

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y DE RECURSOS NATURALES
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y DE RECURSOS
NATURALES



**“BIORREMEDIACIÓN MEDIANTE EL USO DE *Auricularia sp.* EN SUELO
AGRÍCOLA CONTAMINADO POR PETRÓLEO ANALIZANDO LA FRACCIÓN
2 Y 3 DE HIDROCARBURO DESARROLLADO EN LA UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL CALLAO”**

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AMBIENTAL Y
DE RECURSOS NATURALES

AUTORES:

PAOLA YERUXA OBISPO SILVA

CRISTHIAN JAHIR RAMOS JIMÉNEZ

ASESOR:

BLGO. CARLOS ODORICO TOME RAMOS

Callao, Abril 2019

PERÚ

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y DE RECURSOS
NATURALES

COMISION DE GRADOS Y TITULOS
ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS PARA OPTAR EL
TITULO DE INGENIERO AMBIENTAL Y DE RECURSOS
NATURALES
N° 007-2019-JEDT-FIARN

Siendo las 09:35 horas del día lunes 17 de junio del 2019, en el Auditorio de la Facultad de Ingeniería Ambiental y de Recursos Naturales ubicado en la Av. Juan Pablo II N° 306-Bellavista-Callao; se dio inicio a la Sustentación de la Tesis titulada "BIORREMEDIACIÓN MEDIANTE EL USO DE *Auricularia* sp. EN SUELO AGRÍCOLA CONTAMINADO POR PETRÓLEO ANALIZANDO LA FRACCIÓN 2 Y 3 DE HIDROCARBURO DESARROLLADO EN LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO" presentada para optar el título profesional de Ingeniero Ambiental y de Recursos Naturales de los Bachilleres Cristhian Jahir Ramos Jiménez y Paola Yeruxa Obispo Silva.

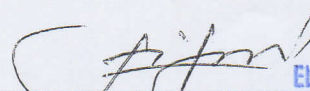
Contando con la asistencia del Jurado Evaluador y Asesor a fin de dar cumplimiento a la Resolución N° 034-2019-D-FIARN de fecha 06 de junio del 2019, los mismos que están integrados por los siguientes docentes:


Ing.	Américo Carlos Milla Figueroa	Presidente
Ing.	María Antonieta Gutiérrez Díaz	Secretaria
Ing.	Nancy Elizabeth Cáceres Mayorga	Vocal
Blgo.	Carlos Odorico Tome Ramos	Asesor

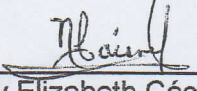
Terminada la exposición y la absolución de las preguntas del Jurado Evaluador, se invita a los Bachilleres y al público en general se retiren del Auditorio de la Facultad de Ingeniería Ambiental y de Recursos Naturales, para las deliberaciones del caso.


Luego de las deliberaciones el Jurado Evaluador acuerda **APROBAR POR UNANIMIDAD**, no habiendo observación alguna con el Calificativo de **MUY BUENO** y con ello dar por concluido el proceso de Sustentación de Tesis.

En señal de conformidad firman el Jurado Evaluador y Asesor, siendo las 10:30 horas del día lunes 17 de junio del 2019.


Ing. Américo Carlos Milla Figueroa
Presidente

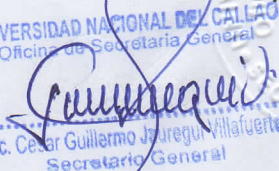

Ing. María Antonieta Gutiérrez Díaz
Secretaria


Ing. Nancy Elizabeth Cáceres Mayorga
Vocal


Blgo. Carlos Odorico Tome Ramos
Asesor

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
OFICINA DE SECRETARIA GENERAL
EL SECRETARIO GENERAL DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO que suscribe es copia fiel del original. Se expide certificación a solicitud del (a) interesado (a) para los fines que juzgue conveniente
Callao, ...0...9...de JUL...2019...



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
Oficina de Secretaria General

Lic. César Guillermo Juregui Villafuerte
Secretario General



Dedicatoria

A nuestra familia, por su apoyo y soporte incondicional a lo largo de todo nuestro desarrollo como profesionales.

Agradecimiento

Nuestro agradecimiento a nuestro asesor por su apoyo en cada paso de la elaboración del proyecto; docentes, directivos y nuestra alma mater que han colaborado en la realización de la presente tesis.

ÍNDICE

RESUMEN.....	7
ABSTRACT.....	9
I. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.....	11
1.1. DETERMINACIÓN DEL PROBLEMA	11
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	12
1.2.1. <i>Problema General</i>	12
1.2.2. <i>Problemas Específicos</i>	12
1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	13
1.3.1. <i>Objetivo General</i>	13
1.3.2. <i>Objetivos Específicos</i>	13
1.4. JUSTIFICACIÓN	14
1.4.1. <i>Por su naturaleza</i>	14
1.4.2. <i>Por su magnitud</i>	14
1.4.3. <i>Por su vulnerabilidad</i>	14
1.4.4. <i>Económica y sociopolítica</i>	15
1.5. IMPORTANCIA.....	15
1.5.1. <i>Importancia Ambiental</i>	15
1.5.2. <i>Importancia Social</i>	15
1.5.3. <i>Importancia Económica</i>	15
II. MARCO TEÓRICO	16
2.1. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO.....	16
2.1.1. <i>Antecedentes Internacionales</i>	16
2.1.2. <i>Antecedentes Nacionales</i>	17
2.2. BASES LEGALES	19
2.2.1. <i>Ley General del Ambiente N° 28611</i>	19

2.2.2.	<i>Estándar de Calidad Ambiental para Suelos</i>	19
2.2.3.	<i>Guía de Muestreo de Suelos</i>	21
2.2.4.	<i>Guía para la Elaboración de los Planes de Descontaminación de Suelos</i> 21	
2.3.	BASES TEÓRICAS	22
2.3.1.	<i>Biorremediación</i>	22
2.3.2.	<i>Auricularia Spp.</i>	24
2.3.3.	<i>Petróleo Crudo</i>	26
2.3.4.	<i>Suelo</i>	28
2.3.5.	<i>Contaminación de Suelo con Petróleo</i>	29
2.4.	DEFINICIONES.....	29
III.	VARIABLES E HIPÓTESIS	32
3.1.	VARIABLE DE LA INVESTIGACIÓN	32
3.2.	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	32
3.3.	HIPÓTESIS.....	33
3.3.1.	HIPÓTESIS GENERAL	33
3.3.2.	HIPÓTESIS ESPECÍFICOS	33
IV.	METODOLOGÍA	35
4.1.	TIPO DE INVESTIGACIÓN	35
4.2.	DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	35
4.2.1.	<i>Fase 1: Procedimientos Previos</i>	37
4.2.2.	<i>Fase 2: Preparación</i>	43
4.2.3.	<i>Fase 3: Biorremediación</i>	46
4.3.	POBLACIÓN Y MUESTRA	48
4.3.1.	<i>Población</i>	48
4.3.2.	<i>Muestra</i>	48

4.4.	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	48
4.5.	PROCESAMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	49
4.6.	PROCESAMIENTO ESTADÍSTICO Y ANÁLISIS DE DATOS	50
V.	RESULTADOS	51
5.1.	CARACTERIZACIÓN DEL SUELO	51
5.2.	CONTROL VISUAL DEL CRECIMIENTO DE LA <i>AURICULARIA SP.</i>	52
5.3.	ANÁLISIS DE LA F2 Y F3 EN EL SUELO CONTAMINADO.....	53
5.3.1.	<i>Análisis Inicial</i>	53
5.3.2.	<i>Análisis Final</i>	54
5.3.3.	<i>Niveles de Reducción de F2 y F3</i>	54
VI.	DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	58
6.1.	CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS CON LOS RESULTADOS	58
6.1.1.	<i>Concentración de F2</i>	58
6.1.2.	<i>Concentración de F3</i>	63
6.2.	CONTRASTACIÓN DE RESULTADOS CON OTROS ESTUDIOS SIMILARES	67
VII.	CONCLUSIONES	69
VIII.	RECOMENDACIONES	70
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

Lista de Tablas

Tabla 1 <i>Estándares de Calidad Ambiental para Suelo</i>	20
Tabla 2 <i>VARIABLES e Indicadores</i>	33
Tabla 3 <i>Parámetros y Métodos de Análisis</i>	41
Tabla 4 <i>Calificación de Algunos Parámetros de Caracterización</i>	42
Tabla 5 <i>Cálculos de suelo</i>	43
Tabla 6 <i>Tratamientos</i>	46
Tabla 7 <i>Cantidad de Suelo, Petróleo y Trigo por Tratamiento</i>	47
Tabla 8 <i>Resultados de Caracterización del Suelo</i>	51
Tabla 9 <i>Concentraciones Iniciales Promedio</i>	54
Tabla 10 <i>Concentraciones Finales Promedio</i>	54
Tabla 11 <i>Reducción Absoluta y Porcentual de F2 y F3 (mg/kg)</i>	56
Tabla 12 <i>Reducción Neta de la F2</i>	58
Tabla 13 <i>Resultados del Cuadro ANOVA para la F2</i>	59
Tabla 14 <i>Promedios por Tratamiento</i>	60
Tabla 15 <i>Tabla del Método Tukey</i>	60
Tabla 16 <i>Resultados del Método Tukey para la F2</i>	61
Tabla 17 <i>Comparación Medias y HSD</i>	61
Tabla 18 <i>Reducción Neta de la F3</i>	63
Tabla 19 <i>Resultados del Cuadro ANOVA para la F3</i>	63
Tabla 20 <i>Promedios por Tratamiento</i>	64
Tabla 21 <i>Resultados del Método Tukey para la F3</i>	65
Tabla 22 <i>Comparación Medias y HSD</i>	65

Lista de Gráficos

Gráfico 1 <i>Reducción Absoluta de F2 y F3</i>	57
Gráfico 2 <i>Porcentaje de Reducción de F2 y F3</i>	57
Gráfico 3 <i>Comparación Medias y HSD</i>	62
Gráfico 4 <i>Comparación Medias y HSD</i>	66

Lista de Figuras

Figura 1: <i>Esquema del Diseño de Investigación</i>	36
Figura 2: <i>Placas Petri con Auricularia sp.</i>	37
Figura 3: <i>Trigo en Bolsas</i>	38
Figura 4: <i>Petróleo utilizado</i>	39
Figura 5: <i>Suelo Agrícola de la UNALM</i>	40
Figura 6 <i>Preparación del Suelo</i>	44
Figura 7 <i>Muestra Enviada a Análisis</i>	44
Figura 8 <i>Inoculación de la Cepa en el Sustrato (trigo)</i>	45
Figura 9 <i>Unidades Experimental al Inicio del Proceso</i>	47
Figura 10 <i>Toma de muestra</i>	49
Figura 11 <i>Inicio del Proceso de Biorremediación</i>	52
Figura 12 <i>Luego de 4 Semanas del Proceso de Biorremediación</i>	52
Figura 13 <i>Crecimiento de la Auricularia sp. Tratamiento 3</i>	53

Anexos

Anexo 1: Matriz de consistencia

Anexo 2: Análisis de F2 y F3 inicial

Anexo 3: Análisis de F2 y F3 final

Anexo 4: Tablas de Tukey y Duncan

RESUMEN

La contaminación debido a derrames de petróleo y sus derivados, correspondiente a las actividades hidrocarburíferas, generan un problema crítico en el ambiente y la salud, es por ello que se procedió a estudiar una alternativa para la recuperación de sitios contaminados con petróleo mediante el uso de la biorremediación.

El objetivo general de la investigación es evaluar el efecto de la aplicación, en el proceso de remediación, el hongo *Auricularia sp.* en suelo agrícola contaminado por petróleo, analizando la fracción 2 y 3 de hidrocarburo como indicadores, bajo las condiciones del laboratorio de microbiología ambiental de la Facultad de Ingeniería Ambiental y de Recursos Naturales de la Universidad Nacional del Callao.

La metodología consistió en la preparación de suelo contaminado a diferentes niveles iniciales de concentración de petróleo, con la ausencia y presencia del hongo *Auricularia sp.*, dando un total de cuatro (04) tratamientos: T1: 12 g/kg de petróleo y presencia de *Auricularia sp.*; T2: 12 g/kg de petróleo y ausencia de *Auricularia sp.*; T3: 18 g/kg de petróleo y presencia de *Auricularia sp.* y T4: 18 g/kg de petróleo y ausencia de *Auricularia sp.*, siendo el T2 y T4 los controles. Cada uno de los tratamientos tuvo tres (03) réplicas, dando un total de doce (12) unidades experimentales.

La F2 y F3 se analizó al inicio y después de catorce (14) semanas del proceso de biorremediación, de cada uno de los tratamientos. De los resultados se determinó que la presencia de la *Auricularia sp.* fue efectiva en la degradación de petróleo, disminuyendo la concentración de F2 y F3 de petróleo en 64,2% y 51,2%, respectivamente, en el T1 y 47,3% y 36,7%, respectivamente, en el T3.

ABSTRACT

Pollution due to oil spills and their derivatives, corresponding to hydrocarbon activities, generate a critical problem in the environment and health, which is why we proceeded to study an alternative for the recovery of oil contaminated sites using bioremediation.

The general objective of this research work was to evaluate the effect of the application, in the remediation process, the fungus *Auricularia sp.* in agricultural soil contaminated by oil, analyzing fraction 2 and 3 of hydrocarbons as indicators, under the conditions of the environmental microbiology laboratory of the Faculty of Environmental Engineering and Natural Resources of the National University of Callao.

The methodology consisted in the preparation of contaminated soil at different initial levels of oil concentration, with the absence and presence of the fungus *Auricularia sp.*, Giving a total of four (04) treatments: T1: 12 g / kg of oil and presence of *Auricularia sp.*; T2: 12 g / kg of oil and absence of *Auricularia sp.*; T3: 18 g / kg of oil and presence of *Auricularia sp.* and T4: 18 g / kg of oil and absence of *Auricularia sp.*, being T2 and T4 the controls. Each of the treatments had three (03) replicas, giving a total of twelve (12) experimental units.

The F2 and F3 were analyzed at the beginning and after fourteen (14) weeks of the bioremediation process, of each of the treatments. From the results it was determined that the presence of *Auricularia sp.* It was effective in the degradation of oil, decreasing the concentration of F2 and F3 of oil in 64,2% and 51,2%, respectively, in T1 and 47,3% and 36,7%, respectively, in T3.

I. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Determinación del problema

En la actualidad se observa que el medio físico está siendo impactado por diferentes factores, ya sea por la explotación de recursos o el mal uso de estos, lo cual se va incrementando año a año, siendo en algunos casos un impacto irreversible que afecta a la flora y fauna circundante, además de perjudicar la salud de las personas.

La agricultura representa la mayor proporción de uso de la tierra por el hombre. Sólo los pastos y los cultivos ocupaban el 37 por ciento de la superficie de tierras de labranza del mundo en 1999 (Según la FAO). La agricultura es un mecanismo de reducción de la contaminación, debido a que ayuda a reducir la erosión y mejora la estructura del suelo.

Uno de los principales casos de contaminación a nivel mundial es lo sucedido en México, ocasionado por una empresa petrolera llamada PEMEX, este accidente ocurrió el 31 de diciembre del 2011, donde se produjo un derrame de petróleo, el cual llegó a contaminar 3.5 hectáreas a lo largo del río Coatzacoalcos en la ciudad de Veracruz-México, donde hasta el día de hoy se sigue haciendo una exhaustiva remediación de las áreas afectadas.

En nuestro país uno de los componentes ambientales más importantes es el suelo, ya que se utiliza para diversas actividades, como la ganadería y ampliamente en la agricultura. Recientemente se ha visto interés en proteger este medio por parte del estado, aprobando así en el año 2013 los **Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para suelos mediante el D.S. N°002-2013-MINAM**, llegándose a dar guías para poder realizar un adecuado monitoreo de este componente, considerando las características del suelo y su uso. Actualmente se cuenta con el **D.S N°011-2017-MINAM**, que son los **Estándares de Calidad Ambiental vigentes**, el cual derogó al D.S. N°002-2013-MINAM.

