización de las plantas para identificar la P. Fluorescens .....	73
Tabla N°24: Análisis microbiológico de la identificación de bacteria en alfalfa .....	73
Tabla N°25: Análisis microbiológico para determinar las bacterias de tomate .....	74
Tabla N°26: Análisis microbiológico de bacterias existente en la raíz de maíz .....	74
Tabla N°27: Caracterización de las plantas para identificar la P. Fluorescens .....	75
Tabla N°28: Resultados de determinación de HTP Periodo 1 .....	90
Tabla N°29: Resultados de determinación de HTP Periodo 2 .....	91
Tabla N°30: Resultados de determinación de HTP Periodo 3 .....	91
Tabla N°31: Resumen de procesamiento de casos .....	92
Tabla N°32: Pruebas de normalidad- Periodos 1,2,3,- SHTP .....	92
Tabla N°33: Correlaciones- TS-1,2,3- SHTP .....	93

Tabla N°34: Descriptivos de TS- SHTP, para análisis de varianza .....	93
Tabla N°35: Análisis de varianza (ANOVA) -TS_HTP .....	94
Tabla N°36: Tratamiento de Suelo_1_2_3- Duncan .....	95
Tabla N°37: Tratamiento de Suelo_1_2_3- Tukey .....	96
Tabla N°38: Pruebas de normalidad- Del pH en los 3 Periodos .....	97
Tabla N°39: ANOVA-TS-HTP.....	97
Tabla N°40: Potencial de Hidrogeno del Tratamiento .....	98
Tabla N°41: Pruebas de Normalidad-Humedad de los tres periodos .....	98
Tabla N°42: Humedad del suelo- Periodo 1,2,3 .....	99
Tabla N°43: Matriz de Operacionalización de Variables .....	123



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°1: Procedimiento de la investigación .....	41
Figura N°2: Parcela Pangoasoa .....	42
Figura N°3: Georreferenciación del lugar de estudio.....	44
Figura N°4: Método Dilución de Tubos Múltiple .....	45
Figura N°5: Tinción Gram de la raíz de la planta de alfalfa .....	46
Figura N°6: Raíz de planta de tomate se aprecia las gram (+).....	46
Figura N°7: Planta de maíz predomina las gram (-) .....	47
Figura N°8: Presencia de bacterias Gram (+) en la planta de tomate .....	48
Figura N°9: Presencia de bacterias Gram (+) en la planta alfalfa .....	49
Figura N°10: Planta de maíz predomina las gram (-) .....	50
Figura N°11: Planta de maíz predomina las gram (-) .....	51
Figura N°12: Presencia de <i>P. fluorescens</i> gram (-).....	52
Figura N°13: Agar Citrate Simons para identificar las <i>Pseudomonas</i> .....	52
Figura N°14: Agar Cetramide diferencial para <i>Pseudomona fluorescens</i> . .....	54
Figura N°15: Aislamiento de las bacterias en un medio esterilizado. ....	54
Figura N°16: Siembra de las bacterias en el agar.....	55
Figura N°17: Presencia de <i>Pseudomona fluorescens</i> con luz ultravioleta. ....	56
Figura N°18: Inicial baja turbidez .....	56
Figura N°19: En 7 días mayor concentración de <i>Pseudomona fluorescens</i> .....	57
Figura N°20: En 7 días es buena la adaptación de las <i>P. fluorescens</i> . ....	57
Figura N°21: Lecturas de Parámetros Físicoquímicos en Multi. digital SL .....	69
Figura N°22: Lecturas de Parámetros Físicoquímicos en Multi. SC .....	70
Figura N°23: Variación de Potencial de Hidrogeno - (200ml).....	76
Figura N°24: Variación de Potencial de Hidrogeno - (300ml).....	76
Figura N°25: Variación de Potencial de Hidrogeno - (400ml).....	77
Figura N°26: Conductividad Eléctrica (ms/cm)- (200ml).....	77
Figura N°27: Conductividad Eléctrica (ms/cm)- (300ml).....	78
Figura N°28: Conductividad Eléctrica (ms/cm)- (400ml).....	78
Figura N°29: Variación de Potencial Redox – (200ml) .....	79
Figura N°30: Variación de Potencial Redox – (300ml) .....	79

Figura N°31: Variación de Potencial Redox – (400ml) .....	80
Figura N°32: Variación de Humedad– (200ml).....	80
Figura N°33: Variación de Humedad– (300ml).....	81
Figura N°34: Variación de Humedad– (400ml) .....	81
Figura N°35: Variación de Materia Orgánica– (200ml).....	82
Figura N°36: Variación de Materia Orgánica– (300ml).....	82
Figura N°37: Variación de Materia Orgánica– (400ml) .....	83
Figura N°38: Variación de Capacidad de Intercambio Catiónico– (200ml).....	83
Figura N°39: Variación de Capacidad de Intercambio Catiónico– (300ml).....	84
Figura N°40: Variación de Capacidad de Intercambio Catiónico– (400ml).....	84
Figura N°41: Variación de Fosforo– (200ml) .....	85
Figura N°42: Variación de Fosforo– (300ml) .....	85
Figura N°43: Variación de Fosforo– (400ml) .....	86
Figura N°44: Variación de Nitrato– (300ml).....	86
Figura N°45: Variación de Nitratos – (300ml).....	87
Figura N°46: Variación de Hidrocarburo Total – (200ml).....	87
Figura N°47: Variación de Hidrocarburo Total – (300ml).....	88
Figura N°48: Humedad del suelo- Periodo 1,2,3.....	88
Figura N°49: Variación de Hidrocarburo Total – (400ml).....	89

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la capacidad biodegradadora de hidrocarburos totales, utilizando a las *Pseudomonas Fluorescens* como medio degradador, en suelo contaminado de Mazamari. Para la obtención de estas *Pseudomonas* se tuvo que buscar plantas leguminosas en las cuales no haya sido aplicado ningún tipo de pesticidas ya que si estas son aplicadas la bacteria muere y ya no se puede obtener la bacteria. Al inicio se tuvo tres tipos de plantas, las cuales eran de tomate, choclo y alfalfa, así mismo se llevó al laboratorio para su análisis y obtención de las diferentes bacterias existentes en dichas raíces, se realizó mediante una tinción Gram, para identificar las bacterias positivas y negativas, ya que se la *P. Fluorescens* es una (Gram-), lo cual se obtuvo como resultado que en la planta de choclo existía la bacteria deseada para la investigación.

Se realizó una recolección de 30 plantas de choclo, los cuales no tenían aplicadas ningún tipo de pesticidas, realizando la caracterización in situ de las plantas en el área, conjuntamente se realizó la extracción de las plantas y el cortado de las raíces para su llevado al laboratorio y realizar el mismo procedimiento de la preparación de extracto mediante el chancado y molido de las raíces.

Así mismo se tuvo que viajar al lugar del derrame y contaminación con HTP, donde para iniciar se hizo un reconocimiento del lugar y posterior mente se hizo la delimitación del área a analizar, ya que se guió con el manual de muestreo de suelos establecido, conjunto con los pasos ya mencionados se tomó los datos necesarios, como las coordenadas GPS y se pasó a la recolección de las muestras los cuales se tomaron de 27 puntos para la investigación a realizar.

Dado el tiempo establecido que fue de 30 días, se monitoreo los parámetros fisicoquímicos, de las diferentes muestras y se realizó mediante 3 periodos de 9 muestras cada uno. Por ello se buscó determinar cuál era la cantidad de *Pseudomonas*, para poder remediar el suelo contaminando.

Se concluye que el método de biodegradación mediante atenuación natural con *Pseudomona fluorescens*, en un lapsus de tres periodos con intervalo de 10 días, logro reducir un 80% de contaminante existente en el suelo.

**Palabras Clave:** raíces, biodegradadora, *pseudomonas fluorescens*, monitorear, fisicoquímicos.

## ABSTRAT

The objective of this research was to evaluate the biodegrading capacity of total hydrocarbons, using *Pseudomonas Fluorescens* as a degrading medium, in contaminated soil of Mazamari. To obtain these *Pseudomonas*, it was necessary to look for leguminous plants in which no type of pesticides had been applied since if these are applied the bacteria dies and the bacteria can no longer be obtained. At the beginning, three types of plants were tube, which were tomato, corn and alfalfa, likewise it was taken to the laboratory for analysis and obtaining the different bacteria existing in the previous roots, it was carried out by means of a Gram stain, to identify the positive and negative bacteria, since *P. Fluorescens* is one (Gram-), which was obtained as a result that the desired bacteria for the investigation existed in the corn plant. Thus, a collection of 30 corn plants was carried out, which did not have any type of pesticides applied, carrying out the in situ characterization of the plants in the area, the extraction of the plants and the cutting of the roots were still carried out to It is taken to the laboratory and performs the same extract preparation procedure by crushing and grinding the roots.

Likewise, they had to travel to the place of the spill and contamination with HTP, where to start a survey of the place was made and later the delimitation of the area to be analyzed was made, since it was guided by the established soil sampling manual, jointly With the aforementioned steps, the necessary data was taken, such as the GPS coordinates and the samples were collected, which were taken from 27 points for the investigation to be carried out.

Given the established time, which was 30 days, the physicochemical parameters of the different samples were monitored, since they went through 3 periods of 9 samples each. For this reason, it was sought to determine what was the amount of *Pseudomonas*, in order to remedy the contaminating soil.

It is concluded that the biodegradation method through natural attenuation with *Pseudomona fluorescens*, in a period of three periods with an interval of 10 days, manages to reduce 80% of the existing pollutant in the soil.

Keywords: roots, biodegrader, *pseudomonas fluorescens*, monitor, physicochemicals.

## I.- INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la presente investigación realizó una cuantificación de los niveles de contaminación del suelo aplicando biorremediación con pseudomonas Flourens para la reducción de hidrocarburos totales ocasionado por derrames u otras formas de contaminación con combustibles fósiles ampliamente utilizados a nivel mundial como generadores de energía fundamentales, las que se encuentran en la naturaleza por la acumulación de biomasa por millones de años.

La contaminación del suelo es crítica, es identificado como la tercera amenaza más importante a las funciones del suelo en Europa y Eurasia, cuarta en África del norte, quinta en Asia, séptima en Pacífico del Noroeste, octava en Norteamérica y novena en el África Sub-Sahariana y Latinoamérica (FAO y GTIS, 2015).

La carta Mundial de suelos revisada (FAO,2015B) recomienda que los jefes de estado pongan regulaciones sobre contaminación del suelo y su limitación de acumulación de contaminantes más allá de los niveles establecidos con una finalidad importante de garantizar la salud y el bienestar humano como el medio ambiente.

Recientemente la asamblea Ambiental de las Naciones Unidas (UNEA-3) aprobaron una resolución para tener un manejo a la contaminación del suelo en el marco del Desarrollo Sostenible, lo cual alcanzo a 170 países, con la misión de soluciones concretas para atacar los problemas de contaminación (PNUMA,2018)

En América, la empresa Petroecuador City/Alberta Energy las cuales confinaron las presas de crudo conveliendo en vertederos de desechos tóxicos, las que fueron cubiertas con capas de tierra, luego el suelo se mezcló con el contaminante lo que en un muestreo arrojó valores de hidrocarburos totales (THP) entre 50,000 y 120,000 ppm.

En el Perú, los derrames de petróleo en la amazonia desde el 2011 hasta el Junio del año 2018 se reportaron 178 derrames de petróleo en el país (OEFA, 2018), representando un grave riesgo para la salud de las personas cuando estas se encuentran en el radio de influencia de los derrames dando origen a

problemas óseos, respiratorios, neurológicos, entre otros (DIGESA, 2014, PNUD, 2018), la investigación se encuentra dividida por 6 fases, en su primera fase es la ubicación de lugar contaminado, la recolección de la muestra, en la segunda fase tenemos el acondicionamiento de las pseudomonas Flourens, tercera fase homogenización del suelo contaminado y análisis de caracterización inicial y final del suelo, cuarta fase es llevar acabo el diseño y tiempos de remediación, sembrado las cepas de pseudomonas Flourens las que serán inoculados por dosis en ml por peso de suelo, quinta fase la evaluación de las fases del tratamiento en los parámetros más relevantes y finalmente la sexta fase viene hacer la evaluación estadística de todo el proceso para poder ver la reducción del hidrocarburo total en el suelo lo que permitirá dar respuesta a las hipótesis de la investigación ya sea aceptando o rechazando las hipótesis nula o alterna.

La *Pseudomonas Fluorescens* tiene como objetivo restaurar de manera natural áreas en las cuales exista o haya existido algún tipo de contaminación, como lo refiere (Naeem, 2020) La problemática se sitúa en Huánuco en un suelo agrícola que se encuentra cerca de una vía donde transitan vehículos de carga de hidrocarburos donde en muchos casos se derraman este líquido elemento causando contaminación de los suelos agrícolas de la zona perjudicando a las cosechas y frutos que se contaminan y causan daños de salud a las personas que la consumen.

De tal manera, para la ejecución de la presente investigación se formuló el siguiente problema general ¿Cuánto es la biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo en el suelo contaminado, utilizando las *Pseudomonas Fluorescens*?

También se plantearon de igual forma los siguientes problemas específicos: ¿Cuáles son las características fisicoquímicas iniciales y finales del suelo contaminado con hidrocarburos, biodegradado por la *Pseudomona Fluorescens*?; ¿Cómo identificar y obtener las *Pseudomonas Fluorescens* que serán utilizadas para la biodegradación del suelo contaminado con hidrocarburos?, ¿Cómo influye la actividad de la inoculación de la *Pseudomona Fluorescens* en el tratamiento de reducción de los hidrocarburos?, ¿Cuánto es

el contenido inicial y final de los hidrocarburos totales de petróleo del suelo contaminado, biodegradado con la *Pseudomonas Fluorescens*? .

Los aportes del desarrollo de la investigación es utilizar la biorremediación utilizando *Pseudomonas Fluorescens*, para la restauración y así poder utilizarlas en campo de cultivos teniendo como aspectos importantes niveles:

Nivel económico: Se pudo observar que estas bacterias son obtenidas en las raíces de plantas como el maíz, y leguminosas que sirven a la planta para su protección de manera natural y crecimiento viables ya que son aeróbicas no necesitan incubaciones especiales para su reproducción.

En lo social: Se sabe lo perjudicial de los hidrocarburos para la salud entonces se podrá tener un estilo de vida más saludable cuando estas tierras sean biorremediador.

En lo Ambiental: Se reducirá la emanación de los gases que estas emanan, se mejorará el desequilibrio de carbono en los suelos, la permeabilidad de las aguas será óptimas en el riego, permitirán frutos sanos.

En lo tecnológico: Permitirá un uso que no necesita grandes sistemas de adaptación de las pseudomonas y las inoculaciones serán fáciles de administrar las que en un tiempo prudencial tendrían suelos aptos para la producción.

Por consiguiente, se planteó como **objetivo general** de la investigación: Evaluar la biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo en el suelo contaminado utilizando *Pseudomonas fluorescens*.

Así mismo, se plantearon los siguientes **objetivos específicos**: Evaluar las características fisicoquímicas iniciales y finales del suelo contaminado con hidrocarburos, biodegradado con *Pseudomonas Fluorescens*; Identificar y obtener las *Pseudomonas Fluorescens* que serán utilizadas para la biodegradación del suelo contaminado con hidrocarburos; Evaluar la actividad de inoculación de las *Pseudomonas Fluorescens* en la reducción de hidrocarburos en el suelo contaminado; Determinar la concentración inicial y final de Hidrocarburos Totales de Petróleo del suelo contaminado, biodegradado por la *Pseudomona Fluorescens*



De igual forma se plantea la hipótesis general de la investigación: Las *Pseudomonas Fluorescens* biodegradaran los hidrocarburos totales de petróleo en el suelo contaminado. Asimismo, las hipótesis específicas son: Existe variación en las características fisicoquímicas iniciales y finales del suelo contaminado con hidrocarburos, biodegradado con *Pseudomonas Fluorescens*.; Dentro de la identificación, existe muchas familias de *Pseudomonas*, lo cual se obtiene a la *Pseudomonas Fluorescens* separándolas con el agar diferencial; La actividad de la inoculación, tiene diferentes resultados, ya que, en cada etapa la cantidad de inoculación es diferente; Es posible disminuir la concentración inicial de hidrocarburos totales de petróleo del suelo contaminado, biodegradado por la *Pseudomonas Fluorescens*, comprobando en los resultados finales el porcentaje de reducción.

## **II.- MARCO TEÓRICO**

Según Herrero (2016) en su investigación titulada, comparativa de métodos de descontaminación de suelos afectados por hidrocarburos. Aplicación a la obra del ave de Málaga. Se basó en el desarrollo de una tecnología innovadora que se usa para la descontaminación in situ de los suelos con altas concentraciones de TPH. El tipo y la cantidad de muestras disponibles en primera instancia se tomaron cuatro muestras representativas para evaluar el nivel de concentraciones de partida. En su principal resultado se consiguió la recuperación de los terrenos que fueron contaminados en un tramo del tren de alta velocidad.

Según Narváes, Gómez (2015) en su investigación titulada, Selección de bacterias con capacidad degradadora de hidrocarburos aisladas a partir de sedimentos del Caribe colombiano. Esta investigación se basó en el proceso degradativo que tienen las bacterias, y su identificación mediante los estudios químicos. El método que se utilizó fue que las cepas aisladas se sometieron a diferentes pruebas de selección en distintas cantidades de concentraciones. En detalle tuvo como resultado el aislamiento de 31 cepas bacterianas que tienen la capacidad de tener una tolerancia a los hidrocarburos. Así mismo se concluyó que las cepas evaluadas sí tienen un potencial degradativo de hidrocarburos y es necesario hacer su caracterización a nivel molecular.

Según Ordoñez, Abella, et al. (2017) en su investigación titulada, Biodegradación de hidrocarburos alifáticos saturados por microorganismos aislados de suelo contaminado con derivados del petróleo. Tuvo como objetivo determinar la capacidad degradadora para remediar el impacto causado por el queroseno lo cual llega a ser un subproducto del petróleo. Dichos autores se basaron en los impactos causados en el equilibrio que existía en los ecosistemas. El muestreo que se hizo se tomó de muestras de suelo de un taller en el cual ejercen la reparación de bicicletas en el cual se consideró un área de 12 m<sup>2</sup>. Así mismo se concluyó que los microorganismos toleran el queroseno en un porcentaje de 2% a 10% y así demostrando su eficiencia de crecimiento en presencia de hidrocarburos.

Según Silvana, Arocena (2017) en su investigación titulada, Biodegradación aerobia de fracciones de hidrocarburos provenientes de la actividad petrolera en un suelo de la región Patagonia Norte, Argentina. Tuvo

como objetivo principal el estudiar la velocidad de degradación de distintas fracciones de petróleo mediante biosólidos. Se basó en la teoría que la biorremediación es una energía sustentable lo cual acelera la biodegradación como también posee una relación costo beneficio. El presente trabajo se realizó a nivel laboratorio. Como resultados se obtuvo que si se tuvo una disminución en la concentración de alcanos e hidrocarburos aromáticos de menor peso molecular. Se concluyó que bioremediar el suelo contaminado con hidrocarburos mediante la técnica de biosólidos tiene una viabilidad muy alta y eficaz.

Según Braibant (2016) en su investigación lo cual titula, Estudio del potencial de degradación de los hidrocarburos por *Acinetobacter* sp. Y *Pseudomonas putida* para su aplicación en la biorremediación de suelos contaminados. Su principal objetivo fue el valorar las potencialidades que tienen las cepas para la degradación del benceno. Se basaron la teoría como degradación y biodegradación de hidrocarburos, bioaumentación. El método que se utilizó para la determinación de concentración fue la de método analítico. Los resultados que se obtuvieron fue que las bacterias serían excelentes ayudadoras para el saneamiento de los suelos contaminados por hidrocarburos. Así mismo se concluyó que la degradación de estos hidrocarburos es un poco difícil ya que tienen alta volatilidad en algunos hidrocarburos.

Según Pucci, Acuña (2015) en su investigación titulado, Biodegradación de hidrocarburos en fondos de tanques de la industria petrolera. En su objetivo principal tuvo estudiar la posibilidad de degradación de los hidrocarburos presentes en los sedimentos que quedaron después del lavado de fondo del tanque. La muestra que se trabajó fue, los fondos de los tanques de la industria petrolera. Se concluyó que la fracción que mejor se degradó fue la de los hidrocarburos alcanos de cadena entre 13 a 26 átomos de carbono.

Según Viñas (2017) en su investigación titulado, Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos: caracterización microbiológica, química y ecotoxicológica. Tuvo como objetivo estudiar la capacidad degradadora de distintos consorcios microbianos. Se basó en términos, como la biodegradación

de crudo de petróleo por cultivos mixtos, consorcios definidos y no definidos los cuales están relacionados con todo el ámbito de biodegradación de hidrocarburos. El tipo de diseño que se uso es el experimental. Se concluyó que la caracterización tuvo un eficaz efecto en la biorremediación ya que se utiliza para ver con que suelo se trabaja.

Según Pinto, Sánchez (2018) en su investigación titulada Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante la utilización de diferentes cepas bacterianas a escala laboratorio. Tuvo como objetivo principal, Evaluar la eficacia que tiene dos cepas bacterianas en el proceso de biorremediación contaminados con Gasolina y Diesel. Se baso en un marco conceptual que tiene como definición de Bioaumentación, suelos contaminados, crecimiento bacteriano. Se utilizaron dos métodos analíticos, el primo fue espectroscopia de infrarrojo y el otro fue cromatografía de gases. Así mismo se concluyó que la validación de las condiciones óptimas para el crecimiento microbiano y el proceso de biorremediación fueron a un 90% exitoso.

Según Ccancce (2018) en su investigación titulada, Determinación de bacterias heterotróficas en suelos contaminados con hidrocarburos y su capacidad de tolerar concentraciones crecientes de petróleo in vitro. Tuvo como objetivo principal Cuantificar la carga de bacterias heterótrofas existentes en el suelo contaminado con hidrocarburos. Se baso en términos de hidrocarburos, contaminación ambiental por hidrocarburos los efectos de los hidrocarburos en el suelo. El muestreo se realizó fue de probabilístico por conveniencia. El resultado de bacterias heterotróficas osciló entre 169 y 220 UFC/g y la mayor parte del conteo se tuvo en el taller 2.

Según Arenas (2018) en su investigación titulada, Proceso de biodegradación para el tratamiento de derrames de petróleo por medio de pseudomonas. Su principal objetivo fue describir el proceso de biodegradación para el tratamiento de derrames de petróleo en suelo y agua mediante el uso de pseudomonas en los últimos 20 años. Se baso en términos o definiciones de hidrocarburos, aromáticos y alifáticos. Adicionalmente para el agua contaminada, existe la posibilidad, de hacer uso de sulfato, disuelto en el agua

para mejorar los resultados.

Según Jiménez (2018) en su investigación titulada, Desarrollo de una metodología mediante acoplamiento de bioaumentación, bioestimulación y bioventeno para la remediación de un suelo costero contaminado con hidrocarburos. Su objetivo principal fue, el desarrollo de una metodología mediante el acoplamiento de las técnicas de biovento, bioaumentación y bioestimulación para remediación de suelo contaminado por hidrocarburos. Se usó una metodología que tiene como fin la optimización de los parámetros de operación. Se tuvo como resultado que el Agua Dulce es el consorcio microbiano con mayor capacidad de biodegradación de los hidrocarburos. Se concluyó que para lograr la degradación de los TPH se requiere la aplicación de dos o más tecnologías por lo que los hidrocarburos intemperizados no es posible implementar una sola tecnología.

Según Marín (2018) en su investigación titulada, Biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo por hongos endófitos de la Amazonia Ecuatoriana. Tuvo como principal objetivo la determinación de la capacidad de los diferentes aislados fúngicos en su degradación. Como resultados se tuvo que la evaluación de HTP por cromatografía de gases permitió la identificación de compuestos alifáticos (Octano, nonano, undecano, dodecano, tetradecano) y tuvieron un buen desenvolvimiento.

Según Pardo, Rojas, et al. (2017) en su investigación titulada, Biodegradación de fenol en aguas tratadas de la industria petrolera para reúso en cultivos agrícolas. Tuvo como principal objetivo fue el de biodegradar el fenol existente en las aguas de la industria. Se basó en términos como la producción agrícola, las condiciones en las cuales se usa o se aplica los fenoles en el suelo agrícola. Así mismo se concluyó que en el estudio demostró que la bioaumentación con bacterias nativas generan una tecnología ambiental y económicamente sencilla, para su uso en la remoción de contaminantes.

Según Hans (2018) en su investigación titulada, Eficiencia de la

biodegradación de hidrocarburos de petróleo por hongos filamentosos aislados de suelo contaminado. Su objetivo principal determinar la eficiencia de la biodegradación de hidrocarburos de petróleo de 10 cultivos de hongos filamentosos. Se baso en características y detalles de los hongos filamentosos. La investigación se realizó en dos fases en la primera fase fue descriptiva, y en la segunda fase explicativa. El suelo contaminado presento HTP de 25 987 mg kg lo cual al variar d ellos días se fue bajando su porcentaje de los contaminantes.

Según Ángeles (2015) en su investigación titulada, Evaluación de la biodegradación de hidrocarburos en microcosmos, de manglares utilizado la técnica de bioestimulación. Su principal objetivo fue la evaluación de la capacidad de degradación de hidrocarburos presentes en sedimentos de manglar. Se baso en términos relacionados con los manglares y sus propiedades que tiene al biodegradar. Los resultados obtenidos del tratamiento de biodegradación indica que el pH no tubo variaciones algunas por lo que está en un equilibrio durante los 90 días. Se concluyó que el proceso de bioestimulación, alcanzó niveles de eliminación de  $\geq 92\%$ .

Según Castillo (2019) en su investigación titulada, Aplicación de la técnica de LANDFARNING para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Su objetivo fue Remediar las zonas afectadas mediante la aplicación de la técnica LANDFARNING. Se baso en el marco conceptual sobre la composición del suelo, conceptos y características del petróleo. Se concluyó a efectividad de la técnica LANDFARNING para la remediación de suelos contaminados por hidrocarburos.

Según Suarez, Rosado, Gamboa (2018) en su investigación titulada, Influencia de enterobacter cloacae para la degradación de petróleo en suelo de Negritos- Piura,2018 cuyo objetivo fue evaluar la influencia de las concentraciones de E. Cloace en el porcentaje de degradación de petróleo presente en negritos – Piura, 2018. Sus resultados indicaron que mediante la obtención del proceso que se llevó acabo se considera que ambos tratamientos degradan considerablemente este compuesto orgánico.

Según Pisfil (2019) en su investigación titulada, Remedación de suelos contaminados en operaciones de perforación en Nor-Oeste y Selva. Su objetivo fue analizar las diferentes técnicas biológicas para el tratamiento de suelos contaminados con petróleo basándose en conceptos como el de petróleo, funciones del oleoducto Nor peruano. Se concluyó que la biorremediación es la vía más efectiva para la remediación de suelos contaminados, en contraste a alternativas más costosas, como la incineración.

Según Flores, Mendoza (2017) en su investigación titulada, Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos por derrames de la estación de servicios en el campamento de GUARUMALES. Su objetivo fue Determinar mediante el análisis estadístico cual es el tratamiento más idóneo para acabar una mayor biorremediación. Se baso en concepto como el origen del petróleo, y las ventajas. Y desventajas de la biorremediación. Su resultado comento que la pureza del resultado del tratamiento por parte de los microorganismos son materiales inocuos e inofensivos para el medio ambiente.

Según Llanco, Reategui (2020) en su investigación titulada, Identificación de bacterias degradadoras de petróleo en ecosistema acuático de una actividad petrolera de coronel Portillo-Ucayali, 2018. Su objetivo fue el conocer las bacterias degradadoras de petróleo presentes en los ecosistemas acuáticos de Pucallpa-2018. Como bases teóricas se tuvo como es la actividad petrolera, cuáles son los microorganismos que degradan los hidrocarburos. Como resultados se tuvo que se identificaron 24 tipos de cepas de bacterias seleccionadas de la muestra de agua superficial. Se concluyó que, de las veinticuatro cepas bacterianas encontradas, cinco tuvieron adaptación y crecimiento en el cultivo con petróleo los cuales son: pseudomonas Aeruginosa, Acinobacter, Serratia sp, Eterobacter y Citrobacter.

De acuerdo con (Ramadass, Kavitha, et al., 2018), quien refiere en su investigación titulada Biodisponibilidad de hidrocarburos meteorizados en suelos



contaminados con aceite de motor: impacto de la bioaumentación mediada por *Pseudomonas* spp. sobre biorremediación. El principal objetivo fue de investigación evaluar los diferentes tipos de eficiencia en las estrategias de biorremediación de suelos recolectados de un sitio que ha sido contaminado con aceites de motor y otros productos derivados del petróleo de automóviles. Se basó en que las cepas bacterianas exhibieron un gran potencial para remediar los hidrocarburos degradados del aceite de motor mediante la pirosecuenciación basada en ARNr 16S para evaluar la diversidad microbiana en suelos contaminados. La población de estudio fue por parte de la muestra se recogió tierra contaminada con aceite de motor de un depósito de servicio y eliminación de automóviles y el muestreo consistió en porciones de 400g de suelo contaminado de la muestra. Los instrumentos empleados para la evaluación fue la pirosecuenciación de todo el ADN del suelo extraído. Los principales resultados fueron que la bioaumentación de cepas bacterianas utilizando *Pseudomonas* ssp. fue muy significativa para la biodegradación de los hidrocarburos. Se concluyó que aplicando dos técnicas de remediación como lo son la bioaumentación y bioestimulación mejoró significativamente la biorremediación de los TPH degradados.

Según Villa, Frías (2012), en su investigación titulada evaluación de cepas de *pseudomonas* sp para el control de los hongos fotógenos que afectan los diferentes cultivos. Tuvo como objetivo principal el uso de estas *pseudomonas* para el efecto del control biológico en los cultivos que tienen un. Se basó en conceptos de control biológico, *pseudomonas fluorescens*, tipo y clasificación de hongos. Los materiales y muestra, se usaron las cepas de *pseudomona*, hongo fitopatógeno. Así mismo. El principal resultado fue que según el porcentaje de crecimiento poblacional de las pruebas de *pseudomonas* dan un porcentaje aceptable para el análisis.

En su investigación Benavides (2006), titulada Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo, tuvo como objetivo remediar los hidrocarburos de un suelo contaminado por petróleo, esta investigación tuvo como objetivo el identificar la capacidad biodegradativa del petróleo. Se utilizó la técnica de la biodegradación como alternativa de

remediaciones construyeron biorreactores de 2,5 litros para posteriormente colocar en condiciones de 1 y 2% respectivamente. La muestra se realizó en biorreactores inoculados en suspensión bacteriana  $1,5 \times 10^8$  UFC/ml. Así mismo se observó en el proceso de biodegradación del contaminante, que hubo una disminución de oxígeno en relación a la concentración de petróleo. Se concluyo que hubo disconformidades características en el porcentaje de biodegradación.

Citando a Tahseen, Razia, et al. (2019), quien manifiesta en su investigación titulada Degradación mejorada de hidrocarburos por cepa mutante *inducida por rayos gamma de Pseudomonas putida*. Tuvo como objetivo *Mejorar el potencial de degradación de la Pseudomonas putida que degrada el aceite mediante mutagénesis de rayos gamma para la limpieza de suelos contaminados con petróleo crudo*. Se baso en que la mutagénesis mediante irradiación de rayos gamma es un método antiguo pero eficaz que se ha aplicado en la agricultura para mejorar la eficiencia de las bacterias benéficas. La población de estudio fue por parte de la muestra fue suelo de campos agrícolas del Instituto Nacional de Biotecnología e Ingeniería Genética. Los instrumentos empleados fueron 3 tipos de suelo esterilizado y contaminado por petróleo crudo, pero con la variación que al primero recibió tratamiento con cepa parental tipo salvaje, la segunda cepa mutante altamente eficiente 300-B y el tercero sin inoculación bacteriana para que sirva de control. El principal resultado fue que la cepa mutante (300-B) fue capaz de degradar el 46,3% del petróleo crudo más que la cepa parental de tipo salvaje. También se observó una ligera degradación.

Como menciona Castro, Murillo (2015), en su investigación titulada Inoculación del suelo con *pseudomonas fluorescens* como también microorganismos de montaña. Su objetivo principal fue evaluar un determinado sistema de rotación en microorganismos. Se basó conceptos del suelo, el desarrollo de la agricultura, el uso de las comunidades microbianas. La población se tubo fue población microbiana, indicados por género. En sus materiales e instrumentos, se utilizó suelo de Liberia, recipientes para ensayos. Según los resultados del estudio de bioles afecto las propiedades físicas y químicas de las unidades experimentales.

Según Hoyos, Jesús 2013 en su investigación titulada biosurfactantes en

la biorremediación del impacto de hidrocarburos, tuvo como objetivo identificar el porcentaje de surfactante producidas por las *Pseudomonas* spp, Se la técnica de aplicación de biosurfactantes favorecidos. El muestreo se realizó mediante pruebas de dispersión de gota. Se obtuvo como resultados que el medio contiene de hidrocarburos de 22900 mg obtuvieron 78 aislados de *Pseudomonas*. Se concluye que la producción de *Pseudomonas* spp. tiene potencial degradación para la remediación de suelos.

Como afirma Karamalidis, AK, et al. (2017), quien sostiene en su investigación titulada Biorremediación en la escala del laboratorio de suelos contaminados con petróleo por microorganismos autóctonos y cepa *Spet* de *Pseudomonas aeruginosa* añadida. Tuvo como objetivo investigar a nivel laboratorio la biorremediación de suelos contaminados con petróleo utilizando 3 enfoques diferentes de remediación. Se baso que, en pruebas de laboratorio, la *Pseudomonas aeruginosa* se ha utilizado con éxito en la degradación de diversos compuestos derivados del petróleo. La población del estudio por parte de la muestra fue suelo contaminado que se obtuvo de un sitio contaminado por petróleo en una refinería, el muestreo fueron 5 kg de suelo contaminado. Los instrumentos empleados fueron técnicas de bioestimulación, bioaumentación con microorganismos autóctonos y *P. aeruginosa*.

Los principales resultados fueron que la bioestimulación por células autóctonas resultó fácilmente en la degradación continua de la fracción alifática, mientras que la fracción alifática total resuelta disminuyó en un 89% en el mismo período de tratamiento. Se concluye que Los microorganismos indígenas fueron más efectivos en la degradación de los hidrocarburos alifáticos totales (> 79% p / p) en comparación con las células indígenas - libres e indígenas-encapsuladas de *P. aeruginosa*.

Desde el punto de vista de Colla, Tatiana Simonetti, et al. (2017), quien señala en su investigación titulada Evaluación de la biorremediación de suelos contaminados con diésel y biodiésel mediante una estrategia de bioaumentación alternativa, tuvo como objetivo investigar la efectividad de la bioaumentación sucesiva en el suelo de biorremediación contaminado con mezcla de 90% diésel y 10% biodiesel. Se baso en que la bioestimulación promueve un efecto positivo sobre las poblaciones microbianas. La población

de estudio fue por parte de la muestra suelo contaminado con biodiesel recolectado de una estación de servicio, y el muestreo fueron 4 frascos de 150g de suelo contaminado cada uno. Se emplearon métodos dependientes e independientes del cultivo para la evaluación de la respuesta de la población bacteriana después de los tratamientos de biorremediación. Su principal resultado fue que el rendimiento combinado de *Pseudomonas* y *Achromobacter*. Se concluye que la reducción de TPH es mayor cuando se emplean estrategias de bioestimulación y bioaumentación sucesiva.

