

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL



**USO DE MICROORGANISMOS DEL ESTIÉRCOL DE *Cavia porcellus* L.
(CUY) CON POTENCIAL DE BIODEGRADACIÓN DEL PETRÓLEO
BIODIESEL A NIVEL DE LABORATORIO DE LA UNAS-TINGO MARÍA**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AMBIENTAL

PRESENTADO POR:

PASCAL CASTILLO MARLON ITALO

2020



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María – Perú

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 007-2021-FRNR-UNAS

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 23 de diciembre de 2020, a horas 08:20 a.m. en la en la Sala Virtual de Conferencias Microsoft Teams de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental de la Facultad de Recursos Naturales Renovables para calificar la Tesis titulada:

“USO DE MICROORGANISMOS DEL ESTIÉRCOL DE *Cavia porcellus* L. (CUY) CON POTENCIAL DE BIODEGRADACIÓN DEL PETRÓLEO BIODIESEL A NIVEL DE LABORATORIO DE LA UNAS-TINGO MARÍA”

Presentado por el Bachiller: **PASCAL CASTILLO, Marlon Italo**, después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara **APROBADA** con el calificativo de **“MUY BUENO”**

En consecuencia, el sustentante queda apto para optar el Título de **INGENIERO AMBIENTAL**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para el otorgamiento del Título correspondiente.

Tingo María, 18 de Marzo de 2021

Dr. Luis Eduardo ORÉ CIERTO
PRESIDENTE



Ing. M. Sc. José Luis PAREDES SALAZAR
MIEMBRO

Ing. M. Sc. Victor M. BETETA ALVARADO
MIEMBRO

Ing. M. Sc. Franklin DIONISIO MONTALVO
ASESOR

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL



USO DE MICROORGANISMOS DEL ESTIÉRCOL DE *Cavia porcellus* L. (CUY) CON POTENCIAL DE BIODEGRADACIÓN DEL PETRÓLEO BIODIESEL A NIVEL DE LABORATORIO DE LA UNAS-TINGO MARÍA

Autor : Pascal Castillo Marlon Italo
Asesor : Ing. Msc. Dionisio Montalvo Franklin
Programa de investigación : Ciencia y tecnologías ambientales
Linea de investigación : Biorremediación y recuperación de
ambientes degradados
Eje temático : Remediación microbiana
Lugar de ejecución : Laboratorio de microbiología UNAS
Duración del Trabajo : 6 meses
Financiamiento : s/ 2498.60
Propio : Si

Tingo María-Perú

2020

DEDICATORIA

A Dios por haberme transformado en una nueva persona, guiarme, ser mi fuerza espiritual para conseguir mis metas profesionales y por haberme otorgado muchas oportunidades de vida por lo cual agradezco su infinita bondad y misericordia hacia mi familia.

A mis padres Juan José Pascal Pérez y Estela Aida Castillo Sanchez por ser el motivo y aliento para conseguir mis metas profesionales y a continuar luchando hasta alcanzar el éxito.

A mi tías Jenny Pascal Pérez y Janet Pascal Pérez por sus consejos y apoyo económico para conseguir mi meta profesional de ser ingeniero ambiental.

A toda mi familia Pascal, Pérez, Espinoza y Castillo por poner su confianza en mí, su apoyo permanente viéndose hoy cumplido la meta profesional cumplida.

Porque de tal manera amó Dios al mundo, que ha dado a su Hijo unigénito, para que todo aquel que en él cree, no se pierda, más tenga vida eterna.

San Juan 3:16

AGRADECIMIENTO

A Dios por haberme transformado en una nueva persona, guiarme, ser mi fuerza espiritual para conseguir mis metas, por haberme otorgado muchas oportunidades de vida y porque todo se cumplió conforme a la voluntad de Dios.

A mis padres Juan José Pascal Pérez y Estela Aida Castillo Sanchez por ser el motivo y aliento para conseguir mis metas profesionales, por ese apoyo incondicional, enorme sacrificio y esfuerzo que hicieron para que continúe luchando hasta alcanzar el éxito de ser ingeniero ambiental.

A mi tías: Química Farmacéutica Jenny Pascal Pérez e Ingeniera de Sistemas Janet Pascal Pérez por sus consejos y apoyo económico para conseguir mi meta profesional de ser ingeniero ambiental. A mi tía Aguria Pérez Rueda por sus constantes oraciones se han hecho realidad de ser ingeniero ambiental.

A mis hermanas Liz Yanet Espinoza Castillo y Kely Espinoza Castillo por su apoyo incondicional para alcanzar la meta de ser ingeniero ambiental.

A toda mi familia Pascal, Pérez, Espinoza, Castillo y Huanca: Abuelos, tíos, tíos abuelos, primos, sobrinos y en general por poner su apoyo permanente viéndose hoy cumplido la meta profesional cumplida de ser ingeniero ambiental.

Al Ing. M Sc. Franklin Dionisio Montalvo por su apoyo permanente en el asesoramiento tanto para el bachillerato como para la presente tesis para el título profesional de ingeniero ambiental.

A cada uno de mis compañeros de la promoción de ingeniería ambiental 2013 por su apoyo durante los años que compartimos en la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

INDICE

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Objetivo general.....	2
1.2. Objetivos específicos	3
II. REVISION LITERARIA.....	4
2.1. Antecedentes de la investigación.....	4
2.2. Marco conceptual.....	4
2.2.1. Hidrocarburo.....	4
2.2.2. Petróleo	5
2.2.3. Abono orgánico o estiércol	5
2.2.4. Biorremediación.....	5
2.3. El petróleo.....	5
2.3.1. Derivados del petróleo.....	5
2.3.2. Impacto ambiental del petróleo.....	6
2.4. Biorremediación	7
2.4.1. Biodegradación del petróleo.....	7
2.4.2. Factores que influyen en la biodegradación	7
2.4.3. Ventajas y limitaciones de la biorremediación	8
2.4.4. Biorreactor Airlifth.....	9
2.4.5. Utilización de inóculos exógenos en biorremediación	10

2.4.6.	Microorganismos degradadores del petróleo	10
2.5.	Abonos orgánicos	10
2.5.1.	Estiércol de vaca	10
2.5.2.	Estiércol de gallina	11
2.5.3.	Estiércol de oveja	11
2.5.4.	Estiércol de cuy	11
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	12
3.1.	Lugar de ejecución.....	12
3.1.1.	Ubicación política	12
3.1.2.	Características ambientales	12
3.2.	Materiales y equipos	12
3.2.1.	Muestra	12
3.2.2.	Materiales.....	12
3.2.3.	Insumos.....	13
3.2.4.	Equipos	13
3.2.5.	Software	14
3.3.	Metodología	14
3.3.1.	Fase de campo.....	14
3.3.2.	Fase de laboratorio.....	14
3.3.3.	Fase experimental	26
3.3.4.	Análisis estadístico del trabajo de investigación.....	26

IV. RESULTADOS.....	28
4.1. Caracterización fisicoquímica del estiércol de <i>Cavia porcellus</i> L. (cuy).....	28
4.2. Selección y elección de los microorganismos del estiércol de <i>Cavia porcellus</i> L.(cuy) con potencial biodegradación del petróleo biodiesel en el agar del Medio Mínimo de Sales Davis.....	29
4.3. Evaluación de pH, temperatura, OD y recuento de microorganismos al inicio, 3 y 7 días de biorremediación.....	29
4.3.1. Evaluación de pH	29
4.3.2. Evaluación de temperatura.....	30
4.3.3. Evaluación de oxígeno disuelto (OD)	31
4.3.4. Recuento de microorganismos aislados.....	33
4.4. Identificación de los microorganismos aislados del estiércol de <i>Cavia porcellus</i> L. (cuy) con potencial biodegradación del petróleo biodiesel al finalizar la biorremediación.	34
V. DISCUSIÓN.....	35
5.1. Caracterización fisicoquímica del estiércol de <i>Cavia porcellus</i> L. (cuy).....	35
5.2. Selección y elección de los microorganismos del estiércol de <i>Cavia porcellus</i> L. (cuy) con potencial biodegradación	

del petróleo biodiesel en el agar del Medio Mínimo de Sales Davis	35
5.3. Evaluación del pH, temperatura, OD y recuento de microorganismos al inicio, 3 y 7 días de biorremediación.	36
5.4. Identificación de los microorganismos aislados del estiércol de <i>Cavia porcellus</i> L. (cuy) con potencial biodegradación del petróleo biodiesel al finalizar la biorremediación.	37
VI. CONCLUSIÓN	38
VII. RECOMENDACIONES	39
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
IX. ANEXOS	44
A. TABLAS	45
B. GALERÍA DE FOTOS	50

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Pág.
1. Fracciones de la destilación fraccionada del petróleo.....	6
2. Caracterización fisicoquímica de desechos de animales	11
3. Volúmenes de Medio Mínimo de Sales Davis	22
4. Pruebas de diferenciación bioquímica para la identificación de m.o	25
5. Descripción de los tratamientos en estudio.....	26
6. Caracterización fisicoquímica del estiércol de <i>Cavia porcellus</i> L. (cuy)	28
7. Selección y elección de los microorganismos	29
8. Pruebas LSD para pH día 7	29
9. Pruebas LSD para temperatura día 7	30
10. Pruebas LSD para OD día 7	32
11. Pruebas LSD para recuento de microorganismos día 7.....	33
12. Reacciones de los m.o a las pruebas bioquímicas	45
13. Datos de pH en el proceso de la biorremediación.....	46
14. Datos de temperatura en el proceso de biorremediación.....	46
15. Datos de OD en el proceso de biorremediación.....	47
16. Datos de recuento de microorganismos.....	47
17. Microorganismos identificados en el T ₀	48
18. Microorganismos identificados en el T ₁	48
19. Microorganismos identificados en el T ₂	49
20. Microorganismos identificados en el T ₃	49

INDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
1. Tipos de configuración de recirculación dentro del biorreactor.	9
2. Diseño experimental	27
3. Valor de pH en el proceso de biorremediación	30
4. Valor de temperatura en el proceso de biorremediación.....	31
5. Valor de OD en el proceso de biorremediación.....	32
6. Recuento de microorganismos durante la biorremediación	34
7. Identificación de microorganismos aislados en el laboratorio	50
8. Resultados de análisis fisicoquímico en el laboratorio	50
9. Crecimiento de colonias en MMSD 29.5%.....	51
10. Crecimiento de colonias en MMSD 30%	51
11. Crecimiento de colonias en MMSD 30.5%	52
12. Funcionamiento de los biorreactores <i>Airlifth</i>	52
13. Placas para recuento de m.o	53
14. Medición de OD y temperatura de la muestra.....	53
15. Medición de pH de la muestra.....	54
16. Secado de las muestras para observación en microscopio	54
17. Observación en el microscopio de <i>Bacillus sp</i>	55
18. Observación en el microscopio de bacilos gram negativo	55

RESUMEN

Se utilizó microorganismos del estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy) con potencial biodegradación del petróleo biodiesel a nivel de laboratorio con 3 concentraciones al 29.5%, 30.0% y 30.5% del petróleo y un testigo mediante los biorreactores *air lift*. Los estudios preliminares fueron una caracterización fisicoquímica del estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy), luego una prueba de "Screening" o tamizaje para seleccionar y aislar aquellos microorganismos que mostraron potencial capacidad de biodegradación mediante crecimiento en los agares de Medios Mínimos de Sales Davis con 3 diferentes concentraciones de 29.5%, 30.0% y 30.5% del petróleo biodiesel.

Posteriormente se procedió al funcionamiento de los biorreactores *air lift* durante 7 días y fueron medidos las variaciones de pH, temperatura, oxígeno disuelto y recuento de microorganismos aislados. Finalmente, concluidos los 7 días de biorremediación se identificaron a los microorganismos aislados que presentaron potencial capacidad de biodegradación del petróleo biodiesel.

Palabras claves: Microorganismos, Estiércol de *Cavia porcellus* L., potencial, biodegradación, petróleo, biodiesel, tanques agitados.

I. INTRODUCCIÓN

Los derrames accidentales de hidrocarburos que regularmente ocurren durante la exploración, producción, refinación, transporte y almacenamiento ocasionan impactos ambientales como: La privación de la madurez de las plantas, cambios de población en los microorganismos del lugar, contaminación de aguas subterráneas por infiltración y también afecta las propiedades físicas y químicas del suelo.