Un caso reciente de derrame de petróleo crudo en nuestro país es el reportado el 18 de febrero del 2018, terreno correspondiente a la comunidad Nuevo Nazareth, a la altura del kilómetro 12 del Ramal Norte del Oleoducto Norperuano (ONP), cerca al distrito de Andoas, provincia Datem del Marañón (Loreto) del Lote 192, el cual impactó a 12 comunidades ubicadas en la cuenca del río Pastaza (población aproximada de una población de 3 765 personas), en sembríos de cacao y en aguas del río Pastaza.

Para dar una solución a los casos mencionados anteriormente nos hemos visto en la necesidad y responsabilidad de dar una contribución a esta problemática, es así como aplicando la biorremediación mediante el uso de *Auricularia sp.* en suelos agrícolas contaminados por petróleo, evaluaremos una forma eco-amigable para el tratamiento de estos.

1.2. Formulación del problema

Para Bisquerra (2004), la formulación del problema enmarca una estructura y precisión del problema a estudiar, debido a esto, se presenta las siguientes preguntas a ser resueltas según las variables encontradas.

1.2.1. Problema General

¿Cuál es el efecto de la aplicación de la biorremediación mediante el uso de *Auricularia sp.* en suelos agrícolas contaminados por petróleo?

1.2.2. Problemas Específicos

Los problemas específicos son los siguientes:

- ¿Cuál es el efecto de la aplicación de la biorremediación mediante el uso de *Auricularia sp.* en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 2, a la concentración de 12 g/kg de petróleo?
- ¿Cuál es el efecto de la aplicación de la biorremediación mediante el uso de *Auricularia sp.* en suelos agrícolas contaminados por petróleo

sobre la fracción de hidrocarburo 2, a la concentración de 18 g/kg de petróleo?

- ¿Cuál es el efecto de la aplicación de la biorremediación mediante el uso de *Auricularia sp.* en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 3, a la concentración de 12 g/kg de petróleo?
- ¿Cuál es el efecto de la aplicación de la biorremediación mediante el uso de *Auricularia sp.* en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 3, a la concentración de 18 g/kg de petróleo?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo General

Determinar el efecto de la aplicación de la biorremediación mediante el uso de *Auricularia sp.* en suelos agrícolas contaminados por petróleo.

1.3.2. Objetivos Específicos

Los objetivos específicos son los siguientes:

- Determinar el efecto de la aplicación de la biorremediación mediante el uso de *Auricularia sp.* en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 2, a la concentración de 12 g/kg de petróleo.
- Determinar el efecto de la aplicación de la biorremediación mediante el uso de *Auricularia sp.* en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 2, a la concentración de 18 g/kg de petróleo.
- Determinar el efecto de la aplicación de la biorremediación mediante el uso de *Auricularia sp.* en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 3, a la concentración de 12 g/kg de petróleo.

- Determinar el efecto de la aplicación de la biorremediación mediante el uso de *Auricularia sp.* en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 3, a la concentración de 18 g/kg de petróleo.

1.4. Justificación

La tesis titulada “biorremediación mediante el uso de *Auricularia sp.* en suelos agrícolas contaminados por petróleo” se basa en los siguientes argumentos que a continuación se presentan:

1.4.1. Por su naturaleza

La naturaleza de esta investigación es la biorremediación de suelos contaminados con petróleo, debido a que es un tema sensible a diferentes niveles, ecosistemas y para diferentes personas, de manera directa e indirecta.

1.4.2. Por su magnitud

La presente tesis de investigación se implementará de manera ex situ (laboratorio implementado) en un volumen aproximado de 10,5 l de suelo agrícola. Su magnitud tiene un aporte significativo debido a que biorremediará el suelo donde se implementará y esto a su vez se puede implementar en áreas más extensas donde se presenten suelos agrícolas contaminados con hidrocarburos con ayuda de esta *Auricularia sp.*

1.4.3. Por su vulnerabilidad

La presente investigación no considerará los siguientes temas:

- Nutrientes (bioestimulación).
- Indicadores biológicos (plantas).
- Suelo residencial o comercial/industrial.
- Realizarlo de manera in situ.
- Tiempo de evaluación mayor a cuatro (6) meses.

1.4.4. Económica y sociopolítica

La presente tesis promueve la biorremediación de suelos agrícolas, ya que estos suelos es donde se utilizan para generar recursos alimenticios para las personas, ya sea de manera directa e indirecta, por ello la importancia de mantener este tipo de suelo en buenas condiciones y libre de contaminantes, debido a que esto genera una pérdida económica para las personas y al estado de manera indirecta porque un suelo al estar contaminado con petróleo se vuelve infértil y hace que se genera pérdida de recursos como alimentos y especies; además de ello este tipo de tratamiento de suelo es mucho más económica que las químicas.

1.5. Importancia

La importancia de esta investigación se ve reflejada en las necesidades que se tratan de satisfacer, donde los ejes más importantes son los siguientes:

1.5.1. Importancia Ambiental

Las propuesta innovadora y eco amigable, para para dar una solución a un a problemática ambiental como es un suelo agrícola contaminado con petróleo correspondiente a malas prácticas o accidentes.

1.5.2. Importancia Social

El tratamiento de suelo agrícola contaminado con petróleo utilizando *Auricularia sp.* ayuda a darle una solución rápida, oportuna y sin poner en riesgo actividades propias de la zona al momento de buscar recuperar el suelo y buscar que se vuelva a las condiciones iniciales previas al incidente.

1.5.3. Importancia Económica

El aprovechamiento de recursos naturales y propio de zonas cálidas, donde mayormente se realizan las actividades de extracción de hidrocarburos, hace que este tratamiento sea rentable y al alcance de las zonas afectadas.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

2.1.1. Antecedentes Internacionales

Ñustez desarrolló la tesis “Biorremediación para la degradación de hidrocarburos totales presentes en los sedimentos de una estación de servicio de combustible” de la estación de servicio de combustible INTEGRA de Dosquebradas – Risaralda – Colombia. El método de investigación fue experimental, cuyo objetivo fue el de evaluar el efecto de la biorremediación y bioestimulación de sedimentos contaminados con hidrocarburos. Se utilizó la Bioaumentación donde se adicionó microorganismos adaptados a hidrocarburos, mientras que para la técnica de bioestimulación, se adicionó un nutriente (úrea), se le añadía agua y se realizaba un volteo manual, a la misma vez se realizó un seguimiento de la temperatura, pH y porcentaje de humedad una vez por semana, la duración total de la investigación fue de veintitrés (23) semanas. Pasadas las veintitrés (23) semanas las tasas de degradación de Hidrocarburos Totales variaron entre 79,7% y 93,4%. Presentándose la más alta en el experimento en la réplica del experimento. Se adicionó Nutriente (Urea) más Microorganismos (SSMN). (Ñustez Cuartas, 2012)

Wang et al publicaron el artículo “Bioremediation of diesel and lubricant oil-contaminated soils using enhanced landfarming system”. El método de investigación fue experimental, cuyo objetivo fue evaluar el potencial de la aplicación de un mejoramiento de la tierra para biorremediar suelos contaminados por lubricante y diésel. Se realizó un estudio de microcosmos para evaluar las condiciones óptimas de tratamiento con la adición de diferentes aditivos y estudiar la efectividad de la aplicación del *landfarming* mejorado para la limpieza de suelos contaminados con Hidrocarburos Totales de Petróleo comúnmente conocido por sus siglas TPH. Los resultados demuestran que los aditivos de los lodos activados y el compost podrían dar lugar al aumento de las poblaciones microbianas

del suelo y aumentar la eficiencia de degradación de la TPH (hasta un 83% de la eliminación de TPH con 175 días de incubación) con un TPH inicial de 4100 mg / kg. (Wang, Kuo, Hong, Chang, & Kao, 2016)

Simbaña presentó la tesis “Biorremediación de Suelos Contaminados con Hidrocarburos de la Parroquia Taracoa en Francisco de Orellana, Mediante El Hongo *Pleurotus Ostreatus*”. El método de investigación fue experimental, cuyo objetivo fue Biorremediar el suelo contaminado con hidrocarburos de la parroquia Taracoa en Francisco de Orellana, mediante el hongo *Pleurotus ostreatus*. Se realizó mediante biopilas, donde se usaron sustrato de alverja (tratamiento A), bagazo (tratamiento B) y cacao (tratamiento C), los cuales fueron replicados tres veces, en celdas de 2 kg cada una, durante un periodo de seis semanas. Los resultados demostraron que el tratamiento C fue el más eficiente en la degradación de TPH (hasta un 92,11%), le siguió el tratamiento A (hasta un 85,14%) y el tratamiento B (hasta un 76,2%), lo cual demuestra al hongo *Pleurotus ostreatus* como un buen biorremediador. (Simbaña, 2016)

2.1.2. Antecedentes Nacionales

La Revista del Instituto de Investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, publicó el artículo “Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante el compost de aserrín y estiércol” aplicado en la Refinería la Pampilla en el Callao El método de investigación fue experimental, cuyo objetivo fue evaluar el uso de compost de aserrín y estiércol en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos. Se aplicó el modelo estadístico de Diseño Experimental Completamente al Azar (DCA), con tres repeticiones y doce tratamientos sumando un total de 36 grupos experimentales, por un periodo de dos meses. Los resultados de la dosificación del suelo contaminado por hidrocarburos, estiércol y aserrín en promedio disminuyeron 22.5% el contenido de hidrocarburos en el suelo, empleando solo estiércol disminuyó 16.5% y usando solamente aserrines disminuyó 9.6%. El mejor tratamiento

fue el tratamiento (T3) suelo contaminado más vacaza más aserrín de bolaina, puesto que la concentración inicial de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) fue de 21.81 gr de TPH/kg de suelo, ha disminuido en 16.28 gr de TPH/kg de suelo, que representa una reducción del 25%. Siendo este tratamiento lo más recomendable a usar. (Buendía R., 2012)

Samanez presentó la tesis “Biodegradación bacteriana por bioestimulación en suelos contaminados con petróleo crudo”, donde se empleó la capacidad degradadora de las bacterias (bioaumentación) *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter calcoaceticus* y *Bacillus sp.*, asimismo se utilizó la bioestimulación (C/N : 100:1 y NPK: 20:20:1). Los resultados de la investigación, donde se alcanzó una degradación de 71,4% de petróleo de la combinación de bacterias con fertilizantes inorgánicos; asimismo las bacterias nativas con fertilizantes inorgánicos obtuvieron una degradación de 66,7% de petróleo, luego la bioaumentación logró una degradación de 61,9% de petróleo, siguiéndolo con una degradación de 52,3% la bioaumentación de bacterias nativas y finalmente el control abiótico con una degradación del 28%. (Samanez, 2008)

2.2. Bases Legales

2.2.1. Ley General del Ambiente N° 28611

La Ley General del Ambiente aprobado mediante Ley N°28611, el 15 de octubre del 2005.

En el artículo IX, del Principio de Responsabilidad Ambiental, menciona que “El causante de la degradación del ambiente y de sus componentes, sea una persona natural o jurídica, pública o privada, está obligado a adoptar inexcusablemente las medidas para su restauración, rehabilitación o reparación según corresponda o, cuando lo anterior no fuera posible, a compensar en términos ambientales los daños generados, sin perjuicio de otras responsabilidades administrativas, civiles o penales a que hubiera lugar”. (Ministerio del Ambiente, 2005).

2.2.2. Estándar de Calidad Ambiental para Suelos

El Estándar de Calidad Ambiental para Suelos (ECA-Suelo), fue aprobado mediante el D.S. N° 011-2017-MINAM para suelo Industrial y uso agrícola, el 02 de diciembre del 2017, los cuales se muestran en la Tabla 1 (MINAM, 2017).

Los ECA para suelo se consideran un referente obligatorio para el diseño y aplicación de instrumentos ambientales y son aplicables para los parámetros asociados a las actividades productivas, extractivas y de servicio.

Tabla 1
Estándares de Calidad Ambiental para Suelo

Parámetros	Usos del Suelo (mg/kg)	
	Agrícola	Industrial/Extractivo
Orgánicos		
Benceno	0,03	0,03
Tolueno	0,37	0,37
Etilbenceno	0,082	0,082
Xileno	11	11
Naftaleno	0,1	22
Fracción de hidrocarburos F1 (C5-C10)	200	500
Fracción de hidrocarburos F2 (C10-C28)	1 200	5 000
Fracción de hidrocarburos F3 (C28-C40)	3 000	6 000
Benzo(a)pireno	0,1	0,7
Bifenilos policlorados – PCB	0,5	33
Aldrín	2	10
Endrín	0,01	0,01
DDT	0,7	12
Heptacloro	0,01	0,01
Inorgánicos		
Cianuro libre	0,9	8
Arsénico total	50	140
Bario total	750	2 000
Cadmio total	1,4	22
Cromo VI	0,4	1,4
Mercurio total	6,6	24
Plomo total	70	1200

Fuente: D.S. N°011-2017-MINAM

2.2.3. Guía de Muestreo de Suelos

La Guía para Muestreo de Suelos, aprobada mediante el R.M. N° 085-2014-MINAM, el 9 de abril del 2014 (Ministerio del Ambiente, 2014a).

Esta guía es aplicable para el muestreo de suelos en proyectos y para sitios contaminados en los que la autoridad competente determine que no se cumplieron con los objetivos de remediación previstos en el instrumento de gestión ambiental.

Establece el muestreo de identificación, de detalle, de nivel de fondo y de comprobación de la remediación. Asimismo, especifica los criterios para la determinación del número de muestras, así como medidas de calidad para la toma y el manejo de muestras de suelos.

2.2.4. Guía para la Elaboración de los Planes de Descontaminación de Suelos

La Guía para la Elaboración de los Planes de Descontaminación de Suelos, aprobada mediante el R.M. N° 085-2014-MINAM, el 9 de abril del 2014 (Ministerio del Ambiente, 2014b).

Esta guía establece lineamientos para la actuación de los titulares de actividades extractivas, productivas o de servicios responsables de la descontaminación de suelos contaminados, donde se evidencia que un sitio supera las concentraciones establecidas en el ECA-Suelo.

El Pla de Descontaminación de suelos consta de tres fases, las cuales son: Fase de identificación (Previo a la elaboración del PDS), Fase de caracterización (Elaboración del PDS) y Fase de remediación

2.3. Bases Teóricas

2.3.1. Biorremediación

Como precisa:

La biorremediación es el uso de organismos vivos, principalmente microorganismos, para degradar los contaminantes ambientales en formas menos tóxicas. Utiliza bacterias y hongos o plantas naturales para degradar o desintoxicar sustancias peligrosas para la salud humana y/o el medio ambiente (Vidali, 2011)

En el párrafo anterior el autor nos ilustra que la biorremediación es un tratamiento utilizado en los diferentes campos de la ingeniería ambiental mediante el cual se puede llegar a descontaminar diferentes medios, utilizando mayormente microorganismos.

Uno de los tratamientos más adecuados para descontaminar el suelo contaminado y que es menos agresivo por las características que presenta, es la biorremediación debido al uso de degradadores de origen natural, tales como hongos o bacterias, que son introducidos con el fin de consumir, degradar y descomponer los contaminantes, a niveles en los que no presente un riesgo para la salud y la calidad del medio ambiente (Garzón, Rodríguez Miranda, & Hernández Gómez, 2017).

2.3.1.1. Microorganismos en la Biorremediación

Los microorganismos usados en biorremediación se dividen en cuatro grupos importantes (López, 2007):

- Bacterias

Las bacterias son los organismos más abundantes en el suelo, donde mayormente se encuentran en comunidades heterogéneas, donde algunos trabajan conjuntamente como agentes degradadores primarios, y otros como secundarios.

Son capaces de procesar sustancias dañinas para el medio ambiente de manera química convirtiéndolos en productos inocuos como metales pesados, azufre, entre otros.

- Hongos

Los hongos actúan sin afectar a las plantas o animales. Estos emplean la materia orgánica como fuente de carbono y energía.

Las setas, mohos y levaduras son los hongos más abundantes en el suelo, pero cabe recalcar que en menor cantidad que las bacterias.

Las hifas en el suelo contaminado enzimas extracelulares que atenúan los contaminantes. Además, los hongos son activos a pH más ácidos a comparación de las bacterias, donde especies crecen a pH menor de 5, y son más sensibles a la variación del contenido en humedad.

- Algas

Las algas son unicelulares y otras son filamentosas, donde la mayoría de son acuáticas, y otras en menor cantidad en el suelo. El dióxido de carbono (CO₂) y/o aniones bicarbonatados (HCO₃⁻) sirven como fuente de carbono para su crecimiento, y la energía proviene de la adsorción de la luz por pigmentos fotosintéticos produciendo oxígeno.