Como señala Mukherjee, A. K & Bordoloi, N. K. (2015), expresa en su investigación titulada Biorremediación y recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos de aceite de petróleo por un consorcio de bacterias sembradas exógenamente: un estudio a escala piloto tuvo como objetivo recuperar un suelo contaminado con aceite de petróleo mediante el uso de un consorcio microbiano que degrada los hidrocarburos del aceite de petróleo. Se basó en que la biorremediación se reconoce como una de las tecnologías efectivas y económicas. La población de estudio fue por parte de la muestra 5 kg de suelo contaminado con aceite de petróleo, y el muestreo se realizó en con 180g del contaminante por cada kg de suelo. Se usaron técnicas bioquímicas y cromatográficas de gases para analizar la cinética de la degradación de los hidrocarburos. Su principal resultado fue que el consorcio bacteriano mostró una disminución notable en el porcentaje de HTP en el suelo contaminado (76% de biodegradación) en símil con la muestra de suelo control (3,6% de biodegradación) 180 días después de la inoculación. Se concluye el presente estudio refuerza la aplicación del consorcio bacteriano en lugar de la bacteria individual para la biorremediación efectiva y la recuperación de suelos contaminados con aceite de petróleo.

De acuerdo con Montánchez, Itxaso, et al. (2017), en su investigación afirma que lleva como título Aislamiento de especies de *Pseudomonas fluorescens* altamente resistentes al pentaclorobenceno, tuvo como objetivo minimizar el nivel de compuestos policlorados en el medio ambiente mediante la conversión de CB en compuestos menos tóxicos con la biorremediación. Se basó en la habilidad de *P. fluorescens* para sobrevivir en presencia de PeCB que lo convierte en un buen candidato para su uso en la

biorremediación de bencenos policlorados. La población de estudio fue por parte de la muestra suelo recogida de las inmediaciones de la refinería de petróleo Petronor, y el muestreo se realizó con 3 muestras independientes de suelo tomadas de la capa superior 0 a 5 cm que fueron separados en medio mineral líquido MM. Se utilizó la genómica para aislar el ADN y se amplifican por PCR usando cebadores específicos del gen. Su principal resultado fue que se encontró que la presencia de PeCB ralentizaba un poco el crecimiento de *P. fluorescens*, aunque en menor medida que la de *Serratia* spp. Se concluye que la *P. fluorescens* posee un mecanismo (s) de defensa del estrés específico capaz de aumentar la resistencia celular a este compuesto tóxico y es un buen candidato para la ingeniería metabólica.

Según Asselborn (2011), en su investigación titulada, Caracterización fenotípica y genotípica de aislamiento de *Ps fluorescens* con potencial de biocontrol de enfermedades. Se basó en términos basados en el origen e historia del arroz, aislamientos bacterianos, aislamientos fúngicos. La población fue un grupo de cepas bacterianas de *Pseudomonas fluorescens*. Los resultados obtenidos a la caracterización molecular utilizando la técnica del PCR tuvo resultados óptimos.

Según Akintui, Alcántara, et al. (2015) en su investigación titulada, *Pseudomonas fluorescens* de suelos agrícolas degradadora del herbicida ácido 2.4 *Diclorofenoxiacético*, Esta investigación tuvo la determinación de investigar la presencia de bacterias *fluorescens* lo cual degrada compuestos como herbicidas. Dicho autor se basó en términos referidos a la agricultura moderna que se basa en gran parte de lo existente en su facilidad para maximizar el rendimiento. Se realizó un muestreo probabilístico del cual se tomaron 3kg de muestra a partir de las 3 hectáreas elegidas aleatoriamente. Mediante el resultado que presento, se tuvo que se dio paso a la aislación e identificación de la *P. fluorescens* presente en el suelo agrícola del sector Barraza de Trujillo. Así mismo se concluyó que el uso inapropiado de herbicidas ha provocado un impacto del suelo mediante su acumulación y persistencia de agentes químicos que no solo son tóxicos en las plantas para las cuales se aplican.

Según Pérez (2018) en su investigación titulada Evaluación de la biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos utilizando

*Pseudomonas fluorescens*. Esta investigación tuvo como objetivo principal determinar la reducción de TPHs y HAPs en suelos contaminados con hidrocarburos, aplicando el método de remediación con *P. Fluorescens*. Se basó como solución para este tipo de investigación es la bioaumentación por lo que se aplicó para comprobar su nivel de eficacia en la descontaminación de suelos. El muestreo que se tuvo fue con la técnica de tres bolillos, lo cual se realizó una excavación, se tomaron 12 submuestra en 12 distintos puntos de muestreos. Luego se colocaron en un saquillo y se llevaron al laboratorio. Los materiales a usar fueron un sistema de cromatóforo de gases, espectro de masas entre otros.

Según Lladó (2010) en su investigación titulada Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos pesados y caracterización de comunidades microbianas implicadas. Tuvo como objetivo aportar los conocimientos necesarios para biorremediar suelos impactados por hidrocarburos. Se basó en los suelos contaminados por diferentes compuestos de hidrocarburos como es el, diésel, gasolina, aceites minerales, creosota, como también términos relacionados con biorremediación. Se obtuvo como resultado que los HAP de dos y de tres anillos fueron degradados por completo por las poblaciones microbianas.

En su investigación titulada Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos, Ortiz 2015, tuvo como objetivo formular un producto denominado BIOI-FC. Se usó la técnica de la bioestimulación y bioestimulación. El muestreo se realizó durante 7 días para determinar bacterias heterótrofas. Se obtuvo como resultados potencialidad de bioproducto para remediar ambientes terrestres. Se concluyó que hubo una mayor eficiencia en la oxidación de los TPH en la aplicación del boíl, logrando 50 y 61% de remediación de petróleo.

Según Pérez, Coto, et al. (2015), en la investigación que lleva como título *Pseudomonas fluorescens* Migula, ¿control biológico o patógeno? Y tuvo como objetivo presentar diferentes aspectos beneficiosos sobre la bacteria *P. Migula*, su función como agente para el control biológico y patógenos en cultivos. Se basó en la acción del control biológico para la biorremediación de dicha bacteria, y su capacidad para contaminar tejido vegetal, por este caso lo han hecho objeto de estudio. Los resultados obtenidos según la fuente demostraron un aislamiento de 17 cepas tuvieron efectos fúngicos probados. También se mostraron

porcentajes de 49% hasta 83% de aislamiento. Por lo que se concluyó que el uso de bacterias endofíticas, como control biológico hacia los diversos patógenos tienen una gran importancia en la agricultura moderna dado la necesidad de reducir el uso de productos químicos en el sector agrícola.

Como señala Gonzáles, et al. (2014) en su investigación titulada Importancia sanitaria de *Pseudomonas aeruginosa* en agua de hemodiálisis y su desinfección. Tuvo como objetivo actualizar los conocimientos sobre la importancia sanitaria de *P. aeruginosa* y su desinfección en agua de hemodiálisis. Se basó en generalidades sobre el género *pseudomonas* que señalaba en su marco teórico. Los principales

Los resultados fueron la demostración de los procesos de limpieza que por parte cumplen función en la reducción de biofilm. Así mismo el cloro usado como desinfección solo elimina bacterias viables al biofilm. Se concluyó que el proceso de antisepsia por contaminación de *P. aeruginosa* en un sistema de tratamiento es de importancia teniendo presente la diversidad, el sistema de distribución y explotación, por ello es necesario tomar medidas de contingencia para cada factor presentado.

Según Rodríguez (2013) en su investigación titulada, reciclados del suelo en los lodos de refinería; nuevas aproximaciones para la reducción de hidrocarburos mediante la función de enmiendas orgánicas. Se basó en términos del suelo, así como sus funciones, la importancia y la calidad, definido y caracterizó la contaminación del suelo con hidrocarburos. La población usada fue de microorganismo usados para la biorremediación. En los ensayos la toma de muestra fue destructiva así mismo se tomó tres contenedores por tratamiento. A juicio de Luján (2019), en su investigación titulada Uso de *Pseudomonas aeruginosa* en biorremediación. Tuvo como objetivo de actualizar información acerca de la participación de *Pseudomonas aeruginosa* para la biorremediación de suelos. Se basó que la biorremediación y la utilización de la *pseudomonas aeruginosa* asimismo encontrando conceptos de ambos en su marco teórico. Se concluyó que esta *P. aeruginosa* tiene un rol por ponderar que es la biorremediación debido a que tiene una capacidad catabólica, y sus requerimientos bióticos no son muy exigentes y tiene una fácil adaptación a diversas condiciones.

Como dice Escalante (2002) en su investigación titulada biodegradación de petróleo en terrarios tuvo como objetivo principal aislar las cepas degradadoras y estimular la reducción de hidrocarburos en el suelo de Iquitos. Se basó en la acción biorremediadora de la *P. Aeruginosa*. Los materiales que se usaron fueron, Medios de cultivo, suelo con el contaminante, suelo de cultivo, también el muestreo se realizó mediante seis muestras de 1 kg aproximadamente con el contaminante procedente de Trompeteros. Los resultados estimados fueron que se aislaron 129 cepas bacterianas a partir de las 6 muestras recolectadas. Se tuvo la conclusión que las 129 cepas bacterianas fueron capaces de reducir la concentración de hidrocarburos.

Citando a Krisdawati, Jitra, S. (2018) en su investigación titulada efficiency of the formulated plant-growth promoting *pseudomonas fluorescens* MC46 inoculant on triclicarban treatment in soil and its effect on *vigna radiata* growth and soil enzyme activities. Tuvo como objetivo principal el examinar el efecto que tuvo la toxicidad del TCC en el frijol mungo, como planta modelo utilizaron *V. radiata* y papel de MC46, poniendo en condiciones de crecimiento controlado para minimizar los impactos del medio ambiente. Se basó en bases teóricas como la Biodegradación de TCC en un medio líquido, así como el análisis cinético de la toxicidad mediante su evaluación. Como resultado se tuvo que para el tratamiento de suelos contaminados por TCC el uso potencial de MC46 tiene una efectividad muy buena, pero eso no termina ahí, sino que se llevó a más estudios para la afirmación de esta. Se concluyó que la promoción del crecimiento de las plantas se desarrolló con éxito para así probar su efectividad al momento de remediar el suelo contaminado.

Según MM, et al. (2018), en su investigación titulada Quantification of catabolic genes for naphthalene dioxygenase (NahAC) and catechol dioxygenase (C23O) produced by *pseudomonas fluorescens* AH- 40 that degrades phenanthrene. De lo cual cuyo objetivo de esta investigación fue detectar la capacidad de consumir fenantreno mediante la *Pseudomona fluorescens*, también determinar la concentración de genes catabólicos durante los 15 días de incubación. Se basó en un método de aislamiento bacteriano mediante una técnica de enriquecimiento en medio de sales minerales suplementado con



fenantreno. Los principales resultados fueron, la cepa degradadora si identifico como la *P. fluorescens*, el número de copias de los genes catabólicos aumento durante el proceso de degradación. Así mismo se concluyó que los principales genes marcadores de la degradación por la *P. fluorescens* se podría recomendarse para la biorremediación con este contaminante.

Como dice Llanco, Reategui (2020), en su investigación determinación de bacterias degradadoras de petróleo en ecosistemas acuáticos. Tuvo como objetivo dar a conocer los tipos de bacterias degradadoras de petróleo en un medio acuático. Se baso en términos, como cuál es la definición de hidrocarburos, la composición y comportamiento del petróleo, así mismo como influencia en el Perú y su extracción. En esta investigación se tomó como población los efluentes de la población principal, la muestra se tomó la entrada y salida del efluente. Como resultado se dio a conocer la identificación de las bacterias en muestras de una actividad de refinería y los parámetros fisicoquímicos, así mismo se observó la presencia de diferentes pseudomonas. Se concluyo que la biotransformación es una degradación parcial, en el proceso se obtuvieron parámetros esenciales.

Como plantea Ordoñez, Didier. et al. (2017), en su investigación titulada biodegradación de los hidrocarburos por microorganismos aislados de suelo. Tuvo como objetivo primordial la determinación y la capacidad degradativa de microorganismos nativos para remover queroseno en el suelo. Se baso en se basó en términos teóricos como bacterias, degradación e hidrocarburos. El muestreo, se realizó mediante las muestras tomadas de un taller de reparación de bicicletas. Se concluyo que estos microorganismos tienen una efectividad prometedora para erradicar la contaminación de queroseno existente en el suelo.

Citando a Sakthipriya, N. et al. (2016), plantea en su investigación titulada Investigaciones sistemáticas sobre la biodegradación y reducción de la viscosidad de los hidrocarburos de cadena larga utilizando *Pseudomonas aeruginosa* y *Pseudomonas fluorescens*, tuvo como objetivo evaluar el desempeño y degradación de hidrocarburos de cadena larga, como el

hexadecano y eicosano usando *Pseudomonas fluorescens* y *Pseudomonas*. Se basó en los últimos años en el uso de las bacterias *Pseudomonas* se han investigado para la degradación de hidrocarburos en la industria del petróleo. La población de estudio fue por parte de la muestra Sedimentos de petróleo cerca de Manali, Chennai, y el muestreo sedimentos contaminados con petróleo y *P. fluorescens*. Se utilizó el control por triplicado que consiste en la aislación bacteriana en nutriente similar medio sin sustrato de parafina. Su principal resultado fue que se identificó que la biodegradación de hidrocarburos aumento en un 77% a 93% con el uso de los microorganismos *P. Fluorescens*. Se concluye que el porcentaje de degradación de los hidrocarburos es mayor utilizando ambos tipos de microorganismos, dado el mayor crecimiento de microorganismos y actividad de enzimas.

De acuerdo con FENGMEI, Li. et al. (2016), argumenta en su investigación titulada Aislamiento y caracterización de bacterias degradantes de hidrocarburos aromáticos policíclicos pesados adaptadas a condiciones electrocinéticas, tuvo como objetivo obtener bacterias degradantes de HAP pesadas adaptadas a condiciones electrocinéticas. Se baso en la degradación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) capaces de crecer en condiciones electrocinéticas utilizando un procedimiento de aclimatación y enriquecimiento ajustado basado en suelo contaminado con HAP pesados en presencia de un campo eléctrico. La población de estudio fue por parte de la muestra suelo contaminado con HAP pesados y un campo eléctrico, y el muestreo suelo limpio contaminado artificialmente con PAH. Se utilizo el autoclavado para revenir la actividad de los microorganismos autóctonos. Los principales resultados mostraron que las cepas PB4 (*Pseudomonas fluorescens*) y FB6 (*Kocuria* sp.) Eran los degradadores de PAH pesados más eficientes en condiciones electrocinéticas. Se concluye que las cepas *P. fluorescens* y *Kocuria* sp. podría degradar de manera eficiente los HAP pesados en condiciones electrocinéticas y podría utilizarse para la electrobiorremediación de suelos contaminados con HAP, especialmente si el suelo está contaminado con HAP pesados.

Como expresa HACK, Norman et al. (2015), considera en su

investigación titulada Biodegradación de fenol, ácido salicílico, ácido bencenosulfónico e iomeprol por *Pseudomonas fluorescens* en la franja capilar, tuvo como objetivo medir el grado específico de biodegradación de los compuestos modelo. Se basó en los experimentos por lotes para investigar los fenómenos específicos que conducen a la transformación de compuestos modelo. La población de estudio fue por parte de la muestra una cepa microbiana aeróbica de *P. fluorescens* aislada de la leche cruda., y el muestreo fueron cepas incubadas en matraces erlenmeyer. Se utilizó tres enfoques experimentales: Experimentos por lotes, en columnas estáticas y en una celda de flujo continuo. Los principales resultados mostraron que las cepas PB4 (*Pseudomonas fluorescens*) y FB6 (*Kocuria* sp) eran los degradadores de PAH pesados más eficientes en condiciones electrocinéticas. Se concluye que las cepas de *P. fluorescens* y *Kocuria* sp. podría degradar de manera eficiente los HAP pesados en condiciones electrocinéticas y podría utilizarse para la electrobiorremediación de suelos contaminados con HAP, especialmente si el suelo está contaminado con HAP pesados.

Como lo hace notar GARRIDO-SANZ, D. et al. (2016), señala en su investigación titulada Diversidad genómica y genética dentro del complejo *Pseudomonas fluorescens*, tuvo como objetivo aportar información apta para estudios genómicos que son importantes para entender la diversidad genómica que presentan las cepas de este complejo *P. fluorescens*. Se basó que las *P. fluorescens* son promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) con aplicaciones potenciales en biocontrol y biofertilización. La población de estudio fue por parte de la muestra Los genomas se descargaron del servidor FTP del NCBI., y en el muestreo se utilizaron cuatro métodos diferentes para la reconstrucción de filogenias de genomas completo. Los instrumentos empleados para la obtención de los genomas de las *P. fluorescens* fueron mediante conjuntos de datos, filogenias de genoma completo. Los principales resultados mostraron la identificación y el análisis del genoma específico del grupo y la selección de caracteres distintivos revelaron una distribución filogenómica de rasgos entre los grupos que proporcionaron información sobre las aplicaciones de biocontrol y biorremediación. Se concluye que cada uno de estos grupos está formado por varias especies, y el uso del estándar de 70% de DDH, ya sea en su forma física

o digital, probablemente conducirá a la descripción de cientos de especies adicionales dentro del complejo.

Con lo que corresponde a los alcances teóricos presentes en la investigación para conocimiento previo y que servirán de sustento para la elaboración del proyecto.

La biorremediación según Iturbe (2010), menciona que es una técnica para descontaminar los suelos que han sido impactados de una manera práctica a comparación de las técnicas tradicionales, en las cuales se dan por el uso de microorganismos existentes en el mismo suelo o existentes en otras áreas, así como el subsuelo. Por consiguiente, el suelo y el subsuelo están divididos por

materia orgánica, inorgánica, aire, agua, y microorganismos. Por otro lado, la biorremediación en estos últimos años ha tomado un papel muy importante como alternativa eficiente para la remediación de aquellos agentes contaminantes en el suelo y agua.

La biorremediación permite disminuir los residuos contaminantes significativos presentes en el entorno ambiental, por lo que se puede aplicar para descontaminar terrenos o cuerpos hídricos contaminados, dado que su aplicación es muy amplia, considerándose un método eficaz para la recuperación de ecosistemas. (Viñas, 2005)

Algunos factores que afectan la biorremediación se dan por mezcla compuesta de hidrocarburos presentes en el suelo, depende de diferentes factores los cuales se pueden clasificar en diferentes tipos tales como: físicos, químicos, microbiológicos, medio ambientales.

Los factores medioambientales son de suma importancia ya que ellos proporcionan ambientes óptimos para que los microorganismos puedan desarrollarse eficientemente y así llevar a cabo el proceso de recuperación del suelo, tal como lo menciona Colin (2001). Así mismo la variación de los factores climáticos hace que los microorganismos sean muy sensitivos, la temperatura es uno de ellos que les afecta mucho, otro de los factores es el pH, la disponibilidad de nutrientes, el oxígeno y la humedad.

La biorremediación presenta diversos tipos como la In Situ, la cual es un tipo de tratamiento adecuado para la descontaminación de suelos por sustratos, dado que no es necesario hacer una remoción del suelo contaminado, pero que se debe tener en cuenta los impactos ambientales que se podrían generar, así como también los costos operativos ante otros tipos de tratamientos, según Suarez (2013).

Además, se debe tener presente el acceso a la zona a descontaminar, dado que se tienen que proveer al suelo oxígeno y nutrientes, asimismo determinar el porcentaje de tratamiento, también es necesario determinar la velocidad del proceso, el porcentaje del tratamiento y el riesgo a la propagación de los sustratos en su entorno. Por lo tanto, la recuperación de suelos In Situ, es decir en el lugar de la contaminación, se puede dividir en dos subtipos: el primero es el tratamiento de compuestos volátiles y el segundo tratamiento para semivolátiles y no volátiles. Por otro lado, la técnica de biorremediación Ex Situ, presenta tres tratamientos que se tienen en cuenta como los procedimientos que se llevan a cabo fuera del lugar donde está la contaminación los cuales estos tres son: landfarming, biopilas y biorreactor.

Estos métodos son viables dado su consistencia, la oposición de ambos tratamientos presenta una gran distinción dado que la In Situ presenta un sistema de aireación, mientras que el landfarming solo trata capas de suelo no muy profundas, por otro lado, en las biopilas se hace uso de grandes apilamientos de material degradable, como lo menciona Suarez (2013). En el tratamiento biorreactor se extrae todo el suelo contaminado y se dispone en un reactor para su posterior tratamiento, presenta una característica muy peculiar dado que el suelo contaminado se suspende en un medio acuoso, es decir este procedimiento se maneja bajo condiciones de saturación de agua.

La biodegradación de Hidrocarburos se define como la capacidad de los agentes biológicos de remover los hidrocarburos presentes en un lugar contaminado con altas concentraciones de contaminantes, según (López, 2012).

La biodegradación de hidrocarburos es amplia, depende de muchos componentes como la mezcla de hidrocarburos, factores ambientales, así como

la actividad de la comunidad microbiana. Según investigaciones la tasa de degradación de los hidrocarburos saturados es alta, seguido de los aromáticos livianos, mientras que los hidrocarburos aromáticos presentan tasas de descomposición muy bajas.

Los efectos ecotóxicos de los subproductos derivados de hidrocarburos (fluidos hidráulicos, combustibles, aceites, lubricantes, asfaltos, ceras), presentan características muy graves para todos los niveles de organización biológica: empezando desde los componentes subcelulares llegando hasta altos niveles del ecosistema.

La descomposición de enzimas de los productos naturales como celulosa, lignina y otros lípidos se asimila a la descomposición de ciertos contaminantes sean sintéticos o naturales, mencionado lo anterior es de suma importancia la eliminación de estos contaminantes(hidrocarburos) con métodos eficaces como la biorremediación.

La aplicación de la pseudomonas en la biorremediación consiste en la limpieza de petróleo mediante las bacterias Pseudomonas, ya que han demostrado ser una alternativa ecológica por sus propiedades de convertir los hidrocarburos en un estado inocuo, como expresa (Lujan, 2019) .Esto dado que presentan una alta rentabilidad y efectividad para restaurar sitios contaminados con hidrocarburos como el petróleo y transformarlos en subproductos como son el dióxido de carbono y agua, los cuales ya no presentan un riesgo ambiental al ecosistema en el que se desarrollan, debido a que el sustrato(contaminante) logra degradarse hasta eliminarse o hasta encontrarse en un rango de limite aceptable por los seres vivos en el cual ya no genere ninguna afectación negativa al medio en el que se encuentre.

Las bacterias más comunes que son encontradas en los suelos contaminados por hidrocarburos pertenecen al género Pseudomonas, Flavobacterium ,Arthrobacter, Acinetobacter, Nocardia, Achromobacter, Brevibacterium, Mycobacterium, Vibrio, Corynebacterium, Micrococcus, a juicio de (Mendoza, 2018).

Estas bacterias son resistentes a los contaminantes y pueden sobrevivir en el área contaminada por diversos factores ,como se alimentan del sustrato para sobrevivir y pueden remediarlo de manera natural, pero esto es un proceso a largo plazo de manera que no interviene el hombre, por lo que es necesaria

intervenir con diferentes técnicas que puedan reducir este tiempo adicionándole nutrientes y las propiedades adecuadas a los microorganismos para que puedan desarrollarse correctamente cumpliendo su principal objetivo que es degradar el sustrato. (Buendía, 2012)

Esta bacteria que es materia de estudio presenta una gran capacidad biorremediadora y ayuda a que en sitios que se encuentran concentraciones superiores a los límites permisibles establecidos no presenten perjuicios negativos para el biotopo y biocenosis, por lo que busca revertir el daño eliminando el sustrato de forma natural. Dentro del grupo de bacterias utilizadas para la biorremediación se encuentran las *Pseudomonas* las cuales destacan por su capacidad degradativa de contaminantes específicos debido a que estos generan surfactantes que reducen la tensión superficial de las sustancias, como afirma Pérez (2018).

Lo que presenta una ventaja el uso de las *Pseudomonas* para degradar contaminantes como el petróleo ,dado que este género de bacterias son los microorganismos que más se aíslan en la fase de degradación de los hidrocarburos totales, para tener un panorama más claro del proceso de remediación es importante tener conocimiento de la composición del tipo de contaminante, el entorno ambiental en el cual se encuentra el contaminante ,de igual manera las propiedades y fisiología de la bacteria ante el sustrato a estudiar. (Viñas, 2005)

El género de la familia *Pseudomonas* es el grupo más variado en lo que respecta a bacterias, y ecológicamente debido a las propiedades que presentan a diferencia de las demás variedades. Dado que las exigencias nutricionales de la familia *Pseudomonas* no son muy complejas, se ha descubierto que están presentes en prácticamente todo tipo de hábitat natural y tienen a predominar ante los otros grupos de microorganismos, como lo hace notar (Mayz, 2017). La biodisponibilidad de la bacteria *Pseudomonas* ante el sustrato beneficia el proceso de biorremediación hace más alto del crecimiento de los microorganismos, como plantea Pérez (2018).

Este género en otras especies presento eficientes resultados en la recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos de petróleo precisando resultado de 90% para hidrocarburos de 10 carbonos y 60% para hidrocarburos de 20 carbonos.

Los biosurfactantes son los surfactantes de la misma bacteria es decir al presentar esta propiedad se convierten en una ventaja porque mejoran la biodisponibilidad por lo que al entrar en contacto la bacteria con el sustrato este presenta una mayor capacidad degradativa debido al crecimiento acelerado de los microorganismos por lo cual mayor es la probabilidad de remediar y restaurar el sitio contaminado.

La *Pseudomonas fluorescens* es un bacilo gran negativo que pertenece a la familia *Pseudomonas*, orden pseudomonadales, clase gamma proteobacteria, y genero *Pseudomonas*, se forma de bacilos curvos o rectos con flagelación polar, como afirma (Hernández, 2017). La temperatura adecuada para su crecimiento optimo bordea de 25 a 30°, aunque se puede desarrollar entre los 5 a 42°C, no se desarrolla de manera óptima en condiciones acidas menores a 4.5 pH, su metabolismo es muy versátil por lo que se le puede encontrar fácilmente en el agua o en el suelo, pueden eliminar sustratos y dar como resultados moléculas de CO<sub>2</sub> y agua.

La *pseudomona aeruginosa* en la actualidad viene una alternativa muy viable de aplicación, debido a los diversos aspectos beneficiosos que presenta el uso de esta cepa para la biorremediación, es muy favorable para la recuperación de lugares contaminados, como plantea Trujillo (2012), además el autor menciona que son microorganismos más eficientes y adaptables ante cualquier tipo de contaminante.

La adaptación y resistencia de la bacteria *Pseudomonas* se da debido a que presenta un mecanismo muy similar a lo que hacen los antibióticos que es la resistencia mediante la impermeabilidad el cual presenta una base externa de baja permeabilidad y un sistema activo de resistencia a los antimicrobianos. Así como también nos menciona Mendoza (2015), el cual difiere que la especie *Pseudomonas* es una opción viable dado que esta cepa en la biorremediación presenta microorganismos más específicos para lograr la degradación de la contaminación y es adaptable a los diferentes contaminantes.

La restauración de suelos mediante la biorremediación fundamenta que los hidrocarburos son un recurso fundamental a nivel mundial, estipulan una actividad economía de suma importancia dado que son la materia prima para diversos usos del hombre día a día como la fabricación de plásticos, lubricantes, generación de energía, transporte, etc. Por ello el uso de hidrocarburos ha



cochado una importancia significativa en las últimas décadas, no por los beneficios que estos generan, sino por los efectos negativos que traen consigo una incorrecta manipulación, los cuales repercuten enormemente en los ecosistemas afectando a los principales cuerpos de vida de la tierra que son el suelo y agua, por consiguiente, a la flora, fauna y seres vivos los cuales se desarrollan en él.

Esto genera un perjuicio grave de contaminación al medio natural, estos derrames se dan por diversas formas como fuga de depósitos, enterramiento de residuos que contengan hidrocarburos, mala manipulación de derivados de hidrocarburos en la industria, y fuga de depósitos, dicho con palabras de Alonso (2012).

Este último es el que más ha cobrado importancia en los últimos años generando una cantidad excesiva de derrames en la selva peruana, son las fugas de depósitos por los conductos que transporta este recurso denominado también como el "oro negro". Según los datos del Congreso de la república (2017), menciona que en los últimos 8 años se han generado una cifra exorbitante de 36 derrames con altas concentraciones de hidrocarburos en la amazonia peruana, sin contar otros que se han generado de igual manera, pero a una escala más inferior que estos mencionados.

Las ventajas es que restauran el suelo progresivamente, no se hace uso de métodos que podrían generar efectos secundarios, más por el contrario se aprovecha los recursos presentes en el suelo con el objetivo de devolver las propiedades físicas y químicas al suelo, degradando los sustratos.

La biorremediación es un solución muy atractiva y beneficiosa, así como también prometedora a comparación de las técnicas tradicionales para remediación de contaminantes presentes en el ambiente, como las técnicas físico-químicas, tal y como refiere Garzón (2017). Es por ello que la biorremediación se convierte en un método potencial para contribuir al desarrollo sostenible del ambiente, porque dentro de las distintas tecnologías de sostenibilidad, la biorremediación a través de la intervención biológica de las bacterias logra una mitigación e inclusive la eliminación de los efectos nocivos que causan los hidrocarburos de petróleo.

En este caso ayuda a la solución de problemas de contaminación al suelo y se considera una buena alternativa a cara de la solución de la

descontaminación de suelos contaminados por hidrocarburos, así como las ventajas que presenta consigo aplicarla. La biorremediación como nos menciona Buendía (2012), es un método que nos permite recuperar áreas contaminadas por sustratos potencialmente peligrosos, se puede aplicar para descontaminar suelos, cuerpos hídricos, etc. Su esfera de aplicación es sumamente amplia es necesario considerar en cada uno de los estados de materia, sean remediación de sedimentos o lodos(suelo), en aguas superficiales residuales(liquido), y en emisiones de contaminantes industriales (gases).

La contaminación suelos contaminados por hidrocarburos se ha producido de manera frecuente en los últimos años en el Perú, el mayor causante de estos impactos negativos al recurso suelo es la actividad humana, los cuales por diversos factores pueden afectar de forma generalizada y dar una serie de cambios de las propiedades del suelo, es por ello la necesidad de buscar métodos de restauración para devolver a su estado inicial las propiedades, es decir restaurándolas, pero sin afectar otros factores, es por eso que aquí cobra un papel importante el método de la "biorremediación", ya que no genera cambios negativos al aplicar el tratamiento debido a su uso netamente de seres vivos que son los microorganismos.

A comparación con otras tecnologías de recuperación, la biorremediación como método presenta aspectos positivos como los costes bajos, provoca un daño mínimo en la intrusión en el área contaminada, como consecuencia el daño ecológico es casi nulo cuando se aplica las técnicas en el proceso de eliminación de los productos contaminantes, como lo refiere Herrero (2016).

Diversas pruebas y estudios a nivel laboratorio han demostrar la gran capacidad de los microorganismos remediadores para la biodegradación de los sustratos del suelo, su éxito depende de las condiciones en las cuales se encuentren tanto físicas y químicas, manteniendo un ritmo estable que no generan ningún cambio no deseado en la aplicación del método. Adicionalmente, la biorremediación aplicada a la descontaminación de suelos contaminados por hidrocarburos puede ser integradas mediante otros métodos complementarios para así de reducir o descomponer de una forma más rápida o eficaz el sustrato del suelo.

El suelo es una capa superficial que tiene la tierra y es el medio en el cual crecen las plantas, así mismo la función que cumple es la de proporcionar nutrientes importantes para el crecimiento de vegetales y almacenar agua de las lluvias dando a las plantas.

Se habla de contaminación cuando en un entorno ingresan elementos o sustancias que normalmente no deberían estar en él y que afectan el equilibrio del ecosistema.

Se caracteriza por la contaminación ambiental a la presencia de cualquier tipo de agente como: físico, químico, biológico. Así mismo se da por la acción del ser humano que introduce contaminantes al medio ambiente por encima de las cantidades o concentraciones establecidas.

Se define como la presencia de algún contaminante químico o físico dentro del suelo, en altas concentraciones de lo establecido, por lo consiguiente que tiene efectos adversos sobre cualquier organismo al que no esté destinado.

Compete al estudio de los microorganismos y sus actividades. Esto concierne a su forma, estructura, fisiología, reproducción, metabolismo e identificación.

Las bacterias son organismos unicelulares microscópicos, sin núcleo ni clorofila, que pueden presentarse desnudas o con una cápsula, aisladas o en grupos y que pueden tener cilios o flagelos.

La mayoría de las bacterias pueden clasificarse en tres categorías de acuerdo a su respuesta al oxígeno.

-Aerobias: crecen en presencia de oxígeno y lo requiere para su continuo crecimiento y existencia.

-Anaerobias: crecen sin la presencia de oxígeno

-Facultativas: generalmente crecen en presencia de oxígeno, aunque puede hacerlo sin él.

Las bacterias gramnegativas se clasifican por el color que adquieren después de aplicarles un proceso químico denominado tinción de Gram ya que las bacterias gramnegativas se tiñen de rojo cuando se utiliza este proceso.

Las bacterias grampositivas y gramnegativas se tiñen de forma distinta porque sus paredes celulares son diferentes. También causan diferentes tipos de infecciones.

La *P. fluorescens* es una de las especies más estudiadas, puesto que produce metabolitos como sideróforos, antibióticos, compuestos volátiles,

enzimas y fitohormonas, Su actividad enzimática las convierte en un grupo de microorganismos importante, debido a que son responsables de la degradación aeróbica de muchos compuestos en diversos ecosistemas.

Así mismo esta bacteria tiene una gran capacidad para solubilidad, así mismo esta bacteria entre todas las demás, se caracteriza por ser una Gran Negativa, otra de las características que más destaca es la producción de sustancias estimuladoras del crecimiento de las plantas que viven en contacto con ellas.

La biorremediación es una tecnología que es utilizada mediante el potencial metabólico que tienen los microorganismos, como lo son las bacterias, así mismo los hongos y las levaduras, para con su ayuda transformar contaminantes en compuestos más simples y dar como su objetivo la reducción de estos contaminantes.

Mientras que los tratamientos físicos y de igual manera los químicos están basados en transformar los contaminantes en medio gaseoso, líquido y sólido, en la biorremediación se transforma poco la contaminación de un medio a otro, por lo que es económica y muy viable para su uso en tratamientos.

Los hidrocarburos son compuestos orgánicos formados únicamente por átomos de carbono hidrogeno. La estructura de dichos hidrocarburos consiste en general de átomos de carbono lo que se unen a átomos de hidrogeno.

Así mismo estos compuestos se encuentran en distintos estados de la materia, como es el líquido, sólidos, y gaseoso, ya que los hidrocarburos se derivan de sustancias orgánicas, como es la de combustible fósil. Estos compuestos no suelen ser biodegradables, su composición es hidrofóbicos, lo que esto hace que sea insoluble al agua.

Se considera a la cantidad de un líquido o de una forma por partículas que llega a derramarse de un medio a otro.

Generalmente los derrames de petróleo ocurren debido a accidentes cuando las personas que la manejan cometen errores o los equipos tiene fallas, o estos también son causados por desastres naturales, ya que estos tienen un efecto impactante en el medio ambiente.

Los derrames de petróleo también pueden afectar y tener impacto en la salud humana, estos efectos dependen de qué tipo de petróleo se derramó y en donde, como puede ser, mar, río, lago o el suelo. Cabe rescatar que los que

entran en contacto con este compuesto para su limpieza tienen un mayor riesgo de salud.