Ante ello se utilizan 3 tipos de tratamientos que son efectivas: Físicas, químicas y biológicas, dentro de ellos las técnicas biológicas muestran que son amigables con el ambiente y económicamente factibles.

Dentro del conjunto de las técnicas biológicas se encuentra la biorremediación el cual es efectiva para mitigar contaminantes, debido al uso microorganismos para acelerar el proceso de biodegradación mediante la inoculación de microorganismos propios del lugar afectado o tomados de otras fuentes previamente caracterizados e incrementados para que utilicen el hidrocarburo como fuente de carbono.

En la actualidad, existe mucho interés por la investigación en el desarrollo de aplicaciones de microorganismos de estiércoles de animales

como agentes de biorremediación, debido que sería efectivo, económico y ecológico para conducir a la mineralización completa de hidrocarburos.

Un trabajo realizado en el Perú por MUÑOZ y PACHECO (2017), utilizaron bacterias presentes en los desechos de las gallinas blancas que biodegradaron el petróleo.

Por lo expresado la biodegradación de los hidrocarburos (petróleo) es factible con microorganismos de los estiércoles, que en este caso se probará que los microorganismos del estiércol de *Cavia porcellus L.* (cuy) también presentan el potencial de biodegradar petróleo biodiesel a escala de laboratorio.

Sobre lo indicado se planteó lo siguiente: ¿Los microorganismos del estiércol de *Cavia porcellus L.* (cuy) tendrán potencial de biodegradación del petróleo biodiesel a nivel de laboratorio de la UNAS-Tingo María?

Se planteó como hipótesis: Los microorganismos del estiércol de *Cavia porcellus L.* (cuy) tienen potencial biodegradación del petróleo biodiesel a nivel de laboratorio de la UNAS-Tingo María.

1.1. Objetivo general

–Usar microorganismos del estiércol de *Cavia porcellus L.* (cuy) con potencial de biodegradación del petróleo a nivel del laboratorio de la UNAS-Tingo María.

1.2. Objetivos específicos

- Caracterizar fisicoquímicamente el estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy)
- Seleccionar y elegir los microorganismos del estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy) con potencial de biodegradación del petróleo biodiesel en el agar del Medio Mínimo de Sales Davis.
- Evaluar el ph, temperatura, oxígeno disuelto y recuento de microorganismos al inicio, 3 y 7 días de biorremediación
- Identificar los microorganismos aislados del estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy) con potencial de biodegradación del petróleo biodiesel al finalizar la biorremediación

II. REVISION LITERARIA

2.1. Antecedentes de la investigación

NEETHU *et al.* (2019), evaluó el estiércol de vaca como agente de biorremediación para suelos agrícolas contaminados con hidrocarburos de petróleo; teniendo como resultado que lograron identificar y aislar microorganismos capaces de degradar los contaminantes de hidrocarburos.

ONUORAH *et al.* (2018), identificaron microorganismos del estiércol de cerdo que biodegradaron el petróleo crudo contaminado.

MUÑOZ y PACHECO (2017), utilizaron bacterias presentes en los de gallinas blancas que biodegradaron el petróleo.

CARDENAS (2017), mediante el uso conjunto de fermentación de caña de azúcar y el guano en suelos aumentaron la población de bacterias y biodegradaron los hidrocarburos.

CHANG (2013), utilizó cal para obtener valores de ph del suelo entre 4 a 8 donde el tratamiento 3 presentó la mayor biodegradación de hidrocarburos.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Hidrocarburo

Según ESPINOZA (2011), son complejos orgánicos que en su estructura poseen átomos de carbono e hidrógeno. Según ESCALANTE

(2000), se pueden dividir en cuatro grupos tales como: Hidrocarburos cíclicos, alifáticos, aromáticos y orgánicos polares.

2.2.2. Petróleo

Según MUÑOZ y PACHECO (2017), es el producto de la degradación de materia biológica por parte de los microorganismos sin usar oxígeno en un tiempo muy prolongado y estando con alta presión y temperatura. Según HERNANDEZ *et al.* (2004), se clasifican en dos tipos: Los ligeros que tienen una menor densidad, por el contrario, los pesados tienen mayor densidad.

2.2.3. Abono orgánico o estiércol

Según PANTOJA (2014), manifiesta que son aquellos desechos de origen animal, vegetal o en forma conjunta que se incorporan al suelo para sus características fisicoquímicas y biológicas. Según CANTARERO y MARTINEZ (2002), es todo desecho animal y restos vegetales que se incorpora al suelo donde las plantas obtienen los nutrientes y energía necesaria para su crecimiento.

2.2.4. Biorremediación

Según MUÑOZ y PACHECO (2017), es volver a las condiciones iniciales que tuvo el lugar, debido a que se explota la volubilidad metabólica inducida de los microorganismos para degradar el contaminante.

2.3. El petróleo

2.3.1. Derivados del petróleo

El petróleo está constituido en 3 tipos: Saturada (57%), aromática (29%), resinas y asfaltenos (14%) (BUSTAMANTE y SILVA, 2019).

Cuadro 1. Fracciones de la destilación fraccionada del petróleo

Fracción	Composición aproximada	Rango de ebullición (°C)	Usos
Betum asfáltico (35% peso)	C ₃₀ -C ₄₅	>540	Como alquitrán asfáltico
Cera de parafina	C ₂₀ -C ₄₅	245-545	Como vela
Grasas, vaselinas	C ₁₈ -C ₂₂	250-400	En la farmacéutica
Aceite, lubricante	C ₁₆ -C ₂₀	200-350	Como lubricantes
Gasoil, diésel	C ₁₃ -C ₁₈	200-350	Para carburante de motores
Queroseno	C ₁₂ -C ₁₆	200-300	En el alumbrado y como carburante
Gasolina	C ₆ -C ₁₁	20-180	Para carburante de motores
Ligroína	C ₆ -C ₈	80-120	Acción disolvente
Bencina	C ₆ -C ₇	70-90	Para limpiar cuando está seco
Gasolina ligera	C ₅ H ₁₂ -C ₇ H ₁₆	20-100	Acción disolvente

Fuente: CARDENAS (2017)

2.3.2. Impacto ambiental del petróleo

Según MUÑOZ y PACHECO (2017), depende de la textura del suelo y de la solubilidad del hidrocarburo en el agua el paso de estos por la matriz del suelo, por eso menos del 5% de productos refinados del petróleo (hidrocarburos polares y aromáticos de bajo peso molecular) son solubles en agua, la otra parte queda retenida en el suelo.

Según PONCE (2014), cuando se filtran se produce una separación natural de los distintos componentes, por la exposición de la fase no líquida del hidrocarburo a las fases sólida, gaseosa y acuosa del suelo, por esto los compuestos más livianos migran hacia parte más profundas del suelo por su mayor solubilidad en agua en cambio los compuestos de alto peso molecular permanecen cerca de la superficie por su menor movilidad.

Según MARTINEZ y LOPEZ (2001), en función del tipo y concentración del hidrocarburo se producen cambios en las propiedades de materia orgánica, densidad real, porosidad y textura del suelo arcilloso.

2.4. Biorremediación

Existen 2 tipos: En el mismo sitio (la bioaugmentación, bioestimulación y bioaireación) y fuera del sitio están el cultivo de la tierra(landfarming), bioceldas y compostaje. (BUSTAMANTE y SILVA, 2019).

El decreto Supremo N ° 011-2017-MINAM; establecen como límite de contaminación: 200 a 500 mg/kg (Fracción de hidrocarburos F₁ o ligera), 1200 a 5000 mg/kg (F₂ o media) y 3000 a 6000 mg/kg (F₃ o pesada) (BUSTAMANTE y SILVA, 2019).

2.4.1. Biodegradación del petróleo

Según MUÑOZ y PACHECO (2017), es necesario crear una mezcla de cepas microbiológicas a fin de que puedan degradar los subproductos del petróleo, particularmente en los desechos aceitosos y lodos aceitosos.

Según LAURA (2011), se han desarrollado muchas estrategias económicamente atractivas y amigables con el medio ambiente estas aprovechan las capacidades metabólicas de los microorganismos para degradar los contaminantes conocidas como biorremediación.

2.4.2. Factores que influyen en la biodegradación

Los microorganismos deben sintetizar enzimas que catalicen la reacción degradando los contaminantes hasta una forma más simple con

cadenas moleculares más bajas y a su vez compuestos menos tóxicos como el CO₂ y H₂O obteniendo los nutrientes y energía para su supervivencia (MUÑOZ y PACHECO, 2017).

1. Temperatura

La temperatura está en función de la actividad metabólica de los microorganismos cada 10° C se duplica su actividad y el rango óptimo es de 10 a 45°C para el proceso de biodegradación (MUÑOZ y PACHECO, 2017).

2. Oxígeno

El oxígeno disponible en el medio es necesario para bio-oxidar los compuestos orgánicos, estas reacciones de oxidación vienen a ser las de mayor importancia en procesos de biodegradación (MUÑOZ y PACHECO, 2017).

3. pH

La solubilización y migración de los metales pesados se obtienen a valores de ph mayores a 6.5 creando condiciones óptimas para la biodegradación (MUÑOZ y PACHECO, 2017)

2.4.3. Ventajas y limitaciones de la biorremediación

La técnica de biorremediación tiene ventajas respecto a los métodos fisicoquímicos debido a su menor coste económico y la inocuidad con otros sectores ambientales y el mejor uso de los recursos (ALEXANDER, 1999).

La limitación es su proceso de biodegradación es ralentizado por la presencia excesiva de sustancias recalcitrantes o por la disminución de la biodisponibilidad de los componentes (ALEXANDER, 1999).

2.4.4. Biorreactor Airlifft

Los biorreactores *airlift* pueden ser: De circulación interna con un tubo concéntrico o separados verticalmente por un *baffle* y de circulación externa. con un tubo de ascenso y descenso separados (GUEVARA, 2004).

Se han utilizado para el cultivo de células bacterianas y levaduras, fermentaciones con hongos, cultivo de células animales y vegetales, enzimas inmovilizadas y biocatálisis celular, cultivos de microalgas y para el tratamiento de aguas residuales (GUEVARA, 2004).

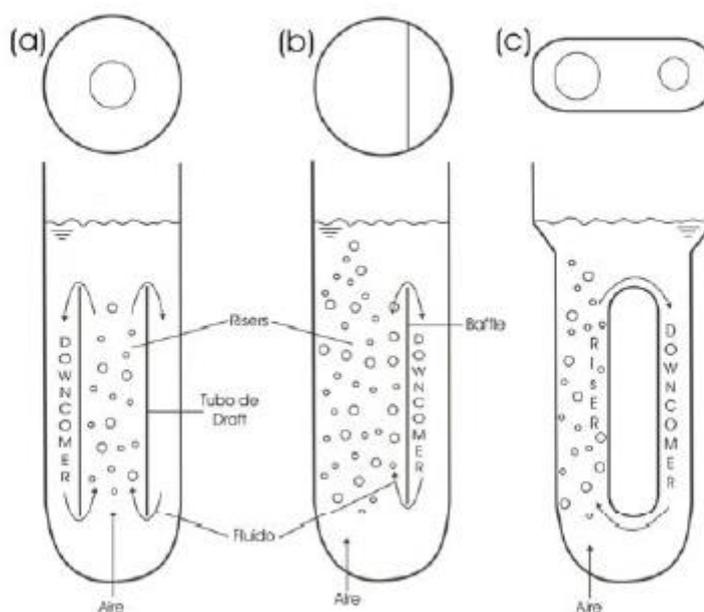


Figura 1. Tipos de configuración de recirculación dentro del biorreactor.

Fuente: GUEVARA (2004).

2.4.5. Utilización de inóculos exógenos en biorremediación

Dentro de los microorganismos exógenos usados pueden ser de cultivos puros de cepas microbianas individuales, en cambio se utilizan consorcios no definidos en pocas ocasiones, debido a que es muy difícil conocer todos los componentes microbianos que posee pues su obtención es debido a procesos de enriquecimiento secuencial de muestras ambientales reales, aunque en realidad posean un mayor potencial catabólico (CHANG, 2013).

2.4.6. Microorganismos degradadores del petróleo

Dentro de las bacterias biodegradadores destacan: *Arthrobacter sp*, *Pseudomonas sp*, *Corynebacterium sp*, *Alcaligenes sp*, *Flavobacterium sp*, *Achromobacter sp*, *Micrococcus sp* (MUÑOZ y PACHECO, 2017).

