



## **FACULTAD DE INGENIERIA**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA  
AMBIENTAL**

“Biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo por  
bioestimulación con Cachaza y Guano de Islas en suelos de la  
Refinería Conchan-Petroperú, Lima, 2017”

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

**AUTOR:**

Cardenas Moscol Paul Gianfranco

**ASESORA**

Ing. Mg. Cabello Torres Rita Jaqueline

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN**

Calidad y gestión de Recursos Naturales

**LIMA - PERU**

**Año 2017**

## JURADO CALIFICADOR

---

Dr. Benites Alfaro Elmer  
Presidente

---

Dr. Jiménez Calderón  
Secretario

---

Mg. Cabello Torres Rita  
Vocal

## **DEDICATORIA**

A mi Dios que permite este momento.

Para unos padres que aprendieron a ser padres conmigo y nunca me dieron la espalda en mis decisiones. Para usted mamá Amparo por lo valiente que eres. Eres la mejor.

En el cielo, observando esto, para ti mi Andrew.

## **AGRADECIMIENTO**

A la primera persona que quiero agradecer es a mi asesora la Ing. Rita Cabello por su guía y orientación y brindarle el correcto enfoque a la presente investigación.

Agradezco al Ing. Alberto Sheppard, Jefe de Operaciones en Petroperú, por confiar en mí para realizar la investigación en la Refinería Conchan, dándome acceso a Refinería sin mayores inconvenientes.

Quiero nombrar a quienes también fueron piezas importantes de la investigación, la Ing. Vilma Moreno de Agroindustrial Paramonga S.A., al programa Agro Rural del Ministerio de Agricultura, ambas entidades me permitieron el acceso y obtención de materiales de la investigación sin complicaciones.

También agradecer a mis profesores de la Universidad Cesar Vallejo, al Dr. Elmer Benites y la Doctora Verónica Tello por su confianza en la investigación y apoyo en los trámites documentarios con las diversas organizaciones.

Finalmente y no menos importante agradecer a mi abuelo Miguel, ejemplo de hombre sabio y fuerte, a mi Carito, que me animó en todo momento y todos aquellos familiares y amigos que me apoyaron en el traslado, acceso, costos y mucho más, para el éxito de esta tesis.

## **DECLARACION DE AUTENTICIDAD**

Yo, Paul Gianfranco Cardenas Moscol, con DNI N° 47966636, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Ambiental, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompaño es veraz y auténtica.

Así mismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis son auténticos y veraces.

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

Lima, 19 de julio del 2017

---

Paul Gianfranco Cardenas Moscol

## **PRESENTACIÓN**

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada “Biodegradación de Hidrocarburos Totales de Petróleo por bioestimulación con Cachaza y Guano de Islas en suelos procedentes de Refinería Conchan-Petroperú, Lima, 2017”, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Ingeniero Ambiental.

Paul Gianfranco Cardenas Moscol

## INDICE

<b>DECLARACION DE AUTENTICIDAD .....</b>	<b>5</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>11</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>12</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Realidad Problemática .....	1
1.2 Trabajos previos.....	2
1.3 Marco Teórico .....	9
1.3.1 Suelo.....	9
1.3.2 Poblaciones Microbianas.....	12
1.3.3 Crudo de Petróleo.....	13
1.3.4 Refinado de Petróleo.....	16
1.3.5 Impacto Ambiental de los Contaminantes Orgánicos .....	18
1.3.6 Legislación Ambiental de los Suelos Contaminados .....	20
1.3.7 Ventajas y limitaciones de los procesos de Biorremediación de suelos contaminados .....	22
1.3.8 Factores que condicionan la Biorremediación de un suelo.....	25
1.3.10 Bioestimulación.....	27
1.3 Formulación del problema.....	30
1.3.1 Problema General.....	30
1.3.2 Problemas Específicos .....	30
1.4 Justificación del estudio .....	31
1.5 Hipótesis de Investigación .....	32
1.5.1 Hipótesis General .....	32
1.5.2 Hipótesis Específicas.....	32
1.6 Objetivos .....	33
1.6.1 Objetivo General.....	33
1.6.2 Objetivos Específicos.....	33
<b>II. MÉTODO.....</b>	<b>34</b>
2.1 Diseño de investigación .....	34
2.1.1 Diseño con posprueba únicamente y grupo de control.....	34

2.1 Variables .....	36
2.3 Población y Muestra.....	38
2.3.1 Población .....	38
2.3.2 Muestra.....	39
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad .....	40
2.4.2 Diseño y desarrollo de la investigación.....	42
2.5 Métodos de análisis de datos.....	46
<b>III. RESULTADOS.....</b>	<b>47</b>
3.1 Resultados del crecimiento bacteriano en los suelos contaminados con hidrocarburos totales de petróleo (TPH) .....	47
3.2 Resultados de la Biodegradación de Hidrocarburos Totales de Petróleo en los suelos contaminados.....	49
3.2.1 Caracterización Cromatográfico del F2 de hidrocarburos de petróleo por Bioestimulación .....	50
3.3 Resultado de las propiedades fisicoquímicas del suelo contaminado.....	52
3.3.1 Propiedades químicas del suelo contaminado.....	52
3.3.1 Propiedades físicas del suelo contaminado.....	55
3.3 Resultado de las temperaturas de las cajoneras de cultivo .....	56
3.4 Resultado de la caracterización morfológica de la especie indicadora <i>Zea Mays L.</i> .....	58
<b>IV. DISCUSIÓN .....</b>	<b>59</b>
<b>V. CONCLUSIÓN .....</b>	<b>61</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>62</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....</b>	<b>63</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>66</b>



## INDICE DE TABLAS

Tabla 1- 1 Propiedades físicas del suelo.....	12
Tabla 1- 2 Composición elemental aproximada a la célula microbiana .....	13
Tabla 1- 3 Composición de las fracciones químicas contenidas en un crudo de petróleo	14
Tabla 1- 4 Fracciones del refinado por destilación de crudo de petróleo.....	17
Tabla 1- 5 Estándares de calidad ambiental para suelos .....	21
Tabla 1- 6 Ventajas y desventajas de tratamientos de remediación.....	24
Tabla 1- 7 Características del maíz (Zea Mays L.).....	28
Tabla 1- 8 Fenología del maíz .....	29
Tabla 2- 1 Tratamientos experimentales en la Investigación	35
Tabla 2- 2 Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	41
Tabla 2- 3 Caracterización inicial del suelo testigo de Refinería Conchán .....	44
Tabla 2- 4 Caracterización inicial del suelo contaminado de Refinería Conchán.....	44
Tabla 3 - 1: Población bacteriana aerobias mesófilas durante el proceso de experimentación (0-60 días)	47
Tabla 3 - 2 Biodegradación de F2 de hidrocarburos de petróleo (0-60 días).....	49
Tabla 3 - 3 Propiedades químicas del suelo contaminado .....	52
Tabla 3 - 4 Propiedades físicas del suelo.....	55
Tabla 3 - 5 Temperatura de las cajoneras durante el tiempo de experimentación.....	57
Tabla 3 - 6 Características morfológicas de la especie Zea Mays L.....	58

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1- 1 Fases del Suelo .....	10
Figura 1- 2 Estructura del suelo .....	11
Figura 1- 3 Estructura química de un crudo de petróleo.....	16
Figura 1- 4 Perfil cromatográfico de gasoil a través de espectrometría de masas.....	18
Figura 1- 5 Clasificación Taxonómica .....	27
Figura 1- 6 Desarrollo del maíz .....	29
<i>Figura 2- 1 Plano de Ubicación de la Investigación.....</i>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 2- 2 Diseño de la muestra .....	39
Figura 3 - 2: Desarrollo de bacterias mesófilas aerobias.....	47
Figura 3 - 3: Desarrollo de bacterias mesófilas en la investigación .....	48
Figura 3 - 4 Biodegradación de F2 de hidrocarburos de petróleo.....	50
Figura 3 - 5: Cromatograma de muestra inicial F2 hidrocarburos.....	50
Figura 3 - 6 Suelo con Tratamiento 1: Suelo nativo con Guano de Islas presenta una reducción del 81 % .....	51
Figura 3 - 7 Suelo con Tratamiento 2: Suelo nativo con Cachaza presenta una reducción del 62%.....	51
Figura 3 - 8 Suelo con Tratamiento 3: Suelo con Guano de Islas y Cachaza presenta una reducción del 80% .....	51
Figura 3 - 9: Suelo con Tratamiento 4: Suelo Testigo con una reducción del 53%.....	52
Figura 3 - 10 Caracterización de pH .....	53
Figura 3 - 11 Caracterización de Conductividad eléctrica .....	54
Figura 3 - 12 Caracterización de la C.I.C. ....	54
Figura 3 - 13 Caracterización de Densidad Aparente.....	55
Figura 3 - 14: Caracterización de la Materia Orgánica .....	56
Figura 3 - 15 Caracterización de la Temperatura .....	57

## RESUMEN

La presente tesis se desarrolló con la finalidad de aplicar técnicas de biorremediación con Cachaza y Guano de Islas para tratar suelos contaminados con alta presencia de hidrocarburos. Los suelos tratados fueron de la Refinería Conchan, los cuales tenían alta presencia de hidrocarburos de peso mediano. La muestra estuvo compuesta por 125 kilogramos de suelo contaminado donde se aplicó tres tratamientos de bioestimulación para incentivar la capacidad degradativa de las bacterias nativas en los suelos. Se utilizó nutrientes como la Cachaza y el Guano de Islas. Ambos fueron aplicados en distintos tratamientos. El primer tratamiento estaba compuesto por Guano de Islas, el segundo tratamiento compuesto con Cachaza y ambos nutrientes en un tercer tratamiento. El tratamiento que presentó mayor reducción de hidrocarburos del suelo fue el primer tratamiento con Guano de Islas, al igual que el tercer tratamiento. Se concluye que las bacterias nativas del suelo de la Refinería Conchan tienen potencial para degradar hidrocarburos en poco tiempo, pudiendo ser replicado la investigación para la recuperación de los suelos contaminados de la planta o utilizado para investigaciones que demanden más exactitud en los tipos de bacterias, para trabajarlo a mayor escala en zonas críticas de derrames de petróleo.

## **ABSTRACT**

The present thesis was developed with the purpose of applying bioremediation techniques with Cachaza and Guan de Islas to treat contaminated soils with high presence of hydrocarbons. Soils were treated by the Conchan Refinery, which had high presence of medium-weight hydrocarbons. The sample consisted of 125 kilograms of contaminated soil where three biostimulation treatments were applied to encourage the degradation capacity of native bacteria in soils. Nutrients such as Cachaza and Guano de Islas were used. Both were applied in different treatments. The first treatment consists of Guano de Islas, the second compound treatment with Cachaza and both nutrients in a third treatment. The treatment presented by the mayor The reduction of hydrocarbons in the soil was the first treatment with Guano de Islas, as was the third treatment. Concludes that the native bacteria of the soil of the Conchan Refinery have the potential to degrade hydrocarbons in a short time, being able to be replicated the investigation for the recovery of contaminated soils of the plant or used for the investigations that demand more accuracy in the types of bacteria, To work a larger scale in the critical areas of oil spills.

## **I. INTRODUCCIÓN**

### **1.1 Realidad Problemática**

Perú es un país rico en petróleo y otros hidrocarburos, posee un enorme potencial hidrocarburífero, sin embargo, el uso de estos recursos no ha correspondido al desarrollo de su verdadero potencial. En la Región de Sudamérica, el Perú no es el principal productor de hidrocarburos, Colombia ha mantenido por décadas una actividad de explotación 10 veces más intensa que la nuestra. (SPH, 2010). Sin embargo la actividad de producción de hidrocarburos peruana genera mayor contaminación ambiental.

Actualmente la exploración petrolera está paralizada y esto, debido a la exigencia de múltiples instrumentos ambientales que se requieren en cada fase de la industria. Esta exigencia se debe a los daños ambientales que está causando la explotación de este recurso. Más de 150 derrames de petróleo han ocurrido en los últimos 15 años en nuestro país hasta el 2015 (OSINERGMIN, 2017). Casi la mitad de las fugas ocurrió en regiones amazónicas. Y siguen ocurriendo con muy elevada frecuencia.

Una de los lugares donde se genera gran contaminación de los suelos por derrames de hidrocarburos es en las Refinerías de Petróleo. Las Refinerías generan grandes cantidades de contaminantes, las actividades de la Refinería que generan esta contaminación son la limpieza de los tanques, los separadores de aceite - agua y los sistemas de ductos y traslado del crudo de petróleo a los tanques de almacenamiento. (GRIMALDO, 2009).

Los derrames de hidrocarburos tienen efectos profundos e inmediatos en el medio ambiente afecta gravemente las aguas y los suelos. Se debe evitar a toda costa que en un derrame de hidrocarburos, pueden filtrarse en los suelos hasta la napa freática y contaminar las aguas subterráneas, no existiendo así manera de remediar las áreas contaminadas. La problemática de esta investigación consiste en la remediación de suelos con derrames de hidrocarburos que se generan por fallas o mal manejo en las actividades e instalaciones de la Refinería Conchan de Petroperú.

Con el paso del tiempo se han implementado y mejorado las técnicas para tratar estos derrames de hidrocarburos, puede darse la remediación por medio físico, químico y biológico. (JIMÉNEZ, 2010).

Estudios realizados en los suelos de la Refinería Conchan han detectado que las bacterias nativas poseen la capacidad de degradar metales pesados, siendo aplicado con éxito en tratamientos de otras Refinerías y Plantas de Petroperú. Con estos conocimientos y con la problemática que de manera constante se producen en los suelos de la Refinería, decidí aplicar mi investigación a la remediación por tratamiento biológico.

El tratamiento a aplicar se denomina Bioaumentación, este consiste en la estimulación de las bacterias nativas del suelo contaminado de la Refinería Conchan adicionando nutrientes los cuales son Cachaza y Guano de Islas para evaluar el nivel de reducción de hidrocarburos en el suelo contaminado. Se comparó la adición de la Cachaza y del Guano de Islas correlacionando factores físico químicos y microbiológicos.

Como un indicador de la toxicidad del suelo, se cultivó el maíz *Zea Mays L.* de la variedad Marginal 28, por un periodo de 40 días.

## **1.2 Trabajos previos**

Un primer trabajo corresponde a BUENDÍA (2012), quien realizó una investigación basada en la Remediación de sitios contaminados por hidrocarburos agregando estiércol de vaca y compost de aserrín. El objetivo fue recuperar suelos contaminados con hidrocarburos, con el uso del estiércol y el compost de aserrín, donde también se empleará la planta de maíz de la especie *Zea Mays* como planta indicadora de la toxicidad. El Diseño de la investigación fue Completamente al Azar, se realizaron 12 tratamientos con 3 repeticiones. Se utilizaron macetas de 1 kg como parte experimental. El suelo provino del Complejo Industrial Refinería La Pampilla. Durante el periodo de duración de la investigación, se procedió a regar cada dos días el maíz, desde la germinación hasta el crecimiento. De esta manera se conservó la capacidad de campo del maíz.

La mayor reducción de hidrocarburos totales de petróleo se obtuvo en el suelo dosificado con vacaza y aserrín de bolaina. De 21.81 gr de TPH/kg se redujo hasta 16.28 gr de TPH/kg de hidrocarburos. Esto representó una reducción del 25%. En los suelos tratados con aserrín y estiércol orgánico se redujo un 22,5% de hidrocarburos. Aplicando solo estiércol como tratamiento a los suelos disminuyó un 16,5% y aplicando solo aserrín disminuyó un total de 9,6 %. Respecto a la altura del maíz se obtuvo que los suelos tratados con estiércol orgánico y aserrín tuvieron un crecimiento de 36.80 cm de la planta en comparación al tratamiento de los suelos solo con estiércol que se obtuvo un promedio de 24,48 cm de planta y utilizando solo aserrín obteniendo 22.14 cm de la planta en promedio.

Un segundo trabajo de GÓMEZ et al. (2009), desarrollaron una investigación basada en la Comparación de técnicas de Bioestimulación ante la Atenuación Natural y la Bioaumentación. Para ello se utilizó suelos contaminados con gasolina y diesel. Para la Bioaumentación se aisló una bacteria que se adapta fácilmente a los suelos debido a que actúa como un agente exógeno.

Los suelos previamente se secaron, desagregaron y tamizaron a un tamaño entre 2 a 2,36 mm. Para el suelo control se procedió a esterilizar los suelos a 121 °C y a una presión de 1,5 kg/cm<sup>2</sup> durante mínimo 4 horas, luego se vertieron en bandejas con volumen de 9000 cm<sup>3</sup>. Para la bioestimulación y la Bioaumentación se empleó urea al 99.8% de pureza y fosfato de potasio dibásico al 0.003 M. La relación de C: N: P fue de 100:17.5:1.75.

En el tratamiento control se modificó la textura del suelo debido a la adición del ácido clorhídrico, lo cual diluyó la arcilla liberando el aluminio que estaba contenido en ella. La textura aumento de 0.4 cmolc/kg a 26.8 cmolc/kg. Respecto a la degradación de TPH, se sabe que el tratamiento por Bioestimulación presentó una concentración residual de 1126.26 mg/kg, el tratamiento control un valor de 1192.50 mg/kg, la Atenuación Natural 1344.62 mg/kg. El tratamiento por bioaumentación alcanzó una mayor reducción de TPH a un valor de 999.13 mg/kg. Sin embargo la diferencia no es significativa a comparación de la Bioestimulación. La bacteria aislada fue *Bacillus sp.*, la cual se demostró que degrada los hidrocarburos del suelo.