La yuca es considerada un cultivo tropical, y tiende a adaptarse a cualquier condición climática, su siempre se produce en numerosas cantidades ya que se utiliza para su comercialización, consumo propio. La yuca pertenece a la familia Euforbiaceae, subfamilia Crotonoideae y Manihotae. La yuca se divide en dos, las dulces y las amargas, en las amargas tiene mayor valor de HCN, lo cual poseen una mayor concentración de rendimiento y tiene un mayor grado de almidón, Las dulces tienen menor porción de HCN y son usadas mayormente para el consumo humano.

El Maíz (Choclo) desde su comienzo y aparición ha sido muy estudiado para las investigaciones científicas, ya que se tuvo en cuenta que esta planta tiene una resistencia a cambios de condiciones climáticas, por lo tanto, el clima adecuado para el perfecto desarrollo de este es un clima templado, pero se adapta a climas fríos y calurosos. Este maíz es usado como forraje, para la elaboración de muchos alimentos compuestos, productos farmacéuticos y tiene un uso industrial. así mismo el maíz a lo largo de su trayectoria se definió que tiene 50 variedades distintas, que se caracterizan por el color y tamaño del grano que llevan dentro. (Deras, 2017)

El término papa designa a especies del género Solanum L. La papa es un tubérculo considerado el tercer cultivo alimenticio más importante del mundo, por su aporte de calorías, alta producción que tiene y su fácil manejo a la hora de transportarlo. A la fecha tiene más de 4000 variedades, las papas que no se cultivan se conocen con el nombre de papas silvestres. La manera de crecimiento de la papa se da de manera subterránea, en su crecimiento alberga los nutrientes de la planta. (Roman, Hurtado, 2008)

Las papas cuentan con un alto grado de Vitamina C, fósforo, calcio, potasio y magnesio, los cuales resultan ser imprescindibles en la dieta humana. (Chavéz, 2008)

El frijol es una especie que tiene origen americano, Al frijol, se le conoce comúnmente con el nombre de frejol en la costa y sierra, y en la selva se le conoce como poroto, tienen una absorción de carbohidratos lenta y conlleva a un beneficio para la salud, contiene ácido fólico y tiene una gran fuente de fibra.

Las habas son del género legumbres, tiene el mayor número de proteínas del grupo de vegetales. El término hace referencia a una planta herbácea que pertenece al grupo familiar de las papilionáceas y a la semilla y al fruto que da esta especie vegetal, los cuales son comestibles.

La arveja es una leguminosa considerada como hortaliza o legumbre, herbácea de hábito rastrero o trepador que se desarrolla en climas templados y templados fríos; con un alto contenido de proteína, se consume en forma fresca, enlatada y como grano.

La temperatura, es el grado o nivel térmico interno de un determinado cuerpo, o del medio ambiente con el que interactúa, se encarga de determinar si se encuentran en equilibrio térmico, la unidad de medida del Sistema Internacional de Unidades (SI) es la de Kelvin que la mayoría de los científicos la usan.

Tipos de escalas

- Escala de Celsius, la unidad de medida es en grados centígrados (°C)
- Escala de Kelvin, la unidad de medida es el Kelvin (°K)
- Escala de Fahrenheit, la unidad de medida es (°F)
- Escala de Rankine, la unidad de medida es (°R)

El potencial de Hidrógeno es la medida de alcalinidad y la acidez de una disolución, con el pH se da paso a la determinación de hidrogeniones, ya que el hidrogenión es un ion de hidrógeno positivo. El pH comúnmente se mide, en una escala de 1 a 14. El uno sería el valor más ácido, el 14 el valor más alcalino, y donde 7 es el valor neutro, normalmente se usan 2 tipos de instrumentos para medir el pH (El pH-Metro y reactivos de pH)

La conductividad eléctrica es una cantidad física que describe la capacidad de un cuerpo para permitir el paso de la corriente eléctrica. Es decir, representa la facilidad por la que los electrones pueden variar en la sustancia, una característica importante también es que la conductividad varía con la temperatura.

El potencial Redox es una medida efectiva de medir la energía química de oxidación -reducción mediante un electrodo, en estas se dan fenómenos de transferencia de electrones. En resumen, en un potencial redox existen

sustancias químicas que actúan como donadores de electrones (agentes reductores) y otras que lo atrapan (agentes oxidantes).

El carbono total proporciona coloides de alta capacidad de intercambio catiónico. Su efecto en las propiedades físicas se manifiesta mediante la modificación de la estructura y la distribución del espacio poroso del suelo.

Además, al modificar la acidez y la alcalinidad hacia valores cercanos a la neutralidad, el carbono total aumenta la solubilidad de varios nutrientes.

La materia orgánica viene a ser la primera capa del suelo, y está compuesta por la descomposición de seres vivos. La materia orgánica del suelo contiene cerca del 5% de N total, pero también contiene otros elementos esenciales para las plantas, tales como fósforo, magnesio, calcio, azufre y micronutrientes.

Estos restos de descomposición pueden ser de residuos de vegetación, animales muertos, etc.

Es un elemento que da calidad y precocidad a las plantas, tiene a prolongar el crecimiento vegetal, también es un acumulador de energía y combustible para todas las actividades bioquímicas de las células vivientes.

El fósforo es un elemento fundamental para la nutrición de las plantas y es un elemento poco móvil.

Existen naturalmente en el suelo y se forman como producto final de la descomposición de productos animales y vegetales. La forma en que las plantas asimilan el nitrógeno es mediante los nitratos y es usado por las plantas para su elemento nutritivo principal.

El nitrógeno es un elemento esencial considerado un macronutriente para los seres vivos como para el desarrollo de las plantas, y es esencial en el proceso de la fotosíntesis y en la síntesis de proteínas. El nitrógeno forma parte de las proteínas, enzimas y clorofila, dado que es un componente más común para el crecimiento de las plantas y en la nutrición del hombre.

La Capacidad de Intercambio Catiónico, CIC, es un indicador que hace referencia a la cantidad de cationes que pueden ser retenidos por un suelo dado un determinado pH, y que pueden ser intercambiados por otros contenidos en la solución del suelo. Nos sirve para saber la capacidad de la tierra para retener o intercambiar nutrientes minerales, además es un indicador directo de la capacidad amortiguadora de los suelos.

La densidad real del suelo es la relación que existe entre el peso de éste, en seco ( $P_{ss}$ ) y el volumen real o sea el volumen de sus partículas ( $V_p$ ). Usualmente se expresa en  $g/cm^3$ . La densidad relativa o aparente expresa la relación entre la densidad de una sustancia y una densidad de referencia, resultando una magnitud adimensional y, por tanto, sin unidades.

Se llama a la composición mineral de muestra de suelo, definida por las proporciones relativas de sus separados individuales en base a masa (arena, limo, arcilla).

La estructura del suelo afecta directamente la aireación, el movimiento del agua en el suelo, la conducción térmica, el crecimiento radicular y la resistencia a la erosión.

Las tablas Munsell son un sistema de notación de color basado en una serie de parámetros que nos permiten obtener una gama de colores que varían en función del matiz, brillo y croma. La determinación del color del suelo se realiza por la comparación de éste con los diferentes patrones de color establecidos en la tabla Munsell.

Se usa para determinar el tipo granulométrico o clase textural de un suelo, en el interior del triángulo está dividido por casillas, cada una representa una clase textural. Este triángulo se caracteriza porque está caracterizado por las proporciones de uno o de dos elementos dominantes; suelos arenosos, limosos, arcillosos, arcillosos arenosos, etc.

Se refiere al porcentaje del volumen del suelo no ocupado por sólidos. Dentro del espacio poroso se pueden distinguir macroporos y microporos donde agua, nutrientes, aire y gases pueden circular o retenerse.

Es una propiedad física del suelo describe la capacidad de un suelo para transmitir agua e indirectamente oxígeno hacia el perfil del suelo.

Es la medición de los granos de una formación sedimentaria y el cálculo de la abundancia de los correspondientes a cada uno de los tamaños previstos por una escala granulométrica.

La humedad o contenido de humedad de un suelo es la relación, expresada como porcentaje, del peso de agua en una masa dada de suelo, al peso de las partículas sólidas. (Herrero, 2016)



### **III.- METODOLOGÍA**

### **3.1.- Tipo y diseño de investigación**

El tipo de investigación es aplicada, como expresa Rojas (2015, p.7) quien indica que se tiene el problema definido el cual mediante la investigación y conocimientos del investigador se va determinar las respuestas a las preguntas específicas. El trabajo de investigación presenta un enfoque cuantitativo porque recoge, procesa y analiza datos numéricos sobre variables ya determinadas, como expresa Sarduy (2007, p.8).

El diseño es experimental porque consta de 2 variables, 1 independiente que manipula a la variable dependiente para comprobar las hipótesis causales, y poder registrar los resultados observados y establecer la relación causa—efecto, citando a Rojas (2015, p.7). Así como también se clasifica en experimental puro, dado que en el estudio se manipula la variable independiente (X) para analizar su efecto sobre la variable dependiente (Y), teniendo en cuenta a Sarduy (2007, p.8).

### **3.2.- Variables y Operacionalización**

La variable Independiente:

- Uso de la *Pseudomona Fluorescens*

La variable Dependiente:

- Biodegradación del petróleo en el suelo contaminado

#### **3.2.1.- Población**

La población está representada por un área de 1 Ha. de suelo contaminado por HTP de la hacienda Pangoasa, zona de Mazamari – Selva.

#### **3.2.2.- Muestra**

La muestra será tomada en un área de 20m<sup>2</sup> de la hacienda Pangosa, donde de acuerdo a la guía de toma de muestra de suelo DS 011-2017 – MINAM, se tomó 50kg de suelo contaminado por HTP.

### **3.2.3.- Muestreo**

El tipo de muestreo que se realizó fue de rejilla simple. Según (Otzen,2017) menciona que este método tiene la capacidad de garantizar que todos los componentes de la población blanco tienen la misma oportunidad de ser incluidos en la muestra extraída.

### **3.2.4.- Unidad de Análisis**

La unidad de análisis fue de 1 kilogramo de suelo contaminado de HTP para los 30 días de evaluación.

## **3.4.- Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

### **3.4.1.- Técnicas de la investigación**

La técnica empleada en el desarrollo de investigación fue la observación para poder determinar su grado de relación entre las variables dentro del tratamiento al suelo contaminado por hidrocarburos. (Colmenarejo, et. al, 2010, 4p.)

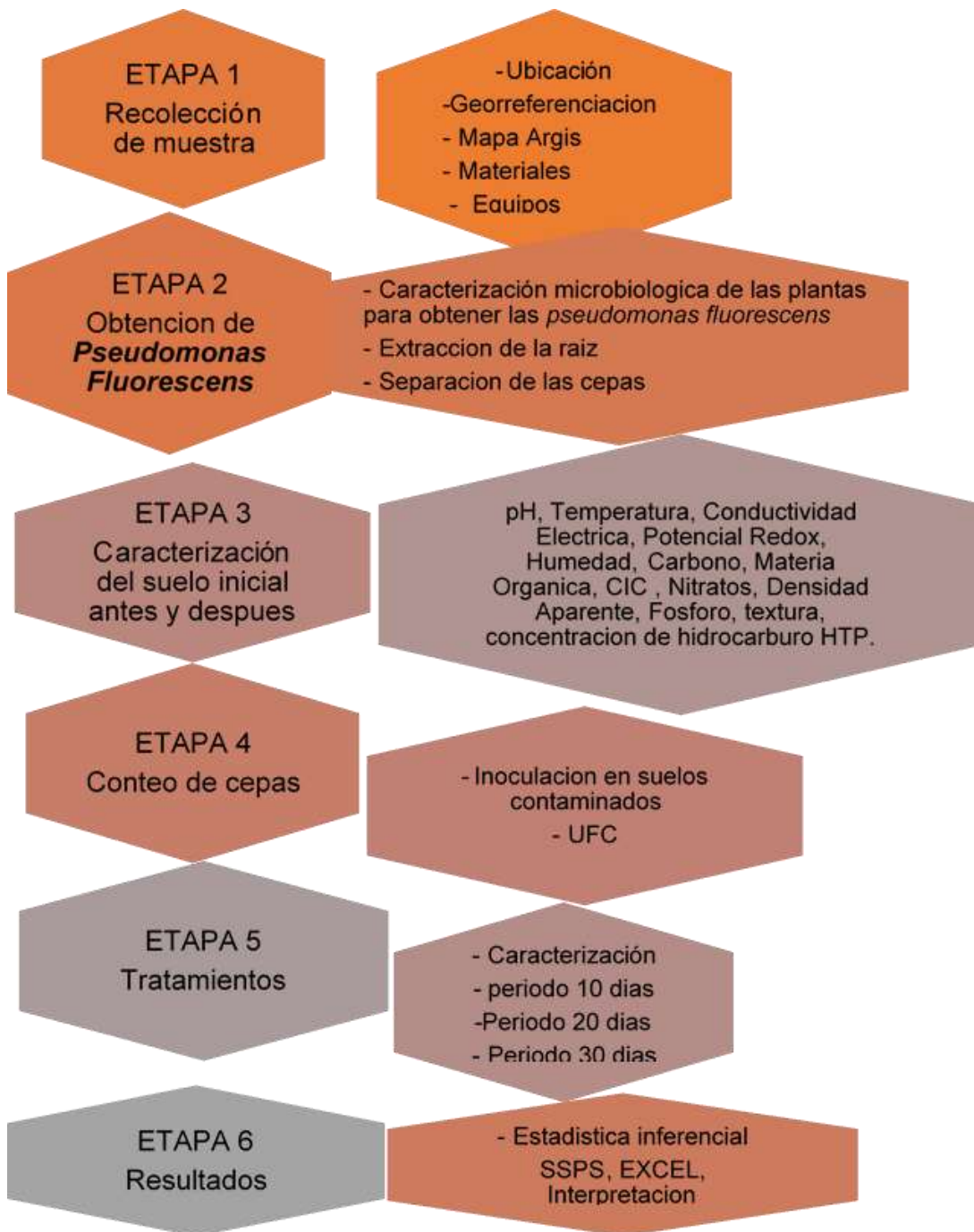
### **3.4.2.- Instrumentos de recolección de datos**

Los instrumentos nos sirvieron para recoger los diferentes datos de medición que se fueron obteniendo a través del proceso de biorremediación del suelo contaminado siendo los siguientes:

- 1.- Ficha de Ubicación
- 2.- Ficha de toma de muestra, materiales y método.
- 3.- Ficha de caracterización de plantas para obtener la *Pseudomonas Fluorescens*
- 4.- Ficha de caracterización del suelo contaminado, parámetros físicos y químicos
- 5.- Ficha del procedimiento de la biorremediación
- 6.- Ficha de resultados en todo el proceso del tratamiento.

### **III.I- Procedimiento**

Figura N° 1: Procedimiento de la investigación



Fuente: Elaboración propia

Figura N° 1: Se muestra el procedimiento en el cual estará basado la investigación a realizarse

## ETAPA 1: Recolección de la muestra

### Ubicación de la zona de muestreo

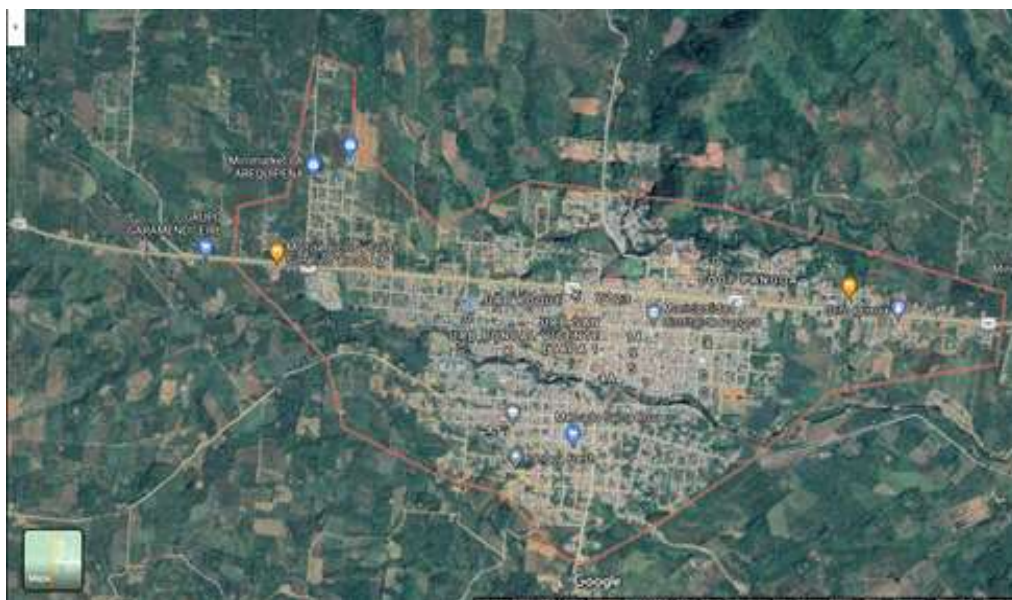
Para la recolección de la muestra se viajó hasta el lugar en donde se encuentra el área contaminada, distrito de Mazamari, provincia de Satipo, Departamento de Junín, se encuentra a una altitud de 676 msnm.

Así mismo cabe decir que el lugar de la toma de muestra está al costado de una ruta transitada donde pasan vehículos que son usados para el transporte y carga de las cosechas que se dan por esa zona, al lado de la parcela de suelo contaminado, había presencia de chacras siguiente, estas tenían las mismas características de nuestra muestra inicial, pero no tenían ningún sustrato que hiciera variar sus propiedades, (Ver Figura N°10)

### Georreferenciación:

Muestra	Coordenadas UTM – WG84	
RM-CHTP	X: 556397	Y: 8741527

**RM-CHTP:** Recolección de la muestra contaminada con HTP



**Figura 2:** Parcela Pangoasoa

### **Equipos y/o materiales:**

- 2 lampas
- 1 pico
- 1 picota
- 1 bolsa de cal
- Bolsas ciplot (herméticas)
- Gps
- 1 balanza
- 30 estacas o varillas de 30 cm c/u
- Wincha de 50 m

### **EPP's:**

- Respirador con filtro para vapores orgánicos.
- Chaleco con cintas reflectivas
- Casco de seguridad
- Lentes de seguridad
- Guantes de nitrilo
- Zapatos de seguridad

### **Protocolo de Bioseguridad Covid-19**

- Uso de Mascarilla y/o Respirador
- Lavado constante de la mano
- Uso de alcohol

### **ETAPA 2:** Obtención de las *Pseudomonas Fluorescens*

Caracterización microbiológicas de las plantas para obtener las *Pseudomonas Fluorescens*.

#### **Recolección de las plantas**

- **Ubicación**

Distrito: Santa Rosa de Quives - Lima.

El distrito de Santa Rosa de Quives es uno de los siete distritos que conforman la provincia de Canta en el departamento de Lima, bajo la administración del Gobierno Regional de Lima, Perú. Dentro de la división eclesiástica de la Iglesia Católica del Perú, pertenece a la Diócesis de Carabayllo. (Ver figura 3)

### Georreferenciación



Figura 3: Georreferenciación del lugar de estudio.

### **Caracterización de las plantas**

La caracterización, de las plantas de choclo, tomate, y alfalfa se realizaron tomando los datos macroscópicos de los mismos los que detallan en la tabla N°. 1

### **Extracción de las plantas del suelo Agrícola**

El extracto de las raíces: Las raíces obtenidas fueron de plantas de choclo, plantas alfalfa, y tomate estas fueron sacadas del suelo haciendo una excavación de 35 cm al perímetro de cada planta con la finalidad de no dañar sus raíces, siendo lavadas con sulfato de magnesio heptahidratado ( $Mg (SO_4) 7H_2O$ ) para colocar en un cooler frío en bolsas ciplot y conducirlo al laboratorio con la finalidad de acondicionarlo para su análisis microbiológico.



## Identificación de la bacteria *Pseudomona fluorescens*

En el laboratorio se machacaron las raíces en un mortero para luego verterlo a un matraz y en frascos de 1 litro agitarlos en un equipo orbital a 30 rpm con la finalidad de obtener un extracto, y poniéndolo a una concentración de  $10^{-1}$  agregando 100 ml de agua destilada para así poder realizar las diluciones múltiples a partir de esta concentración madre.

### Método de dilución tubos múltiples y siembra en placas Petri

**Primer paso:** Se realizó diluciones del cultivo, las que fueron sembradas en Agar Citrate Simon, siendo un medio de cultivo diferencial para identificar la presencia de *Pseudomonas*.

**Segundo paso:** Para las diluciones de tomo 1 ml de cultivo del extracto y se agregó a un tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada todo en condiciones estériles.

**Tercer paso:** Las diluciones fueron  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ , de donde se toma 1 ml de cada uno agitando la muestra.

**Cuarto paso:** Se prende el mechero bunsen para inocular la bacteria en cada tubo de manera continua, las que se sembraron con el asa de siembra en cada placa que contenía el AGAR preparado y solidificado en medios estériles, luego se envolvieron con papel Graf con las Petri invertidas las que se colocaron en la incubadora a una temperatura de 35 grados centígrados por 24 horas.

**Quinto paso:** Después de las 24 horas fueron evaluados por el método del conteo en el equipo de cuenta colonias y así poder verificar en donde encontraríamos las bacterias *Pseudomona fluorescens*,

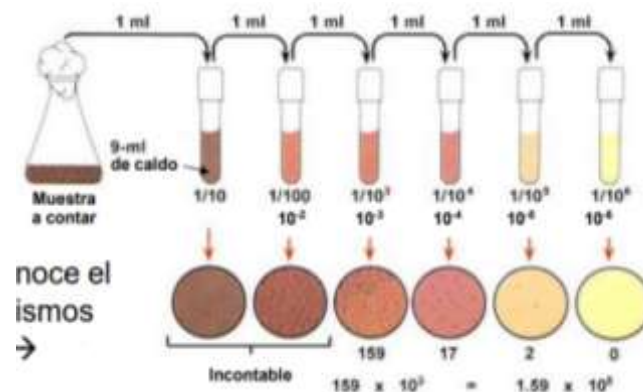


Figura 4: Método Dilución de Tubos Múltiple

## Identificación de las bacterias *Pseudomonas*.

Prueba microbiológica cualitativa para identificar a las gram negativas que son las bacterias *Pseudomonas*, método Tinción gram.

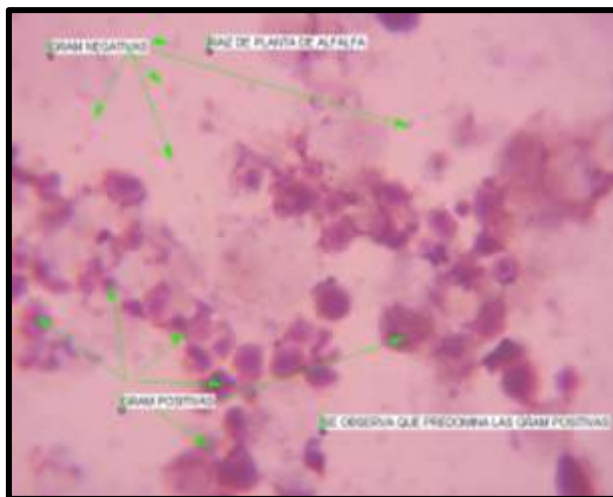


Figura 5: Tinción Gram de la raíz de la planta de alfalfa

La primera planta caracterizada fue la de alfalfa donde se pudo observar en el microscopio electrónico con el lente 100x con aceite de inmersión que las bacterias que se encontraban en esta raíz eran todas gram (+) por lo tanto sus características fueron descartadas porque en ella no habría presencia de *Pseudomonas* ya que estas son gram (-).

La segunda planta caracterizada por método cualitativo fue la planta de tomate, la que al observarlo en el microscopio electrónico nos dio como resultado que solo existían presencia de gram (+) por lo que fue descartado para el estudio de reducción de Hidrocarburos Totales (HTP). (Ver Figura 5).

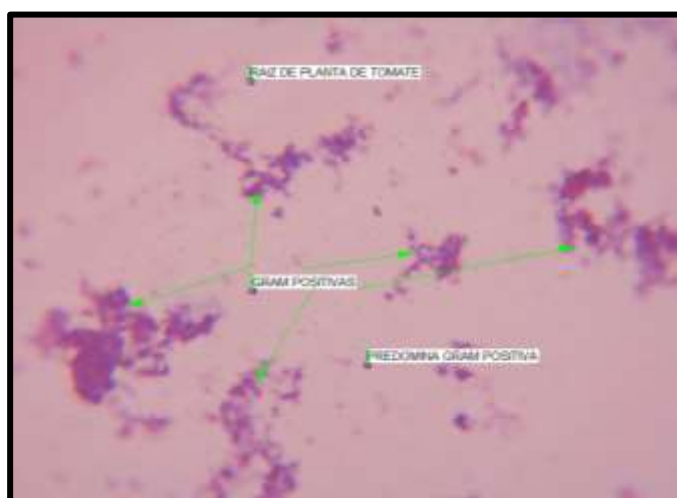


Figura 6: Raíz de planta de tomate se aprecia las gram (+)

La tercera planta caracterizada para poder utilizarlo en el estudio de esta investigación fue la planta de choclo, la que al ser observada en el microscopio electrónico (con certificado de calibración de empresa acreditada al inacal) se observó que las raíces de esta planta si contenían bacterias Pseudomonas ya que predominaban las gram (-). (Ver figura 6)

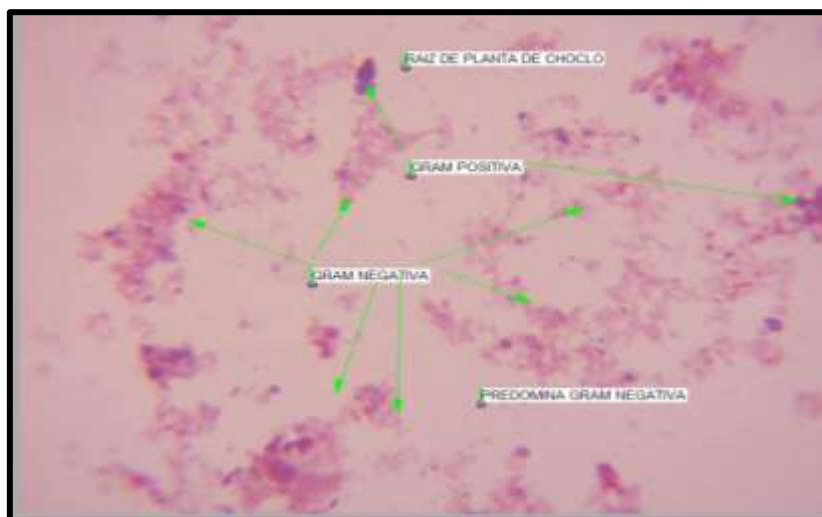


Figura 7: Planta de maíz predomina las gram (-)

### **Identificación de las bacterias pseudomonas por el método de filtración y sembrado en placas Petri**

Una vez identificado en la caracterización por tinción gram se procedió a realizar la prueba en Agar Citrate Simon que es diferencial solo para identificar pseudomonas.

#### **Procedimiento:**

Del extracto de las raíces de cada planta se tomó 100 mililitros de solución madre realizando las diluciones de tubos múltiples fueron sembrados y colocados en una incubadora a 36 °C por 24 horas y se evaluaron de la siguiente manera:

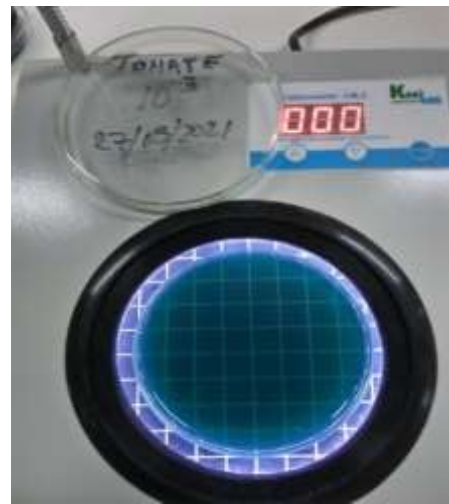


Figura 8: Presencia de bacterias Gram (+) en la planta de tomate

De acuerdo a la observación se pudo evidenciar la no presencia de bacterias *Pseudomonas* en las raíces de las plantas de tomate, por lo tanto, no se tomó en cuenta en la investigación.

Otra planta evaluada fue la alfalfa:

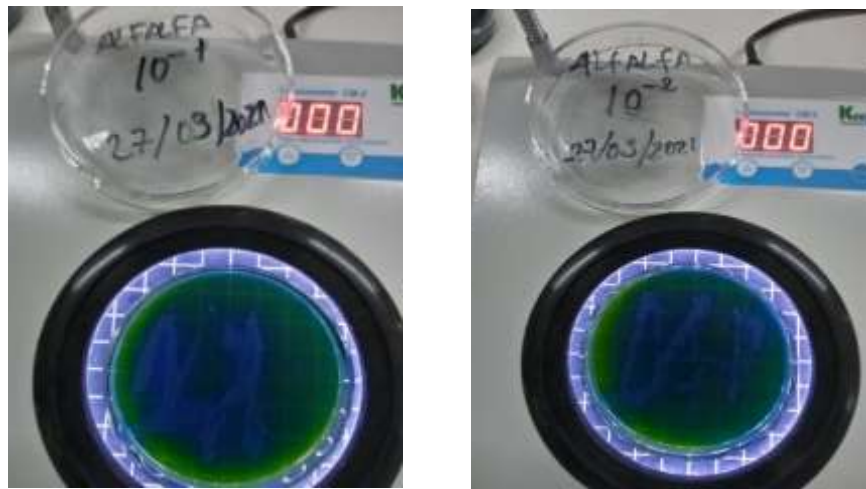


Figura 9: Presencia de bacterias Gram (+) en la planta alfalfa

En este análisis se pudo observar bacterias, pero no fueron *Pseudomonas*, porque cuando se realizó la tinción gram estas fueron positivas en el Agar Diferencial. (Ver Figura 9).

Finalmente se evaluó la planta de maíz(choclo)

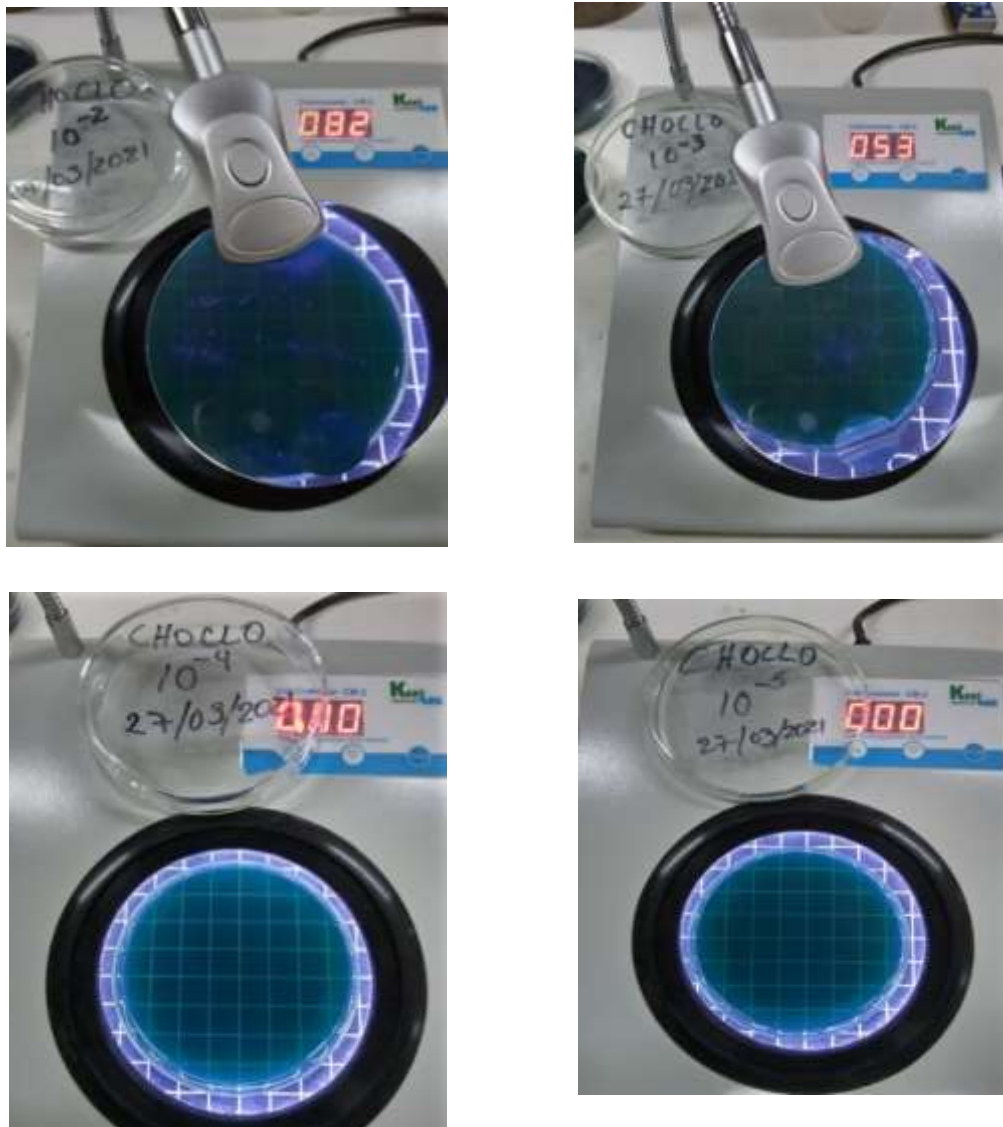


Figura 10: Planta de maíz predomina las gran (-)

En esta prueba si se observa presencia de Pseudomonas corroborando la prueba cualitativa de tinción gram realizada de manera preliminar.

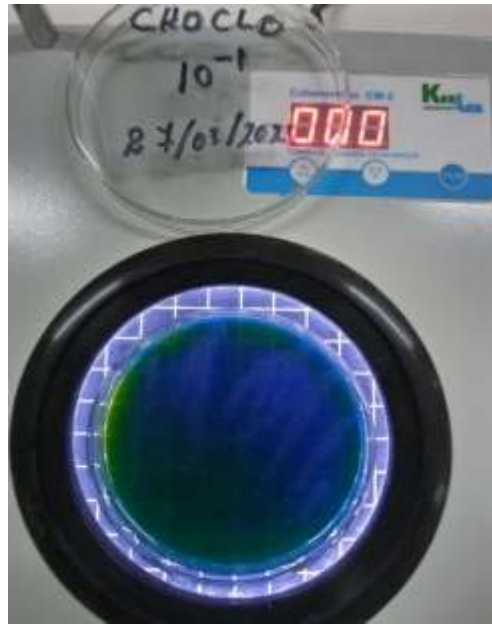
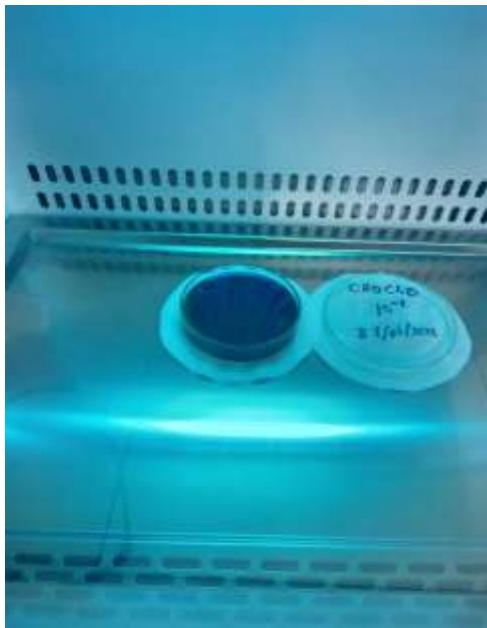


Figura 11: Planta de maíz predomina las gran (-)

### Identificando la *Pseudomona fluorescens*

La planta de maíz en su raíz si existe *Pseudomona fluorescens*, las que fueron identificadas en una cámara de flujo laminar con luz ultravioleta.