Los hongos tienden a ser más tolerantes a los ácidos que las bacterias (pH óptimo de 5 o menos) y son más sensibles a la variación en la humedad; dentro de los biodegradadores destacan: *Aspergillus sp*, *Cephalosporium sp*, *Cunninghamella sp*, *Torulopsis sp*, *Trichoderma sp*, *Saccharomyces sp* (MUÑOZ y PACHECO, 2017).

2.5. Abonos orgánicos

2.5.1. Estiércol de vaca

El excremento sólido contiene el 50% o más de nitrógeno, 30% del potasio y casi todo el fósforo y su orina contiene una parte de los nutrientes vegetales solubles y directamente aprovechables para las plantas (GOMEZ, 2018).

2.5.2. Estiércol de gallina

Los desechos de la gallina contienen un alto contenido de nutrientes por sus mayores concentraciones en sus alimentos, además la deshidratación, manejo adecuado y almacenamiento que se ofrece a este estiércol (PANTOJA, 2014).

2.5.3. Estiércol de oveja

Los desechos de oveja se consideran rico en nutrientes y muy equilibrado, debido a su alimentación a base de pasto, además debido a que cuenta con pajitas permiten airear la tierra aportando nitrógeno (GOMEZ, 2018).

2.5.4. Estiércol de cuy

Son recursos orgánicos aprovechables y sus características químicas dependerán del tipo de alimento que hayan recibido y del proceso digestivo que posea se caracteriza por ser porosas, tener mayor cantidad de proteínas en relación con las excretas de ganado vacuno o de gallina (AGUIRRE, 2017).

Cuadro 2. Caracterización fisicoquímica de desechos de animales

Especie animal	Materia seca%	N%	P ₂ O ₅ %	K ₂ O%	CaO%	MgO%	SO ₄ %
Cuyes (f)	14	0.6	0.03	0.18	0.55	0.18	0.1
Vacunos (f)	6	0.29	0.17	0.1	0.35	0.13	0.04
Vacunos (s)	16	0.58	0.01	0.49	0.01	0.04	0.13
Gallina (s)	47	6.11	5.21	3.2	si	si	si
Ovejas (f)	13	0.55	0.01	0.15	0.46	0.15	0.16
Ovejas (s)	35	1.95	0.31	1.26	1.16	0.34	0.34
Caballos(s)	24	1.55	0.35	1.5	0.45	0.24	0.06
Caballos(f)	10	0.55	0.01	0.35	0.15	0.12	0.02
Cerdos(s)	18	0.6	0.61	0.26	0.09	0.1	0.04

(f) fresco, (s) seco, (si) sin información

Fuente: GOMEZ, 2018.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

3.1.1. Ubicación política

Se realizó en el laboratorio de microbiología general de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), en el distrito de Rupa Rupa, Provincia de Leoncio Prado, Región Huánuco. Con coordenadas UTM: 390283 (E) m y 8970638 (N) m.

3.1.2. Características ambientales

El área de estudio presenta una temperatura media anual de 25.4°C, la humedad relativa media anual es cercana al 85% y su precipitación media anual es de 3.76 milímetros (ESTACIÓN METEREOLÓGICA JOSE ABELARDO QUIÑONEZ, 2019).

3.2. Materiales y equipos

3.2.1. Muestra

- 0.5 L de petróleo biodiesel
- Estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy) (1 kg)

3.2.2. Materiales

- Mascarillas, guardapolvo, guantes, cubrecabezas, tubos de ensayo de 1 y 10 mL, Placas petri, matraz de 250 mL, pipetas de 1 y 10 mL, probetas de 50 mL, papel filtro, embudos de vidrio, gradillas,

vasos de precipitado de 50 y 100 mL, mortero, papel kraft, paquete de etiquetas, tijeras, pitas, asas de colle, manguera para pecera, llaves de manguera de pecera, bombas de oxígeno, jeringas, silicona, soporte de metal para biorreactores, algodón, corchos, teflón, recipiente de vidrio de 500 mL, varillas de vidrio de 1 mL, jebe redondo para tapa, botellas de 500 mL, portaobjetos.

3.2.3. Insumos

- Caldo peptona, medio BHI, agares(M77, Macconkey, Manitol Salado, CLED, Muller Hinton, Medio Mínimo de Sales Davis), pruebas bioquímicas (indol, SIM, Rojo de Metilo, TSI, LIA, Citrato, Caldo Malonato, Urea) reactivos (Cristal Violeta, Safranina, KOVAC, rojo de metilo, alfa naftol y KOH₄), Alcohol Acetona, Aceite de inmersión, Suero fisiológico (NaCl).

3.2.4. Equipos

- Estufa esterilizada LAB LINE
- Autoclave marca LMIM
- Cuenta Colonias TRITIPLAQUE
- Baño María LMIM
- Balanza analítica 3 dígitos HENKEL
- Micropipeta TOPPETTE PIPETTOR
- Peachímetro EXTECH
- Oxímetro HANNA
- Incubadora temperatura ambiente LAB LINE
- Incubadora a 37°C PRECISION THELCO

- Microscopio eléctrico LEICA
- Refrigerador WESTINGHOUSE

3.2.5. Software

- Statgraphics Centurión XV.II en español

3.3. Metodología

3.3.1. Fase de campo

La muestra de 1 kg de estiércol de cuy se recolectó de la granja zootécnica de la Universidad Nacional Agraria de la Selva- Tingo María.

3.3.2. Fase de laboratorio

1. Caracterización fisicoquímica del estiércol de *Cavia porcellus*

1.1. Preparación de la muestra

Según la metodología de CALDERON y PAVLOVA (2004):

- Limpieza, secado (100g en estufa durante 24 a 48 horas a una temperatura entre 60 y 80 °C), molienda(tamaño de 2 mm) y almacenamiento de la muestra:

1.2. Humedad

Según la metodología de BAZAN (2017), se pesa el papel (W_1), luego transferir 20 g de estiércol de cuy y envolverlo con el papel; el peso del papel más la muestra de estiércol (W_2); seguidamente colocar en la estufa a 105°C por 24 horas; pasado el tiempo retirar de la estufa dejando enfriar y pesando; el peso de la muestra seca (W_3). Se procede al cálculo mediante la ecuación (1):

$$\text{Porcentaje de humedad (\%)} = (W_2 - W_3) / (W_3) * 100 \dots\dots\dots (1)$$

1.3. Materia orgánica

Según la metodología de BAZAN (2017), existen 2 métodos:

1.3.1. Base seca (Calcinación)

Secar la muestra a 105°C en una estufa por 24 horas (W_1); pesar el crisol y colocar la muestra secada dentro; finalmente calcinar la muestra a 500°C por 5 horas, dejarlo enfriar y pesar (W_2). Se procede al cálculo mediante la ecuación (2):

$$\text{Materia orgánica (\%)} = (W_1 - W_2) / W_1 * 100 \dots \dots \dots (2)$$

1.3.2. Base húmeda (Solución oxidante)

En un matraz Erlenmeyer de 500 mL poner 1 mL de la muestra, en forma paralela llevar un blanco (sin muestra) para conocer la normalidad del sulfato ferroso; adicionar 10 mL de 1N dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$); adicionar 20 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4), mezclar para homogenizar la solución, dejar en reacción por 1 hora; adicionar 200 mL de agua destilada; adicionar 5 mL de ácido fosfórico concentrado (H_3PO_4) y 0.5 mL del indicador difenil amina sulfúrica; titular con 0.5 N de sulfato ferroso amoniacal (A), con agitación y en forma lenta hasta cambio de color de violeta a verde; finalmente titular el blanco (B). Se procede al cálculo mediante la ecuación (3):

$$\text{Materia orgánica (\%)} = 4(A-B) / A * 100 * 1.724 \dots \dots \dots (3)$$

1.4. Nitrógeno total

Según la metodología de CALDERÓN y PAVLOVA (2004), se determina el nitrógeno mediante el método Micro-Kjeldhal, en dos etapas:

Digestión: Se pesan 0.25 g de muestra, se lleva a un tubo de digestión Kjeldhal, se agrega 2.5 mL de catalizador, se agregan 8 ml de H₂SO₄ concentrado, se coloca en la placa de calefacción y se empieza la digestión a 340°C, hasta que el digerido tome un color claro azul verdozo y se deja enfriar.

Destilación: Se traslada el digerido, a un tubo de destilación de 250 mL, se inicia el proceso de destilación en arrastre de vapor, aplicando 25 ml de agua y 65 ml de solución de hidróxido de sodio (soda cáustica) al 40%, se recibe el destilado en un recipiente que contiene 50 ml de solución de ácido bórico al 4% con indicador mixto, se termina cuando se completa un volumen de 100 ml de destilado y se titula con H₂SO₄ 1/7N. Finalmente se procede al cálculo mediante la ecuación (4):

$$N (\%) = \text{mL H}_2\text{SO}_4 * 2 * 100 / (\text{g de muestra} * 1000) \dots\dots\dots (4)$$

1.5. Digestión húmeda

Siguiendo la metodología de CALDERÓN y PAVLOVA (2004):

–Procedimiento: Se pesan 0.5 g de muestra seca y molida, se lleva a un tubo de ensayo de 2.5 cm de diámetro x 35 cm de altura, se agrega de 2.5 a 3.0 mL de mezcla ácida dependiendo del cultivo, luego se coloca en la placa de gestión.

–Se toma como punto final de la digestión cuando aparecen humos blancos y ya el digerido se encuentra totalmente transparente.

–En este punto deben haber aproximadamente 0.5 mL de solución. Se deja enfriar, se agregan 24.5 mL de agua destilada, se filtra en papel de filtro cuantitativo.

1.6. Determinación de K-Ca-Mg

Del filtrado de la digestión se toman 0.5 mL, se le agregan 48.5 mL de agua destilada y 1 mL de Oxido de lantano al 5%. De esto resulta una relación de dilución de 50/0.5 mL, se agita y se lee en el espectrofotómetro de absorción atómica (CALDERON y PLAVLOVA, 2004). Cálculos en las ecuaciones (5), (6) y (7):

$$\begin{aligned} \%K &= (\text{ppmK leídas} \times V. \text{ aforam.} \times \text{dilución} \times 100) / (10^6 \times 0.5\text{g} \times 0.5) \\ &= \text{ppmK} \times 0.5 \dots\dots\dots (5) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \%Ca &= (\text{ppm Ca} \times 25 \times 50 \times 100) / (10^6 \times 0.5 \text{ g} \times 0.5) \\ &= \text{ppmCa} \times 0.5 \dots\dots\dots (6) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \%Mg &= (\text{ppm Mg} \times 25 \times 50 \times 100) / (10^6 \times 0.5\text{g} \times 0.5) \\ &= \text{ppm Mg} \times 0.5 \dots\dots\dots (7) \end{aligned}$$

1.7. Determinación de Na

El sodio se determina por lectura directa en el filtrado obtenido de la digestión húmeda por el método de emisión de llama del espectrofotómetro (CALDERON y PAVLOVA, 2004). Cálculo en la ecuación (8):

$$\begin{aligned} \%Na &= (\text{ppm leídas de Na} \times V. \text{ aforam.}) / \text{g de muestra} \\ \%Na &= (\text{ppm leídas de Na} \times 25) / 0.5 \dots\dots\dots (8) \end{aligned}$$

1.8. Determinación de P₂O₅

Según el método de CALDERON y PAVLOVA (2004):

Procedimiento: Se tomó una alícuota de 0.5 mL del filtrado de la digestión, se agregaron 2 mL de agua destilada y 1 mL de la solución Molibdato de Vanadato de Amonio, desarrollándose inmediatamente el color amarillo, se dejó 5 minutos en reposo, y se leyó a una longitud de onda de 430 nm. Cálculo en la ecuación (9):

Constante K= Concentración/Absorbancia

$$\%P_{2O_5} = K \times \text{abs.} \times V. \text{ aforam.} \times \text{alícuota} \times 100 / (10^6 \times 0.5 \text{ g} \times 0.5)$$

$$= K \times \text{abs} \times 0.025 \dots \dots \dots (9)$$

1.9. Determinación de Fe, Mn, Cu, Cd, Pb y Zn

Del filtrado obtenido en la digestión húmeda se lee directamente por absorción atómica (CALDERON y PAVLOVA, 2004). Cálculos en la ecuación (10), (11), (12), (13), (14), (15):

$$\text{ppm Cu} = \text{ppm Cu leídas} \times 25/0.5 \dots \dots \dots (10)$$

$$\text{ppm Mn} = \text{ppm Mn leídas} \times 25/0.5 \dots \dots \dots (11)$$

$$\text{ppm Fe} = \text{ppm Fe leídas} \times 25/0.5 \dots \dots \dots (12)$$

$$\text{ppm Zn} = \text{ppm Zn leídas} \times 25/0.5 \dots \dots \dots (13)$$

$$\text{ppm Cd} = \text{ppm Cd leídas} \times 25/0.5 \dots \dots \dots (14)$$

$$\text{ppm Pb} = \text{ppm Pb leídas} \times 25/0.5 \dots \dots \dots (15)$$

2. Selección y elección de microorganismos del estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy)

Los microorganismos del estiércol de cuy que muestran tolerancia y crecimiento en el agar Medio Mínimo de Sales Davis con petróleo nos permitió elegir y seleccionar aquellos microorganismos que son potenciales degradadores el petróleo (LOPEZ, 1990).