Esto favorece a su uso en consorcios bacterianos nativos para una mayor capacidad de reducción de TPH. Respecto a la efectividad de los tratamientos, se concluyó que en suelos arcillosos la Bioaumentación demostró tener mayor eficacia en la reducción de TPH cumpliendo con la normativa del país de México.

GARCÍA et al. (2009) desarrollaron una investigación basada en la Bioestimulación de nutrientes en suelos con hidrocarburos aplicando la respirometría para evaluar la influencia de los nutrientes en la degradación. Se agregaron dos tipos de nutrientes, las cuales son las sales inorgánicas simples (SIS) y los fertilizantes inorgánicos compuestos (FIC). Se calculó las tasas de respiración para lo cual se mide el consumo de oxígeno. Para realizar esta medición se utilizó dos respirómetros HACH y OXITOP. El respirómetro HACH utiliza columnas de mercurio para detectar el cambio de presión, mientras que OXITOP utiliza sensores de presión.

Se realizaron ensayos respirométricos en microcosmos formados por botellas ámbar de 500 ml, para cuantificar el consumo de oxígeno por un lapso de 13 días. Los parámetros fisicoquímicos analizados fueron pH, HTP, humedad, y los parámetros microbiológicos analizados fueron el recuento de heterótrofos totales y degradadores de hidrocarburos. Los análisis fueron realizados en el día 0 y el día 13 del experimento. Los microcosmos se mantuvieron a una temperatura de  $21^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  y con una humedad de 12% de acuerdo a las condiciones *in situ*. Se evaluaron el tratamiento FIC el cual tenía una relación de N: P: K de 28:12:7 y el tratamiento SIS con una relación de C: N: P de 100:10:1.

En los resultados se observó que el pH alcanzó un rango ligeramente ácido a alcalino a lo largo del estudio mientras que la reducción de TPH no fue de manera significativa en ninguno de los dos equipos. En nutrientes, se observó un aumento significativo de Nitrógeno ( $\text{N-NH}_4^+$ ) en los equipos en cambio SIS mostró una disminución significativa finalizado el estudio. En los análisis microbiológicos se observó una disminución significativa en el recuento de las bacterias degradadoras para FIC en ambos equipos mientras que en el recuento de bacterias heterótrofas se observó un aumento significativo para SIS.



En el análisis respirométrico se evidencio un mínimo consumo de oxígeno en los 2 primeros días de tratamiento, considerado como la etapa de adaptación, del día 2 al día 10 se presencié un consumo exponencial y finalmente del día 10 al 13 se observó una reducción de consumo de oxígeno. La conclusión obtenida fue que agregar factores como sales inorgánicas (SIS) estimuló a la población microbiana presente, lo cual fue reflejado en el mayor consumo de oxígeno. Sin embargo debido a la alta presencia de TPH y el tiempo el consumo de oxígeno se redujo drásticamente.

SAMANEZ (2008), desarrolló una investigación basada en la bioestimulación de suelos contaminados con crudo de petróleo para la biodegradación bacteriana. Se evaluó la capacidad que poseen las bacterias de degradar el TPH de los suelos. La bioestimulación se realizó con el aumento de nutrientes como nitrógeno, fosforo y potasio, además de aplicar la bioaumentación.

Se realizaron 5 tratamientos con diferentes proporciones, el primero compuesto por bacterias bioaumentadas y fertilizantes inorgánicos (B+F), el segundo por bacterias bioaumentadas sin presencia de fertilizantes (B-F), el tercero conformado por bacterias nativas y fertilizantes inorgánicos (N+F), el cuarto con bacterias nativas sin fertilizantes (B-F) y el ultimo tratamiento fue de control. Los consorcios bacterianos seleccionados fueron *Acinetobacter calcoaceticus* T2X-1, *Pseudomonas aeruginosa* TX-5 y *Bacillus* sp. TX-4. De los 5 tratamientos aplicados, el más efectivo fue el tratamiento N°1 formado por bacterias bioaumentadas con fertilizantes inorgánicos obtuvo el 71.40 % de reducción de petróleo. La inclusión de los nutrientes como nitrógeno, potasio y fosforo aumentaron la capacidad de degradación de los microorganismos. Además cuando a los microorganismos nativos se les agrega microorganismos nativos poseen una mayor efectividad de biodegradación de petróleo.

ISSOUFI, RHYKERD Y SMICIK (2006), realizaron una investigación la cual consiste en el cultivo de 6 especies vegetales los cuales fueron maíz, alfalfa, grass, soya, trigo y vicia villosa, en suelos contaminados con petróleo de manera artificial al 0, 1, 5 y 10%.

A los 7 días de realizar el experimento se encontró una similitud entre los cultivos control y los tratados con el 1% de petróleo con excepción del maíz, el trigo y la soya quienes no tuvieron un adecuado crecimiento. En tratamientos con 5% de petróleo se observó a los 28 días que el maíz obtuvo un crecimiento mayor al resto de cultivos evaluados.

MÉNDEZ, SALAZAR Y VELÁSQUEZ (2006), elaboraron un estudio donde simularon el efecto de un derrame de petróleo en suelos y su afectación en dos especies de maíz tanto en la germinación como en el crecimiento.

Se utilizaron suelos del tipo Ultisol de Sábano, de los cuales se utilizó ensayos de 1 kg de suelo y 20% de petróleo. La presencia de maíz fue usada como indicador del producto remediador y de esta manera determinar su recuperación agrícola del suelo. Los tipos de maíz que se usaron en este estudio fueron Cariaco de grano blanco y Criollo de grano amarillo. El total de tratamientos aplicados fueron 5 de los cuales uno fue el tratamiento control.

El tratamiento más eficaz fue en el cual se aplicó los remediadores a los 15 días y la siembra a los 30 días después del derrame, debido a que la flora bacteriana nativa mejoró las condiciones del suelo reduciendo la toxicidad de los suelos y mejorando el desarrollo vegetal del maíz. Una de las conclusiones obtenidas fue que en aquellos tratamientos donde se aplicó el remediador e inmediatamente la siembra arroja los peores resultados y esto debido al efecto tóxico del petróleo y la falta de tiempo de acción de las bacterias degradadoras.

VALLEJO et al. (2005), desarrollaron una investigación donde evaluaron la biodegradación de TPH en suelos contaminados con petróleo por el método de Bioestimulación. Se comparó sales inorgánicas simples y fertilizantes inorgánicos compuestos que fueron agregados a los suelos contaminados. Para ello se cuantificaron, aislaron e identificaron las bacterias con capacidad de degradar hidrocarburos. Se utilizaron mesocosmos los cuales fueron elaborados con polietileno de alta densidad usada debido a su baja permeabilidad y su mínima absorción de TPH.

Las sales inorgánicas simples fueron adicionados en forma de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  y  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  y los fertilizantes inorgánicos compuestos tuvieron una relación de N: P: K de 15:15:15.

Los muestreos fueron realizados cada 25 días y un total de 6 muestras por tratamiento. Respecto a la caracterización de suelos, se observó que cuando se adicionó petróleo a los suelos hubo una significativa disminución de las concentraciones iniciales de  $\text{N-NO}_3$ ,  $\text{N-NH}_4$ , el pH de las sales inorgánicas y los fertilizantes compuestos disminuyeron a un valor de 4.1 y 4.2 respectivamente. Al disminuir el pH de los nutrientes se evidencio un aumento de los nitratos en las sales inorgánicas simples. Respecto a los nutrientes no se evidenció ningún cambio en los tratamientos como en la muestra control. Se mantuvo constante durante todo el tratamiento.

Se concluyó que los primeros 28 días se presentaron las mayores tasas de degradación en los tratamientos con sales inorgánicas simples (SIS) y en fertilizantes inorgánicas compuestos (FIC). Después de los primeros 28 días hubo una disminución significativa de la reducción de TPH el cual es atribuido a la disminución del pH, los cuales inhibieron el crecimiento de las bacterias heterótrofas y degradadores. El tratamiento con sales inorgánicas simples mostró una mayor tasa de reducción de TPH debido a su mayor solubilidad y disponibilidad para las bacterias degradadoras. Por tanto se sugiere usar las sales inorgánicas simples (SIS) en tratamientos con alta capacidad amortiguadora y donde controlen el pH externamente. En relación de costos los tratamientos con fertilizantes inorgánicos compuestos mostraron mayor accesibilidad debido a su mayor aportación de fósforo.

MÉNDEZ-NATERA et al. (2004), realizaron un estudio en el cual evalúan la germinación de semillas de maíz de la especie *Zea Mays CV. Himeca 95* en suelos contaminados con petróleo al 0, 3 y 6% en 3 periodos de siembra después de haber ocurrido el derrame de petróleo. Se trabajó en macetas de 2 kg de suelo y se contamina con 60 y 120 gramos de petróleo para una contaminación de 3 y 6% respectivamente.

Se realizó la siembra a los 0, 7 y 14 días después de realizar la contaminación del suelo con petróleo. La siembra fue realizada a 2 cm de profundidad del suelo.

Para el experimento se determinó el porcentaje de germinación del maíz a los 4, 5, 6, 7, 8, 12 y 16 días de sembrar, con el objetivo de encontrar el día promedio de germinación y su índice de velocidad de germinación. El mejor desarrollo vegetal se evidenció en aquellas semillas de maíz sembradas 1 a 2 semanas después de realizada la contaminación de los suelos, exactamente a los 14 días no hubo efectos detrimentales de las concentraciones más altas de petróleo. Como conclusión podemos decir que en suelos afectados por derrame de petróleo se debe esperar un tiempo para la siembra de especies vegetales con alta capacidad de resistencia al petróleo.

QUIÑONES-AGUILAR et. al. (2003), realizaron una investigación en la cual buscan conocer la respuesta de diez recolecciones de maíz en suelos que han sido contaminados accidentalmente por petróleo. Esta investigación fue dividida en tres etapas, la primera etapa consistió en el reconocimiento de las semillas de maíz, la segunda en el establecimiento de un invernadero para el desarrollo de la experimentación y por último la evaluación de los resultados. La contaminación presente en los suelos con derrames de petróleo estaban en 15 000, 25 000 y 35 000 mg/kg.

En la experimentación se evidenció que el mayor crecimiento y desarrollo del maíz fue en suelos contaminados con 25 000 mg/kg, las características medidas en el maíz fueron la altura de la planta, longitud de raíz, peso seco del follaje, peso seco de la raíz. Se concluye que a medida que la concentración de petróleo aumenta en los suelos disminuye la longitud de las raíces del maíz. Este efecto es debido a que sobre la raíz se forma una capa hidrofóbica, la cual limita la absorción de agua y nutrientes.

EKUNDAYO, EMEDE Y OSAYANDE (2001), evaluaron el efecto de un derrame de petróleo crudo sobre los suelos en el maíz Suwam I. El experimento fue realizado en macetas de 1 kg. Las características medidas fueron altura de la planta, diámetro del tallo, altura de mazorca y área foliar. Estas características fueron medidas después de 4 semanas de la siembra. En los resultados se obtuvo que la

germinación fue retrasada y se afectó el porcentaje de germinación lo que causó un crecimiento pobre en los suelos.

### **1.3 Marco Teórico**

#### **1.3.1 Suelo**

##### **1.3.1.1 Definición y fases del suelo**

El suelo es la capa más superficial de la corteza terrestre, es de escaso grosor (pocos centímetros a pocos metros) y dinámica (cambios constantes), en la cual se asienta la vida y actúa de interface de la atmósfera, geosfera, biosfera e hidrosfera ya que contiene elementos de todas ellas. El suelo está compuesto por tres fases: fase sólida, líquida y gaseosa (FAO, 1999).

##### **Fase sólida**

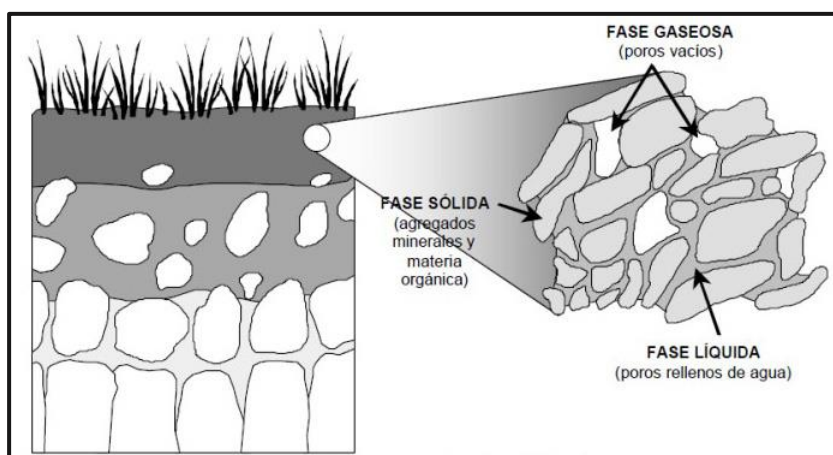
Está dividido en orgánica e inorgánica: La inorgánica son fragmentos de minerales y rocas producto de la meteorización. Las arcillas forman agregados con los humus, importantes para la fertilidad del suelo al retener las sales minerales. La orgánica está compuesta por materia orgánica que procede de los restos de seres vivos en mayor o menor grado de descomposición como son los excrementos, la madera entre otros. Se llama humus a la materia orgánica en avanzada descomposición. La materia orgánica aumenta la fertilidad del suelo debido a la capacidad de retención de agua lo que favorece a la aireación del suelo aglutinando partículas minerales haciéndolo más poroso.

##### **Fase líquida**

Es el agua que lleva disuelta humus, sales minerales y coloides de arcillas. En los poros del suelo generalmente se encuentra agua, que puede ser absorbible si los poros son medianos. Si los poros son muy pequeños, el agua no circula debido a que no puede ser absorbido por las raíces. Si los poros fueran muy grandes tampoco pueden ser absorbidos porque se escurre por gravedad y pasa a formar parte de acuíferos subterráneos.

## Fase gaseosa

Es el aire que se encuentra almacenado en los poros de tamaño grande, en los cuales el agua se ha consumido. Poseen una mejor proporción de O<sub>2</sub> que el aire atmosférico y a medida que se vuelve más profundo, aumenta la cantidad de CO<sub>2</sub> y disminuye el nivel de O<sub>2</sub> (UM, 2015).



Fuente: Programa Subsectorial de agricultura (PSI), 2016

Figura 1- 1 Fases del Suelo

### 1.3.1.2 Textura y estructura del suelo

La textura es la proporción de las partículas minerales del suelo, están clasificadas según su tamaño de grano en tres grupos que son: arena, arcilla y limo. Es un factor importante en las características del suelo como la permeabilidad, aireación, capacidad de retención de agua y nutrientes (PSI, 2016).

La textura influye sobre las propiedades del suelo desde el punto de vista agrologico, de la conservación y de la amortiguación de la contaminación.

### Desde el punto de vista agronómico

Los suelos arenosos muestran buena fertilidad física y mala fertilidad química. Los suelos limosos no son frecuentes, solo en aluviales. Los suelos arcillosos son muy activos químicamente. Y los suelos francos presentan buenas condiciones físicas, químicas y biológicas al suelo.

### **Desde el punto de vista de conservación**

Las arenas son arrastradas por el viento y agua. Las arcillas se unen entre sí y se protegen. Los limos no se unen más bien se erosionan fácilmente.

### **Desde el punto de vista de amortiguación de la contaminación**

Las arenas son inertes mientras que las arcillas tienen un alto poder de amortiguación y pueden transformar a los contaminantes además posee una elevada capacidad de autodepuración. (MINAGRI, 2016).

La estructura del suelo es la disposición de las partículas del suelo y tiene gran importancia sobre las propiedades del suelo. Existen partículas finas del suelo que al unirse forman grumos por acción de la materia orgánica (complejo arcilla-humus). Los poros son espacios entre estos agregados, determinan hasta el 50% del volumen del suelo (FAO, 1999).



Fuente: Programa Subsectorial de agricultura (PSI), 2016

Figura 1- 2 Estructura del suelo

#### **1.3.1.3 Propiedades físicas de los suelos**

Las propiedades físicas de los suelos varían dependiendo la textura y estructura del suelo, a continuación se menciona cual es la relación entre las propiedades del suelo y el tipo de suelo existente.

Tabla 1- 1 Propiedades físicas del suelo

Propiedades del suelo	Suelos ligeros	Suelos medios	Suelos pesados
Aireación	excelente	bueno	pobre
Drenaje	excelente	bueno	pobre
Retención de nutrientes	baja	media	alta
Retención de agua	baja	media	alta
Labranza	fácil	moderada	difícil

Fuente: Programa Subsectorial de agricultura, 2016

### 1.3.2 Poblaciones Microbianas

Los microorganismos son uno de los componentes más importantes del suelo debido a que constituyen su parte biótica y entre sus funciones está la descomposición, mineralizar complejos orgánicos, así como la fijación del Nitrógeno atmosférico al suelo. En los suelos fértiles se puede encontrar millones de microorganismos benéficos para los cultivos.

Entre los tipos de microorganismos encontramos a las bacterias, hongos, algas, protozoarios, actinomicetos y virus que controlan sobre las poblaciones presentes. Para el crecimiento de los microorganismos se debe tomar del ambiente todas las sustancias requeridas para la síntesis de sus materiales celulares y para la generación de energía. Estas sustancias se llaman nutrientes. Un medio de cultivo debe tener todos los nutrientes apropiados para los requerimientos de los microorganismos (MOREJON y PARDO, 2008).

La composición química de las células indica los principales materiales para su crecimiento. El 80 a 90% del peso total de las células es agua, principal nutriente en términos de cuantitividad.

Mientras que el resto, es la materia sólida de las células. Esta materia sólida esta forma por hidrogeno, oxigeno, nitrógeno, fosforo, azufre y carbono. Estos elementos constituyen el 95% del peso seco de la célula.