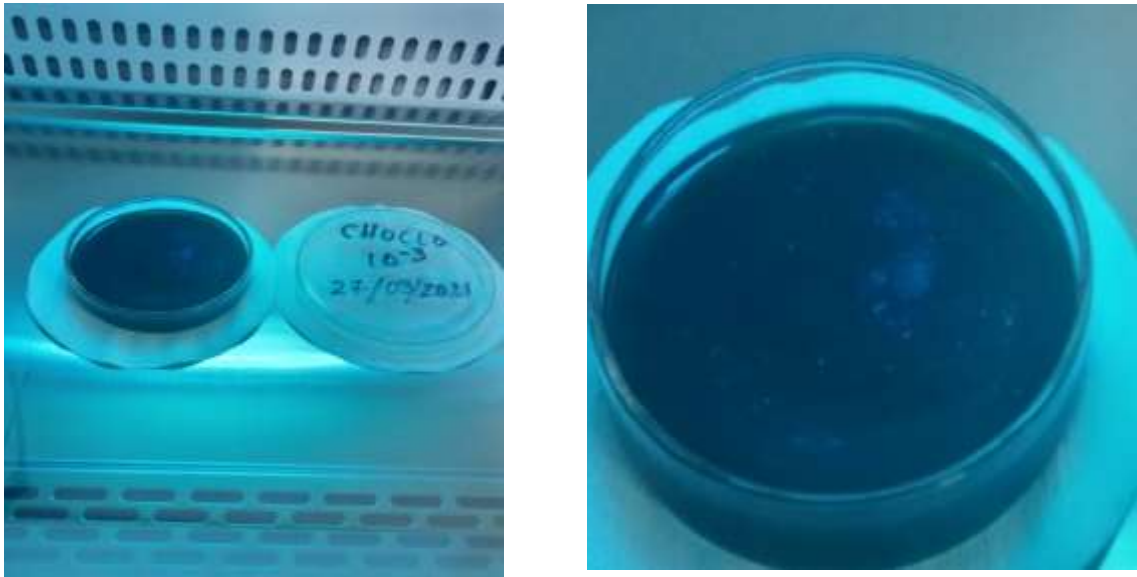


Figura 12: Presencia de *P. fluorescens* gram (-).

Las placas de las diluciones  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  su conteo fue cero, realizando el conteo solo en las placas representativas como fueron las placas  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ , no tomando en cuenta la  $10^{-1}$  porque tendríamos un margen de error muy alto, entonces el siguiente conteo de colonias fue utilizando la fórmula:



Figura 13: Agar Citrate Simons para identificar las Pseudomonas



## Técnica de Recuento con cuenta colonia

Donde finalizado el tiempo de incubación se realizó el recuento, tomando en cuenta las divisiones de los cuadrantes del equipo apreciándose de la siguiente manera:

- 1.- Cuadrante con alta presencia de colonias se denomina carga alta.
- 2.- Cuadrante con presencia media de colonias se denomina carga media.
- 3.- Cuadrante con poca presencia de colonias se denomina carga baja.

Las raíces evaluadas para identificar la *Pseudomona fluorescens* fueron raíces de planta de alfalfa, tomate y choclo los resultados. (Ver tabla N° 1)

Ecuación:

$$\text{N.º. Colonias} = \left[ \frac{(\text{CA} + \text{CM} + \text{CB})}{3} \right] * \text{Factor} \quad (1)$$

Dónde:

CA: Carga Alta

CM: Carga Media

CB: Carga baja

Factor: 65

## Aislamiento de bacteria *Pseudomona fluorescens*

Una vez realizado el conteo de las bacterias en las placas Petri entonces se procedió a un aislamiento para realizar una prueba de acondicionamiento con el petróleo que se iba a utilizar observando si existiera crecimiento de bacterias o no, está se realiza en un sembrado en placa Petri con Agar Cetramide diferencial para *Pseudomona fluorescens*. (Ver Figura N° 14).

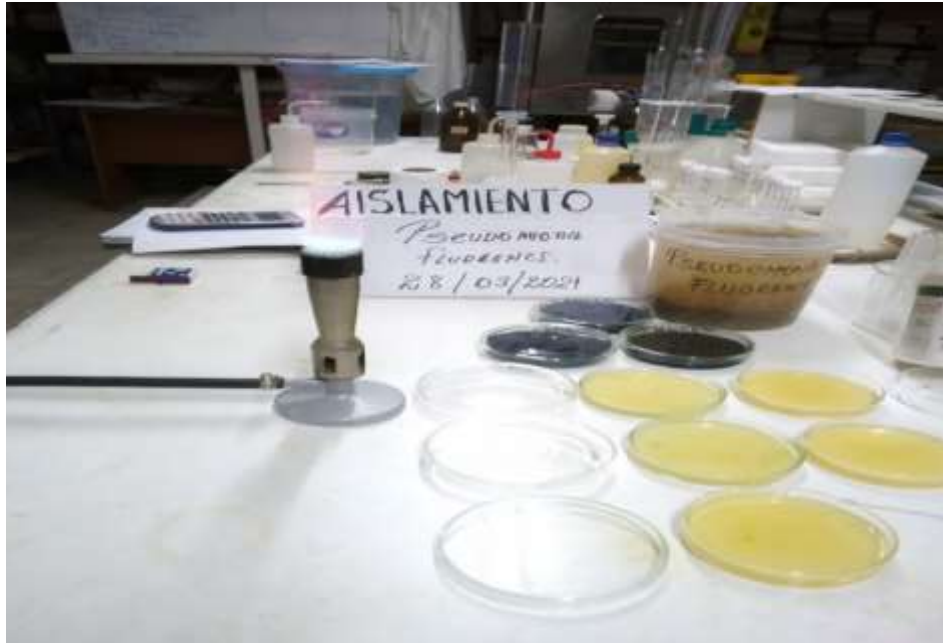


Figura 14: Agar Cetramide diferencial para *Pseudomonas fluorescens*.

Se observa sembrado de  $10^{-1}$  en aislamiento en estado estrictamente esterilizado.



Figura 15: Aislamiento de las bacterias en un medio esterilizado

Quedando listas para introducir a la incubadora a 35 °C por 24 horas estas son puestas en forma invertida para poder observar el crecimiento de las bacterias. (Ver Figura N° 16)



Figura 16: Siembra de las bacterias en el agar

Después de las 24 horas se pudo apreciar el crecimiento bacteriano de las *Pseudomonas fluorescens*. Para finalmente colocarlos en petróleo y observar su evolución las cuales resultaron positivas en su crecimiento las que serán evaluados después por espectrofotometría en su turbidez y absorbancia y

realizar la curva de crecimiento que se podrá ver en la reducción del hidrocarburo al tratar el suelo contaminado. (Ver Figura N° 16).



Figura 17: Presencia de *Pseudomonas fluorescens* con luz ultravioleta.

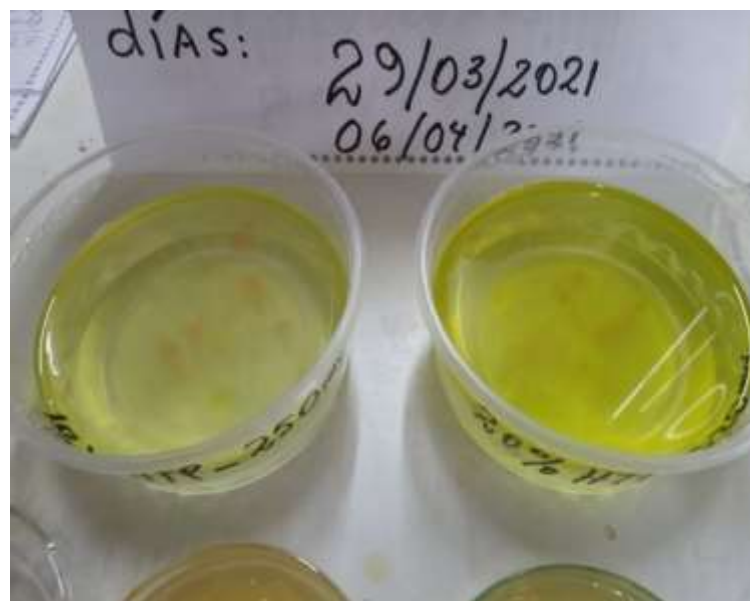


Figura 18: Inicial baja turbidez



Figura 19: En 7 días mayor concentración de *Pseudomona fluorescens*

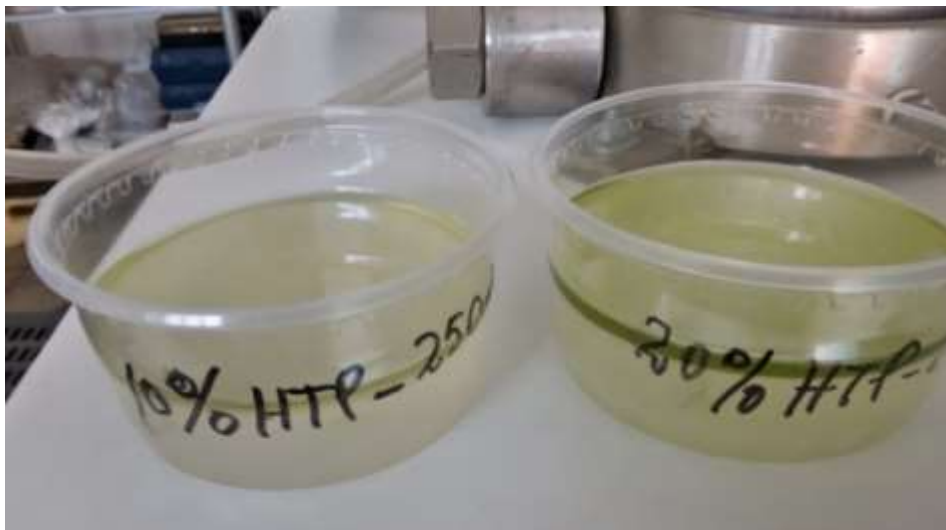


Figura 20: En 7 días es buena la adaptación de las *Pseudomona fluorescens*.

**Importante:** De acuerdo a lo investigado concluimos que la reducción del petróleo en el suelo contaminado se realizó con raíces de plantas de choclo donde no se utilizó ningún tipo de fertilizante químico solo crecimiento natural.

Entonces se procedió a coleccionar 30 raíces de plantas de choclo para colocarlo en un reactor por 15 días a los que se le agrego 20 litros de agua destilada al 10 % de hidrocarburo para poder inocular las bacterias en el suelo para su tratamiento.

### ETAPA 3: Caracterización del suelo inicial

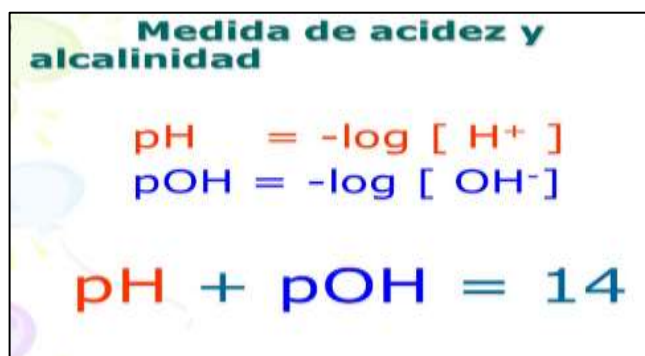
#### Medición de parámetros fisicoquímicos

##### Paso1: Calibración del equipo con buffer HANNA INSTRUMENTS

##### MARCA: Multiparámetro EZODO (certificado de calibración)

Para realizar las mediciones se tuvo que calibrar el equipo con buffer de Potencial de Hidrogeno de 4,7,10, donde el software del equipo nos da a conocer su porcentaje de eficiencia del electrodo, los resultados potenciales de hidrogeno, conductividad eléctrica, temperatura, y potencial redox.

Formula:



(2)

##### Humedad del suelo (%H) (método de ensayo ASTM D-2216)

Para conocer la humedad del suelo se tomó una muestra que se pasó por malla ASTM N° 10 (2 mm), se pesó en un crisol de porcelana y se colocó en la estufa a 100 °C por 60 minutos luego se dejó enfriar y se volvió a pesar en la balanza analítica y se determinó la humedad existente. Sus resultados se encuentran en la tabla N° 12, 18, 22.

Formula:

$$H (\%) = \frac{W_{sh} - W_{ss}}{W_{ss}} * 100 \quad (3)$$

Dónde:

Wsh: Peso del suelo Húmedo (g)

Wss: Peso del suelo seco (g)

H: Porcentaje de humedad del suelo (%)

Capacidad de intercambio catiónico (CIC) (Método del Acetato de Amonio 1N a pH 7).

La capacidad de intercambio catiónico en el suelo tiene relación con la textura del suelo de manera directa por el porcentaje de arcilla que esta posea a menor arcilla menos capacidad de liberar iones positivos.

Formula:

$$\text{CIC (meq/100g)} = \frac{(\text{Vgast NaOH} - \text{Vgast blanco NaOH}) * (\text{Vgast.filtrado} - \text{Vgast blanco}) * \text{N} * (100 + \text{W})}{\text{Ps}} \quad (4)$$

### **Carbono Orgánico (%C) (Método)**

Fórmula:

$$\%C_{\text{Orgánico}} = \frac{(\text{Vol.Bk} - \text{VOL.gast.}) * \text{N} * 0.003 * 1.3 * 100}{\text{Peso muestra (g)}} \quad (5)$$

### **Materia Orgánica (%M)**

Fórmula:

$$\% \text{ M.Organica} = \%C_{\text{Organico}} * 1.724 \quad (6)$$

### **Densidad Aparente (Da) (g/cm<sup>3</sup>) (Método del Cilindro Biselado)**

Fórmula del cilindro

$$Vc = \pi * r^2 * h \quad (7)$$

Dónde:

Vc: Volumen del Cilindro (cm<sup>3</sup>)

r: Radio (cm)

h: Altura (cm)

Fórmula de la Densidad Aparente

$$Da \text{ (g/cm}^3\text{)} = \frac{\text{Peso del suelo seco}}{\text{Volumen del Cilindro}} \quad (8)$$

Dónde:

Da: Densidad Aparente (g/cm<sup>3</sup>)

**Textura del Suelo (%) (Método de Stoke)**

$$\% \text{ Arena} + \% \text{ Limo} + \% \text{ Arcilla} = 100\% \quad (9)$$

### **3.6.- Método de análisis de datos**

Utilizaremos el análisis estadístico inferencial que nos permitirá observar el comportamiento de la variable dependiente con relación a la acción de la variable independiente con SPSS 22, cuadros de interpretación en Excel. (Hernández, 2016)

### **3.7.- Aspectos éticos**

La investigación científica respetará la normativa de la universidad de Cesar Vallejo de acuerdo a la resolución del consejo universitario N.º 0123-2017/UCV en el artículo Nº15- de la Política de anti-plagio, ya que esta es firmada por los autores no haber recurrido a este tipo de acciones que son un delito haber utilizado de manera parcial o total de otro autor las que son guiadas por los estándares de publicación internacional.



## **IV.- RESULTADOS**

## Tratamientos de suelo contaminado con hidrocarburos totales

### Características fisicoquímicas iniciales y finales del suelo contaminado

#### PRIMER PERIODO (18/05/2021)

**TABLA N° 1: Resultados de los parámetros Fisicoquímico del Suelo Con HTP (Método Potenciométrico)**

PERIODO 1	Temperatura °C	Potencial de Hidrogeno Acido/base	Conductividad Electrica $\mu$ S/cm	Potencial Redox mv
P1(1-200)	20.0	6.39	106.1	-233
P1(2-200)	20.1	6.50	108.5	-200
P1(3-200)	20.1	6.59	109.3	-220
P1(1-300)	20.0	6.80	126.1	-149
P1(2-300)	20.0	6.72	135.4	-142
P1(3-300)	20.0	6.69	130.0	-146
P1(1-400)	20.1	6.91	160.5	-116
P1(2-400)	20.1	6.86	156.8	-109
P1(3-400)	20.1	6.88	158.6	-100

En esta tabla N°1, se muestra valores de los parámetros; temperatura, pH, CE, Potencial Redox. Obtenidos en la secuencia de análisis de las diferentes etapas dentro del primer periodo, ya que el P1(1-200), es la primera etapa con 200 ml de inoculación de la pseudomona; el segundo es el P1(1-300) con 300ml de la bacteria inoculada en el suelo y la tercera etapa es P1(1-400) con 400 ml.

**Tabla N° 2: Resultados de la humedad gravimétrica del suelo con HTP (Método ASTM D-2216).**

PERIODO 1	Peso del crisol g	Peso del C+MH g	Peso del C+MS g	Humedad %
P1(1-200)	56.7638	69.5455	67.3426	20.8237
P1(2-200)	46.6760	60.0554	57.7755	20.5406
P1(3-200)	43.5971	56.1755	54.0395	20.4551
P1(1-300)	45.3342	57.4122	54.9565	25.5202
P1(2-300)	46.4901	56.9646	55.1812	20.5198
P1(3-300)	44.4863	60.4734	57.4358	23.4573
P1(1-400)	50.0001	68.5113	65.1437	22.2378
P1 (2-400)	54.3633	70.4356	67.8175	19.4593
P1 (3-400)	57.4085	80.5348	76.5164	21.0300

En esta tabla N° 2, se muestra los diferentes valores obtenidos, para hallar la humedad del suelo, en el cual se muestra, peso del crisol, peso del C+MH, peso del C+MS, dando como resultado el porcentaje de humedad optima en las tres etapas dentro del primer periodo establecido ya que la bacteria debe tener un % óptimo para su supervivencia.

**Tabla N° 3: Resultados de la determinación del carbono y materia orgánica (Método Walkey-Black)**

PERIODO 1	Peso de Muestra g	Volumen gastado de SF	Normalidad SF	Carbono %	Materia Orgánica %
P1(1-200)	0.5010	7.35	1N	2.1796	3.7576
P1(2-200)	0.5009	7.32	1N	2.2034	3.7987
P1(3-200)	0.5084	7.20	1N	2.2629	3.9012
P1(1-300)	0.5046	7.10	1N	2.3573	4.0639
P1(2-300)	0.5039	7.20	1N	2.2831	3.9362
P1(3-300)	0.5058	7.40	1N	2.1204	3.6555
P1(1-400)	0.5043	7.10	1N	2.3587	4.0664
P1 (2-400)	0.5040	7.30	1N	2.2053	3.8020
P1 (3-400)	0.5025	7.40	1N	2.1343	3.6795

En esta tabla N° 3, se muestra los diferentes valores obtenidos, para hallar la materia orgánica del suelo, en el cual se muestra, peso de muestra, vol. Gastado de SF, la normalidad del SF, el porcentaje del carbono; dando como resultado el porcentaje de materia organiza, en las tres etapas dentro del primer periodo establecido.

**Tabla N° 4: Resultados de la capacidad de intercambio catiónico (Método del Acetato de Amonio 1N pH 7).**

PERIODO 1	Peso de Muestra g	Volumen gastado NaOH	Normalidad NaOH	Capacidad de intercambio catiónico meq/100g
P1(1-200)	5.0057	7.00	0.1 N	9.2390
P1(2-200)	5.0039	8.10	0.1 N	11.2026
P1(3-200)	5.0021	9.50	0.1 N	13.6954
P1(1-300)	5.0030	11.40	0.1 N	15.4784
P1(2-300)	5.0032	10.00	0.1 N	14.5832
P1(3-300)	5.0035	9.80	0.1 N	14.2315
P1(1-400)	5.0043	10.10	0.1 N	14.7562
P1(2-400)	5.0041	10.20	0.1 N	14.9328
P1(3-400)	5.0040	10.15	0.1 N	14.8492

En esta tabla N° 4, se muestra los diferentes valores obtenidos, para hallar la Capacidad de Intercambio Catiónico del suelo, en el cual se muestra, peso de muestra, vol. gastado de NaOH, la normalidad de NaOH, mediante la aplicación de la formula, dando como resultado el porcentaje de CIC, en las tres etapas dentro del primer periodo establecido.

**Tabla N°5: Resultados de la determinación de fosforo (método espectrofotometría UV-V).**

PERIODO 1	Tramitancia %	Absorbancia	Concentración mg/l	Fosforo %	Nitratos mg/L
P1(1-200)	82.3	0.0846	0.8492	8.5244	45.8
P1(2-200)	82.5	0.0835	0.8381	8.4129	43.3
P1(3-200)	82.6	0.0830	0.8331	8.3627	49.6
P1(1-300)	83.8	0.0767	0.7699	7.7283	53.2
P1(2-300)	83.6	0.0778	0.7809	7.8387	52.7
P1(3-300)	83.7	0.0772	0.7749	7.7785	54.0
P1(1-400)	84.7	0.0721	0.7237	7.2646	60.7
P1(2-400)	84.5	0.0731	0.7337	7.3649	58.0
P1(3-400)	84.8	0.0716	0.7187	7.2144	59.3

En la tabla N°5, se muestra los valores obtenidos, de Fosforo y Nitratos, siendo muy importante en la degradación y el crecimiento de la bacteria dentro de las tres etapas del primer periodo en el suelo contaminado.

## SEGUNDO PERIODO (28/05/2021)

**TABLA N°6: Resultados de los parámetros fisicoquímico del suelo con HTP (método Potenciométrico)**

PERIODO 2	Temperatura °C	Potencial de Hidrogeno Acido/base	Conductividad Electrica $\mu\text{S}/\text{cm}$	Potencial Redox mv
P2(1-200)	20.8	6.79	110.2	-117
P2(2-200)	20.8	6.81	124.5	-118
P2(3-200)	20.8	6.67	120.6	-116
P2(1-300)	20.8	6.94	118.0	-120
P2(2-300)	20.8	6.99	119.4	-130
P2(3-300)	20.8	7.06	125.1	-135
P2(1-400)	20.8	7.10	128.3	-141
P2(2-400)	20.8	7.08	128.9	-139
P2(3-400)	20.8	7.09	129.0	-140

En la tabla N° 6, se muestra valores de los parámetros; temperatura, pH, CE, Potencial Redox. Obtenidos en la secuencia de análisis de las diferentes etapas

dentro del segundo periodo, ya que el P1(1-200), es la primera etapa con 200 ml de inoculación de la pseudomona; el segundo es el P1(1-300) con 300ml de la bacteria inoculada en el suelo y la tercera etapa es P1(1-400) con 400 ml.

**Tabla N°7: Resultados de la humedad gravimétrica del suelo con HTP (método ASTM D-2216)**

PERIODO 2	Peso del crisol g	Peso del C+MH g	Peso del C+MS g	Humedad %
P2(1-200)	59.2747	75.7131	73.0633	19.2173
P2(2-200)	54.9932	69.9032	67.7266	16.5335
P2(3-200)	57.4071	72.5006	70.2310	17.6982
P2(1-300)	55.1906	76.4518	73.1014	18.7060
P2(2-300)	54.3612	75.0927	71.7048	19.5340
P2(3-300)	46.4892	66.4432	63.5072	19.6426
P2(1-400)	44.8875	68.7247	63.6858	26.8057
P2 (2-400)	47.0539	69.4484	65.2604	23.0027
P2 (3-400)	44.4722	67.7130	63.2946	23.4742

En la tabla N°7, se muestra los diferentes valores obtenidos, para hallar la humedad del suelo, en el cual se muestra, peso del crisol, peso del C+MH, peso del C+MS, dando como resultado el porcentaje de humedad optima en las tres etapas dentro del primer periodo establecido ya que la bacteria debe tener un % óptimo para su supervivencia.

**Tabla N°8: Resultados de determinación del carbono y materia orgánica (método Walkey-Black)**

PERIODO 2	Peso de Muestra g	Volumen gastado de SF	Normalidad SF	Carbono %	Materia Orgánica %
P2(1-200)	0.5276	6.90	1N	2.3284	4.0142
P2(2-200)	0.5274	6.95	1N	2.2915	3.9505
P2(3-200)	0.5168	7.0	1N	2.2545	3.8867
P2(1-300)	0.5041	7.30	1N	2.1275	3.6678
P2(2-300)	0.5045	7.25	1N	2.1645	3.7315
P2(3-300)	0.5104	7.15	1N	2.1436	3.6955
P2(1-400)	0.5742	6.85	1N	2.3654	4.0779
P2 (2-400)	0.5740	6.90	1N	2.3284	4.0141
P2 (3-400)	0.5176	6.89	1N	2.3358	4.0269

En la tabla N° 8, se muestra los diferentes valores obtenidos, para hallar la materia orgánica del suelo, en el cual se muestra, peso de muestra, vol. Gastado

de SF, la normalidad del SF, el porcentaje del carbono; dando como resultado el porcentaje de materia orgánica, en las tres etapas dentro del segundo periodo establecido.

**Tabla N°9: Resultados de la capacidad de intercambio catiónico (Método del Acetato de Amonio 1N pH 7)**

PERIODO 2	Peso de Muestra g	Volumen gastado NaOH	Normalidad NaOH	Capacidad de intercambio catiónico meq/100g
P2(1-200)	5.0001	9.2	0.1 N	13.1626
P2(2-200)	5.0070	9.1	0.1 N	12.9727
P2(3-200)	5.0078	9.0	0.1 N	12.7915
P2(1-300)	5.0059	10.4	0.1 N	15.2916
P2(2-300)	5.0035	10.7	0.1 N	15.8326
P2(3-300)	5.0027	10.5	0.1 N	15.4774
P2(1-400)	5.0041	11.8	0.1 N	17.7792
P2(2-400)	5.0039	11.6	0.1 N	17.4223
P2(3-400)	5.0040	11.4	0.1 N	17.0722

En la tabla N° 9, se muestra los diferentes valores obtenidos, para hallar la Capacidad de Intercambio Catiónico del suelo, en el cual se muestra, peso de muestra, vol. gastado de NaOH, la normalidad de NaOH, mediante la aplicación de la formula, dando como resultado el porcentaje de CIC, en las tres etapas dentro del segundo periodo establecido.

**Tabla N°10: Determinación de fosforo (método espectrofotometría UV-V)**

PERIODO 2	Tramitancia %	Absorbancia	Concentración mg/l	Fosforo %	Nitratos mg/L
P2(1-200)	84.6	0.0726	0.7287	$3.6435 \times 10^{-3}$	53.6
P2(2-200)	84.3	0.0741	0.7438	$3.7190 \times 10^{-3}$	51.5
P2(3-200)	84.8	0.0716	0.7187	$3.5935 \times 10^{-3}$	54.1
P2(1-300)	85.4	0.0685	0.6876	$3.4380 \times 10^{-3}$	59.0
P2(2-300)	85.7	0.0670	0.6725	$3.3625 \times 10^{-3}$	60.2
P2(3-300)	85.8	0.0665	0.6675	$3.3375 \times 10^{-3}$	63.3
P2(1-400)	86.9	0.0609	0.6113	$3.0565 \times 10^{-3}$	65.4
P2(2-400)	86.6	0.0624	0.6263	$3.1315 \times 10^{-3}$	66.8
P2(3-400)	86.4	0.0634	0.6364	$3.1820 \times 10^{-3}$	64.5

En la tabla N°10, se muestra los valores obtenidos, de Fosforo y Nitratos, en el cual se ve desde la primera etapa que en Fosforo  $3.6435 \times 10^{-3}$  % y al final de las

tres etapas  $3.1820 \times 10^{-3} \%$ , la variación existente es de disminución. Por otra parte, en Nitratos con un valor de 53.6mg/l al inicio y al final de las tres etapas 64.5 mg/L dando como resultado en aumento de Nitratos dentro del suelo.

### TERCER PERIODO (07/06/2021)

**TABLA N°11: Resultados de los parámetros fisicoquímico del suelo con HTP (método potenciométrico)**

PERIODO 3	Temperatura °C	Potencial de Hidrogeno Acido/base	Conductividad Eléctrica $\mu\text{S/cm}$	Potencial Redox mv
P3(1-200)	20.5	6.65	166.7	-307
P3(2-200)	20.5	6.62	168.2	-298
P3(3-200)	20.5	6.64	165.9	-300
P3(1-300)	20.5	7.56	125.0	-230
P3(2-300)	20.5	7.45	127.4	-245
P3(3-300)	20.5	7.35	128.1	-235
P3(1-400)	20.5	7.05	118.3	-198
P3(2-400)	20.5	7.06	119.9	-189
P3(3-400)	20.5	7.02	120.0	-190

En la tabla N°11, se muestra valores de los parámetros; temperatura, pH, CE, Potencial Redox. Obtenidos en la secuencia de análisis de las diferentes etapas dentro del Tercer periodo, ya que el P1(1-200), es la primera etapa con 200 ml de inoculación de la pseudomona; el segundo es el P1(1-300) con 300ml de la bacteria inoculada en el suelo y la tercera etapa es P1(1-400) con 400 ml. Se inocularon diferentes medidas ya que se busca ver cuál de todas es la que mejor tiene % de reducción.

**Tabla N°12: Resultados de la humedad gravimétrica del suelo con HTP (método ASTM D-2216)**

PERIODO 3	Peso del crisol g	Peso del C+MH g	Peso del C+MS g	Humedad %
P3(1-200)	55.1866	87.1264	82.2081	18.2014
P3(2-200)	54.9919	79.5171	76.0945	16.2883
P3(3-200)	57.4085	82.1194	78.5614	17.3585
P3(1-300)	54.3622	88.5265	83.4644	18.7343
P3(2-300)	59.2745	90.3175	85.0515	20.4290
P3(3-300)	44.8876	77.5837	72.5057	18.3828
P3(1-400)	44.4715	77.4831	70.5684	26.4962
P3 (2-400)	48.5238	79.4943	73.8635	22.2449
P3 (3-400)	47.0530	80.2202	73.1123	27.2758

En la tabla N°12, se muestra los diferentes valores obtenidos, para hallar la humedad del suelo, en el cual se muestra, peso del crisol, peso del C+MH, peso del C+MS, dando como resultado el porcentaje de humedad optima en las tres etapas dentro del primer periodo establecido ya que la bacteria debe tener un % óptimo para su supervivencia lo cual se muestra en la tercera etapa ya que tiene un % mayor de Humedad.

**Tabla N°13: Resultados de determinación del carbono y materia orgánica (método Walkey-Black)**

PERIODO 3	Peso de Muestra g	Volumen gastado de SF	Normalidad SF	Carbono %	Materia Orgánica %
P3(1-200)	0.5039	7.54	1N	2.0587	3.5491
P3(2-200)	0.5029	7.51	1N	2.0861	3.5964
P3(3-200)	0.5051	7.53	1N	2.0615	3.5540
P3(1-300)	0.5025	7.58	1N	2.0334	3.5055
P3(2-300)	0.5024	7.59	1N	2.0261	3.4929
P3(3-300)	0.5067	7.60	1N	2.0011	3.4498
P3(1-400)	0.5068	7.67	1N	1.9469	3.3564
P3 (2-400)	0.5058	7.69	1N	1.9353	3.3364
P3 (3-400)	0.5018	7.70	1N	1.9430	3.3497

En la tabla N° 13, se muestra los diferentes valores obtenidos, para hallar la materia orgánica del suelo, en el cual se muestra, peso de muestra, vol. Gastado de SF, la normalidad del SF, el porcentaje del carbono; dando como resultado el porcentaje de materia orgánica, en las tres etapas dentro del segundo periodo establecido.

**Tabla N°14: Resultados de la capacidad de intercambio catiónico (método del Acetato de Amonio 1N pH 7)**

PERIODO 3	Peso de Muestra g	Volumen gastado NaOH	Normalidad NaOH	Capacidad de intercambio catiónico meq/100g
P3(1-200)	5.0025	7.7	0.1 N	10.4498
P3(2-200)	5.0022	7.5	0.1 N	10.0186
P3(3-200)	5.0002	7.6	0.1 N	10.2065
P3(1-300)	5.0070	9.9	0.1 N	13.1503
P3(2-300)	5.0019	9.7	0.1 N	12.9203
P3(3-300)	5.0010	9.6	0.1 N	12.7443
P3(1-400)	5.0044	10.0	0.1 N	14.0822
P3(2-400)	5.0014	10.1	0.1 N	14.3489
P3(3-400)	5.0030	10.2	0.1 N	14.4905



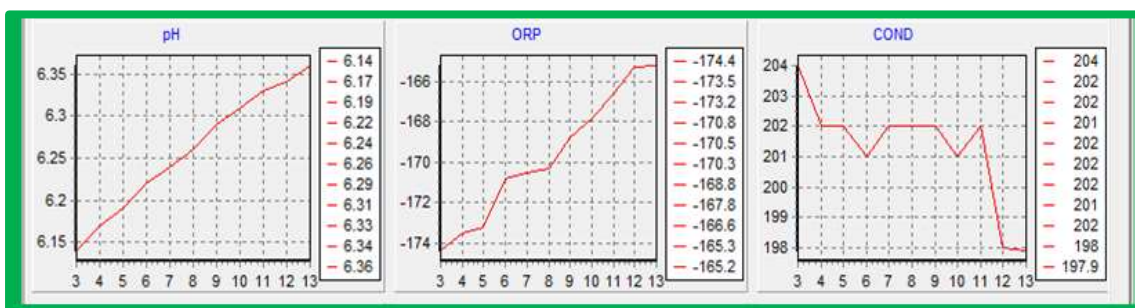
En la tabla N° 14, muestra los diferentes valores obtenidos, para hallar la Capacidad de Intercambio Catiónico del suelo, en el cual se muestra, peso de muestra, vol. gastado de NaOH, la normalidad de NaOH, mediante la aplicación de la formula, dando como resultado el CIC inicial que es 10.4498 mg/100g y al culminar la tercera etapa 14.4905 meg/100g, lo que nos indica que hubo un aumento de CIC.

**Tabla N°15: Resultados de la determinación de fosforo (método espectrofotometría UV-V)**

PERIODO 3	Tramitancia %	Absorbancia	Concentración mg/l	Fosforo %	Nitratos mg/L
P3(1-200)	72.6	0.1391	1.3772	$3.4430 \times 10^{-3}$	53.6
P3(2-200)	72.7	0.1385	1.3713	$3.4283 \times 10^{-3}$	51.5
P3(3-200)	72.8	0.1378	1.3644	$3.4110 \times 10^{-3}$	54.1
P3(1-300)	73.9	0.1314	1.3009	$3.2523 \times 10^{-3}$	59.0
P3(2-300)	73.6	0.1331	1.3178	$3.2945 \times 10^{-3}$	60.2
P3(3-300)	73.7	0.1325	1.3119	$3.2798 \times 10^{-3}$	63.3
P3(1-400)	75.9	0.1197	1.1851	$2.9628 \times 10^{-3}$	65.4
P3(2-400)	75.8	0.1203	1.1910	$2.9775 \times 10^{-3}$	66.8
P3(3-400)	75.7	0.1209	1.1970	$2.9925 \times 10^{-3}$	64.5

En la tabla N° 15, se muestra los valores obtenidos, de Fosforo y Nitratos, en el cual se ve desde la primera etapa que en Fosforo  $3.4430 \times 10^{-3}$  % y al final de las tres etapas  $3.9925 \times 10^{-3}$  %, la variación que tiene en este periodo es que aumenta en cada etapa. Por otra parte, en Nitratos con un valor de 53.6mg/l al inicio y al final de las tres etapas 64.5 mg/L dando como resultado en aumento de Nitratos dentro del suelo.