2.1. Fase de selección de microorganismos

- Se pesó 10 g del estiércol de cuy.
- Se preparó 90 mL de caldo peptona al 0.1%, y se dejó reposar por 10 a 15 minutos y se añadió 10 g del estiércol de cuy.
- Se filtró la mezcla del caldo peptona al 0.1% con 10 g de estiércol de cuy, en un matraz de 250 mL.
- Se extrajo 10 mL del medio filtrado y se le añadió 90 mL de BHI (10^{-1}) y se dejó incubar por 24 a 48 horas a 37°C.
- Se extrajo 1 μ L con la micropipeta de la anterior dilución (10^{-1}) para obtener una dilución 10^{-3} .
- De la última dilución (10^{-3}), se sembró en las placas que contienen los agares MacConkey, CLED y Manitol Salado se incubó por 24 o 48 horas a 37°C y el agar M77 se incubó a temperatura ambiente, todas las colonias de microorganismos encontradas en dichas placas para la fase de elección (adaptabilidad) (LOPEZ, 1990).

2.2. Fase de elección de microorganismos

- Realizado la fase de selección, se preparó el medio mínimo de sales de Davis (MMS) en un matraz de 1L.

- Seguido se dividió en 4 matraces, 250 mL del medio mínimo de sales de Davis (MMS) en cada matraz.
- Se añadió 3 concentraciones diferentes del hidrocarburo (petróleo) a cada matraz con 250 mL del medio mínimo de sales de Davis (MMS), dichas concentraciones son las siguientes: 29.5% (36.875 mL), 30% (37.5 mL) y 30.5% (38.125 mL).
- Posteriormente, se plaqueó y sembró los microorganismos que presenciaron crecimiento en la fase de selección con el asa de colle. Se hizo 3 repeticiones por concentración del hidrocarburo (petróleo) y se incubó por 48 horas a 37°C como placas invertidas.
- Luego de ser incubados, se observó el crecimiento de los microorganismos resistentes a dichas concentraciones del hidrocarburo (petróleo) en las placas y se conservaron en refrigeración (4°C a 8°C) hasta su utilización (LOPEZ, 2006).

3. Instalación de los biorreactores *airlift*

3.1. Armado de biorreactores *airlift*

Siguiendo la metodología de LOPEZ (2006):

La boca del embudo de vidrio de 1 L se tapó con un jebe redondo, en el centro tuvo un agujero donde se colocó la varilla de vidrio de 8 cm teniendo 2 cm al exterior y 6 cm al interior, luego fue sellado con silicona.

Se interconectó y selló la manguera de 20 cm sobre la varilla que sale del embudo de vidrio. Se colocó boca abajo el embudo de vidrio sobre el soporte de metal para el biorreactor.

Las bombas de aire fueron interconectadas en la salida del aire con una manguera de 20 cm, se prosiguió a conectar con una llave sellada con teflón y silicona por sus dos extremos, el otro extremo interconectado con una manguera de 10 cm.

Se procedió a posicionarlo la bomba de aire en la parte alta del soporte y ajustarlo con una cinta de embalaje. Las tapas de la botella de vidrio tuvieron 2 huecos, a la medida de las varillas de vidrio, una de 8 cm y otra de 16 cm de largo. Luego estas fueron selladas. La varilla de 8 cm fue interconectada con la manguera que sale del embudo de vidrio y la de 16 cm a la manguera que sale de la bomba de aire.

Adicional estas botellas de vidrio tenían un contenido de 10%NaCl en 200 mL de agua destilada para así tener una alimentación de oxígeno esterilizado hacia los biorreactores

Finalmente, la tapa de caucho tuvo 3 huecos en los extremos laterales de la circunferencia con una jeringa de 10 mL cortadas en 3 mL de longitud, donde se procedió a la toma de muestra de parámetros y luego tapados con algodón para evitar contaminación de microorganismos del ambiente; y el otro hueco se colocó la varilla de vidrio de 20 cm donde se selló con una jeringa de 100 mL cortada en 10 cm de longitud, la varilla tuvo 2 cm al exterior y 18 cm al interior.

Posteriormente se los cerró herméticamente. El sistema en conjunto son los biorreactores *air lift* (LOPEZ, 2006).

3.2. Cálculo de volúmenes de las variables operacionales

Siguiendo la metodología de LOPEZ (2006):

Ahora se calcula la cantidad de volumen de petróleo, teniendo como dato adicional que una contaminación real por hidrocarburos ocurrido en Chiclayo en una automotriz tuvo como valor 29 702 mg/kg ss de HTP. Además, que la densidad del petróleo es de 0.8 g/mL, se calcula el volumen a través de la ecuación (16):

$$V_{\text{petróleo}} = \text{Peso relativo petróleo} / \text{densidad petróleo} \dots \dots \dots (16)$$

Finalmente se procede a calcular el volumen de trabajo del Medio Mínimo de Sales Minerales por la ecuación (17):

$$V_{\text{biorreactor}} = V_{\text{trabajo}} + V_{\text{inóculo}} + V_{\text{petróleo}} + V_{\text{glucosa}} \dots \dots \dots (17)$$

Cuadro 3. Volúmenes de Medio Mínimo de Sales Davis

Tratamiento	Volumen
T ₀ (0 mg/kg ss de HTP)	700 mL = V _T + 50 mL + 0 mL + 1 mL V _T = 649 mL (MMSD)
T ₁ (29500 mg/kg ss de HTP)	700 mL = V _T + 50 mL + (29500 mg / (0.8 g/mL)) + 1 mL V _T = 612.125 mL (MMSD)
T ₂ (30000 mg/kg ss de HTP)	700 mL = V _T + 50 mL + (30500 mg / (0.8 g/mL)) + 1 mL V _T = 611.5 mL (MMSD)
T ₃ (30500 mg/kg ss de HTP)	700 mL = V _T + 50 mL + (30500 mg / (0.8 g/mL)) + 1 mL V _T = 610.875 mL (MMSD)

4. Evaluación de pH, temperatura, OD y recuento de m.o al inicio, 3 y 7 días de biorremediación

4.1. Medición de temperatura y OD

La medición de OD de las muestras del biorreactor *airlift* se realizó por el método electrométrico, ex situ, utilizando el Oxímetro HANNA, de la metodología *Estandar Methodos for the Examination of Water and Wastewater parte HI 9146* (APHA, 2005), su resultado se reportó en mg/L; y para la medición de temperatura se realizó por el método electrométrico, ex situ, utilizando el Oxímetro HANNA, de la metodología *Estandar Methodos for the Examination of Water and Wastewater parte 4500-OG* (APHA, 2005), su resultado se reportó en (°C) grados Celsius.

4.2. Medición de pH

La muestra del biorreactor *airlift* se realizó de acuerdo con el método *Estándar Methodos for the Examination of Water and Wastewater parte 4500-H+ -B* (APHA, 2005). La lectura del pH se tomó con el Peachímetro EXTECH, ex situ.

4.3. Recuento de m.o.

Mediante el método de recuento en placa, primero se toma una muestra de 1mL del biorreactor *air lift* con una jeringa conectada a una manguerita.

Se utilizaron cuatro diluciones (10^{-1} a 10^{-4}) a partir de la muestra, se muestreó 1 mL de la última dilución sembrando en la placa Petri y luego se incorporó 10 mL de Agar Muller Hinton.

Se homogenizó con 5 giros a la derecha y a la izquierda, en forma de 8 y finalmente 3 giros izquierda y derecha.

Estas placas se incuban a la estufa de 37°C por 48 horas.

Finalmente se realiza el conteo de microorganismos usando la cuenta colonias (LOPEZ, 1990).

El conteo de microorganismos por la ecuación (18):

$$M.O = N.^{\circ} \text{ colonias} \times \text{inóculo de siembra} \times \text{factor dilución} \dots \dots \dots (18)$$

5. Identificación de microorganismos aislados

5.1. Observación de bacterias (Tinción de Gram)

Siguiendo la metodología de LOPEZ (1990) se tomó una pequeña muestra de la cepa con el asa de colle y se diluyó en el portaobjetos. Posteriormente se adiciona una gota NaCl, luego se fijó la muestra al calor, flameándola en el mechero, cuidando no quemar la muestra.

Se colocó el portaobjetos sobre un soporte, se vertió a la muestra con cristal violeta y se esperó que transcurra 1 minuto, seguido se escurrió y enjuagó con agua.

Se vertió la muestra con alcohol acetona y se esperó que transcurran 5 segundos y se escurrió y enjuagó con agua.

Se vertió a la muestra con safranina, y se esperó que transcurra 1 minuto y se escurrió y se enjuagó con agua.

Se dejó secar la muestra y se agregó una gota de aceite de inmersión y se observó en el microscopio a 100X (LOPEZ, 1990).

5.2. Prueba de diferenciación bioquímica

Según LOPEZ (1990) se procede como el cuadro 4:

Cuadro 4. Pruebas de diferenciación bioquímica para la identificación de m.o

Prueba bioquímica	Método de Siembra	Reactivo
Indol (Caldo peptona 0.1%)		KOVAC (2-3 gotas)
Rojo de metilo (Caldo RM-VP)		Rojo de metilo (2-3 gotas)
Voges Proskauer (Caldo RM-VP)	Enjuague	NaOH 4% (2-3 gotas) + alfa naftol (2-3 gotas)
Caldo malonato		Ninguno
TSI (Agar en pico de flauta)		Ninguno
LIA (Agar en pico de flauta)	Puntura y estrías	Ninguno
SIM (Agar)		KOVAC (2-3 gotas)
UREA (Agar)	Puntura	Ninguno
Citrato de Simmons (Agar inclinado)	Estrías	Ninguno

3.3.3. Fase experimental

Cuadro 5. Descripción de los tratamientos en estudio

Tratamiento	Descripción	Repeticiones
T ₀	Testigo (0 mL)	3
T ₁	29500 mg/kg ss HTP (36.8 mL)	3
T ₂	30000 mg/kg ss HTP (37.5mL)	3
T ₃	35000 mg/kg ss HTP (38.1 mL)	3
Total (Unidades experimentales)		12

3.3.4. Análisis estadístico del trabajo de investigación

1. Tipo de investigación

El tipo de investigación es experimental.

2. Variable dependiente:

- Recuento de microorganismos aislados.

3. Variable interviniente:

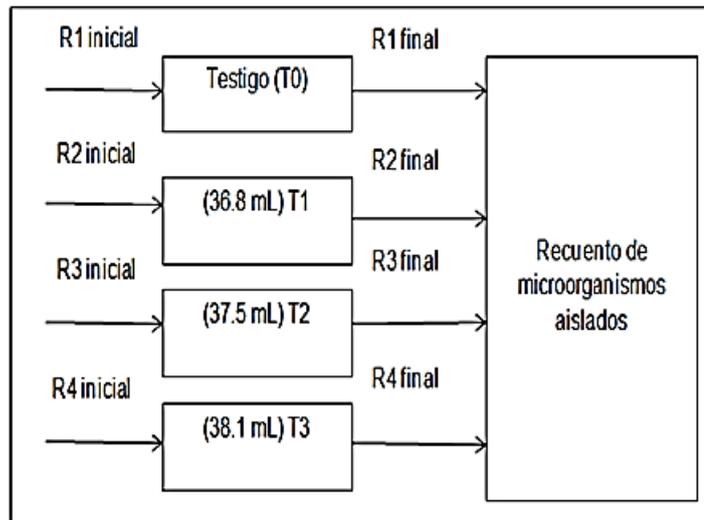
- Concentración de petróleo (mL o mg/kg ss)
- Volumen de Medio Mínimo de Sales Davis (mL)
- Glucosa (mL)
- Microorganismos aislados (mL)
- Laboratorio de Microbiología de la UNAS

4. Indicadores y unidades de la variable:

- Temperatura (°C)
- Potencial de hidrógeno (pH)

- Oxígeno disuelto (mg/L)
- Recuento de microorganismos (ufc x 10⁻⁴/mL)

5. Diseño experimental



Tn=Tratamientos, Rn=Recuentos

Figura 2. Diseño experimental

6. Análisis estadístico

- Prueba de múltiples rangos Tukey

Se empleó la diferencia francamente significativa de Tukey a fin de determinar entre que tratamientos hubo diferencias significativas, para un nivel de significación del 5%.

