



**UNIVERSIDAD NACIONAL**  
**“PEDRO RUIZ GALLO”**  
**ESCUELA DE POSTGRADO**  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS**



---

**EFFECTO DEL ESTIÉRCOL Y FERTILIZANTE QUÍMICO EN LA  
BIORREMEDIACIÓN DEL SUELO CONTAMINADO  
CON RESIDUOS ACEITOSO EN TALLERES DE  
REPARACIÓN DE VEHÍCULOS TERRESTRES.**

**TESIS**

**PRESENTADA PARA OPTAR EL GRADO DE ACADÉMICO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN  
INGENIERÍA AMBIENTAL**

**PRESENTADA POR:**

**Ing. CÉSAR MARTÍN AYALA IZQUIERDO**

**ASESOR:**

**Dra. CARMEN ROSA CARREÑO FARFÁN**

**LAMBAYEQUE - PERÚ**

**2019**

**Efecto del estiércol y fertilizante químico en la biorremediación del suelo  
contaminado con residuos aceitoso en talleres de reparación de  
vehículos terrestres**

---

Ing. César Martín Ayala Izquierdo  
AUTOR

---

Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán  
ASESOR

Presenta a la Escuela de Postgrado de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo  
para optar el Grado de: Maestro en Ciencias con Mención en Ingeniería  
Ambiental

Aprobado por:

---

Dr. César Alberto García Espinoza  
PRESIDENTE DEL JURADO

---

Dr. José Elías Ponce Ayala  
SECRETARIO DEL JURADO

---

Dr. Armando José Moreno Heredia  
VOCAL DEL JURADO

## Índice

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN .....	1
CAPÍTULO I. ANÁLISIS DEL OBJETO DEL ESTUDIO .....	3
1.1. Ubicación .....	3
1.2. Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis .....	3
1.3. Población y muestra .....	3
1.4. Variables .....	5
1.5. Material biológico .....	5
1.6. Primera fase: Determinación de las características físicas, químicas, biológicas y toxicidad del suelo contaminado .....	5
1.7. Segunda fase: Efecto del estiércol en la biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos de petróleo .....	12
1.8. Análisis estadísticos de los datos .....	15
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO .....	16
2.1. Antecedentes de la investigación .....	16
2.2. Base teórica .....	17
CAPÍTULO III. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS .....	23
3.1. Características del suelo contaminado con residuos aceitosos .....	23
3.2. Características de los estiércoles de animales .....	27
3.3. Efecto del estiércol en la biorremediación de suelo contaminado con residuos aceitosos .....	27
3.4. Discusión .....	40

CONCLUSIONES.....	45
RECOMENDACIONES .....	46
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	47
ANEXOS .....	54

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b>	Ubicación del lugar de muestreo en la provincia Chiclayo, región Lambayeque, 2019.....	4
<b>Figura 2.</b>	Taller de reparación de vehículos terrestres en Chiclayo, Lambayeque, 2019.....	4
<b>Figura 3.</b>	Suelo contaminado con aceite residual automotriz en un taller de reparación de vehículos terrestres .....	6
<b>Figura 4.</b>	Suelo contaminado con aceite residual automotriz .....	6
<b>Figura 5.</b>	Suelo contaminado y fragmentado.....	7
<b>Figura 6.</b>	Suelo contaminado y tamizado .....	7
<b>Figura 7.</b>	Número más probables de microorganismos hidrocarbonoclasticos en suelo contaminado con residuos aceitosos .....	9
<b>Figura 8.</b>	Prueba de toxicidad del suelo contaminado con residuos aceitosos .....	11
<b>Figura 9.</b>	Semillas de <i>Raphanus sativus</i> L. germinadas en suelo contaminado con residuos aceitosos.....	11
<b>Figura 10.</b>	Ensayo para determinar el efecto del estiércol en la biorremediación de suelo contaminado con residuos aceitosos .....	13
<b>Figura 11.</b>	Suelo contaminado con residuos aceitosos, estiércol y pajilla de <i>Oryza sativa</i> L.....	14
<b>Figura 12</b>	Mezcla de suelo contaminado con estiércol y pajilla de <i>Oryza sativa</i> L.....	14

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b>	Tratamientos para determinar el efecto de la materia orgánica en la biorremediación de suelo contaminado con residuos aceitosos...13
<b>Tabla 2.</b>	Características físico-químicas y microbiológicas del suelo contaminado con residuos aceitosos, Lambayeque, 2019.....24
<b>Tabla 3.</b>	Aceites y grasas e hidrocarburos totales de petróleo en el suelo contaminado con residuos aceitosos, Lambayeque, 2019..... 25
<b>Tabla 4.</b>	Nivel de toxicidad del suelo contaminado con residuos aceitosos, Lambayeque, 2019..... 26
<b>Tabla 5.</b>	Características físico-químicas del estiércol utilizado en la biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos de petróleo, Lambayeque, 2019..... 28
<b>Tabla 6.</b>	Microorganismos hidrocarbonoclasticos y nivel de fitotoxicidad de los estiércoles de animales utilizados en la biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos de petróleo, Lambayeque, 2019 ..... 29
<b>Tabla 7.</b>	Número más probable de microorganismos hidrocarbonoclasticos en suelo contaminado con residuos aceitosos durante la biorremediación con estiércol..... 30
<b>Tabla 8.</b>	Índice de germinación de <i>Raphanus sativus</i> L. y nivel de fitotoxicidad del suelo contaminado con residuos aceitosos durante la biorremediación con materia orgánica..... 32
<b>Tabla 9.</b>	Características del suelo biorremediado con estiércoles de animales con y sin fertilizante químico durante 120 días ..... 33
<b>Tabla 10.</b>	Análisis de varianza de los valores del Índice de germinación de <i>Raphanus sativus</i> L. durante la biorremediación con y sin fertilizante químico ..... 34
<b>Tabla 11.</b>	Prueba comparaciones múltiples de Tukey de los valores del índice de germinación de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo a los 0 días de biorremediación..... 35
<b>Tabla 12.</b>	Prueba comparaciones múltiples de Tukey de los valores del índice de germinación de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo a los 30 días de biorremediación..... 36

<b>Tabla 13.</b>	Prueba comparaciones múltiples de Tukey de los valores del índice de germinación de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo a los 60 días de biorremediación.....	37
<b>Tabla 14.</b>	Prueba comparaciones múltiples de Tukey de los valores del índice de germinación de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo a los 90 días de biorremediación.....	38
<b>Tabla 15.</b>	Prueba comparaciones múltiples de Tukey de los valores del índice de germinación de <i>Raphanus sativus</i> L. en suelo a los 120 días de biorremediación.....	39

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar el efecto de los estiércoles de *Cavia porcellus* “cuy”, *Sus scrofa* “cerdo”, *Bos taurus* “vacuno” y fertilizante químico en la biorremediación suelo contaminado con residuos aceitosos en los talleres de reparación de vehículos terrestres.

**Método:** El ensayo se realizó bajo un diseño completamente aleatorio con arreglo factorial con seis tratamientos: estiércol de cerdo, estiércol de cuy, estiércol de vacuno, estiércol de cerdo + FQ, estiércol de cuy + FQ, estiércol de vacuno + FQ, incluyendo los testigos: Absoluto (agua), químico (fertilizante) y abiótico (formaldehído). El suelo contaminado con aceite residual automotriz se mezcló con volúmenes iguales (4:2:2, v/v) de pajilla de *Oryza sativa* L. “arroz” y el estiércol correspondiente y se mantuvo en microcosmos, con remoción manual dos veces a la semana y riego con agua declorada durante 120 días.

**Resultado:** El suelo contaminado presentó materia orgánica, fósforo, potasio, carbonato de calcio, aceites y grasas ( $147\ 340\ \text{mgkg}^{-1}$ ), fracción ligera F1 ( $<19\ \text{mgkg}^{-1}$ ), media F2 ( $14\ 443\ \text{mgkg}^{-1}$ ), pesada F3 ( $15\ 240\ \text{mgkg}^{-1}$ ) de hidrocarburos, microorganismos hidrocarbonoclasticos y un nivel severo de toxicidad. Los estiércoles con y sin fertilizante químico aceleraron e incrementaron la biorremediación de un suelo contaminado con residuos aceitosos, destacando en forma significativa el estiércol de cuy con un nivel bajo de fitotoxicidad a los 120 días y 64,36% de eficiencia en la biorremediación.

**Conclusión:** Se demostró la aceleración e incremento de la biorremediación del suelo contaminado por los estiércoles.

**Palabras clave:** Residuos aceitosos, hidrocarburos de petróleo, estiércoles de animales, biorremediación.



## ABSTRACT

**Objective:** To determine the effect of *Cavia porcellus* "guinea pigs", *Sus scrofa* "pig", *Bos taurus* "bovine" manures and chemical fertilizer in the bioremediation soil contaminated with oily residues in repair workshops of land vehicles.

**Method:** The trial was conducted under a completely random design with a factorial arrangement with six treatments: pig manure, guinea pig manure, cow dung, pig manure + CF, guinea pig manure + CF, cow manure + CF, including Controls: Absolute (water), chemical (fertilizer) and abiotic (formaldehyde). Soil contaminated with automotive waste oil was mixed with equal volumes (4: 2: 2, v / v) of *Oryza sativa* L. "rice" straw and the corresponding manure and kept in microcosm, with manual removal two times at the week and irrigation with dechlorinated water for 120 days.

**Result:** The contaminated soil presented organic matter, phosphorus, potassium, calcium carbonate, oils and fats (147 340 mgkg<sup>-1</sup>), light fraction F1 (<19 mgkg<sup>-1</sup>), average F2 (14 443 mgkg<sup>-1</sup>), heavy F3 (15 240 mgkg<sup>-1</sup>) of hydrocarbons, hydrocarbon-based microorganisms and a severe level of toxicity. The manures with and without chemical fertilizer accelerated and increased the bioremediation of a soil contaminated with oily residues, highlighting in a significant way the manure of guinea pig with a low level of phytotoxicity at 120 days and 64.36% efficiency in bioremediation.

**Conclusion:** The acceleration and increase of bioremediation of soil contaminated by manures was demonstrated.

**Keywords:** Oily residues, petroleum hydrocarbons, animal manures, bioremediation.

## **INTRODUCCIÓN**

Los talleres de reparación de vehículos terrestres ofrecen servicios correctivos, preventivos y reparaciones de motores gasolineros y diésel; no obstante, durante el proceso el suelo es contaminado con diferentes residuos como los aceites lubricantes usados que contienen 75 a 85% de hidrocarburos totales (DIGESA, 2006; Mena, 2009; Ferreira, Santos y Pessoa, 2013). El aceite usado es definido como cualquier aceite refinado del petróleo crudo o de origen sintético que ha sido utilizado en el cárter del motor o gasolina o diésel de vehículos y que durante su uso se mezcló con impurezas que lo contaminaron y disminuyen su rendimiento (DIGESA, 2006).

Los tratamientos biológicos como la biorremediación aceleran los procesos de biodegradación de los contaminantes orgánicos mediante la actividad de los entes biológicos, entre los que destacan los microorganismos (Ponce, 2014). La biorremediación es de bajo costo y no impacta negativamente al ambiente; sin embargo, cuando el número y tipos de microorganismos no son los requeridos o los nutrientes no son suficientes, el proceso es lento y los contaminantes no son mineralizados (Torres y Zuluaga, 2001). En este contexto, para asegurar el éxito de la biorremediación se requieren estrategias como la bioestimulación o adición de nutrientes (Samanez, 2008; Arrieta, 2011) y la bioaumentación o incremento de los microorganismos (Chávez, 2010; Cabanillas y Pissani, 2015).

Los residuos aceitosos que contaminan el suelo de los talleres contienen hidrocarburos totales de petróleo que afectan negativamente a los seres vivos en general (Singh, 2017). Por su parte, el estiércol es una fuente de nutrientes y microorganismos de fácil disponibilidad en todos los lugares donde se crían animales. El suelo es un recurso no renovable que debe ser recuperado con técnicas no contaminantes y de bajo costo como la biorremediación.

Los resultados de la presente investigación validarán científicamente la aplicación del estiércol en la biorremediación de suelos contaminados con

residuos aceitosos, como una tecnología propia de la región que le dará un valor agregado a los residuos y en simultáneo disminuirá la contaminación del ambiente.

### **Problema**

¿Cuál es el efecto de los estiércoles de *Cavia porcellus* “cuy”, *Sus scrofa* “cerdo”, *Bos taurus* “vacuno” y fertilizante químico en la biorremediación del suelo contaminado con residuos aceitosos?

### **Hipótesis**

Los estiércoles de cerdo, cuy y vacuno con y sin fertilizante químico aceleran e incrementan la biorremediación del suelo contaminado con residuos aceitosos.

### **Objetivo general**

Determinar el efecto de los estiércoles de *Cavia porcellus* “cuy”, *Sus scrofa* “cerdo”, *Bos taurus* “vacuno” y fertilizante químico en la biorremediación del suelo contaminado con residuos aceitosos en los talleres de reparación de vehículos terrestres.

### **Objetivos específicos**

- ) Identificar las características físicas, químicas, microbiológicas y toxicidad del suelo contaminado con residuos aceitosos.
- ) Comparar las características físicas, químicas, microbiológicas y toxicidad de los estiércoles de cerdo, cuy y vacuno.
- ) Identificar el efecto de los estiércoles de cerdo, cuy y vacuno en la biorremediación del suelo contaminado con residuos aceitosos.

## **CAPÍTULO I**

### **ANÁLISIS DEL OBJETO DE ESTUDIO**

#### **1.1. Ubicación**

Las muestras de suelo contaminado con residuos aceitosos se colectaron en un taller de reparación de vehículos terrestres de la provincia de Chiclayo, región Lambayeque (Figuras 1, 2). La provincia de Chiclayo está comprendida entre los paralelos 6° 45' 50" latitud sur y 79° 50' 15" longitud oeste (INDECI, 2003).

#### **1.2. Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis**

El trabajo de investigación se realizó en dos fases. En la primera fase descriptiva, con el diseño de una sola casilla de Goode y Hatt (Hernández, Fernández y Baptista, 2014) se identificaron las características del suelo experimental contaminado y los estiércoles de animales. En la segunda fase experimental con el diseño completamente al azar, DCA (Hernández et al., 2014) se identificó el efecto de los estiércoles y fertilizante químico en la biorremediación del suelo contaminado. Los tratamientos fueron nueve, cada uno con tres repeticiones, incluyendo tres testigos: absoluto (agua), químico (fertilizante) y abiótico (formaldehído), con un total de 27 unidades experimentales.