**Figura 21:** Lecturas de parámetros fisicoquímicos en multiparámetro digital SL.



En la figura 21 se aprecia la variación existente de los rangos de PH, potencial redox, conductividad eléctrica del suelo limpio.

**Figura 22:** Lecturas de parámetros fisicoquímicos en multiparámetro digital SC.



En la figura 22 se aprecia la variación existente de los rangos de PH, potencial redox, conductividad eléctrica del suelo contaminado.

**Tabla N° 16: Parámetros fisicoquímico del suelo limpio y contaminado**

Suelo	Temperatura °C	Potencial de hidrogeno Acido/base	Conductividad eléctrica $\mu\text{S}/\text{cm}$	Potencial Redox mv
SL	21.9	6.25	202	170
SC	23.0	6.98	199	165

SAL: Suelo agrícola limpio

SAC: Suelo agrícola contaminado con HTP

Para ver la variabilidad de los parámetros, se midió con un multiparámetro digital SL y SC el cual nos da los siguientes cuadros:

**Tabla N° 17: Parámetros fisicoquímico del suelo limpio y contaminado**

Suelo	Temperatura °C	Potencial de hidrogeno Acido/base	Conductividad eléctrica $\mu\text{S}/\text{cm}$	Potencial Redox mv
SL	21.9	6.25	202	170
SC	23.0	6.98	199	165

SAL: Suelo agrícola limpio

SAC: Suelo agrícola contaminado con HTP

Para ver la variabilidad de los parámetros, se midió con un multiparámetro digital SL y SC.

**Tabla N° 18: Capacidad de intercambio catiónico en suelo limpio y contaminado**

Muestra	Peso de la muestra g	Vol. gast. Hidróxido de Sodio ml	Normalidad del hidróxido de sodio	CIC Meq/100
SAL	5.0079	10.2	0.1	14.846
SAC - HTP	5.0192	6.75	0.1	7.5825

Para la determinación de capacidad de intercambio catiónico se debe obtener ciertos datos como: peso de la muestra, vol., gastado, normalidad del hidróxido de sodio lo cual se muestra en la tabla N°18.

Se muestra parámetros como: peso de la muestra, vol. Gastado, normalidad del sulfuro, carbono orgánico y materia orgánica en el suelo limpio y contaminado.

Donde:

SAL: Suelo agrícola limpio

SAC: Suelo agrícola contaminado con HTP

**Tabla N° 19: Humedad del suelo Limpio y contaminado**

Muestra	Peso de tara g	Peso de tara + suelo húmedo g	Peso del suelo seco g	Humedad %
SAL	56.9740	65.8497	64.8302	11.4864
SAC - HTP	54.9914	60.8021	60.1635	10.9901

En la tabla N°19, se muestra que, para la determinación de Humedad, se debe obtener datos referenciales para su formulación los cuales son: peso de la muestra, peso de tara + el suelo húmedo, peso del suelo seco, todo eso mediante la fórmula (3) para hallar el % de humedad.

**Tabla N°20: Textura del suelo limpio**

Muestra	Arena %	Limo %	Arcilla %	Materia Orgánica %
SAL	42	31	27	1.00

En la tabla N° 20, se muestra los datos obtenidos, realizados en el laboratorio, del suelo limpio mediante el triángulo de la USDA.

**Tabla N°21: Densidad aparente del suelo limpio y contaminado**

Muestra	Peso del suelo húmedo g	Peso de tara g	Peso del suelo seco g	Volumen del cilindro cm <sup>3</sup>	Da (g/cm <sup>3</sup> )
SAL	876	437	852	286.67	1.45
SAC	684	437	632	286.67	6.80

En la tabla N°21, que para hallar la densidad aparente se determina ciertos datos como: peso del suelo húmedo, peso con tara, peso del suelo seco, volumen del cilindro y aplicando todo eso en la formula nos da como resultado la densidad aparente.

**Tabla N° 22: Carbono orgánico y materia orgánica en suelo limpio y contaminado.**

Muestra	Peso de la muestra g	Vol. gast. Sulfato ferroso ml	Normalidad del sulfato ferroso	Carbono Orgánico %	Materia Orgánica %
SAL	0.5073	9.1	1	0.768	1.32
SAC - HTP	0.5009	7.1	1	2.336	4.03

En la tabla N°6 se muestra parámetros como: peso de la muestra, vol. gastado, normalidad del sulfuro, carbono orgánico y materia orgánica en el suelo limpio y contaminado donde:

SAL: Suelo agrícola limpio

SAC: Suelo agrícola contaminado con HTP

## Resultados de la obtención y identificación de Pseudomonas Fluorescens

**Tabla N.º23: Caracterización de las plantas para identificar la Pseudomona Fluorescens.**

Plantas	Altura cm	N.º de hojas cantidad	Edad de la planta meses	Tamaño de la raíz cm	Peso de la planta g
CHOCLO	132	32	1 1/2	28	350
ALFALFA	35	12	1	14	120
TOMATE	39	8	1 1/2	21	245

En la tabla N°23, se pudo observar que tomamos en cuenta la edad de las plantas, así como también al hacer la extracción de la planta se tuvo mucho cuidado porque de acuerdo a nuestros estudios las Pseudomonas se encuentran en las raíces, lo cual se hizo la caracterización in situ de las plantas como el peso de la planta, conteo de hojas y la altura de ellas, como se muestra en el cuadro.

**Tabla N. º24: Análisis microbiológico de la identificación de bacteria en la raíz de alfalfa.**

Código	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$
Alto	Exceso	50	30	0	0
Medio	Exceso	32	22	0	0
Bajo	Exceso	12	8	0	0
Promedio	Exceso	31.33	20	0	0
N.º de colonias	Exceso	2036.66	1300	0	0

En la tabla N°24, se observó cómo se realizó la identificación de las Pseudomonas Fluorescens en la raíz de alfalfa, utilizando los tubos múltiples y sembrados en placas Petri. Como se puede observar las muestras fueron de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ; que para la determinación de la fórmula del número de colonias, esta se midió en un contador, en donde se puede apreciar los

cuadrantes y de ahí se toman la cantidad de colonias que pueden ser en cada uno, lo que puede ser en alto, medio y bajo, como se aprecia en la parte superior.

Luego de evaluado las colonias se procede al desarrollo, donde se debe hallar un promedio de la suma de las muestras contadas, para luego aplicar la formula del número de colonias que es multiplicado por un factor microbiológico "65", y nos da un valor de acuerdo al cálculo, el más representativo fue el número de colonias de 1300, y que fueron gran positivas, como se puede apreciar en la tabla n°2.

**Tabla N. °25: Análisis microbiológico para determinar las bacterias existentes en la raíz de tomate.**

Código	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>
Alto	Exceso	20	12	0	0
Medio	Exceso	10	6	0	0
Bajo	Exceso	9	2	0	0
Promedio	Exceso	13	6.66	0	0
N.º de colonias	Exceso	845	433.33	0	0

En la tabla N°25, se aprecia en la dilución 10<sup>-2</sup> y 10<sup>-3</sup>, las cuales fueron las más representativas para este caso del análisis microbiológico, en donde hemos podido hallar el número de colonias, las que fueron también gran positivas.

**Tabla N. °26: Análisis microbiológico de bacterias existente en la raíz de maíz.**

Código	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>
Alto	Exceso	82	53	0	0
Medio	Exceso	28	23	0	0
Bajo	Exceso	17	12	0	0
Promedio	Exceso	42.33	29.33	0	0
N.º de colonias	Exceso	2751.66	1906.66	0	0

En la tabla N°26, se muestra que se hizo un análisis de las bacterias gran negativas, donde se pudo apreciar la existencia de la bacteria fluorescens para luego ser sembrada en un agar diferencial.

**Tabla N.º27: Caracterización de las plantas para identificar la Pseudomona Fluorescens.**

Plantas	Altura cm	N.º de hojas cantidad	Edad de la planta meses	Tamaño de la raíz cm	Peso de la planta g
CHOCLO	132	32	1 1/2	28	350
ALFALFA	35	12	1	14	120
TOMATE	39	8	1 1/2	21	245

En la tabla N°27, se pudo observar que tomamos en cuenta la edad de las plantas, así como también al hacer la extracción de la planta se tuvo mucho cuidado porque de acuerdo a nuestros estudios las Pseudomonas se encuentran en las raíces, lo cual se hizo la caracterización in situ de las plantas como el peso de la planta, conteo de hojas y la altura de ellas, como se muestra en el cuadro.

## Resultados de la Inoculación de la pseudomona Fluorescens P 1,2,3 (200 ml, 300ml, 400ml)

Figuras: Variación del potencial de hidrogeno (pH).

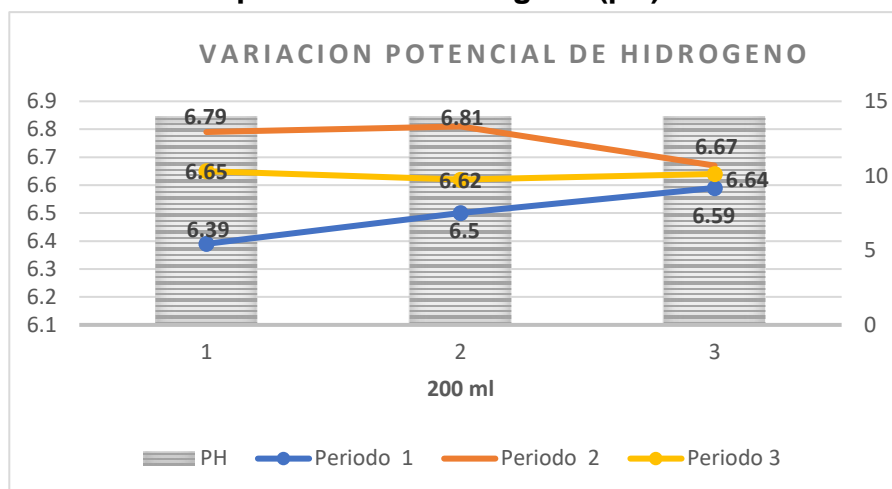


Figura 23: Variación de Potencial de Hidrogeno - (200ml)

En base a las figura N° 23, se puede apreciar la variación del potencial de hidrogeno con un volumen de 200 ml, en tres periodos, donde en el periodo 1, tiene un pH de 6,39 el cual se caracteriza como un pH ligeramente ácido, por otro lado, en el segundo periodo aumenta a 6,79, lo que significa que se acerca a un nivel de pH neutro. Para finalizar en el periodo 3, este pH disminuye en 0,14 en referencia al segundo dando un resultado final de 6,65.

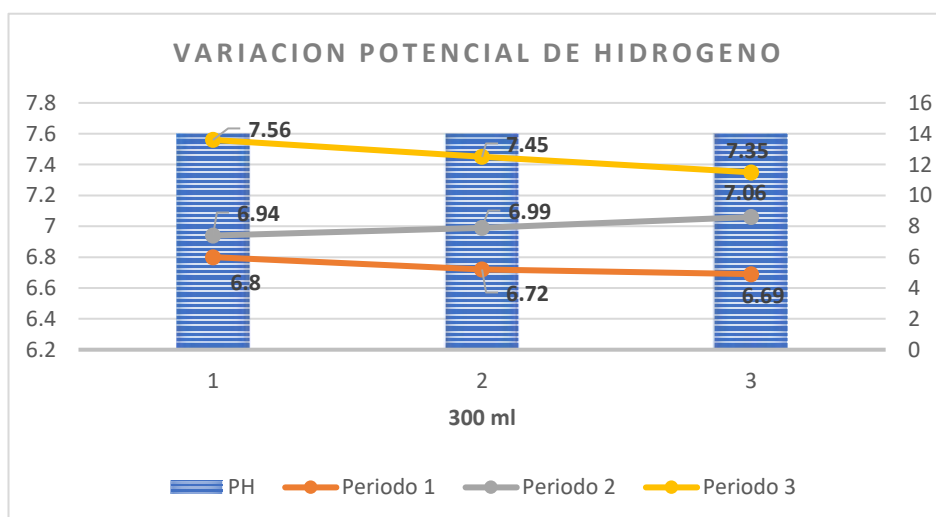


Figura 24: Variación de Potencial de Hidrogeno - (300ml)

En base a la figura N° 24, para un volumen de 300 ml, se puede apreciar la variación del potencial de hidrogeno en tres periodos, donde en el periodo 1, tiene un pH de 6,8 el cual se caracteriza como un pH ligeramente ácido, por otro lado, en el segundo periodo aumenta a 6,94, lo que significa que se acerca a un nivel de pH neutro. Para finalizar en el periodo 3, este pH aumenta en 0,62 en referencia al segundo dando un resultado final de 7,56 lo cual se considera un pH ligeramente básico.



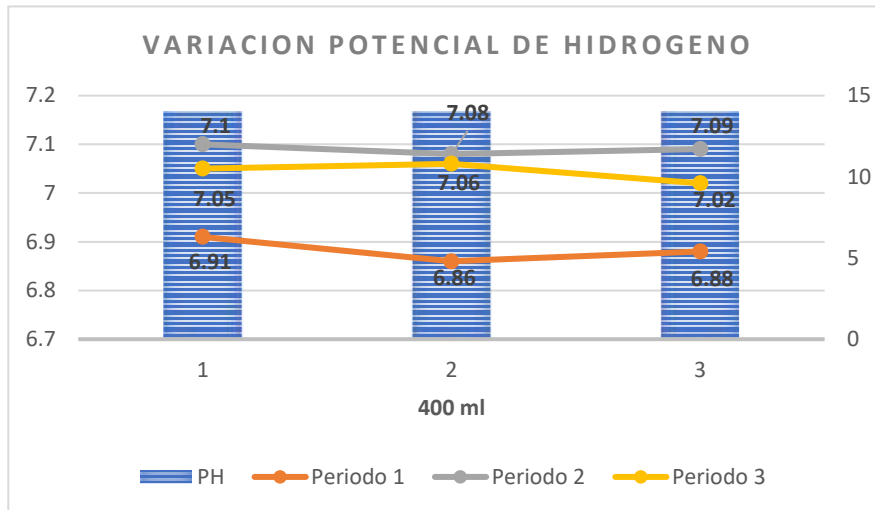


Figura 25: Variación de Potencial de Hidrogeno - (400ml)

En base a la figura N° 25, para 400 ml, se puede apreciar la variación del potencial de hidrogeno en tres periodos, donde en el periodo 1, tiene un pH de 6,91 el cual se caracteriza como un pH ligeramente ácido, por otro lado, en el segundo periodo aumenta a 7,1, lo que significa que se acerca a un nivel de pH neutro y hay una variación positiva para el suelo. Para el tercer periodo, este pH aumenta en 0,05 en referencia al segundo dando un resultado final de 7,05 lo cual se considera un pH ligeramente neutro.

### Figuras: Conductividad Eléctrica (ms/cm)

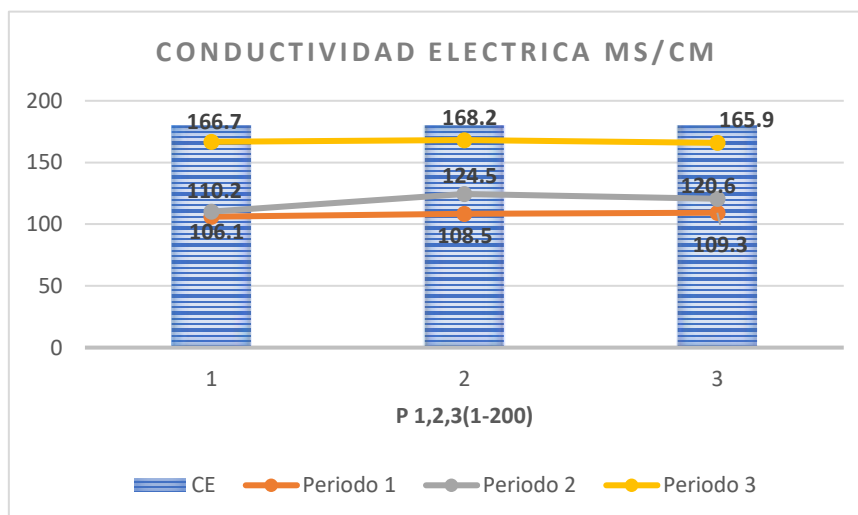


Figura 26: Conductividad Eléctrica (ms/cm)- (200ml)

La figura N° 26, expresa la variación existente en los 3 periodos, se verifica un aumento del primer periodo al segundo con 4.1 ms/cm. Así mismo en el tercer periodo hubo un aumento favorable

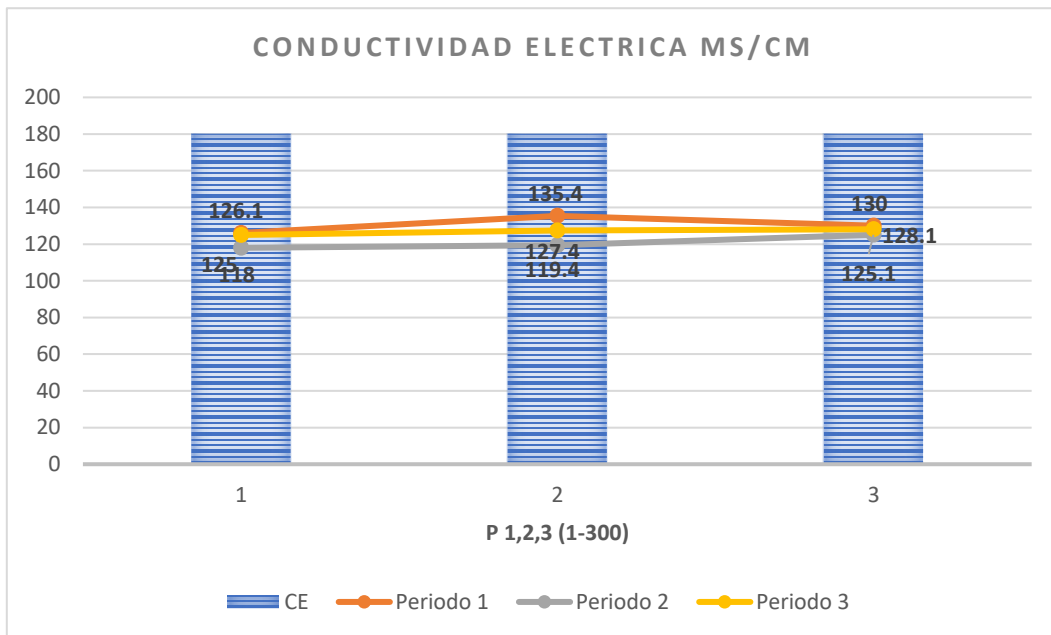


Figura 27: Conductividad Eléctrica (ms/cm)- (300ml)

En la figura N° 27, la variación existente dentro de los 3 periodos no son datos muy lejanos ya que no existe mucha variación, lo cual nos hace pensar que en los tres periodos se mantuvo una conductividad no muy lejana a los datos ya medidos con anterioridad.

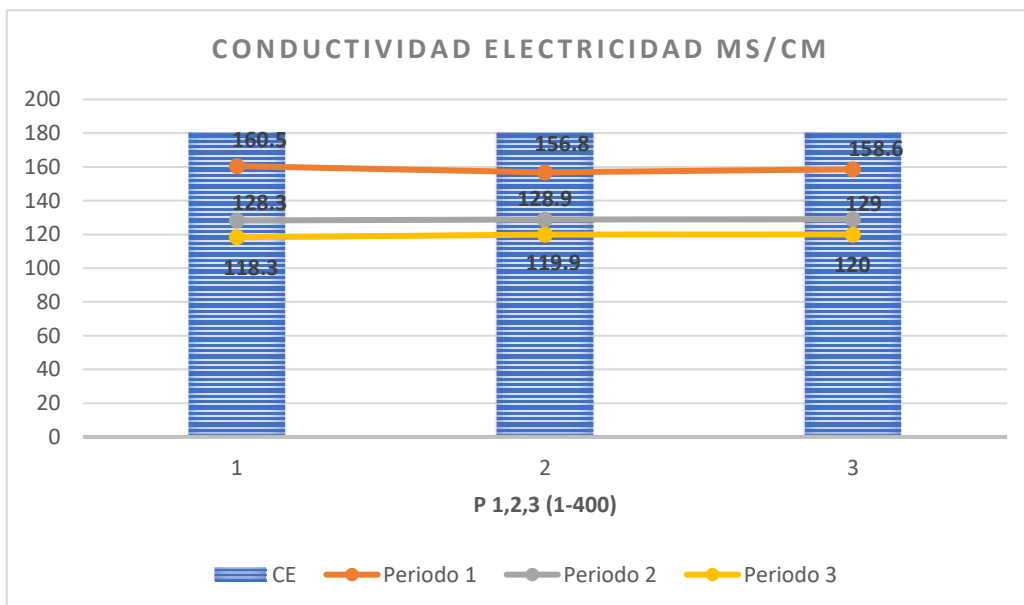


Figura 28: Conductividad Eléctrica (ms/cm)- (400ml)

La figura N° 28, muestra la variación que existe, del periodo 1 tiene 160.5 ms/cm fue disminuyendo hasta un valor de 128.3 ms/cm en el 2 periodo, y en el 3 periodo disminuyo aún más con un dato de 118.3 ms/cm lo cual nos dice que la conductividad eléctrica con 400 ml fue en una curva de disminución.

## Figuras: Potencial Redox

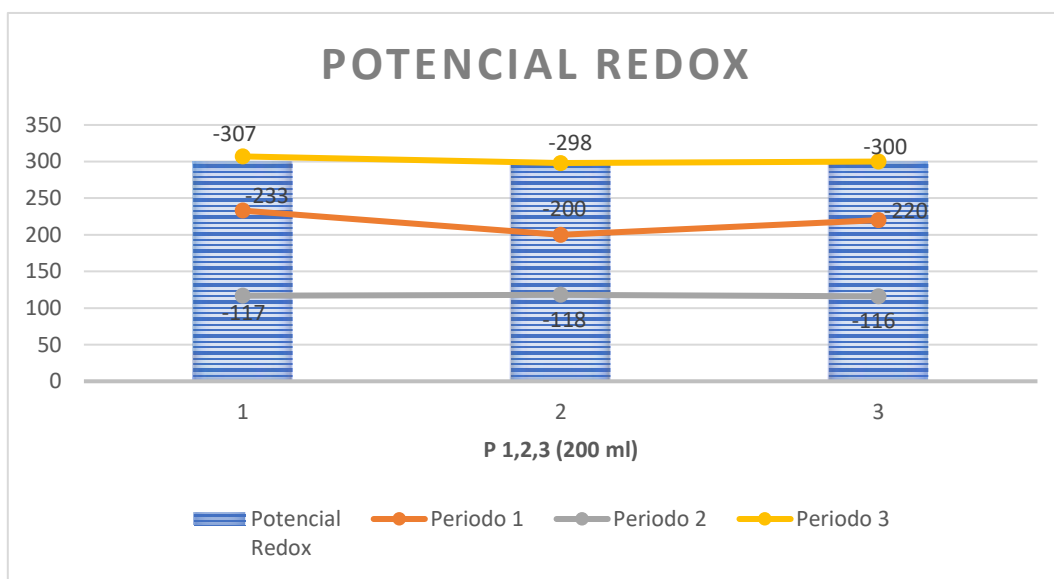


Figura 29: Variación de Potencial Redox – (200ml)

En la figura N° 29, se observa, que el potencial Redox varía de acuerdo a las etapas, en el periodo 1 se puede observar que existe una oxidación de 233 y va al periodo 2 con una reducción de -117. Por lo que en la 3 etapa se encuentra que existe una mayor cantidad de reducción dado que es la última etapa del Proyecto

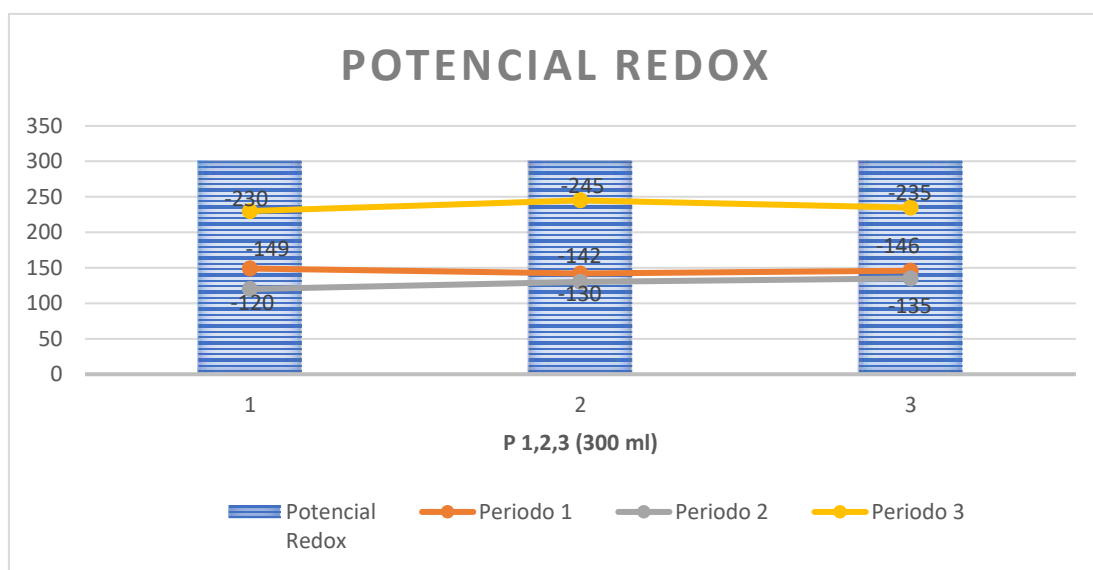


Figura 30: Variación de Potencial Redox – (300ml)

En la siguiente figura N° 29, con 300 ml de muestra, se observa que el periodo 2 es el más bajo de todos porque existe una mayor oxidación, pero en el periodo 3 se muestra con una reducción de -280 lo cual se observa en el periodo 3 que hubo más reducción que oxidación.

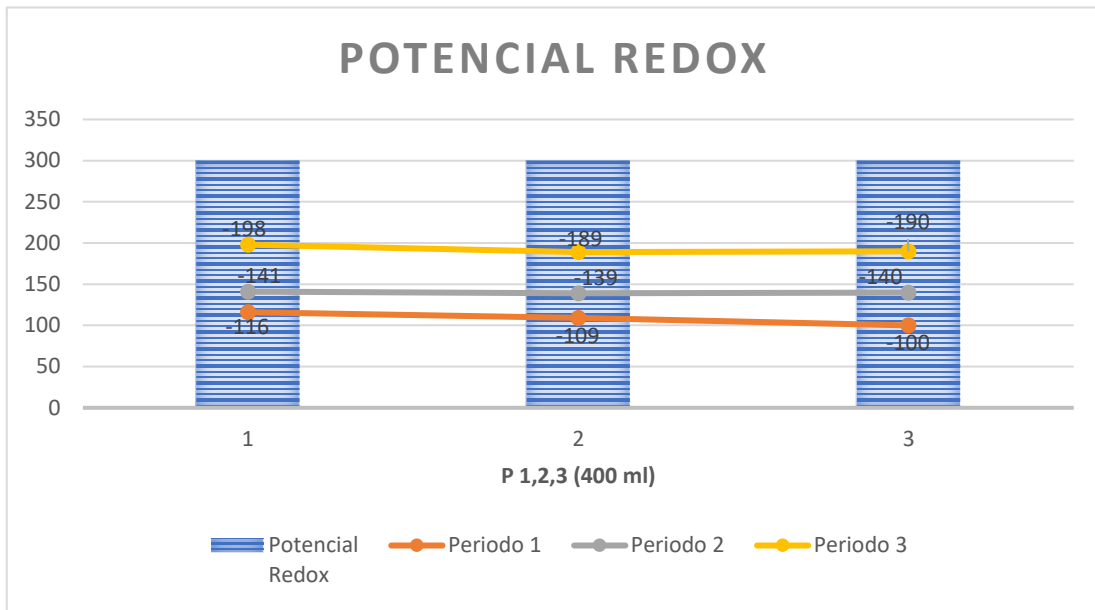


Figura 31: Variación de Potencial Redox – (400ml)

En la Figura 31, se puede observar que la muestra con 400 ml que contenía las pseudomonas, en el periodo 1 existe una reducción de -116, lo cual para el periodo 2 ay una variación lo cual pondera la reducción de – 140, y en el tercer periodo existe una mayor variación de oxidación.

**Figuras: Humedad (%)**

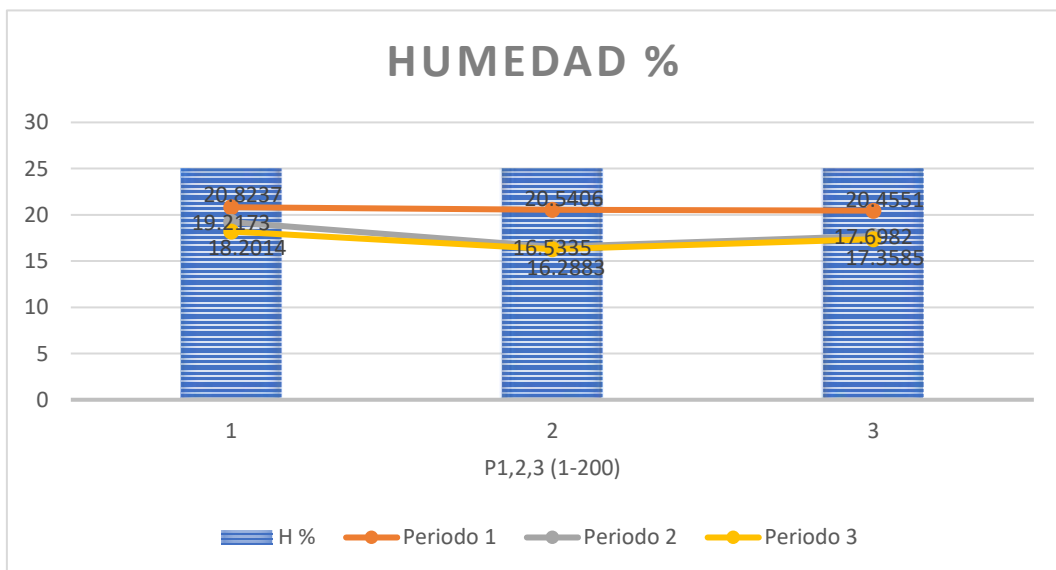


Figura 32: Variación de Humedad– (200ml)

En la figura 32, que se presenta, se da a entender la variación existente en 3 periodos con 200 ml de la muestra de pseudomonas, en el cual el primer periodo comienza con 20.8237 % de humedad, en cuanto al segundo periodo se da una variación de disminución ya que se encuentra en 19.2173 %, así mismo en el segundo periodo disminuye aún más con 18.2014 % de humedad.

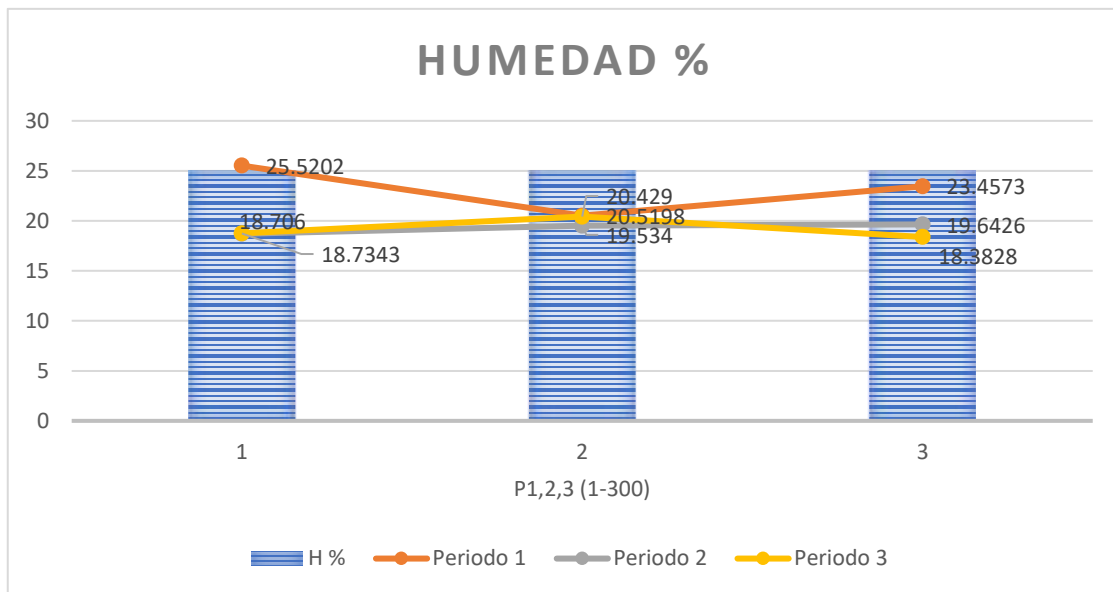


Figura 33: Variación de Humedad- (300ml)

En base a la figura 32, se observa la variación existente en los 3 periodos de la investigación, en el primer periodo se observa que se tiene un porcentaje de humedad de 25 5202 %, y en el Segundo periodo a comparación con el primero existe una variación de disminución de 236.496 %. Así mismo en el tercer periodo disminuye a comparación con el segundo en 168.637 % de la humedad existente anteriormente.