IV. RESULTADOS

4.1. Caracterización fisicoquímica del estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy)

En el cuadro 7, se observa los valores de las variables fisicoquímicas del estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy), cuyos valores de NPK son altos para nitrógeno y fósforo y bajo para potasio, en cuanto a los macroelementos (Ca, Mg, Na) tiene bajo contenido de Mg y de microelementos (Cd, Pb, Cu, Fe, Zn y Mn) presenta bajo contenido de Cd.

Cuadro 6. Caracterización fisicoquímica del estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy)

Variables fisicoquímicas		Valor
Base húmeda	Materia orgánica (%)	38.16
	Cenizas (%)	11.56
Base seca	Materia orgánica (%)	76.75
	Cenizas (%)	23.25
	Humedad (%)	50.27
	N (%)	3.92
	P ₂ O ₅ (%)	2.99
	K (%)	0.88
	Ca (%)	10.1
	Mg (%)	0.71
	Na (%)	1.22
	Cd (ppm)	1.89
	Pb (ppm)	14.99
	Cu (ppm)	125.22
	Fe (ppm)	830.59
	Zn (ppm)	265.91
	Mn (ppm)	209.82

4.2. Selección y elección de los microorganismos del estiércol de *Cavia porcellus* L.(cuy) con potencial de biodegradación del petróleo biodiesel en el agar del Medio Mínimo de Sales Davis

En el cuadro 7, se observa el crecimiento de los microorganismos en los 3 porcentajes de experimentación del petróleo para aislarlos.

Cuadro 7. Selección y elección de los microorganismos

29.5 % (petróleo) Agar MMSD	30.0 % (petróleo) Agar MMSD	30.5 % (petróleo) Agar MMSD
Presencia	Presencia	Presencia

4.3. Evaluación de pH, temperatura, OD y recuento de microorganismos al inicio, 3 y 7 días de biorremediación.

4.3.1. Evaluación de pH

El pH inicial promedio fue 8.31 del Medio Mínimo de Sales Davis operado en el biorreactor *air lift* (ver cuadro 13).

En el cuadro 8, se observa que hay diferencia estadísticamente significativa en los valores de pH entre el testigo y los 3 tratamientos (T₁, T₂ y T₃) que entre estos son grupos homogéneos estadísticamente.

Cuadro 8. Pruebas LSD para pH día 7

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
T ₂	3	7.99667	0.157568	A
T ₁	3	8.09667	0.157568	A
T ₃	3	8.10333	0.157568	A
Testigo	3	8.72667	0.157568	B

Fuente: Statgraphics Centurión XV.II en español.

En la figura 3, se observa que la prueba testigo tiene un nivel de pH mayor a los tratamientos T₁, T₂ y T₃ que tienden a igualarse su nivel de pH.

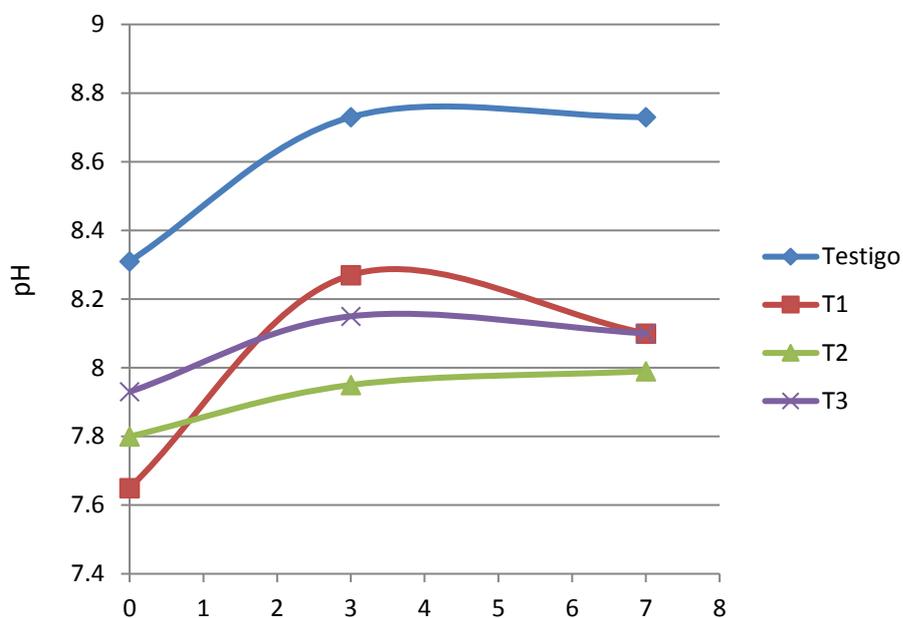


Figura 3. Valor de pH en el proceso de biorremediación

4.3.2. Evaluación de temperatura

En el cuadro 9, se observa que en los valores de temperatura del testigo y los 3 tratamientos (T₁, T₂ y T₃) son grupos homogéneos estadísticamente.

Cuadro 9. Pruebas LSD para temperatura día 7

Tratamiento	Casos	Media LS	Grupos Homogéneos
T ₁	3	29.6	A
T ₂	3	29.6333	A
T ₃	3	29.7	A
Testigo	3	29.7667	A

Fuente: Statgraphics Centurión XV.II en español.

En la figura 4, se observa que los valores de temperatura de los tratamientos testigo, T₁, T₂, T₃, tienden a aumentar durante los primeros días y luego a disminuir a los 7 días de biorremediación, además se observa que los valores tienden a ser semejantes entre los tratamientos durante el proceso de la biorremediación.

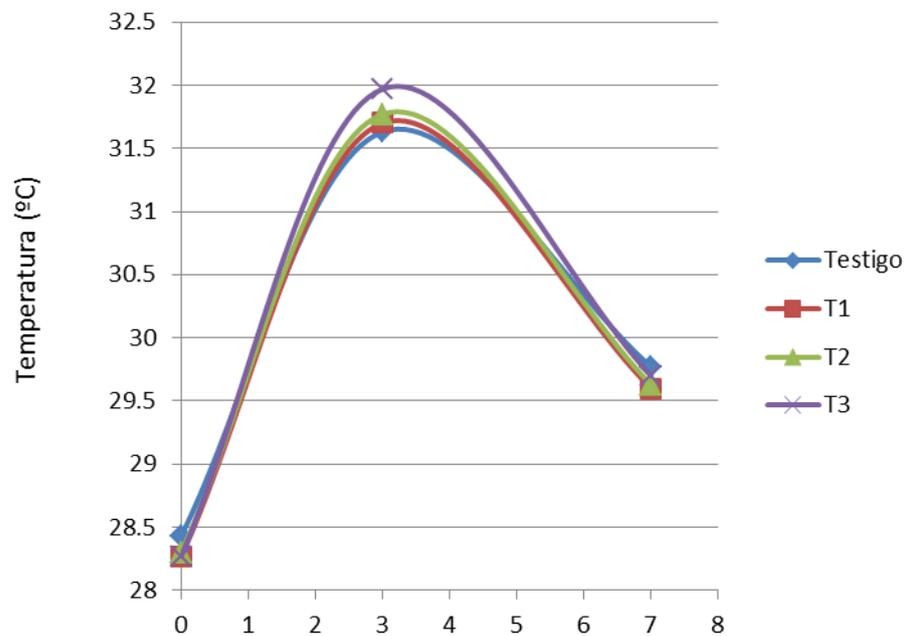


Figura 4. Valor de temperatura en el proceso de biorremediación

4.3.3. Evaluación de oxígeno disuelto (OD)

En el cuadro 10, se observa en los valores de oxígeno disuelto que existe diferencia estadísticamente significativa entre el testigo, T₁ y T₃, mostrándose grupos homogéneos estadísticamente entre el T₁ y T₂ por otro lado entre el T₂ y T₃.

Cuadro 10. Pruebas LSD para OD día 7

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos	
T ₃	3	0.446667	0.229674	A	
T ₂	3	0.54	0.229674	A	B
T ₁	3	1.26667	0.229674	B	
Testigo	3	3.45667	0.229674	C	

Fuente: Statgraphics Centurión XV.II en español.

En la figura 5, se observa que los valores de oxígeno disuelto tienden a incrementarse en el tratamiento testigo durante los primeros días de biorremediación mientras en el tratamiento T₁, T₂ y T₃ tienden a disminuir conforme transcurre los días de biorremediación; además el tratamiento T₁ tiene el valor más alto a los 7 días de biorremediación mientras los valores tienden a ser semejantes entre el tratamiento T₂ y T₃.

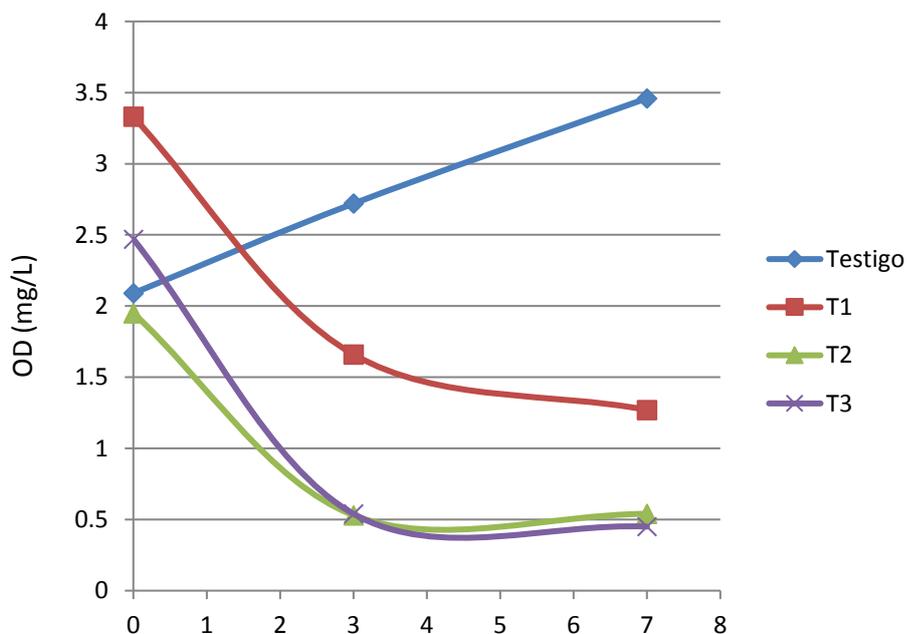


Figura 5. Valor de OD en el proceso de biorremediación

4.3.4. Recuento de microorganismos aislados

En el cuadro 11, se observa que los valores de recuento de microorganismos aislados del estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy) existen diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento testigo, T₁, T₂ y T₃.

Cuadro 11. Pruebas LSD para recuento de microorganismos día 7

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
T ₃	3	138.667	55.9166	A
T ₂	3	620.667	55.9166	B
T ₁	3	826.667	55.9166	C
Testigo	3	1512.0	55.9166	D

Fuente: Statgraphics Centurión XV.II en español.

En la figura 6, se observa que la cantidad de microorganismos aislados tiende a aumentar en forma ascendente en el tratamiento testigo conforme transcurre los días de biorremediación; mientras que los tratamientos T₁, T₂ y T₃ tiende a aumentar durante los primeros días de biorremediación, la cantidad que presentan superan al tratamiento testigo a excepción del T₃; luego disminuye la cantidad de microorganismos a los 7 días de biorremediación siendo inferior al tratamiento testigo, la mayor cantidad fue del tratamiento T₁, luego el T₂ y finalmente el T₃.