Tabla 1- 2 Composición elemental aproximada a la célula microbiana

Elemento	Porcentaje Del Peso Seco
Carbono	50%
Oxígeno	20%
Nitrógeno	14%
Hidrógeno	8%
Fósforo	3%
Potasio	1%
Sodio	1%
Calcio	0.50%
Cloro	0.50%
Hierro	0.20%
Todos Los Demás	0.30%

Fuente: The Bacteria, 1960

### 1.3.2.1 Factores que limitan el crecimiento microbiológico del suelo

- Erosión y baja disponibilidad de nutrientes
- Fertilización mineral
- Temperatura y pH extremos
- Inundaciones y malos drenajes
- Uso de plaguicidas
- Textura del suelo y concentraciones tóxicas de metales pesados
- Extremos en los contenidos de aire y humedad.

### 1.3.3 Crudo de Petróleo

#### 1.3.3.1 Composición general

El crudo de petróleo es un líquido negro, viscoso y con una alta complejidad en su composición, ya que posee miles de compuestos básicamente de la familia de los hidrocarburos. Los hidrocarburos ocupan entre el 50 - 98% de la composición del petróleo. Por este motivo se considera uno de los grupos contaminantes más abundantes y persistentes en distintos compartimientos ambientales (CASELLAS et al, 1995).

La composición elemental del crudo de petróleo está formada por: 84-87% Carbono, 11-14% Hidrógeno, 0-8% Azufre y 0-4% Oxígeno y Nitrógeno.

Los principales componentes están fraccionados en los siguientes grupos:

- Fracción saturada (n-alcanos, alcanos ramificados con cadenas alquílicas y las cicloparafinas)
- Fracción aromática (monoaromáticos, diaromáticos, hidrocarburos aromáticos Policíclicos)
- Fracción de resinas
- Fracción de asfaltenos (hidrocarburos heterocíclicos, oxigenados y de alto peso molecular) (SPEIGHT, 1991).

Tabla 1- 3 Composición de las fracciones químicas contenidas en un crudo de petróleo

Fracción	Composición
Saturados	n-alcanos, alcanos ramificados e isoprenoides y cicloparafinas o cicloalcanos, hopanos.
Aromáticos	monoaromáticos, diaromáticos, hidrocarburos aromáticos Policíclicos
Resinas	Agregado de piridinas, quinilinas, carbazonles, tiofenos, sulfóxidos y amidas
Asfaltenos	Agregados de HAP, ácidos naftalénicos, sulfuros, ácidos grasos, metaloporfirinas, fenoles polihidratados

Fuente: Casellas et.al., 1995

### 1.3.3.2 Composición del crudo de petróleo por familias de hidrocarburos

El crudo de petróleo agrupa sus compuestos en las siguientes familias: Parafinas volátiles (alcanos ramificados y no ramificados hasta C<sub>10</sub>), parafinas no volátiles (alcanos lineales y ramificados entre C<sub>10</sub> y C<sub>40</sub>), naftalenos (Cicloalcanos o cicloparafinas), oleofinas (alquenos) y aromáticos (monoaromáticos y poliaromáticos). Por su complejidad se clasifica en un grupo aparte a las resinas y los asfaltenos. (TORRES y ZULUAGA, 2009).

- **Parafinas volátiles (n-alcanos e isoprenoides volátiles)**

Puede representar hasta el 30% del crudo de petróleo. Poseen un tamaño de C<sub>1</sub> y C<sub>10</sub> (átomos de carbono). Es considerada la fracción más volátil del crudo de petróleo, lo cual lo hace más susceptible de perdidos abióticas por volatilización. El gas natural tiene un tamaño entre C<sub>1</sub> y C<sub>5</sub>. Los isoprenoides volátiles están representados por el isobutano e isopentano. Pueden llegar estos hasta C<sub>10</sub>.

- **Parafinas no volátiles (n-alcanos e isoprenoides)**

Poseen un tamaño entre C<sub>11</sub>-C<sub>40</sub> y son de volatilidad intermedia. Los n-alcanos pueden constituir hasta el 15-20% de crudos no degradados y su tamaño oscila entre C<sub>11</sub>-C<sub>40</sub>. Los isoprenoides varían de C<sub>12</sub>-C<sub>22</sub> y constituyen ente el 1-2% del crudo algunos casos llegan hasta el 15% en crudos degradados.

- **Naftenos (Cicloalcanos)**

Pueden representar hasta un 31% del crudo de petróleo. Compuesto por las cicloparafinas o Cicloalcanos.

- **Olefinas (alquenos)**

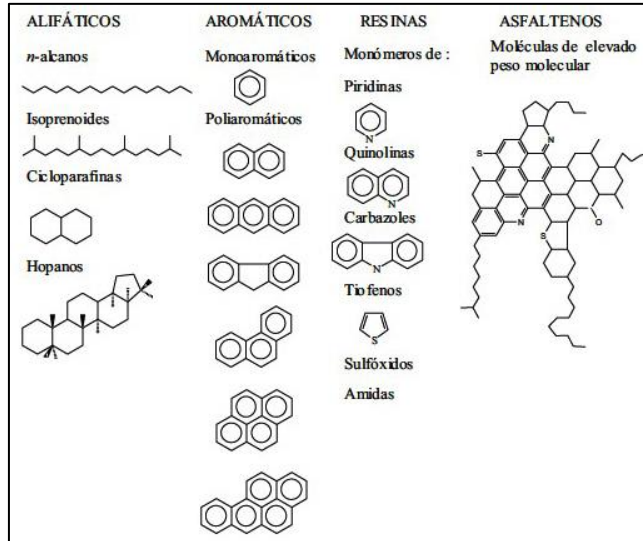
No se encuentran muy presentes en el crudo de petróleo, por lo que solo se encuentra en concentraciones traza. Adquieren importancia en los productos finales del refinado, existiendo hasta un 30% en gasolinas y 1% en fueles.

- **Hidrocarburos aromáticos**

El crudo de petróleo conforma una mezcla muy compleja de hidrocarburos aromáticos. Fracción que la componen moléculas con uno o varios anillos bencénicos en su estructura. Por tanto hay tres grupos principales los cuales son hidrocarburos monoaromáticos (un anillo bencénico), diaromáticos (2 anillos bencénicos) y poliaromaticos (más de dos anillos bencénicos).

- **Resinas y asfaltenos**

Constituyen entre un 10% de crudos poco degradados o ligeros, hasta un 60% en crudos muy detallados. Es la fracción que presenta una mayor recalcitrancia de un crudo de petróleo debido a que son mezclas muy complejas.



Fuente: Casellas et.al., 1995

Figura 1- 3 Estructura química de un crudo de petróleo

### .3.4 Refinado de Petróleo

El refinado pasa por un proceso de destilación, esto es para eliminar el color y el olor así como los elementos del azufre. A través de temperaturas crecientes se realiza el destilado, obteniendo cuatro fracciones, las cuales son: gasolina, queroseno, destilados medios (aceites lubricantes, gasoil, queroseno) y un residuo. El residuo se destila al vacío obteniéndose otros aceites lubricantes más pesados, ceras, betumes asfálticos y parafinas.

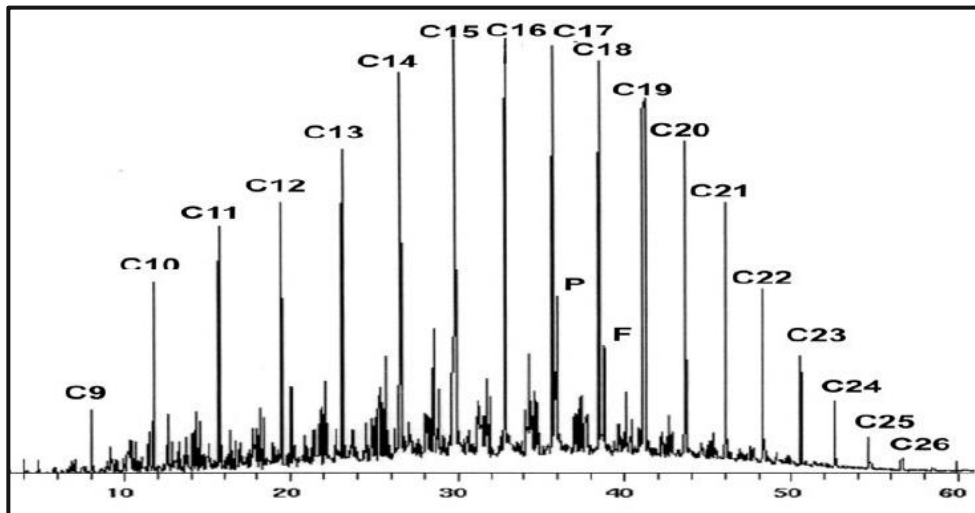
Tabla 1- 4 Fracciones del refinado por destilación de crudo de petróleo

Fracción	T° ebullición (°C)	Composición aproximada	Usos
Gasolina Ligera	20-100	C5H12 -C7H16	Disolvente
Bencina	70-90	C6-C7	Limpieza en seco
Ligroína	80-120	C6-C8	Disolvente
Gasolina	20-180	C6-C11	Carburante de motores
Queroseno, Jet fuel	200-300	C12-C16	Alumbrado y carburante
Gasoil, Diesel	200-350	C13-C18	Carburante de motores
Aceite lubricante	200-350	C16-C20	Lubricantes
Grasas, vaselinas	250-400	C18-C22	Farmacéutica
Cera de parafina	245-540	C20-C45	Velas
Betum asfáltico (35% peso)	>540	C30-C45	Alquitrán asfáltico coque de petróleo

Fuente: Casellas et.al., 1995

En el proceso de refinado, se eliminan componentes de la fracción asfaltenica (altamente recalcitrante) lo que implica que los refinados intermedios (gasoil, fueles, querosenos y gasolinas) sean productos relativamente más biodegradables que los coques o alquitranes residuales.

El gasoil y los fueles ligeros forman parte de la fracción intermedia de la destilación en el refinado. Su punto de ebullición es entre 185-345 °C, donde se encuentra ente 10 a 25 átomos de carbono, siendo los de mayor abundancia los C 15-C17. Está compuesto de 30% parafinas, 45% naftalenos y 25% aromáticos.



Fuente: Casellas et.al., 1995

Figura 1- 4 Perfil cromatográfico de gasoil a través de espectrometría de masas

### 1.3.5 Impacto Ambiental de los Contaminantes Orgánicos

#### 1.3.5.1 Modo de acción biológica de los compuestos orgánicos

El modo de acción puede clasificarse como de *contacto* o *sistémico*. Los compuestos que actúan por contacto atacan organismos por debilitamiento o disrupción de las membranas celulares. Si ataca el contaminante por vía de contacto la muerte del individuo puede ser muy rápida. Por el contrario cuando un contaminante actúa por acción sistémica puede ser absorbida o ingerida por el organismo con que interacciona interfiriendo con los procesos fisiológicos (formación de clorofila, desarrollo de tejidos, división celular). Estos son lentos en acción y requiere de tiempos largos antes que los resultados se hagan evidentes.

#### 1.3.5.2 Impacto ambiental de los compuestos orgánicos en los ecosistemas marinos

El petróleo crudo o refinado daña los ecosistemas marinos produciendo los siguientes efectos:

- Muerte de organismos asfixiados
- Destrucción de organismos nacidos
- Aumento de infecciones en las especies
- Efecto negativos sobre la reproducción de fauna y flora marina

## **Efectos fóticos**

- La disminución de la entrada de luz en el mar a causa de manchas de petróleo lo cual inhabilita o reduce el área donde es posible la fotosíntesis.
- La falta de las plantas fotosintéticas reduce el aporte de oxígeno y limita la distribución de las algas, reduciendo las zonas que proporcionan cobijo a especies marinas.
- El fitoplancton es el alimento del zooplancton, sin este, el zooplancton muere e interrumpe el crecimiento de un importante número de especies, dejando sin alimentos a un gran número de animales marinos.

## **Efectos tóxicos**

- Envenenamiento de aves por ingerir grandes cantidades de hidrocarburos
- Muerte de los organismos por envenenamiento, por absorción o por contacto
- Tras la desaparición del petróleo de la superficie, el agua presente una falsa apariencia "limpia" generando muerte del fitoplancton y fauna marina. El petróleo se deposita sobre los fondos marinos matando o provocando efectos subletales sobre miles de animales y plantas vitales para el ecosistema.

### **1.3.5.3 Impacto ambiental de los compuestos orgánicos en los ecosistemas terrestres**

Dentro de las propiedades físicas de los suelos más afectados por derrames de hidrocarburos están las siguientes:

- La estructura del suelo debido a la ruptura de los agregados
- El aumento de la retención del agua en la capa superficial
- Aumento de carbono orgánico, aproximadamente el 75% de carbono orgánico es oxidable.
- Disminución de pH, por acumulación de carbono orgánico y su generación de ácidos orgánicos.
- Aumento del manganeso, hierro intercambiable y fósforo disponible.

### **1.3.6 Legislación Ambiental de los Suelos Contaminados**

En el año 1993 se elaboró el primer reglamento ambiental para actividades de hidrocarburos el cual regulaba los impactos ambientales que provenían de actividades de hidrocarburos.

En el año 2006 se modificó la normativa mediante el Decreto Supremo 015-2006-EM, el cual brinda nuevas prerrogativas y principios para adecuar la actividad de los hidrocarburos al marco normativo ambiental.

#### **1.3.6.1 Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo D.S N°002-2013-MINAM**

Los ECA que se aplican a este cuerpo receptor son aplicables a todas las actividades y proyectos que puedan generar riesgos de contaminación del suelo en sus áreas de influencia o emplazamiento. Estos han sido categorizados en tres grupos, según el uso del suelo los cuales son: uso agrícola, residencial o parques y suelo comercial o industrial o extractivos, respecto de los cuales se han establecidos valores máximos para 21 parámetros entre orgánicos e 7 inorgánicos. (MINAM, 2014).

Dentro de los parámetros orgánicos, se establecen tres parámetros de hidrocarburos en suelos. Los cuales explicaré brevemente a continuación:

##### **Fracción de hidrocarburos F1 o hidrocarburos de fracción ligera**

Mezcla de hidrocarburos cuyas moléculas contenga entre cinco y diez átomos de carbono (C5 y C10). Los hidrocarburos de fracción ligera se analizan en los siguientes productos contaminantes: productos derivados del petróleo, petróleo crudo, gasavión, gasolvente, gasolinas y gas nafta.

##### **Fracción de hidrocarburos F2 o hidrocarburos de fracción media**

Mezcla de hidrocarburos cuyas moléculas contenga entre diez y veintiocho átomos de carbono (C5 y C10).



Los hidrocarburos de fracción media se analizan en los siguientes productos contaminantes: productos derivados del petróleo, petróleo crudo, gasóleo, turbosina, queroseno, mezcla de creosota, gasavión, gasolinas y gas nafta.

**Fracción de hidrocarburos F3 o hidrocarburos de fracción pesada**

Mezcla de hidrocarburos cuyas moléculas contenga entre veintiocho y cuarenta átomos de carbono (C5 y C10). Los hidrocarburos de fracción pesada se analizan en los siguientes productos contaminantes: productos derivados del petróleo, petróleo crudo, parafinas, petrolatos, aceites derivados del petróleo.

Tabla 1- 5 Estándares de calidad ambiental para suelos

Parámetros	Usos del suelo			Método de Ensayo
	Suelo Agrícola	Suelo Residencial/Parques	Suelo Comercial/Industrial/Extractivo	
Fracción de Hidrocarburos F1 (C5-C10) (mg/Kg PS)	200	200	500	EPA 8015
Fracción de Hidrocarburos F2 (C10-C28) (mg/Kg PS)	1200	1200	5000	EPA 8015
Fracción de Hidrocarburos F3 (C28-C40) (mg/Kg PS)	3000	3000	5000	EPA 8015

Fuente: D.S. 002– 2013- MINAM

### **1.3.6.2 Guía para la elaboración de Planes de Descontaminación de Suelos**

Esta Guía establece lineamientos para la actuación de los titulares de actividades de extracción, de producción y servicios o los responsables privados o públicos de la descontaminación de suelos, quienes deben elaborar el PDS, el cual es un instrumento de gestión ambiental, establecido en el D.S. 002-2013-MINAM que aprueban los Estándares de Calidad Ambiental para los suelos.

Se identifican tres fases para la aplicación de los ECA para suelo a toda actividad o proyecto que genere riesgos de contaminación, estas fases son las siguientes:

- Fase de identificación (previo al PDS)
- Fase de Caracterización (elaboración de PDS)
- Fase de remediación (posterior al PDS)

La Guía brinda información sobre la identificación de sitios contaminados y su magnitud de la contaminación del suelo además de definir propuestas de acción de remediación para eliminar riesgos a la salud y ambiente reduciendo la contaminación a niveles aceptables. (SPDA, 2016).

### **1.3.7 Ventajas y limitaciones de los procesos de Biorremediación de suelos contaminados**

#### **1.3.7.1 Biorremediación**

La biorremediación es el uso de seres vivos para la restauración de ambientes contaminados. Burges (1997), define a la biodegradación asistida como un proceso en el cual microorganismos (bacterias y hongos) metabolizan contaminantes orgánicos del suelo. Los transforman y lo usan para su propio crecimiento como fuente de energía y de carbono o en otros casos lo convierten en sustratos de crecimiento alternativo.

Para incentivar el crecimiento de los microorganismos se necesita presencia de aceptores y donadores de electrones como la presencia de nutrientes (N, P, K, S, Mg, Ca, Mn, Fe, Zn, Cu y elementos traza).