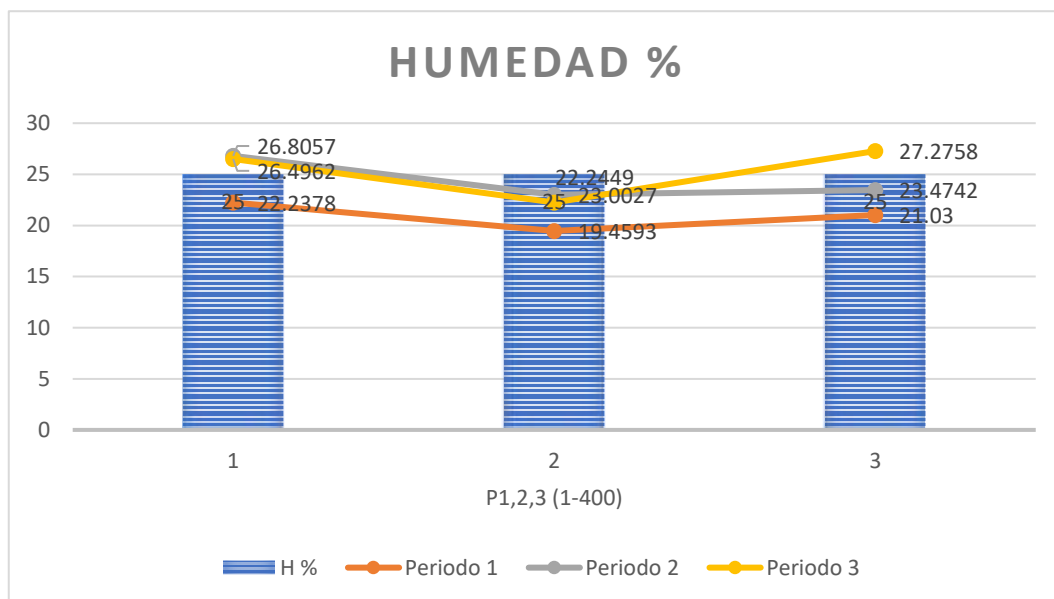


Figura 34: Variación de Humedad- (400ml)

En base a la figura 34, para un volumen de 400 ml, se puede apreciar la variación del % de humedad en tres periodos, donde en el periodo 1, tiene una humedad de 22.2378, por otro lado, en el segundo periodo aumenta a 26.8057 % de humedad, lo que significa que tuvo una variación de aumento. Para finalizar en el periodo 3, aumenta en 27.27 % en referencia al Segundo dando un resultado de aumento desde el primer periodo

Figuras: Materia Orgánica (%)

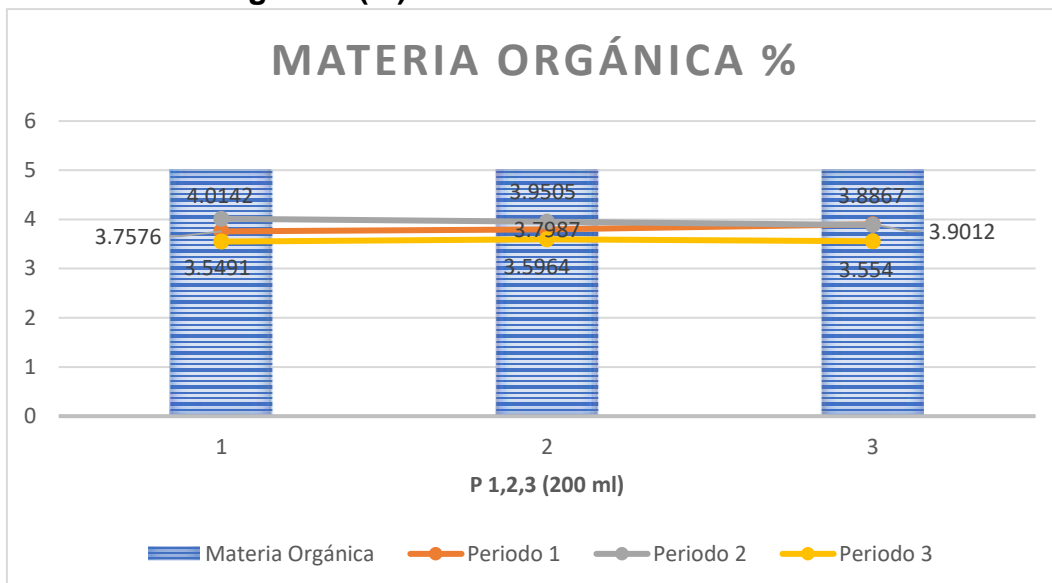


Figura 35: Variación de Materia Orgánica– (200ml)

En base a la figura 35, para un volumen de 200 ml, se puede apreciar la variación del % de materia orgánica en tres periodos, donde en el periodo 1, tiene un % de 3.75, por otro lado, en el segundo se ve 4.01 % de materia orgánica, lo que significa que tuvo una variación de aumento. Para finalizar en el periodo 3, disminuye en 3.5491 % en referencia al segundo dando un resultado de distinta variación en los tres periodos.

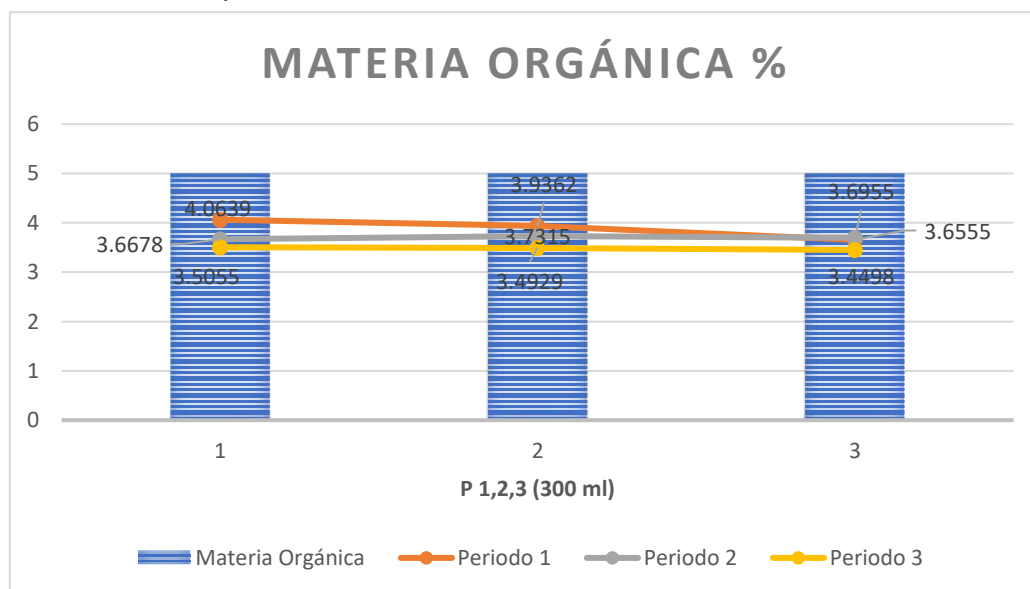


Figura 36: Variación de Materia Orgánica– (300ml)

En base a la figura 36, para un volumen de 300 ml, se puede apreciar la variación del % de materia orgánica en tres periodos, donde en el periodo 1, tiene un % de 4.06, por otro lado, en el segundo se ve 3.66 % de materia orgánica, lo que significa que tuvo una variación de disminución. Para finalizar en el periodo 3, disminuye en 3.50 % en referencia al segundo dando un resultado de distinta variación en los tres periodos.

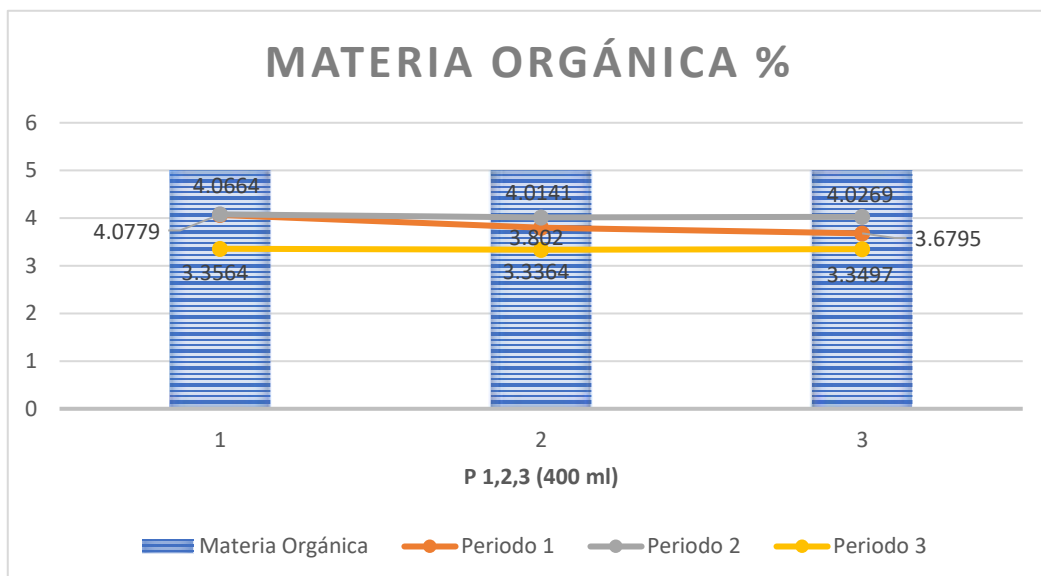


Figura 37: Variación de Materia Orgánica– (400ml)

En base a la figura 37, para un volumen de 400 ml, se puede apreciar la variación del % de materia orgánica en tres periodos, donde en el periodo 1, tiene un % de 4.06, por otro lado, en el segundo se ve 4.06 % de materia orgánica, lo que significa que no tuvo una variación referencial. Para finalizar en el periodo 3, disminuye en 3.35 % en referencia al segundo dando un resultado de variación de disminución en los tres periodos.

### Figuras: Capacidad de Intercambio Catiónico

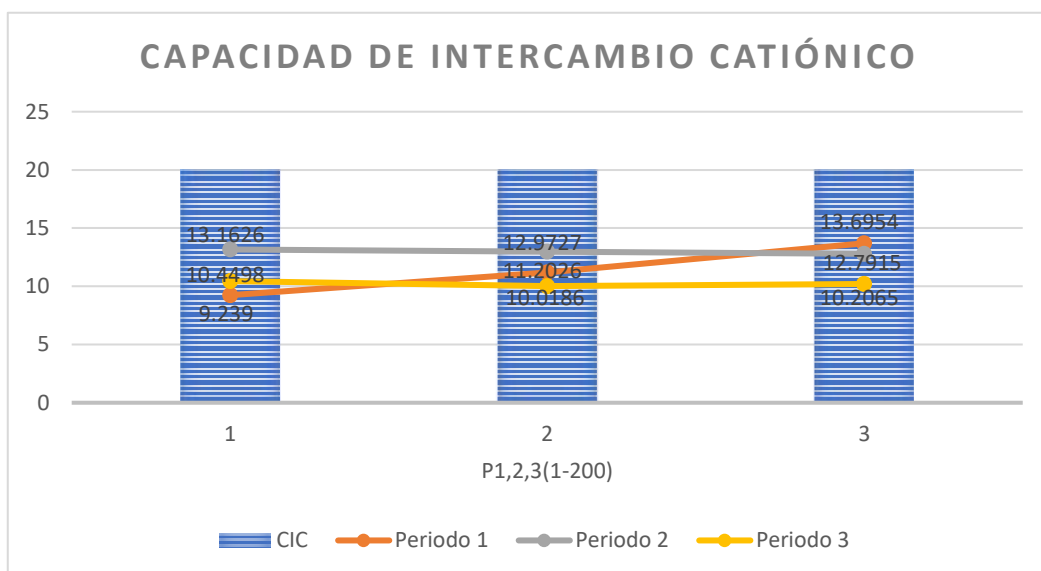


Figura 38: Variación de Capacidad de Intercambio Catiónico– (200ml)

En base a la figura 38, se determina la variación de la capacidad de intercambio catiónico, el primer periodo tiene un valor de 9.239, ya que en el segundo periodo tiene un aumento de 3.9226 hasta llegar al valor de 13.1626, así mismo en el tercer periodo tiene una disminución de 2.7128 hasta llegar al valor de 10.449. Por lo que se verifica que al inicio hubo un aumento en CIC pro para el tercer periodo disminuyo.

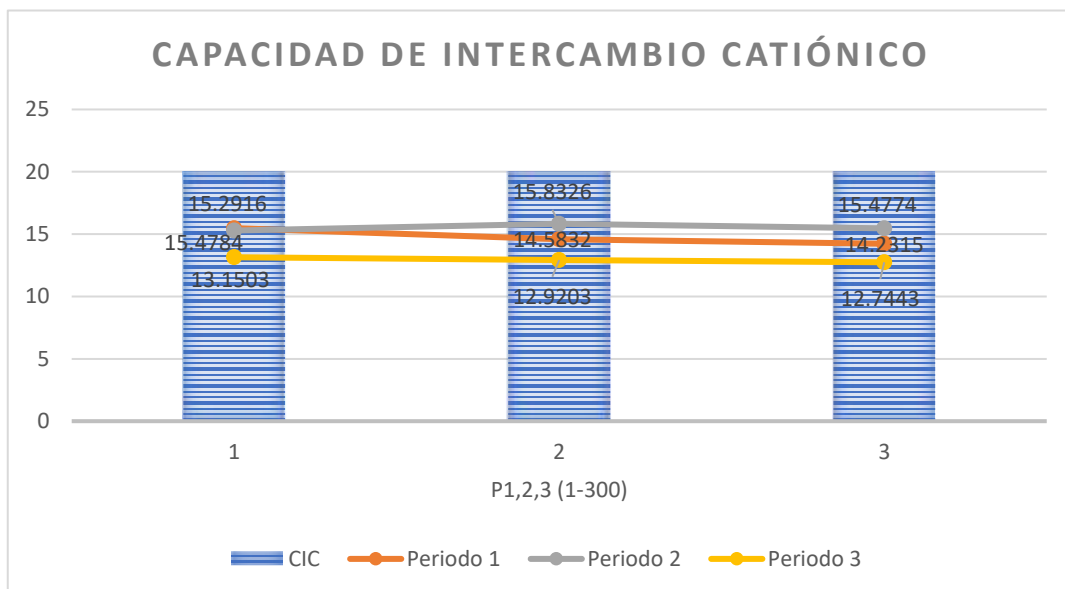


Figura 39: Variación de Capacidad de Intercambio Catiónico– (300ml)

En base a la figura 39, se determina la variación de la capacidad de intercambio catiónico, el primer periodo tiene un valor de 15.29, ya que en el segundo periodo se mantiene con 15.29, así mismo en el tercer periodo tiene una disminución de 2.3281 hasta llegar al valor de 13.1503. Por lo que se verifica que al inicio se mantuvo el CIC pero que al pasar al tercer periodo disminuyo.

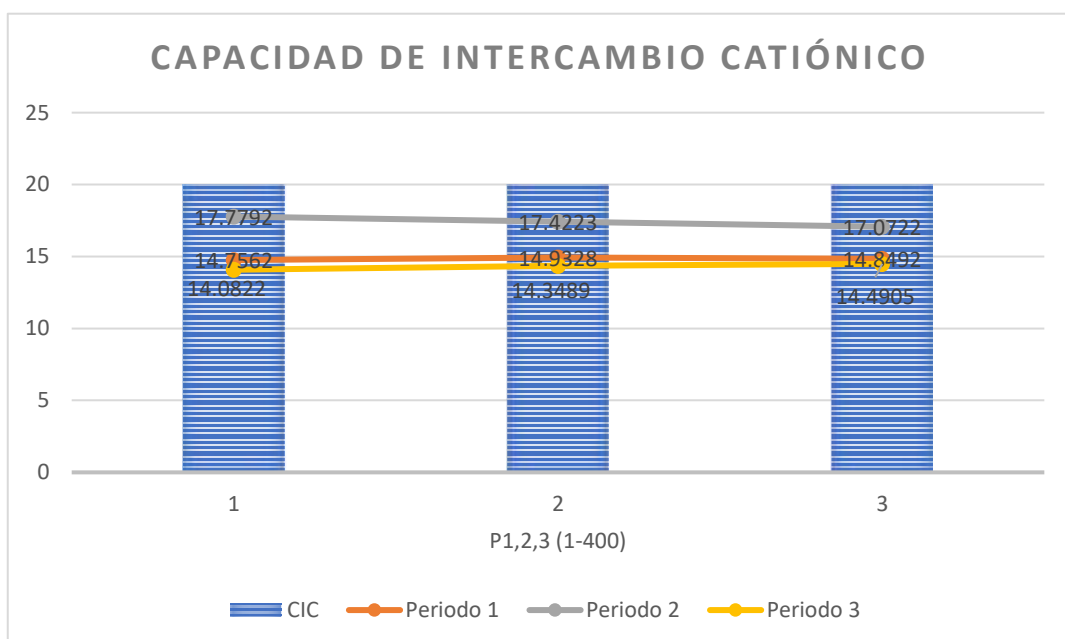


Figura 40: Variación de Capacidad de Intercambio Catiónico– (400ml)

En base a la figura 40, se determina la variación de la capacidad de intercambio catiónico, el primer periodo tiene un valor de 14.75, ya que en el segundo periodo tiene un aumento de 3.023 hasta llegar al valor de 17.77, así mismo en el tercer periodo tiene una disminución de 3.697 hasta llegar al valor de 14.08 Por lo que se verifica que al inicio hubo un aumento en CIC pro para el tercer periodo disminuyo.



## Figuras: Fosforo (%)

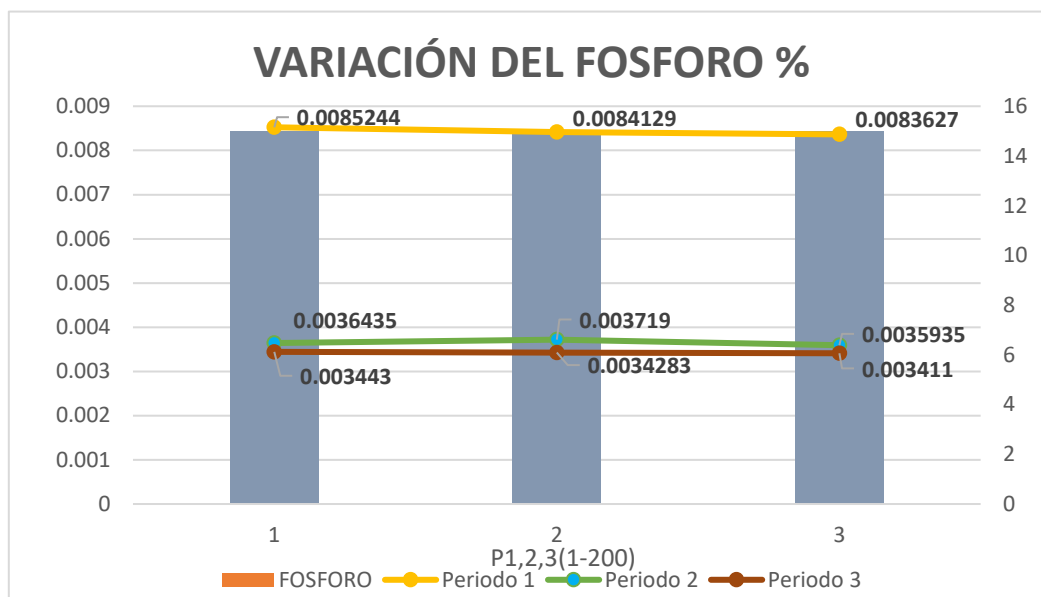


Figura 41: Variación de Fosforo– (200ml)

En base a la figura 41, se verifica la variación del % de Fosforo en los tres periodos, lo cual nos dice que en el primer periodo tiene un valor de 0.0085 %, pasando al segundo periodo que muestra 0.0036 % de fosforo en relación con el primero disminuye el % de fosforo. Así mismo se muestra que en el tercer periodo disminuye llegando a 0.0034, lo cual nos da a entender que, durante la investigación con 200 ml, se da una disminución en cada periodo.

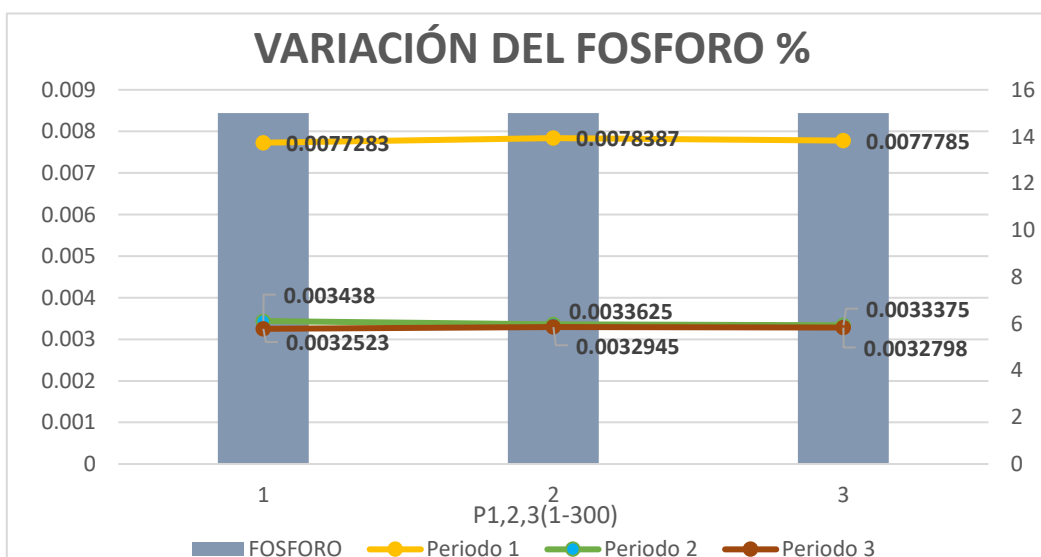


Figura 42: Variación de Fosforo– (300ml)

En base a la figura 42, se verifica la variación del % de Fosforo en los tres periodos, lo cual nos dice que en el primer periodo tiene un valor de 0.00772 %, pasando al segundo periodo que muestra 0.0034 % de fosforo en relación con el primero disminuye el % de fosforo. Así mismo se muestra que en el tercer periodo disminuye llegando a 0.00325, lo cual nos da a entender que, durante la investigación con 200 ml, se da una disminución en cada periodo.

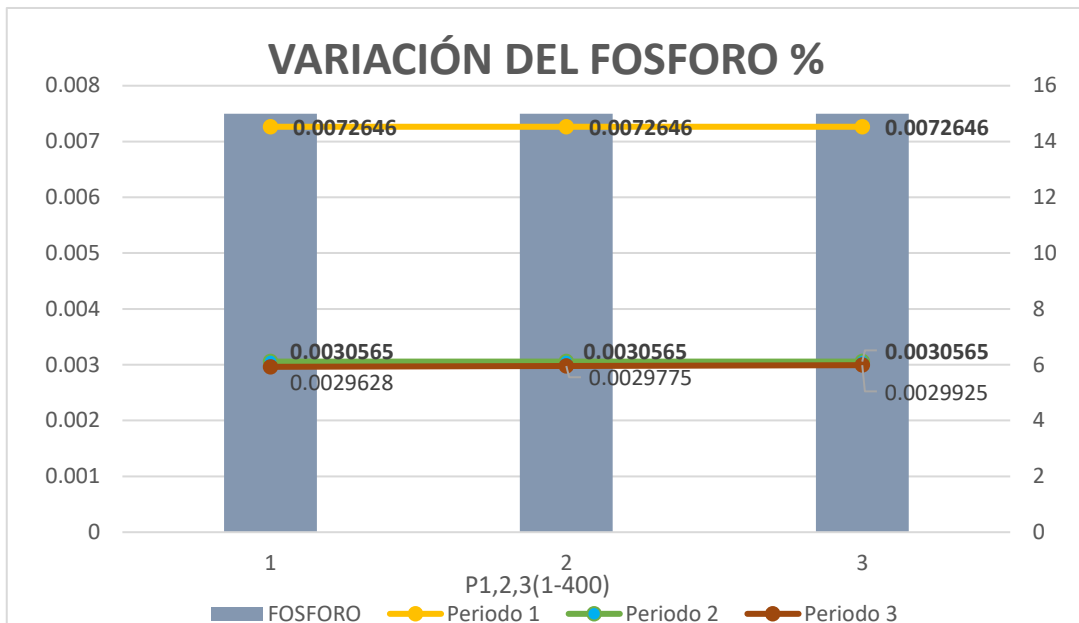


Figura 43: Variación de Fosforo– (400ml)

En base a la figura 43, se verifica la variación del % de Fosforo en los tres periodos, lo cual nos dice que en el primer periodo tiene un valor de 0.00772 %, pasando al segundo periodo que muestra 0.0034 % de fosforo en relación con el primero disminuyo el % de fosforo. Así mismo se muestra que en el tercer periodo disminuye llegando a 0.00325, lo cual nos da a entender que, durante la investigación con 200 ml, se da una disminución en cada periodo.

**Figuras: Nitratos (mg/L)**

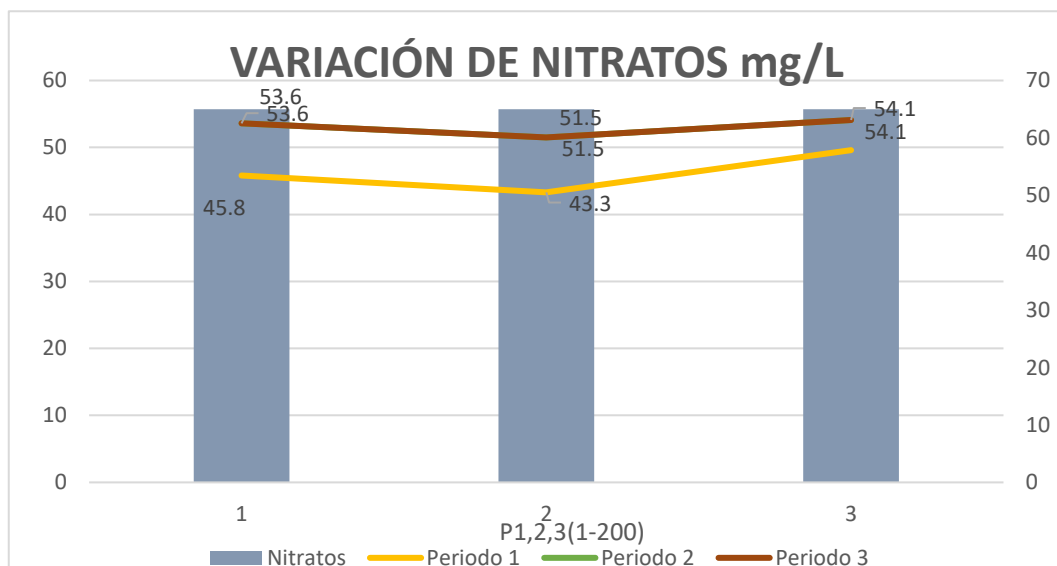


Figura 44: Variación de Nitrato– (200ml)

En base a la figura 44, vemos la variación de nitratos en los tres periodos, en el primer periodo se muestra con un valor de 45.8 mg/L, en el segundo se da una variación de aumento con 53.6 mg/L. Así mismo en el tercer periodo se mantiene el mismo valor. Dando así a entender que solo tuvo una variación en el segundo periodo referente al primero.

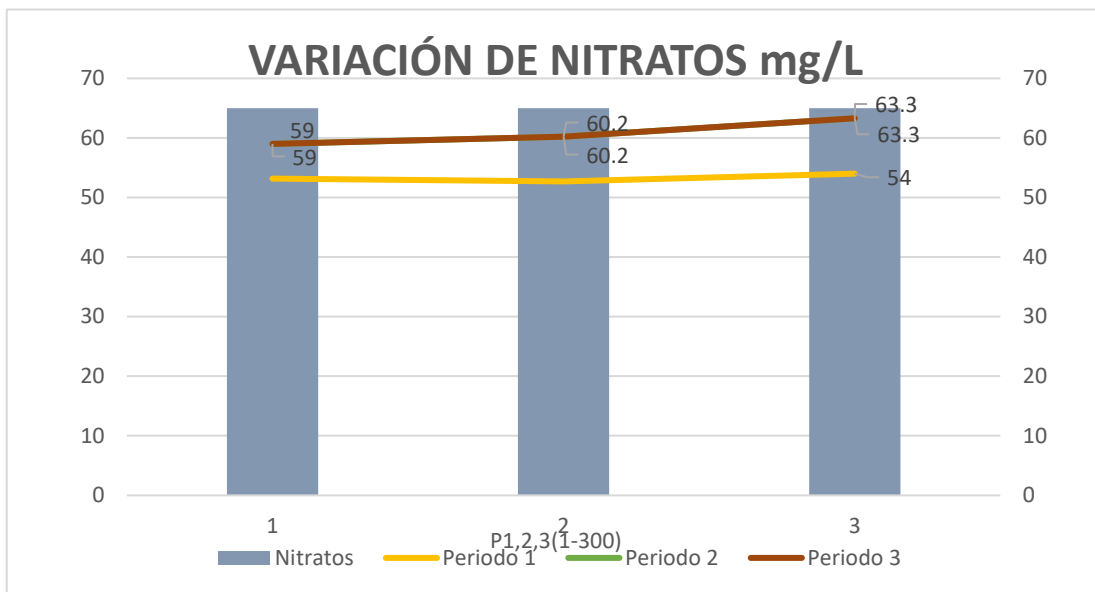


Figura 45: Variación de Nitratos – (300ml)

En base a la figura 45, vemos la variación de nitratos en los tres periodos, en el primer periodo se muestra con un valor de 53.8 mg/L, en el segundo se da una variación de aumento con 59 mg/L. Así mismo en el tercer periodo se mantiene el mismo valor. Dando así a entender que solo tuvo una variación en el segundo periodo referente al primero.

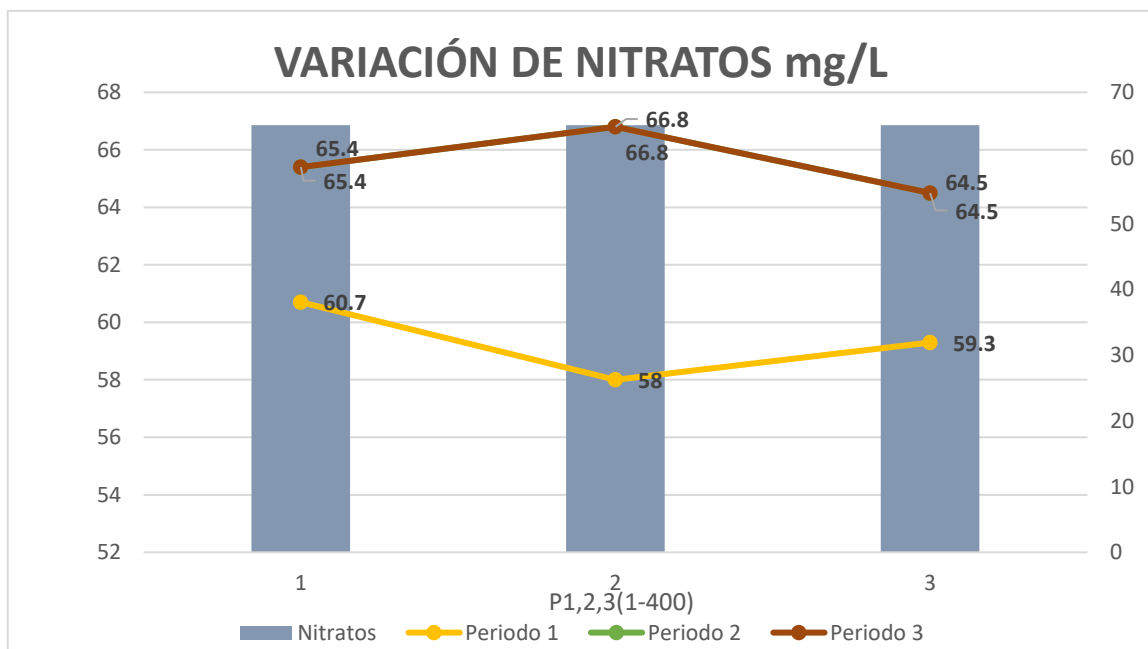
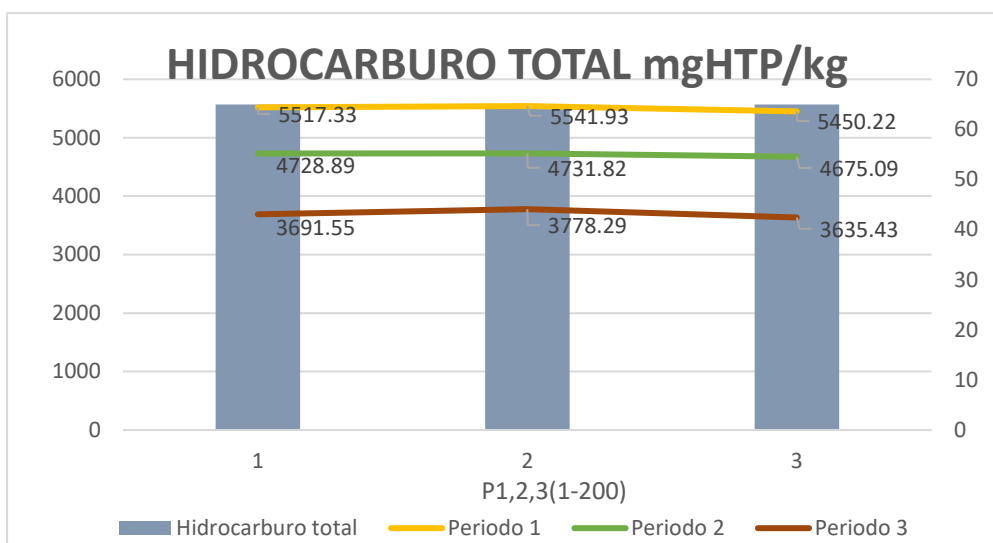


Figura 46: Variación de Nitratos – (400ml)

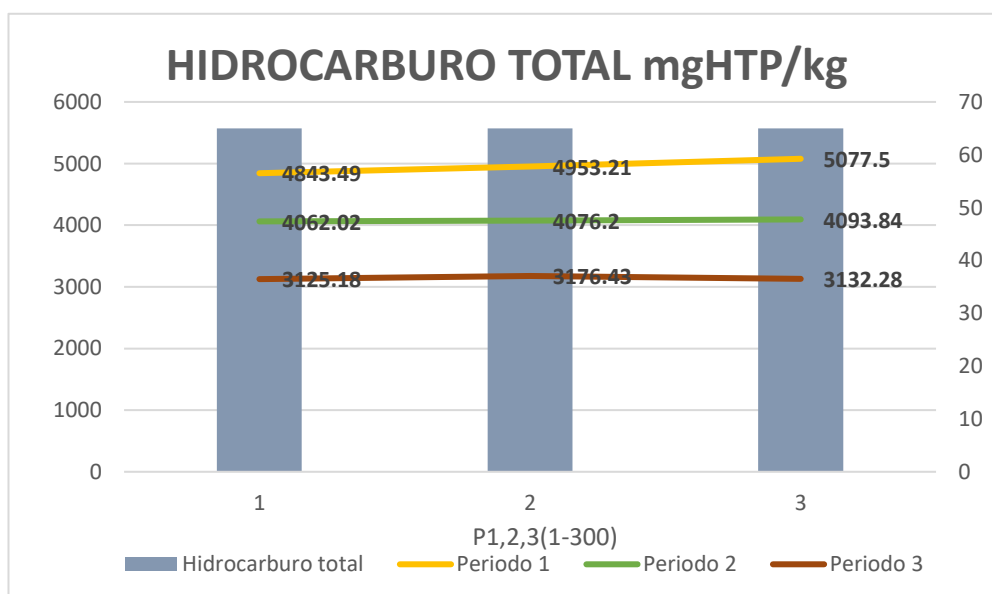
En base a la siguiente figura 46, vemos la variación de nitratos en los tres periodos, en el primer periodo se muestra con un valor de 60.7 mg/L, en el segundo se da una variación de aumento con 65.4 mg/L. Así mismo en el tercer periodo se mantiene el mismo valor. Dando así a entender que solo tuvo una variación en el segundo periodo referente al primero.

**Figuras: Hidrocarburo total (mgHTP/kg)**



**Figura 47: Variación de Hidrocarburo Total – (200ml)**

En base a la figura 47, se muestra la variación de HTP, en los tres periodos, en el primer periodo se muestra un valor de 5517.33 mgHTP/kg, en el segundo periodo se muestra un valor de 4728.89 mgHTP/kg, lo cual entendemos que hay una disminución de HTP en el suelo. Así mismo se observa que en el tercer periodo disminuye en 3691.55. Lo cual vemos que es factible la investigación ya que se da una reducción estable en los tres periodos.



**Figura 48: Variación de Hidrocarburo Total – (300ml)**

En base a la figura 48, se muestra la variación de HTP, en los tres periodos, en el primer periodo se muestra un valor de 4843.49 mgHTP/kg, en el segundo periodo se muestra un valor de 4062.02 mgHTP/kg, lo cual entendemos que hay una disminución de HTP en el suelo. Así mismo se observa que en el tercer periodo disminuye en 3125.18 mgHTP/kg. Lo cual vemos que es factible la investigación ya que se da una reducción estable en los tres periodos.