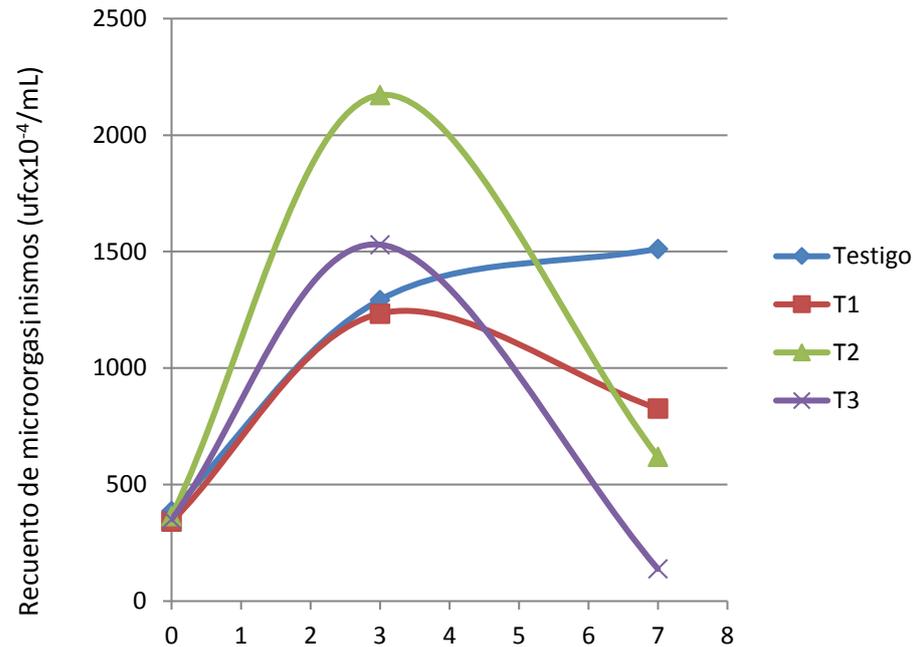


Figura 6. Recuento de microorganismos durante la biorremediación

4.4. Identificación de los microorganismos aislados del estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy) con potencial de biodegradación del petróleo biodiesel al finalizar la biorremediación.

Se identificó a los siguientes microorganismos aislados del estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy) al finalizar la biorremediación tales como: *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* y *Pantoea agglomerans* (antes conocida como *Enterobacter agglomerans*).

V. DISCUSIÓN

5.1. Caracterización fisicoquímica del estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy)

NEETHU *et al.* (2019) obtuvieron valores fisicoquímicos del estiércol de vaca para aislamiento microbiano tales como: Humedad (60.85%), materia orgánica (0.67%), NPK (0.85%, 0.12% y 1.49%), Ca (1.57%) y Mg (0.51%); por otro lado, ONUORAH *et al.* (2018) obtuvieron valores fisicoquímicos del estiércol de cerdo para aislamiento microbiano tales como: Materia orgánica (2.8%), N (2.4%), P (1.3%), Ca (2.3%) y Mg (0.8%); comparándolos con el estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy) utilizado para aislamiento microbiano se presenta valores superiores mostrando un mayor contenido de los nutrientes minerales.

5.2. Selección y elección de los microorganismos del estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy) con potencial de biodegradación del petróleo biodiesel en el agar del Medio Mínimo de Sales Davis

MUÑOZ y PACHECO (2017) mencionan aislaron colonias bacterianas de la familia *Pseudomonadaceae* presentes en los desechos de las gallinas responsables de la biodegradación del petróleo; también NEETHU *et al.* (2019) mencionan que aislaron microorganismos del estiércol de vaca capaces de degradar los contaminantes de hidrocarburos. Esto apoya a la investigación debido a que también fue posible aislar colonias bacterianas del

estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy) donde mostraron tolerancia a las diferentes concentraciones del petróleo biodiesel.

5.3. Evaluación del pH, temperatura, OD y recuento de microorganismos al inicio, 3 y 7 días de biorremediación.

ONUORAH *et al.* (2018) mencionan que el pH 7 fue el más favorable para el crecimiento de los aislados bacterianos; en la investigación se obtuvieron valores cercanos con un pH inicial de 7.65-7.93 y luego aumentaron hasta un pH final de 7.99-8.10 al finalizar la biorremediación; además concuerda con el rango de pH óptimo de crecimiento de microorganismos, tal como lo menciona PONCE (2014) el intervalo de pH donde las bacterias crecen es de 6 a 8.

CHANG (2013) menciona que la temperatura aumentó de 27.12 °C a 28-29°C durante los primeros días de biorremediación, y disminuyó al finalizar el proceso de biorremediación a valores de 26-27°C; en la investigación se obtuvieron valores de temperatura iniciales de 28-29°C aumentaron hasta 31-32°C durante los primeros días y luego disminuyeron a 29-30°C al finalizar la biorremediación; además se encuentra en el rango óptimo de temperatura mencionado por PONCE (2014) entre 20 a 30 °C bajando la biodegradación a temperaturas superiores a 40°C y reprimiéndose a 0°C.

OME y ZAFRA (2018) mencionan que en los procesos de biorremediación en general se mantuvieron concentraciones de oxígeno disuelto entre 0.2-8 mg/l con una mediana de 2.85 mg/l. En la investigación se obtuvieron valores de oxígeno disuelto que se encuentran dentro de este rango

con valores iniciales de oxígeno disuelto de 3.33, 1.95 y 2.47 mg/l y luego disminuyeron hasta 1.27, 0.54 y 0.45 mg/l al finalizar la biorremediación.

El tratamiento 1 tuvo la mayor cantidad de microorganismos seleccionados con respecto a los demás tratamientos, con ello existe un mayor potencial de biodegradabilidad, tal como lo mencionan ONUORAH *et al.* (2017) el aumento en el recuento viable indico crecimiento conduciendo a la producción de subproductos como el resultado del metabolismo.

5.4. Identificación de los microorganismos aislados del estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy) con potencial de biodegradación del petróleo biodiesel al finalizar la biorremediación.

ONUORAH *et al.* (2018), identificaron al *Proteus vulgaris* dentro de los microorganismos del estiércol de cerdo que utilizaron el petróleo crudo como fuente de carbono; por otro lado, NEETHU *et al.* (2019) identificaron al *Enterobacter sp* dentro del conjunto de microorganismos del estiércol de vaca con la capacidad de biodegradar el petróleo. Concuerta con la investigación debido a que dos bacterias identificadas como potenciales biodegradadores del petróleo biodiesel fueron: *Proteus vulgaris* y *Pantoea agglomerans* (antes conocida como *Enterobacter agglomerans*) añadiendo una especie bacteriana llamada *Proteus mirabilis*.

VI. CONCLUSIÓN

1. La caracterización fisicoquímica del estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy) mostró que tiene un alto valor de contenido en NPK y elementos minerales comparado con otros estiércoles de animales utilizados en otras investigaciones
2. Se seleccionó y aisló los microorganismos del estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy) mediante tamizaje en los agares de Mínimo de Sales Davis con diferentes concentraciones de petróleo biodiesel donde mostraron tolerancia y crecimiento.
3. Los valores de pH, temperatura, OD y la cantidad de microorganismos aislados del tratamiento 1 fueron adecuados para una potencial biodegradación del petróleo biodiesel.
4. Se identificaron a los siguientes microorganismos aislados del estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy) como potenciales biodegradadores del petróleo biodiesel tales como: *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* y *Pantoea agglomerans* (antes conocida como *Enterobacter agglomerans*).

VII. RECOMENDACIONES

1. Aislar hongos del estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy) para probar su capacidad de biodegradación con el petróleo.
2. Probar mediante Screening con porcentajes menores al 29.5% de petróleo en el Medio Mínimo de Sales Davis.
3. Medir otros parámetros fisicoquímicos como: Conductividad eléctrica y demanda bioquímica de oxígeno.
4. Realizar la cuantificación de hidrocarburos para determinar el porcentaje de biodegradación del petróleo biodiesel utilizando microorganismos del estiércol de *Cavia porcellus* L. (cuy).

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIRRE, E. 2017. Producción de biofertilizante mediante fermentación de la cuyinaza por bacterias del género *Lactobacillus* aisladas del fermento de la chicha de cebada. Tesis Ing. Ambiental. Lima. 113 p.
- ALEXANDER, M. 1999. Biodegradation and Bioremediation. 2da ed. Academic Press, Inc., San Diego.
- APHA. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington.
- BAZAN, R. 2017. Manual de procedimientos de los análisis de suelo y agua con fines de riego. Lima, Perú, Gráfica Bracamonte. 89 p.
- BUSTAMANTE, G., SILVA, J. 2019. Efecto de la materia orgánica en la biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos de petróleo en establecimientos de servicios. Tesis Lic. Biología, Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque, Perú. 66 p.
- CALDERON, F., PAVLOVA, M. 2004. Metodologías de análisis foliar. Calderón Laboratorios Ltda., Bogotá D.C., Colombia S.A. [En línea]:

(http://www.drcalderonlabs.com/Metodos/Analisis_foliar/Metodos_Analisis_Foliares.htm, 7 Jun. 2020)

- CARDENAS, P. 2017. Biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo por bioestimulación con cachaza y guano de islas en suelos de la refinería Conchan-Petroperú, Lima. Tesis Ing. Ambiental. Lima. Universidad Cesar Vallejo. 70 p.
- CANTARERO, R., MARTINEZ, O. 2002. Evaluación de tres tipos de fertilizantes (gallinaza, estiércol vacuno y un fertilizante mineral) en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.) variedad NB-6. Tesis Ing. Agrónomo. Managua. Universidad Nacional Agraria. 53p.
- CHANG, I. 2013. Evaluación del efecto del encalado (calcita), en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos. Tesis Ing. Conservación de Suelos y Agua. Tingo María. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 113p.
- GUEVARA, E. 2004. Diseño, construcción y caracterización hidrodinámica de un biorreactor multifuncional. Tesis Ing. en Alimentos. Huajuapán de León. Universidad Tecnológica de la Mixteca. 90 p.
- GOMEZ, A. 2018. Solución nutritiva de biol a base de estiércol de cuy (*Cavia porcellus* L.), ovino (*Ovino aries*) y vacuno (*Bos Taurus*) en la producción de forraje verde hidropónico de cebada (*Hordeum vulgare*) en Puno. Tesis Ing. Agrónomo. Puno. Universidad Nacional del Altiplano. 87 p.

- HERNANDEZ, E., RUBIÑOS, J., ALVARADO, J. 2004. Restauración de suelos contaminados con hidrocarburos conceptos básicos. Edit. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 160 p.
- LAURA, R. 2011. Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos en clima frío y templado. Tesis Doctoral. La Plata. Universidad de la Plata. 228 p.
- LOPEZ, C. 1990. Protocolos de prácticas de Microbiología Ambiental. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María, Perú.
- LOPEZ, C. 2006. Protocolos de prácticas de Biotecnología Ambiental. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María, Perú.
- MARTINEZ, V., LOPEZ, F. 2001. Efecto de hidrocarburos en las propiedades físicas y químicas de suelo arcilloso. Rev. Terra, México. 19(1):9-17.
- MUÑOZ, J., PACHECO, M. 2017. Colonias bacterianas presentes en el estiércol de gallinas de la cepa *Leghorn* responsables de la biodegradación de petróleo en suelos contaminados. Tesis Quím. Farmacéutico. Lima. Universidad Wiener. 80 p.
- NEETHU, T., DUBEY, P., KASWALA, A., PATEL, K. 2019. Cow dung as a bioremediation agent to petroleum hydrocarbon contaminated agricultural soils. Curr. J. Appl. Sci. Tech., Gujarat. 38(6):1-9
- OME, O., ZAFRA, C. 2018. Factores claves en procesos de biorremediación para la depuración de aguas residuales. Una revisión. Rev. U.D.C.A. Act & Div. Cient. 21(2):573-585.

- ONUORAH, S., SOLUDO, C., ODIBO, F. 2018. Effect of pig manure on the Microbial Remediation of crude oil-polluted soil. *Am. J. L. Sci. Res., Awka.* 6(2):76-90.
- PANTOJA, R. 2014. Evaluación de diferentes dosis de abonos orgánicos de origen animal en el comportamiento agronómico, del cultivo de brócoli en la zona de Huaca, provincia del Carchi. Tesis Ing. Agrónomo. El Angel. Universidad Técnica de Babahoyo. 74 p.
- PONCE, D. 2014. Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Tesis Ing. Civil. Concepción. Universidad del Bio-Bio. 102 p.