#### **1.3. Población y muestra**

La población y muestra de estudio estuvieron constituidas por 27 unidades experimentales de suelo contaminado con residuos aceitosos, correspondientes a nueve tratamientos, tres testigos y tres repeticiones en cada una de ellos.



*Figura 1.* Ubicación del lugar de muestreo en la provincia Chiclayo, región Lambayeque, 2019. (Recuperado de: <https://www.google.es/maps/@-6.7697442,-79.8518872,181m/data=!3m1!1e3>)



*Figura 2.* Taller de reparación de vehículos terrestres en Chiclayo, Lambayeque, 2019.

#### **1.4. Variables**

##### **a. Variables de la fase descriptiva**

Características físicas, químicas, microbiológicas y toxicidad del suelo contaminado y estiércoles de animales.

##### **b. Variables de la fase explicativa**

**Variable independiente:** Estiércoles de cerdo, cuy y vacuno.

**Variable dependiente** : Biorremediación de suelo contaminado con residuos aceitosos.

#### **1.5. Material biológico**

Suelo contaminado con residuos aceitosos, estiércoles de cerdo, cuy y vacuno, semillas de *Raphanus sativus* L. "rabanito".

#### **1.6. Primera fase: Determinación de las características físicas, químicas, biológicas y toxicidad del suelo y estiércoles**

En la primera fase de la investigación se identificaron las características físicas, químicas, microbiológicas y toxicidad del suelo contaminado y de los estiércoles.

##### **a. Muestreo y caracterización de suelo contaminado con hidrocarburos de petróleo**

En un taller de reparación de vehículos terrestres de la provincia de Chiclayo, región Lambayeque, se colectaron 180 kg de suelo contaminado con residuos aceitosos o aceite residual automotriz, (ARA). En el suelo del taller se seleccionó el área contaminada (Figura 3), se delimitaron cinco puntos de 1m<sup>2</sup> y con un pico se fragmentó la capa superficial (15 cm). El suelo contaminado se depositó con ayuda de una palana en cuatro sacos de polietileno (Figura 4) y se transportó al invernadero, en Lambayeque. En este lugar, el contenido de los cuatro sacos se depositó sobre una manta de polietileno y se fragmentó (martillo), hasta su pulverización (Figuras 5, 6). El suelo pulverizado se pasó a través de una malla (2 mm) de hilo de nylon poliéster, el tamizado se homogeneizó mediante el método del "cuarteo" (León, 2016).





*Figura 3.* Suelo contaminado con aceite residual automotriz en un taller de reparación de vehículos terrestres, 2019.



*Figura 4.* Suelo contaminado con aceite residual automotriz.



*Figura 5. Suelo contaminado y fragmentado.*



*Figura 6. Suelo contaminado y tamizado.*



El suelo contaminado y pulverizado se “amontonó” formando un cono, el cual se aplanó lo más homogéneo posible, se dividió en cuatro cuadrantes iguales y aleatoriamente en uno de ellos se colectaron 2 kg de suelo para el análisis químico y microbiológico y para determinar la toxicidad de los contaminantes del suelo. El análisis químico se realizó en el Instituto Nacional de Innovación Agraria, Estación Experimental Vista Florida, en Chiclayo y en el Laboratorio NSF INASSA S.A.C. en Lima, determinándose la textura, pH, conductividad eléctrica, sodio intercambiable, materia orgánica, fósforo, potasio, carbonato de calcio, concentración de aceites y grasas, hidrocarburos F1 o fracción ligera (C6 – C10), F2 o fracción media (>C10 – C28) y F3 o fracción pesada (>C28 – C40) y aromáticos policíclicos (PHA).

El análisis microbiológico por triplicado de submuestras de 10g consistió en determinar el número más probable (NMP/100g) de los microorganismos hidrocarbonoclasticos (Contreras y Carreño, 2018) en caldo Bushnell Haas (Figura 7, anexo 1), realizándose el cálculo correspondiente según el método estándar (Huapaya, 2011).

La toxicidad de los contaminantes del suelo contaminado se investigó por triplicado en submuestras de 10 g (Salas y Meza, 2011), utilizando semillas de rabanito, a las que previamente se les determinó el porcentaje de germinación (Flores y Benites, 2015). En cuatro placas Petri con papel filtro esterilizado y humedecido con agua destilada se depositaron 25 semillas por placa, se taparon y se mantuvieron a temperatura ambiente (28°C), humedeciéndolas según el requerimiento, hasta obtener el máximo de germinación después de 120 horas.

Para el ensayo de toxicidad, en la base de placas de Petri, se colocaron tres capas de papel filtro y encima las submuestras de 10 g de suelo, se agregaron 12 mL de agua destilada y en cada placa, con una pinza se depositaron 25 semillas de rabanito.



*Figura 7.* Número más probable de microorganismos hidrocarbonoclasticos en suelo contaminado con residuos aceitosos.

Todas las placas de Petri se cubrieron con papel metálico (Figuras 8, 9), a temperatura ambiente (28°C) y después de 48 horas se vertieron 5 mL de agua destilada, para mantener la humedad requerida. Cada 48 horas hasta las 144 horas se contaron las semillas germinadas y se midió la longitud de las radículas emergidas, retirándose en cada evaluación las semillas germinadas. Asimismo, se calculó (Llanos, 2012) el porcentaje relativo de germinación (PGR), crecimiento relativo de la radícula (CRR) e índice de germinación (IG):

$$PGR = \frac{\text{Número de semillas germinadas}}{\text{Número de semillas totales}} \times 100$$

$$CRR = \frac{\text{Longitud promedio de radículas germinadas}}{\text{Longitud promedio de radículas totales}} \times 100$$

$$IG = \frac{P \times C}{1}$$

La fitotoxicidad se determinó con el criterio de interpretación (Rodríguez, 2012): IG > 80% indica que no hay sustancias fitotóxicas o están en muy baja concentración: 80% > IG > 50% se interpreta como presencia moderada de estas sustancias y un IG < 50% indica fuerte presencia de sustancias fitotóxicas, criterios correspondientes a niveles de fitotoxicidad bajo, moderado y severo (Contreras y Carreño, 2018).

#### **b. Características de los estiércoles utilizados en la biorremediación**

Los estiércoles utilizados en la biorremediación correspondieron a cerdos, cuyes y vacunos. El estiércol de cerdo (un saco) se colectó en el establo de la empresa Agroindustrial Tumbán S.A.A., el estiércol de cuy fresco (un saco) se adquirió en los corrales de crianza de una finca agropecuaria en el caserío Arrozal, Distrito de Motupe, región Lambayeque y el estiércol de vacuno (un saco) en la Asociación de Ganaderos, distrito de Pomalca, región Lambayeque.



Figura 8. Prueba de toxicidad del suelo contaminado con residuos aceitosos.



Figura 9. Semillas de *Raphanus sativus* L. germinadas en suelo contaminado con residuos aceitosos.

Los estiércoles de animales se llevaron al invernadero, se depositaron sobre una manta de polietileno, se deshidrataron a temperatura ambiente durante 4 a días, se trituraron y tamizaron. A continuación, se homogenizaron mediante el método del “cuarteo” (León, 2016), obteniéndose una muestra representativa de 1 kg de cada uno para el análisis físico – químico en el laboratorio del Instituto Nacional de Innovación Agraria, Estación Experimental Vista Florida en Chiclayo.

### **1.7. Segunda fase: Efecto del estiércol en la biorremediación de suelo contaminado con residuos aceitosos**

El efecto del estiércol en la biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos se determinó en un ensayo conducido bajo un diseño experimental completamente al azar (DCA) con nueve tratamientos, tres repeticiones por tratamiento y un total de 27 unidades experimentales (Tabla 1).

El proceso de biorremediación se realizó en condiciones de invernadero, en microcosmos constituidos por macetas de arcilla de 20 cm de diámetro por 25 cm de altura (Figura 10), en las que previamente se depositaron 1,5 kg de grava para facilitar el drenaje. En 27 bolsas de polietileno de 10 kg de capacidad se mezclaron durante 5 minutos volúmenes (4:2:2, v/v) de suelo contaminado con hidrocarburos de petróleo (4 kg), paja de arroz (0,2 kg) y estiércol de cerdo (0,2 kg), cuy (0,36 kg) o vacuno (0,36 kg), según el tratamiento correspondiente (Figuras 11, 12).

Las mezclas de suelo contaminado con hidrocarburos de petróleo se depositaron sobre la grava de cada maceta. En el testigo absoluto solo se depositó el suelo y en el testigo abiótico se aplicó formaldehído 5% y las macetas se cubrieron con bolsas de polietileno negro durante 3 días. Para facilitar la aireación, el suelo de todos los microcosmos se removió con una palanilla de mano durante 5 minutos dos veces por semana y luego se regó con agua declorada (24 horas).

En los tratamientos con fertilizante químico se agregaron los nutrientes nitrógeno y fósforo hasta alcanzar la relación C:N:P de 100:10:1 (Cabanillas y Pissani, 2015, anexo 2), para lo cual se aplicaron por terrario 0,235 g de urea (46% N) y 0,004 g de fosfato diamónico (18% N, 46% P).



Tabla 1.

*Tratamientos para determinar el efecto del estiércol en la biorremediación de suelo contaminado con residuos aceitosos.*

Tratamientos	R1	R2	R3
T1: Testigo absoluto	X	X	X
T2: Testigo químico (fertilizante N:P)	X	X	X
T3: Testigo abiótico (formaldehído)	X	X	X
T4: Estiércol de cerdo	X	X	X
T5: Estiércol de cuy	X	X	X
T6: Estiércol de vacuno	X	X	X
T7: Estiércol de cerdo + fertilizante químico	X	X	X
T8: Estiércol de cuy + fertilizante químico	X	X	X
T9: Estiércol de vacuno + fertilizante químico	X	X	X



*Figura 10. Ensayo para determinar el efecto del estiércol en la biorremediación de suelo contaminado con residuos aceitosos.*



*Figura 11.* Suelo contaminado con residuos aceitosos, estiércol y pajilla de *Oryza sativa* L.



*Figura 12.* Mezcla de suelo contaminado con estiércol y pajilla de *Oryza sativa* L.

Durante la biorremediación se registraron las temperaturas máximas (30°C), mínima (20°C) y media (25°C), datos obtenidos por la estación meteorológica de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo (Anexo 3), ubicada en el fundo “El Ciénago” en Lambayeque. El proceso de biorremediación fue monitoreado durante 120 días, investigándose cada 30 días el número de microorganismos hidrocarbonoclasticos y la toxicidad de los contaminantes, según la metodología descrita en el ítem 1.6a.

La eficiencia (%) de la biorremediación del suelo contaminado con hidrocarburos de petróleo de los tratamientos con los que se alcanzaron los mayores índices de germinación y menor nivel de toxicidad, se calculó mediante la fórmula utilizada por Contreras y Carreño (2018):

$$\text{Eficiencia (\%)} = \frac{A_{yg} - A_{yg} - A_{fi}}{A_{yg} - A_{fi}} \times 100$$

### 1.8. Análisis estadístico de los datos

Los valores obtenidos en la investigación fueron ordenados y se transformaron a logaritmo  $\sqrt{\sqrt{x} + 1}$  para las pruebas de normalidad (Shapiro – Wilk) y homogeneidad de varianzas (Bartlett). El análisis de varianza determinó las diferencias entre los tratamientos y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey estableció la significancia entre ellos (Hernández et al., 2014). Se utilizaron los programas Microsoft Office Word y Excel versión 2013.



## **CAPÍTULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1 Antecedentes de la investigación**

En microcosmos edáficos se investigó la influencia del tipo de contaminante y su concentración, así como el comportamiento de suelos contaminados en la cinética de la biodegradación por efecto de un fertilizante inorgánico N:P:K (T1) combinado con un surfactante (T2), un agente estructurante de materia orgánica (T3), un co-sustrato etanol (T4) y una oxidación química al fertilizante (T5). En una segunda etapa en planta piloto se investigó la biotratabilidad del suelo contaminado y la diversidad microbiana a nivel molecular. En microcosmos T2 y T5 aumentaron la eficiencia de biodegradación y a escala piloto con menos de 15% de humedad el mejor tratamiento fue T1 y con más de 30% de humedad fue T2 (Silva, 2011).

El aserrín y el estiércol fueron investigados para la recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos, utilizando como indicador plantas de *Zea mays*. En macetas se depositaron 700 g de suelo contaminado, 150 g de estiércol 150 g de aserrín. Los tratamientos fueron 12, con tres repeticiones, bajo un diseño completamente aleatorio y como planta indicadora se sembró maíz, determinándose después de 60 días la altura, peso foliar y radicular. El HTP inicial fue de 19 800 – 21 800 mg kg<sup>-1</sup>, alcanzándose el mayor porcentaje de reducción correspondiente a 25% con el estiércol de vacuno, más aserrín de bolaina. La altura de las plantas (3680 cm), peso foliar (6,42 g) y radicular (4,5 g) fue mayor en las plantas de suelos contaminados y biorremediados con estiércol y aserrín, demostrándose su efectividad en la reducción de los HTP (Buendía, 2012).

El efecto de los estiércoles de cuy, porcino y vacuno sin y con fertilizante químico se investigó en la biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos de diésel. El suelo con arena de río y pajilla (20:10:0,1), se acondicionó en terrarios y se contaminó con 20000 ppm de diésel. El suelo fue

mezclado con el estiércol (6:1) y la urea y fosfato diamónico se aplicaron hasta alcanzar la relación C100:N10:P1. El suelo presentó un HTD de 22 987 mg kg<sup>-1</sup>, microorganismos totales ( $4,6 \times 10^6$  NMP g<sup>-1</sup>), hidrocarbonoclasticos ( $3,5 \times 10^4$  NMP g<sup>-1</sup>) y un nivel severo de toxicidad. Los estiércoles incrementaron la biorremediación, destacando significativamente el estiércol de cuy más NP, con el que se alcanzó un HTD de 4 200 mg kg<sup>-1</sup>, correspondiente a 81,7% de eficiencia a la biorremediación (Flores y Benites, 2015).

## **2.2 Base teórica**

El petróleo o aceite de piedra está constituido por hidrocarburos, agrupados en las fracciones: saturados, aromáticos, asfaltenos y resinas (Viñas, 2005). Los hidrocarburos saturados o parafínicos con 1 a 40 o más átomos de carbono pueden ser acíclicos (n-alcenos y de cadena ramificada o isoprenoides) y cíclicos (naftenos y olefinas). Los aromáticos son hidrocarburos insaturados con uno o más anillos bencénicos en su molécula, denominados monoaromáticos, diaromáticos y poliaromáticos (HAP). Las resinas son fracciones pesadas formadas por moléculas piridínicas, quinolinas, carbazoles, sulfóxidos, tiofenos y aminas. A su vez, los asfaltenos están conformados por 4 a 20 anillos aromáticos, con moléculas de oxígeno, nitrógeno y azufre (Valle, 2014).