- Protozoos

Los protozoos son microorganismos que se alimentan de otros organismos, donde necesitan de agua para sus acciones metabólicas, donde pueden llegar a consumir gran cantidad de bacterias en el año, donde la mayor tendencia se da en la rizosfera donde se puede encontrar una fuente de alimento preparada para los microorganismos (Eldor, 2007).

2.3.1.2. Bioestimulación

Como precisa:

Se basa en la estimulación de la actividad catabólica de los microorganismos indígenas mediante la adición de minerales nutrientes limitantes, el suministro de oxígeno u otros aceptores de electrones y el mantenimiento de condiciones adecuadas de temperatura, pH y humedad (Jaime Leal et al., 2017).

Como lo indica la definición anterior, los microorganismos ya existentes o nativos, son estimulados mediante la aplicación de bioestimulante, el cual puede ser nutrientes, que estarán en función de las características y necesidades nutricionales del microorganismo a bioestimar.

2.3.2. Auricularia Spp.

La *Auricularia spp.* presenta un gran potencial para la biorremediación debido a que presenta un potencial para la producción de biomasa (absorción de contaminante dentro de la biomasa) y metabolitos secundarios (ocurre generalmente debido a condiciones de agotamiento de nutrientes).

Auricularia spp. es una seta producida a escala industrial, es conocida como hongo oreja u oreja gelatinosa de palo. Se ha realizado la descripción de alrededor de quince especies, entre ellas se encuentran: *A. auricula*, *A. polytricha*, *A. delicata*, *A. mesentérica*, *A. cornea*, *A. peltata*, *A. fuscosuccinea*, y *A. auricula-judae*; siendo las dos primeras las más producidas y estudiadas a nivel mundial (Ortiz et al., 2016).

Una de las características más representativas es que posee un sistema enzimático capaz de degradar madera en descomposición.

Según Stamets, su composición nutricional es: 8-10 % de proteína; 0,8-1,2 % de grasa; 84-87 % de carbohidratos; 9-14 % de fibra y 4-7 % de cenizas.

2.3.2.1. Parámetros de Operación

Las condiciones ambientales que son requeridas por la cepa según el Banco de Recursos Genéticos de *Auricularia spp.* con fines industriales, son las que se muestran a continuación (Ortiz et al., 2016).

- pH

El rango oscila entre un pH ácido y neutro. Para alcanzar este rango, se le puede adicionar urea y carbonato de calcio al medio de cultivo, debido a que ayuda a estabilizar el pH gracias al efecto tampón que se genera.

- Temperatura

Este parámetro afecta la germinación de las esporas, las cuales se inhiben fuera del rango de los 10 a 40 °C, siendo 30 °C la temperatura óptima de germinación. Otras características que se ven afectadas por este parámetro es el color y la estructura del hongo, debido a que a temperaturas bajas el carpóforo se torna más oscuro y grueso, donde el rango óptimo de temperatura varía entre 25 a 30 °C.

- Humedad

Esto está relacionado con la cantidad de agua en la que se encuentra la cepa. Si se presenta un bajo nivel de agua, esto afecta la capacidad del micelio para absorber y transportar nutrientes, por lo que el micelio se seca; por otro lado, un alto nivel de agua dificulta la circulación del oxígeno y del CO₂ en el sustrato. La humedad relativa menor al 80% podría causar la deshidratación y evitar el desarrollo de la seta.

- Intensidad de Luz

Este parámetro estimula la fructificación de *Auricularia sp*, cuando la intensidad de luz es superior a 500 lux durante el periodo de incubación, puede dar lugar a la formación prematura de primordios. También se relaciona con el color y la estructura del hongo, pues una mayor exposición se promueve la formación de carpóforos más oscuroeta.

2.3.2.2. Taxonomía

La taxonomía correspondiente a la *Auricularia* es la que se muestra a continuación:

- División: Basidiomycota
- Subdivisión: Basidiomycotina
- Clase: Phragmobasidiomycetes
- Subclase: Incertae sedis
- Orden: Auriculariales

- Familia: Auriculariaceae

La función principal de esta seta es la oxidación de compuestos fenólicos y no fenólicos de bajo y medio potencial redox, así como de colorantes sintéticos de alto potencial redox derivados de antraquinonas (Maté Mate, 2013).

Esta seta contiene la enzima DyP (dye-decolorizing peroxidase), lo que confiere una mayor plasticidad catalítica a este importante conjunto de enzimas

2.3.3. Petróleo Crudo

Como precisa:

El petróleo crudo es una mezcla extremadamente compleja y variable de compuestos orgánicos, donde la mayoría de los ellos son hidrocarburos, que varían en peso molecular desde el gas metano hasta los altos pesos moleculares de alquitranes y bitúmenes. Estos hidrocarburos pueden presentarse en un amplio rango de estructuras moleculares: cadenas lineales y ramificadas, anillos sencillos, condensados o aromáticos (Torres Delgado & Zuluaga Montoya, 2009).

El petróleo es un producto generado por varios procesos en un largo periodo de tiempo, sometido a ciertas condiciones ambientales. Este es una mezcla de compuestos orgánicos mayoritariamente hidrocarburos.

2.3.3.1. Clasificación

La clasificación se da según su base, donde cada base posee características físicas y químicas definidas, donde a cada uno de estos tipos de petróleo se les da un determinado uso.

- Crudos de Base Nafténica

Llamados también cicloparafínicos. Este tipo de petróleo contiene una gran cantidad de fracciones volátiles, es decir que se evaporizan rápidamente y en ciertos casos pueden llegar a ser tan livianos que son casi pura nafta. Este tipo de crudo es usado mayormente para combustión interna en

motores. Se encuentran generalmente en Perú, California y Golfo de México.

- Crudos de Base Parafínica

En este tipo los más livianos se queman sin formar humo, otros resisten el calor. Este tipo de crudo es usado mayormente para elaborar lubricantes. Se encuentran generalmente en Pensilvania, West Virginia y centro de Estados Unidos.

- Crudos de base Asfáltica

Este tipo de petróleo está conformado por una estructura compleja, que contiene azufre, alquitrán y asfalto; estos dan la mayor cantidad de combustibles pesados. Se encuentran generalmente en México, Venezuela, California y el Caribe.

- Crudos de Base Mixta

En este tipo de petróleo se está considerando los que están compuestos por crudos nafténicos, parafínicos y asfálticos en proporciones igualadas.

2.3.3.2. Fracción de Hidrocarburos

Las fracciones de hidrocarburo se dividen en tres, como se define a continuación.

- Fracción de Hidrocarburos F1 o Hidrocarburos Fracción Ligera

Según como lo define en la Guía para la Elaboración de los Planes de Descontaminación de Suelos, como una mezcla de hidrocarburos que contienen entre cinco y diez átomos de carbono (C_5 a C_{10}). Estos hidrocarburos deben analizarse en los productos desconocidos derivados del petróleo, petróleo crudo, gasavión, gasolvente, gasolinas, gas nafta.

- Fracción de Hidrocarburos F2 o Hidrocarburos Fracción Media

Según como lo define en la Guía para la Elaboración de los Planes de Descontaminación de Suelos, como una mezcla de hidrocarburos que

contienen entre diez y veintiocho átomos de carbono (C_{10} a C_{28}). Estos hidrocarburos deben analizarse en la mezcla de productos desconocidos derivados del petróleo, petróleo crudo, gasóleo, diesel, turbosina, queroseno, mezcla de creosota, gasavión, gasolvente, gasolinas, gas nafta.

- Fracción de Hidrocarburos F3 o Hidrocarburos Fracción Pesada

Según como lo define en la Guía para la Elaboración de los Planes de Descontaminación de Suelos, como una mezcla de hidrocarburos que contienen entre veintiocho y cuarenta átomos de carbono (C_{28} a C_{40}). Estos hidrocarburos deben analizarse en la mezcla de productos desconocidos derivados del petróleo, petróleo crudo, combustóleo, parafinas, petrolatos, aceites derivados del petróleo.

2.3.4. Suelo

El suelo es el lugar donde el hombre realiza diversas actividades y habitan ecosistemas, siendo así, el medio natural más importante.

Como precisa:

El suelo es uno de los ecosistemas más complejos de la naturaleza y uno de los hábitats más diversos de la tierra: alberga una infinidad de organismos diferentes que interactúan entre sí y contribuyen a los ciclos globales que hacen posible la vida (FAO, 2015).

En el párrafo anterior, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), menciona la importancia del suelo en los diferentes ecosistemas que existen, y que son el soporte para que exista la vida en los diferentes niveles dentro de la cadena alimenticia.

Además, cabe recalcar que este ecosistema, está compuesto por materia orgánica, organismos vegetales y animales, minerales, aire y agua.

El suelo se ha formado por acción de procesos erosivos, que han desintegrado las rocas superficiales. Las plantas y animales al morir, son

desintegrados por los microorganismos y transformados en materia orgánica.

2.3.5. Contaminación de Suelo con Petróleo

La contaminación del suelo con Petróleo se debe mayoritariamente a la explotación de petróleo, debido a que posee el mayor riesgo potencial de contaminación de suelos, por acción de las actividades propias de las operaciones de esta industria, como los es la perforación, explotación, transporte, refinado y comercialización.

Las afectaciones que se pueden observar en el suelo es el crecimiento vegetal, debido a la presión de oxígeno, aumento de la presión de HC gaseosos, disminución del intercambio gaseoso de la raíz, disminución del intercambio de nutrientes entre el suelo y la solución por encapsulado de agregados y generando adicionalmente una marcada deficiencia de nutrientes para el crecimiento vegetal (Mendoza & Portal, 2000).

2.4. Definiciones

Algunos de los términos utilizados en esta tesis son:

- **Biorremediación:** La biorremediación es una técnica para limpiar suelos contaminados de una forma muy práctica ya que se usan a los mismos microorganismos que viven en el suelo y el subsuelo (Iturbe Argüelles, 2010).
- **Bioaumentación:** La bioaumentación es la eliminación acelerada de compuestos no deseados de sitios de desechos peligrosos contaminados o biorreactores utilizando organismos autóctonos o alóctonos de tipo salvaje o genéticamente modificados (Boon, Goris, De Vos, Verstraete, & Top, 2000).
- **Contaminante:** Cualquier sustancia química que no pertenece a la naturaleza del suelo o cuya concentración excede la del nivel de fondo susceptible de causar efectos nocivos para la salud de las personas o el ambiente (MINAM, 2013).

- **Estándar de Calidad Ambiental (ECA):** Es la medida que establece el nivel de concentración o del grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, presentes en el aire, agua o suelo, en su condición de cuerpo receptor, que no representa riesgo significativo para la salud de las personas ni al ambiente. Según el parámetro en particular a que se refiera, la concentración o grado podrá ser expresada en máximos, mínimos o rangos (Ministerio del Ambiente, 2005).
- **Hidrocarburos de fracción media (F2):** Mezcla de hidrocarburos cuyas moléculas contengan entre diez y veintiocho carbonos (C10 a C28). Los hidrocarburos fracción media deben analizarse en los siguientes productos: mezcla de productos desconocidos derivados del petróleo, petróleo crudo, gasóleo, diesel, turbosina, queroseno, mezcla de creosota, gasolvente, gasolinas, gas nafta, entre otros (MINAM, 2017).
- **Hidrocarburos de fracción pesada (F3):** Mezcla de hidrocarburos cuyas moléculas contengan entre veintiocho y cuarenta átomos (C28 a C40). Los hidrocarburos fracción pesada deben analizarse en los siguientes productos: mezcla de productos desconocidos derivados del petróleo, petróleo crudo, parafinas, petrolatos, aceites del petróleo, entre otros (MINAM, 2017).
- **Suelo:** Material no consolidado compuesto por partículas inorgánicas, materia orgánica, agua, aire y organismos, que comprende desde la capa superior de la superficie terrestre hasta diferentes niveles de profundidad (MINAM, 2017).
- **Suelo Agrícola:** Suelo dedicado a la producción de cultivos, forrajes y pastos cultivados. Es también aquel suelo con aptitud para el crecimiento de cultivos y el desarrollo de la ganadería. Esto incluye tierras clasificadas como agrícolas, que mantienen un hábitat para especies permanentes y transitorias, además de flora y fauna nativa, como es el caso de las áreas naturales protegidas (MINAM, 2017).

- **Hidrocarburo:** Comprende todo compuesto orgánico, gaseoso, líquido o sólido, que consiste principalmente de carbono e hidrógeno (Presidencia de la República, 1993)
- **Setas:** Son una pequeña parte de un ser vivo más grande, el hongo. Las setas son el fruto del hongo que hay bajo tierra y que en la mayoría de los casos, contribuye de forma muy importante al fortalecimiento de los bosques, haciendo pactos de unión hongo-árbol, a los que llamamos micorrizas. Estas micorrizas, permiten al árbol crecer más fuerte y soportar niveles de estrés superiores (Campos & Arregui, 2010).

III. VARIABLES E HIPÓTESIS

3.1. Variable de la investigación

Para demostrar y comprobar la hipótesis formulada, se determinó las siguientes variables.

Variable Independiente: X = Biorremediación mediante el uso *Auricularia sp.*

Dichas especies de hongos reconocidos como de “podrición blanca” son lignícolas saprofitas o parásitas. Estos son considerados los más eficientes descomponedores de madera duras como los residuos agrícolas, permitiendo el acceso a la celulosa (Rosero Delgado, 2016).

Esta variable es la que biorremediará al suelo contaminado con petróleo (variable dependiente).

Variable Dependiente: Y = Suelo contaminado con petróleo

El crudo de petróleo se caracteriza por ser una matriz (compuesto) contaminante que contiene una elevada diversidad de compuestos, por lo que es un sustrato ideal para evaluar el potencial catabólico de cepas o consorcios microbianos de interés en biorremediación (Torres Delgado & Zuluaga Montoya, 2009).

Esta variable estará sujeta a los cambios positivos que pueda generar la *Auricularia sp.* (Variable independiente), sobre él, ya que mejorará la calidad del suelo.

3.2. Operacionalización de variables

En la Tabla 2 se presentan las variables e indicadores de la presente investigación.

Tabla 2
Variables e Indicadores

Variables		Indicadores
Variables Independiente	Biorremediación mediante la aplicación de <i>Auricularia sp.</i> (X1).	<ul style="list-style-type: none"> • Adaptabilidad de la <i>Auricularia sp.</i> • Factor de bioacumulación de petróleo de la <i>Auricularia sp.</i>
Variable Dependiente	Suelo contaminado con petróleo (Y).	<ul style="list-style-type: none"> • Concentración inicial y final de F2. • Concentración inicial y final de F3.

3.3. Hipótesis

3.3.1. Hipótesis General

“La aplicación de la biorremediación mediante el uso de *Auricularia sp.* es efectiva en suelos agrícolas contaminados por petróleo”.

3.3.2. Hipótesis Específicos

Las hipótesis específicas son:

- La aplicación de la biorremediación mediante el uso de *Auricularia sp.* es efectiva en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 2, a la concentración de 12g/kg de petróleo.
- La aplicación de la biorremediación mediante el uso de *Auricularia sp.* es efectiva en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 2, a la concentración de 18g/kg de petróleo.
- La aplicación de la biorremediación mediante el uso de *Auricularia sp.* es efectiva en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 3, a la concentración de 12g/kg de petróleo.

- La aplicación de la biorremediación mediante el uso de *Auricularia* sp. es efectiva en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 3, a la concentración de 18g/kg de petróleo.

IV.METODOLOGÍA

4.1. Tipo de investigación

La presente investigación es de tipo experimental, ya que se desea corroborar los efectos de su intervención mediante la manipulación de las condiciones de investigación, controlando una o más variables independientes, además se observa la variable dependiente para determinar los efectos resultantes (Behar Rivero, 2008).

Asimismo, la investigación es también de carácter explicativo, ya que su interés se centra en explicar porque ocurre un fenómeno y en qué condiciones se manifiesta o porque se relacionan dos o más variables (Hernández Sampieri, 2014).