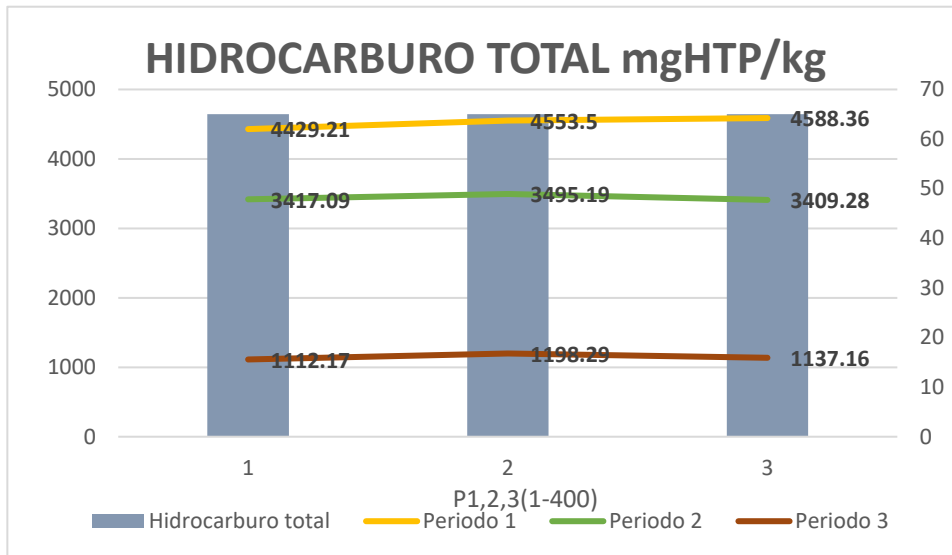


Figura 49: Variación de Hidrocarburo Total – (400ml)

En base a la figura 49, se muestra la variación de HTP, en los tres periodos, en el primer periodo se muestra un valor de 4429.21 mgHTP/kg, en el segundo periodo se muestra un valor de 3417.29 mgHTP/kg, lo cual entendemos que hay una disminución de HTP en el suelo. Así mismo se observa que en el tercer periodo disminuye en 1112.17 mgHTP/kg. Lo cual vemos que es factible la investigación ya que se da una reducción estable en los tres periodos.

## ESTADÍSTICA DEL TRATAMIENTO DE SUELO CONTAMINADO CON HTP

Con este tratamiento estadístico se busca, identificar la diferencia entre las medias y las varianzas mediante la prueba ANOVA, el periodo que tuvo mayor reducción de Hidrocarburos Totales de Petróleo mediante la biodegradación de la *Pseudomonas fluorescens* que se realizó en la investigación.

### Resultados de contenido inicial y final de Hidrocarburo Total de Petróleo en el suelo contaminado (P1, P2, P3).

**Tabla N°28: Resultados de determinación de HTP (método de reflujo - Soxhlet) (HTP Inicial: 6450.00)**

PERIODO 1	Peso de balón seco g	Peso de balón + muestra	Peso de la muestra seca	Hidrocarburo total mgHTP/kg
P1(1-200)	187.3296	187.3649	5.0657	5517.33
P1(2-200)	187.3288	187.3640	5.04469	5541.93
P1(3-200)	187.3292	187.3639	5.0644	5450.22
P1(1-300)	201.7087	201.7415	5.0437	4843.49
P1(2-300)	201.7084	201.7411	5.0532	4953.21
P1(3-300)	201.7085	201.7420	5.0501	5077.50
P1(1-400)	217.8849	217.9135	5.0212	4429.21
P1(2-400)	217.8836	217.9121	5.0410	4553.50
P1(3-400)	217.8838	217.9130	5.0256	4588.36

En la tabla N°28, se muestra los diferentes valores obtenidos, del Hidrocarburo Total de Petróleo, en el cual se muestra, peso de balón seco, peso del balón más la muestra y el peso de la muestra seca, dando como resultado los diferentes resultados en las tres etapas dentro del primer periodo, donde en la primera etapa dio 5517.33 mgHTP/kg y en la última etapa llegó a 4588.36 mgHTP/kg. Lo cual nos da a entender que hay una reducción favorable en el primer periodo.

**Tabla N°29: Resultados de la determinación de HTP (método de reflujo - Soxhlet) (HTP Inicial: 6598.00).**

PERIODO 2	Peso de balón seco g	Peso de balón + muestra	Peso de la muestra seca	Hidrocarburo total mgHTP/kg
P2(1-200)	217.7649	217.7950	5.0012	4728.89
P2(2-200)	217.7646	217.7947	5.1004	4731.82
P2(3-200)	217.7648	217.7949	5.1301	4675.09
P2(1-300)	187.4386	187.4655	5.0025	4062.02
P2(2-300)	187.4388	187.4642	5.1402	4076.20
P2(3-300)	187.4382	187.4664	5.1005	4093.84
P2(1-400)	201.6177	201.6411	5.0120	3417.09
P2(2-400)	201.6177	201.6392	5.0103	3495.19
P2(3-400)	201.6175	201.6389	5.0015	3409.28

En la tabla N°29, se muestra los diferentes valores obtenidos, del Hidrocarburo Total de Petróleo, en el cual se muestra, peso de balón seco, peso del balón más la muestra y el peso de la muestra seca, dando como resultado los diferentes resultados en las tres etapas dentro del primer periodo, donde HTP de la etapa inicial es 4728.89 mgHTP/kg y en la última etapa llego a 3409.28 mgHTP/kg. Lo cual nos da a entender que hay una reducción favorable en el segundo periodo.

**Tabla N°30: Resultados determinación de HTP (método de reflujo - Soxhlet) (HTP Inicial: 6598.00)**

PERIODO 3	Peso de balón seco g	Peso de balón + muestra	Peso de la muestra seca	Hidrocarburo total mgHTP/kg
P3(1-200)	187.1296	187.1532	5.0617	3691.55
P3(2-200)	187.1391	187.1630	5.0269	3778.29
P3(3-200)	187.1292	187.1523	5.0544	3635.43
P3(1-300)	201.1057	201.1267	5.0047	3125.18
P3(2-300)	201.1244	201.1451	5.0031	3176.43
P3(3-300)	201.1055	201.1259	5.0001	3132.28
P3(1-400)	217.1229	217.1301	5.0342	1112.17
P3(2-400)	217.1136	217.1211	5.0410	1198.29
P3(3-400)	217.1438	217.1510	5.0013	1137.16

En la tabla N°30, se muestra los diferentes valores obtenidos, del Hidrocarburo Total de Petróleo, en el cual se muestra, peso de balón seco, peso del balón más la muestra y el peso de la muestra seca, dando como resultado los diferentes resultados en las tres etapas dentro del primer periodo, donde HTP de la etapa inicial es 3691.55 mgHTP/kg y en la última etapa llego a 1137.16 mgHTP/kg. Lo cual nos da a entender que hay una reducción favorable en el tercer periodo.

## Resultados Estadísticos.

Tabla 31: Resumen de procesamiento de casos

Resumen de procesamiento de casos						
	Casos					
	Válido		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
TS_1	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%
TS_2	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%
TS_3	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%

El resumen de procesamiento de los casos nos muestra que el estadístico no ha hecho exclusión en ninguno de los datos de los 3 periodos analizados ya que se puede apreciar que se encuentran al 100%.

Tabla 32: Pruebas de normalidad- Periodos 1,2,3,- SHTP

Pruebas de normalidad- Periodos 1,2,3,- SHTP						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
TS_1	,188	9	,200*	,903	9	,272
TS_2	,194	9	,200*	,854	9	,082
TS_3	,320	9	,008	,769	9	,009

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

De acuerdo a la estadística se pudo determinar que el numero de muestras fue menor a 50 por lo tanto la evaluación se determinó por Shapiro Wilk, donde la prueba es normal, porque la significancia es diferentes teniendo un  $p > 0,05$  la que acepta la hipótesis del investigador (hipótesis alterna).



Tabla 33: Correlaciones- TS-1,2,3- SHTP

Correlaciones- TS-1,2,3 SHTP				
		TS_1	TS_2	TS_3
TS_1	Correlación de Pearson	1	,985**	,916**
	Sig. (bilateral)		,000	,001
	N	9	9	9
TS_2	Correlación de Pearson	,985**	1	,951**
	Sig. (bilateral)	,000		,000
	N	9	9	9
TS_3	Correlación de Pearson	,916**	,951**	1
	Sig. (bilateral)	,001	,000	
	N	9	9	9
**. La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).				

En el análisis de correlación se pudo observar que existe una correlación positiva muy baja.

En el análisis de correlación de la tabla numero 31 los datos obtenidos son positivos y tiene una variación de 0.9 hasta 0.99, lo que indica de acuerdo a la estadística que tienen una correlación buena.

Tabla 34: Descriptivos de TS- SHTP, para análisis de varianza

Descriptivos del TS- SHTP									
		N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
TS_1	1	9	4994,9722	431,72487	143,90829	4663,1191	5326,8253	4429,21	5541,93
	2	9	4076,6022	551,33959	183,77986	3652,8051	4500,3993	3409,28	4731,82
	3	9	4076,6022	551,33959	183,77986	3652,8051	4500,3993	3409,28	4731,82
	Total	27	4382,7256	662,60317	127,51804	4120,6085	4644,8426	3409,28	5541,93

En esta tabla N°32 de los descriptivos se puede observar un intervalo de confianza para la media del 95% donde se muestra el límite inferior y superior, así como un mínimo y un máximo ya que se muestra los datos estadísticos completos de la investigación.

Tabla 35: Análisis de varianza (ANOVA) -TS\_HTP

ANOVA-TS_HTP						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
TS_1	Entre grupos	5060420,741	2	2530210,371	9,556	,001
	Dentro de grupos	6354696,367	24	264779,015		
	Total	11415117,109	26			

Se determino el método ANOVA, ya que nos permite la comparación entre las diferencias de la media y las varianzas en la investigación, además, que nos permite identificar a los periodos mediante los resultados de degradación del suelo contaminado con HTP. De acuerdo con el análisis de varianza podemos observar que el F es significativo, con significancia  $p < 0.05$ , por lo tanto, se procederá a determinar el mejor grupo del tratamiento con Duncan.

Tabla 36: Tratamiento de Suelo\_1\_2\_3- Duncan.

TS_1_2_3				
Duncan <sup>a</sup>				
TS_HTP	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
3	9	2665,1978		
2	9		4076,6022	
1	9			4994,9722
Sig.		1,000	1,000	1,000
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.				
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 9,000.				

En tabla N° 34 se observa que Duncan lo ordena a los tratamientos de menor a mayor y nos corrobora que la tercera etapa es la mejor, ya que el promedio obtenido en la tercera etapa es 2665.1978, lo que significa que tiene menos TPH que los demás periodos.

Tabla 37: Tratamiento de Suelo\_1\_2\_3- Tukey

TS_1_2_3			
HSD Tukey <sup>a</sup>			
TS_HTP	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
3	9	2665,1978	
2	9		4076,6022
1	9		4994,9722
Sig.		1,000	,051
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.			
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 9,000.			

Resumen de procesamiento de casos			
		N	%
Casos	Válido	9	33,3
	Excluido <sup>a</sup>	18	66,7
	Total	27	100,0
a. La eliminación por lista se basa en todas las variables del procedimiento.			

De acuerdo con el análisis inferencial de Tukey y Duncan los dos nos indican que el periodo 3 del tratamiento fue el mejor corroborando la hipótesis planteada en la investigación. Así mismo Tukey me clasifica de menor a mayor solo que en este caso nos muestra dos que tienen relaciones, y de igual manera muestra que la tercera etapa es la mejor lo cual se puede apreciar en Tabla 34.

Tabla 38: Pruebas de normalidad- Del pH en los 3 Periodos

Pruebas de normalidad- Del pH en los 3 Periodos						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
pH_T1	,146	9	,200*	,934	9	,517
pH_T2	,208	9	,200*	,878	9	,151
pH_T3	,198	9	,200*	,897	9	,237
*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.						
a. Corrección de significación de Lilliefors						

Tabla 36: Los estadísticos que se analizaron fueron la variación del potencial de hidrogeno en los tres periodos los que son normales, por tener un  $p > 0.05$ , lo que hace que sean paramétricos.

Tabla 39: ANOVA-TS-HTP

ANOVA-TS-HTP						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
pH_T1	Entre grupos	,552	2	,276	4,477	,022
	Dentro de grupos	1,481	24	,062		
	Total	2,033	26			

Se determino el método ANOVA, ya que nos permite la comparación entre los diferentes periodos que se analizó dentro de la investigación, lo cual nos permite verificar cuál de los tres periodos fue el que tuvo mejores resultados de degradación de HTP. De acuerdo con el análisis de varianza podemos observar que el F es significativo, con significancia  $p < 0.05$ , por lo tanto, se procederá a determinar el mejor grupo del tratamiento con Tukey.

Tabla 40: Potencial de Hidrogeno del Tratamiento.

pH_T1			
HSD Tukey <sup>a</sup>			
pH_TSP	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
1	9	6,7044	
2	9	6,9478	6,9478
3	9		7,0444
Sig.		,116	,691
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.			
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 9,000.			

Según la tabla se pudo observar cómo fue el comportamiento del pH en los periodos quedando en un potencial de Hidrógeno acto para cultivar. Dando una semejanza entre el primer y segundo periodo; así mismo en el tercer periodo se observa una variación con el primero.

Tabla 41: Pruebas de Normalidad-Humedad de los tres periodos.

Pruebas de normalidad- Humedad de los Periodos						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
HS_1	,278	9	,044	,858	9	,090
HS_2	,272	9	,053	,913	9	,340
HS_3	,237	9	,155	,868	9	,116

a. Corrección de significación de Lilliefors

Tabla 39: La normalidad del estadístico tiene  $p > 0.05$ , lo que hace que se acepte la hipótesis alterna del análisis.

Tabla 42: Humedad del suelo- Periodo 1,2,3

HS_1,2,3		
HSD Tukey <sup>a</sup>		
HS_SF	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
2	9	20,515389
3	9	20,601244
1	9	21,560422
Sig.		,764
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.		
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 9,000.		

Según la tabla se pudo apreciar la humedad se mantuvo porque el crecimiento bacteriano siguió trabajando de acuerdo al estadístico inferencial de Tukey. Y así demostrando que periodo a periodo hubo un crecimiento de las bacterias.

## **V.- DISCUSIÓN**



La temperatura es uno de los factores más importantes, dentro de la investigación ya que no solo se estudió su variación, sino que la importancia conlleva a que la bacteria tiene que vivir a una temperatura adecuada para su crecimiento óptimo, el cual fue de 20 °C. Prueba de ello Pérez, Coto et. al (2015) nos menciona en su investigación que la temperatura más favorable para su desarrollo de la bacteria es de 20 °C a 25°, aunque puede crecer desde los 5 °C hasta los 42 °C. Por lo consiguiente, la temperatura en nuestra investigación es aceptable de 0 a 25°C para los análisis químicos y microbiológicos, con semejanza las cuales Pérez dice haber utilizado de 30 °C.

El potencial de hidrogeno es un parámetro muy importante, lo cual se dio una prioridad para la medición ya que las bacterias, necesitan un pH neutro para su supervivencia dentro del desarrollo de la investigación. Según menciona Pérez, Coto et. al (2015) la bacteria necesita un pH neutro ya que no crece en condiciones ácidas ( $\text{pH} \leq 4.5$ ). Lo cual, se tiene que el pH obtenido en el tratamiento fue aceptable para el desarrollo de la bacteria.

La conductividad eléctrica nos hace ver que, dentro del proceso de degradación, para el primer periodo comenzó 106  $\mu\text{S}/\text{cm}$  y al finalizar llegó 120  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Marín (2018) explica que la conductividad del suelo dentro de un proceso de degradación debe tener un rango de 120  $\mu\text{S}/\text{cm}$ -180  $\mu\text{S}/\text{cm}$  para poder tener un suelo óptimo para su producción. Se determina que el rango establecido no afecta ya que en la variación existente no existe un valor muy elevado ni muy bajo lo cual nos hace ver que está dentro del rango.

Viendo el color y el olor del suelo dentro de este proceso se determinó que en el periodo 1, se calculó un valor de -233 que hace ver que existe reducción, al pasar el proceso de remediación el suelo llega a un valor de -190. Tanto que Pisfil (2019) hace referente a que la variación de reducción y oxidación de un proceso de remediación esta entre 200,-200. Por lo tanto, los datos obtenidos son deferentes al dato expuesto por el autor ya mencionado.

La humedad se mantuvo constante agregando a cada tratamiento la cantidad de agua que se perdía por evaporación, la cual se determinó por diferencia de peso de cada una de las unidades experimentales. La humedad es un factor que se tiene en cuenta dentro de la degradación ya que, si el suelo se seca, y deja de existir humedad la bacteria no sobreviviría a al medio y dificultaría la investigación. Ya que en nuestra investigación el suelo variaba entre 23% de humedad inicial y al llegar al tercer periodo que mostró con un aumento de 30 % d humedad. Por ello Herrero (2016) refiere que la humedad en el suelo para que una bacteria u organismo pueda sobrevivir es de 20 a 60 % de humedad. Así mismo, se entiende que nuestra investigación llega al rango establecido por el autor, aunque en este caso se llegó a 30 % de humedad en el suelo como máximo, lo cual nos hace ver que la bacteria tenía un desarrollo óptimo ya que necesita una cierta cantidad de humedad para la ayuda de la degradación del contaminante en el suelo.

En cuanto a la cantidad de materia orgánica no hubo diferencias significativas entre el suelo limpio y contaminado, lo cual elimina la posibilidad de que durante el tratamiento de biodegradación esta se remueva en conjunto con el contaminante, demuestra que la biodegradación ocurrió entre los poros del suelo sin causar afecciones a la superficie de las partículas en donde se encuentra la materia orgánica. Esto demostrando lo que menciona Martínez (2017), que los microorganismos ayudan a estimular la eliminación de contaminantes del suelo.

En cuanto a la Capacidad de intercambio Cationico, inicial es de 9.2390 meg/100 mg al terminar el primer periodo da un valor de 14.8492 meg/100 mg, el segundo periodo comenzó con 13.1626 meg /100 mg y termino con un valor de 17.0722 meg/100 mg y el tercer periodo termino con 14.4805 meg/ 100 mg . En su investigación Adams (2016), demuestra que la CIC son los encargados de retener los iones y cationes de un suelo, finalmente, la CIC tuvo una ligera variación al estar presente el hidrocarburo respecto al suelo limpio, dado que el valor del CIC incremento debido al incremento de *Pseudomonas* en el tercer periodo. Lo cual nos hace ver en referencia con la investigación de ya

mencionada lleva una relación de incremento en cada periodo ya que el mediante el incremento se va dando mejora el intercambio de iones dentro del suelo degradado.

En su investigación Alba (2018) demostró una mejor eficiencia de remoción de HTP con un 81,9% de remediación, lo cual aplicado en nuestros 3 periodos que constaba cada uno de 10 días se demostró un 82.9% de biodegradación del suelo contaminado por HTP, lo cual con esto da validez y confiabilidad al tratamiento con *Pseudomonas Fluorescens* debido a su alta capacidad de degradar petróleo.

Dentro de nuestra investigación en el primer periodo, se obtuvo 59.3 mg/L, al pasar al siguiente periodo que es el segundo se obtuvo 64.5 mg/L y en el tercer periodo 64.5 mg/L. De acuerdo con Lee et al. (2019), la adición de nutrientes tales como nitratos y fósforo en suelos contaminados con hidrocarburos, incrementa la velocidad de remoción de dichos contaminantes, lo cual fue comprobado en el presente trabajo. Estos autores obtuvieron entre un 42 y 51 % de remoción en el suelo contaminado con HTP después de 105 días, agregándole un fertilizante al suelo contaminado, mientras que el presente trabajo por atenuación natural fue de un 86% después de 30 días. Lo cual nos hace ver que la investigación en su punto más alto dio positivo en el incremento de nitratos, fósforo, ya que la bacteria para tener un óptimo desarrollo necesita presencia de nitratos, además es un indicador para determinar la presencia de bacterias. Así mismo nos da a entender que el aumento de nitratos nos da como dato que el suelo está recuperándose favorablemente.

## **VI.- CONCLUSIONES**

Se evaluó la biodegradación de hidrocarburos totales en el suelo contaminado utilizando la *Pseudomona Fluorescens*, resultando que al inicio de la investigación, en el primer periodo se tuvo 6800 mgHTP/kg y su efectividad tubo un proceso de 30 días, en los cuales se monitoreo los parámetros fisicoquímicos y la reducción de petróleo y al finalizar el tercer periodo se obtuvo un valor de 1137.16 mgHTP/kg, por lo consiguiente, se observa, que sí, tuvo una reducción muy alta, ya que se llegó al rango permitido para un suelo agrícola en el ECA que es 1200 mgHTP/kg para el suelo agrícola.

Se evaluó las características fisicoquímicas como data final de: Temperatura de 20.5 °C, pH de 7.2 Neutro, Conductividad Eléctrica de 120.0  $\mu$ S/cm, Potencial redox de -190 mv, humedad de 27.27%, materia orgánica de 3.34%, Capacidad de intercambio catiónico de 14.49 meg/100g, nitratos de 64.5 mg/L, durante todo el periodo que se dio de manera positiva. Según los datos obtenidos se observaba que el suelo mejoraba al pasar el tiempo determinado para la investigación, se monitoreo el pH ya que la bacteria no puede subsistir en un ambiente ácido; se monitoreo la humedad ya que la bacteria necesita un porcentaje de humedad dentro del suelo para poder vivir.

Se identificó la *Pseudomona Fluorescens* utilizando 3 tipos de plantas, los cuales fueron, el maíz, el tomate y la alfalfa, posteriormente se llevaron al laboratorio para su análisis, mediante la tinción gran se vio que el maíz era la planta que tenía un grupo mayor de Gram (-). Así mismo mediante el método de dilución de tubos múltiples que va de  $10^{-1}$  a  $10^{-5}$  se encontró en  $10^{-2}$  2751.66 UFC y en  $10^{-3}$  1906.66 UFC. Por consiguiente, se realizó la obtención de la *P. Fluorescens* mediante integración de un AGAR diferencial llamado agar Cetramide, Separó a la *P. Fluorescens* de las demás, Pasado el tiempo de 24 horas, se colocó en luz ultravioleta lo que nos aseguró de que si era la bacteria que se buscaba, así que se recolecto 30 plantas de las cuales se extrajo la *Pseudomona*.

Se evaluó, que la inoculación de la *Pseudomona Fluorescens* se dio en los tres periodos, en el primer periodo se inoculo 200ml de solución de la bacteria, lo cual, nos da un valor de 3813.32 UFC, en el segundo periodo se inoculo 300ml de solución de la bacteria dando un valor de 5719.98 UFC, y en el tercer periodo se agregó 400 ml con un valor de 7626.64 UFC. Así mismo cabe mencionar que en cada periodo hubo 9 muestras en las cuales se inoculo la bacteria para su monitoreo progresivo y así comprobando cuál de los tres periodos es más efectivo en relación a la cantidad de pseudomonas inoculadas.

Se determino el contenido inicial y final de Hidrocarburo total de petróleo del suelo contaminado con hidrocarburos, a través del tratamiento de biodegradación con *Pseudomonas Fluorescens*. En el cual se obtuvo como HTP inicial de 6450.00 mgHTP/kg, mediante el análisis de laboratorio. Así mismo al realizar la inoculación de la bacteria se realizó el monitoreo del primer periodo, en (P1-400ml), dio como resultado una disminución hasta 4588.36 mgHTP/kg; (P2-400ml), dio como dato 3409.28 mgHTP/kg y en el tercer periodo (P3-400ml), dio 1137.16 mgHTP/kg. Por ello el tratamiento de biodegradación con *Pseudomona Fluorescens*, presenta resultados relevantes, en la degradación de HTP, siendo así un método muy eficaz, ya que el porcentaje de degradación fue de 82.9%.

## **VII.- RECOMENDACIONES**

Realizar una prueba piloto de sembrío de plantas leguminosas, en el suelo que se está tratando para observar el crecimiento de las plantas y así observar si el suelo tratado es factible para el sembrío, ya una vez que el suelo se encuentre en su etapa final de biodegradación.

Aplicar esta técnica a gran escala, ya que, en las pruebas de laboratorio se logró una reducción de 82,9% de biodegradación, por ende, en condiciones óptimas de lugar de estudio se podría desarrollar a gran escala, y así demostrar que el tratamiento sirve de forma in situ, ya que se determinaría si las condiciones a las que estaría expuesta la bacteria sería factible para llevar a cabo dentro del lugar contaminado.

Ya que sabemos que la bacteria no sobrevive a un suelo con pH ácido. Aplicar el tratamiento de biodegradación, en un suelo contaminado que tenga un pH alcalino que sea ( $>7.5$ ), para determinar, si la bacteria tiene la misma subsistencia o si tiene alguna variación dentro del tratamiento. ya que, según menciona (Pérez, Coto et. al, 2015) la bacteria necesita un pH neutro ya que no crece en condiciones ácidas ( $\text{pH} \leq 4.5$ ).



## **REFERENCIAS**

ALEGBELEYE, Opelu, et al. Hidrocarburos aromáticos policíclicos: una revisión crítica de la ocurrencia ambiental y la biorremediación. Gestión del medio ambiente [En línea].2017, octubre, Vol 60(4).758–783[Fecha de consulta 22 de septiembre de 2020]. ISSN: 2857 3478

Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00267-017-0896-2>

ALONSO RIESCO, Raquel. Proyecto de recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos [En línea]. Tesis de titulación. Cerdanyola del valle: Universidad autónoma de Barcelona [Consulta: septiembre de 2020].

Disponible en: <https://n9.cl/6p5s4>

ÁNGELES, Roxana. Evaluación de la biodegradación de hidrocarburos en microcosmos, de manglares utilizado la técnica de bioestimulación. Su principal objetivo fue la evaluación de la capacidad de degradación de hidrocarburos presentes en sedimentos de manglar. Tesis (Maestras en Ciencias del Ambiente) Tuxpan: Universidad Veracruzana, 2015. 58 pp.

ÁLVAREZ, Sandra et al. Pseudomonas fluorescens Migula, ¿control biológico o patógeno? Revista científica [En línea]. [Fecha de consulta: 7 de noviembre del 2020].

Disponible en: <https://n9.cl/pfbzy>

ARENAS, Daniela. Proceso de biodegradación para el tratamiento de derrames de petróleo por medio de pseudomonas. Tesis (Especialista en Gestión Ambiental) Bogotá: Fundación Universidad de América, 2018. 133 pp.

BEHERA, Bijay et al. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en ecosistemas acuáticos continentales: peligros y remedios mediante biosensores y biorremediación. Environmental polución [En línea].2018, octubre, VOL 241(1).212- 233[Fecha de consulta 22 de septiembre de 2020]. ISSN 2980-7281

Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.05.016>

BENAVIDES, López, GUEVARA, Vizcaíno, A, et al. Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. Ciencias Biomédicas [En línea]. 2006, Junio, Vol. 4(5).82-90. [Fecha de consulta: 21 de octubre de 2020]. ISSN: 15391558

Disponible en: <https://doi.org/10.22490/24629448.351>

BRAIBANT, Caroline. Estudio del potencial de degradación de los hidrocarburos por Acinetobacter sp. Y Pseudomona putida para su aplicación en la biorremediación de suelos contaminados. Informe Practica de Especialidad. Cartago: Instituto Tecnológico de Costa Rica, 2016. 120 pp.

BUENDIA, Hildebrando. Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante el compost de aserrín y estiércol. (Artículo científico en línea). Julio-diciembre 2012, n.º15.

[Fecha de consulta: 29 de mayo de 2020]. ISSN:1561-0888 Disponible en <https://n9.cl/i61a0>

CASTILLO, Paul. Aplicación de la técnica de LANDFARNING para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Tesis (Ingeniero Civil) Piura: Universidad de Piura, 2019. 89 pp.

CHAVÉZ, Perla. La papa, tesoro de los Andes. Centro internacional de la papa.

Disponible en: [https://fci.uib.es/digitalAssets/177/177040\\_peru.pdf](https://fci.uib.es/digitalAssets/177/177040_peru.pdf)

CCANCCE, Juan. Determinación de bacterias heterotróficas en suelos contaminados con hidrocarburos y su capacidad de tolerar concentraciones crecientes de petróleo in vitro. Tesis (Licenciado en Biología) Puno: Universidad Nacional del Altiplano, 2018. 65 pp.

COLLA, Tatiana et al. Evaluación de la biorremediación de suelos contaminados con diésel y biodiésel mediante una estrategia de bioaumentación alternativa. Investigación en ciencias ambientales y contaminación [En línea]. 2017, octubre, vol. 21(4). 2592-602. [Fecha de consulta 10 de septiembre de 2020]. ISSN 24091 2.

Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2139->

CONGRESO de la república. Comisión investigadora del Oleoducto. 02 de noviembre del 2017.

Disponible en: <https://n9.cl/cqopk>

DERAS, Héctor. El cultivo del maíz. Revista de ciencia. [En línea]. [Fecha de consulta: 8 de noviembre del 2020].

Disponible en: <http://repiica.iica.int/docs/b3469e/b3469e.pdf>

ESCALANTE, Roció, Biodegradación de crudo de petróleo en terrarios. Tesis (Magister en Biotecnología). Lima: Universidad Mayor de San Marcos, 2002.

Disponible en: <https://n9.cl/3osc1>

FENGMEI, Li, et al. Isolation and characterization of heavy polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria adapted to electrokinetic conditions. *Biodegradation* [En línea].2016, febrero, Vol. 27(1). 1-13 [Fecha de consulta 24 de septiembre de 2020]. ISSN 2661-5425

Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10532-015-9750-5>

FLORES, Carlos, MENDOZA, Jorge. Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos por derrames de la estación de servicios en el campamento de GUARUMALES. Tesis (Ingeniero Ambiental) Cuenca: Universidad de Cuenca, 2017. 129 pp.

GARRIDO-SANZ, D. Genomic and Genetic Diversity within the *Pseudomonas fluorescens* Complex. *PloS one* [En línea]. 2016, febrero, Vol 11(2). [Fecha de consulta 24 de septiembre de 2020]. ISSN 2691-5094

Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150183>

GARCIA, Jennyfer, et al. Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. Artículo de revisión [En línea].2017, agosto, Vol 19(2).309-318.

[Fecha de consulta 22 de septiembre de 2020]. ISSN: 1719-0293 Disponible en: <https://n9.cl/508n8>

HACK, Norman et al. Biodegradation of phenol, salicylic acid, benzenesulfonic acid, and iomeprol by *Pseudomonas fluorescens* in the capillary fringe. *Journal of contaminant hydrology* [En línea].2015, diciembre, vol. 183 (1). 40-54. [Fecha de consulta 24 de septiembre de 2020]. ISSN 2652-9301

Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2015.10.005>

HERNANDEZ, Gina, et al. Biorremediación de organofosforados por hongos y bacterias en suelos agrícolas: revisión sistemática. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria* [En línea].2017, abril, Vol 18(1).139-159. [Fecha de consulta 22 de septiembre de 2020]. ISSN: 0122-8706

Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v18n1/v18n1a09.pdf>

HERRENO PEÑA, Maria,2016. PEREZ POZO, Marco,2018. Evaluación de la biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos utilizando pseudomonas fluorescens [En línea]. Tesis doctoral. Madrid: Universidad politécnica de Madrid [Consulta: septiembre de 2020].

Disponible en: <https://n9.cl/pp7x6>

HERRERO, José. Comparativa de métodos de descontaminación de suelos afectados por hidrocarburos. Aplicación a la obra del ave de Málaga. Tesis (Ingeniero de Minas). Madrid: Universidad Politécnica de Madrid. 2016.

Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/148679959.pdf>

JIMÉNEZ, Verónica. Desarrollo de una metodología mediante acoplamiento de bioaumentación, bioestimulación y bioventeno para la remediación de un suelo costero contaminado con hidrocarburos. Tesis (Doctora en Ciencia y Tecnología) en la Especialidad de Ingeniería Ambiental) México: CIATEC, 2018. 139 pp.

KARAMALIDIS, A K. et al. Biorremediación a escala de laboratorio de suelos contaminados con petróleo por microorganismos autóctonos y cepa Spet de Pseudomonas aeruginosa añadida. *Tecnología bioambiental* [En línea].2017, abril, vol. 101(16) [Fecha de consulta 10 de septiembre de 2020]. ISSN: 6545-6552 Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.03.055>

KRISDAWATI, Feliz. et al. Efficiency of formulated plant growth promoter *Pseudomonas fluorescens* Inoculant MC46 on soil triclocarban treatment and its effect on *Vigna radiata* growth and soil enzymes. [Fecha de consulta: 1 de octubre el 2020].

Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29190586/>

LLANCO, Leslie, REATEGUI, Bryan. Identificación de bacterias degradadoras de petróleo en ecosistema acuático de una actividad petrolera de coronel portillo-Ucayali, 2018. Tesis. (Ingeniero Ambiental). Universidad Nacional de Ucayali,2020. Disponible en: <https://n9.cl/e6a5>

LUJAN, Daniel. Uso de *Pseudomonas aeruginosa* en biorremediación. Biotecnología [En línea].2019, agosto, VOL. 23.

[Fecha de consulta 21 de septiembre de 2020]. ISSN 3013-0100

Disponible en: [https://smbb.mx/wp-content/uploads/2019/08/5.-Lujan\\_2019.pdf](https://smbb.mx/wp-content/uploads/2019/08/5.-Lujan_2019.pdf)

LUJÁN, Angel. Uso de *Pseudomonas aeruginosa* en biorremediación. Artículo de Revista Científica [En línea]. [Fecha de consulta: 8 de noviembre del 2020]

Disponible en: <https://n9.cl/1wlc>

MAYZ, Juliana, MANZI, Lorna. Bacterias hidrocarburo clásticas del género *Pseudomonas* en la rizosfera de *Samanea saman* (Jacq.) Merr. Revista colombiana de biotecnología [En línea].2017, mayo, Vol 19(1). 29-37 [Fecha de consulta 22 de septiembre de 2020]. ISSN: 0123-3475.

Disponible en: <https://n9.cl/7c3hob>

MENDOZA, Allen. Biodegradación de petróleo diesel-2 en agua de mar por pseudomonas aeruginosa en un biorreactor aireado y Agitado.Sciendo [En línea].2016, junio, Vol 18(1).23-37.

[Fecha de consulta 22 de septiembre de 2020]. ISSN: 1681 7230 Disponible en: <https://n9.cl/ry52y>

MONTÁNCHEZ, Itxaso et al. Aislamiento de especies de Pseudomonas fluorescens altamente resistentes al pentaclorobenceno Folia microbiológica [En línea].2017, Julio, vol. 62(4).325-334[Fecha de consulta 11 de septiembre de 2020]. ISSN 28188482.

Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12223-017-0501-3>

MONTI, Mariela, et al. Engineering Pseudomonas fluorescens for Biodegradation of 2,4-Dinitrotoluene.Applied and Environmental Microbiology Dec [En línea]. 2005, Vol 71(12). [Fecha de consulta 22 de septiembre de 2020]. ISSN:8864-8872 Disponible en: <https://aem.asm.org/content/71/12/8864>

MUKHERJEE, Ashis, Naba Bordoloi. Biorremediación y recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos de aceite de petróleo por un consorcio de bacterias sembradas exógenamente: un estudio a escala piloto. Investigación en ciencias ambientales y contaminación [En línea].2018, septiembre, vol. 18, (3). 471- 8 [Fecha de consulta 10 de septiembre de 2020]. ISSN 20835890.

Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11356-010-0391-2>

MARÍN, Fernando. Biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo por hongos endófitos de la Amazonia Ecuatoriana. Tesis (Licenciado en Ciencias Biológicas) Quito: Pontificia Universidad Católica del Ecuador, 2018. 62 pp.