La comunidad microbiana desempeña un papel importante en el flujo de energía, transformación de nutrientes y reciclaje de elementos en el ambiente. La teoría de la Infalibilidad Microbiana, sostiene que todo compuesto orgánico biológicamente sintetizado puede ser descompuesto por los microorganismos (Alexander, 1994). En este contexto, los contaminantes como los hidrocarburos de petróleo pueden ser degradados por los entes biológicos hasta dióxido de carbono y agua (Carreño, Mendoza y Villanueva, 2009).

El petróleo, compuesto mayoritariamente por hidrocarburos es biodegradado en aerobiosis con mayor eficiencia (Pérez, Viguera, Gómez y Calva, 2015), pero también en anaerobiosis (Villarreal, Balagurusamy, Rodríguez, Aguilar y Morlett, 2014). Los contaminantes, que pueden ser degradados o transformados por los seres vivos son susceptibles de ser eliminados mediante procesos de biorremediación. La capacidad metabólica de las poblaciones microbianas frente a los contaminantes de un suelo es el

fundamento de la biorremediación (Alexander, 1994), que utiliza las técnicas de bioestimulación y bioaumentación (Flores y Benites, 2015).

Los animales solo retienen en promedio el 15% de los nutrientes contenidos en la materia, lo que significa que el 85% restante se excreta. Por tanto, los residuos de animales contienen cantidades significativas de nutrientes que pueden ser manejados de forma aceptable por el ambiente (Medrano, 2006). El estiércol contiene nutrientes y microorganismos y puede ser utilizado para la bioestimulación y bioaumentación en ambientes impactados con HTP (Agarry, Owabor & Yusuf, 2010; Bahadure, Kalia & Chavan, 2013).

Los talleres de reparación de vehículos terrestres acumulan aceites usados (ARA), anticongelantes, líquidos de frenos, filtros y baterías, considerados como residuos peligrosos por tener algunas de las características de corrosividad, reactividad, explosividad, toxicidad, inflamabilidad, radioactividad y patogenicidad o biocontaminación (DIGESA, 2006). El aceite lubricante es una sustancia que reduce la fricción entre dos superficies en movimiento y también retiene las partículas extrañas. Tiene 90% de aceites en su mayoría fracciones de petróleo denominados aceites minerales y 10% de aditivos (Singh, 2017).

El aceite residual automotriz (ARA) está deteriorado y degradado, con los aditivos descompuestos y un contenido significativo de metales pesados como el cadmio y zinc, entre otros. Las moléculas potencialmente más peligrosas del ARA son los hidrocarburos poliaromáticos, (PHA): benzopireno y criseno. Bajo un inadecuado manejo el ARA impacta el suelo y es un contaminante potencial del agua subterránea (Singh, 2017).

#### **2.2.1. Biodegradación de los hidrocarburos de petróleo**

Los componentes del petróleo no se biodegradan con la misma facilidad. En los alifáticos cuanto más insaturada la cadena carbonada (dobles o triples enlaces) más lenta será la degradación. Los alcanos de cadena larga son más resistentes a la biodegradación conforme a la longitud de su cadena aumenta y cuando alcanzan un peso molecular mayor de 500, difícilmente son utilizables como fuente de carbono. Las ramificaciones reducen la tasa de biodegradación porque los átomos de carbono terciarios y cuaternarios interfieren (Silva, 2011). Los alcanos y alquenos sufren oxidación monoterminal,

subterminal y biterminal, originando moléculas similares a los ácidos grasos que son degradadas posteriormente en su mayoría por  $\beta$ -oxidación (Adams, Niyomugabo & Sylvester, 2016).

La biodegradación aerobia de los aromáticos requiere que los microorganismos rompan el anillo, mediante enzimas mono y dioxigenasas, con pérdida de la aromaticidad. La oxidación de los aromáticos genera fenoles dihidricos o intermediarios: catecol, protocatecuato y gentisato, los mismos que sufren meta y ortoruptura originando piruvato, acetaldehído y acetil CoA, succinil CoA, malato y fumarato, que son metabolizados en el ciclo de Krebs. En la biodegradación anaerobia se lleva a cabo una activación que origina los intermediarios Benzoyl-CoA, resorcinol y floroglucinol los cuales son convertidos en componentes alicíclicos por enzimas reductasas y a su vez éstos son hidrolizados hasta compuestos no cíclicos, que son metabolizadas acetil CoA y dióxido de carbono (Parés y Juárez., 1997; Carreño et al., 2009).

#### Reacciones de degradación aerobia y anaerobia de hidrocarburos de petróleo

<i>Degradación</i>	<i>Reacción</i>	<i>Factor de utilización</i>
<b>Aerobia</b>	Sustrato + $O_2 \rightarrow CO_2 + H_2O + \text{biomasa}$	3,14 g BTEX/g $O_2$
<b>Anaerobia</b>	Sustrato + $NO_3^- + H^+ \rightarrow CO_2 + 2N_2 + H_2O + \text{biomasa}$	4,9 g BTEX/g $NO_3^-$
<b>Anaerobia</b>	Sustrato + $Fe(OH)_3 + H^+ \rightarrow CO_2 + Fe^{2+} + H_2O + \text{biomasa}$	21,8 g BTEX/g $Fe^{2+}$
<b>Anaerobia</b>	Sustrato + $SO_4^{2-} + H^+ \rightarrow CO_2 + HS^- + H_2O + \text{biomasa}$	4,7 g BTEX/g $SO_4^{2-}$
<b>Anaerobia</b>	Sustrato+ $CH_3COOH \rightarrow CH_4 + CO_2 + \text{biomasa}$	0,78 g BTEX/g $CH_4$

Fuente: Silva (2011).

Los factores que condicionan la biodegradación de los hidrocarburos de petróleo son tres, todos relacionados con las características del producto petrolífero, con el medio y con los microorganismos presentes en el emplazamiento (Solanas, 2009). La concentración y composición de la comunidad microbiana y la tasa de transformación de los contaminantes están influenciados por factores fisicoquímicos y biológicos. Los factores fisicoquímicos del ambiente incluyen el contenido de humedad, que debe ser

entre 40 y 85% de la capacidad de campo (Buendía, 2012) o entre 12 y 30% en peso. El intervalo del pH está entre 6 y 8 (USEPA, 2003, mencionado por Buendía, 2012).

El oxígeno es el aceptor de electrones en la mayoría de procesos biodegradativos de hidrocarburos de petróleo. En cuanto a los nutrientes, se requiere una relación de C:N:P de 100:10:1 en el suelo y 120:10: 1 en el mar (García y Aguirre, 2015). La textura o granulometría del suelo afecta la oxigenación, distribución de nutrientes y contenido de humedad (Silva, 2011). La temperatura afecta la fisiología y diversidad de los microorganismos, así como la química del petróleo. El rango de 10 a 45 °C es óptima para la biodegradación (Buendía, 2012). A temperaturas bajas se incrementa la viscosidad del petróleo, se reduce la volatilidad de los compuestos de bajo peso molecular, se incrementa la solubilidad y consecuentemente aumenta la toxicidad (García y Aguirre, 2015).

Las características físico-químicas de los hidrocarburos se refieren a la estructura de la cadena carbonada y el peso molecular, relacionados con el tiempo de degradación. Los componentes saturados alcanos y cicloalcanos y particularmente los alcanos de cadenas intermedias (C10 - C20) se degradan fácilmente. Los alcanos de cadena corta son más volátiles, mientras que los de cadena larga (C20 - C40) son sólidos hidrófobos con baja solubilidad y disponibilidad. Los aromáticos se biodegradan muy lentamente (Silva, 2011).

La solubilidad o concentración máxima de un compuesto que se puede disolver en el agua es la característica más importante en la biorremediación, debido a que de ésta depende la movilidad, estabilidad, acumulación y concentración del contaminante. Cuando la solubilidad es mínima aumenta la inmovilización mediante adsorción, por lo que el contaminante será acumulativo, persistente y poco propenso a degradarse. La polaridad de los hidrocarburos hace que tengan poca afinidad por el agua. Por su parte, altas concentraciones del contaminante pueden ejercer efecto tóxico y bajas concentraciones pueden limitar la biodegradación por insuficiencia en la fuente de carbono (Silva, 2011).

Respecto a los factores relacionados con los microorganismos, también se considera el período de aclimatación o tiempo requerido por las

poblaciones microbianas presentes en un emplazamiento para empezar la biodegradación. Si la contaminación es remota, los microorganismos están muy adaptados a la presencia de contaminantes, beneficiándose la biodegradación (Solanas, 2009).

Los factores biológicos que afectan la biorremediación se refieren a los microorganismos que son autóctonos, cuando se encuentran formando parte del ecosistema afectado. El crecimiento de éstos puede ser estimulado generándose condiciones óptimas de temperatura, oxigenación y contenido de nutrientes y si el número de los microorganismos no es el adecuado se pueden adicionar microorganismos exógenos. La población bacteriana requerida para la biorremediación es de  $10^4$  a  $10^7$  UFC g<sup>-1</sup>. Recuentos menores de  $10^3$  evidencian la presencia de compuestos tóxicos (Silva, 2011).

### **2.2.2. Biorremediación**

Los requisitos que deben cumplir las técnicas de remediación para ser consideradas ambientalmente aceptables son: reducir la concentración de los contaminantes como respuesta directa de su aplicación, no transferir los contaminantes de una matriz a otra, ser irreversibles, no crear mayores disturbios ambientales y ser una tecnología integral que incluye el tratamiento de los residuos (Chávez et al., 2003).

La biorremediación es una biotecnología que estimula la actividad microbiana y en consecuencia acelera el proceso natural de la degradación del compuesto contaminante. Puede ser definida como el uso de organismos vivos, componentes celulares y enzimas libres para realizar una biotransformación o transformación parcial, una humidificación de los contaminantes, una alteración del estado redox de los metales o una mineralización hasta dióxido de carbono, agua y otros compuestos inorgánicos. La vía aerobia es la estrategia más efectiva no obstante también se utiliza una vía anaerobia con nitratos, nitritos, sulfatos, carbonatos y compuestos orgánicos como aceptores de electrones (Silva, 2011).

El desarrollo de un proceso de biorremediación eficaz requiere el establecimiento de un sistema de evaluación y de un protocolo que considera tres etapas: 1) estudios básicos en laboratorio, 2) estudios de microcosmos y

3) evaluación de tratamiento en sistemas de mayor escala ya sea planta piloto o instalaciones in situ (Viñas, 2005). La biodegradación del petróleo y derivados se puede monitorear mediante metodologías directas e indirectas. En las directas se cuantifica la reducción del contaminante masa, volumen o concentración. Las mediciones indirectas evalúan la transformación de los contaminantes por metabolismo microbiano demostrándose el consumo de aceptores de electrones la respirometría, biomasa, actividad enzimática y cambios del pH, entre otros (Ahumada y Gómez, 2009).

### **2.2.3. Estiércol de animales**

El estiércol de animales es la principal fuente de carbono orgánico y bajo un apropiado manejo es una excelente alternativa para ofrecer nutrientes a las plantas y a la vez mejorar las características físicas y químicas del suelo (Medrano, 2006). En promedio sólo la quinta parte de alimento es asimilada, el resto es eliminado como estiércol y orina. Se puede considerar que el estiércol contiene 0,5% N, 0,25% de P, y 0,5% de K, es decir 1 tonelada ofrece un promedio de 5 kg de N, 2,5 kg de P y 5 kg de K; no obstante, la composición y la calidad del estiércol depende de la especie animal, alimentación, cantidad de materia seca y manejo (Carhuando, 2012).

La producción diaria de estiércol fresco por cada 100 kg de peso es en promedio 4 kg para el cerdo; 7, 7 kg para el ovino; 2,5 kg para el cuy y 7 kg para el equino. El estiércol de vacuno está formado por la mezcla de deyecciones y la cama del ganado. La composición química varía en función de la alimentación del animal en promedio 6 - 10% de materia seca 0, 29 - 0,58% N; 0,01 - 0,35% de CaO; 0,04 - 0,13% MgO y 0,04 - 0,13% SO<sub>4</sub>. El estiércol de cuy junto al de caballo son los de mejor calidad por sus propiedades físicas y químicas presenta 21,32 a 32,56% de humedad; 1,52 a 3,16% de nitrógeno; 25,8 a 38,2% de carbono y una relación C:N de 10 a 17 (Benavides y Plasencia, 2012).

### **CAPÍTULO III**

## **ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS**

### **3.1 Características del suelo contaminado con residuos aceitosos**

El suelo contaminado con aceite residual automotriz presentó una textura franco – arenoso, un pH de reacción ligeramente alcalina (7,4) y niveles medios de salinidad ( $11,32 \text{ dSm}^{-1}$ ) y sodio intercambiable ( $1,707 \text{ meq/100g}$ ), caracterizando al suelo como salino con potencial sódico (Tabla 2, anexo 4). En cuanto a la fertilidad, le correspondió un buen tenor de materia orgánica (7,8%), niveles altos de fósforo (15,2 ppm) y potasio (437 ppm) y un nivel medio de carbonato de calcio (1,42%). Respecto a los microorganismos, se cuantificaron  $1,4 \times 10^3$  NMP de hidrocarbonoclasticos  $100\text{g}^{-1}$ .

El análisis químico del suelo demostró la presencia de aceites y grasas ( $147 \text{ } 340 \text{ mgkg}^{-1}$ ), las fracciones ligera F1 ( $<19 \text{ mgkg}^{-1}$ ), media F2 ( $14 \text{ } 443 \text{ mgkg}^{-1}$ ) y pesada F3 ( $15 \text{ } 240 \text{ mgkg}^{-1}$ ) de hidrocarburos (Tabla 3, anexo 5). En cuanto a los aromáticos se cuantificaron fluoreno ( $0,11 \text{ mgkg}^{-1}$ ), fenantreno ( $1,2 \text{ mgkg}^{-1}$ ), fluoranteno ( $0,12 \text{ mgkg}^{-1}$ ), pireno ( $0,53 \text{ mgkg}^{-1}$ ), criseno ( $0,43 \text{ mgkg}^{-1}$ ), benzofluoranteno ( $0,052 \text{ mgkg}^{-1}$ ) y benzoperileno ( $0,055 \text{ mgkg}^{-1}$ ). Respecto a la toxicidad, el suelo contaminado con aceite residual automotriz presentó un nivel severo de fitotoxicidad (Tabla 4).



Tabla 2.