Por tanto empleo de la biorremediación en el tratamiento de residuos peligrosos supone un concepto relativamente nuevo, aunque se ha convertido en una tendencia de rápido crecimiento dentro de la gestión medioambiental. El mercado para la biorremediación es bastante amplio. (UAH, 2011).

### **1.3.7.2 Bacterias y Hongos en el proceso de Biorremediación de suelos contaminados**

La degradación de los hidrocarburos de petróleo en condiciones aeróbicas o anaeróbicas se logra con el uso de poblaciones de bacterias y hongos en el suelo.

Dentro de las especies de bacterias con la capacidad para degradar hidrocarburos, están:

- ❖ Pseudomonas
- ❖ Arthrobacter
- ❖ Alcaliegnes
- ❖ Coiynebacterium
- ❖ Fflavobacterium
- ❖ Achromobacter
- ❖ Micrococcus

Y dentro de las especies de hongos para degradar hidrocarburos están:

- ❖ Aaspergillus
- ❖ Cephalosporium
- ❖ Cunnighamella
- ❖ Torulopsis
- ❖ Trichoderma y Saccharomyces

La degradación de compuestos alifáticos de cadena lineal se realiza más fácilmente que los compuestos aromáticos. Los hidrocarburos saturados son más fáciles de degradar que los insaturados. Cadenas simples de hidrocarburos alifáticos insaturados son más fácil de degradar que cadenas ramificadas. La introducción de ramificaciones en la molécula de hidrocarburo reduce la biodegradación.

La actividad biológica de los microorganismos degrada el petróleo en distintos niveles. Se llama biotransformación a la descomposición de un compuesto orgánico de forma intermedia. Cuando se logra una descomposición a dióxido de carbono, agua y compuestos celulares se denomina mineralización. Ambas reacciones se producen durante la biodegradación.

### 1.3.7.3 Ventajas y Desventajas de los Tratamientos de Remediación

Tabla 1- 6 Ventajas y desventajas de tratamientos de remediación

	Ventajas	Desventajas
Tratamientos biológicos	Son efectivos en cuanto a costos	Requieren mayores tiempos de tratamiento
	Son tecnologías más benéficas para el ambiente	Es necesario verificar la toxicidad de intermediarios y/o productos
	Los contaminantes generalmente son destruidos	No pueden emplearse si el tipo de suelo no favorece el crecimiento microbiano
	Se requiere un mínimo o ningún tratamiento posterior	
Tratamientos fisicoquímicos	Son efectivos en cuanto a costos	Los residuos generados por técnicas de separación, deben tratarse o disponerse
	Pueden realizarse en periodos cortos	Aumento en costos y necesidad de permisos
	El equipo es accesible y no se necesita de mucha energía ni ingeniería	Los fluidos de extracción pueden aumentar la movilidad de los contaminantes
Tratamientos térmicos	Permite tiempos rápidos de limpieza	Es el grupo de tratamientos más costos
		Los costos aumentan en función del empleo de energía y equipo
		Intensivos en mano de obra y capital

Fuente: Burges, 1997

### **1.3.8 Factores que condicionan la Biorremediación de un suelo**

Para que una mezcla de hidrocarburos presentes en el suelo se biodegraden depende de distintos factores. Entre los más importantes tenemos: existencia de una potencial población microbiana potencialmente activa, la estructura del contaminante, su biodisponibilidad, su concentración, y factores ambientales como el pH, la temperatura, humedad del suelo, aceptores de electrones disponibles y nutrientes orgánicos como el Nitrógeno y Fósforo disponible.

#### **El pH, temperatura y humedad**

Cada cepa microbiana tiene un determinado rango de tolerancia a factores ambientales como son: la temperatura, el pH y la humedad, los cuales pueden afectar al crecimiento y actividad de las poblaciones microbianas. El pH debe mantenerse en el rango de 6 a 8 para un crecimiento óptimo de los microorganismos degradadores de hidrocarburos. Si los suelos presentaran un valor bajo en pH se le debe adicionar cal como material encalante. La variación del pH del suelo afecta a la actividad microbiana y también a la solubilización y adsorción/absorción de los contaminantes y de los iones. Las formas catiónicas ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ) son más solubles a pH ácido mientras que las formas aniónicas ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ) son más solubles a pH alcalino (SHARPLEY, 1991). En general, el pH óptimo para las bacterias heterótrofas es neutro (pH 6-8), mientras que es más ácido para los hongos (pH 4-5). El pH óptimo establecido para procesos de biodegradación es neutro (pH 7,4-7,8).

Cuando el suelo presenta temperaturas que varía entre  $10^\circ$  a  $45^\circ\text{C}$ , la actividad microbiana se duplica cada  $10^\circ\text{C}$ , lo cual es el rango óptimo para el proceso de biorremediación. La mayor parte de estudios realizados indican que las condiciones mesofílicas ( $20\text{-}30^\circ\text{C}$ ) son las óptimas para la biorremediación de suelos contaminados. Por ello, es importante la influencia de la temperatura en la tasa de degradación de hidrocarburos ya que el crecimiento y la actividad microbiana dependen de ésta. (USEPA, 2003).

Respecto a la humedad, un déficit de agua puede disminuir el transporte de nutrientes, así como también la migración bacteriana a través del suelo.

El exceso de agua en un suelo desplaza el aire residente en los poros del suelo, generándose con mayor facilidad condiciones anaeróbicas, al agotarse el oxígeno disuelto en agua. En suelos de granulometría fina (elevado porcentaje de arcillas y limos) suele utilizarse una proporción cercana al 40% de la capacidad de campo, mientras que para suelos arenosos suele utilizarse una humedad cercana al 60% de la capacidad de campo del suelo

### **Estructura química**

De las familias de hidrocarburos de petróleo la n-alcano y alcanos ramificados son sustratos degradables por los microorganismos del suelo debido a que tiene una cadena intermedia de C-10 a C-20, son eficazmente biodegradados. Los alcanos de cadena larga con Carbono mayor a 20, son difíciles de degradar debido a que presenta un alto peso molecular y baja solubilidad en agua. Aquellos HAPs que posee entre 2 a 3 anillos aromáticos se puede degradar eficazmente en condiciones ambientales, sin embargo aquellos que presentan 4 anillos tiene una mayor recalcitrancia inherente y una baja solubilidad.

### **Aceptores de electrones**

La mayor cantidad de hidrocarburos presentes en el petróleo son degradados con mayor rapidez en condiciones aeróbicas, usando el O<sub>2</sub> comoceptor final de electrones, debido que sin el O<sub>2</sub> y usando aceptores de electrones alternativos como puede ser NO<sub>3</sub>, SO<sub>4</sub>, Mn y Fe, los hidrocarburos suelen degradarse con tasas de biodegradación más inferiores a las aeróbicas.

### **Nutrientes inorgánicos**

Los microorganismos requieren principalmente de nitrógeno y fosforo para mantener su reproducción. Por ellos para aumentar la cantidad de nutrientes en el suelo se agrega fertilizantes agrícolas como la urea, nitrato de amonio o superfosfato triple. Además de ello, se puede dosificar con nitrógeno y fosforo en función de la concentración del contaminante. El uso excesivo de nutrientes inorgánicos también puede inhibir los procesos de biodegradación.

La EPA recomienda utilizar proporciones C: N de 100:10 a 1000:10 para la biodegradación de suelos contaminados por hidrocarburos.

### 1.3.10 Bioestimulación

La bioestimulación es el uso de sustancias acuosas que contengan oxígeno o nutrientes, a través del suelo contaminado para la estimulación de la actividad de los microorganismos autóctonos, de esta manera mejorar la biodegradación de contaminantes orgánicos.

Este tratamiento se ha usado como éxito para la remediación de suelos contaminados con gasolinas, COVs, pesticidas entre otros (ALEXANDER, 1994).

#### 1.3.10.1 Limitaciones

Esta tecnología no es recomendable para suelos arcillosos, altamente estratificados o demasiado heterogéneos, ya que pueden provocar limitaciones en la transferencia de O<sub>2</sub>. Otros factores que pueden limitar su aplicación, incluyen:

- El tipo del suelo no favorezca el crecimiento microbiano
- Incremento en la movilidad de los contaminantes
- Obstrucción en los pozos de inyección provocada por el crecimiento microbiano.

#### 1.3.11 Maíz “Zea Mays” (variedad Marginal 28-Tropical)

Especie	:	Fanerógamas
Subdivisión	:	Angiospermas
Clase	:	Monocotiledóneas
Subclase	:	Metaclamideas
Orden	:	Columifloras Poaceae
Tribu	:	Maydeae
Familia	:	Gramínea
Sub-Familia	:	Panicoideas
Género	:	<i>Zea</i>
Especie	:	<i>Zea Mays L.</i>

Fuente: León, 1987

Figura 1- 5 Clasificación Taxonómica

### 1.3.11.1 Características Botánicas

El ámbito de desarrollo del cultivo de la variedad Marginal 28 – Tropical, es la Selva Alta y Costa Norte del Perú, siendo su rango de adaptación hasta los 1800 msnm. La variedad Marginal 28 – Tropical es un compuesto que resulta de un cruzamiento inter e intra poblacional de los cultivares ACROSS 7725, FERKE 7928, LA MAQUINA 7928 procedentes del CIMMYT. (INIA, 2013)

Tabla 1- 7 Características del maíz (*Zea Mays L.*)

<b>SEMILLA</b>	
Variedad	Marginal 28 -Tropical
Forma	Plana, mediana y alargada (diente)
Color	Amarillo rojizo y cristalino y capa crema
Tamaño Promedio	11.8 mm (11.5-12.0 mm)
<b>PLÁNTULA</b>	
Color de plántula	Verde claro
<b>PLANTA</b>	
Altura promedio	2.0 - 2.2 m
Forma de hoja	Lanceolada
Color de las hojas	Lamina verde, nervadura central verde
Color de tallo	Nudos y entrenudos verde claro
<b>INFLORESCENCIA</b>	
Color de los estigmas	Púrpura
Color de la panoja	Púrpura
<b>MAZORCA</b>	
Altura de inserción promedio	1.0-1.1 m
Forma	cilíndrica y/o cónica
Color de olote	blanco

Fuente: INIA, 2013

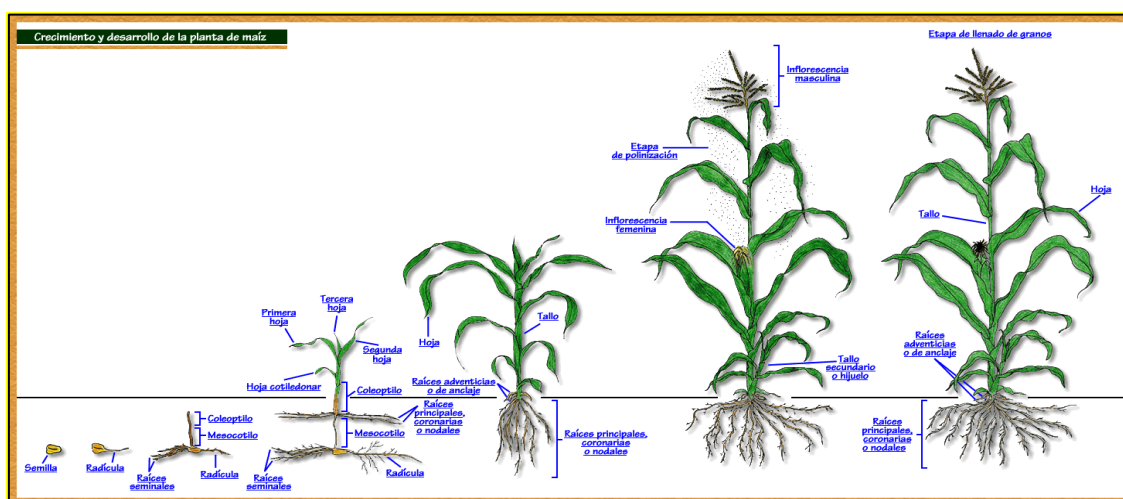


### 1.3.9.2 Etapas Fenológicas

Tabla 1- 8 Fenología del maíz

VE	El coleoptilo emerge de la superficie del suelo
V1	Se ve el cuello de la primera hoja (la primera hoja siempre tiene la punta redondeada)
V2	Se ve el cuello de la segunda hoja
VN	Se ve el cuello de la hoja "n" ("n" es igual al número final de hojas de la planta y está usualmente entre 16 y 22; sin embargo, al momento de la floración las cuatro o cinco hojas inferiores se pueden haber perdido)
VT	Se ve completamente la última rama de la panoja; debe tenerse en cuenta que no es lo mismo que la floración masculina, la cual ocurre cuando comienza a derramarse el polen, o sea la antesis.
R1	Se ven los estambres en el 50% de las plantas
R2	Se ven los granos hinchados llenos de un fluido claro y el embrión
R3	Estado lechoso: los granos están llenos de un fluido blanco lechoso
R4	Estado pastoso; los granos están llenos de una pasta blanca; el embrión tiene la mitad del ancho del grano
R5	los granos son típicamente dentados; en una vista lateral del grano se nota una "línea lechosa", tanto en los granos de maíz duro como en los dentados
R6	Madurez fisiológica: en la base del grano se ve la capa negra; la humedad del grano es de cerca de 35%

Fuente: Laffite, 1994



Fuente: INIA, 2013

Figura 1- 6 Desarrollo del maíz

### **1.3 Formulación del problema**

#### **1.3.1 Problema General**

¿Se biodegradan los hidrocarburos totales de petróleo por bioestimulación con Cachaza y Guano de Islas en suelos procedentes de la Refinería Conchán-Petroperú?

#### **1.3.2 Problemas Específicos**

¿La biomasa microbiana biodegradan los hidrocarburos totales de petróleo (TPH) en suelos procedentes de la Refinería Conchán?

¿Las propiedades fisicoquímicas del suelo aceleran el tiempo de biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo en suelos procedentes de la Refinería Conchán-Petroperú?

¿Qué técnica de bioestimulación con Cachaza y Guano de Islas biodegrada en mayor cantidad los hidrocarburos totales de petróleo en suelos procedentes de la Refinería Conchán?

¿La aplicación de Cachaza y Guano de Islas como bioestimulantes tiene influencia en el desarrollo vegetal de la especie Zea Mays L?

#### **1.4 Justificación del estudio**

Uno de los principales problemas que afronta el Perú en estos últimos años, es el problema de la contaminación ambiental por derrames de hidrocarburos. Es crítico observar que no se brindan soluciones permanentes para estos problemas, y que en estos momentos, los suelos y los ríos de nuestra Amazonía peruana se contaminan gravemente. En la capital, las actividades que evidencian mayor contaminación ambiental por derrame de hidrocarburos suceden en las Refinerías. Entonces, podemos afirmar que no hay medidas exitosas de prevención de derrames de hidrocarburos en la actualidad, ya que casi en su totalidad en este tipo de contaminación, se actúa posterior a los derrames.

La Refinería Conchán experimenta permanentemente este tipo de accidentes ambientales, esto afecta directamente los suelos, lo que genera gran contaminación ambiental y un costo mayor para el tratamiento de estos residuos peligrosos.

Mi investigación se basa en brindar un tratamiento biológico a estos suelos contaminados por derrame de hidrocarburos. Se busca utilizar microorganismos del suelo para descontaminarlos, con el objetivo de recuperar estos suelos para transformarlo en áreas verdes para el provecho de la Refinería Conchán. Se bioestimula los suelos agregando nutrientes que incitan el desarrollo de los microorganismos nativos, los mismo que poseen la capacidad de degradar hidrocarburos del suelo.

Esta investigación trabaja con suelos que ya han sido afectados con hidrocarburos en la Refinería Conchán, y se decidió trabajarlo así porque en la actualidad en el Perú no funciona las medidas preventivas y las medidas que se toman son después de presentado la emergencia. Esta investigación elaborada con éxito a pequeña escala, puede solucionar grandes problemas ambientales a lo largo del país, principalmente en zonas en las cuales aún no se trata los suelos afectados con derrame de hidrocarburos.

## **1.5 Hipótesis de Investigación**

### **1.5.1 Hipótesis General**

- La bioestimulación con Cachaza y Guano de Islas biodegradan los hidrocarburos totales de petróleo en suelos procedentes de la Refinería Conchán - Petroperú.

### **1.5.2 Hipótesis Específicas**

- La biomasa microbiana nativa de los suelos biodegradan los hidrocarburos totales de petróleo en suelos procedentes de la Refinería Conchán – Petroperú.
- Las propiedades fisicoquímicas del suelo aceleran el tiempo de biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo en suelos procedentes de la Refinería Conchán.
- Las técnicas de bioestimulación con Cachaza y Guano de Islas biodegradan los hidrocarburos totales de petróleo en suelos procedentes de la Refinería Conchán – Petroperú.
- La aplicación de Cachaza y Guano de Islas como bioestimulantes tiene influencia en el desarrollo vegetal de la especie Zea Mays L

## **1.6 Objetivos**

### **1.6.1 Objetivo General**

Evaluar la biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo por la bioestimulación con Cachaza y Guano de Islas en suelos procedentes de la Refinería Conchán – Petroperú.

### **1.6.2 Objetivos Específicos**

Cuantificar si la biomasa microbiana nativa de los suelos biodegradan los hidrocarburos totales de petróleo en suelos procedentes de la Refinería Conchán – Petroperú.

Evaluar si las propiedades fisicoquímicas del suelo aceleran el tiempo de biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo en suelos procedentes de la Refinería Conchán – Petroperú.

Cuantificar si las técnicas de bioestimulación con Cachaza y Guano de Islas biodegradan los hidrocarburos totales de petróleo en suelos procedentes de la Refinería Conchán – Petroperú.