M, Asma, ABDEL, Wadel, et al. Quantification of catabolic genes for naphthalene dioxygenase (NahAC) and catechol dioxygenase (C23O) produced by pseudomonas fluorescens AH- 40 that degrades phenanthrene. Artículo de revista PMC [En línea]. [Fecha de consulta: 1 de octubre del 2020].

Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32655305/>

NARVAÉS, Silvia, GÓMEZ, Martha. Selección de bacterias con capacidad degradadora de hidrocarburos aisladas a partir de sedimentos del caribe colombiano [En línea]. [Fecha de consulta: 07 de junio del 2021].

Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/mar/v37n1/v37n1a04.pdf>

NAEEM, Urooj, et al. Vanguardias en tecnologías de biorremediación para la eliminación de hidrocarburos de petróleo. Environmental science and pollution research internacional. [En línea].2020, agosto, Vol. 27(22).370-382.

[Fecha de consulta 22 de septiembre de 2020]. ISSN 3139-2621 Disponible en:

<https://doi.org/10.1007/s11356-019-06124-8>

ORTIZ, E, Núñez, R, et al. Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Revista contribución a la educación y la protección del medio ambiente [En línea].2015, agosto, vol.6(2).51-60. [Fecha de consulta: 28 de octubre del 2020]. ISSN:8556-9365

Disponible en: <https://n9.cl/euwnx>

PEREZ POZO, Marco,2018. Evaluación de la biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos utilizando pseudomonas fluorescens [En línea]. Tesis de titulación Quito: Universidad politécnica salesiana [Consulta: septiembre de 2020].

Disponible en: <https://n9.cl/1q4p>

PERÉZ, Rafael. EVALUACIÓN DE LA BIORREMEDIACIÓN EN SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS UTILIZANDO *Pseudomonas fluorescens*. Tesis (INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS).

PINTO, David, SÁNCHEZ, Victor. Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante la utilización de diferentes cepas bacterianas a escala laboratorio. Tesis (Ingeniero Ambiental) Bogotá: Universidad Libre, 2018. 74 pp (NATURALES). Quito: universidad politécnica salesiana sede Quito, 2018. Disponible en: <https://n9.cl/1q4p>

PISFIL, Yessenia. Remediación de suelos contaminados en operaciones de perforación en Nor-Oeste y Selva. Tesis (Ingeniera de Petróleo) Piura: Universidad Nacional de Piura, 2019. 87 pp.

RAMADASS, Kavitha et al. "Biodisponibilidad de hidrocarburos meteorizados en suelos contaminados con aceite de motor: impacto de la bioaumentación mediada por *Pseudomonas* spp. sobre biorremediación. Ciencia del medio ambiente total [En línea].2018, septiembre, vol.636.968-974[Fecha de consulta 11 de septiembre de 2020]. ISSN 29913620.

Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S004896971831564X?via%3Di%3Dhub>

Revista Cubana de Salud Pública [En línea]. Cuba: Instituto Nacional de Higiene Epidemiología Microbiología,2014 [Fecha de consulta: 7 de noviembre del 2020].

Disponible en: <https://n9.cl/p7kjl>

Revista de Ciencias [en línea]. Cali: Universidad del Valle, 2017 [fecha de consulta: 05 de junio de 2021].

Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcien/v22n2/2248-4000-rcien-22-02-00033.pdf>

Revista Int. Contam. Ambie. [en línea]. Patagonia Norte: Argentina, 2017 [fecha de consulta: 05 de junio de 2021].

Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v33n2/0188-4999-rica-33-02-00247.pdf>

Revista de Biología Tropical [en línea]. Mosquera: Colombia, 2017[fecha de consulta: 07 de junio de 2021].

Disponible en: <https://www.scielo.sa.cr/pdf/rbt/v65n2/0034-7744-rbt-65-02-00685.p>

Revista Peruana de Biología [en línea]. Lima: Perú, 2015 [fecha de consulta: 03 de junio de 2021].

Disponible en:

[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-99332015000100006](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332015000100006)

Revista de ciencias peruana [en línea]. Huánuco: Perú, 2017[fecha de consulta: 01 de junio de 2021].

Disponible en:

[https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/2396/TESIS\\_MVINAS\\_CANALS.pdf](https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/2396/TESIS_MVINAS_CANALS.pdf)

Revista de ciencias [En línea]. Cali: Universidad del valle,2017 [Fecha de consulta: 01 de octubre del 2020].

Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcien/v22n2/2248-4000-rcien-22-02-00033.pdf>

ROJAS, Marcelo Tipos de Investigación científica: Una simplificación de la complicada incoherente nomenclatura y clasificación. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria [en línea]. 2015, 16(1), 1-14[fecha de Consulta 5 de octubre de 2020]. ISSN: 1695-7504

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63638739004>

ROMAN, Miguel, HURTADO, Guillermo. Revista de Guia técnica [en línea]. [Fecha de consulta: de marzo de 2021].

Disponible en: <http://www.centa.gob.sv/docs/guias/hortalizas/Guia%20Papa.pdf>

SAKTHIPRIYA, N, et al. Systematic investigations on the biodegradation and viscosity reduction of long chain hydrocarbons using *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas fluorescens*. Ciencias ambientales: procesos e impactos [En línea]. 2016, marzo, vol.18, (3). 386–397 [Fecha de consulta 08 de Abril de 2021]. ISSN 2687-5795.

Disponible en: [10.1039/c5em00597c](https://doi.org/10.1039/c5em00597c)

SUÁRES, Alfaro, ROSADO, Boyer, GAMBOA, Sanchez. Influencia de enterobacter cloacae para la degradación de petróleo en suelo de Negritos-Piura,2018. Tesis (Ingeniero Ambiental) Trujillo: Universidad Cesar Vallejo, 2018. 59 pp.

SARDUY, Yanetsys.El análisis de información y las investigaciones cuantitativa y cualitativa. Revista cubana de salud pública [En línea].2207, Julio-Septiembre, Vol 33(3). [Fecha de consulta 21 de septiembre de 2020]. ISSN:1561-3127

Disponible en: <https://n9.cl/w9s5m>

TAHSEEN, Razia et al. Degradación mejorada de hidrocarburos por cepa mutante inducida por rayos gamma de *Pseudomonas putida*. Cartas de biotecnología [En línea].2019, abril, vol. 41(3).391-399 [Fecha de consulta: 10 de septiembre de 2020]. ISSN: 30610497

Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10529-019-02644-y>

TRUJILLO, Maria, RAMIREZ, Juan. Biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos en Colombia. Revista de investigación agraria y ambiental [En línea].2012, diciembre, VOL 3(2).

[Fecha de consulta 22 de septiembre de 2020]. ISSN 2145-6097

Disponible en: <https://n9.cl/23ss>

UGAS, Jesus, Vega Hilda, et al. Biosurfactantes en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos. Agricultural Scienses [En línea].2020, mayo, Vol 1(2).143-151. [Fecha de consulta: 22 de septiembre del 2020]. ISSN: 0169-7722

Disponible en: <https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.642>

VIÑAS, Marc. Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos: caracterización microbiológica, química y ecotoxicológica. Tesis. (Doctorado en Microbiología Ambiental).

Disponible en:

[https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/2396/TESIS\\_MVINAS\\_CANALS.pdf](https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/2396/TESIS_MVINAS_CANALS.pdf)

## **ANEXOS**

Matriz de operacionalización de variables

Tabla N° 43. Matriz de Operacionalización de Variables

MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN					
Análisis de la biodegradación del suelo contaminado por petróleo utilizando Cepas de Pseudomonas Fluorescens, 2021					
VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
<b>DEPENDIENTE:</b>  <b>Biodegradación del petróleo en el suelo contaminado</b>	Es la capacidad de los agentes biológicos de remover los hidrocarburos presentes en un lugar contaminado con altas concentraciones de contaminantes, según López (2012). Así mismo depende de las características del hábitat, del contaminante y de los microorganismos; por tanto, es de gran	La biodegradación tuvo un proceso de seguimiento y control a través de parámetros como: Temperatura, pH, Conductividad Eléctrica, Potencial redox, humedad, materia orgánica, Capacidad de intercambio catiónico nitratos, y fundamentalmente el seguimiento a la biodegradación del HTP en sus tiempos de 10,20 y 30 días.	Características Físicoquímicas	Temperatura	° C
				pH	Acido/Base
				Conductividad E.	µS/cm
				Potencial redox	mv
				Humedad	%
				Materia Orgánica	%
				CIC	meq/100g
			Nitratos	mg/L	
				Inicial	mgHTP/kg

	importancia tener en cuenta cada uno de estos factores a la hora de aplicarla metodología, según Acuña et al (2010)		Contenido de HTP en el suelo	Final	mgHTP/kg
<b><u>INDEPENDIENTE:</u></b>  Uso de la <i>Pseudomona fluorescens</i>	Según MONTI (2015) menciona que las bacterias <i>Fluorescens</i> son organismos que se alojan en las plantas de contaminantes, dado que presentan biosurfactantes que convierten a los sustratos a un estado inocuo por sus propiedades de biodegradación.	La <i>Pseudomona</i> se identifica en plantas que contiene este tipo de bacteria las que fueron identificadas por la tinción gran para luego sembrarlas en placas Petri y poder identificar esta bacteria mediante la luz ultravioleta para finalmente poder llegar a la inoculación en cada uno de las muestras que se dispusieron en el proceso de evaluación.	Identificación y obtención de la <i>pseudomona</i>	Tinción Gram	Positivo (+) Negativo (-)
				Agar Diferencial	UFC
				Planta de maíz	Edad Raíz
			Inoculación de la bacteria	Volumen	200 ml
					300 ml
					400 ml



**FICHA DE CARACTERIZACIÓN DE PLANTAS**

Nombre del estudiante: .....

Fecha: .....

Lugar: .....

Nombre de la planta: .....

**TIPO DE PLANTA**

Árbol

Arbusto

Hierbas

**PARTES DE LA PLANTA**

**Hoja**

Color:	Forma:
Numero de hojas:	Tamaño

**Raíz**

Tamaño:	color:
---------	--------

**Tallo**

Largo:	Ancho:
--------	--------

**Altura de la planta**

Altura Total:
---------------

Figura 50: Ficha de caracterización de Plantas

## FICHA DE CARACTERIZACIÓN DE SUELO CONTAMINADO

REMITENTE:		DNI:
TIPO:	FAX:	E-MAIL:
DIRECCIÓN:		
Distrito:	PROVINCIA:	PARCELA:

(\*) Datos Obligatorios

	Cultivo:			N° Muestras:		
	Invernadero	Huerta	Frutal	Forestal	Edad	Otros
<input type="checkbox"/> TIERRA						
<input type="checkbox"/> MATERIAL VEGETAL						

ANÁLISIS SOLICITADOS PARA TIERRAS		
SELECCIONAR CON (X)	PARÁMETRO	MÉTODO
<input type="checkbox"/>	Temperatura	Potenciométrico
<input type="checkbox"/>	Potencial de hidrogeno	Potenciométrico
<input type="checkbox"/>	Conductividad eléctrica	Potenciométrico
<input type="checkbox"/>	Potencial redox	Potenciométrico
<input type="checkbox"/>	Humedad Gravimétrica	ASTM D-2216
<input type="checkbox"/>	Determinación del carbono y materia orgánica	<del>Walkley-Black</del>
<input type="checkbox"/>	Determinación de Fosforo	Espectrofotometría UV-V
<input type="checkbox"/>	Determinación de HTP	reflujo - Soxhlet

Figura 51: Ficha de caracterización de suelo contaminado

**FICHA TECNICA: DE UBICACIÓN GEOGRAFICA**

**I. NOMBRE DE LA PARCELA**

Parcela Mazamari

**II. UBICACIÓN POLITICA Y GEOGRAFICA**

**2.1. UBICACIÓN POLITICA**

Departamento	JUNIN
Provincia	SATIPO
Distrito	MAZAMARI
Localidad o Centro Poblado	SAN MARTIN DE PANGO

**2.2. UBICACIÓN GEOGRAFICA**

Coordenadas UTM	ESTE:	NORTE:
-----------------	-------	--------

DATUM WGS 84  
ZONA 18L

**2.3 UBICACIÓN HIDROGRAFICA**

AAA	Satipo
ALA	Satipo - Mazamari
QUEBRADA	Quebrada Pango
RIO	Negro

**III. DESCRIPCION DE LA ZONA IDENTIFICADA**

La parcela de donde se extrajo las muestras de suelo contaminado se encuentra ubicados en San Martin de Pango, es un lugar que está contaminado por hidrocarburos producto de una volcadura de un camión transportador de frutas el cual derrame una cantidad considerable de hidrocarburos en la parcela y colindantes. Producto del cual se tomó como referencia y lugar de estudio este lugar para su investigación.

Figura 52: Ficha de Ubicación geográfica.

<b>DATOS IDENTIFICADOS DE LA MUESTRA Y PUNTO DE MUESTREO</b>			
<b>DENOMINACION DE LA MUESTRA</b>			
<b>DIRECCION</b>			
<b>ACTIVIDAD</b>			
<b>PUNTO DE MUESTREO</b>			
<b>ORIGEN DEL SUELO CONTAMINADO</b>			
<b>Fecha de muestreo</b>		<b>Hora de comienzo del muestreo</b>	
<b>DATOS IDENTIFICADOS DEL PERSONAL PRESENTE EN EL MUESTREO</b>			
<b>REPRESENTANTES</b>			<b>DNI</b>
<b>TECNICO DEL LABORATORIO</b>			
<b>LABORATORIO ACREDITADO ENCARGADO DE LOS ANALISIS</b>			
<b>TIPO DE MUESTREO</b>	<b>Identificación</b>	<b>Nivel de fondo</b>	
<b>Detalle</b>		<b>Comprobación de la remediación</b>	
<b>ASPECTO DE LA MUESTRA</b>			

Figura 53: Ficha de hoja de campo para el muestreo

**SOLICITUD: Validación de instrumento  
de recojo de información.**

Dr.: ACOSTA SUASNABAR EUSTERIO HORACIO

Nosotros Ricse Condor Rudy, Solis Ricaldi Daniel identificado con DNI N° 72551945, 73271403 alumnos de la EAP de Ingeniería Ambiental, a usted con el debido respeto me presento y le manifiesto:

Que siendo requisito indispensable el recojo de datos necesarios para la tesina que vengo elaborando titulada: "Análisis de la biodegradación del suelo contaminado con petróleo utilizando pseudomonas fluorescens", solicito a Ud. Se sirva validar el instrumento que le adjunto bajo los criterios académicos correspondientes. Para este efecto adjunto los siguientes documentos:

- Instrumento
- Ficha de evaluación
- Matriz de operacionalización de variables

Por tanto:

A usted, ruego acceder mi petición.

Lima, 11 de noviembre de 2020



\_\_\_\_\_  
RICSE CONDOR, RUDY

FIRMA



\_\_\_\_\_  
SOLIS RICALDI, DANIEL

FIRMA

## VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

### I. DATOS GENERALES

- 1.1. Apellidos y Nombres: Horacio Acosta Suasnabar
- 1.2. Cargo e institución donde labora: Docente de LAMUCV
- 1.3. Especialidad o línea de investigación: Hidrólogo Ambiental
- 1.4. Nombre del instrumento motivo de evaluación: Requisito indispensable en PI
- 1.5. Autor(A) de instrumento: Ricse Condor Rudy, ~~Solis~~ Ricaldi Daniel

### II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN



CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE					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 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. INTENCIONALIDAD	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 hipótesis.											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
- El instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

Si

**IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN:**

**90%**

Lima, 13 de noviembre del 2020



*D<sup>a</sup>. ROSARIO ROSARIO CARRILLO  
CIP N° 26450*

\_\_\_\_\_  
FIRMA DEL EXPERTO

INFORMANTE

*DNI N° 08804795*



Dr.: JAVE NAKAYO JORGE LEONARDO

Nosotros Ricse Condor Rudy, Solis Ricaldi Daniel identificado con DNI N° 72551945, 73271403 alumnos de la EAP de Ingeniería Ambiental, a usted con el debido respeto me presento y le manifiesto:

Que siendo requisito indispensable el recojo de datos necesarios para la tesina que vengo elaborando titulada: "Análisis de la biodegradación del suelo contaminado con petróleo utilizando pseudomonas fluorescens", solicito a Ud. Se sirva validar el instrumento que le adjunto bajo los criterios académicos correspondientes. Para este efecto adjunto los siguientes documentos:

- Instrumento
- Ficha de evaluación
- Matriz de operacionalización de variables

Por tanto:

A usted, ruego acceder mi petición.

Lima, 11 de noviembre de 2020



\_\_\_\_\_  
RICSE CONDOR, RUDY

FIRMA



\_\_\_\_\_  
SOLIS RICALDI, DANIEL

FIRMA



## VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

### V. DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y Nombres JAVE NAKAYO JORGE LEONARDO
- 1.2 Cargo e institución donde labora: Docente de la UCV
- 1.3 Especialidad o línea de investigación: Hidrólogo Ambiental
- 1.4 Nombre del instrumento motivo de evaluación: Requisito indispensable en PI
- 1.5 Autor(A) de instrumento: Ricse Condor Rudy, ~~Solis~~ Ricaldi Daniel

### 2 ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE					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 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 <u>cuanta</u> los aspectos metodológicos esenciales										X			
6. INTENCIONALIDAD	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 hipótesis.										X			
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.										X			

**3 OPINIÓN DE APLICABILIDAD**

- El instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación
- El instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

SI

**4 PROMEDIO DE VALORACIÓN:**

85%
-----

Lima.....del 201

  
FIRMA DEL EXPERTO INFORMANTE  
C.R. 45444.....

DNI N 01066653 Telf. 994552085



## VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

### 5 DATOS GENERALES

- 5.1 Apellidos y Nombres: Ordoñez Galvez Juan Julio
- 5.2 Cargo e institución donde labora: Docente de LAMUCV
- 5.3 Especialidad o línea de investigación: Agrónomo
- 5.4 Nombre del instrumento motivo de evaluación: Requisito indispensable en PI
- 5.5 Autor(A) de Instrumento: Ricse Condor Rudy, Solís Ricaldi Daniel

### 6 ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE					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 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 <u>cuenta</u> los aspectos metodológicos esenciales										X			
6. INTENCIONALIDAD	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 hipótesis.										X			
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.										X			

**7 OPINIÓN DE APLICABILIDAD**


- El instrumento cumple con los Requisitos para su aplicación
- El instrumento no cumple con Los requisitos para su aplicación

Si

**8 PROMEDIO DE VALORACIÓN:**

**85%**

Lima, 13 de ~~Noviembre~~ del 2020.  
Atentamente,

  
FIRMA DEL EXPERTO INFORMANTE  
Jossin Julio Ordoñez Galvez  
CIP

DNI: 08447308





LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR  
EL ORGANISMO DE ACREDITACIÓN  
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002



**INFORME DE ENSAYO  
MA2112490 Rev. 0**

---

**EMSAPA YAULI LA OROYA S.R.L.**

JR. HUANCAMELICA 225, LA OROYA

ENV / LB-348043-001

PROCEDENCIA : MAZAMARI

---

Fecha de Recepción SGS : 16-04-2021  
Fecha de Ejecución : Del 16-04-2021 al 08-05-2021  
Muestreo Realizado Por : CLIENTE

Estación de Muestreo
----------------------

AS-1
------

Emitido por SGS del Perú S.A.C.

Impreso el 08/05/2021

Frank M. Julcamoro Quispe  
C.Q.P. 1033  
Coordinador de Laboratorio

"Este informe de ensayo, al estar en el marco de la acreditación del INACAL-DA, se encuentra dentro del ámbito de reconocimiento multilateral/mutuo de los miembros firmantes de IAAC e ILAC"

Página 1 de 4



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR  
EL ORGANISMO DE ACREDITACIÓN  
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002



**INFORME DE ENSAYO  
MA2112490 Rev. 0**

IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA					AG-1
PROFUNDIDAD (m)					
FECHA DE MUESTREO					23/03/2021
HORA DE MUESTREO					16:13:00
MATRIZ					SUELOS
PRODUCTO DESCRITO COMO					SUELOS
Parámetro	Referencia	Unidad	LD	LC	Resultado
Método de Hidrocarburos					
Fracción de Hidrocarburos P2 (H-C10-C28)	EL_EFACCTE_DRO_ML_KG	mg/kg	5	15	5.643

**Notas:**

El reporte de tiempo se realiza en el sistema horario de 24 horas.

Las muestras recibidas cumplen con las condiciones necesarias para la realización de los análisis solicitados.



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR  
EL ORGANISMO DE ACREDITACIÓN  
INACAL - DA CON REGISTRO N° LE - 002



**INFORME DE ENSAYO  
MA2112490 Rev. 0**

**CONTROL DE CALIDAD**

LC: Límite de cuantificación  
ME: Sesgo del proceso  
LCS %Recovery: Porcentaje de recuperación del patrón de proceso.  
MS %Recovery: Porcentaje de recuperación de la muestra adicionada.  
MSD %RPD: Diferencia Porcentual Relativa entre los duplicados de la muestra adicionada.  
Dup %RPD: Diferencia Porcentual Relativa entre los duplicados del proceso.

Parámetro	Unidad	LC	ME	DUP %RPD	LCS %Recovery	MS %Recovery
Porción de Hidrocarburos FC (H-C10-C20)	mg/kg	15	<15	0%	99%	114%



UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA

Facultad de Ingeniería Geológica, Minera y Metalúrgica

Laboratorio de Espectrometría

SOLICITADO POR: SOLIS RICARDI, CARLOS DANIEL

Procedencia de muestra: Distrito Mazamari, Provincia de Satipo, Junín

Recepción de muestras: Lima, 30 de Abril del 2021

Caracterización de Suelo Limpio y contaminado

Suelo	Temperatura °C	Potencial de hidrogeno Acido/base	Conductividad electrica $\mu\text{S}/\text{cm}$	Potencial Redox mv
SL	21.9	6.25	202	170
SC	23.0	6.98	199	165

Muestra	Densidad Aparente ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )	Humedad %	Capacidad de Intercambio Catiónico meq/100	Materia Orgánica %	Carbono Orgánico %
SAL	1.45	11.4864	14.846	1.32	0.768
SAC	6.80	10.9901	7.5825	4.03	2.336

Muestra	Arena %	Limo %	Arcilla %	Materia Organica %	Hidrocarburo total Inicial (mgHTP/Kg)
SAL	42	31	27	1.0	6450

Método potenciométrico, Método del cilindro biselado, Método del Acetato de Amonio 1N-pH7, Método de Walkley-Black.

Lima, 05 de Mayo del 2021

  
MSc. Atilio Méndez, A.  
Jefe Lab. Espectrometría

Av. Túpac Amaru N° 210, Lima 25, Apartado 1301-Perú  
Teléfono: (511) 4824427, Central Telefónica (511) 4811070, Anexo 4245  
e-mail: labespectro@uni.edu.pe





# UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA

## Facultad de Ingeniería Geológica, Minera y Metalúrgica

Laboratorio de Espectrometría

SOLICITADO POR: SOLIS RICARDI, CARLOS DANIEL

Procedencia de muestra: Distrito Mazaman, Provincia de Satipo, Junin

Recepción de muestra: Lima, 30 de Mayo del 2021

Primer Periodo: (18 al 28 de Mayo del 2021)

Parámetros Físico-químico del Suelo con HTP (Método Potenciométrico)

PERIODO 1	Temperatura °C	Potencial de Hidrogeno Acido/base	Conductividad Eléctrica $\mu\text{S}/\text{cm}$	Potencial Redox mv
P1(1-200)	20.0	6.39	106.1	-233
P1(2-200)	20.1	6.50	108.5	-200
P1(3-200)	20.1	6.59	109.3	-220
P1(1-300)	20.0	6.80	126.1	-149
P1(2-300)	20.0	6.72	135.4	-142
P1(3-300)	20.0	6.69	130.0	-146
P1(1-400)	20.1	6.91	160.5	-116
P1(2-400)	20.1	6.86	156.8	-109
P1(3-400)	20.1	6.88	158.6	-100

PERIODO 1	Carbono orgánico %	Materia Orgánica %	Capacidad de intercambio catiónico meq/100g	Humedad %
P1(1-200)	2.1796	3.7578	67.3426	20.8237
P1(2-200)	2.2034	3.7987	57.7755	20.5406
P1(3-200)	2.2629	3.9012	54.0395	20.4551
P1(1-300)	2.3573	4.0639	54.9565	25.5202
P1(2-300)	2.2831	3.9362	55.1812	20.5198
P1(3-300)	2.1204	3.6555	57.4358	23.4573
P1(1-400)	2.3587	4.0664	65.1437	22.2378
P1(2-400)	2.2053	3.8020	67.8175	19.4593
P1(3-400)	2.1343	3.6795	76.5164	21.0300

Método ASTM D-2216, Método Walkley-Black, Método del Acetato de Amonio 1N pH 7

Av. Túpac Amaru N° 210, Lima 25, Apartado 1301-Perú

Teléfono: (511) 4824427, Central Telefónica (511) 4811070, Anexo 4245

e-mail: labespectro@uni.edu.pe



# UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA

## Facultad de Ingeniería Geológica, Minera y Metalúrgica

Laboratorio de Espectrometría

Primer Periodo: (18 al 28 de Mayo del 2021)

PERIODO 1	Fosforo %	Nitratos mg/L	Hidrocarburo total mgHTP/kg	Hidrocarburo total inicial mgHTP/kg
P1(1-200)	187.3296	187.3649	5.0657	6450
P1(2-200)	187.3288	187.3640	5.04469	
P1(3-200)	187.3292	187.3639	5.0644	
P1(1-300)	201.7087	201.7415	5.0437	
P1(2-300)	201.7084	201.7411	5.0532	
P1(3-300)	201.7085	201.7420	5.0501	
P1(1-400)	217.8849	217.9135	5.0212	
P1(2-400)	217.8836	217.9121	5.0410	
P1(3-400)	217.8838	217.9130	5.0256	

Método de reflujó - Soxhlet, Método espectrofotometría UV-V

Lima, 06 de Junio del 2021

Msc. Asilo Méndez A.  
Jefe Lab. Espectrometría

Av. Túpac Amará N° 210, Lima 25, Apartado 1301 - Perú  
Teléfono: (511) 4824427, Central Telefónica (511) 4811070, Anexo 4245  
e-mail: labespectro@uni.edu.pe



UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA

Facultad de Ingeniería Geológica, Minera y Metalúrgica

Laboratorio de Espectrometría

SOLICITADO POR: SOLIS RICARDI, CARLOS DANIEL

Procedencia de muestra: Distrito Mazamari, Provincia de Satipo, Junín

Recepción de muestra: Lima, 08 de Junio del 2021

Segundo Periodo: (28 Mayo al 07 de Junio del 2021)

Parámetros Físico-químico del Suelo Con HTP (Método Potenciométrico)

PERIODO 2	Temperatura °C	Potencial de Hidrogeno Acido/base	Conductividad Eléctrica $\mu\text{S}/\text{cm}$	Potencial Redox mv
P2(1-200)	20.8	6.79	110.2	-117
P2(2-200)	20.8	6.81	124.5	-118
P2(3-200)	20.8	6.67	120.6	-116
P2(1-300)	20.8	6.94	118.0	-120
P2(2-300)	20.8	6.99	119.4	-130
P2(3-300)	20.8	7.06	125.1	-135
P2(1-400)	20.8	7.10	128.3	-141
P2(2-400)	20.8	7.08	128.9	-139
P2(3-400)	20.8	7.09	129.0	-140

PERIODO 2	Carbono orgánico %	Materia Orgánica %	Capacidad de intercambio catiónico meq/100g	Humedad %
P2(1-200)	2.3284	4.0142	13.1626	19.2173
P2(2-200)	2.2915	3.9505	12.9727	16.5335
P2(3-200)	2.2545	3.8867	12.7915	17.6982
P2(1-300)	2.1275	3.6678	15.2916	18.7060
P2(2-300)	2.1645	3.7315	15.8326	19.5340
P2(3-300)	2.1436	3.6955	15.4774	19.6426
P2(1-400)	2.3654	4.0779	17.7792	26.8057
P2(2-400)	2.3284	4.0141	17.4223	23.0027
P2(3-400)	2.3358	4.0269	17.0722	23.4742

Método ASTM D-2216, Método Walkley-Black, Método del Acetato de Amonio 1N pH 7

Av. Túpac Amará N° 210, Lima 25, Apartado 1301-Perú

Teléfono: (511) 4824427, Central Telefónica (511) 4811070, Anexo 4245

e-mail: labespectro@uni.edu.pe



UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA

Facultad de Ingeniería Geológica, Minera y Metalúrgica

Laboratorio de Espectrometría

Segundo Periodo: (28 Mayo al 07de Junio del 2021)

PERIODO 2	Fosforo %	Nitratos mg/L	Hidrocarburo total mgHTP/kg	Hidrocarburo total Inicial mgHTP/kg
P2(1-200)	$3.6435 \times 10^{-3}$	52.9	4728.89	6450
P2(2-200)	$3.7190 \times 10^{-3}$	51.1	4731.82	
P2(3-200)	$3.5935 \times 10^{-3}$	53.8	4675.09	
P2(1-300)	$3.4380 \times 10^{-3}$	58.2	4062.02	
P2(2-300)	$3.3625 \times 10^{-3}$	61.1	4076.20	
P2(3-300)	$3.3375 \times 10^{-3}$	62.4	4093.84	
P2(1-400)	$3.0565 \times 10^{-3}$	66.4	3417.09	
P2(2-400)	$3.1315 \times 10^{-3}$	66.9	3495.19	
P2(3-400)	$3.1820 \times 10^{-3}$	65.2	3408.28	

Método de reflujó – Soxhlet, Método espectrofotometría UV-V

Lima, 14 de Junio del 2021



Ing. Asilo Méndez, A.  
Jefe Lab. Espectrometría

Av. Túpac Amará N° 210, Lima 25, Apartado 1301-Perú  
Teléfono: (511) 4824427, Central Telefónica (511) 4811070, Anexo 4245  
e-mail: labespectro@uni.edu.pe



## UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA

Facultad de Ingeniería Geológica, Minera y Metalúrgica

Laboratorio de Espectrometría

SOLICITADO POR: SOLIS RICARDI, CARLOS DANIEL

Procedencia de muestra: Distrito Mazamari, Provincia de Satipo, Junín

Recepción de muestra: Lima, 17 de Junio del 2021

Tercer Periodo: (07 al 15 de Junio del 2021)

Parámetros Fisico-químico del Suelo Con HTP (Método Potenciométrico)

PERIODO 3	Temperatura °C	Potencial de Hidrogeno Acido/base	Conductividad Eléctrica $\mu\text{S/cm}$	Potencial Redox mv
P3(1-200)	20.5	6.65	166.7	-307
P3(2-200)	20.5	6.62	168.2	-298
P3(3-200)	20.5	6.64	165.9	-300
P3(1-300)	20.5	7.56	125.0	-230
P3(2-300)	20.5	7.45	127.4	-245
P3(3-300)	20.5	7.35	128.1	-235
P3(1-400)	20.5	7.05	118.3	-198
P3(2-400)	20.5	7.06	119.9	-189
P3(3-400)	20.5	7.02	120.0	-190

PERIODO 3	Carbono organico %	Materia Orgánica %	Capacidad de intercambio catiónico meq/100g	Humedad %
P3(1-200)	2.0587	3.5491	10.4498	18.2014
P3(2-200)	2.0861	3.5984	10.0186	16.2883
P3(3-200)	2.0815	3.5540	10.2085	17.3585
P3(1-300)	2.0334	3.5055	13.1503	18.7343
P3(2-300)	2.0261	3.4929	12.9203	20.4290
P3(3-300)	2.0011	3.4498	12.7443	18.3828
P3(1-400)	1.9469	3.3564	14.0822	26.4962
P3(2-400)	1.9353	3.3364	14.3489	22.2449
P3(3-400)	1.9430	3.3497	14.4905	27.2758

Método ASTM D-2216, Método Walkley-Black, Método del Acetato de Amonio 1N pH 7

Av. Túpac Amaru N° 210, Lima 25, Apartado 1301-Perú

Teléfono: (511) 4824427, Central Telefónica (511) 4811070, Anexo 4245

e-mail: labespectro@uni.edu.pe



UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA

Facultad de Ingeniería Geológica, Minera y Metalúrgica

Laboratorio de Espectrometría

Tercer Periodo: (07 al 15 de Junio del 2021)

PERIODO 3	Fosforo %	Nitratos mg/L	Hidrocarburo total mgHTP/kg	Hidrocarburo total mgHTP/kg
P3(1-200)	$3.4430 \times 10^{-3}$	53.6	3691.55	6450
P3(2-200)	$3.4283 \times 10^{-3}$	51.5	3778.29	
P3(3-200)	$3.4110 \times 10^{-3}$	54.1	3635.43	
P3(1-300)	$3.2523 \times 10^{-3}$	59.0	3125.18	
P3(2-300)	$3.2945 \times 10^{-3}$	60.2	3176.43	
P3(3-300)	$3.2798 \times 10^{-3}$	63.3	3132.28	
P3(1-400)	$2.9628 \times 10^{-3}$	65.4	1112.17	
P3(2-400)	$2.9775 \times 10^{-3}$	66.8	1198.29	
P3(3-400)	$2.9925 \times 10^{-3}$	64.5	1137.16	

Método de reflujó - Soxhlet, Método espectrofotometría UV-V

Lima, 26 de Junio del 2021

MSc. Aliso Méndez A.  
Jefe Lab. Espectrometría

Av. Túpac Amará N° 210, Lima 25, Apartado 1301-Perú  
Teléfono: (511) 4824427, Central Telefónica (511) 4811070, Anexo 4245  
e-mail: labespectro@uni.edu.pe



Fuente: Elaboración propia  
 Figura N° 54: Delimitación del área (Pangoa) de estudio, donde se recolectará la muestra



Fuente: Elaboración propia  
 Figura N° 55: Aplicación del muestreo de rejilla simple.



Fuente: Elaboración propia  
 Figura N° 56: Toma de coordenadas UTM del lugar de Pangoa, Mazamari.



Fuente: Elaboración propia  
 Figura N° 57: Caracterización de las plantas en el lugar (Santa Rosa de Quives), in situ.



Fuente: Elaboración propia  
 Figura N° 58: Recolección de las raíces para su respectivo traslado al laboratorio y realizar los análisis

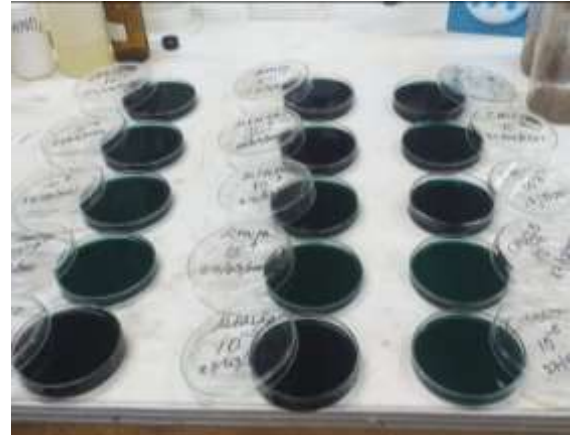


Fuente: Elaboración propia  
 Figura N° 59: Preparación de las 27 muestras, establecidas 9 muestras en cada etapa los cuales fueron 3.



Fuente: Elaboración propia

Figura N° 60: Homogeneización de la muestra, extraída de Mazamari



Fuente: Elaboración propia

Figura N° 61: Preparación del agar para identificar las bacterias



Fuente: Elaboración propia

Figura N° 62: Cultivo de las bacterias (Pseudomonas Fluorescens).



Fuente: Elaboración propia

Figura N° 63: Inoculación de las bacterias por etapas, en los suelos contaminados.