*Características físico-químicas y microbiológicas del suelo contaminado con residuos aceitosos, Lambayeque, 2019*

Características	Valores	Métodos
Textura (%)	Franco-arenoso	Bouyoucos
Arenoso (Ao)	67	
Limosa (Lo)	15	
Arcillosa (Ao)	18	
pH	7,40	Extracto de saturación: Potenciómetro
Conductividad eléctrica, Cec ( dSm <sup>-1</sup> )	11,32	Extracto de saturación: Conductímetro
Sodio intercambiable (meq/100g)	1,707	Cálculo: Na / CIC x 100
Capacidad de intercambio catiónico, CIC (meq/100g)	15,606	Extracción con acetato de amonio pH 7
Sodio intercambiable, PSI (%)	10,938	Cálculo: Na/CIC x 100
Saturación (%)	30,325	Cálculo: Peso Húmedo - Peso Seco / Volumen Inicial de suelo Saturado; % p/v
Materia orgánica (%)	7,80	Walkey y Black
Fósforo, P (ppm)	15,20	Olsen modificado
Potasio, K (ppm)	437,00	Fotometría
Carbonato de calcio (%)	1,42	Gasometría
Microorganismos hidrocarbonoclasticos (NMP 100g <sup>1</sup> )	1,4 x 10 <sup>3</sup>	Número más probable
Autoría propia		

Tabla 3.

*Aceites y grasas e hidrocarburos totales de petróleo en el suelo contaminado con residuos aceitosos, Lambayeque, 2019*

Características	Valores	Métodos
Aceites y grasas (mg kg <sup>-1</sup> )	147 340	SMEWW-APHA-AWWA-WEF
Hidrocarburos F1 o fracción ligera C6 – C10 (mg kg <sup>-1</sup> )	<19	EPA 8015C
Hidrocarburos F2 o fracción media >C10 – C28 (mg kg <sup>-1</sup> )	14 443	EPA 8015C
Hidrocarburos F3 o fracción pesada >C28 – C40 (mg kg <sup>-1</sup> )	15 240	EPA 8015C
PHA <sub>s</sub>		
Fluoreno (mg kg <sup>-1</sup> )	0,110	EPA 8270E
Fenantreno (mg kg <sup>-1</sup> )	1,200	EPA 8270E
Fluoranteno (mg kg <sup>-1</sup> )	0,120	EPA 8270E
Pireno (mg kg <sup>-1</sup> )	0,530	EPA 8270E
Criseno (mg kg <sup>-1</sup> )	0,430	EPA 8270E
Benzofluoranteno (mg kg <sup>-1</sup> )	0,052	EPA 8270E
Benzoperileno (mg kg <sup>-1</sup> )	0,055	EPA 8270E

Autoría propia

Tabla 4.

*Nivel de toxicidad del suelo contaminado con residuos aceitosos Lambayeque, 2019*

Características	Valores
Promedio elongación radicular (mm)	4,67
Porcentaje relativo de germinación (PGR)	12,50
Crecimiento relativo de la radícula (CRR)	3,51
Índice de germinación (%IG)	0,45%
Nivel de fitotoxicidad	Severo

Autoría propia

### **3.2 Características de los estiércoles de animales**

Los estiércoles presentaron 11,05% (cuy) a 57,30% (vacuno) de humedad y un pH de reacción alcalina (8,0 a 8,4) con un contenido bajo normal de salinidad (Tabla 5), correspondiente a una CE de 9,40 dSm<sup>-1</sup> (cuy) y contenido alto de sales solubles en el estiércol vacuno (CE de 21,52 dSm<sup>-1</sup>) y de cerdo (CE de 35,10 dSm<sup>-1</sup>).

El contenido de materia orgánica (26,40%) y carbono (15,32%) fue menor en el estiércol de cerdo y mayor (47,63 y 27,62%, respectivamente) en el estiércol de vacuno. La relación C/N fue estable siendo de 11,1 (cerdo), 13,15 (vacuno) y 13,62 (cuy). Respecto a los nutrientes el nitrógeno osciló entre 1,38 (cerdo) a 2,10 (vacuno), el fósforo: 1,26% (cuy) a 2,82% (vacuno), el potasio: 1,06% (cerdo) a 2,85% (cuy), el calcio: 0,45% (cuy) a 0,82% (cerdo) y el magnesio 0,23 (cuy) a 0,36 (cerdo).

El análisis microbiológico de los estiércoles (Tabla 6) demostró la presencia de microorganismos hidrocarbonoclásticos, cuantificándose 2,0 x 10<sup>3</sup> NMP 100g (cuy), 7,3 x 10<sup>2</sup> NMP 100g (cerdo), 1,1 x 10<sup>3</sup> NMP 100g (vacuno). En cuanto a la toxicidad los estiércoles presentaron niveles moderado (cuy y vacuno) y bajo (cerdo) de fitotoxicidad (Tabla 6).

### **3.3 Efecto del estiércol en la biorremediación de suelo contaminado con residuos aceitosos**

El rango en el NMP de microorganismos hidrocarbonoclásticos al momento del establecimiento del ensayo (Tabla 7, anexo 6) fue de 1,5 x 10<sup>3</sup> (testigo químico, T2) a 1,7 x 10<sup>4</sup> en T6 (estiércol de vacuno, T6). El NMP de microorganismos se incrementó hasta los 30 días, a excepción de los testigos químico (T2) y abiótico (T3) sin estiércol. En los otros tratamientos, el NMP disminuyó a partir de los 60 días, alcanzando un rango de < 3,0 x 10<sup>2</sup> (testigo químico, T2) a 2,6 x 10<sup>3</sup> (estiércol de cerdo, T4) a los 90 días.

Tabla 5.

*Características físico-químicas del estiércol utilizado en la biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos de petróleo, Lambayeque, 2019*

Parámetros	Unidades	Estiércol		
		<i>Cavia porcellus</i>	<i>Bos taurus</i>	<i>Sus scrofa</i>
Humedad	%	11,05	53,30	15,33
pH	—	8,20	8,40	8,00
Materia seca	%	88,95	42,70	84,67
Cenizas	%	5,52	7,52	11,63
Cec	dSm <sup>-1</sup>	9,40	21,52	35,10
Materia orgánica	%	46,50	47,63	26,40
Carbono	%	26,97	27,62	15,32
Relación C/N	—	13,62	13,15	11,10
Nitrógeno	%	1,98	2,10	1,38
Fosforo (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	%	1,26	2,82	1,87
Potasio (K <sub>2</sub> O)	%	2,85	2,00	1,06
Calcio (CaO)	%	0,45	0,57	0,82
Magnesio (MgO)	%	0,23	0,24	0,36

Autoría propia

Tabla 6.

*Microorganismos hidrocarbonoclasticos y nivel de fitotoxicidad de los estiércoles de animales utilizados en la biorremediación de suelo contaminado, Lambayeque, 2019*

Parámetros	Unidades	Estiércol		
		<i>Cavia porcellus</i>	<i>Bos taurus</i>	<i>Sus scrofa</i>
Microorganismos hidrocarbonoclasticos	NMP 100g <sup>-1</sup>	2,0 x 10 <sup>3</sup>	1,1 x 10 <sup>3</sup>	7,3 x 10 <sup>2</sup>
Promedio elongación radicular	(mm)	8,10	7,92	6,88
Porcentaje relativo de germinación (PGR)	%	84	72	56
Crecimiento relativo de la radícula (CRR)	%	84,38	82,50	71,67
Índice de germinación (%IG)	%	70,88	59,40	40,13
Nivel de fitotoxicidad		Moderado	Moderado	Bajo

Autoría propia

Tabla 7.

*Número más probable de microorganismos hidrocarbonoclasticos en suelo contaminado con residuos aceitosos durante la biorremediación con estiércol*

Tratamientos	NMP/100mL			
	0 días	30 días	60 días	90 días
Testigo absoluto (T1)	$2,5 \times 10^3$	$1,2 \times 10^4$	$1,1 \times 10^3$	$1,2 \times 10^3$
Testigo químico (T2)	$1,5 \times 10^3$	$1,9 \times 10^3$	$2,6 \times 10^3$	$< 3,0 \times 10^3$
Testigo abiótico (T3)	$< 3,0 \times 10^2$	$6,1 \times 10^2$	$1,1 \times 10^3$	$2,1 \times 10^3$
Estiércol de cerdo (T4)	$1,3 \times 10^4$	$> 1,1 \times 10^5$	$1,5 \times 10^3$	$2,6 \times 10^3$
Estiércol de cuy (T5)	$8,7 \times 10^3$	$3,9 \times 10^4$	$8,7 \times 10^3$	$1,8 \times 10^3$
Estiércol de vacuno (T6)	$1,7 \times 10^4$	$3,9 \times 10^4$	$1,9 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$
Estiércol de cerdo + FQ (T7)	$1,1 \times 10^4$	$3,9 \times 10^4$	$1,5 \times 10^3$	$4,6 \times 10^2$
Estiércol de cuy + FQ (T8)	$1,5 \times 10^3$	$1,8 \times 10^3$	$1,2 \times 10^3$	$6,2 \times 10^2$
Estiércol de vacuno + FQ (T9)	$1,8 \times 10^3$	$2,4 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$	$8,5 \times 10^2$

\*Promedio de tres repeticiones

Autoría propia

El índice de germinación (IG) de las semillas de rabanito (Tabla 8, anexos 6 a 10), al momento del establecimiento del ensayo osciló entre 0 (testigo químico, T2; estiércol de cerdo + FQ, T7) a 2.29% (testigo absoluto, T1). A los 30 días el rango del IG fue de 0 (testigo químico, T2) a 4,01% (testigo absoluto, T1) y a los 60 días fue de 0,1% (testigo químico, T2) a 34,87% (estiércol de cuy, T5). Transcurridos 90 días el IG osciló entre 1,82% (testigo abiótico, T3) a 54,68% (estiércol de cuy, T5) y a los 120 días el rango fue de 6,56% (testigo abiótico, T3) a 84,84% (estiércol de cuy, T5).

Durante el periodo de 120 días, el IG se fue incrementando en todos los tratamientos; sin embargo, el nivel de toxicidad fue severo a los 0, 30 y 60 días (Tabla 8). A los 90 días el nivel de toxicidad fue moderado con T5 (estiércol de cuy) y T6 (estiércol de vacuno), y a los 120 días fue bajo con T5 (estiércol de cuy) y moderado con T6 (estiércol de vacuno), T8 (estiércol de cuy + FQ) y T9 (estiércol de vacuno + FQ). En el resto de tratamientos el nivel de toxicidad fue severo.

La prueba F del análisis de varianza de los valores de IG demostró alta significancia a los 0, 30, 60, 90 y 120 días (Tabla 10, anexos 12 a 16). La prueba de comparaciones múltiples de Tukey demostró que los mayores IG correspondieron a T1, T4, T2 y T5 a los 0 días y 30 días; T5 y T6 a los 60 días y 90 días y T5 a los 120 días (Tablas 11 a 15).



Tabla 8.

*Índice de germinación de *Raphanus sativus* L. y nivel de fitotoxicidad del suelo contaminado con residuos aceitosos durante la biorremediación con materia orgánica*

Tratamientos	0 días		30 días		60 días		90 días		120 días	
	IG (%)	Fitotoxicidad	IG (%)	Fitotoxicidad	IG (%)	Fitotoxicidad	IG (%)	Fitotoxicidad	IG (%)	Fitotoxicidad
Testigo absoluto (T1)	2,29	Severo	4,09	Severo	0,24	Severo	6,73	Severo	9,89	Severo
Testigo químico (T2)	1,28	Severo	2,13	Severo	11,2	Severo	23,90	Severo	30,97	Severo
Testigo abiótico (T3)	0,00	Severo	0,00	Severo	1,13	Severo	1,82	Severo	6,56	Severo
Estiércol de cerdo (T4)	1,38	Severo	2,82	Severo	1,75	Severo	7,01	Severo	10,26	Severo
Estiércol de cuy (T5)	0,74	Severo	1,85	Severo	34,87	Severo	54,68	Moderado	84,84	Bajo
Estiércol de vacuno (T6)	0,11	Severo	0,38	Severo	33,92	Severo	53,08	Moderado	68,11	Moderado
Estiércol de cerdo + FQ (T7)	0,00	Severo	0,03	Severo	1,56	Severo	7,47	Severo	18,33	Severo
Estiércol de cuy + FQ (T8)	0,35	Severo	1,30	Severo	6,24	Severo	29,05	Severo	55,53	Moderado
Estiércol de vacuno + FQ (T9)	0,04	Severo	0,17	Severo	25,87	Severo	42,81	Severo	54,90	Moderado

\*Promedio de tres repeticiones

Autoría propia

Tabla 9.

Características del suelo biorremediado con estiércoles de animales con y sin fertilizante químico durante 120 días

Características	Estiércol			
	<i>Cavia porcellus</i>	<i>Cavia porcellus</i> + FQ*	<i>Bos taurus</i>	<i>Bos taurus</i> + FQ*
Índice de germinación (%)				
0 días	0,74	0,35	0,11	0,04
120 días	84,84	55,53	68,11	54,90
Nivel de toxicidad				
0 días	Severo	Severo	Severo	Severo
120 días	Bajo	Moderado	Moderado	Moderado
Aceites y grasas (mgkg <sup>-1</sup> )				
0 días	66 285	—	51 738	—
120 días	23 622	—	27 668	—
Eficiencia de la biorremediación (%)	64,36%	—	45,52%	—

\*FQ=Fertilizante químico

Autoría propia

Tabla 10.

*Análisis de varianza de los valores del Índice de germinación de Raphanus sativus L. durante la biorremediación con y sin fertilizante químico*

Fuente de variación	Suma de cuadrados tipo III	Gl	Media cuadrática	Fc	p	Sign.
0 días						
Tratamientos	0,21	8	0.03	6,45	0,0005	**
Error	0,07	18	4,0E-03			
Total	0,28	26				
30 días						
Tratamientos	0,48	8	0,06	13,38	0,0001	**
Error	0,08	18	4,5E-03			
Total	0,56	26				
60 días						
Tratamientos	5.57	8	0,70	248,65	0,0001	**
Error	0,05	18	2,8E-03			
Total	5,62	26				
90 días						
Tratamientos	5,38	8	0,67	716,26	0,0001	**
Error	0,02	18	9,4E-04			
Total	5,40	26				
120 días						
Tratamientos	5,47	8	0,68	2265,92	0,0001	**
Error	0,01	18	3,0E-04			
Total	5,48	26				

Cv= 4,22 (0 días) 4,27 (30 días) 2,64 (60 días) 1,31 (90 días) 0,68 (120 días)

Autoría propia

Tabla 11.