Evaluar si la aplicación de Cachaza y Guano de Islas como bioestimulantes tiene influencia en el desarrollo vegetal de la especie Zea Mays L

## II. MÉTODO

### 2.1 Diseño de investigación

La presente investigación es de tipo Experimental verdadero (Wiersma, 1999).

Ya que reúne los dos requisitos para lograr el control y la validez interna.

1. Existen grupos de comparación ya que se manipula la variable independiente.
2. Y existe una equivalencia de los grupos.

El tipo de diseño Experimental verdadero al cual pertenece la investigación es:

#### 2.1.1 Diseño con posprueba únicamente y grupo de control

En este diseño se incluyen dos o más grupos, en los cuales se usan dos o más tratamientos experimentales, además del grupo control. Al finalizar el periodo experimental, a todos los grupos se le administra una medición sobre la variable dependiente en este estudio. (Wiersma, 1999).

El formato general se diagrama de la siguiente manera:





RG <sub>1</sub>	X <sub>1</sub>	O <sub>1</sub>
RG <sub>2</sub>	X <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>
RG <sub>3</sub>	X <sub>3</sub>	O <sub>3</sub>
...	...	...
...	...	...
RG <sub>K+1</sub>	_____	O <sub>K+1</sub>

X: tratamiento experimental

O: posprueba de los grupos

Para el presente trabajo de investigación se usó el ya mencionado diseño con posprueba únicamente y grupo de control, con 3 tratamientos experimentales y una muestra testigo, para realizar esto, se utilizó cajoneras de cultivo con capacidad de 40 kilos.

Tabla 2- 1 Tratamientos experimentales en la Investigación

CÓDIGO	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	GRUPOS FINALES
T-01	<p><b>(S + GI: Consorcio Nativo con Guano de Islas)</b>                      Se realizó el tratamiento, realizando bioestimulación de las bacterias nativas de los suelos contaminados agregando Guano de Islas.</p>	
T-02	<p><b>(S+C: Consorcio Nativo con Cachaza)</b>                      Se realizó el tratamiento, realizando la bioestimulación de las bacterias nativas de los suelos contaminados agregando Guano de Islas.</p>	
T-03	<p><b>(S+C+GI: Consorcio Nativo con Cachaza + Guano de Islas)</b>                      Se realizó el tratamiento, realizando la bioestimulación de las bacterias nativas de los suelos contaminados agregando Cachaza y Guano de Islas.</p>	
T-TEST	<p><b>(S: Consorcio Nativo-Grupo control)</b>                      Suelo sin tratamientos de bioestimulación. Muestra control.</p>	

Fuente: Elaboración propia

### 2.1.2 Preparación de las cajoneras

En la presente investigación se trabaja con cuatro cajoneras de cultivo. Tres cajoneras se trabajarán con tratamientos experimentales distintos, mientras que una cajonera de cultivo será la muestra testigo, la cual no poseerá ninguna bioestimulación.

La dosificación de los tratamientos se realizó de la siguiente forma:

### **Tratamiento N° 01**

#### **(S + GI: Consorcio Nativo con Guano de Islas)**

La dosificación del tratamiento 1 consiste en:

- 25 kilogramo de suelo contaminado de la Refinería Conchan.
- 1.25 kilogramos de fertilizante natural de Guano de Islas.

### **Tratamiento N° 02**

#### **(S+C: Consorcio Nativo con Cachaza)**

La dosificación del tratamiento 2 consiste en:

- 25 kilogramos de suelo contaminado de la Refinería Conchan.
- 5.7 kilogramos de Cachaza.

### **Tratamiento N° 03**

#### **(S+C+GI: Consorcio Nativo con Cachaza + Guano de Islas)**

La dosificación del tratamiento 3 consiste en:

- 25 kilogramos de suelo contaminado de la Refinería Conchan
- 5.7 kilogramos de Cachaza.
- 1.25 kilogramos de fertilizante natural de Guano de Islas.

### **Tratamiento Testigo**

#### **(S: Consorcio Nativo-Grupo control)**

Suelo sin tratamientos de bioestimulación. Muestra control.

## **2.1 Variables**

Se presenta la Operacionalización de variables.



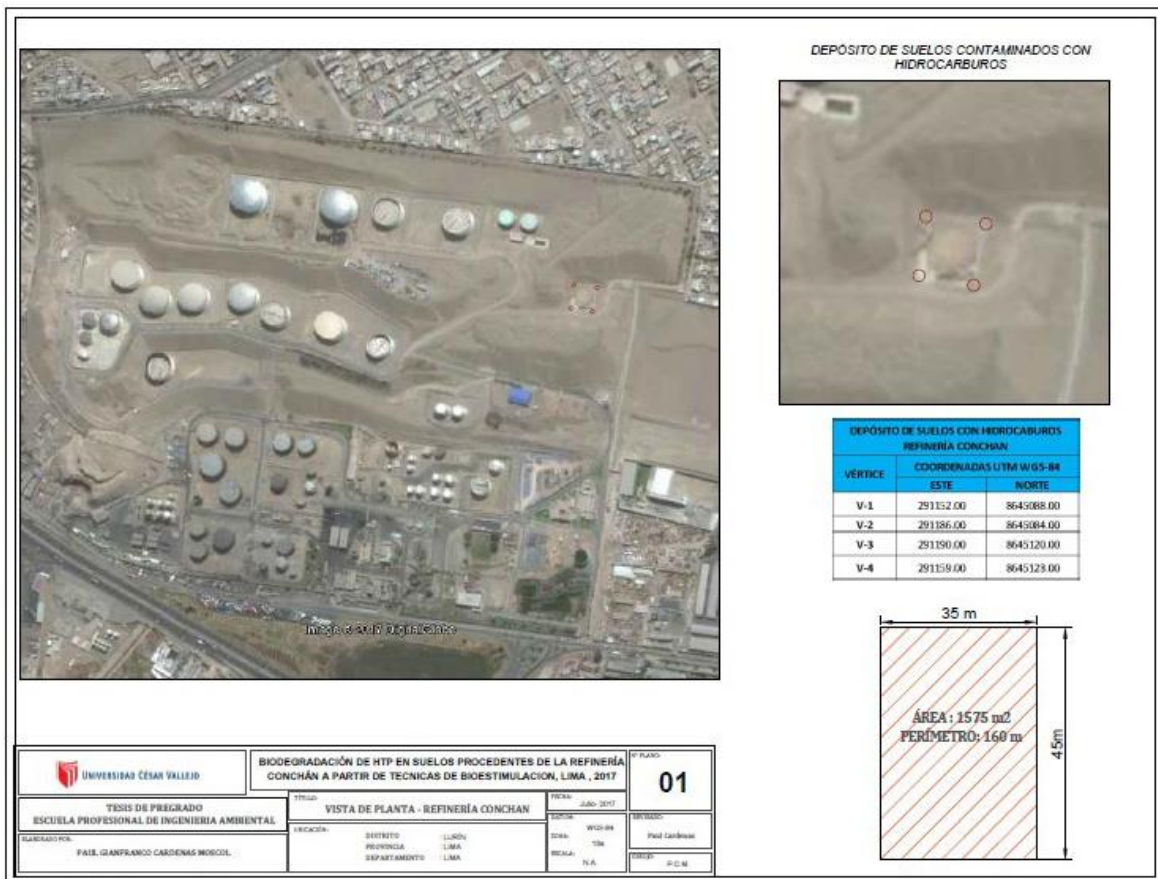
Variable		Definición Conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala de medición
VARIABLE INDEPENDIENTE	Bioestimulación con Cachaza	Técnicas que aceleran de los procesos naturales de biodegradación mediante la adición de estimulantes de la actividad microbiana que pueden ser aceptores de electrones, nutrientes, o dadores de electrones. (ANM, 2015)	Se tomará dos muestras de cada tratamiento aplicado inicial y final (día 0 y día 60) para conocer la población microbiana del suelo y su desarrollo	Análisis microbiológico de la biomasa microbiana del suelo	Recuento de aerobios mesófilos viables	UFC/g
	Bioestimulación con Guano de Islas			Análisis microbiológico de la biomasa microbiana del suelo	Recuento de aerobios mesófilos viables	UFC/g
VARIABLE INDEPENDIENTE	Biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo (TPH)	La biodegradación es el proceso en el cual microorganismos metabolizan contaminantes orgánicos del suelo. Los transforman y lo usan para su propio crecimiento como fuente de energía y de carbono o en otros casos lo convierten en sustratos de crecimiento alternativo. (Burgues, 1997)	Análisis de hidrocarburos totales de petróleo por espectrometría de masas.	Concentración de hidrocarburos totales de petróleo en los suelos	Nivel de concentración de F1 de hidrocarburos (C5-C10)	mg/kg
					Nivel de concentración de F2 de hidrocarburos (C10-C21)	mg/kg
					Nivel de concentración de F3 de hidrocarburos (C21-C40)	mg/kg
			Propiedades fisicoquímicas del suelo	Densidad Aparente	g/cm <sup>3</sup>	
				Permeabilidad	%	
				Textura del suelo	-	
				Temperatura	°C	
				pH	--	
				C.E.	dS/m	
				CIC	Meq/100	
Desarrollo Vegetal del maíz amarillo	Altura del tallo	cm				
	Altura de la hoja	cm				
	Altura de la raíz	cm				
		Siembra de la especie de maíz <i>Zea Mays L</i> variedad T-28 Marginal				

## 2.3 Población y Muestra

### 2.3.1 Población

La refinería Conchan, ubicada en el distrito de Lurín, es un terreno de 50 hectáreas, en la que se realizan funciones como el procesamiento, refinación y almacenamiento de gasolinas y diesel principalmente. Dentro de la Refinería se tiene un área donde se acumulan los suelos contaminados con hidrocarburos, sin ningún provecho para la empresa debido a su alto nivel de contaminación. Estos suelos se encuentran alejados de las actividades principales de la planta, pero expuestos a la intemperie y a las altas temperaturas.

La población está conformada por el área mencionada, poseen unas dimensiones de 35 x 45 metros. Posee un área de 1575 m<sup>2</sup> y un perímetro de 160m.

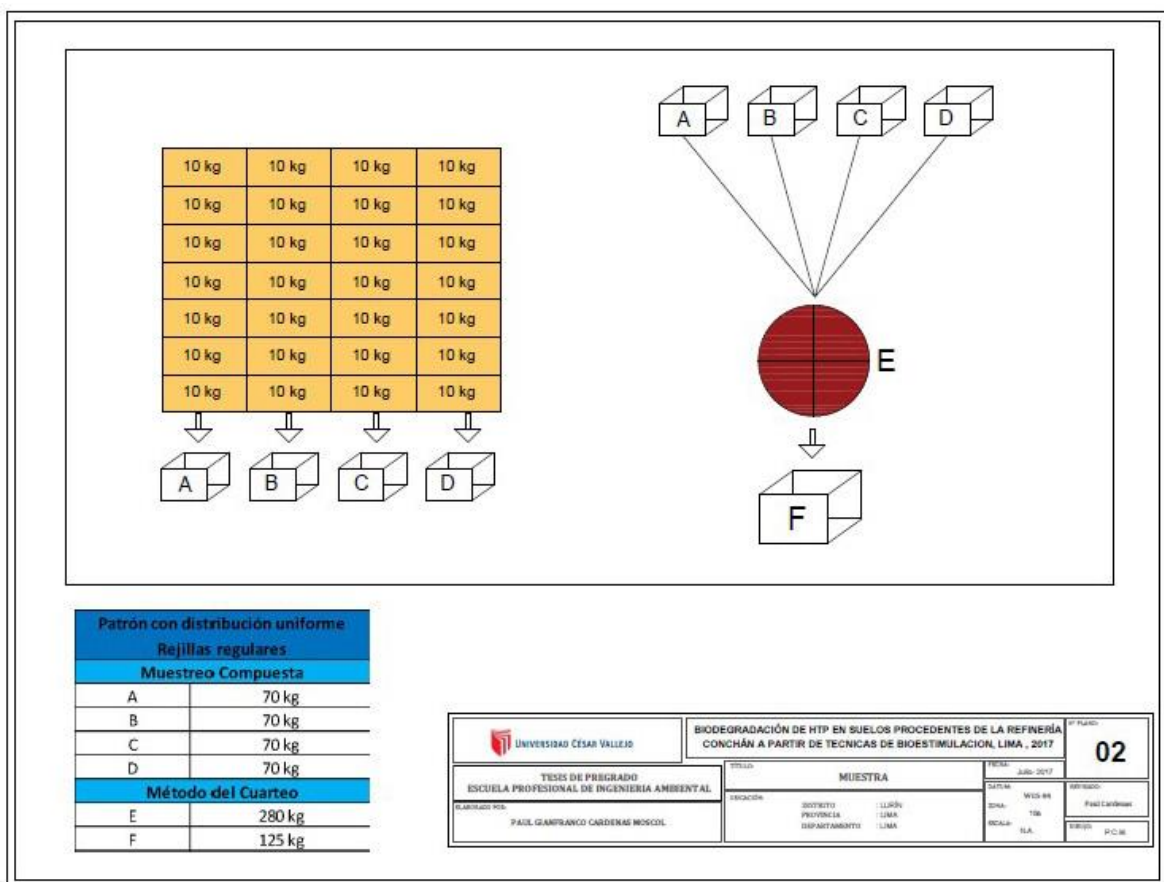


Fuente: Elaboración propia

### 2.3.2 Muestra

Se tomó una parte representativa de la población como muestra, siguiendo un patrón de muestreo con distribución uniforme tal como lo indica la Guía para Muestreo de Suelos del MINAM. El patrón elegido para el muestreo fueron las rejillas regulares.

Las rejillas regulares trazan líneas paralelas y equidistantes permitiendo que todas las celdas tengan las mismas dimensiones.



Fuente: Elaboración propia

Figura 2- 1 Diseño de la muestra

El área poblacional se dividió en 28 celdas con medidas de 11.25 x 5 metros. De cada celda se tomó 10 kilogramos de suelo contaminado.

Estos suelos fueron muestreados a una profundidad de 0 -30 cm debido a que se busca obtener una muestra representativa y por tal motivo se supera la profundidad que establece la Guía para el Muestreo de Suelos que solo demanda de 0-10 cm para muestreo en suelos industriales.

Luego de realizado los muestreos por celdas, se obtuvo cuatro columnas de muestras compuestas de 70 kilogramos cada una. Estas muestras se reunieron en una manta de para realizar la homogenización y el cuarteo y así obtener la muestra representativa de 125 kilogramos de suelo contaminado.

#### **2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad**

La técnica aplicada en la investigación fue la observación experimental, porque se elaboró datos en condiciones controladas por el investigador, ya que se puede manipular la variable independiente que en mi investigación es las técnicas de biorremediación.

Esta técnica es para entender de una manera más objetiva la realidad de tal manera que se pueda describir, analizar y explicar desde una visión científica. (CAMPOS y LULE, 2012).

Tabla 2- 2 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Etapa	Técnicas	Instrumentos	Resultados
Reconocimiento y diagnóstico actual del problema de investigación	Revisión Bibliográfica	Ficha de registro de toma de datos -Plano 01	Conocimiento de la realidad problemática
Selección de población y muestra en área de estudio de Refinería Conchán	Observación en campo	Ficha de registro de toma de datos -Plano 02	Determinación de población y muestra de estudio
Caracterización primaria de la muestra utilizada en la investigación	Observación de Laboratorio	Ficha de recolección de datos - Registro N° 02 y 03	Determinación inicial del nivel de contaminación del suelo
Preparación de los tratamientos empleados en la investigación	Observación de campo	Ficha de recolección de datos	Determinación de las concentraciones de bioestimulación aplicadas
Estimación de desarrollo microbiano en los tratamientos de bioestimulación	Observación de laboratorio	Ficha de recolección de datos -Registro N°01	Registro del desarrollo microbiológico en un lapso de tiempo y con nutrientes empleados.
Siembra del indicador de toxicidad <i>Zea Mays L.</i>	Observación de campo	Ficha de recolección de datos - Registro N° 04	Registro del número de días de sobrevivencia del <i>Zea Mays L.</i> por cosecha y tratamiento.
Estimación final del desarrollo microbiano en tratamientos de bioestimulación	Observación de Laboratorio	Ficha de recolección de datos -Registro N°01	Determinación del desarrollo poblacional de los microorganismos con los tratamientos aplicados
Caracterización final de los tratamientos empleados en la investigación	Observación de Laboratorio	Ficha de recolección de datos - Registro N° 02 y 03	Determinación final del nivel de contaminación del suelo
Análisis de resultados recolectados	Análisis Estadístico Descriptivo	Microsoft Excel	Resultados de análisis estadístico descriptivo

**Fuente: Elaboración propia**

## **2.4.2 Diseño y desarrollo de la investigación**

### **2.4.2.1 Materiales y Equipos**

Para el desarrollo de la investigación se emplearon los siguientes materiales:

01 lampa

01 manta de polipropileno de 200 kg

01 plumón indeleble

- 01 Tamiz granulométrico (10 mm y 2 mm)
- Bolsas Ziplock de 1 kg (20)
- Baldes
- Regadera
- Pinzas
- Sobres de manila
- Bolsas de papel
- Etiqueta para codificación de muestras
- Balanza de 0,1 gramos de precisión
- Termómetro de suelos (01)
- Guantes de jebe
- Casco, protectores nasales
- Agua para riego
- Semillas de *Zea Mays L. T-28 Marginal*
- 01 Saco de Guano de Islas 50 Kg.
- 40 kg de Cachaza.
- Muestra de suelos contaminados con derrames de hidrocarburos (125 kg)

Se emplearon además, los siguientes equipos:

- 01 Estufa
- Software SPSS (Statistical Analysis System)

#### **2.4.2.2 Caracterización del suelo de la Refinería Conchan**

Se obtuvo los suelos procedentes de la Refinería Conchan al cual se tuvo acceso previa coordinación con el Ingeniero responsable

Se procedió a depositar los suelos en una manta de polietileno para realizar la homogenización. Para obtener una muestra compuesta, se realizó el método de cuarteo obteniendo finalmente 125 kilogramos de suelo representativo.