4.2. Diseño de la investigación

En la Figura 1 se muestra el diseño de investigación:

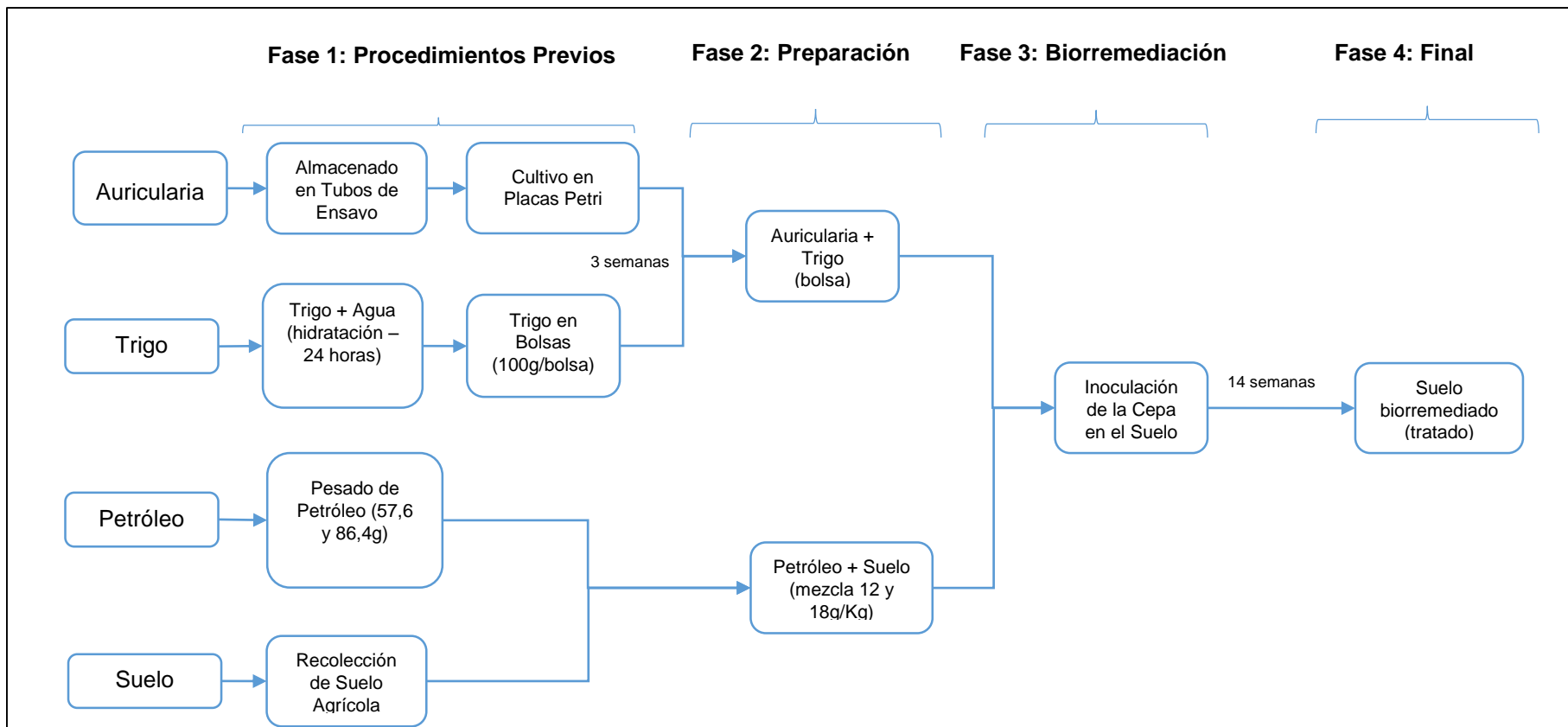


Figura 1 Esquema del Diseño de Investigación

4.2.1. Fase 1: Procedimientos Previos

Los procedimientos previos llevados a cabo en la Fase 1 fueron los siguientes:

4.2.1.1. Reactivación del micelio *Auricularia sp.*

Se procedió a cultivar la cepa del hongo *Auricularia sp.*, la cual se encontraba en tubos de ensayo y luego se procedió a colocarlas en placas Petri de 9 cm de diámetro con Agar Papa Dextrosa (PDA). Para esto se realizaron los siguientes pasos:

- Se preparó 100 ml de agar papa dextrosa para luego esterilizarlo en el autoclave a una temperatura de 121°C durante 30 minutos. Después se dejó enfriar a temperatura ambiente;
- Se distribuyó el agar en placas Petri (en condiciones asépticas) y se dejó enfriar hasta que adquiriera una consistencia gelatinosa; y
- Con un asa se inoculó la cepa de *Auricularia sp.* en las placas con el agar.

Finalmente, se esperó durante 2 semanas hasta que el micelio colonizó toda la placa (Ver Figura 2).



Figura 2 Placas Petri con *Auricularia sp.*

4.2.1.2. Preparación del sustrato (trigo)

Los granos de trigo fueron seleccionados retirando ramas y/o piedras, luego se hidrataron durante 12 horas, para después dejarlo secar por 8 horas. El trigo fue colocado en bolsas de polipropileno de 500 g de capacidad para ser esterilizadas en la autoclave a una temperatura de 121° C durante 30 minutos (Ver Figura 3).



Figura 3 Trigo en Bolsas

4.2.1.3. Obtención de la muestra de Crudo de Petróleo

La muestra de petróleo se obtuvo como donación del laboratorio de la Facultad de Ingeniería de Petróleo, Gas Natural y Petroquímica de la Universidad Nacional de Ingeniería. (Ver Figura 4).

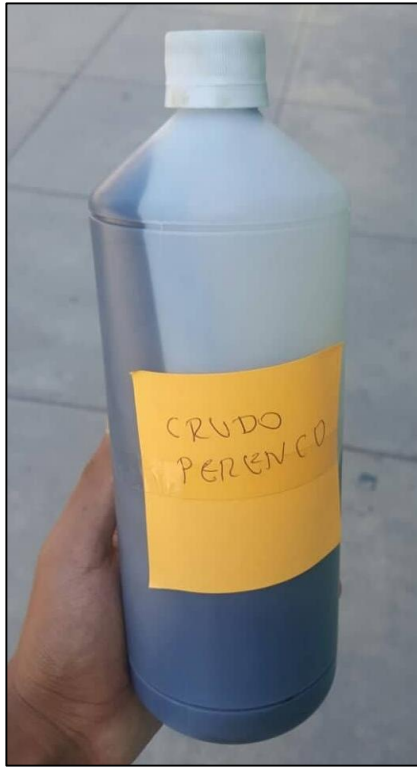


Figura 4 *Petróleo utilizado*

4.2.1.4. Recolección de muestras de Suelo y Caracterización

Se recolectaron muestras de suelo de la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNALM), según lo siguiente:

- Se procedió a limpiar la zona de ramas, piedras y/o hierbas, en un área aproximada de 1x1 m;
- Se realizó la excavación de un área de 0,4x0,4 m con 0,3 m de profundidad; y
- Se homogenizó la muestra y se descartó las grabas, para luego tomar aproximadamente 15 kg. (Ver Figura 5)

La caracterización del suelo se presenta en la sección 5.1.



Figura 5 Suelo Agrícola de la UNALM

Una muestra del suelo recolectado fue llevada al laboratorio para ser analizada y caracterizada. Los parámetros evaluados y los métodos de análisis empleados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3
Parámetros y Métodos de Análisis

Características	Método Empleado
Textura	Método del hidrómetro
Salinidad	Medida de la CE en un extracto acuoso de relación suelo: agua 1:1 en volumen
pH	Medida potenciométrica en la suspensión suelo: agua de relación 1:1 en volumen
Calcáreo total (CaCO ₃)	Método gaso - volumétrico utilizando un calcímetro
Materia orgánica	Método de Walkley y Black. Oxidación del carbono orgánico con dicromato de potasio en medio sulfúrico y determinación del dicromato residual por titulación con sulfato ferroso.
Fósforo disponible	Método de Olsen modificado. Extracción con NaHCO ₃ 0.5 M pH 8.5 y determinación del P en el extracto por colorimetría.
Potasio disponible	Extracción con acetato de amonio 1N pH 7 y determinación de K en el extracto por espectrometría de emisión atómica en llama.
Capacidad de intercambio catiónico (CIC)	Saturación con acetato de amonio 1N pH 7 y determinación del amonio adsorbido por desplazamiento con KCl, reacción con formaldehído y titulación ácido-base.
K ⁺ y Na ⁺ cambiables	Extracción con acetato de amonio 1N pH 7 y cuantificación por espectrofotometría de emisión atómica en llama.
Ca ²⁺ y Mg ²⁺ cambiables	Extracción con acetato de amonio 1N pH 7 y cuantificación por espectrofotometría de absorción atómica en llama.
Acidez Cambiable	Extracción con KCl 1N y cuantificación por titulación ácido-base.
F2	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography. 2007
F3	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography. 2007

En la Tabla 4 muestra categorías de calificación de algunos parámetros del suelo evaluado. Asimismo, los resultados de caracterización se presentan en la sección 5.1.

Tabla 4
Calificación de Algunos Parámetros de Caracterización

Parámetro	Unidad	Valor	Clasificación	Referencia
pH (1:1)	-	< 5,5	Fuertemente ácido	United States Department of Agriculture, 2017
		5,6 - 6,0	Moderadamente ácido	
		6,1 - 6,5	Ligeramente ácido	
		6,6 - 7,3	Neutro	
		7,4 - 7,8	Ligeramente alcalino	
		7,9 - 8,4	Moderadamente alcalino	
Capacidad de intercambio catiónico	cmol _c kg ⁻¹	> 8,5	Fuertemente alcalino	Cornell University Copperative Extensión, 2007
		< 5	Muy bajo	
		5 - 15	Bajo	
		15 - 25	Medio	
		25 - 40	Alto	
> 40	Muy alto			
Materia Orgánica	% peso	0,0 - 0,5	Extremadamente bajo	Woods and Research Laboratory, 1997
		0,5 - 1,0	Bajo	
		1,0 - 2,5	Moderadamente bajo	
		2,5 - 6,0	Moderado	
		> 6,0	Alto	
Carbonatos	% peso	0	No calcáreo	Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2006
		≈ 0 - 2	Ligeramente calcáreo	
		≈ 2 - 10	Moderadamente calcáreo	
		≈ 10 - 25	Fuertemente calcáreo	
		> 25	Extremadamente calcáreo	

4.2.2. Fase 2: Preparación

4.2.2.1. Preparación del suelo contaminado

Se procedió a pesar el petróleo y el suelo (por separado) con el objetivo de obtener suelo contaminado con petróleo a dos concentraciones.

Se pesó un total de 15 kg de suelo, la cual fue dividida en dos bandejas (7,5 kg cada uno). Luego se procedió a pesar el petróleo necesario para cada bandeja, y de esta manera obtener las concentraciones deseadas:

- i) 12 gramos de petróleo por kilogramo de suelo y
- ii) 18 gramos de petróleo por kilogramo de suelo.

Los cálculos realizados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5
Cálculos de suelo

Concentración (g/kg)	Cálculos	Petróleo necesario (g)
12	$\frac{12 \text{ g de petróleo}}{\text{kg de suelo}} = \frac{X \text{ g}}{7,5 \text{ kg de suelo}}$ $X = \frac{7,5 \text{ kg de suelo} * 12 \text{ g de petróleo}}{1 \text{ kg de suelo}}$ $X = 90 \text{ g de petróleo}$	90
18	$\frac{18 \text{ g de petróleo}}{\text{kg de suelo}} = \frac{X \text{ g}}{7,5 \text{ kg de suelo}}$ $X = \frac{7,5 \text{ kg de suelo} * 18 \text{ g de petróleo}}{1 \text{ kg de suelo}}$ $X = 135 \text{ g de petróleo}$	135

Luego se procedió a agregar el petróleo en el suelo y a mezclarlos para que se homogenice. (Ver Figura 6).



Figura 6 Preparación del Suelo

Una vez obtenido el suelo contaminado, se procedió a tomar muestras para su envío al laboratorio Servicios Analíticos Generales S.A.C. (SAG) (Ver Figura 7), el cual se encuentra certificado por INACAL. Los parámetros analizados fueron las fracciones de hidrocarburos 2 y 3 (F2 y F3).



Figura 7 Muestra Enviada a Análisis

4.2.2.2. Inoculación de la cepa en el sustrato

Pasadas las dos (02) semanas de incubación de las placas Petri con la cepa de *Auricularia sp.*, se procedió a la inoculación de esta en el sustrato.

En la cámara de flujo laminar, se colocó las placas Petri colonizadas y las bolsas (8 bolsas) con trigo, Dentro de la cámara se procedió a cortar las láminas de sustrato colonizado en cuatro (04) fracciones, para luego inocular las bolsas que contienen trigo con la *Auricularia sp.* en igual cantidad.



Figura 8 Inoculación de la Cepa en el Sustrato (trigo)

Finalmente se cerraron las bolsas y se dejaron incubar en oscuridad total, a una temperatura de 25°C durante tres (03) semanas o hasta que el trigo se presentó invadido totalmente por el hongo (esto se determinó mediante observación constante que se le brindó a las bolsas).

Por otro lado, se dejó una parte del trigo sin inocular, aproximadamente 1,5kg (este sirvió como blanco).

4.2.3. Fase 3: Biorremediación

Con la finalidad de cumplir los objetivos planteados, se estudiaron dos (02) factores: la aplicación de *Auricularia sp.* y la concentración inicial de petróleo. El primer factor constó de dos (02) niveles: 0 %p/p de *Auricularia sp.* (control) y 10% p/p de *Auricularia sp.* El segundo factor constó de también dos (02) niveles: 12 g/kg (1,186 p/p) de petróleo y 18 g/kg (1,768 p/p) de petróleo. De esta manera se estableció un arreglo factorial de 2x2, lo cual significó un total de cuatro (04) tratamientos, con tres (03) repeticiones cada uno, por lo que se obtuvo un total de doce (12) unidades experimentales. (Ver Tabla 6).

Tabla 6
Tratamientos

Tratamientos	Concentración del Inóculo (% p/p)	Petróleo (g/kg)	Número de Réplicas	Tiempo de Biorremediación
T1	10	12	3	14 semanas
T2	0	12	3	14 semanas
T3	10	18	3	14 semanas
T4	0	18	3	14 semanas

4.2.3.1. Inoculación del trigo en el suelo contaminado por petróleo

Se procedió a colocar el suelo contaminado en envases de vidrio de 2 litros de capacidad, luego se agregó el trigo de la siguiente manera:

- Trigo con el hongo (*Auricularia sp.*) en los tratamientos: T1 y T3
- Trigo sin el hongo en los tratamientos: T2 y T4.

Las cantidades en cada uno de los tratamientos se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7
Cantidad de Suelo, Petróleo y Trigo por Tratamiento

Tratamientos	Peso de suelo (g)	Petróleo (g)	Trigo (g)
T1	1 250	15,0	125
T2 ^a	1 250	15,0	125
T3	1 250	22,5	125
T4*	1 250	22,5	125

^a Se le agregó trigo sin la cepa.

Finalmente se procedió a tapar todos los envases con gasas, para evitar la entrada elementos extraños, además de asegurar la aireación del suelo (Ver Figura 9).



Figura 9 Unidades Experimental al Inicio del Proceso

4.2.3.2. Proceso de biorremediación

El proceso experimental se desarrolló desde el 04 de abril al 12 de julio del 2018, dando un total de catorce (14) semanas.

Se mantuvo en un ambiente a similares condiciones de temperatura durante las catorce (14) semanas. Además, se mantuvo la humedad a un promedio de 20%, en cada uno de los frascos; esto se logró agregando agua destilada periódicamente.

Asimismo, se realizó el análisis de la F2 y F3 al inicio y al final del proceso de biorremediación.

4.3. Población y muestra

4.3.1. Población

La población estudiada en la presente tesis comprende el suelo agrícola de la Universidad Nacional Agraria la Molina, que cuenta con un área aproximada de 2 000 m², de donde se obtuvo la muestra representativa.

4.3.2. Muestra

Para la obtención de la muestra se consideró un área en específico de la Universidad Nacional Agraria la Molina, donde se realizó una calicata de la cual se retiraron 15 kg en total.

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La toma de muestra de suelos para el presente estudio se basó en la Guía de Muestreo de Suelos (D.S. 085-2014-MINAM) publicado por el Ministerio del Ambiente.

Los equipos y materiales para la toma de muestra fueron: espátula, frasco de vidrio ámbar, papel aluminio, guantes, alcohol, mechero, cadena custodia y compresa.