*Prueba comparaciones múltiples de Tukey de los valores del índice de germinación de Raphanus sativus L. en suelo a los 0 días de biorremediación*

Tratamientos	Medias	Sign.	
Testigo absoluto (T1)	1,67	a	
Estiércol de cerdo (T4)	1,59	a	b
Testigo químico (T2)	1,58	a	b
Estiércol de cuy (T5)	1,52	a	b
Estiércol de cuy + FQ (T8)	1,47	b	
Estiércol de vacuno (T6)	1,43	b	
Estiércol de vacuno + FQ (T9)	1,42	b	
Estiércol de cerdo+ FQ (T7)	1,41	c	
Testigo abiótico (T3)	1,41	c	

Autoría propia

Tabla 12.

*Prueba comparaciones múltiples de Tukey de los valores del índice de germinación de Raphanus sativus L. en suelo a los 30 días de biorremediación*

Tratamientos	Medias	Sign.			
Testigo absoluto (T1)	1,80	a			
Estiércol de cerdo (T4)	1,2	a	b		
Testigo químico (T2)	1,66	a	b	c	
Estiércol de cuy (T5)	1,63	a	b	c	
Estiércol de cuy + FQ (T8)	1,57		b	c	d
Estiércol de vacuno (T6)	1,47			c	d
Estiércol de vacuno + FQ (T9)	1,44				d
Estiércol de cerdo+ FQ (T7)	1,42				d
Testigo abiótico (T3)	1,41				d

Autoría propia

Tabla 13.

*Prueba comparaciones múltiples de Tukey de los valores del índice de germinación de Raphanus sativus L. en suelo a los 60 días de biorremediación*

Tratamientos	Medias	Sign.
Estiércol de cuy (T5)	2,64	a
Estiércol de vacuno (T6)	2,63	a b
Estiércol de vacuno + FQ (T9)	2,49	b
Testigo químico (T2)	2,12	c
Estiércol de cuy + FQ (T8)	1,92	d
Estiércol de cerdo (T4)	1,62	e
Estiércol de cerdo+ FQ (T7)	1,61	e
Testigo abiótico (T3)	1,56	e f
Testigo absoluto (T1)	1,45	f

Autoría propia

Tabla 14.

*Prueba comparaciones múltiples de Tukey de los valores del índice de germinación de Raphanus sativus L. en suelo a los 90 días de biorremediación*

Tratamientos	Medias	Sign.
Estiércol de cuy (T5)	2,91	a
Estiércol de vacuno (T6)	2,89	a
Estiércol de vacuno + FQ (T9)	2,76	b
Estiércol de cuy + FQ (T8)	2,55	c
Testigo químico (T2)	2,45	d
Estiércol de cerdo + FQ (T7)	1,98	e
Estiércol de cerdo (T4)	1,96	e
Testigo absoluto (T1)	1,94	e
Testigo abiótico (T3)	1,63	f

Autoría propia

Tabla 15.

*Prueba comparaciones múltiples de Tukey de los valores del índice de germinación de *Raphanus sativus* L. en suelo a los 120 días de biorremediación*

Tratamientos	Medias	Sign.
Estiércol de cuy (T5)	3,20	a
Estiércol de vacuno (T6)	3,05	b
Estiércol de cuy + FQ (T8)	2,92	c
Estiércol de vacuno + FQ (T9)	2,91	c
Testigo químico (T2)	2,58	d
Estiércol de cerdo + FQ (T7)	2,31	e
Estiércol de cerdo (T4)	2,09	f
Testigo absoluto (T1)	2,07	f
Testigo abiótico (T3)	1,94	g

Autoría propia



### 3.4 Discusión

En el suelo contaminado con ARA se demostró la presencia de aceites y grasas, las fracciones ligera, media y pesada de hidrocarburos y los poliaromáticos criseno y benzopireno. Según Singh (2017), el ARA contiene 90% de aceites en su mayoría fracciones de petróleo denominadas aceites minerales y menos de 10% de aditivos.

La contaminación del suelo con ARA es uno de los principales problemas que se generan en los establecimientos o en los alrededores de los talleres de reparación de vehículos terrestres (Singh, 2017). El ARA es una mezcla de hidrocarburos alifáticos de alto peso molecular (C15 – C18), hidrocarburos aromáticos, bifenilos policlorados, aditivos y productos de la descomposición (Bahadure et al., 2013). En el ARA el aceite base ha sido deteriorado y degradado, los aditivos se han descompuesto, los metales pesados como cadmio y zinc y los hidrocarburos poliaromáticos se han incrementado significativamente. Las moléculas potencialmente más peligrosas de ARA son los PHA benzopireno y criseno. El inadecuado manejo del ARA impacta el suelo y es un potencial contaminante del agua subterránea (Singh, 2017).

Los estiércoles presentaron nutrientes que demostraron su capacidad para bioestimular en el proceso de biorremediación de suelos contaminados (Agarry et al., 2010; Buendía, 2012). La excreción de los animales con dieta de forraje consiste aproximadamente de 65% de heces y 35% de orina. Las heces contienen restos de alimentos no digeridos, componentes primarios de tejidos vegetales, dióxido de carbono, minerales y agua, combinados con los microorganismos procedentes del tracto, que hacen de las heces sustancias biológicamente activas (Medrano, 2006).

En la biorremediación de suelos impactados con hidrocarburos de petróleo se aplica el estiércol como agente bioestimulante (Agarry et al., 2010) en la tecnología de bioestimulación, habiéndose reportado el uso del estiércol de cuy (Flores y Benites, 2015), porcinos (Agarry et al., 2010; Akarator & Molindo, 2016) y vacunos (Manzano, Hernández & Zapata, 2010; Bahadure et al., 2013; Oyedele & Amoo, 2014) y otros como excretas de aves (Coste y Sur, 2015; Naowasorn & Leungprosert, 2016; Udoeye, Okpala, Osoka, Obijiaku, Ogah & Chukwu, 2017)

y estiércol de caprino (Bahadure et al., 2013; Nwogu, Azubuike & Ogugbue, 2015). El uso del estiércol para la biorremediación de suelo contaminado con ARA coincide con Bahadure et al. (2013) y Singh (2017).

El estiércol es rico en energía, proteínas, minerales y vitaminas que mejoran las propiedades del suelo, sin potencial riesgo para los microorganismos (Abulude, Couple, Dafiewhare & Oyeneye, 2003). En el estiércol de animales se encuentran microorganismos hidrocarbonoclasticos como bacterias de los géneros *Micrococcus*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas* y los hongos *Aspergillus*, *Rhizopus* y *Penicillium* (Udebuani, Okoli, Nwigwe & Ozoh, 2012).

La aplicación de estiércol durante la biorremediación de un suelo no implica la bioaumentación porque este término se refiere a microorganismos que fueron caracterizados y seleccionados previamente (Boopathy, 2001, citado por Udebuani et al., 2012). Por el contrario, Essien, Ifeanchi & Nwachukwu (2015) explicaron que la bioaumentación con estiércol de vacuno incrementó la eficiencia de *Eleusine indica* para reducir la concentración de hidrocarburos policíclicos y plomo en un suelo contaminado de forma artificial con crudo de petróleo. Asimismo, Bahadure et al. (2013) concluyeron que los estiércoles de vacuno y caprino aportan nutrientes y microorganismos para la bioestimulación y bioaumentación en el proceso de biorremediación.

La presencia de microorganismos hidrocarbonoclasticos en el suelo contaminado con ARA coincide con Trujillo y Ramírez (2012), quienes concluyen que los suelos impactados contienen gran cantidad de microorganismos que incluyen bacterias y hongos capaces de utilizar hidrocarburos o hidrocarbonoclasticos. En los suelos con HTP por largos periodos, como el suelo investigado, se encuentra un mayor número de microorganismos hidrocarbonoclasticos que en aquellos suelos contaminados de forma artificial (Bahadure et al., 2013).

El NMP de microorganismos hidrocarbonoclasticos se incrementó en los tratamientos con estiércol y los testigos, coincidiendo con Nwogu et al. (2015), quienes reportaron incremento de los microorganismos hidrocarbonoclasticos de  $8,5 \times 10^5$  a  $2,7 \times 10^6$  y de  $8,0 \times 10^5$  a  $1,8 \times 10^6$  UFC g<sup>-1</sup> en el suelo con y sin

estiércol, respectivamente. El incremento de la población microbiana representa una respuesta inmediata a los hidrocarburos de petróleo que constituyen una fuente de carbono para el desarrollo y multiplicación microbiana (Agarry et al., 2010).

El incremento del NMP de microorganismos hidrocarbonoclasticos hasta un valor máximo y su posterior disminución coincide con el reporte de Bahadure et al. (2013), investigadores que determinaron aumento de las bacterias hidrocarbonoclasticas hasta los 28 días en los tratamientos con estiércol de vacuno y caprino y 35 días en el testigo no aplicado. Por su parte, Agarry et al. (2010) observaron el punto máximo de crecimiento de las bacterias hidrocarbonoclasticas a los 21 días con los estiércoles de cerdo, caprino y aves incluyendo el fertilizante NPK y el testigo no aplicado.

La disminución en el NMP de microorganismos hidrocarbonoclasticos es consecuencia de la limitación de nutrientes, que a su vez reduce la actividad microbiana (Nwogu et al., 2015). También se atribuye el consumo rápido del nitrógeno y progresivo del fósforo (Cárdenas, Araujo, Gómez, Bohórquez, Gómez, Angulo, Saules y Morillo, 2010), el agotamiento de las fracciones biodegradables de los hidrocarburos (Hernández, Navas e Infante, 2017) y del nitrógeno, fósforo y potasio presente en el suelo, los cuales llegan a ser limitantes con el tiempo (Agarry et al., 2010).

El NMP de microorganismos hidrocarbonoclasticos en el suelo aplicado con fertilizante químico fue inferior al de los tratamientos con estiércol, resultado similar al obtenido por Agarry et al. (2010) y Udebuani et al. (2012). La adición de nutrientes nitrogenados o fosfatados de fuentes orgánicas e inorgánicas incrementa de forma significativa la biodegradación de HTP (Silva, 2011); no obstante, una concentración excesiva de nutrientes o altos niveles de NPK disminuye la degradación microbiana (Udebuani et al., 2012). Este efecto negativo también se observa con los estiércoles por lo que Essien et al. (2015) recomendaron la aplicación de este residuo pecuario en un nivel moderado para evitar que los microorganismos se alimenten de sus nutrientes, dejando de lado los hidrocarburos de petróleo.

La aceleración e incremento de la biorremediación del suelo contaminado con ARA por efecto del estiércol fue demostrada previamente por Bahadure et al. (2013), con el estiércol de vacuno. La disminución de la toxicidad del suelo evidenciada por el mayor incremento en el índice de germinación de rabanito en los tratamientos sin fertilizante químico demostró que el estiércol aporta los nutrientes requeridos en la biorremediación, coincidiendo con Udebuani et al. (2012), Oyedele et al. (2014) y Nwogu et al. (2015).

Nwogu et al. (2015) concluyeron que el estiércol es un bioestimulante que aporta nitrógeno, fósforo y potasio, nutrientes que favorecen la actividad de los microorganismos hidrocarbonoclasticos y por tanto la disminución del TPH. Estos investigadores utilizaron estiércol de caprino en la biorremediación de suelo contaminado con crudo de petróleo y determinaron 62,08% de disminución en el TPH, en comparación con 8,15% en el testigo sin estiércol. Asimismo, Oyedele et al. (2014) reportaron 89 a 96% de disminución en el TPH en los testigos con estiércol de vacuno frente a 7% en el testigo.

El índice de germinación de rabanito en el suelo con estiércol de cuy fue superior al suelo con estiércol de vacuno; a pesar que este último presentó mayor cantidad de fósforo, nutriente que en su mayoría favorece la activación de los microorganismos hidrocarbonoclasticos (Ordaz, Martínez, Ramos, Sánchez, Martínez, Tenorio, Cueva, 2011). Este resultado puede atribuirse al contenido de sales solubles ( $CE = 21,52 \text{ dSm}^{-1}$ ) del estiércol de vacuno en comparación con el de cuy ( $CE = 9,4 \text{ dSm}^{-1}$ ).

Bahadure et al. (2013) compararon la efectividad de los agentes bioestimulantes estiércol de vacuno, caprino y residuos de frutas en la biorremediación de suelos contaminados de forma natural y artificial con aceite lubricante usado y no usado, destacando los residuos de frutas y el estiércol de vacuno con 74,91 y 73, 90% de remoción del TPH, respectivamente, superando en forma significativa al estiércol de caprino.

La disminución de la toxicidad de suelo mezclado con el estiércol superó al testigo químico coincidiendo con Agarry et al. (2010). Estos investigadores después de 4 semanas de remediación determinaron disminución del HTP, alcanzando 73% (excretas de aves), 63% (estiércol de cerdo),

50% (estiércol de caprino) y 39% (fertilizante químico NPK), en comparación con 16% en el testigo. Este resultado se atribuyó a la mayor cantidad de nutrientes y microorganismos hidrocarbonoclasticos del estiércol, lo que evidenció que el estiércol constituye una agente de bioestimulación y bioaumentación.

## CONCLUSIONES

El suelo contaminado en un establecimiento de reparación de vehículos terrestres presentó materia orgánica, fósforo, potasio, carbonato de calcio, aceites y grasas ( $147\ 340\ \text{mgkg}^{-1}$ ), fracción F1 ( $<19\ \text{mgkg}^{-1}$ ), media F2 ( $14\ 443\ \text{mgkg}^{-1}$ ), pesada F3 ( $15\ 240\ \text{mgkg}^{-1}$ ) de hidrocarburos, microorganismos hidrocarbonoclasticos y un nivel severo de toxicidad.

Los estiércoles de cerdo, cuy y vacuno presentaron materia orgánica, carbono, nitrógeno, fósforo y potasio.

Los estiércoles de animales con y sin fertilizante químico aceleraron e incrementaron la biorremediación de un suelo contaminado con residuos aceitosos, destacando en forma significativa el estiércol de cuy con un nivel bajo de fitotoxicidad a los 120 días y 64,36% de eficiencia en la biorremediación.

## **RECOMENDACIONES**

Determinar el efecto del estiércol de cuy en la biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos de petróleo a nivel de planta piloto.

Cuantificar las fracciones F1 ligera, F2 media y F3 pesada y poliaromáticos criseno y benzopireno en el suelo biorremediado con estiércoles de cuy y vacuno.