Se procedió a determinar las características de importancia para el estudio. Así tenemos:

- Textura
- Temperatura
- Materia orgánica
- Densidad Aparente
- Permeabilidad
- pH
- C.I.C
- Conductividad Eléctrica

Tabla 2- 3 Caracterización inicial del suelo testigo de Refinería Conchán

<b>SUELO TESTIGO</b>		
<b>Parámetro</b>	<b>Valor</b>	<b>Interpretación</b>
pH	7.4	Neutro
C.E. (dS/m)	0.79	No salino
Densidad		
Permeabilidad	54.85	Muy elevada
Arena	67	Franco-Arcilloso-Arenoso
Arcilla	22	
Limo	11	
M.O. (%)	0.85	Aridisol (desierto)

Fuente: Elaboración propia

Estos análisis fueron desarrollados, según métodos estandarizados, en el Laboratorio de la Facultad de Ingeniería Geológica de la Universidad Nacional de Ingeniería, según metodología estandarizada en cada caso.

Tabla 2- 4 Caracterización inicial del suelo contaminado de Refinería Conchán

<b>SUELO CONTAMINADO</b>		
<b>Parámetro</b>	<b>Valor</b>	<b>Interpretación</b>
pH	8.4	Moderadamente Alcalino
C.E. (dS/m)	0.037	No salino
Densidad		
Permeabilidad	4,223 cm/h	Moderada
Arena	50	Franco-Arcilloso-Arenoso
Arcilla	21	
Limo	29	
M.O. (%)	1.02	Textura fina

Fuente: Elaboración propia



### **2.4.2.3 Formulación de los Bioestimulantes**

Como elementos bioestimulantes para esta investigación se seleccionó a la Cachaza y Guano de Islas.

#### **Cachaza**

La Cachaza como materia prima de la investigación se obtuvo de Empresa Agro Industrial Paramonga S.A.A.

En general, la cachaza contiene:

- 40% de Materia Orgánica
- 1.76% de Nitrógeno
- 3.0% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>
- 0.42% de K<sub>2</sub>O
- 3.15% de Ca O
- 1.07% de Mg O
- 36.7% de Ca O

Se agregará en la investigación 5,7 kg de Cachaza por tratamiento para mejorar las condiciones del suelo.

#### **Guano de Islas**

Es un fertilizante natural que contiene nutrimentos que la planta requiere para su crecimiento y desarrollo, este fertilizante se obtuvo del Programa de Desarrollo Productivo Agrario Rural.

- 10-14% de Nitrógeno (N)
- 10-12% de Fósforo (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)
- 2-3% de Potasio (K<sub>2</sub>O)
- 8% de Calcio (Ca O)

Se agregará en la investigación 1,25 kg de Cachaza por tratamiento para mejorar las condiciones del suelo.

#### **2.4.2.4 Parámetros a evaluar en la investigación**

Se obtuvo un total de 3 muestras de 1 kg de Suelo cada una, a partir de cajoneras de cultivos que contienen 25 kg de Suelo procedente de la Refinería Conchan y contaminado con petróleo por los derrames accidentales de la misma Refinería.

A partir de estas muestras, se evaluó:

- Microorganismos aeróbicos mesófilos
- Fracción de Hidrocarburos F1, F2 Y F3.
- Análisis fisicoquímicos de cada uno de los suelos.

Antes de realizar los tratamientos establecidos en la presente investigación, se procedió a realizar un muestreo primario como fase inicial del experimento (día 0), a partir de las que se obtuvieron los valores iniciales.

Las muestras serán evaluadas al iniciar y al finalizar la fase de experimentación (0 días y 60 días).

#### **2.4.2.5 Medición de la temperatura del suelo**

Se procedió a medir la temperatura en cada cajonera de cultivo, haciendo uso de un termómetro especial para suelos. Las mediciones se realizaron cada diez días a horas determinadas (6 horas, 12 horas y 20 horas), de las cuales se obtuvo un promedio que se reportó en el cuadro correspondiente.

#### **2.4.2.6 Especie Indicadora *Zea Mays L.* variedad marginal T-28**

Se procedió a sembrar en las cajoneras de cultivos a una profundidad de 02 cm de profundidad. Con los tratamientos a razón de 5 semillas/cajonera.

Durante el periodo que dure el experimento, tanto para la germinación y crecimiento del maíz, se procedió a controlar el riego cada dos días; para mantener su capacidad de campo. Las muestras fueron sembradas en un tiempo de 30 días.

### **2.5 Métodos de análisis de datos**

Para el procesamiento de información se trabajará con programas tales como: Microsoft Excel 2015, para el análisis estadístico descriptivo.

### III. RESULTADOS

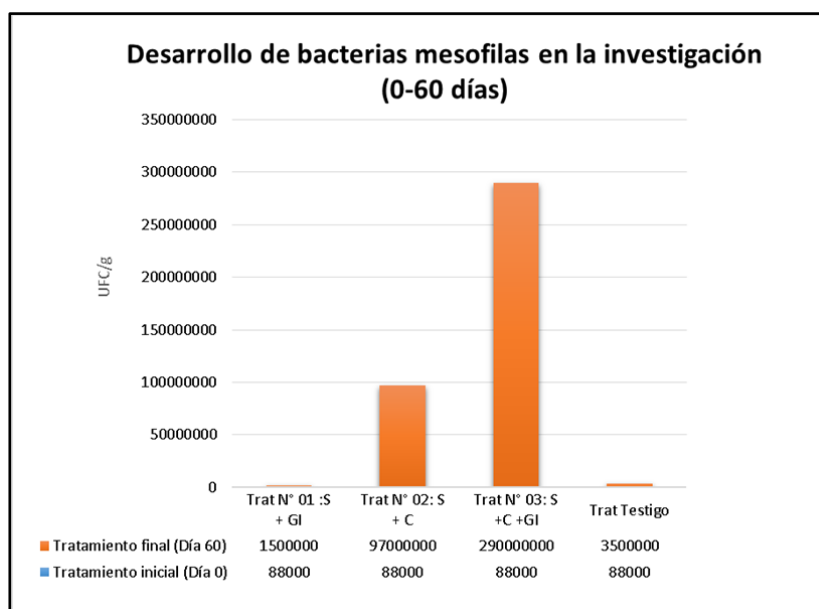
#### 3.1 Resultados del crecimiento bacteriano en los suelos contaminados con hidrocarburos totales de petróleo (TPH)

Durante el desarrollo de la investigación en un tiempo de 60 días, se observó un mayor desarrollo poblacional del **tratamiento N° 03** el cual contiene Suelo contaminado más Cachaza y Guano de Islas, mientras que el menor desarrollo poblacional se evidenció en el tratamiento N°01 el cual contiene Suelo contaminado más Guano de Islas.

Tabla 3 - 1: Población bacteriana aerobias mesófilas durante el proceso de experimentación (0-60 días)

Recuento de aerobios mesófilos viables (UFC / g)		
Tratamientos	Toma de muestra	
	Día 0 Muestra Inicial	Día 60 Muestra final
Trat N° 01 :S + GI	88 x 10 <sup>3</sup> UFC/g	15 x 10 <sup>5</sup> UFC/g
Trat N° 02: S + C	88 x 10 <sup>3</sup> UFC/g	97 X 10 <sup>6</sup> UFC/g
Trat N° 03: S +C +GI	88 x 10 <sup>3</sup> UFC/g	29 x 10 <sup>7</sup> UFC/g
Trat Testigo	88 x 10 <sup>3</sup> UFC/g	35 x 10 <sup>5</sup> UFC/g

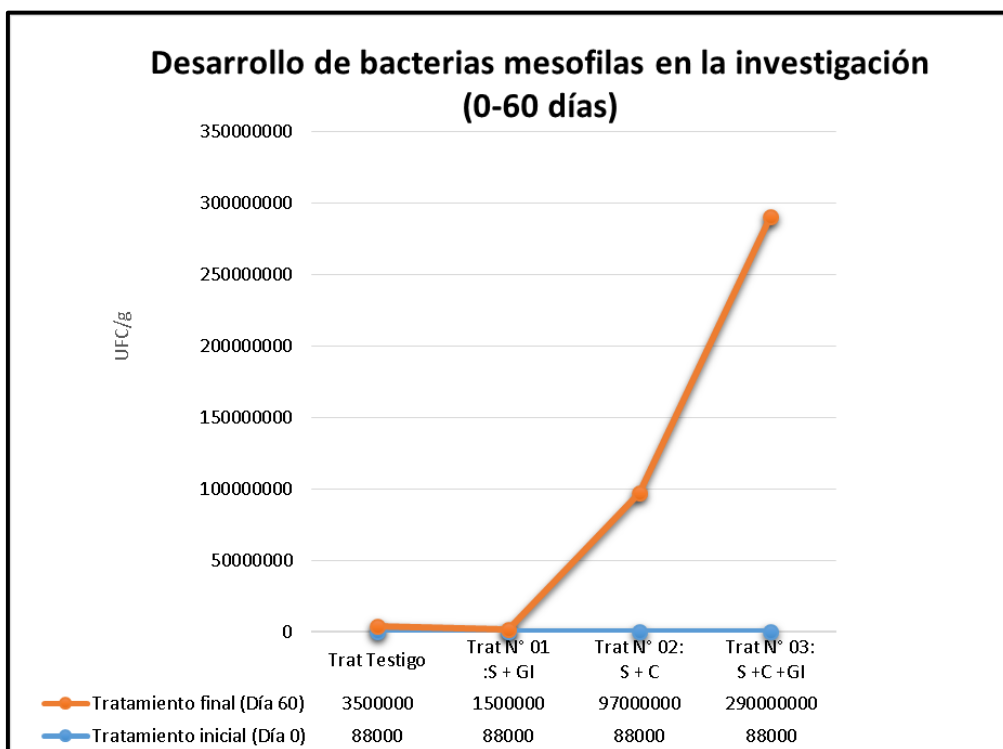
Fuente: Elaboración Propia



Fuente: Elaboración propia

Figura 3 - 1: Desarrollo de bacterias mesófilas aerobias

Se puede evidenciar que el tratamiento N° 03 posee un mayor desarrollo y crecimiento poblacional de los microorganismos del suelo que los demás tratamientos, debido a que se bioestimula estos suelos con Cachaza y Guano de Islas. Se sabe que la Cachaza provoca un aumento de colonias de microorganismos productores de enzimas y de ácidos orgánicos que se encargan de solubilizar el Fósforo absorbido en los suelos (Lima, 2011; Mendes *et.al.*, 2013; Yang *et al*, 2013) y que el Guano de Islas enriquece la microflora del suelo por la presencia bacterias nitrificantes propias del guano (Zavaleta, 1992). Al actuar ambos nutrientes de manera simultánea se observó un alto desarrollo de la flora bacteriana presente en el suelo contaminado.



Fuente: Elaboración Propia

Figura 3 - 2: Desarrollo de bacterias mesófilas en la investigación

También se evidencia la capacidad que presenta el tratamiento N° 02, donde solo la bioestimulación del suelo con cachaza logra un desarrollo exponencial al valor inicial de población bacteriana.

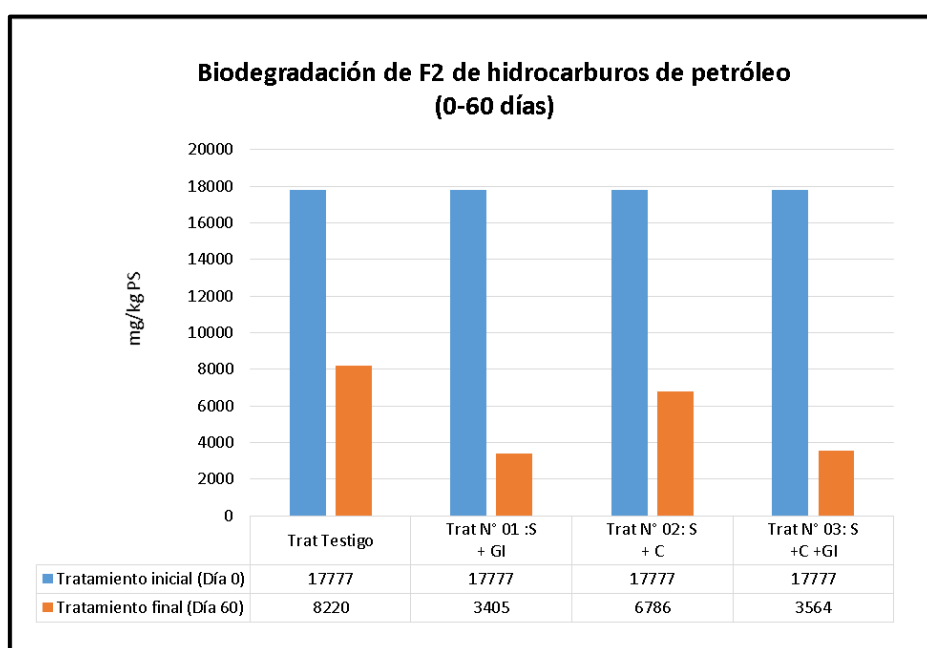
### 3.2 Resultados de la Biodegradación de Hidrocarburos Totales de Petróleo en los suelos contaminados

Tabla 3 - 2 Biodegradación de F2 de hidrocarburos de petróleo (0-60 días)

Fuente: Elaboración propia

Tratamientos	Día 0 Muestra Inicial			Día 60 Muestra Final			% de Reducción de F2
	F1	F2	F3	F1	F2	F3	
Trat N° 01 :S + GI	<0.1	17 777	<0.9	-	3405	-	81 %
Trat N° 02: S + C	<0.1	17 777	<0.9	-	6786	-	62 %
Trat N° 03: S +C +GI	<0.1	17 777	<0.9	-	3564	-	80%
Trat Testigo	<0.1	17 777	<0.9	-	8220	-	54 %

Al finalizar la investigación se realizó la medición de las concentraciones de los distintos fracciones de hidrocarburos siendo la más considerable y crítica la F2 (fracción media), la cual presenta una máxima reducción en el tratamiento N° 01, la cual son suelos Bioestimulado con Cachaza y Guano de Islas, estos presentaron una reducción del 81 % de F2, mientras que la mínima reducción la presentó la muestra testigo con un 54 % de reducción.



**Fuente: Elaboración propia**

Figura 3 - 3 Biodegradación de F2 de hidrocarburos de petróleo

**Las condiciones de todos los tratamientos fueron similares, en luz solar, en humedad del suelo y temperatura ambiental y velocidad del viento.**

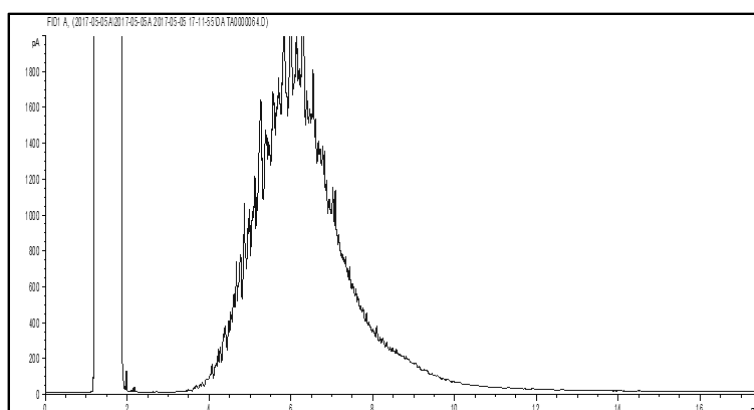
**Se puede evidenciar que el tratamiento testigo logro un 54 % de reducción de F2 de hidrocarburos de petróleo, lo que demuestra una capacidad natural considerable de degradación de los hidrocarburos presentes en el suelo.**

**Además, se evidencia que el tratamiento N° 01 con Guano de Islas y el tratamiento N° 03 con Cachaza y Guano de Islas, no tuvieron mayores diferencias en la reducción de F2 de hidrocarburos de petróleo con un 81 % y un 80% respectivamente.**

### 3.2.1 Caracterización Cromatográfico del F2 de hidrocarburos de petróleo por Bioestimulación

El estudio de las fracciones F2 de los hidrocarburos de petróleo (C10-C28) y posterior análisis por GC-MS (Espectrometría de masas), confirma que se trata de un crudo de petróleo de composición media. A continuación se presentan los Cromatogramas y su porcentaje de biodegradación:

A)



**Fuente: Elaboración propia**

Figura 3 - 4: Cromatograma de muestra inicial F2 hidrocarburos

B)

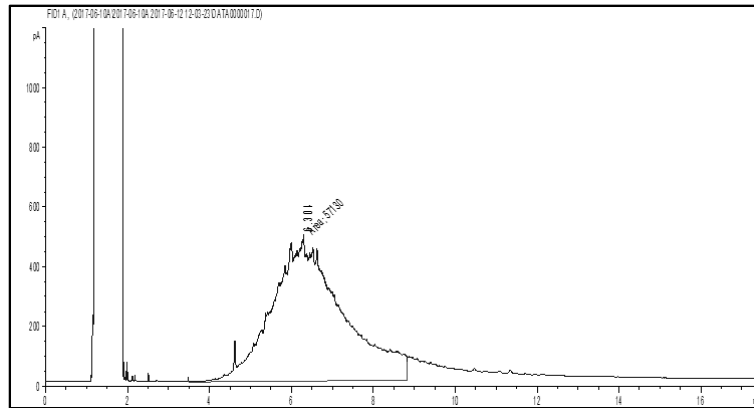


Figura 3 - 5 Suelo con Tratamiento 1: Suelo nativo con Guano de Islas presenta una reducción del 81 %

C)

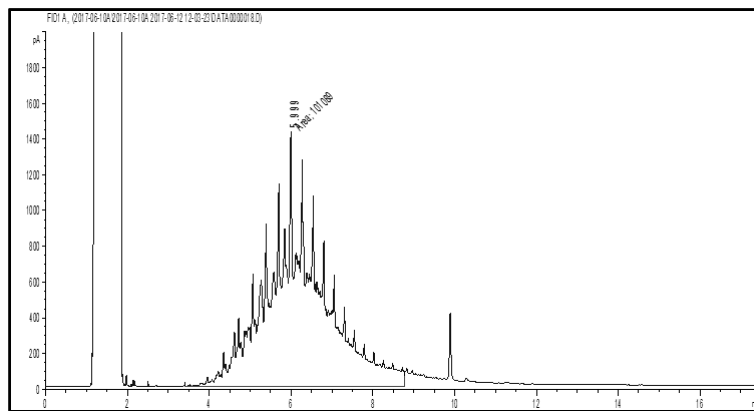


Figura 3 - 6 Suelo con Tratamiento 2: Suelo nativo con Cachaza presenta una reducción del 62%.