IX. ANEXOS

A. TABLAS

Cuadro 12. Reacciones de los m.o a las pruebas bioquímicas

Prueba bioquímica	Resultado
Indol	Anillo rojo = + Anillo anaranjado = -
Rojo de metilo (RM)	Color rojo= + Color anaranjado= -
Voges-Proskauer	Color rosado= + Color amarillo= -
Caldo Malonato	Color azul= + Color verde= -
K/A= Bacteria degradó sacarosa y glucosa	
TSI	A/A= Bacteria degradó los 3 azúcares + H ₂ S + gas
A/K= Bacterias anaerobias	
R/K= No hay reacción	
K/K= No hay reacción	
LIA	K/A= Diseminación de lisina A/K=Diseminación de lisina
A/A= Diseminación de lisina + H ₂ S + gas	
Urea	Color fucsia= + Color rosado pálido= -
SIM	Anillo rojo, motilidad(gelatinoso), H ₂ S= + Sin reacción, motilidad(duro)= -
Citrato de Simmons	Color azul= + Color verde= -

Cuadro 13. Datos de pH en el proceso de la biorremediación

Tratamiento	Dia 0	Promedio	Dia 3	Promedio	Dia 7	Promedio
T ₀ (R ₁)	7.99		8.21		8.4	
T ₀ (R ₂)	8.47	8.31	9.01	8.73	8.92	8.73
T ₀ (R ₃)	8.48		8.97		8.86	
T ₁ (R ₁)	7.8		7.49		7.71	
T ₁ (R ₂)	7.06	7.65	8.64	8.27	8.19	8.10
T ₁ (R ₃)	8.1		8.67		8.39	
T ₂ (R ₁)	7.43		7.33		7.68	
T ₂ (R ₂)	7.93	7.80	8.31	7.95	8.09	7.99
T ₂ (R ₃)	8.05		8.22		8.22	
T ₃ (R ₁)	7.72		8.04		7.96	
T ₃ (R ₂)	8.05	7.93	8.23	8.15	8.17	8.10
T ₃ (R ₃)	8.01		8.17		8.18	

Cuadro 14. Datos de temperatura en el proceso de biorremediación

Tratamiento	Dia 0 (°C)	Promedio (°C)	Dia 3 (°C)	Promedio (°C)	Dia 7 (°C)	Promedio (°C)
T ₀ (R ₁)	30.2		30.4		31.6	
T ₀ (R ₂)	27.6	28.43	31.7	31.63	29.8	29.77
T ₀ (R ₃)	27.5		32.8		27.9	
T ₁ (R ₁)	30.1		30.8		31.6	
T ₁ (R ₂)	27.2	28.27	31.6	31.70	30	29.60
T ₁ (R ₃)	27.5		32.7		27.2	
T ₂ (R ₁)	30.4		31.2		31.5	
T ₂ (R ₂)	27.2	28.30	31.5	31.77	29.8	29.63
T ₂ (R ₃)	27.3		32.6		27.6	
T ₃ (R ₁)	30.5		31.7		31.7	
T ₃ (R ₂)	27.3	28.27	31.6	31.97	30.0	29.70
T ₃ (R ₃)	27.0		32.6		27.4	

Cuadro 15. Datos de OD en el proceso de biorremediación

Tratamiento	Dia 0 (mg/L)	Promedio	Dia 3 (mg/L)	Promedio	Dia 7 (mg/L)	Promedio
T ₀ (R ₁)	3.38		3.57		3.79	
T ₀ (R ₂)	1.69	2.09	2.16	2.72	3.1	3.46
T ₀ (R ₃)	1.2		2.44		3.48	
T ₁ (R ₁)	3.59		1.14		0.82	
T ₁ (R ₂)	2.62	3.33	2.78	1.66	1.96	1.27
T ₁ (R ₃)	3.78		1.05		1.02	
T ₂ (R ₁)	1.25		0.21		0.24	
T ₂ (R ₂)	2.57	1.95	0.63	0.53	0.52	0.54
T ₂ (R ₃)	2.03		0.76		0.86	
T ₃ (R ₁)	3.82		0.29		0.22	
T ₃ (R ₂)	2.03	2.47	0.7	0.54	0.47	0.45
T ₃ (R ₃)	1.55		0.62		0.65	

Cuadro 16. Datos de recuento de microorganismos

Tratamiento	Dia 0 (ufc x 10 ⁻⁴ / mL)	Promedio (ufc x 10 ⁻⁴ / mL)	Dia 3 (ufc x 10 ⁻⁴ / mL)	Promedio (ufc x 10 ⁻⁴ / mL)	Dia 7 (ufc x 10 ⁻⁴ / mL)	Promedio (ufc x 10 ⁻⁴ / mL)
T ₀ (R ₁)	377		1376		1644	
T ₀ (R ₂)	394	386	1452	1293	1404	1512
T ₀ (R ₃)	389		1051		1488	
T ₁ (R ₁)	324		1284		820	
T ₁ (R ₂)	396	341	1184	1234	816	826
T ₁ (R ₃)	304		1234		844	
T ₂ (R ₁)	335		2192		554	
T ₂ (R ₂)	386	365	2152	2172	516	620
T ₂ (R ₃)	376		2172		792	
T ₃ (R ₁)	344		1696		148	
T ₃ (R ₂)	354	351	1364	1530	130	138
T ₃ (R ₃)	355		1530		138	

Cuadro 17. Microorganismos identificados en el T₀

Prueba bioquímica	CLED (T ₀)	Macconkey (T ₀)	Manitol Salado (T ₀)	M77 (T ₀)
Indol	-	-	-	+
Rojo de metilo	+	-	-	-
Voges-Proskauer	-	+	+	+
Caldo Malonato	+	+	-	+
Citrato Simmons	+	+	+	+
Urea	+	+	+	+
TSI	A/A + GAS + H ₂ S	A/A + GAS + H ₂ S	K/K	K/K
LIA	K/K	K/K	K/K	K/K
SIM	-	-	-	-
Microorganismo	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>

Cuadro 18. Microorganismos identificados en el T₁

Prueba bioquímica	CLED (T ₁)	Macconkey (T ₁)	Manitol Salado (T ₁)	M77 (T ₁)
Indol	+	-	+	-
Rojo de metilo	+	+	-	-
Voges-Proskauer	-	+	+	+
Caldo Malonato	+	+	+	+
Citrato Simmons	+	+	+	+
Urea	+	+	+	+
TSI	K/A	A/A	K/K	A/A
LIA	K/K	K/K	A/A	K/K
SIM	-	-	-	-
Microorganismo	<i>Pantoea agglomerans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>

Cuadro 19. Microorganismos identificados en el T₂

Prueba bioquímica	CLED (T2)	Macconkey (T2)	Manitol Salado (T2)	M77 (T2)
Indol	-	-	-	-
Rojo de metilo	-	-	-	-
Voges-Proskauer	+	+	+	+
Caldo Malonato	+	+	-	+
Citrato Simmons	+	+	-	+
Urea	-	+	-	+
TSI	A/A + GAS	A/A	A/A	A/A
LIA	K/K	K/K	K/K	K/K
SIM	-	-	-	-
Microorganismo	<i>Pantoea agglomerans</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>

Cuadro 20. Microorganismos identificados en el T₃

Prueba bioquímica	CLED (T3)	Macconkey (T3)	Manitol Salado (T3)	M77 (T3)
Indol	-	+	+	+
Rojo de metilo	-	+	-	+
Voges-Proskauer	+	-	+	-
Caldo Malonato	+	+	-	+
Citrato Simmons	+	+	-	+
Urea	-	+	+	+
TSI	A/A	A/A	A/A	A/A
LIA	K/K + H ₂ S	K/K	K/K	K/K
SIM	-	-	-	-
Microorganismo	<i>Pantoea agglomerans</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>	<i>Proteus vulgaris</i>

B. GALERÍA DE FOTOS



Figura 7. Identificación de microorganismos aislados en el laboratorio

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Facultad de Agronomía - Laboratorio de Análisis de Suelos, Aguas y Ecotoxicología
Carretera Central Km 1.21 - Tingo María - Celular 941571370
analisis@unahs.edu.pe

ANÁLISIS ESPECIAL

SOLICITANTE			MARLON ITALO PASCAL CASTILLO		PROCEDENCIA		TINGO MARIA														
DATOS DE LA MUESTRA			ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO					RESULTADOS EN BASE SECA													
			EN BASE HÚMEDA		EN BASE SECA			PORCENTAJE (%)							PARTES POR MILLÓN (ppm)						
Código	Tipo	Referencia	Humedad (H) (%)	Materia Orgánica (O) (%)	Cenizas (C) (%)	Materia Orgánica (M) (%)	Cenizas (N) (%)	H (%)	Fe (%)	Cu (%)	Ca (%)	Mg (%)	K (%)	Na (%)	Cd (ppm)	Pb (ppm)	Co (ppm)	Ni (ppm)	Zn (ppm)	Mn (ppm)	
HE2018_0149	ESTIÉRCOL DE CUY	MI	50.27	58.16	11.56	76.70	23.25	3.92	2.99	10.10	0.71	0.88	1.23	1.89	14.99	125.22	850.99	265.01	208.82		