Determinar el efecto de diferentes dosis de estiércol de cuy en la biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos de petróleo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abulude, F., Couple, A., Dafiewhare, B. & Oyeneye, O. (2003). Compositional evaluation of livestock dung fed to pigs. *Journal of Sustainable Tropical Agricultural Research*, 6, 33–36.
- Adams, F., Niyomugabo, A. & Sylvester, O. (2016). Bioremediation of Crude Oil Contaminated Soil Using Agricultural Wastes. *Procedia Manufacturing*, 7, 459-464. doi: 10.1016/j.promfg.2016.12.037
- Agarry, S., Owabor, C. & Yusuf, R. (2010). Bioremediation of Soil Artificially Contaminated with Petroleum Hydrocarbon Oil Mixtures: Evaluation of the Use of Animal Manure and Chemical Fertilizer. *Bioremediation Journal*, 14(4), 189-195, doi: 10.1080/10889868.2010.514965
- Ahumada, M. y Gómez, R. (2009). *Evaluación y selección de bacterias degradadoras de fenol por respirometría* (tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Akarator, S. & Molindo, W. (2016). Bioremediation Potential of Piggery Manure in a Soil Contaminated with Crude Oil in Benin City, Nigeria. *Research & Reviews: Journal of Agricultural Science and Technology*, 5(1), 33-41. Recuperado de: [https://www.researchgate.net/publication/319483348\\_Bioremediation\\_Potential\\_of\\_Piggery\\_Manure\\_in\\_a\\_Soil\\_Contaminated\\_with\\_Crude\\_Oil\\_in\\_Benin\\_City\\_Nigeria](https://www.researchgate.net/publication/319483348_Bioremediation_Potential_of_Piggery_Manure_in_a_Soil_Contaminated_with_Crude_Oil_in_Benin_City_Nigeria)
- Alexander, M. (1994). *Introducción a la Microbiología del Suelo*. México: Editorial AGT SA.
- Arrieta, O. (2011). *Evaluación de la influencia del bioestímulo sobre un suelo contaminado con diésel y su integración a la gestión ambiental*. (tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia, Colombia.



- Bahadure, S., Kalia, R. & Chavan, R. (2013). Comparative Study of Bioremediation of Hydrocarbon Fuels *International Journal of Biotechnology and Bioengineering Research*, 4(7), 677-686. Recuperado de: [https://www.ripublication.com/ijbbr\\_spl/ijbbrv4n7spl\\_06.pdf](https://www.ripublication.com/ijbbr_spl/ijbbrv4n7spl_06.pdf)
- Benavides, A. y Plasencia, P. (2012). *Caracterización físico-química y biológica del abono líquido "Biol" obtenido por digestión anaerobia de tres sustratos orgánicos en Jayanca, Lambayeque*. (tesis de pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Boopathy, R. (2001). Factors limiting bioremediation technologies. *Bioresource Technology*, 74, 63–67. doi: 10.1016/S0960-8524(99)00144-3
- Buendía, H. (2012). Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante compost de aserrín y estiércol. *Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica*, 15(30), 123-130. Recuperado de: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/iigeo/article/download/4101/3268/0>
- Cabanillas, J. y Pisani, V. (2015). *Efecto de la bioaumentación y bioestimulación en la eficiencia de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo*. (tesis de pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Cárdenas, C., Araujo, I., Gómez, K., Bohórquez, M., Gómez, A., Angulo, N., Saules, L. y Morillo, G. (2010). Compostaje y fertilización en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. *Centro de Investigaciones Biológicas*, 44(2), 129-142.
- Carhuando, F. (2012). *Aprovechamiento del estiércol de gallina para la elaboración de biol en biodigestores tipo bach como propuesta de manejo de residuo avícola*. (tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.

- Carreño, C., Mendoza, G. y Villanueva, C. (2009). *Microbiología en el Tratamiento de desechos*. Lambayeque, Perú: Oficina Impresiones y Publicas, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- Chávez, B., Quintero, R., Esparza, F., Mesta, A., Zavala, F., Hernández, C. et al. (2003). *Eliminación de fenantreno del suelo por cocultivos de bacterias y hongos precrecidos en la médula de bagazo de caña de azúcar*. *Tecnología Bioambiental*. 89, 177-183.
- Chávez, G. (2010). *Eficiencia de la degradación de petróleo por Pseudomonas sp. nativa en terrenos a diferentes concentraciones y tiempos*. (tesis de maestría). Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Contreras, H. y Carreño, C. (2018). *Eficiencia de la biodegradación de hidrocarburos de petróleo por hongos filamentosos aislados de suelo contaminado*. *Revista de Investigación Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 1(1), 27-33. doi: 10.25127/ucni.v1i1.269.
- Coste, A., Sur, I. (2015). Influence of poultry manure and universal peat on the bioremediation of soil contaminated with diesel fuel. *ECOTERRA - Journal of Environmental Research and Protection*, 12(4), 26-31. Recuperado de: <http://www.ecoterra-online.ro/files/1456067500.pdf>
- Dirección General de Salud y Ambiente, DIGESA. (2006). Manual de Difusión Técnica N° 01: Gestión de los Residuos Peligrosos en el Perú. Recuperado de: <http://www.digesa.minsa.gob.pe/publicaciones/descargas/MANUAL%2520TECNICO%2520RESIDUOS.pdf>
- Essien, E., Ifeanchi, M. & Nwachukwu, G. (2015). The impact of Cow Dung Aumentation for Remediation of Crude Oil Polluted Soil by *Eleusine indica*. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 19(1), 103-107. doi: 10.4314/jasem.v19i1.14
- Ferreira, T., Santos, F. y Pessoa, F. (2013). Biorremediación de un suelo tropical contaminado con residuos aceitosos intemperizados. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29(1), 21-28. Recuperado de: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-49992013000100002&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992013000100002&lng=es&nrm=iso)

- Flores, S. y Benites, J. (2015). *Efecto del estiércol de cuy, porcino y vacuno en la biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos de diésel en terrarios*. (tesis de pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- García, N. y Aguirre, M. (2015). Biodegradación de petróleo por bacterias: algunos casos de estudio en el Golfo de México. *Contaminación e impacto ambiental: Diagnóstico y Tendencias*, 641-652.
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2014). *Metodología de la Investigación* (6ta ed.). México: Mc Graw, Hill Interamericana Editores S.A.
- Hernández, I., Navas, G. e Infante, C. (2017). Fitorremediación de un suelo contaminado con petróleo extrapesado con *Megathyrus maximus*. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33(3), 495-503. doi: 10.20937/RICA.2017.33.03.12
- Huapaya, R. (2011). *Métodos estándares de análisis microbiológicos de aguas*. Curso de Capacitación. 10 y 11 de diciembre 2011, Chiclayo, Perú.
- Instituto Nacional de Defensa Civil, INDECI. (2003). Plan de prevención ante desastres: Uso del suelo y medidas de mitigación ciudad de Puerto Eten. Recuperado de: [http://bvpad.indeci.gob.pe/doc/estudios\\_CS/Region\\_lambayeque/chiclayo/eten.pdf](http://bvpad.indeci.gob.pe/doc/estudios_CS/Region_lambayeque/chiclayo/eten.pdf).
- León, S. (2016). *Evaluación del potencial biorremediadores de dos especies vegetales Paspalum millegrana L. y Bidens pilosa L. para remediar suelos contaminados por hidrocarburos provenientes de la lavadora y lubricadora Marifer, Cantón, Zamora*. (Tesis de pregrado). Universidad nacional de Loja, Zamora, Ecuador.
- Llanos, C. (2012). *Eficiencia de la biorremediación de suelos contaminados con petróleo por bacterias nativas en el distrito de Pimentel, departamento de Lambayeque, 2011*. (tesis de pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.

- Manzano, F., Hernández, Q. y Zapata, A. (2010). Aprovechamiento del estiércol de vacuno para la biorremediación ex situ de suelos contaminados por diésel en México. *Información Técnica Económica Agraria*, 106(3), 197-207. Recuperado de: [https://www.researchgate.net/publication/264852600\\_Aprovechamiento\\_del\\_estiercol\\_de\\_vacuno\\_para\\_la\\_biorremediacion\\_ex\\_situ\\_de\\_suelos\\_contaminados\\_por\\_diesel\\_en\\_Mexico](https://www.researchgate.net/publication/264852600_Aprovechamiento_del_estiercol_de_vacuno_para_la_biorremediacion_ex_situ_de_suelos_contaminados_por_diesel_en_Mexico)
- Medrano, H. (2006). Biorremediación para la contaminación ambiental agropecuaria. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 5(2), 117-130. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=455545070002>
- Mena, M. (2009). *Estándares de gestión medio ambiental en talleres de mecánica automotriz*. (tesis de pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
- Naowasarn, S. & Leungprasert, S. (2016). Bioremediation of Oilcontaminated Soil Using Chicken Manure. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 25(7), 739-756. doi: 10.1080/15320383.2016.1213699
- Nwogu, T., Azubuike, C. & Ogugbue, C. (2015). Enhanced Bioremediation of Soil Artificially Contaminated with Petroleum Hydrocarbons after Amendment with *Capra aegagrus hircus* (Goat) Manure. *Biotechnology Research International*, 2015, 1-7 doi: 10.1155/2015/657349
- Ordaz, J., Martínez, A., Ramos, F., Sánchez, F., Martínez, A., Tenorio, J. y Cueva, M. (2011). Biorremediación de un suelo contaminado con petróleo mediante el empleo de bagazo de caña de azúcar con diferentes tamaños de partícula. *Multiciencias*, 11 (2), 136-145. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90419195004>
- Oyedele, A. & Amoo, I. (2014). Remediation Of Crude Oil Polluted Soil Using Cow Dung Manure In Relations To The Growth Of Maize (*Zea mays* L.). *Canadian Open Agricultural and Soil Science Journal*, 1(1), 1-16. Recuperado de: [http://www.crpublish.com/Canadian%20Open%20Agricultural%20and%20Soil%20Science%20Journal/COASSJ\\_Vol.%201,%20No.%201,%20December%202014/REMEDIATION.pdf](http://www.crpublish.com/Canadian%20Open%20Agricultural%20and%20Soil%20Science%20Journal/COASSJ_Vol.%201,%20No.%201,%20December%202014/REMEDIATION.pdf)

- Parés, R., y Juárez, A. (1997). *Bioquímica de los microorganismos*. Editorial Reverté. España.
- Pérez, J., Viguera, S., Gómez, O. y Calva, G. (2015). Degradación microbiana con BFNA de hidrocarburos aromáticos por bioaumentación en biopilas. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 46(4), 416-423.
- Ponce, D. (2014). *Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos*. (tesis de pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Rodríguez, C. (2012). *Producción de biogás a partir de bagazo cervecero* (Tesis de pregrado). Universidad de Chile, Santiago, Chile. Recuperado de: <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/114955/Memoria%2520de%2520T%25C3%25ADtulo%2520Carlos%2520Rodr%25C3%25ADguez%2520final.pdf>
- Salas, T. y Meza, V. (2011). *Compost de etiquetas de cerveza. Evaluación de la fitotoxicidad en semillas*. Segundo Simposium de Residuos Sólidos en el Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Samanez, E. (2008). *Biodegradación bacteriana por bioestimulación en suelos contaminado por petróleo crudo* (tesis de maestría). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
- Silva, G. (2011). *Biorremediación en hábitats contaminados con hidrocarburos. Estudio de los parámetros indicadores de la viabilidad de los procesos de biorremediación*. (tesis de doctorado). Universidad de Granada, España.
- Singh, R. (2017). Introduction to Environmental Biotechnology. En: Principles and Applications of Environmental Biotechnology for a Sustainable Future. R.L. Singh (ed.), pp 1-12. Springer, Singapore.
- Solanas, A. (2009). La biodegradación de hidrocarburos y su aplicación en la biorremediación de suelos. *Estudios en la Zona no saturada del suelo*, 11, 1-8.
- Torres, K. y Zuluaga, T. (2001). *Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos*. Universidad Nacional de Colombia, Colombia.

- Trujillo, M. y Ramírez, J. (2012). Biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos en Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 3(2), 37-62. Recuperado de: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5344956.pdf>
- Udebuani, A., Okoli, C., Nwigwe, H. & Ozoh, P. (2012). The value of animal manure in the enhancement of bioremediation processes in petroleum hydrocarbon contaminated agricultural soils. *Journal of Agricultural Technology* 2012 8(6), 1935-1952. Recuperado de: [http://www.ijat-aatsea.com/pdf/v8\\_n6\\_12\\_November/7\\_IJAT\\_2012\\_8\(6\)\\_Angela%20C\\_7\\_Dr.%20Chales\\_Feb\\_2012\\_Biotechnology.pdf](http://www.ijat-aatsea.com/pdf/v8_n6_12_November/7_IJAT_2012_8(6)_Angela%20C_7_Dr.%20Chales_Feb_2012_Biotechnology.pdf)
- Udoye, M., Okpala, K., Osoka, E., Obijiaku, J., Ogah, A. & Chukwu, M. (2017). Modeling a Bioremediation Process of a Petroleum Contaminated Soil Enhanced With NPK Fertilizer and Animal/Plant Derived Organic Manure. *International Research Journal of Advanced Engineering and Science*, 2(4), 87-97. Recuperado de: <http://www.irjaes.com/pdf/V2N4Y17-IRJAES/IRJAES-V2N4P152Y17.pdf>
- Valle, M. (2014). *Análisis y evaluación de la biodegradación de petróleo crudo, a nivel de laboratorio mediante bacterias nativas aisladas de suelo de la provincia de Sucumbío, Cantón Lago Agrio, Ecuador*. Universidad de las Fuerzas Armadas, ESPE, Ecuador.
- Villarreal, S., Balagurusamy, N., Rodríguez, R., Aguilar, C. y Morlett, J. (2014). Biodegradación anaerobia de hidrocarburos aromáticos contaminantes del medio ambiente y alimentos. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 6(11), 28-39.
- Viñas, M. (2005). *Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos: caracterización microbiológica, química y ecotoxicológica*. (Tesis de Doctorado). Universidad de Barcelona, España.