D)

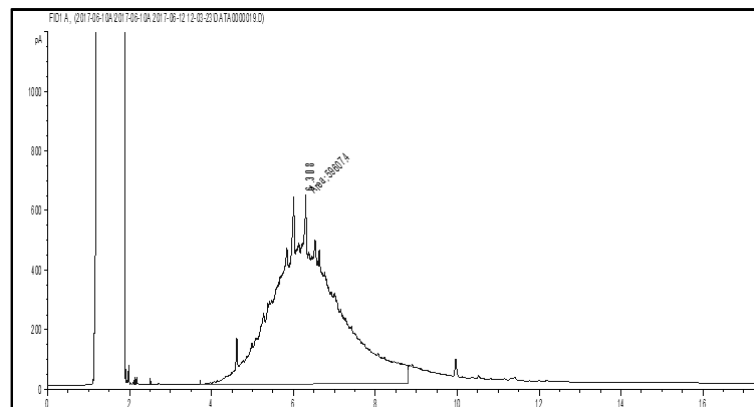


Figura 3 - 7 Suelo con Tratamiento 3: Suelo con Guano de Islas y Cachaza presenta una reducción del 80%

E)

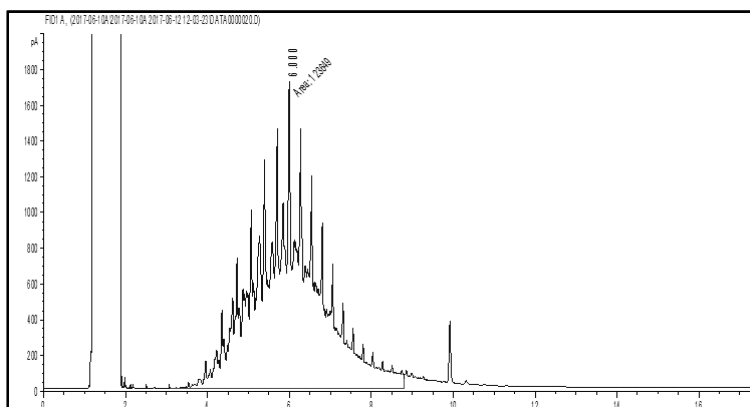


Figura 3 - 8: Suelo con Tratamiento 4: Suelo Testigo con una reducción del 53%

**Fuente: Envirotest S.A**

### 3.3 Resultado de las propiedades fisicoquímicas del suelo contaminado

Los parámetros fisicoquímicos de las cajoneras fueron medidos de manera pre y post experimento.

#### 3.3.1 Propiedades químicas del suelo contaminado

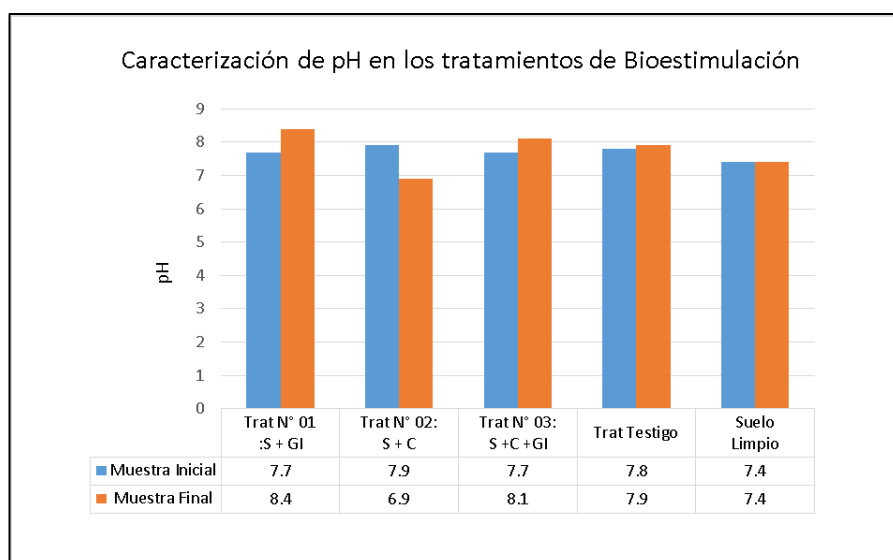
Tabla 3 - 3 Propiedades químicas del suelo contaminado

Tratamiento	Propiedades químicas del suelo					
	Día 0 Muestra Inicial			Día 60 Muestra Final		
Parámetros	pH	C.E.(dS/m)	C.I.C.	pH	C.E. (dS/m)	C.I.C.
Trat N° 01 :S + Gl	7.9	0.0561	83%	8.4	0.0372	94%
Trat N° 02: S + C	7.91	0.0562	82%	6.9	0.0980	92%
Trat N° 03: S +C +Gl	7.91	0.0561	83%	8.1	0.0305	95%
Trat Testigo	7.92	0.0562	81%	7.94	0.0563	82%
Suelo Limpio	7.4	0.0790	30%	7.4	0.0790	32%

Fuente: Elaboración propia



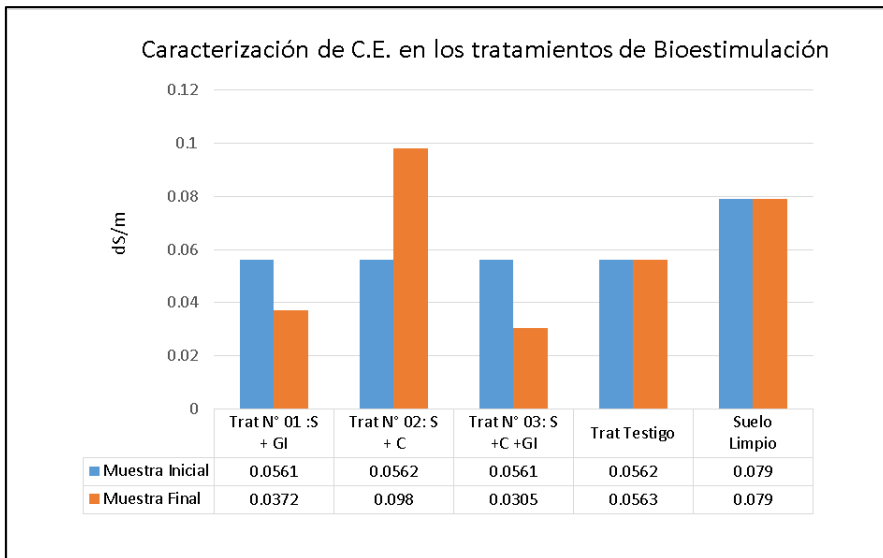
En la Figura N° 11, se observa el pH de los tratamientos de Bioestimulación a los 0 y 60 días de desarrollado la investigación, en la cual se observa que en el Tratamiento N°02, bioestimulación con Cachaza obtuvo el pH más ácido disminuyendo de 7.9 a 6.9. Mientras que el pH con mayor alcalinidad se evidenció en el Tratamiento N°01, suelos bioestimulados con Guano de Islas aumentando de 7.7 a 8.4.



Fuente: Elaboración propia

Figura 3 - 9 Caracterización de pH

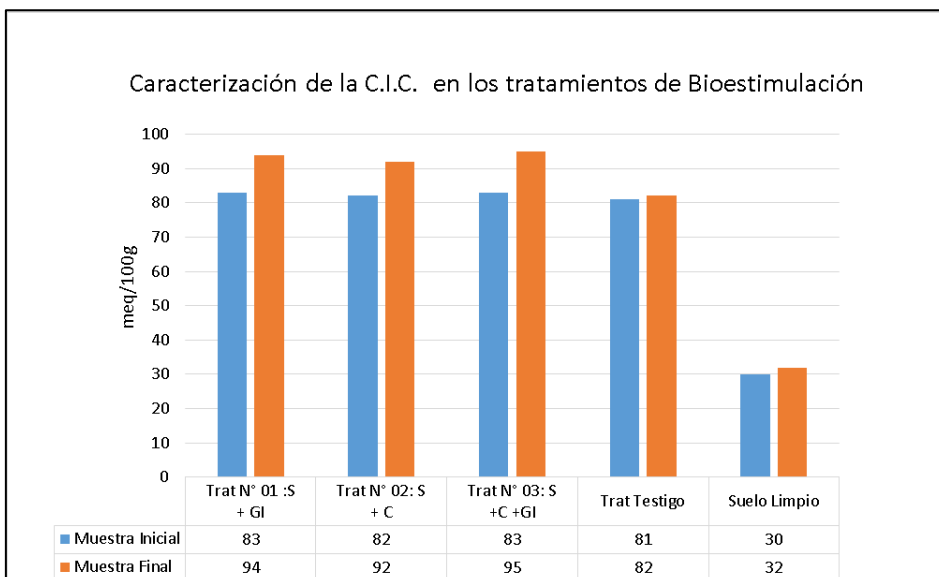
En la Figura N° 12, se observa que la C.E. de los tratamientos son valores muy bajos que no pertenecen a suelos salinos, sin embargo se observa un aumento considerable en el Tratamiento N° 02, bioestimulación con Cachaza que variación de 0.0562 dS/m a 0.098 dS/m. Por su parte, la mayor disminución se encuentra en el Tratamiento N° 03, bioestimulación con Guano de Islas y Cachaza con una variación de 0.0561 dS/m a 0.0305 dS/m.



Fuente: Elaboración propia

Figura 3 - 10 Caracterización de Conductividad eléctrica

En la Figura N° 13, se observa que todos los tratamientos aumentaron sus valores de C.I.C en comparación al tratamiento testigo. La mayor variación de la C.I.C se evidencia en el Tratamiento N° 03 con un aumento de 83 meq/100g a 95 meq/100g. Y la menor variación, que no distancia significativamente de la mayor, se evidencia en el Tratamiento N° 02 con un aumento de 82 meq/100 g a 92 meq/g.



Fuente: Elaboración propia

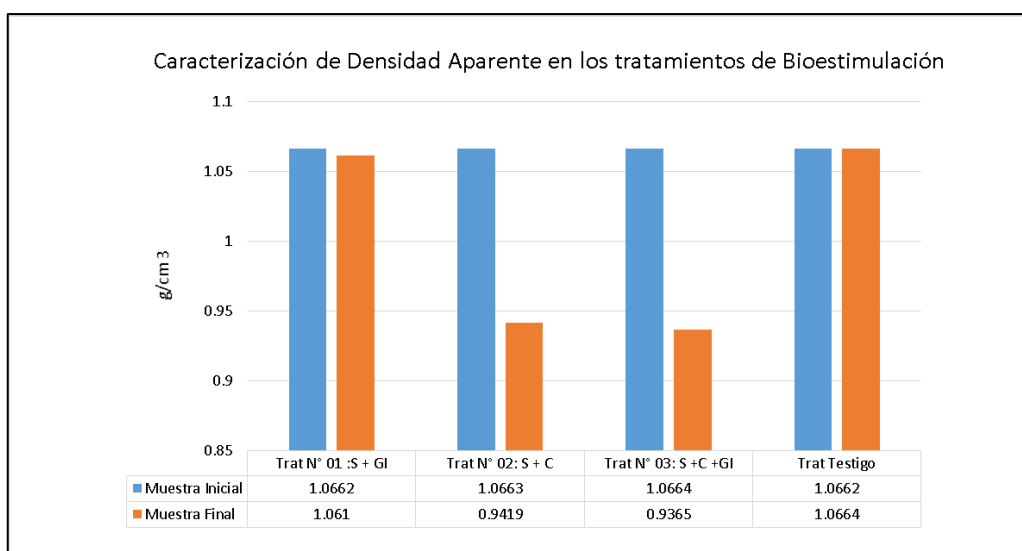
Figura 3 - 11 Caracterización de la C.I.C.

### 3.3.1 Propiedades físicas del suelo contaminado

Tabla 3 - 4 Propiedades físicas del suelo

Tratamiento	Propiedades físicas del suelo					
	Día 0 Muestra Inicial			Día 60 Muestra Final		
Parámetros	D.A.(g/cm <sup>3</sup> )	M.O. (%)	Textura	D.A. (g/cm <sup>3</sup> )	M.O. (%)	Textura
Trat N° 01 :S + GI	1.0662	1.02	Franco-Arcillo-Arenoso	1.061	1.05	Franco-Arcillo-Arenoso
Trat N° 02: S + C	1.0663	1.01	Franco-Arcillo-Arenoso	0.9419	1.14	Franco-Arcilloso
Trat N° 03: S +C +GI	1.0664	1.02	Franco-Arcillo-Arenoso	0.9365	0.79	Franco-Arcilloso
Trat Testigo	1.0662	1.01	Franco-Arcillo-Arenoso	1.0664	1.02	Franco-Arcillo-Arenoso
Suelo Limpio	-		Franco-Arcillo-Arenoso	-	0.85	Franco-Arcillo-Arenoso

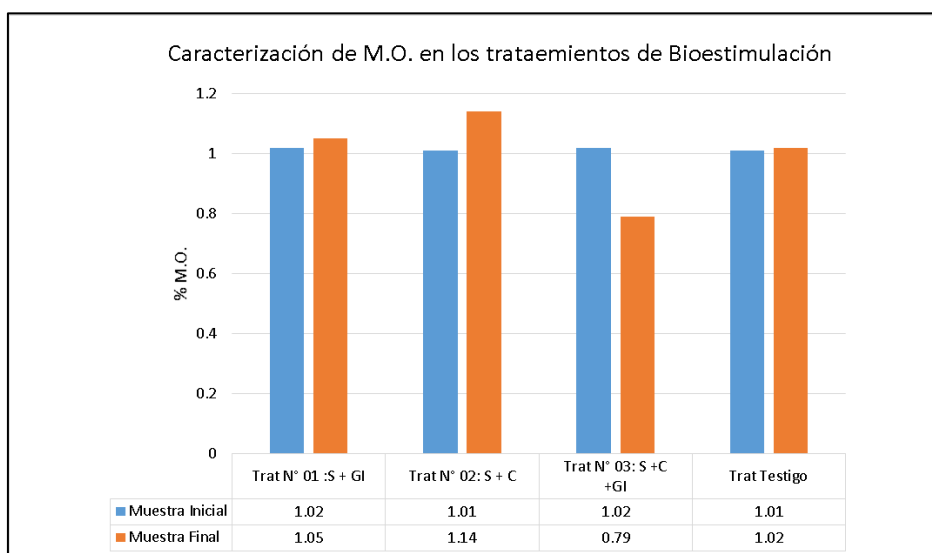
En la Figura N° 14, se observa que respecto al tratamiento testigo, las densidades de los Tratamientos N° 02 y N° 03 disminuyeron considerablemente hasta tener valores de 0.9419 g/cm<sup>3</sup> y 0.9365 g/cm<sup>3</sup> respectivamente. El Tratamiento N° 01 conservó su valor de densidad aparente en 1.061 g/cm<sup>3</sup>.



Fuente: Elaboración propia

Figura 3 - 12 Caracterización de Densidad Aparente

En la Figura N°, se observa que la mayor presencia de M.O. se evidencia en el Tratamiento N° 02, bioestimulación con Cachaza, con una variación de 1.01 % a 1.14%. Mientras que en el Tratamiento N° 03, se evidenció una pérdida de M.O. de 1.02 % a 0.79%. El Tratamiento N° 01, no sufre oscilaciones en su valor de M.O.



Fuente: Elaboración propia

Figura 3 - 13: Caracterización de la Materia Orgánica

En cuanto a la Textura de los tratamientos aplicados, no hubo diferencias significativas en los tratamientos respecto al suelo testigo. Por lo cual la lectura del suelo considerada en el estudio es Franco –Arcilloso – Arenoso para todos los tratamientos.