Para la obtención de las muestras que se enviaron a analizar, se tomaron cantidades iguales de suelo de cada una de las tres (03) réplicas por tratamiento (esta muestra será de 500g, según requerimiento del laboratorio para el análisis). El total de muestras analizadas para esta investigación fue de 6 muestras de 500g cada una. (Ver Foto 9).

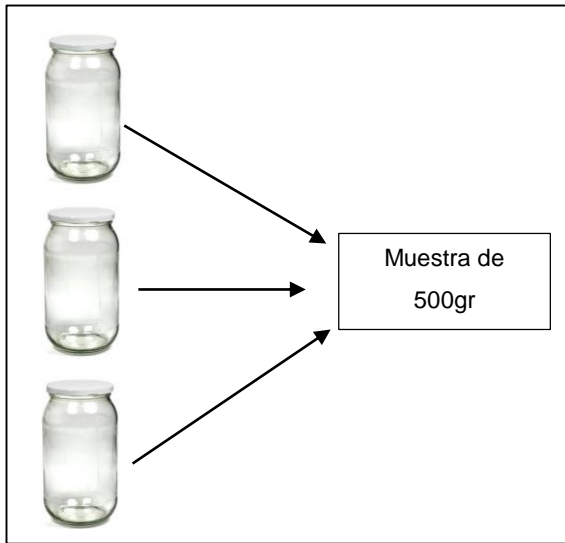


Figura 10 Toma de muestra

El análisis de las fracciones de Hidrocarburos (F2 y F3) se realizó en el laboratorio acreditado Servicios Analíticos Generales (SAG), el cual se encuentra ubicado en Av. Naciones Unidas 1565, Cercado de Lima.

4.5. Procesamientos de recolección de datos

El procedimiento de recolección de datos se realizó en las instalaciones del laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ingeniería Ambiental y de Recursos Naturales (FIARN) de la Universidad Nacional del Callao (UNAC).

El control de los tratamientos se realizará a través de dos (02) análisis en las cuales se determinará la concentración de las fracciones de hidrocarburos: F2 (Hidrocarburos fracción media) y F3 (Hidrocarburos fracción pesada), durante el plazo de aproximadamente catorce (14) semanas. La frecuencia de dicho análisis será de la siguiente manera:

- **Control 1:** Al inicio del proceso de biorremediación.
- **Control 2:** Al final del proceso de biorremediación (14 semanas después).

Asimismo, se plantea hacer seguimiento de la temperatura con una frecuencia semanal.

4.6. Procesamiento estadístico y análisis de datos

El plan de análisis estadísticos de datos se realizará con la obtención de los resultados sobre los parámetros medidos en los distintos experimentos, los cuales serán procesados con la aplicación del paquete estadístico Minitab 18.

El ordenamiento de los instrumentos se realizó de la siguiente manera: Ordenamiento de datos, determinación en medidas de tendencia central, de dispersión en forma global y por tratamientos, la comparación de gráficas obtenidas, con las cuales se realizará la discusión y la comprobación de nuestra hipótesis.

V. RESULTADOS

Los resultados obtenidos se presentan a continuación:

5.1. Caracterización del Suelo

Los resultados de caracterización de suelo se muestran en la Tabla 8 .

Tabla 8
Resultados de Caracterización del Suelo

Parámetro	Unidad	Suelo
pH	-	7,6
Conductividad Eléctrica	dS m ⁻¹	0,72
CaCO ₃	g kg ⁻¹	46,0
Materia Orgánica	g kg ⁻¹	1,6
P disponible	mg kg ⁻¹	1,2
K disponible	mg kg ⁻¹	56
Análisis Mecánico	Arena (A)	g kg ⁻¹
	Limo (L)	g kg ⁻¹
	Arcilla (Ar)	g kg ⁻¹
Clase Textural*	-	Franco
CIC medida	cmol _c kg ⁻¹	10,88
CIC efectiva	cmol _c kg ⁻¹	10,88
Cationes Intercambiables	Ca ⁺²	cmol _c kg ⁻¹
	Mg ⁺²	cmol _c kg ⁻¹
	K ⁺	cmol _c kg ⁻¹
	Na ⁺	cmol _c kg ⁻¹
	Al ⁺³ + H ⁺	cmol _c kg ⁻¹
Saturación de Bases	%	100
Acidez cambiante	%	0
Fracción de hidrocarburos 2	mg/kg	N.D.
Fracción de hidrocarburos 3	mg/kg	N.D.

Nota: N.D.: no detectado

El suelo analizado tuvo textura franca y pH neutro. Su capacidad de intercambio catiónico (CIC) efectiva fue baja (10,88 cmol_c kg⁻¹), propio de suelos con baja habilidad de retener nutrientes y pobre en materia orgánica.

El nivel de materia orgánica fue bajo. El contenido de carbonatos se clasificó como calcáreo.

5.2. Control Visual del Crecimiento de la *Auricularia sp.*

Durante el proceso de biorremediación se evaluó visualmente el proceso de crecimiento del hongo (ver Figura 11, Figura 12 y Figura 13).



Figura 11 Inicio del Proceso de Biorremediación



Figura 12 Luego de 4 Semanas del Proceso de Biorremediación



Figura 13 Crecimiento de la *Auricularia sp.* Tratamiento 3

5.3. Análisis de la F2 y F3 en el suelo contaminado

5.3.1. Análisis Inicial

Tal como se indicó al inicio del Experimento se procedió a hacer el análisis de suelo de cada uno de los tratamientos, con el objetivo de conocer la concentración inicial de la F2 y F3 de hidrocarburos presente. Las concentraciones promedio obtenidas a partir del análisis de las tres réplicas realizadas en cada tratamiento se muestran en la Tabla 9. Asimismo, en el Anexo 2 se muestran los resultados de laboratorio correspondiente a este periodo.

Tabla 9
Concentraciones Iniciales Promedio

Tratamiento	F2 (mg/kg)	F3 (mg/kg)
T1	2255,0	2447,0
T2	2255,0	2447,0
T3	3386,0	2774,0
T4	3386,0	2774,0

5.3.2. Análisis Final

Luego de pasadas las catorce (14) semanas del proceso de biorremediación, se procedió al análisis de suelo. Las concentraciones promedio obtenidas a partir del análisis de las tres (03) réplicas realizadas en cada tratamiento se muestran en la Tabla 10. Asimismo, en el Anexo 3 se muestran los resultados de laboratorio, correspondiente a este periodo.

Tabla 10
Concentraciones Finales Promedio

Tratamiento	F2 (mg/kg)	F3 (mg/kg)
T1	807,2	1193,0
T2	1557,0	1451,0
T3	1785,1	1757,0
T4	3030,0	2569,0

5.3.3. Niveles de Reducción de F2 y F3

A partir de los análisis de concentración inicial y final en cada uno de los tratamientos realizados, se procedió a calcular los niveles de reducción absoluto y porcentual de la F2 y F3 mediante las siguientes formulas:

$$\text{Reducción Absoluta.} = C_i - C_f;$$

$$\% \text{ Reduc.} = \frac{C_i - C_f}{C_i} \times 100 \dots (1)$$

Con aplicación de la formula (1) se obtuvo los resultados presentados en la Tabla 11, el Gráfico 1 y Gráfico 2.

Tabla 11
Reducción Absoluta y Porcentual de F2 y F3 (mg/kg)

Tratamiento	F2				F3			
	Inicio	Final	Reducción	%	Inicio	Final	Reducción	%
T1	2255,0	807,2	1447,8	64,2	2447,0	1193,0	1254,0	51,2
T2	2255,0	1557,0	698,0	31,0	2447,0	1451,0	996,0	40,7
T3	3386,0	1785,1	1600,9	47,3	2774,0	1757,0	1017,0	36,7
T4	3386,0	3030,0	356,0	10,5	2774,0	2569,0	205,0	7,4

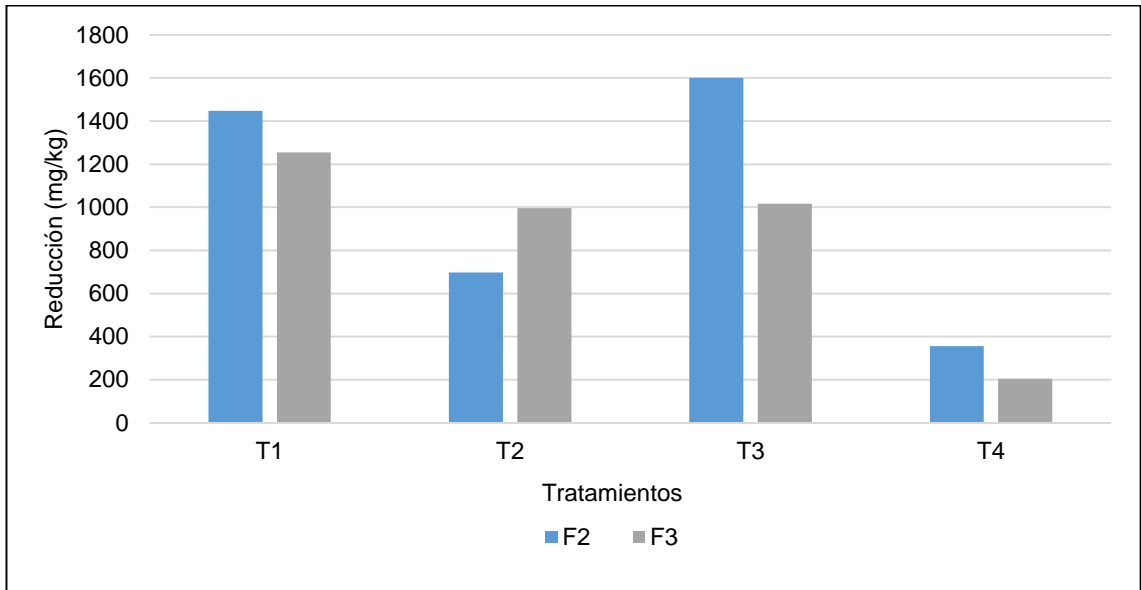


Gráfico 1 Reducción Absoluta de F2 y F3

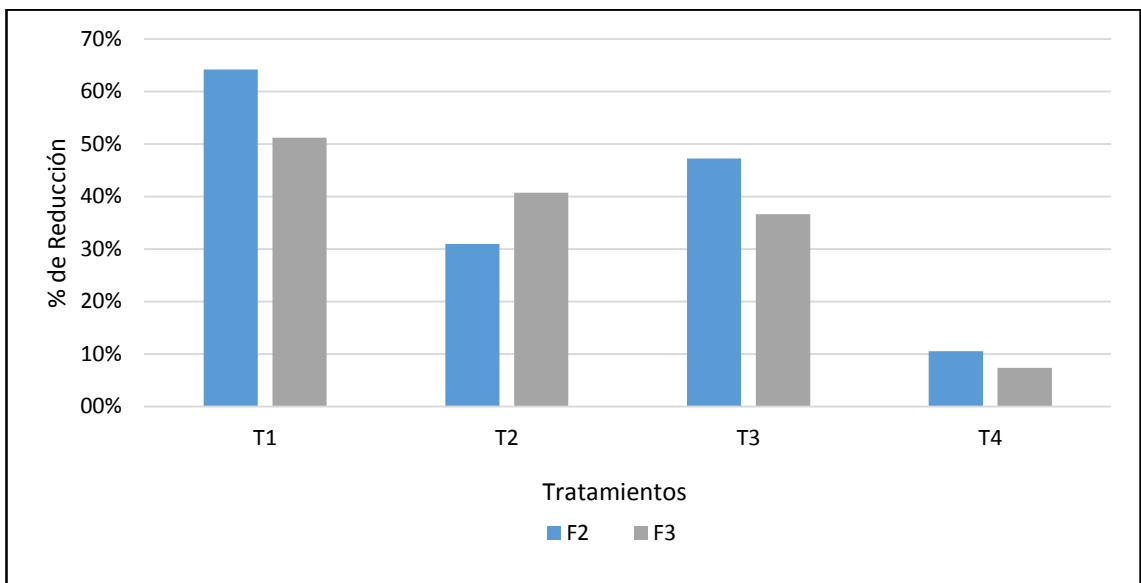


Gráfico 2 Porcentaje de Reducción de F2 y F3

VI. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

6.1. Contrastación de hipótesis con los resultados

La contrastación de la Hipótesis “La aplicación de la biorremediación mediante el uso de *Auricularia sp.* es efectiva en suelos agrícolas contaminados por petróleo” se realizó mediante pruebas estadísticas las cuales fueron: el Análisis de Varianza (ANOVA) y la Prueba Tukey. Los resultados de estas se muestran a continuación.

6.1.1. Concentración de F2

Análisis de Varianza (ANOVA)

Se planteó la hipótesis nula (H_0) y la hipótesis de investigación (H_i) de la siguiente manera:

- H_0 : Existen diferencias entre los promedios de los tratamientos, $P > 0,05$
- H_i : Existen diferencias entre los promedios de los tratamientos, $P \leq 0,05$

Luego, se realizó el análisis de varianza para determinar si existe diferencia entre los tratamientos o si todos estos son iguales, con el fin de rechazar o aceptar, la hipótesis nula en cada uno de los casos. Los valores usados en el análisis se indican en la Tabla 12.

Tabla 12
Reducción Neta de la F2

Repeticiones	Tratamientos			
	T1	T2	T3	T4
R1	1447,8	698,0	1600,9	356,0
R2 ^a	1592,6	767,8	1761,0	391,6
R3*	1303,0	628,2	1440,8	320,4

^a Valores calculados considerando un +/- 10 de error del laboratorio

El análisis de varianza se realizó en el programa Minitab 18. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13
Resultados del Cuadro ANOVA para la F2

Origen de las Variaciones	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Promedio de los Cuadrados	F	Probabilidad	Valor Crítico para F
Entre grupos	3194715,2	3	1064905,1	80,8	2,5E-06	4,06
Dentro de los grupos	105460,5	8	13182,6			
Total	3300175,6	11				

Como se aprecia en la tabla anterior, el valor P es menor a 0,05 (**2,5E-06**), por lo que se rechaza la hipótesis nula (H0) y se acepta la hipótesis de investigación (Hi), con lo que se concluye que al menos uno de los tratamientos es diferente.

Una vez rechazada la hipótesis nula (H0), se procede a realizar la **Prueba de Tukey** con la finalidad de identificar que tratamiento o tratamientos son los que presentan una diferencia significativa respecto a los demás, y así verificar si el uso de *Auricularia Sp.* ayuda en la degradación de la concentración de F2.

Prueba de Tukey

Los pasos por seguir son los siguientes:

- a) Calcular la Diferencia Honestamente Significativa (HSD, por sus siglas en inglés).

La HSD, se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$HSD = \text{Multiplicador} * \sqrt{\frac{Mse}{n}} \dots (2)$$

Donde:

Multiplicador = valores críticos para la prueba de Tukey (Ver Anexo 4);

$$Mse = \frac{\text{Suma de cuadrados dentro de los grupos}}{\text{Grados de libertad dentro de los grupos}} \dots (3) ; y$$

n = Número de elementos (repeticiones) en cada uno de los grupos

Por lo tanto, aplicando la ecuación (2) la HSD para la F2, es de:

$$HSD = \text{Multiplicador} * \sqrt{\frac{Mse}{n}} = 4,53 * \sqrt{\frac{105460,48}{8}} = 300,29$$

b) Cálculo de media aritmética en cada uno de los tratamientos.

Según lo mostrado en la Tabla 12, se muestra la Tabla 14, que se muestra a continuación.

Tabla 14
Promedios por Tratamiento

Tratamiento	T1	T2	T3	T4
Promedio	1447,80	698,00	1600,92	356,02

c) Obtención de la Tabla Tukey

La elaboración de la tabla Tukey se calcula con el valor absoluto de la resta entre las medias entre tratamientos $|X|$, tal como se muestra en la Tabla 15.

Tabla 15
Tabla del Método Tukey

	T1	T2	T3	T4
T1		$ \bar{x}_{T1}-\bar{x}_{T2} $	$ \bar{x}_{T1}-\bar{x}_{T3} $	$ \bar{x}_{T1}-\bar{x}_{T4} $
T2	-		$ \bar{x}_{T2}-\bar{x}_{T3} $	$ \bar{x}_{T2}-\bar{x}_{T4} $
T3	-	-		$ \bar{x}_{T3}-\bar{x}_{T4} $
T4	-	-	-	

En la Tabla 16 se muestra los resultados de la aplicación del método Tukey para la F2.

Tabla 16
Resultados del Método Tukey para la F2

	T1	T2	T3	T4
T1		749,8	153,1	1091,8
T2	-		902,9	342,0
T3	-	-		1244,9
T4	-	-	-	

d) Identificación de Tratamientos Significativamente Diferentes

Finalmente, la identificación de los Tratamientos Significativamente Diferentes se realiza a partir de la resta entre y las medias $|X|$ y el HSD, en donde los valores positivos son los tratamientos que presentan diferencia entre sí. Asimismo, a mayor valor, mayor es la diferencia entre tratamientos (ver Tabla 17).

Tabla 17
Comparación Medias y HSD

Comparaciones	Prueba Tukey	HSD	Diferencia
T1-T2	749,8	300,29	449,51
T1-T3	153,12	300,29	-147,17
T1-T4	1091,78	300,29	791,49
T2-T3	902,92	300,29	602,63
T2-T4	341,98	300,29	41,69
T3-T4	1244,9	300,29	944,61

Nota: Los valores en color X presentan una diferencia significativa.

Se prestará principal atención en la comparación de los T1 y T2 versus los tratamientos T3 y T4, respectivamente, ya que de estas comparaciones se podrá saber si el uso de *Auricularia sp.* (a diferentes concentraciones iniciales de petróleo) es significativo. Asimismo, también se considera la comparación entre los tratamientos T1 y T2, los cuales cuentan con *Auricularia sp.* aunque con concentraciones diferentes (Ver Gráfico 3).

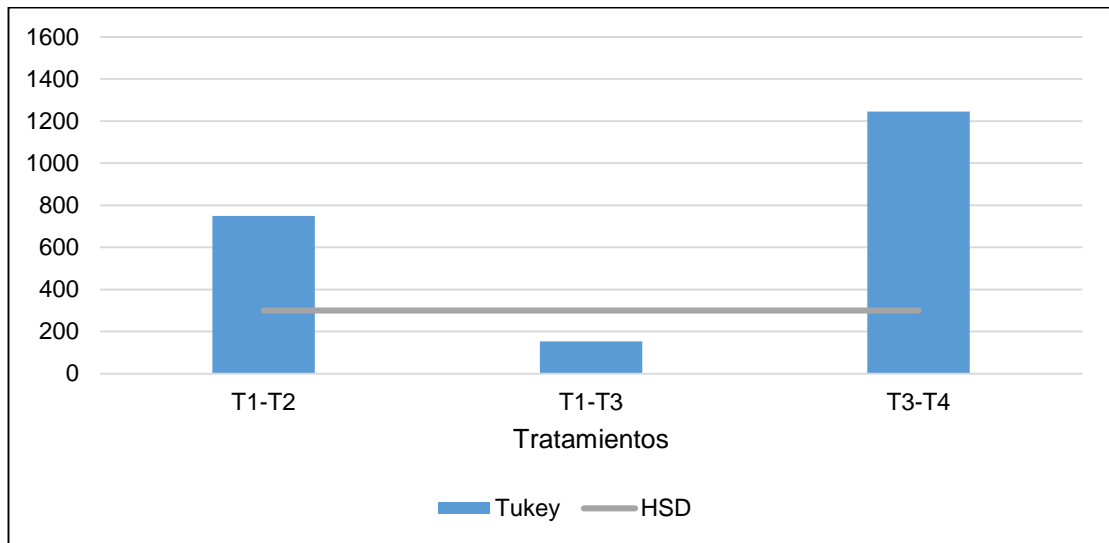


Gráfico 3 Comparación Medias y HSD

Del Gráfico 3 se puede apreciar que la mayor diferencia entre tratamientos ocurrió entre el T3 (Ci: 18 mg/kg y presencia de *Auricularia sp.*) y T4 (Ci: 18 mg/kg y ausencia de *Auricularia sp.*), por lo que se demuestra que la acción del hongo en el T3, favoreció considerablemente en la reducción de la F2. Además, como se observó en los resultados la reducción en el T3 aumentó en aproximadamente 36% más, respecto del T4.

En el caso de la comparación del T1 (Ci: 12 mg/kg y presencia de *Auricularia sp.*) y T2 (Ci: 12 mg/kg y ausencia de *Auricularia sp.*), se pudo observar que la acción de la *Auricularia sp.* ayudó a la reducción de la concentración de F2 en el T1 en un 33% más, respecto del T2.

Asimismo, de la comparación entre los tratamientos T1 (Ci: 12 mg/kg y presencia de *Auricularia sp.*) y T3 (Ci: 18 mg/kg y presencia de *Auricularia sp.*) se pudo observar que la acción de la *Auricularia sp.* no fue significativamente diferente, esto considerando que las concentraciones de F2 y F3, al inicio del proceso de biorremediación, fueron diferentes.

6.1.2. Concentración de F3

Análisis de Varianza (ANOVA)

Se planteó la hipótesis nula (H0) y la hipótesis de investigación (Hi) de la siguiente manera:

- H0: Existen diferencias entre los promedios de los tratamientos, $P > 0,05$
- Hi: Existen diferencias entre los promedios de los tratamientos, $P \leq 0,05$

Se realizó el análisis de varianza para determinar si existe diferencia entre los tratamientos o si todos estos son iguales, con el fin de rechazar o aceptar, la hipótesis nula en cada uno de los casos. Los valores utilizados se indican en la Tabla 18.

Tabla 18
Reducción Neta de la F3

Repeticiones	Tratamientos			
	T1	T2	T3	T4
R1	1254,0	996,0	1017,0	205,0
R2 ^a	1379,4	1095,6	1118,7	225,5
R3*	1128,6	896,4	915,3	184,5

^a Valores calculados considerando un +/- 10 de error

El análisis de varianza se realizó en el programa Minitab 18. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 19.

Tabla 19
Resultados del Cuadro ANOVA para la F3

Origen de las Variaciones	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Promedio de los Cuadrados	F	Probabilidad	Valor Crítico para F
Entre Grupos	1881450	3	627150	68,9	4,6E-06	4,06
Dentro de los Grupos	72816,9	8	9102,1			
Total	1954266,9	11				

Como se aprecia en la tabla anterior, el valor P es menor a 0,05 (**4,6E-06**), por lo que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que al menos uno de los tratamientos es diferente.

Una vez rechazada la hipótesis nula (H0), se procede a realizar la prueba de Tukey con la finalidad de identificar que tratamiento o tratamientos son los que presentan una diferencia significativa respecto a los demás, para verificar si el uso de *Auricularia Sp.* ayuda en la disminución de concentración de F3.

Prueba de Tukey

Como se mencionó previamente se siguen los siguientes pasos:

- a) Calcular la Diferencia Honestamente Significativa (HSD, por sus siglas en inglés).

La HSD, se calcula mediante la fórmula (2):

$$HSD = \text{Multiplicador} * \sqrt{\frac{Mse}{n}} = 4,53 * \sqrt{\frac{66397,79}{8}} = \mathbf{249,52}$$

- b) Cálculo de media aritmética en cada uno de los tratamientos.

Tabla 20
Promedios por Tratamiento

Tratamiento	T1	T2	T3	T4
Promedio	1254,0	996,0	1017,0	205,0

- c) Obtención de la Tabla Tukey

En la Tabla 21 se muestra los resultados de la aplicación del método Tukey para la F3.

Tabla 21
Resultados del Método Tukey para la F3

	T1	T2	T3	T4
T1		259,0	237,9	1049,0
T2	-		21,0	791,0
T3	-	-		812,0
T4	-	-	-	

d) Identificación de Tratamientos Significativamente Diferentes

Finalmente, la identificación de los Tratamientos Significativamente Diferentes se realiza a partir de la resta entre $|X|$ y el HSD, en donde los valores positivos son los que tratamientos que presentan diferencia entre sí. Asimismo, a mayor valor, mayor es la diferencia entre tratamientos.

Tabla 22
Comparación Medias y HSD

Comparaciones	$ X $	HSD	Diferencia
T1-T2	258,0	249,5	8,5
T1-T3	237,0	249,5	-12,5
T1-T4	1049,0	249,5	799,5
T2-T3	21,0	249,5	-228,5
T2-T4	791,0	249,5	541,5
T3-T4	812,0	249,5	562,5

Nota: Los valores en color X presentan una diferencia significativa.

Al igual que con la F2, se prestará principal atención en la comparación de los T1 y T2 versus los tratamientos T3 y T4, respectivamente, ya que de estas comparaciones se podrá verificar si el uso de *Auricularia sp.* (A diferentes concentraciones iniciales de petróleo) es significativo. Asimismo, también se considera la comparación entre los tratamientos T1 y T2, los cuales cuentan con *Auricularia sp.* aunque con concentraciones diferentes.

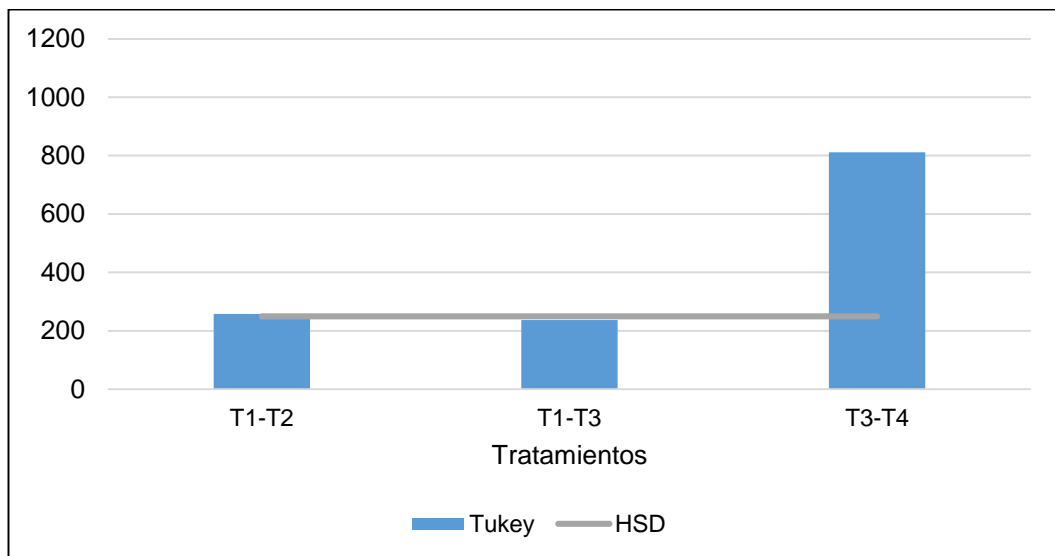


Gráfico 4 Comparación Medias y HSD

Del Gráfico 4 se puede apreciar que la mayor diferencia entre tratamientos ocurrió entre el T3 (Ci: 18 mg/kg y presencia de *Auricularia sp.*) y T4 (Ci: 18 mg/kg y ausencia de *Auricularia sp.*), por lo que la acción del hongo en el T3 favoreció considerablemente en la reducción de la F3. Además, como se observó en los resultados la reducción en el T3 se elevó en aproximadamente 29% más, respecto del T4.

En el caso de la comparación del T1 (Ci: 12 mg/kg y presencia de *Auricularia sp.*) y T2 (Ci: 12 mg/kg y ausencia de *Auricularia sp.*), se pudo observar que la acción de la *Auricularia sp.* ayudó a la reducción de la F3 en el T1 en un 11% más, respecto del T2.

Asimismo, de la comparación entre los tratamientos T1 (Ci: 12 mg/kg y presencia de *Auricularia sp.*) y T3 (Ci: 18 mg/kg y presencia de *Auricularia sp.*), se desprende que la concentración de hidrocarburo inicial, 12 y 18 mg/Kg, respectivamente, para la F3, no es significativamente relevante en la acción de la *Auricularia sp.* durante la biorremediación.

6.2. Contrastación de resultados con otros estudios similares

Respecto a la realización de estudios similares a la presente investigación, se puede mencionar el estudio titulado “**Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos de la Parroquia Taracoa en Francisco de Orellana, mediante el hongo *Pleurotus ostreatus***” realizado por Simbaña en la ciudad de Riobamba, Ecuador (Simbaña, 2016).

Dicha investigación estuvo enfocada en evaluar la acción del hongo *Pleurotus ostreatus* en la biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos, mediante la técnica de biopilas. Se utilizaron tres tipos de sustrato: arveja, bagazo y cacao, constituyéndose en tres tratamientos los cuales fueron triplicados, obteniéndose un nueve unidades experimentales. Luego obtenidos los resultados del análisis de TPH (Hidrocarburos totales de petróleo) antes y después de la biorremediación, se procedió a determinar si existía una diferencia significativa entre los tratamientos y se aplicó el modelo estadístico TUKEY, con el objetivo de encontrar el tratamiento más adecuado. Se obtuvo que porcentajes de reducción de 76, 85 y 92% (dependiendo del tipo de sustrato), demostrando que el hongo es eficaz en la remediación de hidrocarburos totales de petróleo.

De esta manera se puede observar que los resultados de aplicación de biorremediación en suelo contaminados con hidrocarburos fueron ligeramente mayores que los obtenidos en la presente tesis, en los que se obtuvo un rango de reducción, de la F2 y F3 de 51 a 64%. Asimismo, cabe resaltar que si bien existen diferencias metodológicas entre ambas investigaciones como: tipo de sustrato y tiempo de biorremediación; existe una relación en los resultados tal y como se mencionó.

Por otro lado, como indica el artículo “Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante el compost de aserrín y estiércol” realizado por Buendía (2012), se realizó un experimento a nivel de bioensayos, en la Universidad Nacional Agraria La Molina, en el cual se

evaluó el poder de biorremediación del compost de aserrín y estiércol en la degradación de hidrocarburos (TPH) en suelos contaminados con hidrocarburos, durante un periodo de dos meses. Los resultados obtenidos indicaron que el compost con vacaza más aserrín de bolaina, obtuvo la mayor reducción (de 21,81 g de TPH/kg de suelo a 16,28 g de TPH/kg de suelo), representando un 25% de reducción de TPH, mientras que en los suelos tratados con aserrín y estiércol orgánico se presentó un reducción de 22,5%. De esta manera se puede observar que la presente investigación tuvo un porcentaje de reducción más elevado respecto de la investigación realizada por Buendía (2012), aunque se debe precisar que el porcentaje inicial de hidrocarburos en dicha investigación fue de aproximadamente 50% más (Buendía R., 2012).

VII. CONCLUSIONES

La presente tesis ha formulado las siguientes conclusiones:

- El hongo *Auricularia sp.* tiene la capacidad de remediar los suelos contaminados por hidrocarburos (F2 y F3), lo cual demuestra que nuestra hipótesis es correcta.
- El hongo *Auricularia sp.* tiene mayor efectividad de remediación de suelos contaminados con petróleo que la atenuación natural o el landfarming.
- El Tratamiento 1 presentó una degradación de la F2 de petróleo de 64,2%.
- El Tratamiento 1 presentó una degradación de la F3 de petróleo de 51,2%.
- El Tratamiento 3 presentó una degradación de la F2 de petróleo de 47,3%.
- El Tratamiento 3 presentó una degradación de la F3 de petróleo de 36,7%.
- La mejor remoción de la F2 se presentó en el Tratamiento 1 (Ci: 12 mg/kg y presencia de *Auricularia sp.*).
- La mejor remoción de la F3 se presentó en el Tratamiento 1 (Ci: 12 mg/kg y presencia de *Auricularia sp.*).
- La mejor remoción absoluta de la F2 se presentó en el Tratamiento 3 (Ci: 18 mg/kg y presencia de *Auricularia sp.*), con un valor de 1600,9 mg/kg.
- La mejor remoción de la F3 se presentó en el Tratamiento 1 (Ci: 12 mg/kg y presencia de *Auricularia sp.*), con un valor de 1254,0 mg/kg.

VIII. RECOMENDACIONES

La presente tesis ha formulado las siguientes recomendaciones:

- Realizar la caracterización del suelo contaminado considerando todos los parámetros establecidos en el ECA para Suelo, D.S. 011-2017-MINAM, tales como parámetros orgánicos (benceno, tolueno, etilbenceno, xileno, naftaleno, entre otros) e inorgánicos (cianuro libre, arsénico, bario cadmio, entre otros).
- Continuar con la investigación teniendo en cuenta la proporción peso/peso entre el suelo contaminado y sustrato con *Auricularia sp.*
- Realizar la investigación considerando diferentes tipos de suelo como variables, con el objetivo de identificar el suelo en el que la *Auricularia sp.* tiene una mayor eficiencia.
- Realizar la investigación con diferentes concentraciones, que no sean ni a 12mg/kg y 18mg/kg.
- Realizar el experimento considerando otras variables (temperatura, humedad, etc.) propias de la *Auricularia sp.*

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

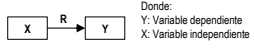
- Behar Rivero, D. (2008). *Metodología de la Investigación* (Rubeira, A).
- Boon, N., Goris, J., De Vos, P., Verstraete, W., & Top, E. M. (2000). Bioaugmentation of activated sludge by an indigenous 3-chloroaniline-degrading *Comamonas testosteroni* strain, l2gfp. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(7), 2906–2913. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.7.2906-2913.2000>
- Buendía R., H. (2012). Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante el compost de aserrín y estiércol [Biorestauration of hydrocarbons contaminated soils using sawdust and manure compost]. *Revista Del Instituto de Investigaciones de La Facultad de Geología, Minas, Metalurgia y Ciencias Geográfica*, 15(30), 1–15. Retrieved from [http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/iigeo/article/view File/4101/3268](http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/iigeo/article/view/File/4101/3268)
- Campos, J. C., & Arregui, A. (2010). *Manual de Buenas Prácticas y Guía de Setas de Guadalajara* (Primera).
- Eldor, P. (2007). *Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry* (Tercera).
- FAO. (2015). Suelos y Biodiversidad. *Folleto*, 2015.
- Garzón, J. M., Rodríguez Miranda, J. P., & Hernández Gómez, C. (2017). Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. *Universidad y Salud*, 19(2), 309. <https://doi.org/10.22267/rus.171902.93>
- Hernández Sampieri, R. (2014). *Metodología de la Investigación* (Quinta; J. Mares Chacón, Ed.). México: MC Graw Hill.
- Iturbe Argüelles, R. (2010). ¿Qué es la Biorremediación? *Dirección General de Dovulgación de La Ciencia*, 24.
- Jaime Leal, A., Montes Rodrigues, E., Lopes Leal, P., Lopes Júlio, A. D.,

- Rocha Fernandes, R. de C., Chaer Borges, A., & RogérioTótola, M. (2017). Changes in the microbial community during bioremediation of gasoline-contaminated soil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(2), 342–351. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.018>
- López, A. (2007). Biorremediación y Fitorremediación en Suelos Contaminados. *Real Academia Nacional de Farmacia*, 69–101.
- Maté Mate, D. (2013). *Diseño de Lacasas Fúngicas Activas en Sangre Mediante Evolución Dirigida*.
- Mendoza, R., & Portal, R. (2000). *Landfarming of Petroleum Wastes in a Cold Dry Climate of Tierra del Fuego. Effect on Soil and Vegetation*. (Hillel 1989), 36–43.
- MINAM. (2013). *Decreto Supremo N° 002-2013-MINAM “Aprueban Estándares de calidad Ambiental (ECA) para Suelo.”*
- MINAM. *Decreto Supremo N° 011-2017-MINAM “Aprueban Estándares de calidad Ambiental (ECA) para Suelo.”*, Pub. L. No. D.S. N° 011-2017-MINAM, 12 (2017).
- Ministerio del Ambiente. (2005). *Ley General del Ambiente - 28611*. 168.
- Ministerio del Ambiente. (2014a). *Guía de Muestreo de Suelos - R.M. N° 085-2014-MINAM*. 60.
- Ministerio del Ambiente. (2014b). *Guía para la Elaboración de los Planes de Descontaminación - R.M. N° 085-2014-MINAM*. 50.
- Ñustez Cuartas, D. C. (2012). *Biorremediación para la Degradación de Hidrocarburos Totales Presentes en los Sedimentos de una Estación de Servicio de Combustible*. Universidad Tecnológica de Pereira.
- Ortiz, E., Saransi, C., Ayala, K., Faz, L., Benavides, N., Vela, P., ... Pineda, C. A. (2016). Banco de Recursos Genéticos de *Auricularia* spp. con Fines Industriales. *Revista Bionatura*, 3(1), 139–145. Retrieved from <http://revistabionatura.com/files/Banco-de-Recursos-Geneticos.pdf>

- Presidencia de la República. (1993). *Ley Orgánica de Hidrocarburos - Ley N° 26221*.
- Rosero Delgado, E. A. (2016). Impacto de la Producción de Biomasa de Auricularia Auricula , Utilizando Residuos Agroindustriales Contaminantes en el Ecuador. *Universidad Técnica de Manabí*, (Junio 2016), 27. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.23142.63041>
- Samanez, E. (2008). *Biodegradación Bacteriana por Bioestimulación en Suelos Contaminados con Petróleo Crudo*.
- Simbaña, C. (2016). *Biorremediación de Suelos Contaminados con Hidrocarburos de la Parroquia Taracoa en Francisco de Orellana, Mediante el Hongo Pleurotus Ostreatus*. Retrieved from <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4916>
- Torres Delgado, K., & Zuluaga Montoya, T. (2009). *Biorremediación de Suelos Contaminados por Hidrocarburos*. Universidad Nacional de Colombia.
- Vidali, M. (2011). Bioremediation. *Journal of Industrial Pollution Control*, 27(2), 161–168. <https://doi.org/10.1351/pac200173071163>
- Wang, S.-Y., Kuo, Y.-C., Hong, A., Chang, Y.-M., & Kao, C.-M. (2016). Bioremediation of Diesel and Lubricant Oil-Contaminated Soils Using Enhanced Landfarming System. *Chemosphere*, 10.

ANEXOS

Anexo 1: Matriz de Consistencia

Problema	Objetivo	Hipótesis de Investigación	Metodología	Operacionalización de Variables		
				Variable	Indicador	
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General	Tipo	Variable Independiente (X)		
¿Cuál es el efecto de la aplicación de la biorremediación mediante el uso de <i>Auricularia sp.</i> en suelos agrícolas contaminados por petróleo?	Determinar el efecto de la aplicación de la biorremediación mediante el uso de <i>Auricularia sp.</i> en suelos agrícolas contaminados por petróleo.	La aplicación de la biorremediación mediante el uso de <i>Auricularia sp.</i> es efectiva en suelos agrícolas contaminados por petróleo	La presente investigación es experimental, ya que se desea corroborar los efectos de su intervención mediante la manipulación de una o más variables independientes y se observa la variable dependiente para determinar los efectos resultantes	Biorremediación mediante el uso <i>Auricularia sp.</i>	-Adaptabilidad de la <i>Auricularia sp.</i> -Factor de bioacumulación de petróleo de la <i>Auricularia sp.</i>	
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas	 <p>Donde: Y: Variable dependiente X: Variable independiente</p>	Variable Independiente (Y)		
¿Cuál es el efecto de la aplicación de la biorremediación mediante el uso de <i>Auricularia sp.</i> en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 2, a la concentración de 12 g/kg de petróleo?	Determinar el efecto de la aplicación de la biorremediación mediante el uso de <i>Auricularia sp.</i> en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 2, a la concentración de 12 g/kg de petróleo.	La aplicación de la biorremediación mediante el uso de <i>Auricularia sp.</i> es efectiva en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 2, a la concentración de 12g/kg de petróleo.		Suelo contaminado con petróleo	-Concentración inicial y final de F2 -Concentración inicial y final de F3	
¿Cuál es el efecto de la aplicación de la biorremediación mediante el uso de <i>Auricularia sp.</i> en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 2, a la concentración de 18 g/kg de petróleo?	Determinar el efecto de la aplicación de la biorremediación mediante el uso de <i>Auricularia sp.</i> en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 2, a la concentración de 18 g/kg de petróleo.	La aplicación de la biorremediación mediante el uso de <i>Auricularia sp.</i> es efectiva en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 2, a la concentración de 18g/kg de petróleo.		Asimismo, la investigación es también de carácter explicativo ya que su interés se centra en explicar porque ocurre un fenómeno y en qué condiciones se manifiesta o porque se relacionan dos o más variables		
¿Cuál es el efecto de la aplicación de la biorremediación mediante el uso de <i>Auricularia sp.</i> en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 3, a la concentración de 12 g/kg de petróleo?	Determinar el efecto de la aplicación de la biorremediación mediante el uso de <i>Auricularia sp.</i> en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 3, a la concentración de 12 g/kg de petróleo.	La aplicación de la biorremediación mediante el uso de <i>Auricularia sp.</i> es efectiva en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 3, a la concentración de 12g/kg de petróleo.				
¿Cuál es el efecto de la aplicación de la biorremediación mediante el uso de <i>Auricularia sp.</i> en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 3, a la concentración de 18 g/kg de petróleo?	Determinar el efecto de la aplicación de la biorremediación mediante el uso de <i>Auricularia sp.</i> en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 3, a la concentración de 18 g/kg de petróleo.	La aplicación de la biorremediación mediante el uso de <i>Auricularia sp.</i> es efectiva en suelos agrícolas contaminados por petróleo sobre la fracción de hidrocarburo 3, a la concentración de 18g/kg de petróleo.				

INFORME DE ENSAYO N° 113908-2018 CON VALOR OFICIAL

RAZÓN SOCIAL : RAMOS JIMENEZ CRISTHIAN JAHIR
DOMICILIO LEGAL : JR. CAPITÁN QUIÑONEZ MZA. 11 LOTE. 28 URB. ZARUMILLA (FRENTE A LA IGLESIA REINA DE LOS APOSTOLES) LIMA
SOLICITADO POR : RAMOS JIMENEZ CRISTHIAN JAHIR
REFERENCIA : RESERVADO POR EL CLIENTE
PROCEDENCIA : LIMA
FECHA DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS : 2018-04-04
FECHA DE INICIO DE ENSAYOS : 2018-04-04
MUESTREO POR : EL CLIENTE

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C.	Unidades
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH DRO (C ₁₀ -C ₂₈) ¹	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography. 2007	1.79	mg/kg
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₂₈ -C ₄₀) ²	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography. 2007	1.79	mg/kg

L.C.: límite de cuantificación.

II. RESULTADOS:

Producto declarado	Suelo	Suelo
Matriz analizada	Suelo	Suelo
Fecha de muestreo	2017-04-04	2018-04-04
Hora de inicio de muestreo (h)	17:13	17:58
Condiciones de la muestra	Conservada	Conservada
Código del Cliente	C1	C2
Código del Laboratorio	17071318	17071319
Ensayos	Unidades	Resultados
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH DRO (C ₁₀ -C ₂₈) ¹	mg/kg	2255 3386
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₂₈ -C ₄₀) ²	mg/kg	2447 2774

Resultados de suelos en base seca.

- (1) Fracción de hidrocarburos F2 (C₁₀-C₂₈).
 (2) Fracción de hidrocarburos F3 (C₂₈-C₄₀).

Lima, 20 de Abril del 2018

INFORME DE ENSAYO N° 123950-2018 CON VALOR OFICIAL

RAZÓN SOCIAL : CRISTHIAN JAHIR RAMOS JIMÉNEZ
DOMICILIO LEGAL : JR. CAPITÁN QUIÑÓNEZ MZA. 11 LOTE 28 URB. ZARUMILLA- LIMA
SOLICITADO POR : CRISTHIAN JAHIR RAMOS JIMÉNEZ
REFERENCIA : RESERVADO POR EL CLIENTE
PROCEDENCIA : UNIVERSIDAD DEL CALLAO
FECHA DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS : 2018-07-12
FECHA DE INICIO DE ENSAYOS : 2018-07-12
MUESTREADO POR : EL CLIENTE

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C.	Unidades
Hidrocarburos Totales	EPA-821-R-10-001 Method 1664 Rev. B. N-Hexane Extractable Material (HEM; Oil and Grease) and Silica Gel Treated N-Hexane Extractable Material (SGT-HEM; Non-polar Material) by Extraction and Gravimetry. 2010.	7.0	mg/kg
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₂₈)	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography. 2007	1.79	mg/kg
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₂₈ -C ₄₀)	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography. 2007	1.79	mg/kg

L.C.: límite de cuantificación.

II. RESULTADOS:

Producto declarado	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo	
Matriz analizada	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo	
Fecha de muestreo	2018-07-12	2018-07-12	2018-07-12	2018-07-12	
Hora de inicio de muestreo (h)	11:35	11:35	11:40	11:50	
Condiciones de la muestra	Conservada	Conservada	Conservada	Conservada	
Código del Cliente	C1A	C2A	C1B	C2B	
Código del Laboratorio	1807671	1807672	1807673	1807674	
Ensayos	Unidades	Resultados			
Hidrocarburos Totales	mg/kg	6243	6215	4501	7682
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH DRO (C ₁₀ -C ₂₈) ¹	mg/kg	807.2	1785.1	1557	3030
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₂₈ -C ₄₀) ²	mg/kg	1193	1757	1451	2569

Resultados de Suelo reportado en base seca.

(1) Fracción de hidrocarburos F2 (C₁₀-C₂₈).

(2) Fracción de hidrocarburos F3 (C₂₈-C₄₀).

Lima, 31 de Julio del 2018

ANEXO 4

Valores críticos para la prueba de Tukey
 $q_{\alpha}(v_1, v_2)$

v_2 ↓	α ↓	v_1									
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	0.05	18.00	29.98	32.82	37.08	40.41	43.12	45.40	47.36	49.07	50.59
	0.01	90.03	135.0	164.3	185.6	202.2	215.8	227.2	237.0	245.6	253.2
2	0.05	6.10	8.33	9.80	10.88	11.74	12.44	13.03	13.54	13.99	14.39
	0.01	14.04	19.02	22.29	24.72	26.63	28.20	29.53	30.68	31.69	32.59
3	0.05	4.50	5.91	6.82	7.50	8.04	8.48	8.85	9.18	9.46	9.72
	0.01	8.26	10.62	12.17	13.33	14.24	15.00	15.64	16.20	16.69	17.13
4	0.05	3.93	5.04	5.76	6.29	6.71	7.05	7.34	7.60	7.83	8.03
	0.01	6.51	8.12	9.17	9.96	10.58	11.10	11.55	11.93	12.27	12.57
5	0.05	3.64	4.60	5.22	5.67	6.03	6.33	6.58	6.80	6.99	7.17
	0.01	5.70	6.97	7.80	8.42	8.91	9.32	9.67	9.97	10.24	10.48
6	0.05	3.46	4.34	4.90	5.31	5.63	5.89	6.12	6.32	6.49	6.65
	0.01	5.24	6.33	7.03	7.56	7.97	8.32	8.61	8.87	9.10	9.30
7	0.05	3.34	4.16	4.68	5.06	5.36	5.61	5.82	6.00	6.16	6.30
	0.01	4.95	5.92	6.54	7.01	7.37	7.68	7.94	8.17	8.37	8.55
8	0.05	3.26	4.04	4.53	4.89	5.17	5.40	5.60	5.77	5.92	6.05
	0.01	4.74	5.63	6.20	6.63	6.96	7.24	7.47	7.68	7.87	8.03
9	0.05	3.20	3.95	4.42	4.76	5.02	5.24	5.43	5.60	5.74	5.87
	0.01	4.60	5.43	5.96	6.35	6.66	6.91	7.13	7.32	7.49	7.65
10	0.05	3.15	3.88	4.33	4.65	4.91	5.12	5.30	5.46	5.60	5.72
	0.01	4.48	5.27	5.77	6.14	6.43	6.67	6.87	7.05	7.21	7.36
11	0.05	3.11	3.82	4.26	4.57	4.82	5.03	5.20	5.35	5.49	5.61
	0.01	4.39	5.14	5.62	5.97	6.25	6.48	6.67	6.84	6.99	7.13
12	0.05	3.08	3.77	4.20	4.51	4.75	4.95	5.12	5.27	5.40	5.51
	0.01	4.32	5.04	5.50	5.84	6.10	6.32	6.51	6.67	6.81	6.94
13	0.05	3.06	3.73	4.15	4.45	4.69	4.88	5.05	5.19	5.32	5.43
	0.01	4.26	4.96	5.40	5.73	5.98	6.19	6.37	6.53	6.67	6.79
14	0.05	3.03	3.70	4.11	4.41	4.64	4.83	4.99	5.13	5.25	5.36
	0.01	4.21	4.89	5.32	5.63	5.88	6.08	6.26	6.41	6.54	6.66
15	0.05	3.01	3.67	4.08	4.37	4.60	4.78	4.94	5.08	5.20	5.31
	0.01	4.17	4.83	5.25	5.56	5.80	5.99	6.16	6.31	6.44	6.55
16	0.05	3.00	3.65	4.05	4.33	4.56	4.74	4.90	5.03	5.15	5.26
	0.01	4.13	4.78	5.19	5.49	5.72	5.92	6.08	6.22	6.35	6.46

ANEXO 4

v_2 ↓	α ↓	v_1								
		12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	0.05	51.96	53.20	54.33	55.36	56.32	57.22	58.04	58.83	59.56
	0.01	260.0	266.2	271.8	277.0	281.8	286.3	290.4	294.3	298.0
2	0.05	14.75	15.08	15.38	15.65	15.91	16.14	16.37	16.57	16.77
	0.01	33.40	34.13	34.81	35.43	36.00	36.53	37.03	37.50	37.95
3	0.05	9.95	10.15	10.35	10.53	10.69	10.84	10.98	11.11	11.24
	0.01	17.53	17.89	18.22	18.52	18.81	19.07	19.32	19.55	19.77
4	0.05	8.21	8.37	8.52	8.66	8.79	8.91	9.03	9.13	9.23
	0.01	12.84	13.09	13.32	13.53	13.73	13.91	14.08	14.24	14.40
5	0.05	7.32	7.47	7.60	7.72	7.83	7.93	8.03	8.12	8.21
	0.01	10.70	10.89	11.08	11.24	11.40	11.55	11.68	11.81	11.93
6	0.05	6.79	6.92	7.03	7.14	7.24	7.34	7.43	7.51	7.59
	0.01	9.49	9.65	9.81	9.95	10.08	10.21	10.32	10.43	10.54
7	0.05	6.43	6.55	6.66	6.76	6.85	6.94	7.02	7.09	7.17
	0.01	8.71	8.86	9.00	9.12	9.24	9.35	9.46	9.55	9.65
8	0.05	6.18	6.29	6.39	6.48	6.57	6.65	6.73	6.80	6.87
	0.01	8.18	8.31	8.44	8.55	8.66	8.76	8.85	8.94	9.03
9	0.05	5.98	6.09	6.19	6.28	6.36	6.44	6.51	6.58	6.64
	0.01	7.78	7.91	8.03	8.13	8.23	8.32	8.41	8.49	8.57
10	0.05	5.83	5.93	6.03	6.11	6.20	6.27	6.34	6.40	6.47
	0.01	7.48	7.60	7.71	7.81	7.91	7.99	8.07	8.15	8.22
11	0.05	5.71	5.81	5.90	5.99	6.06	6.14	6.20	6.26	6.33
	0.01	7.25	7.36	7.46	7.56	7.65	7.73	7.81	7.88	7.95
12	0.05	5.62	5.71	5.80	5.88	5.95	6.03	6.09	6.15	6.21
	0.01	7.06	7.17	7.26	7.36	7.44	7.52	7.59	7.66	7.73
13	0.05	5.53	5.63	5.71	5.79	5.86	5.93	6.00	6.05	6.11
	0.01	6.90	7.01	7.10	7.19	7.27	7.34	7.42	7.48	7.55
14	0.05	5.46	5.55	5.64	5.72	5.79	5.85	5.92	5.97	6.03
	0.01	6.77	6.87	6.96	7.05	7.12	7.20	7.27	7.33	7.39
15	0.05	5.40	5.49	5.58	5.65	5.72	5.79	5.85	5.90	5.96
	0.01	6.66	6.76	6.84	6.93	7.00	7.07	7.14	7.20	7.26
16	0.05	5.35	5.44	5.52	5.59	5.66	5.72	5.79	5.84	5.90
	0.01	6.56	6.66	6.74	6.82	6.90	6.97	7.03	7.09	7.15

ANEXO 4

v_2 ↓	α ↓	v_1									
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
17	0.05	2.98	3.63	4.02	4.30	4.52	4.71	4.86	4.99	5.11	5.21
	0.01	4.10	4.74	5.14	5.43	5.66	5.85	6.01	6.15	6.27	6.38
18	0.05	2.97	3.61	4.00	4.28	4.49	4.67	4.82	4.96	5.07	5.17
	0.01	4.07	4.70	5.09	5.38	5.60	5.79	5.94	6.08	6.20	6.31
19	0.05	2.96	3.59	3.98	4.25	4.47	4.65	4.79	4.92	5.04	5.14
	0.01	4.05	4.67	5.05	5.33	5.55	5.73	5.89	6.02	6.14	6.25
20	0.05	2.95	3.58	3.96	4.23	4.45	4.62	4.77	4.90	5.01	5.11
	0.01	4.02	4.64	5.02	5.29	5.51	5.69	5.84	5.97	6.09	6.19
24	0.05	2.92	3.53	3.90	4.17	4.37	4.54	4.68	4.81	4.92	5.01
	0.01	3.96	4.54	4.91	5.17	5.37	5.54	5.69	5.81	5.92	6.02
30	0.05	2.89	3.49	3.84	4.10	4.30	4.46	4.60	4.72	4.83	4.92
	0.01	3.89	4.45	4.80	5.05	5.24	5.40	5.54	5.65	5.76	5.85
40	0.05	2.86	3.44	3.79	4.04	4.23	4.39	4.52	4.63	4.74	4.82
	0.01	3.82	4.37	4.70	4.93	5.11	5.27	5.39	5.50	5.60	5.69
60	0.05	2.83	3.40	3.74	3.98	4.16	4.31	4.44	4.55	4.65	4.73
	0.01	3.76	4.28	4.60	4.82	4.99	5.13	5.25	5.36	5.45	5.53
120	0.05	2.80	3.36	3.69	3.92	4.10	4.24	4.36	4.48	4.56	4.64
	0.01	3.70	4.10	4.50	4.71	4.87	5.01	5.12	5.21	5.30	5.38
∞	0.05	2.77	3.31	3.63	3.86	4.03	4.17	4.29	4.39	4.47	4.55
	0.01	3.64	4.12	4.40	4.60	4.76	4.88	4.99	5.08	5.16	5.23

ANEXO 4

v_2 ↓	α ↓	v_1								
		12	13	14	15	16	17	18	19	20
17	0.05	5.31	5.39	5.47	5.55	5.61	5.68	5.74	5.79	5.84
	0.01	6.48	6.57	6.66	6.73	6.80	6.87	6.94	7.00	7.05
18	0.05	5.27	5.35	5.43	5.50	5.57	5.63	5.69	5.74	5.79
	0.01	6.41	6.50	6.58	6.65	6.72	6.79	6.85	6.91	6.96
19	0.05	5.23	5.32	5.39	5.46	5.53	5.59	5.65	5.70	5.75
	0.01	6.34	6.43	6.51	6.58	6.65	6.72	6.78	6.84	6.89
20	0.05	5.20	5.28	5.36	5.43	5.49	5.55	5.61	5.66	5.71
	0.01	6.29	6.37	6.45	6.52	6.59	6.65	6.71	6.76	6.82
24	0.05	5.10	5.18	5.25	5.32	5.38	5.44	5.50	5.54	5.59
	0.01	6.11	6.19	6.26	6.33	6.39	6.45	6.51	6.56	6.61
30	0.05	5.00	5.08	5.15	5.21	5.27	5.33	5.38	5.43	5.48
	0.01	5.93	6.01	6.08	6.14	6.20	6.26	6.31	6.36	6.41
40	0.05	4.91	4.98	5.05	5.11	5.16	5.22	5.27	5.31	5.36
	0.01	5.77	5.84	5.90	5.96	6.02	6.07	6.12	6.17	6.21
60	0.05	4.81	4.88	4.94	5.00	5.06	5.11	5.16	5.20	5.24
	0.01	5.60	5.67	5.73	5.79	5.84	5.89	5.93	5.98	6.02
120	0.05	4.72	4.78	4.84	4.90	4.95	5.00	5.05	5.09	5.13
	0.01	5.44	5.51	5.56	5.61	5.66	5.71	5.75	5.79	5.83
∞	0.05	4.62	4.68	4.74	4.80	4.85	4.89	4.93	4.97	5.01
	0.01	5.29	5.35	5.40	5.45	5.49	5.54	5.57	5.61	5.65

ANEXO 4

Tabla VII.- Valores críticos para la prueba de *Duncan*.

$$U_{\alpha}(v_1, v_2)$$

v ₂ ↓	α ↓	v ₁													
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	14	16	18	20
1	0.05	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0
	0.01	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0
2	0.05	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09	6.09
	0.01	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0
3	0.05	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50
	0.01	8.26	8.5	8.6	8.7	8.8	8.9	8.9	9.0	9.0	9.0	9.1	9.2	9.3	9.3
4	0.05	3.93	4.01	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02	4.02
	0.01	6.51	6.8	6.9	7.0	7.1	7.1	7.2	7.2	7.3	7.3	7.4	7.4	7.5	7.5
5	0.05	3.64	3.74	3.79	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83
	0.01	5.70	5.96	6.11	6.18	6.26	6.33	6.40	6.44	6.5	6.6	6.6	6.7	6.7	6.8
6	0.05	3.46	3.58	3.64	3.68	3.68	3.68	3.68	3.68	3.68	3.68	3.68	3.68	3.68	3.68
	0.01	5.24	5.51	5.65	5.73	5.81	5.88	5.95	6.0	6.0	6.1	6.2	6.2	6.3	6.3
7	0.05	3.35	3.47	3.54	3.58	3.60	3.61	3.61	3.61	3.61	3.61	3.61	3.61	3.61	3.61
	0.01	4.95	5.22	5.37	5.45	5.53	5.61	5.69	5.73	5.8	5.8	5.9	5.9	6.0	6.0
8	0.05	3.26	3.39	3.47	3.52	3.55	3.56	3.56	3.56	3.56	3.56	3.56	3.56	3.56	3.56
	0.01	4.74	5.0	5.14	5.23	5.32	5.40	5.47	5.51	5.5	5.6	5.7	5.7	5.8	5.8
9	0.05	3.20	3.34	3.41	3.47	3.50	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52
	0.01	4.60	4.86	4.99	5.08	5.17	5.25	5.32	5.36	5.4	5.5	5.5	5.6	5.7	5.7
10	0.05	3.15	3.30	3.37	3.43	3.46	3.47	3.47	3.47	3.47	3.47	3.47	3.47	3.47	3.48
	0.01	4.48	4.73	4.88	4.96	5.06	5.13	5.20	5.24	5.28	5.36	5.42	5.48	5.54	5.55
11	0.05	3.11	3.27	3.35	3.39	3.43	3.44	3.45	3.46	3.46	3.46	3.46	3.46	3.47	3.48
	0.01	4.39	4.63	4.77	4.86	4.94	5.01	5.06	5.12	5.15	5.24	5.28	5.34	5.38	5.39
12	0.05	3.08	3.23	3.33	3.36	3.40	3.42	3.44	3.44	3.46	3.46	3.46	3.46	3.47	3.48
	0.01	4.32	4.55	4.68	4.76	4.84	4.92	4.96	5.02	5.07	5.13	5.17	5.22	5.24	5.26
13	0.05	3.06	3.21	3.30	3.35	3.38	3.41	3.42	3.44	3.45	3.45	3.46	3.46	3.47	3.47
	0.01	4.26	4.48	4.62	4.69	4.74	4.84	4.88	4.94	4.98	5.04	5.08	5.13	5.14	5.15
14	0.05	3.03	3.18	3.27	3.33	3.37	3.39	3.41	3.42	3.44	3.45	3.46	3.46	3.47	3.47
	0.01	4.21	4.42	4.55	4.63	4.70	4.78	4.83	4.87	4.91	4.96	5.00	5.04	5.06	5.07
15	0.05	3.01	3.16	3.25	3.31	3.36	3.38	3.40	3.42	3.43	3.44	3.45	3.46	3.47	3.47
	0.01	4.17	4.37	4.50	4.58	4.64	4.72	4.77	4.81	4.84	4.90	4.94	4.97	4.99	5.00
16	0.05	3.00	3.15	3.23	3.30	3.34	3.37	3.39	3.41	3.43	3.44	3.45	3.46	3.47	3.47
	0.01	4.13	4.34	4.45	4.54	4.60	4.67	4.72	4.76	4.79	4.84	4.88	4.91	4.93	4.94

ANEXO 4

v_2 ↓	α ↓	v_1													
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	14	16	18	20
17	0.05	2.90	3.13	3.22	3.28	3.33	3.36	3.38	3.40	3.42	3.44	3.45	3.46	3.47	3.47
	0.01	4.10	4.30	4.41	4.50	4.56	4.63	4.68	4.72	4.75	4.80	4.83	4.86	4.88	4.89
18	0.05	2.97	3.12	3.21	3.27	3.32	3.35	3.37	3.39	3.41	3.43	3.45	3.46	3.47	3.47
	0.01	4.07	4.27	4.38	4.46	4.53	4.59	4.64	4.68	4.71	4.76	4.79	4.82	4.84	4.85
19	0.05	2.96	3.11	3.19	3.26	3.31	3.35	3.37	3.39	3.41	3.43	3.44	3.46	3.47	3.47
	0.01	4.05	4.24	4.25	4.43	4.50	4.56	4.61	4.64	4.67	4.72	4.76	4.79	4.81	4.82
20	0.05	2.95	3.10	3.18	3.25	3.30	3.34	3.36	3.38	3.40	3.43	3.44	3.46	3.46	3.47
	0.01	4.02	4.22	4.33	4.40	4.47	4.53	4.58	4.61	4.65	4.69	4.73	4.76	4.78	4.79
22	0.05	2.93	3.08	3.17	3.24	3.29	3.32	3.35	3.37	3.39	3.42	3.44	3.45	3.46	3.47
	0.01	3.99	4.17	4.28	4.36	4.42	4.48	4.53	4.57	4.60	4.65	4.68	4.71	4.74	4.75
24	0.05	2.92	3.07	3.15	3.22	3.28	3.31	3.34	3.37	3.38	3.41	3.44	3.45	3.46	3.47
	0.01	3.96	4.14	4.24	4.33	4.39	4.44	4.49	4.53	4.57	4.62	4.64	4.67	4.70	4.72
26	0.05	2.91	3.06	3.14	3.21	3.27	3.30	3.34	3.36	3.38	3.41	3.43	3.45	3.46	3.47
	0.01	3.93	4.11	4.21	4.30	4.36	4.41	4.46	4.50	4.53	4.58	4.62	4.65	4.67	4.69
28	0.05	2.90	3.04	3.13	3.20	3.26	3.30	3.33	3.35	3.37	3.40	3.43	3.45	3.46	3.47
	0.01	3.91	4.08	4.18	4.28	4.34	4.39	4.43	4.47	4.51	4.56	4.60	4.62	4.65	4.67
30	0.05	2.89	3.04	3.12	3.20	3.25	3.29	3.32	3.35	3.37	3.40	3.43	3.44	3.46	3.47
	0.01	3.89	4.06	4.16	4.22	4.32	4.36	4.41	4.45	4.48	4.54	4.58	4.61	4.63	4.65
40	0.05	2.86	3.01	3.10	3.17	3.22	3.27	3.30	3.33	3.35	3.39	3.42	3.44	3.46	3.47
	0.01	3.82	3.99	4.10	4.17	4.24	4.30	4.34	4.37	4.41	4.46	4.51	4.54	4.57	4.59
60	0.05	2.83	2.98	3.08	3.14	3.20	3.24	3.28	3.31	3.33	3.37	3.40	3.43	3.45	3.47
	0.01	3.76	3.92	4.03	4.12	4.17	4.23	4.27	4.31	4.34	4.39	4.44	4.47	4.50	4.53
100	0.05	2.80	2.95	3.05	3.12	3.18	3.22	3.26	3.29	3.32	3.36	3.40	3.42	3.45	3.47
	0.01	3.71	3.86	3.98	4.06	4.11	4.17	4.21	4.25	4.29	4.35	4.38	4.42	4.45	4.48
∞	0.05	2.77	2.92	3.02	3.09	3.15	3.19	3.23	3.26	3.29	3.34	3.38	3.41	3.44	3.47
	0.01	3.64	3.80	3.90	3.98	4.04	4.09	4.14	4.17	4.20	4.26	4.31	4.34	4.38	4.41