## **ANEXOS**

## ANEXO 1

### Medios de cultivo (en Contreras y Carreño, 2018)

#### Caldo Bushnell Haas (gL<sup>-1</sup>)

KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	1,0
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	1,0
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>2</sub> .....	1,0
MgSO <sub>4</sub> .....	0,20
Cl <sub>2</sub> Ca .....	0,02
FeCl <sub>3</sub> .....	0,005
Agua destilada .....	1000mL
pH .....	7,0



## ANEXO 2

### Cálculo del fertilizante químico para la biorremediación de suelo contaminado con residuos aceitosos

Se requiere aplicar 10 UN y 1UP (100C:10N:1P)

#### a) Cálculo de FDA (18%N – 46%)

$$100 \text{ kg FDA} \rightarrow 46 \text{ U/P}$$

$$x \rightarrow 1 \text{ U/P}$$

---

$$x = 2,174 \text{ kg FDA.ha}^{-1}$$

$$x = 0,217 \text{ g FDA. m}^2$$

#### Adición por terrario:

$$0,217 \text{ g FDA} \rightarrow 1 \text{ m}^2$$

$$x \rightarrow 0,112 \text{ m}^2$$

---

$x = 0,024 \text{ g FDA}$

$$100 \text{ kg FDA} \rightarrow 18 \text{ U/N}$$

$$0,000024 \text{ kg FDA} \rightarrow x$$

---

$$x = 0,000024 \text{ kg N}$$

$x = 0,004 \text{ g N FDA}$

#### b) Cálculo de Urea (46% N)

$$100 \text{ kg urea} \rightarrow 46 \text{ U/N}$$

$$x \rightarrow 10 \text{ U/N}$$

---

$$x = 21,739 \text{ kg urea. ha}^{-1}$$

$$x = 2,1739 \text{ g urea. m}^2$$

#### Adición por terrario:

$$2,174 \text{ g urea} \rightarrow 1 \text{ m}^2$$

$$x \rightarrow 0,112 \text{ m}^2$$

---

$x = 0,239 \text{ g N}$

$$0,239 \text{ g N (urea)} - 0,004 \text{ g N (FDA)}$$

$x = 0,235 \text{ g urea}$

### ANEXO 3

#### Temperaturas registradas durante la fitorremediación

Fecha	Temperatura mínima (°C)	Temperatura media (°C)	Temperatura máxima (°C)
01/11/2018	18	21	24
02/11/2018	17	21	24
03/11/2018	17	19	20
04/11/2018	17	20	22
05/11/2018	17	21	23
06/11/2018	16	21	23
07/11/2018	16	20	21
08/11/201	16	21	23
09/11/2018	17	22	24
10/11/2018	18	22	25
11/11/2018	17	21	24
12/11/2018	16	22	24
13/11/2018	16	18	22
14/11/2018	17	19	22
15/11/2018	16	20	23
16/11/2018	16	21	23
17/11/2018	16	21	22
18/11/2018	16	20	21
19/11/2018	16	21	23
20/11/2018	16	20	21
21/11/2018	17	20	21
22/11/2018	17	22	24
23/11/2018	17	20	21

24/11/2018	17	21	23
25/11/2018	17	21	23
26/11/2018	17	22	24
27/11/2018	16	21	23
28/11/2018	16	21	23
29/11/2018	16	21	24
30/11/2018	16	20	23
31/11/2018	16	22	24
01/12/2018	16	21	23
02/12/2018	16	22	24
03/12/2018	16	22	24
04/12/2018	16	21	23
05/12/2018	16	21	23
06/12/2018	16	21	23
07/12/2018	16	22	24
08/12/2018	17	22	24
09/12/2018	17	22	24
10/12/2018	16	21	23
11/12/2018	17	22	23
12/12/2018	16	21	23
13/12/2018	16	21	23
14/12/2018	16	22	24
15/12/2018	16	20	23
16/12/2018	16	20	23
17/12/2018	16	21	24
18/12/2018	16	23	25

19/12/2018	16	21	23
20/12/2018	16	18	20
21/12/2018	15	18	22
22/12/2018	15	18	22
23/12/2018	16	19	22
24/12/2018	16	21	23
25/12/2018	16	21	24
26/12/2018	16	21	23
27/12/2018	16	22	24
28/12/2018	16	21	23
29/12/2018	16	20	22
30/12/2018	16	20	22
01/01/2019	27	27	33
02/01/2019	24	25	32
03/01/2019	24	26	32
04/01/2019	24	23	31
05/01/2019	24	25	32
06/01/2019	24	27	31
07/01/2019	23	24	32
08/01/2019	23	25	31
09/01/2019	23	25	30
10/01/2019	24	27	31
11/01/2019	24	25	31
12/01/2019	24	25	32
13/01/2019	24	27	31
14/01/2019	24	27	29

15/01/2019	24	26	31
16/01/2019	25	27	31
17/01/2019	25	27	34
18/01/2019	25	27	32
19/01/2019	24	27	32
20/01/2019	25	27	31
21/01/2019	24	26	31
22/01/2019	24	27	32
23/01/2019	24	28	31
24/01/2019	24	28	31
25/01/2019	23	27	31
26/01/2019	25	29	32
27/01/2019	24	28	32
28/01/2019	24	29	33
29/01/2019	24	27	30
30/01/2019	24	27	30
31/01/2019	23	27	31
01/02/2019	23	28	32
02/02/2019	23	28	33
03/02/2019	24	29	33
04/02/2019	25	29	33
05/02/2019	24	27	30
06/02/2019	24	28	32
07/02/2019	24	28	32
08/02/2019	24	29	33
09/02/2019	23	26	29

10/02/2019	25	28	31
11/02/2019	25	28	30
12/02/2019	25	28	30
13/02/2019	23	27	30
14/02/2019	24	29	33
15/02/2019	24	29	33
16/02/2019	24	28	32
17/02/2019	23	27	31
18/02/2019	24	28	32
19/02/2019	24	28	32
20/02/2019	24	28	32
21/02/2019	25	28	30
22/02/2019	25	28	31
23/02/2019	24	27	29
24/02/2019	24	29	33
25/02/2019	24	29	34
26/02/2019	24	29	34
27/02/2019	24	29	33
28/02/2019	23	27	31

## ANEXO 4

### Análisis físico-químico del suelo



#### LABORATORIO DE AGUAS Y SUELOS

Tipo de Análisis

COMPLETO

Muestras

Suelos - 1

Nombre

MARIA CECILIA ALCANTARA ANDONAIRE

Procedencia

CHICLAYO

Fecha Emisión

11/01/2019

MUESTRA	Extracto saturado								
	pH	C. elec mhos/cm	M.O %	P ppm	K ppm	CaCO3 %	Texturas (%)		
							Ao	Lo	Ar
TIERRA CON PETROLEO	7.40	11.32	7.80	15.20	437	1.42	67	15	18
									Tipo suelo
									FRANCO ARENOSO

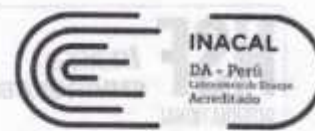
MUESTRA	Sodio Intercamb.	C I C	PSI	% de SATURACION	Tipo de Suelo
	meq/100 grs	meq/100 grs	%		
TIERRA CON PETROLEO	1.707	15.606	10.933	30.325	SALINO POTENCIAL SODICO

Resultado: Muestra con pH de reacción ligeramente alcalina y niveles medios de salinidad y de Sodio Intercambiable, caracterizando a la muestra de Salino Potencial Sódica. Los valores de salinidad(11.32 mhos/cm) y Sodio intercambiable( 1.707 meq/100g) pueden originar problemas de quemaduras o afectar la germinación o rendimiento de cultivos sensibles. La fertilidad natural presenta buen tenor de Materia Orgánica y altos niveles de Fósforo y Potasio, siendo el Carbonato de Calcio de valor medio. La textura es del tipo Franco Arenoso de baja retención de humedad, incorporar material orgánico para que el suelo sea más retentivo.

  
 ING. DANTE BOLIVIA DIAZ  
 Jefe Laboratorio de Química y Suelos  
 Inst. Nal. de Química y Suelos

## ANEXO 5

### Análisis químico del suelo



Registro N° LE - 001

#### Información General

Matriz: Suelo

Solicitud de Análisis: Cotización N° 39172 (Nov-395)

Muestreado por: Cliente

Procedencia: Taller de Reparación Automotriz

Identificación de Laboratorio: S-0001547740  
 Tipo de Muestra: Suelo  
 Identificación de Muestra: Suelo  
 Fecha y Hora de Muestreo: 2018-11-18 11:00  
 Fecha de Recepción de la Muestra: 2018-11-21  
 Fecha de Inicio de análisis: 2018-11-27

Análisis	Resultado	Unidad
<b>Química</b>		
*Aceites y Grasas. Suelo, Sedimento y Lodo. SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 5520 E, 22nd Ed 2012. Extraction Method for Sludge Samples		
Aceites Y Grasas	147.340	mg/Kg
*PAH's. Suelo. EPA Method 8270 E, Revised 6, February 2017. Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography /Mass Spectrometry (GC/MS)		
Naphthalene	N.C.(<0.049)	mg/Kg
Acenaphthylene	N.C.(<0.053)	mg/Kg
Acenaphthene	N.C.(<0.052)	mg/Kg
Fluorene	0.11	mg/Kg
Phenanthrene	1.2	mg/Kg
Anthracene	N.C.(<0.049)	mg/Kg
Fluoranthene	0.12	mg/Kg
Pyrene	0.53	mg/Kg
Benzo(a)Anthracene	N.C.(<0.051)	mg/Kg
Chrysene	0.43	mg/Kg
Benzo(b)Fluoranthene	N.C.(<0.051)	mg/Kg
Benzo(k)Fluoranthene	0.052	mg/Kg
Benzo(a)Pyrene	N.C.(<0.050)	mg/Kg
Indeno(1,2,3-cd)Pyrene	N.C.(<0.052)	mg/Kg
Dibenzo(a,h)Anthracene	N.C.(<0.053)	mg/Kg
Benzo(ghi)Perylene	0.055	mg/Kg
Hidrocarburos (C10-C28). Suelo, Sedimento y Lodo EPA Method 8015C, Revision 3, February 2007. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography		
Hidrocarburos (C10-C28)	14.443	mg/Kg
Hidrocarburos (C28-C40). Suelo, Sedimento y Lodo EPA Method 8015C, Revision 3, February 2007. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography		
Hidrocarburos (C28-C40)	15.240	mg/Kg
Hidrocarburos, Fracción 1 (C6-C10). Suelo. EPA Method 8015 C, Revision 3, February 2007 Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography		
Hidrocarburos (C6-C10)	N.C.(<19)	mg/Kg

#### Notas de Ensayo:

N.C.: Significa que el resultado es No Cuantificable y es menor al Límite de Cuantificación indicado en el paréntesis.

F120181204184716

J-00321178

pág 2 de 3

El presente informe no podrá ser reproducido parcial o totalmente excepto con la aprobación por escrito de NSF Inassa. Solamente los documentos originales son válidos y NSF Inassa no se responsabiliza por la validez de las copias. Estos resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas del producto ni la autorización de uso de la Marca NSF. Los resultados se refieren únicamente a los elementos analizados, en la condición de muestra recibida por el laboratorio.



## ANEXO 6

*Niveles de fitotoxicidad del suelo contaminado con residuos aceitosos al momento del establecimiento de los microcosmos*

Toxicidad en *Raphanus sativus* L. "rabanito"

Tratamientos	r1		r2		r3	
	Índice de germinación (%)	Fitotoxicidad (Nivel)	Índice de germinación (%)	Fitotoxicidad (Nivel)	Índice de germinación (%)	Fitotoxicidad (Nivel)
Testigo absoluto (T1)	3,35	Severo	1,00	Severo	2.51	Severo
Testigo químico (T2)	1,00	Severo	2,12	Severo	0,72	Severo
Testigo abiótico (T3)	0,00	Severo	0,00	Severo	0,00	Severo
Estiércol de cerdo (T4)	1,08	Severo	2,45	Severo	0.60	Severo
Estiércol de cuy (T5)	1,20	Severo	1,02	Severo	0.00	Severo
Estiércol de vacuno (T6)	0,12	Severo	0,20	Severo	0.00	Severo
Estiércol de cerdo + FQ (T7)	0,00	Severo	0,00	Severo	0.00	Severo
Estiércol de cuy + FQ (T8)	0,00	Severo	0,67	Severo	0.38	Severo
Estiércol de vacuno + FQ (T9)	0,11	Severo	0,00	Severo	0.00	Severo

Autoría propia

## ANEXO 7

*Niveles de fitotoxicidad del suelo contaminado con residuos aceitosos después de 30 días en microcosmos*

Tratamientos	Toxicidad en <i>Raphanus sativus</i> L. "rabanito"					
	r1		r2		r3	
	Índice de germinación (%)	Fitotoxicidad (Nivel)	Índice de germinación (%)	Fitotoxicidad (Nivel)	Índice de germinación (%)	Fitotoxicidad (Nivel)
Testigo absoluto (T1)	4,93	Severo	3,00	Severo	4,35	Severo
Testigo químico (T2)	1,20	Severo	3,08	Severo	2,11	Severo
Testigo abiótico (T3)	0,00	Severo	0,00	Severo	0,00	Severo
Estiércol de cerdo (T4)	3,33	Severo	3,00	Severo	2,13	Severo
Estiércol de cuy (T5)	1,78	Severo	2,78	Severo	1,00	Severo
Estiércol de vacuno (T6)	0,39	Severo	0,55	Severo	0,20	Severo
Estiércol de cerdo + FQ (T7)	0,00	Severo	0,08	Severo	0,00	Severo
Estiércol de cuy + FQ (T8)	0,00	Severo	1,95	Severo	1,95	Severo
Estiércol de vacuno + FQ (T9)	0,52	Severo	0,00	Severo	0,00	Severo

Autoría propia

## ANEXO 8

*Niveles de fitotoxicidad del suelo contaminado con residuos aceitosos después de 60 días en microcosmos*

Tratamientos	Toxicidad en <i>Raphanus sativus</i> L. "rabanito"					
	r1		r2		r3	
	Índice de germinación (%)	Fitotoxicidad (Nivel)	Índice de germinación (%)	Fitotoxicidad (Nivel)	Índice de germinación (%)	Fitotoxicidad (Nivel)
Testigo absoluto (T1)	0,71	Severo	0,00	Severo	0,00	Severo
Testigo químico (T2)	10,03	Severo	12,29	Severo	11,28	Severo
Testigo abiótico (T3)	0,22	Severo	1,73	Severo	1,44	Severo
Estiércol de cerdo (T4)	1,18	Severo	1,15	Severo	2,92	Severo
Estiércol de cuy (T5)	35,94	Severo	34,48	Severo	34,19	Severo
Estiércol de vacuno (T6)	34,60	Severo	33,73	Severo	33,42	Severo
Estiércol de cerdo + FQ (T7)	2,00	Severo	1,35	Severo	1,32	Severo
Estiércol de cuy + FQ (T8)	7,01	Severo	6,16	Severo	5,56	Severo
Estiércol de vacuno + FQ (T9)	25,72	Severo	25,42	Severo	26,48	Severo

Autoría propia

## ANEXO 9

*Niveles de fitotoxicidad del suelo contaminado con residuos aceitosos después de 90 días en microcosmos*