MUESTREO POR EL SOLICITANTE
TINGO MARIA, 29 DE JUNIO DEL 2019
BOLETO Nº 0055941

Ing. César López López
JEFE

Figura 8. Resultados de análisis fisicoquímico en el laboratorio

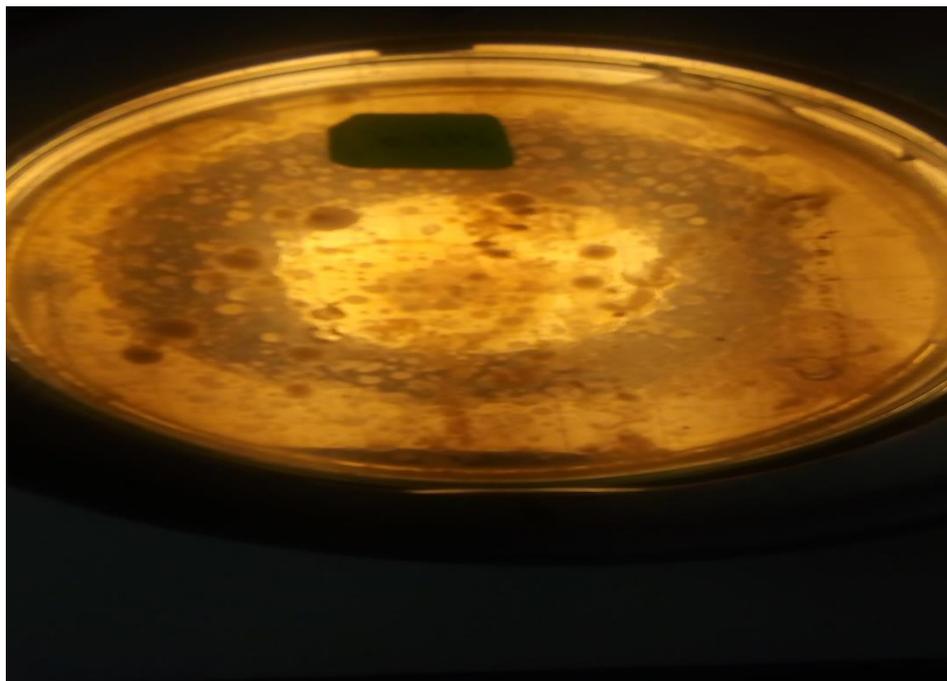


Figura 9. Crecimiento de colonias en MMSD 29.5%

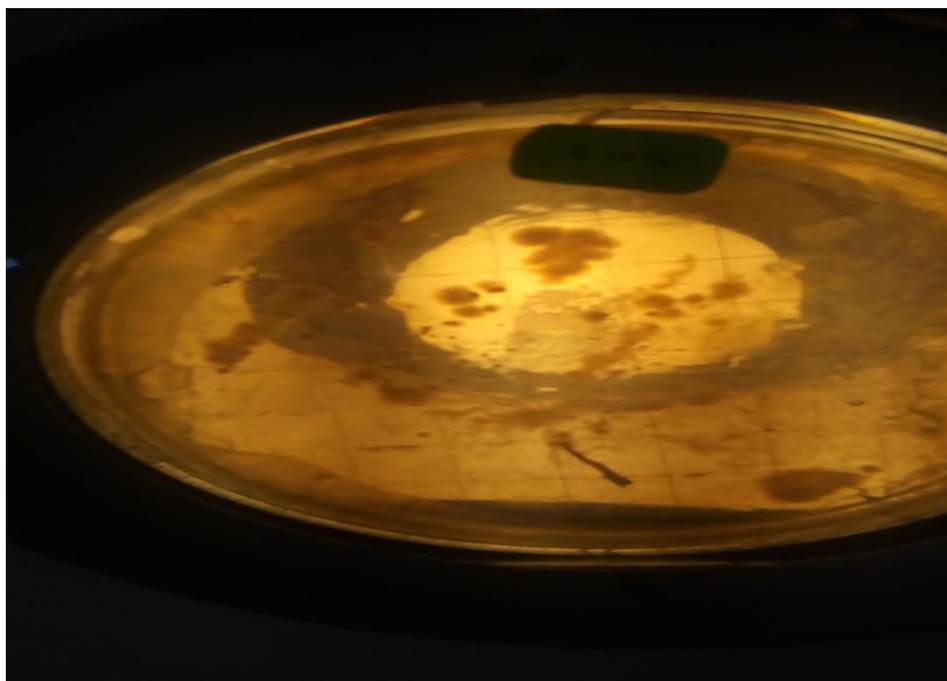


Figura 10. Crecimiento de colonias en MMSD 30%

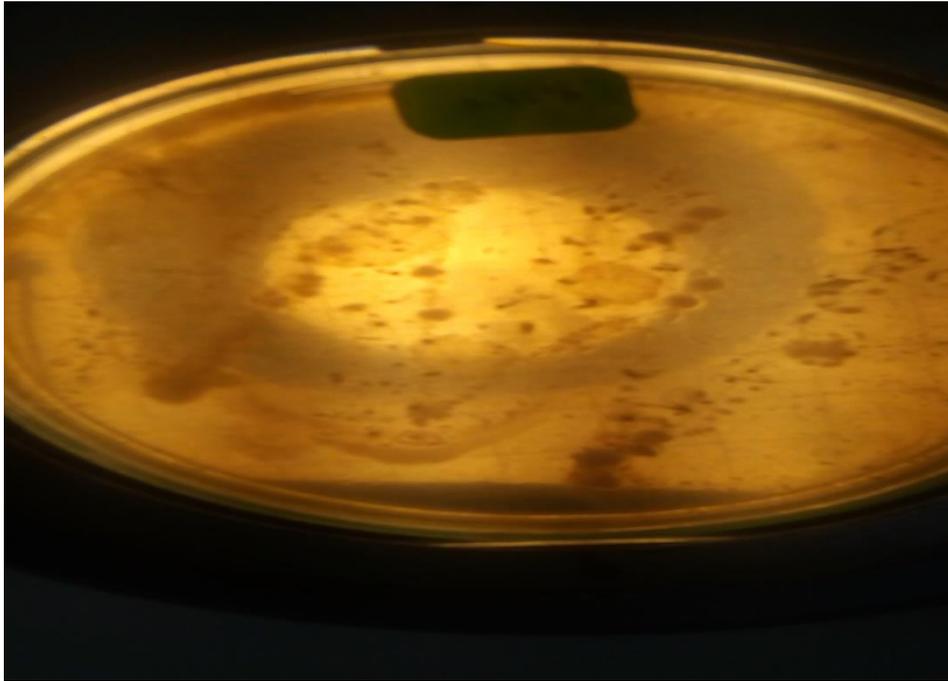


Figura 11. Crecimiento de colonias en MMSD 30.5%



Figura 12. Funcionamiento de los biorreactores *Airlifft*

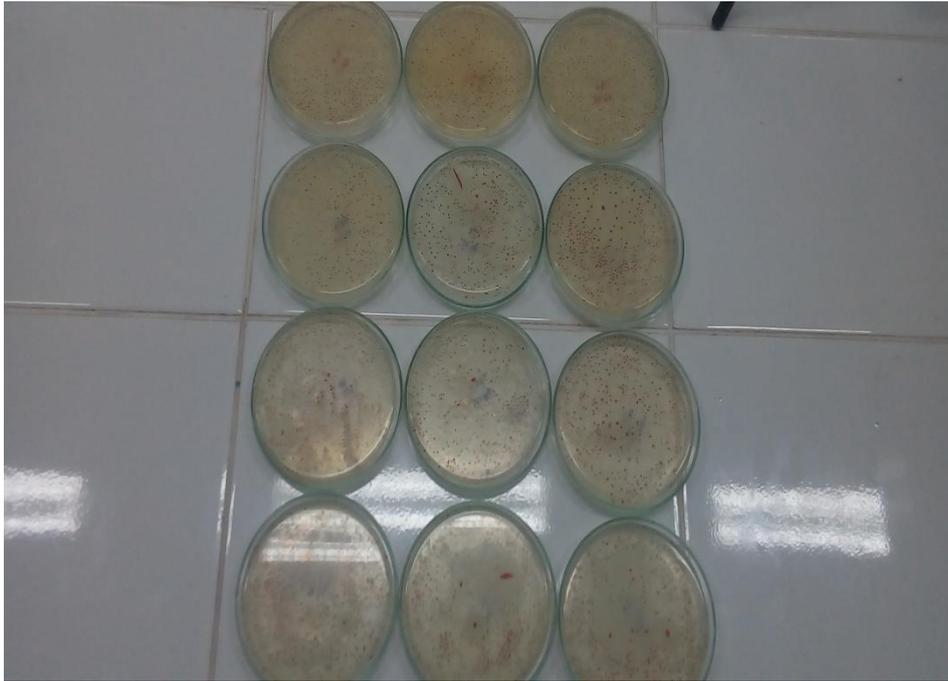


Figura 13. Placas para recuento de m.o



Figura 14. Medición de OD y temperatura de la muestra



Figura 15. Medición de pH de la muestra

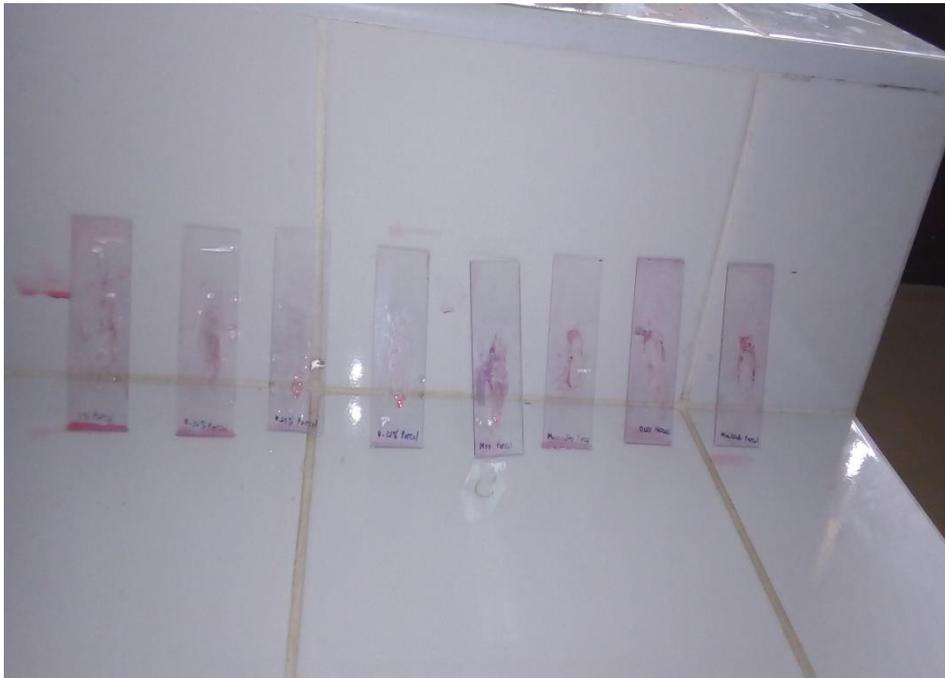


Figura 16. Secado de las muestras para observación en microscopio

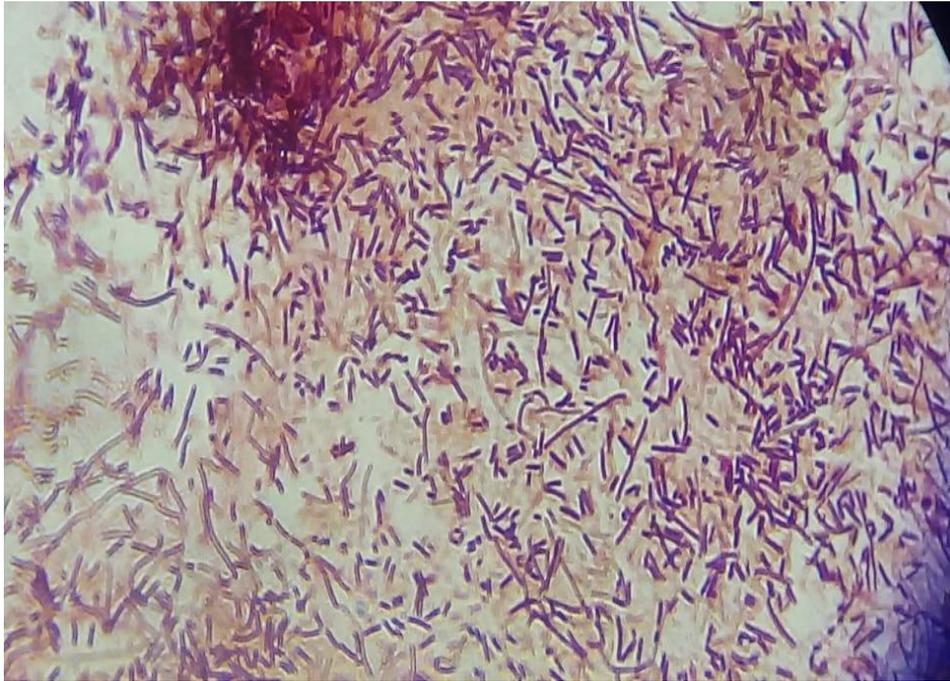


Figura 17. Observación en el microscopio de *Bacillus sp*

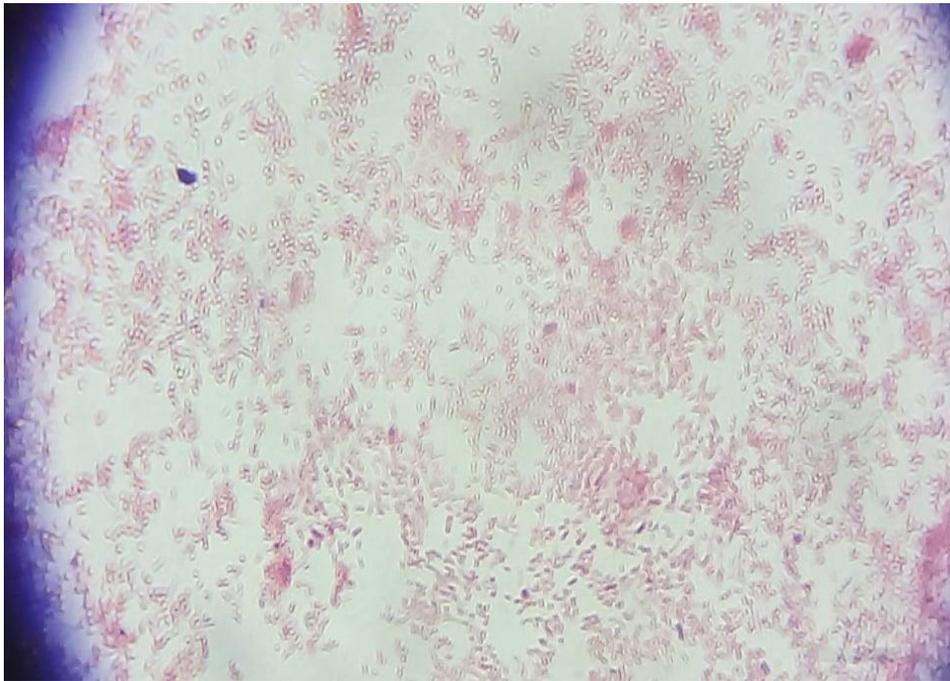


Figura 18. Observación en el microscopio de bacilos gram negativo