### 3.3 Resultado de las temperaturas de las cajoneras de cultivo

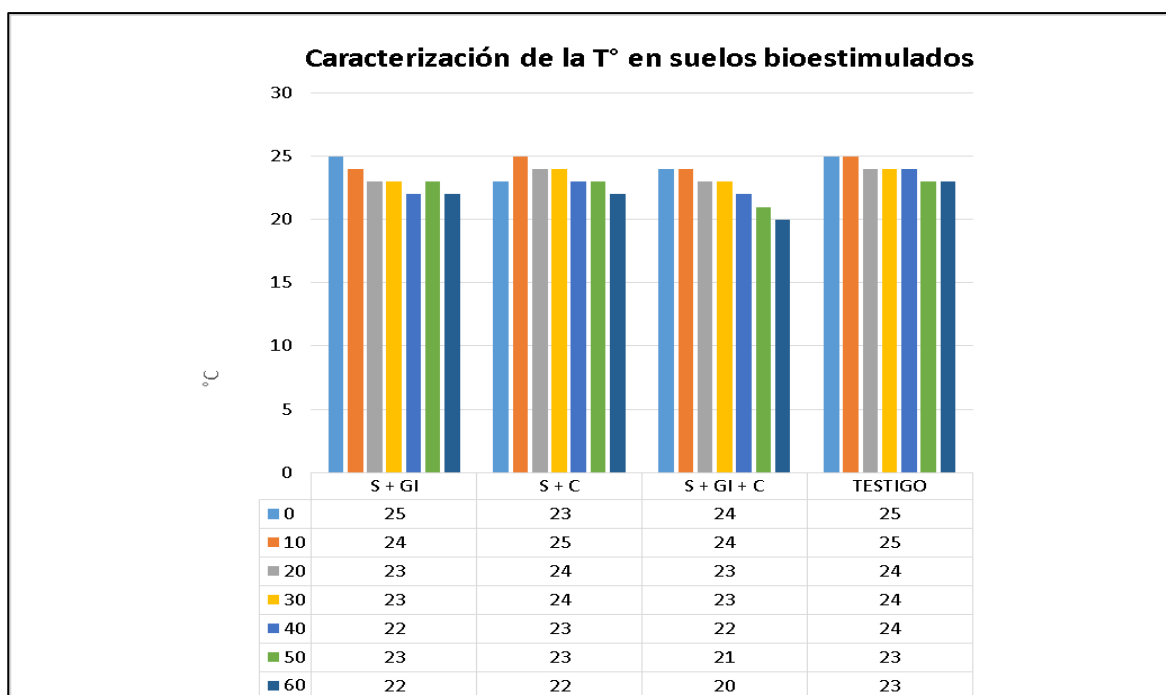
La temperatura (°C) de los cajones fue medida cada 10 días en un total de 60 días como se observa en el cuadro.

Tabla 3 - 5 Temperatura de las cajoneras durante el tiempo de experimentación

Tiempo (Días)	TEMPERATURA (C°)			
	S + GI	S + C	S + GI + C	TESTIGO
0	25	23	24	25
10	24	26	24	25
20	23	26	21	24
30	19	24	21	24
40	22	23	22	24
50	23	23	21	23
60	22	22	20	23

Fuente: Elaboración propia

En la Figura N° 16, se observa la variación de la Temperatura a través del tiempo que duro la investigación (60 días). Se puede observar que la tendencia de los tratamientos es a la disminución de la temperatura hasta culminar el experimento. La mayor reducción de temperatura es del Tratamiento N° 3, Bioestimulado con Guano de Islas y Cachaza, el cual varía de 24 °C a 20°C a los 60 días.



Fuente: Elaboración propia

Figura 3 - 14 Caracterización de la Temperatura

### 3.4 Resultado de la caracterización morfológica de la especie indicadora *Zea Mays L.*

Tabla 3 - 6 Características morfológicas de la especie *Zea Mays L.*

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS						
Parámetros	Altura de raíz(cm)	Altura de tallo(cm)	Altura de hoja(cm)	Color de tallo y hoja	Nº de hojas	Materia seca foliar y radicular(g)
Días	30 días					
Trat N° 01 :S + GI	7	2.5	8.5	Tallo: morado Hoja: Verde	3	0.001
Trat N° 02: S + C	18	5	13.5	Tallo: Morado Hoja: verde poco morado	3	0.005
Trat N° 03: S +C +GI	11	3.1	10	Tallo: Morado Hoja: verde	3	0.002
Trat Testigo	-	-	-	-	-	-

En la Tabla N° 18 se aprecia que el promedio mayor de altura de la raíz y las hojas la obtuvo el Tratamiento N° 02, suelo Bioestimulado con Cachaza, tuvo un mayor crecimiento y un mejor desarrollo vegetal de la planta. Además se observa que todas las plantas presentaron un tallo de color negro y sus hojas también se vieron afectadas en su mayoría. El mayor peso de la materia seca y foliar la obtuvo el Tratamiento N° 02 con un peso seco radicular y foliar de 0.005g.

## IV. DISCUSIÓN

Esta discusión está orientada en comparar los valores de los parámetros en los suelos contaminados con tratamientos como en suelo que no estaba contaminado. Son 4 tipos de suelo estudiados, tres de los cuales tienen tratamiento de bioestimulación y un suelo testigo. Los cuales han presentado variaciones importantes respecto a las distintas concentraciones de petróleo.

Respecto al pH la variación entre los suelos tratados y el suelo testigo no tiene mucha variación, se mantiene de ligeramente alcalino a medianamente alcalino. Suele aumentar debido a la alta presencia de M.O. que presenta los hidrocarburos.

Respecto a la Conductividad Eléctrica se evidencia variaciones irregulares con mayor afectación al tratamiento N° 02 en el cual aumenta en gran manera, esto se debe a que a mayor cantidad de hidrocarburos mayor es el nivel de sales que posee el suelo, por tanto la conductividad aumenta. Sin embargo en los tratamientos donde se aplicó Guano de Islas, ambos tratamientos tendieron a disminuir lo cual muestra un proceso de desalinización por parte del Guano de Islas

Respecto a la Capacidad de Intercambio Catiónico, con los tratamientos los valores se mantuvieron y aumentaron ligeramente, a comparación del suelo limpio se observa que los hidrocarburos al contaminar los suelos aumentan la capacidad de intercambio iónico también generado por aumento de Materia Orgánica.

La materia orgánica es el parámetro que en un derrame de hidrocarburos en el suelo suele aumentar desmedidamente sin embargo con los tratamientos aplicados observamos que el Guano de Islas como bioestimulantes del suelo reduce el nivel de materia orgánica del suelo, caso contrario con la Cachaza que estimula y aumenta el nivel de M.O.

Respecto a los resultados obtenidos en el recuento de bacterias aerobias mesófilas, se observa que cuando se bioestimula los suelos con Cachaza y con Guano de Islas, la población microbiana aumentó exponencialmente muy distinto si solo se

agrega Guano de Islas como bioestimulantes, el crecimiento microbiano se detiene y no hay aumento de la flora bacteriana. Esto se debe a que el Guano de Islas no es como la Cachaza, un material rico en azúcares, consistente en su masa y fresco, el cual brinda todo el ambiente para la reproducción microbiana. (Lima, 2011, Mendes *et al*, 2013, Yang *et al*, 2013). El guano de Islas enriquece el suelo pero por si misma no posee una alta capacidad de reproducción microbiana.

Sin embargo la mayor degradación de F2 de hidrocarburos la obtiene el tratamiento N° 01 el cual estaba Bioestimulado con guano de islas y el tratamiento N° 03 con Cachaza y Guano de Islas, aquí el Guano de Islas cumple un papel fundamental si bien no aumenta el nivel de población microbiana tiene mayor efectividad en la degradación de los hidrocarburos del suelo.

Con respecto a la especie indicadora *Zea Mays L.*, el mayor crecimiento de la planta se evidencia en el Tratamiento N° 02, debido a que la Cachaza también es considerado como abono orgánico lo que permite a la planta disponer de nutrientes importantes principalmente el fósforo y el hierro vitales para su desarrollo vegetal. (INTAGRI, 2016).

Sin embargo y debido a la alta toxicidad se observó que sufrieron de la enfermedad de tizón foliar, lo cual son aparición de manchas pequeñas, ligeramente ovaladas y acuosas que se producen en las hojas y que son fácilmente reconocibles. Estas lesiones se transforman luego en zonas necróticas alargadas y ahusadas, que se manifiestan primeramente en las hojas más bajas y cuyo número aumenta a medida que se desarrolla la planta. Se puede llegar a producir la quemadura total del follaje. (CIMMYT, 2004).



## **V. CONCLUSIÓN**

Las técnicas de Bioestimulación con Cachaza y Guano de Islas lograron degradar los hidrocarburos totales de petróleo hasta valores menores de los Estándares de Calidad Ambiental para suelo contaminado con hidrocarburos. El tratamiento que fue logro la mayor descontaminación de suelos fue el Tratamiento N° 01, lo suelos contaminados con el Guano de Islas logrando una reducción del 81 % en un tiempo de dos meses.

En la investigación se comprobó que el tratamiento N° 03, suelo Bioestimulado con Cachaza y Guano de Islas logró desarrollar la mayor población microbiana, sin embargo no fue el tratamiento que redujo la mayor cantidad de hidrocarburos del suelo. El tratamiento N ° 01, suelo Bioestimulado con Guano de Islas a pesar de no desarrollar una población microbiana abundante logró descontaminar los suelos con hidrocarburos con mayor capacidad.

La modificación de las propiedades fisicoquímicas del suelo no aceleran la biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo, sino dificultan esta actividad de biodegradación debido al cambio total de propiedades como la Densidad Aparente, el pH y la Materia Orgánica.

La técnica con mayor importancia en la biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo, es el uso de la Cachaza y el Guano de Islas en simultáneo, lo que aumenta la población bacteriana y a su vez degrada en gran manera los hidrocarburos del suelo, mejorando su condición del suelo.

La especie indicadora se vio afectada por la toxicidad del suelo, lo cual enfermo a maíz, afectando su normal desarrollo.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Se recomienda realizar los muestreos de bacterias aerobias mesófilas en periodos más cortos de tiempo para de esa manera lograr sacar una curva de desarrollo bacteriano y controlar con más precisión este parámetro.
- Seleccionar mediante técnicas de laboratorio dentro del grupo de bacterias aerobias mesófilas a aquellas con capacidad degradativa, para tener las colonias definidas y cultivadas para sus posteriores utilidades.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ANZA C. Hector [et al.]. Biorremediación de suelos contaminados con aceite automotriz usados mediante sistema de biopilas. Espacio I + D. Innovación más desarrollo.[en línea]. Mayo, 2016, vol. 5, no. 12. [fecha de consulta: 12 Octubre 2016].

Disponible

en:<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/15579/38076>

ISSN: 2007-6703

BUENDIA R., Hildebrando. Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante el compost de aserrín y estiércol. Rev. Del Instituto de Investigación (RIIGEO), (15): 123-130, 2012.

CASTAÑEDA, Raul. Contaminación del suelo por hidrocarburos. 14 de marzo de 2015. P. 11. (En sección: Daños provocados por hidrocarburos al suelo y a la salud).

CHAN QUIJANO, Jose G. et al. Especies vegetales útiles para fitorremediar suelos contaminados con hidrocarburos. Red Iberoamericana y del Caribe de Restauración Ecológica. [en línea]. Julio-Diciembre 2013, vol. 7, no. 3. [fecha de consulta: 20 noviembre 2016].

Disponible

en:

[https://www.researchgate.net/publication/265294282\\_ESPECIES\\_VEGETALES\\_UTILES\\_PARA\\_FITORREMIAR\\_SUELOS\\_CONTAMINADOS\\_CON\\_HIDROCARBUROS\\_TOTALES\\_DEL\\_PETROLEO\\_UN\\_APOYO\\_PARA\\_LA\\_RESTAURACION\\_ECOLOGICA](https://www.researchgate.net/publication/265294282_ESPECIES_VEGETALES_UTILES_PARA_FITORREMIAR_SUELOS_CONTAMINADOS_CON_HIDROCARBUROS_TOTALES_DEL_PETROLEO_UN_APOYO_PARA_LA_RESTAURACION_ECOLOGICA)

ISSN: 1998-1996

EKUNDAYO, Eo, EMEDE, To. Y OSAYANDE, Di. Effects of crude oil spillage on growth and yield of maize (*Zea mays* L.) in soils of midwestern Nigeria. Tesis. Benin City, Nigeria: Faculty of Agriculture, University of Benin. 2001, 313-324 p.

HILLEL, Daniel. Introduction to Environmental Soil Physics [en línea]. European Journal of Soil Science [en línea]. Octubre 2005, vol. 56, no. 5. [fecha de consulta: 20 noviembre 2016].

Disponible en:

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2389.2005.0756d.x/abstract>

ISBN: 0-12-348655-6

HONTY, Gerardo. Cronología de derrames petroleros e Perú. *Energía sur*. 10 marzo 2016

ISSOUFI, R., RHYKERD, K Y SMICIK, D. Seedling Growth of Agronomic Crops in Crude OilContaminated Soil. *Journal of Agronomic and Crop Science* [en línea]. Julio, 2006, Vol. 192, n°4.

[fecha de consulta: 14 Noviembre 2016]

Disponible en:  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-037X.2006.00212.x/abstract>

JARA R., Javier Libardo y VELASQUEZ, Darlyn. Manual de biorremediación de hidrocarburos de la industria del petróleo. Tesis (Técnico laboral en Gestión Ambiental y Recursos Naturales). Meta, Colombia: Corporación Internacional del petróleo “Coinspetrol”, 2010. 59 p.

Disponible en:

[https://issuu.com/jonathanbarrios/docs/proyecto\\_de\\_grado\\_6d663cee700f5a](https://issuu.com/jonathanbarrios/docs/proyecto_de_grado_6d663cee700f5a)

Manual de técnicas de análisis de suelos. Hidrocarburos de Petróleo en suelo. [en línea]. México: Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, 2015 [fecha de consulta: 20 noviembre 2016]. Capítulo 5.

Disponible en:

<http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/509/hidrocarburos.pdf>

MENDEZ, Jesús R., SALAZAR, Reizabeth Y VELÁZQUEZ, Aura. Efecto del derrame simulado y la aplicación de un remediador sobre la germinación de semillas y desarrollo de plántulas en dos tipos de maíz (*Zea mays* L.). *Revista UDO Agrícola* [en línea]. Setiembre-Noviembre 2006, no. 6. [fecha de consulta: 14 octubre 2016].

Disponible en:  
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2252806>

ISSN-e 1317-9152

MENDEZ-NATERA, Jesús R. [et al.]. Efecto de la concentración y tiempo de contaminación de un suelo por petróleo en la germinación de semillas de maíz (*Zea mays* L.) cv. Himeca 95. Revista UDO Agrícola [en línea]. 2004, no. 4. [fecha de consulta: 13 noviembre 2016].

Disponible en:  
<http://www.bioline.org.br/pdf?cg04008>

ISSN: 1317-9152

QUIÑONES-AGUILAR, Evangelina E. [et al.]. Emergencia y crecimiento de maíz en un suelo contaminado con petróleo crudo. Agrociencia. [en línea]. Octubre, 2003, Vol. 37, 585-594 p.

[fecha de consulta: 15 noviembre 2016]

Disponible en:  
<http://www.colpos.mx/agrocien/Bimestral/2003/nov-dic/art-4.pdf>

ROLDAN M., Adriana e ITURBE Rosario. Saneamiento de suelos contaminados con hidrocarburos mediante Biopilas. Tesis. México: Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ingeniería, UNAM. 2002. 15 p.

VILLAREJO, Avencio. Así es la Selva. Lima: CETA, 2005. 200 p. ISBN: 9972941035

ZAMORA, Alejandra, RAMOS, Jesus y ARIAS, Marianela. Efecto de la contaminación por hidrocarburos sobre algunas propiedades químicas y microbiológicas de un suelo de sabana. Bioagro [en línea]. Vol. 24, no. 1. [fecha de consulta: 20 noviembre 2016].

Disponible en:

[http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1316-33612012000100002](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612012000100002)

ISSN: 1316-3361

# **ANEXOS**

# **ANEXO 1**

## **FOTOS**



**Foto N°1: Realizando el método del cuarteo para la obtención de 500 g de muestras.**

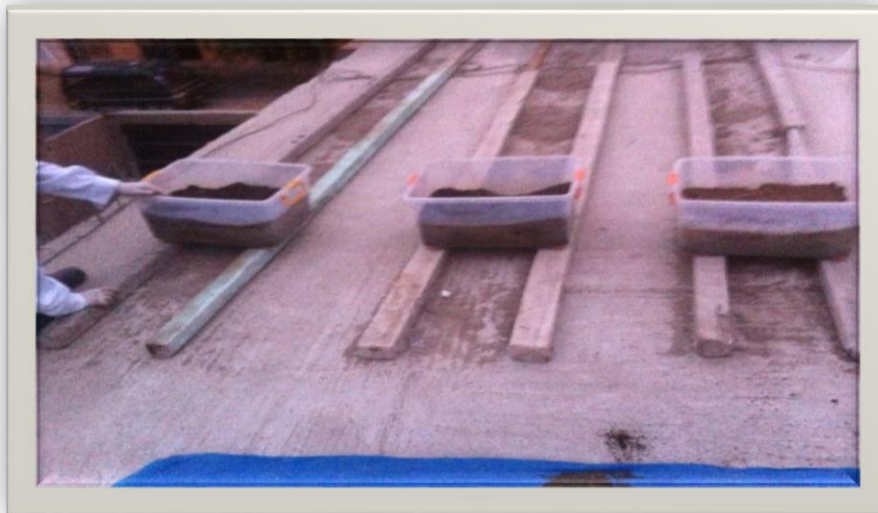


**Foto N° 2: Muestreo de Suelo para Recuento de Bacterias Mesófilas**





**Foto N°3: Muestreo Inicial de los Suelos**



**Foto N°4 : Tratamientos en cajoneras de cultivos**



**Foto N°5: Recolección de datos en laboratorio**



**Foto N°6: Toma de datos en laboratorio**