Tratamientos	Toxicidad en <i>Raphanus sativus</i> L. "rabanito"					
	r1		r2		r3	
	Índice de germinación (%)	Fitotoxicidad (Nivel)	Índice de germinación (%)	Fitotoxicidad (%)	Índice de germinación (%)	Fitotoxicidad (nivel)
Testigo absoluto (T1)	6,20	Severo	6,83	Severo	7,17	Severo
Testigo químico (T2)	23,94	Severo	24,30	Severo	23,46	Severo
Testigo abiótico (T3)	1,05	Severo	2,22	Severo	2,19	Severo
Estiércol de cerdo (T4)	6,40	Severo	7,63	Severo	6,99	Severo
Estiércol de cuy (T5)	55,74	Moderado	54,30	Moderado	53,99	Moderado
Estiércol de vacuno (T6)	53,86	Moderado	52,36	Moderado	53,03	Moderado
Estiércol de cerdo + FQ (T7)	8,84	Severo	6,49	Severo	7,10	Severo
Estiércol de cuy + FQ (T8)	28,96	Severo	28,71	Severo	29,49	Severo
Estiércol de vacuno + FQ (T9)	42,89	Severo	42,50	Severo	43,03	Severo

Autoría propia

## ANEXO 10

*Niveles de fitotoxicidad del suelo contaminado con residuos aceitosos después de 120 días en microcosmos*

Tratamientos	Toxicidad en <i>Raphanus sativus</i> L. "rabanito"					
	r1		r2		r3	
	Índice de germinación (%)	Fitotoxicidad (Nivel)	Índice de germinación (%)	Fitotoxicidad (%)	Índice de germinación (%)	Fitotoxicidad (nivel)
Testigo absoluto (T1)	10,02	Severo	9,37	Severo	10,28	Severo
Testigo químico (T2)	30,97	Severo	31,72	Severo	30,22	Severo
Testigo abiótico (T3)	6,40	Severo	7,24	Severo	6,05	Severo
Estiércol de cerdo (T4)	10,02	Severo	11,24	Severo	9,54	Severo
Estiércol de cuy (T5)	84,97	Bajo	83,80	Bajo	85,47	Bajo
Estiércol de vaca (T6)	68,40	Moderado	68,24	Moderado	67,70	Moderado
Estiércol de cerdo +FQ (T7)	18,20	Severo	17,20	Severo	17,60	Severo
Estiércol de cuy + FQ (T8)	56,20	Moderado	55,30	Moderado	55,10	Moderado
Estiércol de vaca + FQ (T9)	54,60	Moderado	56,30	Moderado	53,80	Moderado

Autoría propia

## ANEXO 11

### Análisis del suelo después de 120 días de biorremediación



#### Información General

Matriz: Suelo  
 Solución de Análisis: Coligación N° 40656 (Abr-166)  
 Muestreado por: Cliente  
 Procedencia: Chiclayo

Identificación de Laboratorio: S-0001597021  
 Tipo de Muestra: Suelo  
 Identificación de Muestra: Muestra 1  
 Fecha y Hora de Muestreo: 2013-04-12 10:00  
 Fecha de Recepción de la Muestra: 2013-04-15  
 Fecha de Inicio de análisis: 2013-05-02

Análisis	Resultado	Unidad
<b>Química</b>		
■ Material extractable al hexano, Suelo, Sedimento y Lodo. EPA 9071B; Rev 2; 1995. n-Hexane Extractable Material (HEM) for Sludge, Sediment, and Solid Samples.		
Material extractable al hexano (ArG)	86.293	mg/Kg

Identificación de Laboratorio: S-0001597022  
 Tipo de Muestra: Suelo  
 Identificación de Muestra: Muestra 2  
 Fecha y Hora de Muestreo: 2013-04-12 10:00  
 Fecha de Recepción de la Muestra: 2013-04-15  
 Fecha de Inicio de análisis: 2013-05-02

Análisis	Resultado	Unidad
<b>Química</b>		
■ Material extractable al hexano, Suelo, Sedimento y Lodo. EPA 9071B; Rev 2; 1995. n-Hexane Extractable Material (HEM) for Sludge, Sediment, and Solid Samples.		
Material extractable al hexano (ArG)	51.735	mg/Kg

Identificación de Laboratorio: S-0001597023  
 Tipo de Muestra: Suelo  
 Identificación de Muestra: Muestra 3  
 Fecha y Hora de Muestreo: 2013-04-12 10:00  
 Fecha de Recepción de la Muestra: 2013-04-15  
 Fecha de Inicio de análisis: 2013-05-02

Análisis	Resultado	Unidad
<b>Química</b>		
■ Material extractable al hexano, Suelo, Sedimento y Lodo. EPA 9071B; Rev 2; 1995. n-Hexane Extractable Material (HEM) for Sludge, Sediment, and Solid Samples.		
Material extractable al hexano (ArG)	23.622	mg/Kg

FQ20190502150830

ER12-2; Versión 00; 2015-10-22; Documento de referencia PER12-1

J-00332866

pág 2 de 4

El presente informe no podrá ser reproducido parcial o totalmente excepto con la aprobación por escrito de NSF Inassa. Solamente los documentos originales son válidos y NSF Inassa no se responsabiliza por la validez de las copias. Estos resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas del producto ni la autorización de uso de la Marca NSF. Los resultados se refieren únicamente a los elementos analizados, en la condición de muestra recibida por el laboratorio.

Identificación de Laboratorio: S-0001597024  
 Tipo de Muestra: Suelo  
 Identificación de Muestra: Muestra 4  
 Fecha y Hora de Muestreo: 2019-04-12 10:00  
 Fecha de Recepción de la Muestra: 2019-04-15  
 Fecha de Inicio de análisis: 2019-05-02

Análisis	Resultado	Unidad
<b>Química</b>		
§ Material extraíble al hexano: Suelo, Sedimento y Lodo. EPA 9071B; Rev 2; 1995. n-Hexane Extractable Material (HEM) for Slugs, Sediment, and Solid Samples.		
Material extraíble al hexano (A <sub>50</sub> )	27.605	mg/Kg

## ANEXO 12

### IndiceGer-0diasx2

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
IndiceGer-0diasx2	27	0.74	0.63	4.22

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.21	8	0.03	6.45	0.0005
Tratamientos	0.21	8	0.03	6.45	0.0005
Error	0.07	18	4.0E-03		
Total	0.28	26			

### Contrastes

Tratamientos	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor
Estier vsEst+Fq	0.23	0.09	0.03	1	0.03	6.66	0.0188
Total			0.03	1	0.03	6.66	0.0188

### Coeficientes de los contrastes

Tratamientos	Ct.1
Estiércol de cerdo (T4)	1.00
Estiércol de cerdo + FQ (T..	-1.00
Estiércol de cuy (T5)	1.00
Estiércol de cuy + FQ (T8)..	-1.00
Estiércol de vacuno (T6)	1.00
Estiércol de vacuno + FQ (..	-1.00
Testigo abiótico (formalde..	0.00
Testigo absoluto (agua) (T..	0.00
Testigo químico (NPK) (T2)..	0.00

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.18120

Error: 0.0040 gl: 18

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
Testigo absoluto (agua) (T..	1.67	3	0.04	A
Estiércol de cerdo (T4)	1.59	3	0.04	A B
Testigo químico (NPK) (T2)..	1.58	3	0.04	A B
Estiércol de cuy (T5)	1.52	3	0.04	A B
Estiércol de cuy + FQ (T8)..	1.47	3	0.04	B
Estiércol de vacuno (T6)	1.43	3	0.04	B
Estiércol de vacuno + FQ (..	1.42	3	0.04	B
Estiércol de cerdo + FQ (T..	1.41	3	0.04	B
Testigo abiótico (formalde..	1.41	3	0.04	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )



## ANEXO 13

### IndiceGer-30 diasX2

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
IndiceGer-30 diasX2	27	0.86	0.79	4.27

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.48	8	0.06	13.38	<0.0001
Tratamientos	0.48	8	0.06	13.38	<0.0001
Error	0.08	18	4.5E-03		
Total	0.56	26			

### Contrastes

Tratamientos	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor
Estier vsEst+Fq	0.40	0.09	0.08	1	0.08	17.38	0.0006
Total			0.08	1	0.08	17.38	0.0006

### Coefficientes de los contrastes

Tratamientos	Ct.1
Estiércol de cerdo (T4)	1.00
Estiércol de cerdo + FQ (T..	-1.00
Estiércol de cuy (T5)	1.00
Estiércol de cuy + FQ (T8)..	-1.00
Estiércol de vacuno (T6)	1.00
Estiércol de vacuno + FQ (...)	-1.00
Testigo abiótico (formalde..	0.00
Testigo absoluto (agua) (T..	0.00
Testigo químico (NPK) (T2)..	0.00

### Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.19182

Error: 0.0045 gl: 18

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
Testigo absoluto (agua) (T..	1.80	3	0.04	A
Estiércol de cerdo (T4)	1.72	3	0.04	A B
Testigo químico (NPK) (T2)..	1.66	3	0.04	A B C
Estiércol de cuy (T5)	1.63	3	0.04	A B C
Estiércol de cuy + FQ (T8)..	1.57	3	0.04	B C D
Estiércol de vacuno (T6)	1.47	3	0.04	C D
Estiércol de vacuno + FQ (...)	1.44	3	0.04	D
Estiércol de cerdo + FQ (T..	1.42	3	0.04	D
Testigo abiótico (formalde..	1.41	3	0.04	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

## ANEXO 14

### IndiceGer-60 diasX2

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
IndiceGer-60 diasX2	27	0.99	0.99	2.64

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	5.57	8	0.70	248.65	<0.0001
Tratamientos	5.57	8	0.70	248.65	<0.0001
Error	0.05	18	2.8E-03		
Total	5.62	26			

### Contrastes

Tratamientos	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor
Estier vsEst+Fq		0.88	0.07	0.38	1	0.38	137.47 <0.0001
Total			0.38	1	0.38	137.47	<0.0001

### Coefficientes de los contrastes

Tratamientos	Ct.1
Estiércol de cerdo (T4)	1.00
Estiércol de cerdo + FQ (T..	-1.00
Estiércol de cuy (T5)	1.00
Estiércol de cuy + FQ (T8)..	-1.00
Estiércol de vacuno (T6)	1.00
Estiércol de vacuno + FQ (...)	-1.00
Testigo abiótico (formalde..	0.00
Testigo absoluto (agua) (T..	0.00
Testigo químico (NPK) (T2)..	0.00

### Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.15138

Error: 0.0028 gl: 18

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
Estiércol de cuy (T5)	2.64	3	0.03	A
Estiércol de vacuno (T6)	2.63	3	0.03	A B
Estiércol de vacuno + FQ (...)	2.49	3	0.03	B
Testigo químico (NPK) (T2)..	2.12	3	0.03	C
Estiércol de cuy + FQ (T8)..	1.92	3	0.03	D
Estiércol de cerdo (T4)	1.62	3	0.03	E
Estiércol de cerdo + FQ (T..	1.61	3	0.03	E
Testigo abiótico (formalde..	1.56	3	0.03	E F
Testigo absoluto (agua) (T..	1.45	3	0.03	F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

## ANEXO 15

### IndiceGer-90 diasX2

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
IndiceGer-90 diasX2	27	1.00	1.00	1.31

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	5.38	8	0.67	716.26	<0.0001
Tratamientos	5.38	8	0.67	716.26	<0.0001
Error	0.02	18	9.4E-04		
Total	5.39	26			

### Contrastes

Tratamientos	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor
Estier vsEst+Fq		0.47	0.04	0.11	1	0.11	119.41 <0.0001
Total			0.11	1	0.11	119.41	<0.0001

### Coefficientes de los contrastes

Tratamientos	Ct.1
Estiércol de cerdo (T4)	1.00
Estiércol de cerdo + FQ (T..	-1.00
Estiércol de cuy (T5)	1.00
Estiércol de cuy + FQ (T8)..	-1.00
Estiércol de vacuno (T6)	1.00
Estiércol de vacuno + FQ (...)	-1.00
Testigo abiótico (formalde..	0.00
Testigo absoluto (agua) (T..	0.00
Testigo químico (NPK) (T2)..	0.00

### Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.08764

Error: 0.0009 gl: 18

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
Estiércol de cuy (T5)	2.91	3	0.02	A
Estiércol de vacuno (T6)	2.89	3	0.02	A
Estiércol de vacuno + FQ (...)	2.76	3	0.02	B
Estiércol de cuy + FQ (T8)..	2.55	3	0.02	C
Testigo químico (NPK) (T2)..	2.45	3	0.02	D
Estiércol de cerdo + FQ (T..	1.98	3	0.02	E
Estiércol de cerdo (T4)	1.96	3	0.02	E
Testigo absoluto (agua) (T..	1.94	3	0.02	E
Testigo abiótico (formalde..	1.63	3	0.02	F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

## ANEXO 16

### IndiceGer-120 diasX2

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
IndiceGer-120 diasX2	27	1.00	1.00	0.68

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	5.47	8	0.68	2265.92	<0.0001
Tratamientos	5.47	8	0.68	2265.92	<0.0001
Error	0.01	18	3.0E-04		
Total	5.47	26			

### Contrastes

Tratamientos	Contraste	E.E.	SC	gl	CM	F	p-valor
Estier vsEst+Fq		0.20	0.02	0.02	1	0.02	69.65 <0.0001
Total			0.02	1	0.02	69.65	<0.0001

### Coefficientes de los contrastes

Tratamientos	Ct.1
Estiércol de cerdo (T4)	1.00
Estiércol de cerdo + FQ (T..	-1.00
Estiércol de cuy (T5)	1.00
Estiércol de cuy + FQ (T8)..	-1.00
Estiércol de vacuno (T6)	1.00
Estiércol de vacuno + FQ (...)	-1.00
Testigo abiótico (formalde..	0.00
Testigo absoluto (agua) (T..	0.00
Testigo químico (NPK) (T2)..	0.00

### Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.04968

Error: 0.0003 gl: 18

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
Estiércol de cuy (T5)	3.20	3	0.01	A
Estiércol de vacuno (T6)	3.05	3	0.01	B
Estiércol de cuy + FQ (T8)..	2.92	3	0.01	C
Estiércol de vacuno + FQ (...)	2.91	3	0.01	C
Testigo químico (NPK) (T2)..	2.58	3	0.01	D
Estiércol de cerdo + FQ (T..	2.31	3	0.01	E
Estiércol de cerdo (T4)	2.09	3	0.01	F
Testigo absoluto (agua) (T..	2.07	3	0.01	F
Testigo abiótico (formalde..	1.94	3	0.01	G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )